

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCTATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTTIFIQUE
UNIVERSITE BLIDA 1 - SAAD DAHLAB
FACULTE DE MEDECINE
DEPARTEMENT DE PHARMACIE



Les différentes étapes de fabrication des vaccins (anciennes et nouvelles)

Thèse d'exercice de fin d'étude
Présentée en vue de l'obtention du diplôme de Docteur en Pharmacie

Présentée par :

- ZAHAF Nor Elhouda
- AIT YAHIA Samira

Encadrée par : Pr. BOUAMRA Abderrezak, MCA en épidémiologie

Présidente de jury : Pr. OUKID Samira, MCA en microbiologie

Examineur : Pr. BENMHAMED Abdelhalim, MCA en pharmacologie clinique

Blida, le : 19/09/2021

Remerciements

A notre encadreur :

*Monsieur le Professeur BOUAMRA ABDERREZAK
Professeur d'épidémiologie.*

Vous nous avez proposé le sujet de thèse, vous nous avez guidé tout au long de son élaboration, avec bienveillance et compréhension.

Nous voulons vous remercier pour vos paroles, vos écrits, vos conseils et vos critiques qui ont guidé nos réflexions et aussi d'avoir accepté de nous rencontrer et de répondre à nos questions durant nos recherches.

Veillez accepter ici, cher professeur, l'expression de notre gratitude et de notre profonde reconnaissance.

*Nor Elhouda Zahaf.
Samira Ait Yahia.*

Dédicaces

Merci ALLAH de m'avoir donné la capacité et la force d'y croire, la patience d'aller jusqu'au bout du rêve, ALHAMDULILAH

A mes chers parents Chaabane et Bensaid Saliha sans vous je n'aurais jamais arrivé là, je vous remercie pour tous vos efforts surtout soutien et encouragement, que ce travail traduit ma gratitude et mon affection.

A toute ma famille, ma grand-mère Nouara, mes deux frères Sid Ali et Rabie, ma tante Rabia et ses deux filles, mon oncle Hassane et son épouse et à toute ma famille Ait Yahia et Bensaid et tous mes proches ceux qui me donnent de l'amour et de la vivacité, leurs prières et leur sollicitude fraternelle m'ont été d'un très grand soutien.

La réalisation de ce mémoire a été possible grâce au concours de plusieurs personnes à qui je voudrais témoigner toute ma gratitude je surnomme : Ait Yahia Djauher, Ait Yahia Amira, Ait Hamadouche Nassima

A des personnes chères, mes sœurs de luttes, merci pour votre accompagnement, soutien et amitié, merci de m'avoir épaulé durant toutes ces années Nor Elhouda Zahaf, Raziqa Akkouchi, Tabet Ghofrane, Raïb houria.

A la grande sœur, la copine, Wissame Zahaf et son époux Mohammed, vous m'avez accueilli à bras ouverts chez vous je vous suis reconnaissante merci.

A mon amie, Touati Hiba une sœur comme on ne peut trouver nul part, merci.

A mes amis Khobizi Kheireddine, Boudjela Sara, Lebsari Bachir qui m'ont toujours soutenu et encouragé durant cette année.

A la mémoire de mes grands-parents Belaid Ait Yahia, Lahcen Ben Said et Ait Hamou Dhahbia, à la mémoire de mon oncle partis trop tôt Bensaid Nouar, que j'ai tant aimé qu'ils assistent à ma soutenance. RABI YERHMHOM.

Samira Ait Yahia

Dédicaces

Je remercie ALLAH d'avoir accepté toutes mes prières, ALHAMDULILAH grâce à Dieu j'ai réussi à arriver là où j'en suis, à réaliser l'un de mes plus grands rêves.

A mes très chers parents : mon père Menaouer et ma mère Haddouche Fatiha, quoi que je dise, je ne saurai vous remercier comme il se doit pour la confiance, l'amour, le soutien et l'encouragement que vous m'avez accordé. Que ce travail soit la preuve de ma profonde reconnaissance.

A ma sœur Wissam : tu as toujours été à mes côtés, à me soutenir, à m'encourager, et à me défendre, tu es une personne rare pour toutes tes qualités, tu es mon idole, j'ai de la chance de t'avoir comme sœur et je t'en suis mille fois reconnaissante.

A son époux Mohamed, plutôt mon frère ; je ne te remercierai jamais assez pour ton soutien, ton aide et tes conseils. Que Dieu te protège et te garde pour ta famille. Et à leurs deux petits anges Farah et Djaoued. Que Dieu vous bénisse et vous accorde longue vie.

A ma famille : mon frère Farouq, son épouse Asmaa et ses deux petits bouts de sucre Nada et Céline, mon frère Toufiq, ma grand-mère Nadjem Fatma, mes tantes, mes oncles, mes cousins et cousines, je vous remercie tous pour votre amour, vos prières et vos encouragements. J'espère que ce travail sera le témoignage des sentiments chers et profonds que j'ai pour vous. Puisse Dieu vous accorde une heureuse longue vie, bonheur et réussite.

A mes âmes sœurs : Akkouchi Raziqa, Ait Yahia Samira, Zahaf Nesrine, et Khadraoui Amira en souvenir de notre sincère et profonde amitié et des moments agréables que nous avons partagés ensemble, je remercie Dieu de vous avoir mis sur mon chemin. J'espère de tout mon cœur que notre amitié durera éternellement.

A mes chères amies Ghofrane, Houria, Achwaq, Ikram, Rihab, Ait yahia Amira et à tous mes amis : merci pour votre amour, vos prières et vos encouragements.

A la famille de mon binôme Samira, et surtout à son père Chaabane, et à sa tante Djouher. Grand merci pour votre soutien, et votre aide.

A la mémoire de mon grand père Chahid Ahmed Zahaf, de mes grand parents Ali et Bakhta Haddouche, de mon cousin Hamid, de tata Yamina, et de tous mes chers qui sont partis de ce monde. J'aurais souhaité votre présence en ce moment pour partager ma joie vous êtes toujours présents dans mon esprit et dans mon cœur. Que vos âmes reposent en paix.

Nor elhouda ZAHAF

Table des matières

| | |
|--|------------|
| Table des figures | vi |
| Liste des tableaux | vii |
| Liste des acronymes | ix |
| Introduction | 1 |
| I Histoire | 4 |
| I.1 La variole et les premières inoculations délibérées | 4 |
| I.1.1 Variole | 4 |
| I.1.2 Variolisation | 4 |
| I.2 Pasteur et le concept d'atténuation | 6 |
| I.2.1 Choléra du poulet | 6 |
| I.2.2 Charbon des moutons | 7 |
| I.2.3 La rage | 7 |
| I.3 Chronologie des vaccins commercialisés sur le marché mondial | 7 |
| II Généralités sur les vaccins | 9 |
| II.1 Défenses de l'organisme | 9 |
| II.1.1 Immunité innée | 9 |
| II.1.2 Immunité adaptative | 10 |
| II.2 Principe immunologique | 10 |
| II.2.1 Immunité passive | 10 |
| II.2.2 Immunité active | 11 |
| II.3 Principe de la vaccination | 11 |
| II.3.1 Définitions | 11 |
| II.3.1.1 Vaccin | 11 |
| II.3.1.2 Vaccination | 11 |
| II.3.1.3 Cascade de la réponse immunitaire | 11 |
| II.4 Facteurs pouvant modifier la réponse vaccinale | 13 |
| II.4.1 La présence ou l'absence d'anticorps maternels | 14 |

| | | |
|------------|---|-----------|
| II.4.2 | La nature et la dose d'antigène administré | 14 |
| II.4.3 | Le mode et la voie d'administration du vaccin | 14 |
| II.4.4 | L'utilisation ou non d'un adjuvant | 15 |
| II.4.5 | Etat nutritionnel | 16 |
| III | Développement de vaccin | 17 |
| III.1 | Phase d'exploration | 17 |
| III.1.1 | Comprendre la maladie | 18 |
| III.1.2 | Connaître l'agent infectieux | 18 |
| III.2 | Phase préclinique | 18 |
| III.3 | Phase clinique | 19 |
| III.3.1 | Phase I | 19 |
| III.3.2 | Phase II | 20 |
| III.3.3 | Phase III | 20 |
| III.4 | Autorisation de mise sur le marché (AMM) | 21 |
| III.4.1 | La procédure centralisée | 22 |
| III.4.2 | La procédure de reconnaissance mutuelle | 22 |
| III.4.3 | La procédure décentralisée | 22 |
| IV | Fabrication des vaccins | 24 |
| IV.1 | Fabrication biologique | 24 |
| IV.1.1 | Banque de germe | 25 |
| IV.1.2 | Culture | 26 |
| IV.1.2.1 | Production des antigènes bactériens | 26 |
| IV.1.2.2 | Production des antigènes viraux | 26 |
| IV.1.2.3 | Production des antigènes par génie génétique | 28 |
| IV.1.3 | Récolte et concentration | 29 |
| IV.1.4 | Purification | 29 |
| IV.1.5 | Inactivation | 30 |
| IV.1.6 | Atténuation | 30 |
| IV.2 | Fabrication pharmaceutique | 31 |
| IV.2.1 | La Formulation | 32 |
| IV.2.1.1 | Conservateurs | 32 |
| IV.2.1.2 | Stabilisants | 33 |
| IV.2.1.3 | Adjuvants | 34 |
| IV.2.2 | Remplissage | 35 |
| IV.2.3 | La lyophilisation | 36 |
| IV.2.4 | Sertissage | 37 |
| IV.2.5 | Mirage | 38 |
| IV.2.6 | Conditionnement | 38 |
| IV.2.6.1 | Conditionnement primaire | 38 |
| IV.2.6.2 | Conditionnement secondaire | 39 |

| | | |
|------------|--|-----------|
| IV.2.6.3 | Conditionnement tertiaire | 39 |
| V | Contrôles de qualité des vaccins | 40 |
| V.1 | Contrôles en cours de fabrication | 40 |
| V.2 | Contrôles en cours de production du principe actif | 41 |
| V.3 | Contrôles de produits finis | 42 |
| V.3.1 | Les techniques de mesure de la concentration et de l'intégrité des antigènes | 42 |
| V.3.2 | Techniques de mesure de l'activité biologique, de la concentration active ou la conformité des antigènes | 42 |
| V.4 | Contrôles en cours de conservation et distribution | 44 |
| V.4.1 | Chaîne de froid | 44 |
| V.4.1.1 | Structure de la chaîne de froid | 44 |
| V.4.2 | Epreuve d'agitation des vaccins | 47 |
| V.4.3 | Les pastilles de contrôles des vaccins (PCV) | 48 |
| V.4.4 | Epreuve de dégradation accélérée (EDA) | 48 |
| VI | Commercialisation des vaccins | 50 |
| VI.1 | Marché des vaccins | 50 |
| VI.2 | Analyse du marché de vaccin | 51 |
| VI.2.1 | Les forces du marché (strengths) | 51 |
| VI.2.1.1 | Le rapport coût/efficacité largement prouvé | 51 |
| VI.2.1.2 | Oligopole fortement concentré avec un fort retour sur investissement | 51 |
| VI.2.1.3 | Absence de vaccins génériques | 52 |
| VI.2.2 | Les faiblesses du marché vaccinal (weaknesses) | 52 |
| VI.2.2.1 | Temps de la mise sur le marché | 52 |
| VI.2.2.2 | Investissement coûteux | 52 |
| VI.2.3 | Les opportunités (opportunities) | 53 |
| VI.2.3.1 | La croissance continue | 53 |
| VI.2.3.2 | L'innovation | 53 |
| VI.2.4 | Les menaces du marché des vaccins | 53 |
| VI.2.4.1 | Perte de la confiance des populations | 53 |
| VI.3 | Prix des vaccins | 53 |
| VI.4 | La pharmacovigilance des vaccins (suité post-AMM) | 54 |
| VII | Différents types de vaccins | 55 |
| VII.1 | Vaccins dans le monde | 55 |
| VII.1.1 | Les vaccins vivants atténués | 55 |
| VII.1.2 | Les vaccins inertes | 57 |
| VII.1.2.1 | Les vaccins inertes à germes entiers (vaccins inactivés) | 57 |
| VII.1.2.2 | Les vaccins sous unitaires | 58 |
| VII.2 | Vaccins en Algérie | 62 |

| | | |
|-------------|--|-----------|
| VII.2.1 | Les vaccins systémiques | 62 |
| VII.2.1.1 | Vaccin antidiphthérique | 62 |
| VII.2.1.2 | Vaccin anti rougeoleux | 62 |
| VII.2.1.3 | Vaccin anti oreillons | 62 |
| VII.2.1.4 | Vaccin anti coquelucheux | 63 |
| VII.2.1.5 | Vaccin antipoliomyélitique | 63 |
| VII.2.1.6 | Vaccin anti rubéole | 63 |
| VII.2.1.7 | Vaccin anti tétanos | 63 |
| VII.2.1.8 | Vaccin anti tuberculeux | 63 |
| VII.2.1.9 | Vaccin anti hépatite B | 63 |
| VII.2.1.10 | Vaccin anti Haemophilus influenza B | 64 |
| VII.2.1.11 | Vaccin anti pneumocoque | 64 |
| VII.2.2 | Calendrier vaccinal en Algérie | 64 |
| VIII | Nouveaux vaccins | 65 |
| VIII.1 | Vaccins à ADN et à ARN | 66 |
| VIII.2 | Vaccins à base de protéines recombinantes | 67 |
| VIII.3 | Vaccins utilisant un vecteur vivant recombinant | 68 |
| VIII.4 | Vaccin cellulaire | 69 |
| VIII.5 | Covid-19 et les défis de formulation de vaccins appropriés | 70 |
| VIII.5.1 | Types de vaccins candidats contre le COVID-19 | 70 |
| VIII.5.2 | Les vaccins Covid-19 autorisés en Algérie | 72 |
| | Conclusion | 74 |

Table des figures

| | | |
|-------|---|----|
| I.1 | Enfant atteint de la variole | 4 |
| I.2 | Edward Jenner (1749-1823) | 5 |
| I.3 | Expérience de Jenner | 6 |
| I.4 | Louis Pasteur (1822-1895) | 6 |
| II.1 | Cellules intervenantes dans l'immunité innée | 9 |
| II.2 | Immunisation passive | 10 |
| II.3 | résumé de la réponse immunitaire | 12 |
| III.1 | recherche et développement des vaccins | 21 |
| IV.1 | Les étapes de fabrication d'un vaccin | 25 |
| IV.2 | Le système de lot de semence | 26 |
| IV.3 | Production du vaccin anti-hépatite B | 28 |
| IV.4 | Obtention de l'antigène par purifications successives | 30 |
| IV.5 | Atténuation par passage sur culture cellulaire | 31 |
| IV.6 | Mutagenèse dirigée par l'utilisation d'oligonucléotides | 32 |
| IV.7 | Cuve de formulation | 32 |
| IV.8 | Gaston Ramon (1886-1963) | 34 |
| IV.9 | Opération de remplissage | 37 |
| IV.10 | Représentation schématique d'un lyophilisateur | 37 |
| IV.11 | Mireuse semi-automatique | 38 |

| | | |
|--------|---|----|
| IV.12 | Seringues pré-remplies de vaccins avec leurs diluants | 39 |
| V.1 | 70% du temps consacré au contrôle qualité | 40 |
| V.2 | Les maillons de la chaîne du froid | 45 |
| V.3 | Différence visuelle après le test d'agitation | 47 |
| V.4 | Pastilles de contrôle du vaccin | 48 |
| V.5 | Thermo-sensibilité des vaccins | 49 |
| VI.1 | Les géants de l'industrie des vaccins | 51 |
| VIII.1 | Principe du vaccin a ARNm | 67 |
| VIII.2 | Vaccination par des cellules dendritiques | 69 |
| VIII.3 | Les types de vaccins covid-19 (SARS-CoV-2) | 72 |

Liste des tableaux

| | | |
|--------|---|----|
| I.1 | Chronologie des grandes découvertes en vaccinologie | 8 |
| IV.1 | Certains résidus dans les vaccins | 29 |
| IV.2 | Origine et propriétés des principaux adjuvants | 36 |
| V.1 | Contrôles effectués sur le produit fini | 43 |
| VII.1 | Principaux vaccins actuellement disponibles | 62 |
| VII.2 | Nouveaux calendrier Algérien de vaccination | 64 |
| VIII.1 | différents types de vaccins covid-19 | 73 |

Acronymes

AC *Anticorps*

ADN *Acide Désoxyribonucléique*

ADT *Accelerated Degradation Test*

AG *Antigène*

AMM *Autorisation de Mise sur le Marché*

ANPP *Agence Nationale des Produits Pharmaceutiques*

BCG *Bacilles de Calmette et Guérin*

CAM *Complexe d'Attaque des Membranes*

CBER *Center for Biologics Evaluation and Research*

CCM *Contrôleur de la chaîne du froid*

CMH *Complexe Majeur d'Histocompatibilité*

CMUH *Comité des Médicaments à Usage Humain*

CPA *Cellule Présentatrice d'Antigène*

CQ *Contrôle Qualité*

CTD *Dossier Technique Commun*

D-MEM *Milieu d'Eagle Modifié de Dulbecco*

E-MEM *Milieu Minimum Essentiel d'Eagle*

EDA *Epreuve de Dégradation Accélérée*

EMA *Agence Européenne d'Evaluation des Médicaments*

FDA *Food and Drug Administration*

GABA *Gamma-Aminobutyric Acid*

GMT *Geometric Mean Titers (moyenne des concentrations géométriques)*

MCB *Master Cell Bank*

MDK *Madin Darby canine Kidney*

MFM *Myofascite à Macrophage*

MI4A *Market Information for Access to Vaccines*

MRC *Medical Research Council*

OMS *Organisation Mondiale de la Santé*

PCV *Pastille de Contrôle des Vaccins*

RCP *Résumé de Caractéristiques du Produit*

ROR *Rougeole, Oreillon et Rubéole*

SPR *Séro-Protection Rate (taux de séro-protection)*

SWOT *Strengths, Weaknesses, Opportunities, and Threats*

TIV *Trivalent Inactivated Virus*

VIH *Virus d'Immunodéficience Humaine*

WCB *Working Cell Bank*

WI *Wistar Institute*

Introduction

Il est dit que seuls ceux qui ont vu le début des choses peuvent comprendre le présent, avant le développement du premier vaccin, les maladies infectieuses étaient une cause majeure de décès dans le monde entier, l'espérance de vie étant estimée à moins de 50 ans. [1] [2] Plusieurs mesures ont contribué à améliorer considérablement la mortalité et la croissance de la population, mais à l'exception de l'assainissement des eaux, la vaccination reste l'intervention la plus efficace a prouvé sa capacité à éradiquer les agents infectieux et donc améliorer les deux facteurs [3]. Un exemple de réussite est l'éradication de la variole en 1979 après deux siècles de campagnes de vaccination [4].

Cela fait maintenant plus de 215 ans que la vaccinologie a été lancée, elle est née de l'observation que les personnes ayant survécu à la peste ou à la variole ne contractaient pas la maladie deux fois. Pour imiter les effets protecteurs d'une infection naturelle, Jenner - et plus tard Pasteur - a inoculé à des individus des agents pathogènes atténués ou tués. À partir des années 1980, plusieurs vagues de nouvelles technologies ont permis le développement de nouveaux vaccins [5] Les vaccins peuvent généralement être classés en organismes entiers, macromolécules purifiées, antigènes combinés, vecteurs recombinants, peptides synthétiques, ou ADN [6].

Le principe de la vaccination consiste à imiter les réponses immunitaires induites par l'infection, sans induire la maladie, en adaptant le choix de l'approche en fonction de l'étiologie, de l'épidémiologie, de la pathogenèse et de l'immunobiologie de l'infection cible. Le cas échéant, le vaccin idéal induit de fortes réponses immunitaires avec une persistance à long terme, contre des pathogènes très variables et complexes, il contourne l'immunité affaiblie des populations et offre une protection croisée contre de multiples souches sans induire d'effets non spécifiques indésirables. Pour ce faire, le vaccin doit déclencher toutes les étapes menant à l'activation immunitaire et à la mémoire immunitaire en favorisant un mécanisme effecteur adéquat, impliquant des médiateurs et des réponses cellulaires adaptés à la maladie spécifique [7].

Au fur et à mesure de l'évolution de ces types de vaccins, les procédés de fabrication ont dû évoluer également. [6] Aujourd'hui, la purification des éléments microbiens, le génie génétique et une meilleure connaissance de la défense immunitaire permettent la création directe de mutants atténués, l'expression de protéines vaccinales dans des vecteurs vivants, la purification et même la synthèse d'antigènes microbiens, et l'induction d'une variété de réponses immunitaires par la manipulation de l'ADN, de l'ARN, protéines et polysaccharides [8]. Et dans de nombreux cas, des adjuvants, tels que des composés d'aluminium, doivent être ajoutés pour améliorer la réponse immunitaire protectrice [7].

La grande majorité des plus d'un milliard de doses de vaccins fabriquées chaque année dans le monde sont administrées à des personnes en parfaite santé. C'est ce qui justifie les exigences que les vaccins fassent partie des produits les plus rigoureusement conçus, contrôlés et conformes fabriqués aujourd'hui [3]. L'industrie du vaccin est composée d'entreprises qui sont engagées dans l'une ou l'autre des activités suivantes : recherche, le développement, la fabrication, la vente, le marketing et la distribution de vaccins. Leurs revenus proviennent principalement de la vente de produits de vaccination. L'industrie des vaccins est relativement petite par rapport à l'industrie pharmaceutique, mais elle est en pleine croissance. Bien que les représentants de l'industrie du vaccin soient présents dans 50 pays du monde, les grandes entreprises de vaccins sont principalement basées aux États-Unis ou en Europe, et détiennent la part dominante du marché des vaccins en termes de revenus [9].

Après la mise sur le marché et la commercialisation des vaccins, vient le rôle de la pharmacovigilance dans le suivi et la surveillance des événements indésirables rare et difficile à détecter lors des essais cliniques, à l'aide de la notification spontanée des patients et aux analyses et enquêtes faites par les centres de pharmacovigilance et pharmaco-épidémiologie [10].

A posteriori, et après une longue recherche nous avons constaté qu'il y'a une déficience des documents et articles qui réunissent la totalité des étapes du développement et de fabrication des vaccins avec les différentes méthodes entre anciennes et nouvelles ainsi que leur commercialisation et suivi. Dans cette étude, nous avons essayé de rédiger et décrire tout ce qui englobe et concerne les vaccins, de leur exploration jusqu'à leur mise sur le marché. Dans un premier temps nous allons rappeler l'histoire des vaccins, les généralités et les principes immunologiques de la vaccination.

En second, nous allons décrire les phases de développement et – après l'obtention de l'autorisation de mise sur le marché – les étapes de la fabrication ainsi que, les anciens et les nouveaux types de vaccins en particulier, le vaccin du covid-19 de par la situation sanitaire actuelle.

Enfin, nous allons citer les contrôles à réaliser tout le long du processus, la commercialisation et la surveillance en post-AMM.

Histoire

I.1 La variole et les premières inoculations délibérées

I.1.1 Variole

La variole (*smallpox*) a été l'une des maladies virales les plus graves chez l'homme. Elle se transmet par l'inhalation du virus orthopox (*variola*). Les épidémies de cette maladie étaient très fréquentes, tuant environ 30% des personnes infectées (près de 400 000 décès en Europe à la fin du *XVIII^e* siècle). Les vaches peuvent également être infectées par un virus similaire à celui de la variole humaine (*la vaccine*) et développer la maladie de la variole (*cowpox*), qui peut être transmise à l'homme [11].

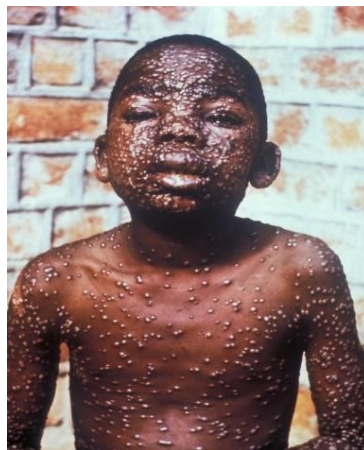


Figure I.1 – Enfant atteint de la variole.

I.1.2 Variolisation

Dès le *V^e* siècle, la variole est mentionnée dans les textes médicaux chinois et il semble que l'inoculation était déjà pratiquée. Toutefois, c'est seulement au *XI^e* siècle que l'on

retrouve la description précise de la pratique de la variolisation en Chine, une sorte de prévention naturelle de la variole, il s'agit de placer dans les narines d'un sujet sain la matière provenant des lésions ou des pustules (pus ou squames broyées) causées par la maladie chez d'autres personnes. Une autre pratique consistait à faire porter par un enfant sain, pendant plusieurs jours, les sous-vêtements d'un enfant infecté [12] [11].

En 1715, *Lady Mary Wortley Montagu*, épouse de l'ambassadeur anglais en Turquie inocule du pus variolique desséché à son fils pour le protéger de la maladie [12].

En 1720, la variolisation fut introduite en Angleterre et pratiquée dans deux milieux sociaux diamétralement opposés : les aristocrates proches d'une avant-garde médicale et les couches défavorisées de la population, servant de cobayes à des expériences [12].

En 1774, un fermier anglais du nom de *Benjamin Jesty* immunisa avec succès sa femme et ses deux enfants avec la variole des vaches pour éviter une épidémie de variole humaine [13].

Le 14 mai 1796, *Edward Jenner* (Angleterre) a fait la même observation que *Benjamin* en inoculant dans la peau d'un enfant de paysan de 8 ans, du pus de vache souffrant de la variole bovine (*cowpox*), et un mois plus tard confirme que le sujet est immunisé en lui inoculant cette fois-ci du pus humain [12], Il prélève alors le contenu des pustules que le jeune garçon développe, et l'inocule au bras d'un autre patient, c'est ainsi que se déroule la technique de vaccination de bras à bras [14]. Ce travail a été la première approche scientifique de contrôle d'une maladie infectieuse au moyen d'une inoculation délibérée, et si *Jenner* s'est inspiré des tentatives empiriques précédentes, il est le premier à avoir situé ses recherches dans une perspective clinique et épidémiologique [12].

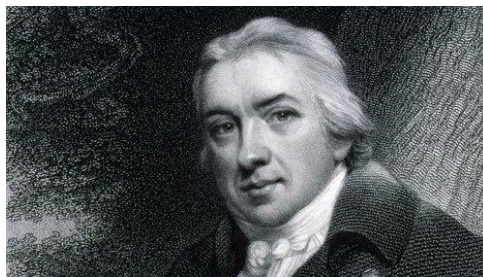


Figure I.2 – Edward Jenner (1749-1823).

Jenner conclut en 1810 que l'immunité conférée ne durait pas toute la vie, sans en clarifier la raison. Les concepts de virulence, d'atténuation, de revaccination sont nés [12].

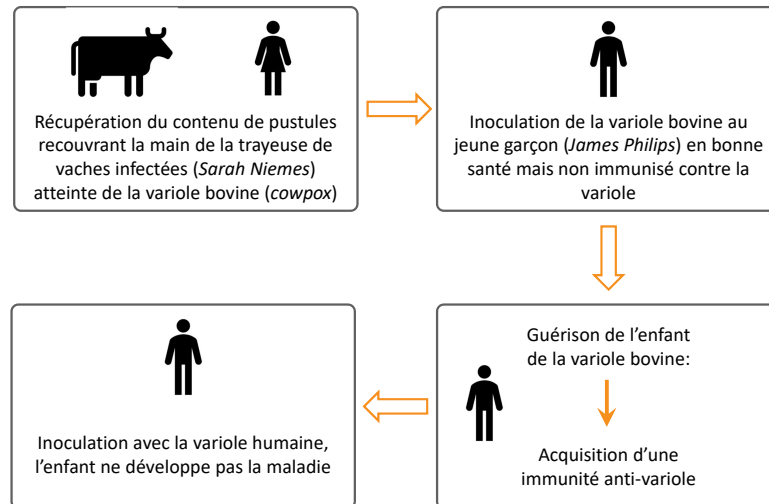


Figure I.3 – Expérience de Jenner [11].

I.2 Pasteur et le concept d'atténuation

Il a fallu attendre près d'un siècle pour pouvoir comprendre et aborder le problème de la vaccination, grâce à *Pasteur*. Il a démontré l'origine des maladies infectieuses, mais a aussi prouvé qu'il était possible de se protéger contre elles par l'injection de germes atténués, provoquant une maladie bénigne inapparente et permettant de développer une immunité solide et durable [12].

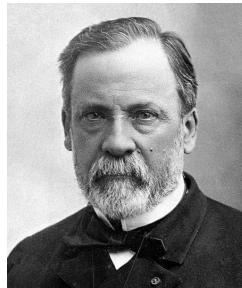


Figure I.4 – Louis Pasteur (1822-1895).

I.2.1 Choléra du poulet

À la fin des années 1870, le travail de *Louis Pasteur* sur l'atténuation du virus du choléra du poulet fut le prochain pas décisif, avec l'utilisation non pas d'un organisme proche de celui provoquant la maladie, mais de cette même souche ayant perdu de sa virulence. Ainsi, il développa l'idée d'une vaccination nécessitant non pas le passage de l'agent infectieux directement de personne à personne, mais de façon artificielle, utilisant une méthode plus sûre et moins susceptible de transmettre d'autres maladies (par vieillissement au contact de l'oxygène de l'air [15]) [12].

I.2.2 Charbon des moutons

En 1881, *Pasteur* développa un vaccin contre le charbon des moutons dont il fit la démonstration de l'efficacité en inoculant le charbon à un groupe de 24 moutons vaccinés ainsi qu'à un groupe de 24 moutons non vaccinés (témoins). Les moutons non vaccinés décédèrent à la suite de l'inoculation, ceux qui étaient vaccinés ne développant pas la maladie [12].

I.2.3 La rage

Pasteur est en pleine possession de sa méthode expérimentale. Il étudie la rage. Il veut isoler le germe mais il est invisible. Puisque la rage est une maladie du système nerveux, *Louis Pasteur* a alors décidé d'inoculer directement dans le cerveau d'un chien une parcelle de cerveau d'un chien enragé. Le chien ainsi inoculé meurt. L'expérience est ensuite reproduite sur le lapin (moins de risque pour les expérimentateurs), après plusieurs passages de lapin en lapin, la durée d'incubation devient stable (7 jours). Les moelles de ces lapins sont rabiques en toute leur étendue avec constance dans la virulence (virulence stable).

Louis Pasteur tente d'obtenir un vaccin en atténuant cette virulence. Il décide de suspendre des bouts de moelles de lapins rabiques dans des flacons où elles sont exposées à l'action de l'air, dans une atmosphère desséchée sous l'action de la potasse. La virulence s'atténue peu à peu jusqu'à s'éteindre. Il injecte ces moelles de lapin vieilles à des chiens enragés, puis des moelles de plus en plus fraîches, c'est-à-dire de plus en plus virulentes. La rage ne se déclare pas. Il établit alors un protocole permettant de lutter efficacement contre la maladie [15] [16].

L'étape fondamentale de la vaccination humaine fut franchie quand *Pasteur*, le 6 juillet 1885, réalise le premier traitement de la rage en post-exposition avec son vaccin antirabique. : L'enfant *Joseph Meister* avait été sévèrement mordu par un chien et, à la demande de sa mère, *Pasteur* lui fit injecter le vaccin. Les inoculations sont poursuivies pendant dix jours, avec succès [12] [17].

I.3 Chronologie des vaccins commercialisés sur le marché mondial

- *Wright*, en 1896, expérimente le premier vaccin tué contre la typhoïde, et en 1915 *Widal* suggère la vaccination triple typhoïde et paratyphoïdes A et B [17];
- En 1923, *Gaston Ramon* a produit une anatoxine diphtérique stable totalement

dépourvue de toxicité, par action du formol sur la toxine pure suivie d'une incubation à 37°C pendant plusieurs semaines. En 1926, *Ramon* et son collaborateur *Christian Zoeller* ont mis au point sur le même principe une anatoxine tétanique, utilisée chez l'homme [12];

- *Calmette et Guérin* ont mis au point le vaccin tuberculeux dans les années 1920, qui a été administré chez l'homme pour la première fois en 1921 [17] [18];
- La possibilité de cultiver les virus sur tissus a permis le développement de vaccins tels que les vaccins poliomyélitiques de *Salk* en 1954, de *Sabin* en 1957, du vaccin morbilleux d'*Enders* en 1960, contre la rubéole et les oreillons, la rage et la varicelle [17];
- Les premiers vaccins polysaccharidiques sont élaborés en 1968, et leur conjugaison à des protéines a amélioré leur efficacité chez le jeune enfant [17].

Cela montre que l'application du vaccin a beaucoup progressé, en fonction de l'amélioration des connaissances en épidémiologie, en sciences fondamentales et en santé publique.

| XVIII^e siècle | |
|---------------------------------|--|
| 1798 | Vaccin contre la variole |
| XIX^e siècle | |
| 1885 | Vaccin contre la rage |
| 1897 | Vaccin contre la peste |
| XX^e siècle | |
| 1923 | Vaccin contre la diphtérie |
| 1926 | Vaccin contre le tétanos et contre la coqueluche |
| 1927 | Vaccin contre la tuberculose |
| 1935 | Vaccin contre la fièvre jaune |
| 1936 | Vaccin contre la grippe |
| 1955 | Vaccin contre la poliomyélite (injectable) |
| 1963 | Vaccin contre la rougeole |
| 1967 | Vaccin contre les oreillons |
| 1969 | Vaccin contre la rubéole |
| 1974 | Vaccin contre la méningite |
| 1986 | Vaccin contre l'hépatite B (recombinant) |
| 1995 | Vaccin contre la varicelle |
| 1996 | Vaccin contre l'hépatite A |
| XXI^e siècle | |
| 2006 | Vaccin contre le papillomavirus |

Tableau I.1 – Chronologie des grandes découvertes en vaccinologie [13].

Généralités sur les vaccins

II.1 Défenses de l'organisme

L'apparition des maladies infectieuses conduit dans la plupart des cas, après la récupération, à installer un état réfractaire qui assure en cas de ré-contact avec l'agent infectieux une absence de la maladie. Ce premier contact avec le pathogène active donc le système immunitaire et ceci permet d'établir une mémoire et de la garder pour fournir une protection à long terme. Ces agents infectieux ont des composants qui peuvent être liés à leurs virulences, et qui sont principalement responsables de l'activation du système immunitaire, la défense de l'organisme est subdivisée en deux [19].

II.1.1 Immunité innée

Qui a une action rapide mais non spécifique représente une première ligne de défense de l'hôte contre les agents pathogènes qui franchissent les barrières physiques de l'organisme (par exemple, la peau, l'intestin, etc.). Les mécanismes de défense innée sont médiés par des cellules résidentes dans les tissus (par exemple, les macrophages et les dendrites) (Figure II.1).

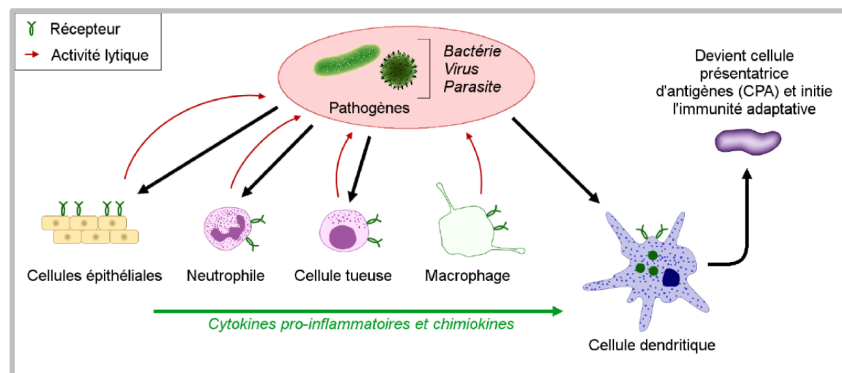


Figure II.1 – Cellules intervenant dans l'immunité innée [20].

II.1.2 Immunité adaptative

Qui est plus lente mais spécifique et surtout qui est dotée d'une mémoire, elle se caractérise par un large ensemble de molécules et de cellules qui lui confèrent des fonctions soit régulatrices, soit effectrices. Les éléments cellulaires de la réponse immunitaire adaptative sont capables de reconnaître des antigènes, c'est-à-dire les composants d'un agent pathogène infectieux qui sont "étrangers" à l'organisme et potentiellement dangereux [20] [7].

II.2 Principe immunologique

II.2.1 Immunité passive

L'immunité passive est un transfert d'anticorps AC d'une personne immunisée à une autre, qui est d'une durée limitée suite au catabolisme normal des AC et leur liaison à l'antigène [21]. Elle peut être naturelle le cas du transfert d'AC entre la mère et le fœtus soit à travers le lait ou le placenta et qui disparaissent pendant la première année du nourrisson, comme elle peut être artificielle lorsqu'un individu reçoit des anticorps produites par un autre humain ou animal c'est le cas d'injection d'immunoglobuline ou de gamma globuline [20] (Figure II.2).

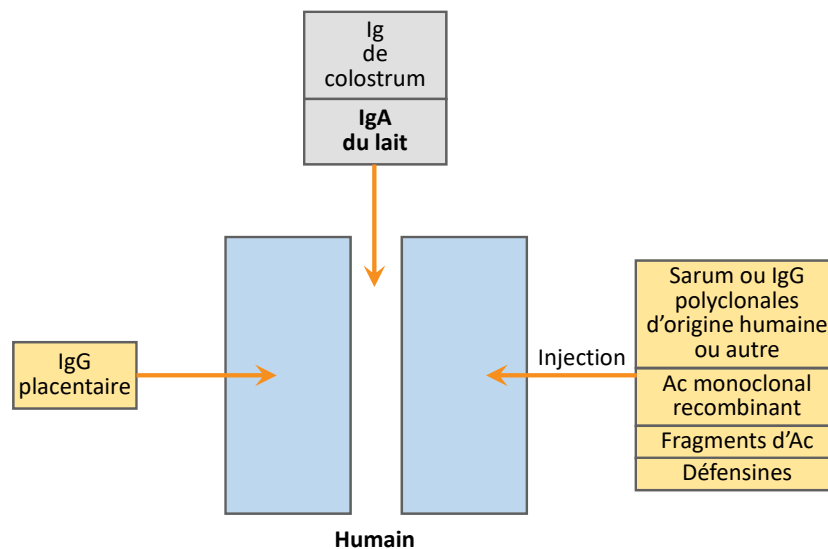


Figure II.2 – Immunisation passive [21].

Avant l'introduction des antibiotiques on utilisait le sérum de cheval contenant des AC contre les toxines diphtériques ou tétaniques de manière prophylactique, actuellement moins utilisé en raison du risque élevé de développer des maladies sériques (hypersensibilité types 3 ou une hypersensibilité immédiate (*type 1*)).

A l'heure actuelle l'immunité passive se limite essentiellement à l'utilisation des anti-

venins où un effet thérapeutique est demandé à la suite d'un incident rare comme une morsure de serpent [21].

II.2.2 Immunité active

Qui est une acquisition d'un état de résistance contre un antigène AG spécifique soit par l'action d'un AC soit par des cellules spécifiques à cet AG. Elle peut être naturelle résultant d'une infection directe à ce pathogène, comme elle peut être artificielle si elle résulte d'une vaccination provoquée sans complication de la maladie [20].

II.3 Principe de la vaccination

II.3.1 Définitions

II.3.1.1 Vaccin

La Pharmacopée européenne (2001) définit un vaccin comme « *une préparation contenant des substances antigéniques ayant la propriété de créer une immunité active et spécifique contre l'agent infectant, la toxine, ou l'antigène élaboré par celui-ci* ». C'est une méthode immuno-prophylactique active, spécifique, et dans certains cas très efficace, constituant un moyen de prévention très utile en santé publique [22].

II.3.1.2 Vaccination

La vaccination est un procédé conférant une immunisation active au patient, c'est-à-dire durable dans le temps, faisant appel à la stimulation immunitaire de l'individu. Le vaccin agit sur le système immunitaire de la même manière qu'un agent pathogène naturel et joue le rôle de la primo-infection sans pour autant déclarer de pathologies. En cas de contact avec le pathogène, l'organisme réagit comme s'il s'agissait d'une réinfection et la réponse du système immunitaire est élevée et très rapide [23].

II.3.1.3 Cascade de la réponse immunitaire

Pour en arriver à une réponse immunitaire et surtout pour assurer une mémoire immunitaire, notre organisme fait recours à différents acteurs, produit des anticorps qui neutralisent les substances étrangères (virus, bactéries, champignons . . .), des cellules qui tuent les cellules infectées par les virus et d'autres types de molécules et de cellules actives.

La mise en place de ces réponses défensives, efficaces et spécifiques est une mécanique complexe. Elle exige la coopération précise entre divers types cellulaires. Et une interaction entre l'immunité innée et l'immunité adaptative est primordiale [24] [25] (Figure II.3).

La première ligne de défense, peu spécifique, fait appel à des cellules phagocytaires,

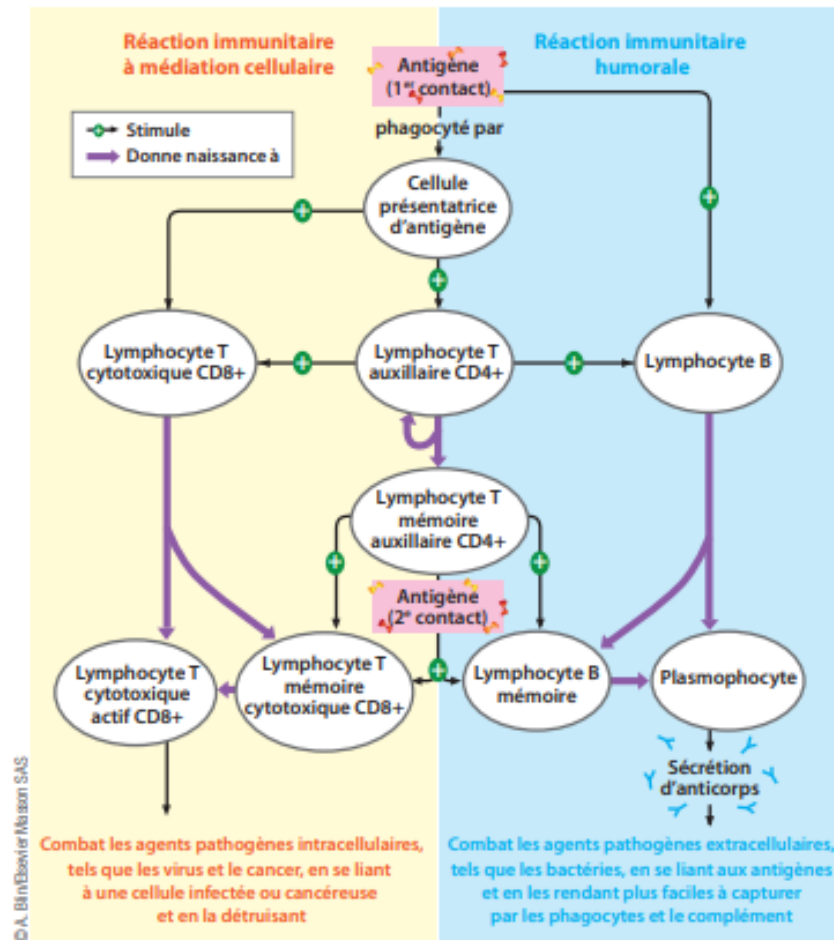


Figure II.3 – résumé de la réponse immunitaire [20].

comprenant les macrophages et les polynucléaires, qui jouent un rôle primordial dans l'élimination des agents agresseurs. Cependant, les défenses les plus efficaces contre les antigènes sont les réponses spécifiques. Singulières et adaptées à chaque antigène, elles sont assurées principalement par les lymphocytes.

Les cellules présentatrices d'antigènes CPA (cellules dendritiques, granulocytes et macrophages), vont capturer l'antigène, elles ont pour rôle de détruire ces substances. Puis migrer vers les ganglions drainants où elles vont initier une réponse immunitaire [26].

En parallèle, les agents infectieux déclenchent l'activation du système complémentaire ou complément. C'est un système biologique complexe présent à l'état normal chez tous les vertébrés. La mise en place de ce système induit le recrutement des cellules phagocytaires, une inflammation et la formation d'un CAM (*Complexe d'Attaque des Membranes*) détruisant les membranes cellulaires des cellules infectées.

Au niveau des ganglions drainants, les CPA vont assurer la rencontre de l'antigène AG avec les lymphocytes T CD4+ naïfs, elles vont présenter l'AG et induire une primo-activation des lymphocytes T CD4+ en T effecteurs. Les LTCD4+ produisent alors diverses

molécules afin d'activer les composants du système immunitaire :

IL-2, facteur de croissance des lymphocytes T (LT), qui stimule la prolifération des LTCD4+ et CD8+ cytotoxiques ;

Interféron gamma, qui contribue à l'activation des fonctions bactéricides des cellules monocytaires, macrophagiques et des fonctions antivirales des LTCD4 + et lymphocytes T CD8+ (LTCD8+) effecteurs [20].

Les lymphocytes TCD8+ reconnaissent les antigènes étrangers présentés par le CMH de classe I (CMH-I) à la surface de toutes les cellules nucléées. Après cette reconnaissance, les LTCD8+ détruisent les cellules infectées [24].

Les lymphocytes T CD4+ effecteurs vont ainsi aider à la commutation isotypique des lymphocytes B (LB) qui vont pouvoir se transformer en plasmocytes, cellules spécialisées dans la sécrétion des anticorps AC qui sont spécifiques de l'antigène vaccinal .Les anticorps de surface d'un LB et les anticorps sécrétés par le plasmocyte issu de la différenciation de ce LB reconnaissent le même antigène [26]. Ces AC sont capables de se fixer sur l'antigène initial bloquant ainsi l'agent pathogène : ce sont des anticorps neutralisants. Ces assemblages Antigène-Anticorps sont reconnus par des cellules tueuses ou « *Natural Killer Cells* » qui détruisent les cellules sur lesquelles les anticorps sont fixés. Les anticorps concourent également au phénomène d'opsonisation en améliorant la phagocytose.

II.4 Facteurs pouvant modifier la réponse vaccinale

[17, 14, 26, 27, 28]

La réponse immunitaire à la vaccination varie considérablement d'un individu à l'autre, elle est influencée par divers facteurs il s'agit notamment des facteurs intrinsèques de l'hôte, la génétique, le sexe, l'âge et la nutrition, des facteurs périnataux tels que l'âge gestationnel, le poids à la naissance, le mode d'alimentation et les facteurs maternels.

De plus, des facteurs liés aux vaccins tels que le type de vaccin, le produit, l'adjuvant, et la dose et des facteurs liés à l'administration calendrier, site et voie d'administration, moment de la vaccination, vaccins co-administrés, sont également importants.

La compréhension de tous ces facteurs et de leur impact sur la conception des études sur les vaccins et sur les décisions relatives aux calendriers de vaccination offre des moyens d'améliorer la qualité, l'immunogénicité et l'efficacité des vaccins. Ces facteurs doivent être pris aussi en considération dans les études cliniques et épidémiologiques où la réponse immunologique en anticorps est le biomarqueur évalué.

II.4.1 La présence ou l'absence d'anticorps maternels

Les anticorps maternels préexistants inhibent les réponses en anticorps du nourrisson à la vaccination, on doit donc tenir compte de la disparition des anticorps d'origine maternelle avant vaccination, surtout en ce qui concerne les vaccins vivants atténués contre la rougeole, la rubéole, les oreillons. En revanche d'autres données montrent que le nourrisson et l'enfant sont capables à s'immuniser très tôt. On peut donc débiter la vaccination dès le deuxième mois de vie, sauf pour les vaccins vivants atténués et les vaccins polysaccharidiques.

II.4.2 La nature et la dose d'antigène administré

Les réponses immunitaires varient considérablement en fonction des types et natures des vaccins. Par exemple, les vaccins vivants induisent généralement des réponses vaccinales élevées conduisant à une protection à vie, souvent après une seule dose alors que les vaccins inactivés, sous-unitaires ou à base d'anatoxines nécessitent généralement plusieurs doses, y compris des doses de rappel, pour obtenir une protection similaire.

La plupart des vaccins disponibles sont formulés pour contenir une concentration optimale. Certains vaccins entraînent une réponse en anticorps plus importante lorsqu'une dose plus élevée est administrée. En pratique, cela n'est pertinent que pour les vaccins qui sont disponibles dans une gamme de concentrations (en fonction des indications), tels que vaccins contre l'hépatite A et l'hépatite B.

II.4.3 Le mode et la voie d'administration du vaccin

L'espacement des doses dans les programmes de vaccination affecte les titres d'anticorps post vaccination. Les schémas qui prévoient des intervalles plus longs entre les doses de vaccin entraînent généralement des réponses immunitaires plus élevées. Les séries de vaccination à court terme induisent toutefois une protection plus précoce.

Un autre facteur influençant les réponses vaccinales qui est la voie d'administration. la vaccination intramusculaire qui constitue le mode habituel d'introduction de nombreux vaccins repose sur une réponse médiée par les lymphocytes T, tandis que la vaccination intradermique active une réponse médiée par les cellules dendritiques, qui nécessite des doses d'antigène plus faibles surtout réservée au BCG et puis la vaccination par voie orale afin de stimuler les réponses humorales IgA protégeant les individus contre l'infection naturelle, se produisant également par voie orale c'est le cas du vaccin poliomyélitique oral type Sabin.

II.4.4 L'utilisation ou non d'un adjuvant

Les adjuvants sont des molécules inertes qui exercent une activité immunostimulante non spécifique, sans être immunogène, et stables chimiquement. Ils sont ajoutés aux vaccins pour susciter des réponses immunitaires plus fortes. L'ampleur et la qualité des réponses vaccinales varient considérablement en fonction des adjuvants ajoutés à un vaccin. Par exemple, le nouvel adjuvant MF59 augmente l'affinité des anticorps et la protection croisée contre le TIV (*Trivalent Inactivated Virus*), et comparé à ceux obtenus avec le vaccin HepB standard, un vaccin contenant le nouvel adjuvant AS04 induit des SPR (*taux séro-protection*) et des GMT (*Geometric Mean Titers* = moyenne des concentrations géométrique) plus élevés.

Mais l'aluminium est l'adjuvant vaccinal le plus couramment utilisé. En son absence, les composants antigéniques de la plupart des vaccins (à l'exception des vaccins vivants atténués) ne parviennent pas à déclencher une réaction adéquate. Paradoxalement, malgré près de 90 ans d'utilisation généralisée des adjuvants à base d'aluminium, leur mécanisme d'action précis reste mal compris mais en général il repose sur leur effet de dépôt au site d'injection. Un relargage progressif de l'antigène vaccinal se produit (80% des antigènes protéiques sont relâchés dans les heures qui suivent l'injection). Les sels d'aluminium induisent par ailleurs la différenciation des macrophages en cellules dendritiques et favorisent la production de réponses immunitaires Th2 et d'anticorps.

Le profil de sécurité des adjuvants à base d'Aluminium est excellent. Ils permettent même de réduire la fréquence et la sévérité des réactions inflammatoires locales induites par les Ag en leur absence. Les effets indésirables démontrés sont essentiellement locaux : réactions inflammatoires transitoires, induction de granulomes en site d'injection,...

La mise en accusation de la sécurité des adjuvants à base d'Aluminium a donc créé la surprise. Un syndrome découvert récemment et que l'on désigne sous le nom de MFM (*Myofascite à Macrophage*) a été spécifiquement attribué aux adjuvants d'aluminium chez des personnes à qui l'on a injecté des vaccins contre l'hépatite A et B et contre le tétanos. On a découvert que les patients atteints de la MFM souffraient d'arthromyalgie diffuse, de fatigue chronique, d'un affaiblissement musculaire et, dans certains cas, de sclérose en plaques. On a également signalé des conséquences mortelles à l'injection de vaccins hexavalents à l'adjuvant aluminique pour enfants, à la suite de quoi l'un de ces vaccins (Hexavac) a été retiré du marché, apparemment en raison de son efficacité médiocre. L'analyse post-mortem de dix enfants âgés de 4 à 17 mois (dont 5 avaient été vaccinés avec Hexavac et un avec Infanrix Hexa), a révélé des découvertes pathologiques anormales, qui affectaient particulièrement le système nerveux.

L'utilisation continue d'adjuvants d'aluminium dans divers vaccins destinés aux enfants comme au public général peut y avoir un rapport significatif. L'aluminium présenté sous cette forme comporte plus particulièrement des risques d'auto immunité, d'inflammation du cerveau à long terme et des complications neurologiques qui lui sont associées et peut donc avoir des conséquences négatives sur l'état de santé général [29].

II.4.5 Etat nutritionnel

Les données indiquent que l'état nutritionnel ainsi que les nutriments individuels dans l'alimentation peuvent affecter les titres de vaccination.

Une carence en protéines peut affecter les réponses immunitaires chez les jeunes enfants, et cela en fonction de sa gravité, elle. Provoque une diminution de l'immunité à médiation cellulaire due à une régression thymique et une diminution des lymphocytes des organes lymphoïdes. En revanche, la majorité des études effectuées n'a pas révélé de modifications apparentes de l'immunité humorale. En général, il semble que l'immunité à médiation cellulaire et non spécifique soit plus sensible aux carences nutritionnelles que l'immunité humorale.

Développement de vaccin

Le développement d'un vaccin, tout comme le développement d'un médicament est un processus très complexe qui implique de multiples étapes de plus en plus coûteuses (budget total moyen estimé à un milliard d'euros [30]), et une longue période de temps. On estime qu'il faut 15 ans pour qu'un vaccin passe de la recherche exploratoire au laboratoire, au développement de processus de fabrication, en passant par plusieurs essais et contrôles et enfin à l'homologation. Ce délai s'explique par la nécessité de disposer d'un vaccin à la fois sûr et efficace [31] [32].

Les vaccins dits « *candidats* » peuvent échouer à tout moment, faisant de la recherche et développement une entreprise très risquée. Environ un quart des produits qui font l'objet d'essais cliniques parviennent sur le marché [32].

Bien que les dernières étapes du développement d'un vaccin soient désormais principalement menées par l'industrie, et en particulier par quelques entreprises multinationales, le secteur public joue un rôle très important dans ce processus. Le gros de la recherche fondamentale est réalisé par les universités et les laboratoires publics, lesquels contribuent également dans de nombreux cas à de véritables découvertes [32].

III.1 Phase d'exploration

Le développement des vaccins commence par la phase exploratoire. Cette phase est consacrée d'une part à la compréhension de la maladie, et d'autre part de la connaissance de l'agent infectieux en cause. Elle a pour but d'identifier les antigènes pour la sélection des vaccins candidats qui poursuivront les études. Cette étape dure 2 à 4 ans [33].

III.1.1 Comprendre la maladie

Dans le processus de développement d'un vaccin, la première étape est la compréhension de la maladie, et cela se fait par [34] :

- L'identification de l'agent infectieux ;
- La localisation de cet agent dans la nature ;
- La connaissance des modalités et de la fréquence de transmission ;
- L'étude des mécanismes de défense immunitaire du corps humain.

III.1.2 Connaître l'agent infectieux

L'agent pathogène ou l'un de ses constituants est le principe actif du vaccin. Pour réussir à concevoir de nouveaux vaccins, il faut :

- Comprendre les propriétés biochimiques de cet agent ;
- Étudier sa capacité de se reproduire artificiellement ;
- Analyser son matériel génétique et ses antigènes ;
- Déterminer l'espèce animale chez qui le vaccin sera testé, et dont la réaction immunitaire doit être le plus près possible de celle de l'humain. [34]

III.2 Phase préclinique

Les études précliniques sont une condition préalable au passage d'un vaccin candidat du laboratoire à la clinique. Ils comprennent tous les aspects des tests, de la caractérisation des produits, la preuve de concept, les études d'immunogénicité et les tests d'innocuité (*toxicologie*) chez les animaux avant d'introduire le produit chez l'homme [35].

Plusieurs actes se déroulent dans ce stade :

- L'agent infectieux est affaibli, tué ou divisé en petites portions pour le priver de sa capacité à transmettre des maladies ;
- La sélection et purification des antigènes qui seront reconnus par le système immunitaire et qui déclencheront la production d'anticorps ;
- L'ajout de plusieurs substances au vaccin pour prolonger sa durée de conservation, améliorer son efficacité ou faciliter son administration, est possible ;
- Évaluation de la toxicité liée à l'adjuvant, avec ou sans l'antigène ;
- Étude de la toxicité sur le développement (dans le cas où le vaccin doit être administré pendant la grossesse) ;

— La sélection de la posologie et de la voie d'administration. [34] [35] [36]

Ces essais comprennent également la fabrication de différentes versions du vaccin afin de pouvoir tester plusieurs doses et variations. Les différentes versions produites sont testées sur les espèces animales sélectionnées. On documente entre autres la production d'anticorps chez l'animal et les réactions indésirables. La version du vaccin qui a donné les meilleurs résultats et qui est la mieux tolérée est sélectionnée, puis quelques centaines de doses sont produites [34].

En général, la toxicologie des vaccins est évaluée dans des études à dose unique et à doses répétées chez deux espèces de mammifères, généralement un rongeur et un non-rongeur [31].

Le vaccin est généralement administré par la voie d'administration prévue pour l'usage clinique et testé à la dose maximale proposée pour l'homme. Les études à doses répétées comprennent généralement une dose de plus que celle prévue pour l'utilisation chez l'homme, p. ex. si un régime à 3 doses est prévu pour les études humaines, les études animales examineront la sécurité d'un régime à 4 doses [31].

Les tests d'immunogénicité précliniques déterminent la capacité du vaccin expérimental à induire des réponses immunitaires humorales et/ou cellulaires. Ces tests sur les animaux doivent être les mêmes qui seront utilisés dans les essais cliniques [31].

Enfin, ce n'est que lorsque la recherche préclinique est jugée satisfaisante que la recherche clinique est menée, et il faut noter que le terme préclinique ne signifie pas que les études chez l'animal ne se poursuivent pas au-delà de la phase I du développement clinique [36].

III.3 Phase clinique

En bref, les programmes d'essais cliniques pour les vaccins préventifs évaluent la dose-réponse, l'immunogénicité, la sécurité et l'efficacité, et tendent à être plus importants que ceux des autres types d'interventions thérapeutiques [37]. Ils se déroulent traditionnellement en trois phases et durent entre 6 et 8 ans :

III.3.1 Phase I

Au cours de cette phase, les différentes doses du nouveau vaccin sont administrées à un petit nombre de volontaires sains, généralement entre 10 et 100 personnes. L'objectif de cette phase est d'évaluer la réponse immunitaire (*immunogénicité*) et la sécurité (*innocuité*) du vaccin chez l'homme [34]. Cette phase permet donc :

— L'essai sur un petit nombre de sujets ;

- L'évaluation de l'immunogénicité ;
- L'évaluation des effets indésirables ;
- L'essai des vaccins pédiatriques d'abord chez l'adulte (sécurité). [36]

III.3.2 Phase II

Cette phase permet de confirmer l'immunogénicité et l'innocuité du vaccin, et à déterminer le calendrier et les doses optimales chez un nombre plus important de volontaires sains (habituellement entre 50 et 500) ;

- Essais à grande échelle (plus de 100 sujets) ;
- Études préliminaires sur l'efficacité biologique ;
- Inclusion consécutive de sujets appartenant à des populations et des tranches d'âge qui seront les cibles du vaccin ;
- Étude de l'augmentation de dose, de l'immunogénicité, du rôle des adjuvants et suite de la documentation sur la sécurité ;
- Définition de la formulation et de la dose. [36] [38]

III.3.3 Phase III

Enfin, des essais de phase III peuvent être menés pour les vaccins candidats qui se sont avérés suffisamment sûrs et immunogènes lors des essais de phase II. Le rôle distinctif des essais de phase III est de mesurer l'effet protecteur des vaccins contre des infections d'origine naturelle dans des populations à risque. Les essais de phase III sont habituellement très importants, incluant souvent des milliers de sujets et sont toujours menés dans les populations et tranches d'âge ciblés par le vaccin [38].

En raison de l'effectif plus important qu'ils incluent, les essais de phase III sont habituellement capables de détecter des événements indésirables relativement peu fréquents liés à la vaccination. De plus, ces essais de phase III mesurent à la fois les réponses immunitaires à la vaccination et la protection vaccinale [38].

Il est de loin préférable de produire des lots de consistance dans l'usine de production du vaccin final afin de démontrer la capacité de fabriquer le vaccin de manière fiable et d'utiliser ces lots dans les essais d'efficacité de phase III [39].

Sinon, des études immunitaires seront nécessaires pour "faire le lien" entre le produit utilisé dans l'essai d'efficacité et le matériel fabriqué dans l'usine commerciale. Ceci est particulièrement difficile si les études immunitaires ne sont pas hautement reproductibles, comme c'est le cas pour la plupart des tests immunitaires cellulaires. De telles décisions

posent des risques financiers importants si le produit en développement échoue et nécessite l'accès à de grandes quantités de capitaux, un attribut généralement réservé aux grandes entreprises pharmaceutiques [39].

La figure III.1 donne une vue d'ensemble sur la recherche et le développement des vaccins :

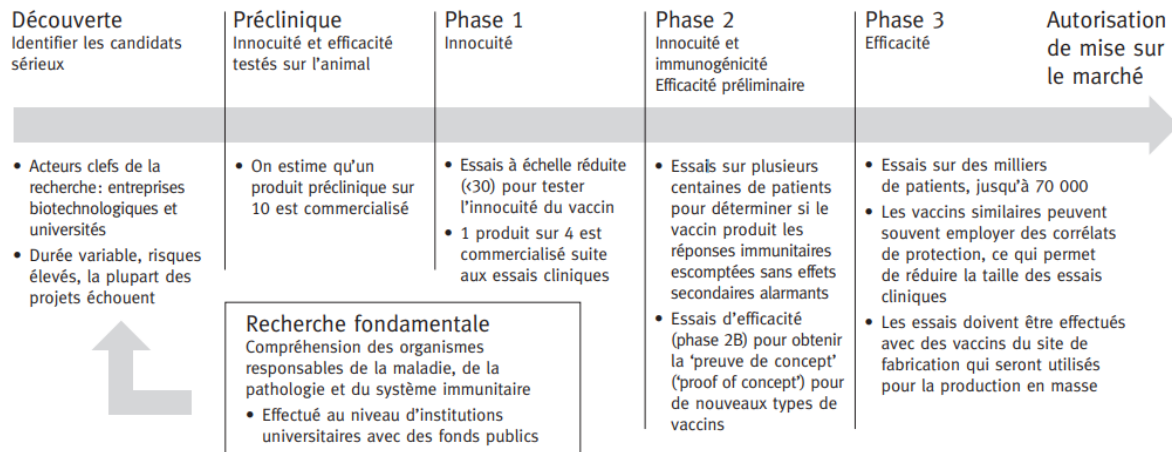


Figure III.1 – recherche et développement des vaccins [32].

L'objectif de ces essais est de mettre en place la documentation scientifique (tolérance, immunogénicité, situations d'administration, efficacité) indispensable à l'enregistrement du nouveau vaccin par les autorités réglementaires [40].

III.4 Autorisation de mise sur le marché (AMM)

Aux États-Unis : Le *Center for Biologics Evaluation and Research* (CBER) de la *Food and Drug Administration* (FDA) est chargé de réglementer les vaccins [41].

En Europe : La réglementation européenne relative à *Autorisation de Mise sur le Marché* (AMM) pour les médicaments à usage humain classe les vaccins dans les médicaments immunologiques. Leur commercialisation obéit donc aux mêmes règles qui sont appliquées sur les médicaments [42].

Le dossier de demande de l'AMM doit être sous format standard appelé *Dossier Technique Commun* (CTD). Il comprend une documentation chimique, pharmaceutique et biologique relative à la substance active et au produit fini avec une étude de sécurité virale (dont les informations sont conformes aux recommandations européennes) [43] [44].

La partie pharmaceutique du document comprend des informations sur la composition, la procédure de fabrication et sa validation, les différents contrôles (des matières premières, produits intermédiaires, et produits finis) [43].

Les informations pharmaco-toxico-cliniques présentent les résultats des études précliniques et cliniques de tolérance, d'immunogénicité et d'efficacité [43]. Pour les pays de l'Union Européenne, il existe 3 procédures d'enregistrement : centralisée, de reconnaissance mutuelle et décentralisée [42] [43] [44].

III.4.1 La procédure centralisée

Coordonnée par l'*Agence Européenne d'Évaluation des Médicaments* (EMA), l'opinion scientifique est rendue par le *Comité des Médicaments à Usage Humain* (CHMP). La décision administrative revient à la Commission européenne après consultation officielle des États (Comité permanent). L'AMM octroyée de façon centralisée est contraignante pour l'ensemble des vingt-cinq États membres de l'Union européenne (plus la Norvège et l'Islande) [42] [44].

III.4.2 La procédure de reconnaissance mutuelle

Repose sur le fait que l'AMM accordée par un État membre de l'Union européenne (État de référence) soit reconnue par les autres États membres dans lesquels le médicament est destiné à être mis sur le marché. L'État de référence évalue le vaccin et rédige un rapport d'évaluation soumis aux autres États concernés. L'AMM est donc délivrée de façon nationale [42] [44].

III.4.3 La procédure décentralisée

Un dossier de demande d'AMM est soumis par un laboratoire pharmaceutique pour un médicament pour lequel il n'existe pas d'AMM dans l'Union européenne. Un État membre (de référence) émet un rapport avec proposition de RCP (*Résumé de Caractéristiques du Produit*), notice et étiquetage. Ce rapport est commenté par les États membres dans lesquels le laboratoire pharmaceutique souhaite avoir une AMM. À l'issue de la procédure, les États membres octroient nationalement l'AMM. La notification comporte la décision, le RCP, la notice et l'étiquetage harmonisé par les États à la fin de la procédure [42] [44].

En Algérie, vu la loi 18-11 du 29 juillet 2018 relative à la santé, les vaccins sont classés parmi les médicaments immunologiques (*Art 210*). Et leur homologation/enregistrement est délivrée par l'*Agence Nationale des Produits Pharmaceutiques* (ANPP), après avis des commissions d'enregistrement et d'homologation créés auprès de cette agence. (*Art 230*).

Cas du covid-19 : L'Algérie, comme l'ensemble des agences mondiales, a mis en place une procédure d'enregistrement accélérée des vaccins anti covid-19 via l'ANPP, poussé par le ministère de l'industrie pharmaceutique et l'institut Pasteur qui est en collaboration étroite avec ces dernières.

L'enregistrement des vaccins implique une procédure qui prend beaucoup de temps partout dans le monde, mais cette procédure a été accélérée à cause de la situation sanitaire « *urgente* » [45].

Finalement, ce n'est que lorsqu'un avis favorable aura été prononcé par chacun des trois groupes d'évaluation (pharmaceutiques, sécurité virale, et toxico-clinique) et approuvé par la commission d'AMM que le directeur général de l'agence du médicament prendra la décision d'octroyer l'AMM du vaccin. Cette autorisation garantit que les patients traités reçoivent des vaccins dont la qualité pharmaceutique, la sécurité et l'efficacité sont démontrées et validées.

Chapitre IV

Fabrication des vaccins

Les vaccins se différencient des produits pharmaceutiques classiques par l'origine biologique de leurs principes actifs. Ceux-ci sont en effet issus de systèmes de production auxquels participent des organismes vivants. La variabilité intrinsèque à toute production biologique explique les difficultés de maîtrise de la reproductibilité des procédés de fabrication. La grande majorité des plus d'un milliard de doses de vaccins fabriquées chaque année dans le monde sont administrées à des personnes en parfaite santé. C'est ce qui explique que les vaccins doivent être parmi les produits les plus rigoureusement conçus, contrôlés et conformes fabriqués aujourd'hui [3]. Le processus de fabrication des vaccins est plus long et complexe que celui des autres médicaments. Cela est spécialement dû aux caractéristiques particulières des matières premières. Etant donné qu'ils s'agissent de substances biologiques et de microorganismes vivants obligeant bien évidemment plusieurs contrôles pour préserver l'innocuité et assurer la qualité du produit final.

Deux grandes étapes de fabrication sont à distinguer : la fabrication biologique et la fabrication pharmaceutique.

IV.1 Fabrication biologique

La fabrication biologique se fait à partir d'une banque de germes il y a plusieurs étapes qui vont mener à la production d'une unité, ou même « *un lot* » d'antigène vaccinal, mélangé parfois avec un adjuvant afin de former, « *un vrac* » de principe actif [47]. La fabrication biologique comporte les étapes de banque de germe, culture, de récolte, de concentration, de purification de l'antigène et d'inactivation. Elle aboutit donc à un antigène concentré et purifié à partir duquel est fabriquée la valence antigénique.

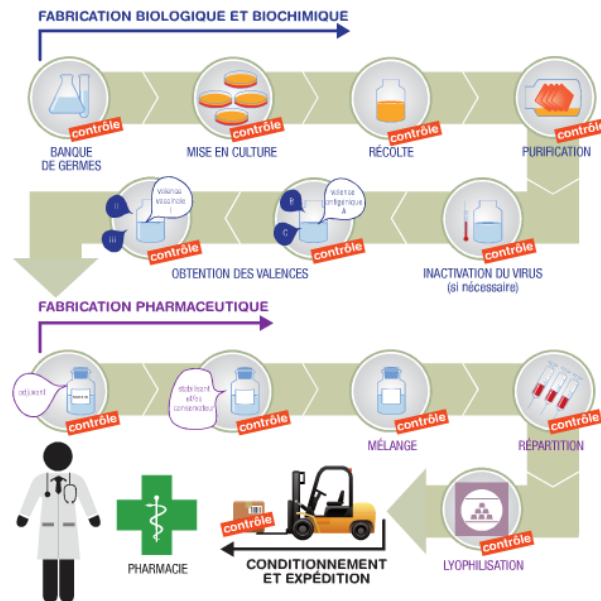


Figure IV.1 – Les étapes de fabrication d'un vaccin [46].

IV.1.1 Banque de germe

Point de départ du procédé, la banque de germes regroupe des virus ou des bactéries qui doivent garder des propriétés constantes afin d'éviter des dérives génétiques que pourraient causer des cultures successives des microorganismes source d'antigènes, et de garantir des vaccins de qualité.

La production est basée sur un système dit « *système de lots de semence bactérien ou viral et système de banques cellulaires* ». C'est un ensemble de récipients appropriés dont les contenus sont d'une composition uniforme et qui sont stockés dans des conditions définies.

La première étape consiste à établir une banque de cellules primaire (*Master Cell Bank*, MCB). Une culture de microorganismes ayant généralement été préparée à partir du clone de cellules sélectionné dans des conditions définies, réparti en plusieurs récipients et stockés dans des conditions définies. On utilise la MCB pour dériver toutes les banques de cellules de travail. Lot de semence primaire virale (MVS) quand ça concerne les virus.

La seconde étape consiste à préparer une banque de cellules de travail (*Working Cell Bank*, WCB). une culture homogène de micro-organismes ou de cellules, réparti uniformément dans un nombre de récipients dérivés d'une MCB qui sont stockés de façon à garantir la stabilité et destinée à être utilisée dans la production de vaccin. Lot de semence de travail virale (WVS) quand on parle de virus [9].

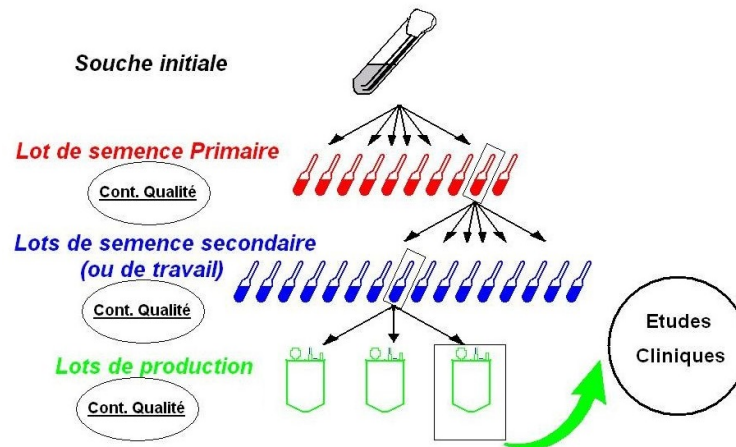


Figure IV.2 – Le système de lot de semence [9].

IV.1.2 Culture

La fabrication des vaccins qui sont à base d'agents infectieux (des bactéries ou des virus) est reliée à la production en grande quantité, de façon artificielle en laboratoire de ces agents [48].

IV.1.2.1 Production des antigènes bactériens

Les cultures bactériennes sont inoculées dans des milieux nutritifs spécifiques. D'abord des petits récipients d'un volume d'une dizaine de litres puis de grandes cuves et enfin des fermenteurs, d'un volume allant de centaines à des milliers de litre.

IV.1.2.2 Production des antigènes viraux

Les virus ne peuvent se multiplier qu'à l'intérieur d'une cellule vivante, ils ont donc besoin des cultures cellulaires. Exigeants donc des milieux nutritifs spécifiques.

Les milieux les plus utilisés sont :

- Le milieu 199 de Hanks qui comprend notamment des vitamines, des acides aminés et des sels minéraux ;
- Le milieu E-MEM (*Milieu Minimum Essentiel d'Eagle*) contenant du glucose, des acides aminés des vitamines et des sels minéraux
- Le milieu D-MEM : qui est une variante du milieu E-MEM. Ce milieu contient quatre fois plus de vitamines et d'acides aminés et deux à quatre fois plus de glucose que l'E-MEM. Il contient en outre du Fer ;
- Le milieu D-MEM est approprié pour nourrir presque tous les types de cellules, entre autre les cellules de singe, de Hamster, de rat, de souris, de volaille, de poisson, ainsi que les cellules humaines.

Plusieurs types de cultures cellulaires sont utilisés pour la production du virus [49] :

Culture sur cellules animales

Jusqu'au début du 20^e siècle, les vaccins étaient principalement produits en utilisant des tissus animaux, tels que des tissus nerveux extraits de lapins, de moutons ou de chèvres, des cerveaux d'animaux (souris, rat ou lapin), ou en utilisant le sérum sanguin d'animaux infectés.

Culture sur œuf embryonné

Depuis les années 1930, des méthodes de culture de virus en laboratoire, utilisant des œufs de poule embryonnés, ont été développées et utilisées pour produire et fabriquer des vaccins humains et vétérinaires. Les œufs sont encore largement utilisés, notamment dans la fabrication du vaccin contre la grippe saisonnière. Cependant, ils présentent un certain nombre de limites, notamment le risque d'approvisionnement insuffisant, les processus longs avec des rendements irréguliers, les coûts de fabrication élevés et le risque de réactions allergiques aux composants de l'œuf.

Les cultures cellulaires spécifiques

Pour surmonter les limitations de l'œuf, la technologie de la culture cellulaire a été introduite, offrant une plus grande flexibilité que les procédures de fabrication traditionnelles. Depuis lors, l'utilisation de substrats de cellules primaires, comme les fibroblastes primaires d'embryon de poulet (CEF), a grandement facilité la fabrication de vaccins (p. ex. contre la rougeole et les oreillons).

- Les cellules primaires étaient dérivées directement d'une source animale et n'étaient pas stockées - ou alors de manière limitée - dans des banques de cellules. Cependant, leur utilisation a suscité des inquiétudes en raison de leur capacité limitée d'autorenouvellement et du risque de contamination des cultures primaires, car les cellules devaient être fraîchement préparées pour chaque lot de production de vaccins. Les exigences croissantes en matière de rendement et de sécurité de la production de vaccins ont poussé au développement de substrats cellulaires plus sûrs, moins chers et plus efficaces. Les premiers substrats cellulaires développés à cette fin comprenaient des lignées cellulaires diploïdes et continues.
- Les lignées cellulaires diploïdes, telles que les cellules MRC-5 (*Medical Research Council 5*) et WI-3 (*Wistar Institute 3*), dérivées de poumons humains, obtenues à partir de cultures primaires. Elles ont un caryotype normal ou presque normal, mais présentent une capacité limitée de propagation en série, qui se termine par la sénescence et l'arrêt de réplication.
- À l'inverse, les lignées cellulaires, telles que les cellules MDK (*Madin Darby canine*

Kidney) et les cellules Vero dérivées du rein du singe vert africain, présentent une capacité d'auto-renouvellement infinie et peuvent être facilement disponibles pour la production à partir de systèmes de banques cellulaires, ce qui permet une caractérisation et une reproductibilité étendues des populations cellulaires pour une période indéfinie.

Cependant, en fonction du nombre de passages, des modifications génétiques peuvent se produire et conduire à un phénotype tumorigène du substrat cellulaire. Par exemple, la lignée cellulaire Vero à des niveaux de passage élevés (162 passage) présente une instabilité génétique et développe un phénotype tumorigène.

IV.1.2.3 Production des antigènes par génie génétique

L'introduction des techniques d'ADN recombinant à partir des années 1970 a permis un nouveau saut technologique dans le développement des vaccins. L'utilisation de la biologie moléculaire et de la génie génétique a permis d'élaborer non seulement de nouvelles stratégies d'atténuation virale, mais aussi de nouveaux types de vaccins. L'expression de protéines antigéniques à partir de leur ADNc était maintenant possible, ce qui a permis de produire de grandes quantités d'antigènes très purs et donc de fournir davantage de doses. Par exemple, si le premier vaccin contre l'hépatite B (VHB) a été fabriqué en purifiant le plasma de patients infectés, aujourd'hui, les vaccins recombinants contre le VHB sont produits dans des cellules CHO grâce au développement de lignées cellulaires génétiques [4].

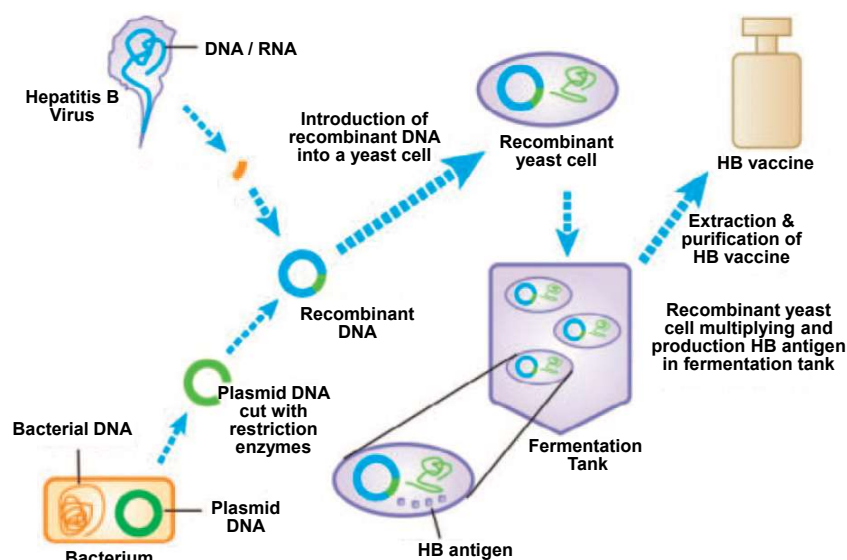


Figure IV.3 – Production du vaccin anti-hépatite B [50].

IV.1.3 Récolte et concentration

La récolte est une étape pendant laquelle on extrait l'antigène du milieu de culture. Il se fait par deux techniques. Pour les antigènes contenus dans des corps microbiens, les cellules sont recueillies et le milieu rejeté par centrifugation aseptique. Et pour les antigènes solubles, c'est le milieu de culture qui est recueilli et les cellules qui sont rejetées par centrifugation ou filtration aseptique. Pour qu'après concentrer l'antigène, et permettre de réduire les volumes à traiter durant toutes les étapes de purification. Et cela par fractionnement avec des sels (sels de calcium) ou des solvants (éthanol) et/ou par ultrafiltration au moyen de membranes filtrantes de porosité moléculaire bien déterminées [9].

IV.1.4 Purification

On a l'antigène qui se trouve dans un mélange complexe composé entre autres d'éléments nutritifs utilisés pour la culture et de nombreux composants cellulaires. Il peut s'agir d'impuretés si ces éléments proviennent : du produit lui-même (précurseurs, agrégats...), ou du procédé (protéines cellulaires de l'hôte...), ou bien de contaminants s'ils proviennent de l'extérieur (virus adventices, biocharge...).

L'antigène purifié est obtenu par plusieurs étapes qui se suivent basées sur des propriétés physico-chimiques particuliers des molécules d'antigène : leur taille, leur charge électrique, leur densité leur hydrophilie et leur solubilité et cela se fait par différents techniques : chromatographie, ultrafiltration, ultracentrifugation, électrofiltrations, ultracentrifugation isopycniq, extraction par des solvants, par chromatographie, et fractionnement par précipitation.

La purification de produits biologiques ne peut jamais être complète elle permet alors d'extraire et d'isoler l'antigène, avant que celui-ci ne soit mélangé à d'autres excipients à l'étape de formulation, afin de permettre son utilisation et sa conservation [9].

| Résidus | Vaccin | Quantité (mg) |
|-------------------------|-----------------------|---------------|
| Formaldéhyde | Polio | 0,1 |
| | Hib-HBsAg | 0,0002 |
| | HepA | 0,05 |
| | DTaP | 0,1 |
| | Encéphalite Japonaise | 0,1 |
| Néomycine | Rage | < 0,15 |
| | Rougeole | 0,025 |
| Protéines d'oeuf | Influenza | 0,001 |

Tableau IV.1 – Certains résidus dans les vaccins [51].

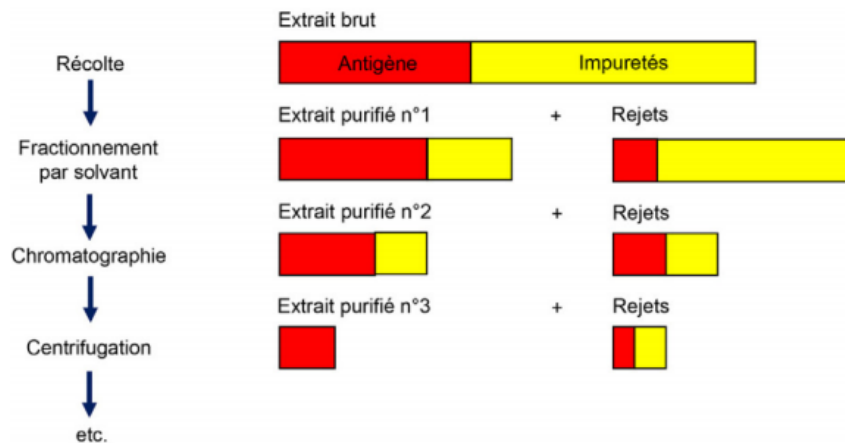


Figure IV.4 – Obtention de l’antigène par purifications successives [49].

IV.1.5 Inactivation

Consiste à inactiver ou à tuer un organisme normalement pathogène. Ainsi, tous les antigènes de l’organisme sont disponibles pour le système immunitaire, mais l’organisme lui-même est rendu inoffensif. Cette approche est la plus appropriée dans les cas où l’organisme ne possède pas de composants toxiques et peut être inactivé sans nuire à la fidélité des antigènes.

Plusieurs vaccins viraux et bactériens sont produits de cette manière, comme ceux contre le virus de la grippe, le virus de l’hépatite A, le virus de la rage et *Bordetella pertussis* à cellules entières.

En raison de leur incapacité à se répliquer *in vivo*, les vaccins tués sont généralement moins immunogènes que les vaccins vivants. Pour compenser, les vaccins tués sont souvent administrés en même temps qu’un adjuvant (comme les sels d’aluminium) afin d’augmenter leur puissance.

En outre, les vaccins tués ne déclenchent pas efficacement l’immunité à médiation cellulaire (en particulier les lymphocytes T cytotoxiques, ou CTL).

Les procédés de fabrication des vaccins à base d’organismes tués sont similaires à ceux des vaccins vivants atténués. Cependant, une fois purifiés les organismes vivants sont inactivés par traitement avec des agents chimiques tels que le formaldéhyde et la β -propiolactone [52].

IV.1.6 Atténuation

L’idée de l’atténuation des infections virulentes s’est développée lentement au cours des siècles. L’utilisation par *Jenner* d’un poxvirus animal (probablement la variole du cheval) pour prévenir la variole reposait essentiellement sur l’idée qu’un agent virulent pour les

animaux pouvait être atténué chez l'homme.

Cette idée a joué un rôle dans le développement du *Bacilles de Calmette et Guérin* (BCG) mais est encore plus évidente dans la sélection des souches de rotavirus rhésus et bovins pour faciliter la création de vaccins contre le rotavirus humain.

C'est *Pasteur* et ses collègues qui ont formulé plus clairement l'idée de l'atténuation et démontré son utilité, d'abord avec *Pasteurella multocida*, la cause d'une maladie diarrhéique chez les poulets, puis de l'anthrax chez les moutons, et surtout le virus de la rage chez les animaux et l'homme. Leurs premières approches impliquaient l'exposition à l'oxygène ou à la chaleur, qui ont toutes deux joué un rôle dans le développement du vaccin contre la rage.

Cependant, la technique plus puissante de la culture en série d'un agent pathogène in vitro ou sur des hôtes inhabituels a été mise au point par *Calmette et Guérin*, qui ont fait passer des bactéries tuberculeuses bovines 230 fois dans des milieux artificiels pour obtenir une souche atténuée pour protéger contre la tuberculose humaine.

Plus tard au 20^{ème} siècle, *Sellards et Laigret* et, avec plus de succès, *Theiler et Smith* ont atténué le virus de la fièvre jaune par des passages en série chez la souris et dans des tissus d'embryons de poulet [53].

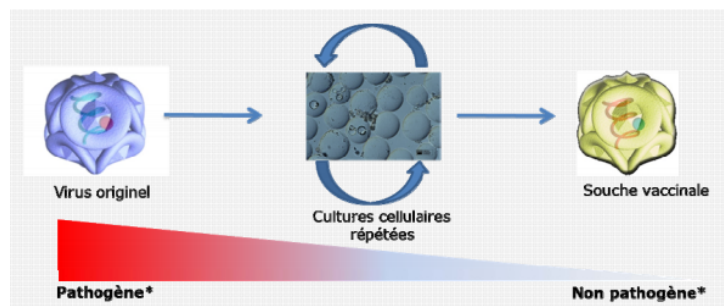


Figure IV.5 – Atténuation par passage sur culture cellulaire [54].

Puis la nouvelle technique d'atténuation et cela par des mutations dirigées : Ce procédé est long est aléatoire. Les gènes impliqués dans le pouvoir pathogène sont modifiés ou supprimés de telle façon que la souche perde tout pouvoir pathogène [55].

IV.2 Fabrication pharmaceutique

L'antigène une fois sous forme de vrac, mélangé ou non avec un adjuvant, est ensuite transformé en produit fini par les étapes successives de la fabrication pharmaceutique :

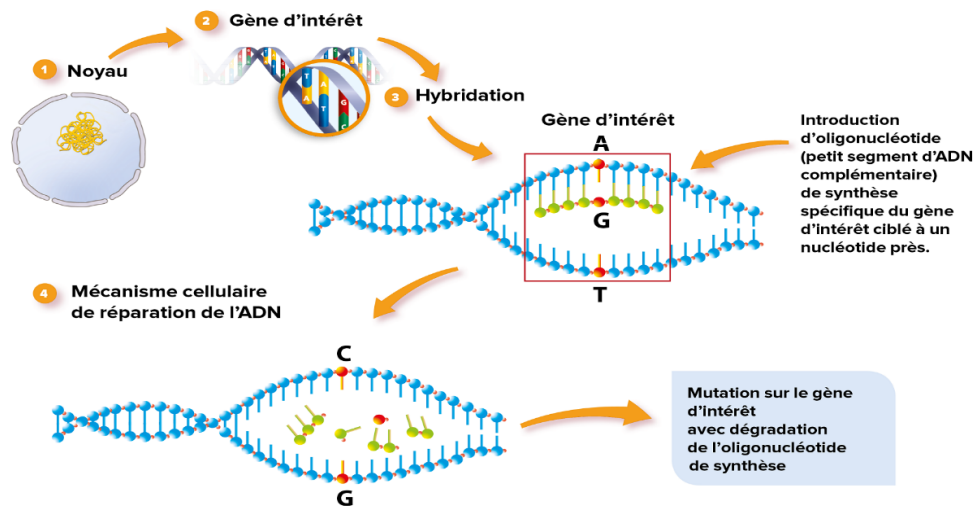


Figure IV.6 – Mutagénèse dirigée par l'utilisation d'oligonucléotides [56].

IV.2.1 La Formulation

La formulation consiste à combiner tous les composants qui constitueront le vaccin final et à les mélanger uniformément dans un seul récipient.

Les substances couramment utilisées dans la fabrication des vaccins comprennent : un liquide de mise en suspension (eau stérile, solution saline ou liquides contenant des protéines) ; des excipients : conservateurs et stabilisants (par exemple l'albumine, les phénols ou la glycine) ; et des adjuvants ou des amplificateurs qui améliorent l'efficacité du vaccin [57]. Dans cette étape, on réalise l'assemblage des différentes valences d'antigènes pour les vaccins combinés [9].



Figure IV.7 – Cuve de formulation.

IV.2.1.1 Conservateurs

Les conservateurs sont utilisés dans les vaccins multidoses pour maintenir l'asepsie.

Thiomersal

Appelé aussi « *thimerosal* » ; et un composé organo-mercuriel (contient l'éthylmercure) utilisé dans les vaccins multidoses depuis 1930. Son utilisation est devenue cependant de plus en plus rare en raison de sa toxicité cumulative largement documentée (exigence de la FDA pour le retrait du thiomersal « *Acte de 1997* » [51]). Bien qu'il n'existe aucune preuve d'un dommage causé par de faibles concentrations dans les vaccins, et que le risque n'est que théorique [58] [51] [59].

Exemples de vaccins contenant le Thiomersal : [58] [51]

- Antitétanique ;
- Antidiphtérique ;
- Anticoquelucheux ;
- Anti-hépatite B ;
- Vaccins antigrippal inactivé (multidoses) ;
- Antiméningococcique ;
- Vaccin contre l'encéphalite japonaise.

Phénol

Ce conservateur est utilisé pour le vaccin contre la typhoïde [60], il est en cours d'évaluation dans le cadre d'une tendance continue à limiter la quantité de mercure présente dans les vaccins de toutes sortes. Mais il ne s'est pas avéré être un substitut idéal au thiomersal [61]. (Le phénol est toxique et caustique [60]).

IV.2.1.2 Stabilisants

Certains additifs, sels et agents gonflants peuvent être ajoutés principalement pour améliorer la stabilité du vaccin lors du stockage. Les stabilisateurs inhibent les réactions chimiques et empêchent les composants de se séparer ou coller au flacon pendant le transport et le stockage. Ils sont nécessaires pour garder l'homogénéité du vaccin et empêcher la séparation des composants [58] [60].

Albumine humaine

Sert à éviter l'adhérence des immunogènes aux parois des flacons de verre. Elle est utilisée en très petite quantité en tant que stabilisant dans l'un des vaccins ROR (*Rougeole, Oreillon et Rubéole*) et dans l'un des vaccins contre la varicelle.

Gélatine

Est utilisée dans certains vaccins vivants comme stabilisant pour protéger les virus

vivants contre les effets de la température. La gélatine présente dans les vaccins est hautement purifiée et hydrolysée, elle est donc différente de la gélatine naturelle utilisée dans les aliments.

Sorbitol

Est un stabilisant utilisé en petites quantités dans les vaccins. Il est généralement inoffensif, mais les individus souffrant d'une allergie au sorbitol, ou porteurs d'anomalies héréditaires rares d'intolérance au fructose, ne devraient pas recevoir de vaccins contenant du sorbitol.

IV.2.1.3 Adjuvants

Historique

Adjuvant est un terme dérivé du mot latin « *adjuvare* », qui signifie aider, il a été inventé par *Ramon* en 1926, qui a observé que les chevaux qui développaient des abcès (réactions inflammatoires) au site d'une injection d'anatoxine diphtérique produisaient des titres d'antitoxine plus élevés que ceux des chevaux sans abcès [60].



Figure IV.8 – Gaston Ramon (1886-1963).

Ramon s'est ensuite tourné vers des substances diverses « adjuvare », qui renforcent considérablement la réponse des anticorps si elles sont injectées en même temps que l'antigène [62].

En 1926, *Glenny* a observé un effet similaire avec les sels d'Al : l'addition d'Al de potassium à l'anatoxine diphtérique augmentait considérablement les titres en antitoxines des sérums d'animaux inoculés avec ce produit par rapport au même inoculum sans Al [63] [62].

Rôle des adjuvants

Les agents pathogènes contiennent des déclencheurs intrinsèques de la défense immunitaire « les PAMPs » qui sont reconnus par les cellules du système immunitaire inné

et sont nécessaires pour déclencher une réponse immunitaire robuste. Certains vaccins inactivés, sous-unitaires et recombinants perdent une partie ou la totalité de la capacité immunostimulante intrinsèque de l'agent pathogène du fait des processus d'inactivation ou de purification. Ces vaccins nécessitent donc des adjuvants pour renforcer la réponse immunitaire adaptative spécifique de l'antigène.

Les adjuvants ne sont pas encore nécessaires pour les vaccins vivants atténués, qui portent eux-mêmes les signaux immunostimulants nécessaires. Toutefois, certaines recherches préliminaires suggèrent que les adjuvants peuvent également avoir un effet sur les vaccins vivants [64] [63].

Les adjuvants sont également capables de réduire le temps nécessaire à l'organisme pour réagir et se protéger et ils peuvent conférer à la réponse immunitaire un effet protecteur plus large contre plusieurs agents pathogènes [65].

Classification

Il n'existe pas d'adjuvant universel permettant de couvrir tous les besoins en matière de vaccins. La sélection appropriée d'adjuvants en fonction des antigènes est essentielle pour la formulation de vaccins nouveaux et efficaces. Par exemple, différents sels d'aluminium (phosphate ou hydroxyde) sont utilisés en fonction de la charge ionique requise pour se lier à l'antigène [64].

On peut les classer selon leur mode d'action et les diviser ainsi en deux grandes catégories :

- Les adjuvants immunostimulants : activent directement les cellules de l'immunité en se liant à différents récepteurs.
- Les adjuvants transporteurs d'AG « véhicules » : agissent principalement en présentant les antigènes au système immunitaire. Cependant, les véhicules ont souvent eux-mêmes des propriétés immunostimulantes, simplement parce qu'ils constituent des corps étrangers [66].

Cette classification reste compliquée puisqu'un certain nombre d'adjuvants possèdent plusieurs propriétés, il est préférable donc de les classer selon leur espèce chimique et leur origine. Le tableau IV.2 récapitule les différentes classes des adjuvants [66].

IV.2.2 Remplissage

Pour obtenir des doses stériles de produits finis, ceux-ci sont répartis automatiquement par des buses d'injection de manière aseptique dans leurs contenants finaux pré-stérilisés (seringues, flacons, etc.). Le remplissage aseptique de ces solutions biologiques exige le respect strict de procédés validés et un personnel très qualifiés. Les locaux sont sous atmo-

| ADJUVANT | ORIGINE OU COMPOSITION CHIMIQUE | EFFETS SUR LA REPONSE IMMUNE |
|--|---|--|
| aluminium | minérale | stimulation de la réponse en anticorps (Th2) |
| adjuvant incomplet de Freund et adjuvants huileux | émulsions eau dans huiles (huiles minérales ou végétales + agents de surface) | importante production d'anticorps ; fortement inflammatoires |
| adjuvant complet de Freund | émulsion eau dans huile + mycobactéries entières inactivées | réponse mixte humorale et cellulaire |
| <i>Syntex Adjuvant Formulation</i> et formulations apparentées | émulsions huile dans eau à base de squalène et de copolymères synthétiques | stimulations de la réponse en anticorps |
| monophosphoryl lipide A | composant bactérien dérivé du lipopolysaccharide | stimulation préférentielle de la réponse de type Th1 |
| muramyl dipeptide et dérivés | composant de paroi des mycobactéries | stimulation préférentielle de la réponse en anticorps |
| oligonucléotides CpG | motifs moléculaires propres aux génomes procaryotes | induction de réponses de type Th1 |
| cytokines | protéines généralement utilisées sous forme recombinante | action direct et spécifique, mais dépendant de la dose et de l'espèce cible |
| saponines et <i>Immuno Stimulating COMplexes</i> | agents amphipatiques d'origine végétale, permettant la formation de structures vésiculaires | production d'anticorps et stimulation des lymphocytes T cytotoxiques |
| imidazoquinolones | composés synthétiques de faible masse moléculaire | induction de réponses de type Th1 ; stimulation des lymphocytes T cytotoxiques |
| amines lipophiles | agents de surface amphipatiques | induction de réponses de type hypersensibilité retardée |
| toxines bactériennes | sous formes entière, inactivée sous-unitaire ou mutée | favorisation des réponses de type Th2 ; production d'IgA sécrétoires |
| polysaccharides | diverses | stimulation de l'immunité au niveau des muqueuses |

Tableau IV.2 – Origine et propriétés des principaux adjuvants [66].

sphère contrôlée (température, humidité, air filtré stérile, pressurisation) et les contrôles environnementaux sont fréquents (particules, flore microbienne). Les équipements doivent être nettoyables ou stérilisables.

La capacité de remplissage a un impact sur sa durée, qui peut être de plusieurs heures. Cette étape doit être soigneusement contrôlée et validée afin de limiter les risques de contamination [9].

IV.2.3 La lyophilisation

La lyophilisation, mise au point par *Leslie Collier* dans les années 1950, a permis d'obtenir une vaccine stable pendant plusieurs mois à 37°C, ce qui représentait une avancée décisive, principalement dans le cadre du programme d'éradication de la variole.

La lyophilisation est la dessiccation d'une solution congelée, par évaporation de l'eau



Figure IV.9 – Opération de remplissage.

directement de l'état solide (glace), à l'état vapeur, sans passer par la phase liquide. Menée au froid et sous vide poussé, elle permet de préserver la structure moléculaire des antigènes et des germes. Certains antigènes, comme ceux des vaccins vivants atténués, sont trop fragiles pour être conservés à l'état liquide au froid et doivent être congelés (BCG, VPO) ou, plus souvent, lyophilisés [9].

Ce système est composé de 2 compartiments (enceintes) reliés par une tubulure : le produit à dessécher se trouve dans le premier compartiment où il est refroidi jusqu'à sa congélation, le 2^{ème} compartiment est amené à une température encore plus basse. De ce fait, la tension de vapeur du 1^{er} compartiment sera plus élevée, la vapeur commencera donc à s'échapper vers le 2^{ème} compartiment où elle se transforme en glace. L'opération se termine lorsque toute la glace du 1^{er} compartiment se retrouve au 2^{ème} compartiment en ne laissant qu'un résidu sec [67].

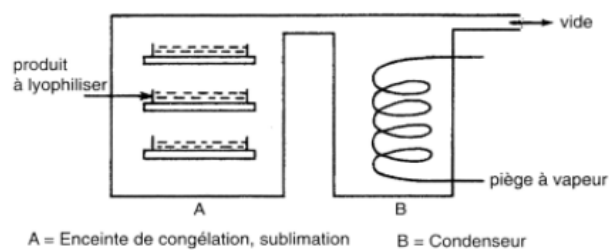


Figure IV.10 – Représentation schématique d'un lyophilisateur.

Les trois étapes, formulation, remplissage et lyophilisation, sont les plus délicates concernant la stérilité de tout le procédé de fabrication. Cela est dû au fait que les vaccins sont des composés thermosensibles que l'on ne peut stériliser dans leurs récipients finaux [9].

IV.2.4 Sertissage

Il y a une étape de sertissage qui consiste à ajouter une capsule sur le bouchon pour assurer une clôture hermétique des flacons.

IV.2.5 Mirage

Cette étape intervient juste avant le conditionnement. Son but est de détecter par une inspection visuelle, les éventuelles particules qui se retrouveraient dans le vaccin sous sa forme finale (pureté). L'intégrité des contenants est également vérifiée. Le mirage peut se faire :

- De façon manuelle ;
- De façon semi-automatique : le convoyage des produits est automatique mais l'inspection visuelle est réalisée par un opérateur ;
- Par procédé entièrement automatisé (caméras et lasers).



Figure IV.11 – Mireuse semi-automatique.

IV.2.6 Conditionnement

Le conditionnement des vaccins est l'ensemble des composants qui entourent le vaccin et en protègent l'intégrité (puissance/stabilité/durée de conservation). Le conditionnement des vaccins est généralement divisé en trois catégories : primaire, secondaire et tertiaire [59].

IV.2.6.1 Conditionnement primaire

Tel que les ampoules, les flacons, les seringues et les distributeurs oraux pré-remplis, entre en contact direct avec le vaccin ou le diluant, et protège le contenu de la lumière, de l'oxygène et de la vapeur d'eau, et ne doit pas permettre de variations de pH susceptibles d'affecter la stabilité du vaccin ou la liaison de l'antigène au matériau du récipient, ce qui pourrait réduire la dose disponible. L'étiquetage permettant d'identifier le produit doit faire partie intégrante du conditionnement, ou y être apposé.

Les contenants primaires sont emboîtés ensemble dans un conditionnement secondaire,

et des conteneurs plus grands tels que des boîtes ou des étuis en cartons fournissent un emballage tertiaire.

IV.2.6.2 Conditionnement secondaire

Tels que les cartons, les blisters, les plateaux ou les pochettes en aluminium, contiennent un ou plusieurs récipients primaires (flacons ou seringues pré-remplies de vaccin). Ils sont importants pour la stabilité du vaccin ; par exemple, une pochette en aluminium protège un contenant primaire à base de polymère de la perte de vapeur d'eau, de l'entrée d'oxygène et de la lumière.

IV.2.6.3 Conditionnement tertiaire

Comprend les cartons ou étuis qui renferment plusieurs unités de conditionnement secondaire avec la notice correspondante préalablement pliée, il maintient également les températures de la chaîne du froid et empêche les mouvements pendant le transport.

Lors du conditionnement, les opérateurs réalisent notamment des contrôles tels que s'assurer de l'absence de blisters vides, ou la vérification de l'intégrité du flacon ou de la seringue.



Figure IV.12 – seringues pré-remplies de vaccins avec leurs diluants.

Contrôles de qualité des vaccins

Les produits biologiques, y compris les vaccins, se distinguent des produits pharmaceutiques chimiques principalement parce qu'ils proviennent d'organismes vivants dont la complexité moléculaire innée ne peut être définie uniquement par des moyens physiques ou chimiques. La variabilité intrinsèque des organismes vivants et le risque de contamination des matériaux par des agents adventices, qui peuvent provenir des matières premières ou de l'environnement, exigent des mécanismes spéciaux de contrôle et d'assurance de la qualité.

Des changements subtils dans le processus ou les matériaux peuvent affecter de manière significative la composition du vaccin et son innocuité, son efficacité ou les deux. Ainsi, le processus doit être bien contrôlé et surveillé et produire un produit cohérent, bien caractérisé et reproductible avant son homologation [68].

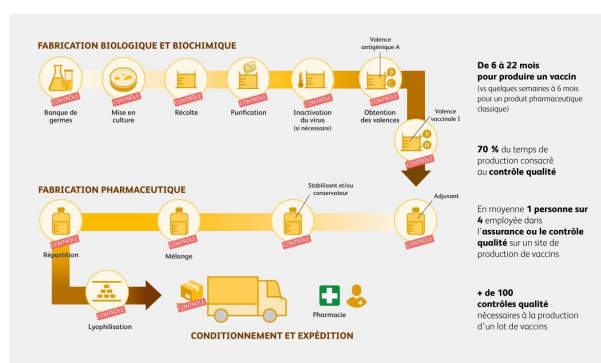


Figure V.1 – 70% du temps consacré au contrôle qualité [46].

V.1 Contrôles en cours de fabrication

Il est reconnu depuis un certain temps que la qualité des vaccins ne peut être assurée que par la mise en œuvre des principes suivants :

- l'utilisation de matières premières homogènes d'origine définie et de qualité acceptable, adéquatement caractérisées (y compris les cellules et les semences de production de virus ou de bactéries) ;
- validation adéquate du processus de production pour démontrer que les conditions sont reproductibles pour les différents lots de production ;
- démonstration de la cohérence de la production à la satisfaction de l'autorité réglementaire nationale ;
- la libération indépendante de lots par une autorité réglementaire nationale pour vérifier les performances du fabricant ;
- la surveillance, avant et après la mise sur le marché, du comportement du produit dans la population cible afin de démontrer sa sécurité et son efficacité ;
- Les trois premières de ces conditions ne peuvent être remplies que par une stricte adhésion aux principes des bonnes pratiques de fabrication (BPF). [69]

V.2 Contrôles en cours de production du principe actif

Dans le passé, le *Contrôle Qualité* (CQ) des vaccins reposait principalement sur des méthodes permettant de garantir que les produits étaient sûrs et puissants. Le CQ était souvent basé sur des tests de lots finaux sur des animaux. Au cours des dernières décennies, le nombre de techniques utilisées pour la caractérisation des antigènes a considérablement augmenté. Une grande variété de techniques analytiques est disponible pour la caractérisation des vaccins [70].

Ils ont lieu à toutes les étapes de production (matières premières, semences microbiennes, cultures, récoltes, inactivation...) et représentent un temps très long, souvent plus de 3/4 du temps des cycles de fabrication. Ils requièrent notamment :

- La vérification que la souche initiale est restée identique. Des contrôles biologiques et chimiques sont responsables de l'intégrité de la souche de départ ;
- La vérification qu'elle est exempte de contamination par les particules pathogènes ou extérieures ;
- L'analyse en continu des paramètres de culture. La mise en culture des bactéries dépend étroitement du respect de certains paramètres : temps, pression, température, etc. La culture des virus dépend de la qualité des cellules utilisées pour la mise en culture avec des contrôles à réaliser sur leur identité, leur stérilité, etc. ;
- La détection de toute impureté de l'antigène produit ;

- Le contrôle des étapes de conditionnement : étiquetage, notice etc.

V.3 Contrôles de produits finis

Les tests dépendent en grande partie du type de vaccin : Pour les tests des vaccins viraux vivants-atténués, la mesure du nombre de particules infectieuses et du niveau d'impuretés est important. Dans le cas d'une protéine recombinante, les essais peuvent être essentiels pour évaluer la stabilité chimique et de conformité, l'agrégation et la présence de modifications post-traductionnelles, au moins pendant les phases de développement. Lorsque le produit est homologué, le nombre de tests sera réduit.

Les techniques peuvent être divisées en deux catégories qui seront :

- Les techniques de mesure de la concentration et de l'intégrité des antigènes ;
- les Techniques de mesure de l'activité biologique, de la concentration active ou la conformité des antigènes.

V.3.1 Les techniques de mesure de la concentration et de l'intégrité des antigènes

Cette catégorie comprend les tests colorimétriques et les techniques de séparation analytique utilisés pour la quantification des produits intermédiaires et finaux et pour la détection des impuretés dans le vaccin.

En général, les tests colorimétriques sont faciles à réaliser, Ils sont appliqués pour mesurer les concentrations de protéines, la teneur en polysaccharides, le nombre de groupes amine primaire et l'ADN de la cellule hôte, entre autres les techniques de séparation, telles que la chromatographie liquide et gazeuse et l'électrophorèse sur gel, sont souvent utilisées pour déterminer la stabilité et la pureté des protéines et des polysaccharides.

La spectrométrie de masse est de plus en plus utilisée pour caractériser les antigènes et les impuretés. L'identification, la fragmentation et d'autres dégradations structurales (oxydation et désamidation) peuvent être mesurées relativement facilement et rapidement.

V.3.2 Techniques de mesure de l'activité biologique, de la concentration active ou la conformité des antigènes

Ce groupe comprend les tests sur animaux, les tests sur les cellules et les techniques physicochimiques et immunochimiques. Les tests physico-chimiques et immunochimiques sont de plus en plus importants dans l'évaluation de la qualité des vaccins. Les techniques appartenant à cette catégorie peuvent garantir l'intégrité de la structure antigénique, qui est souvent importante pour l'efficacité des vaccins, bien qu'un lien direct entre la structure

antigénique et la puissance ou l'efficacité ne soit souvent pas connu.

En outre, les techniques physicochimiques se sont révélées très utiles pour l'évaluation de la qualité du produit final adsorbé. De nombreux vaccins contiennent du phosphate d'aluminium ou hydroxyde d'aluminium, sur lequel l'antigène est adsorbé, la concentration d'antigène dans le lot final est relativement faible. Afin d'étudier ces antigènes, ils doivent être désorbés ou l'adjuvant doit être dissous. Ce prétraitement peut avoir un effet sur la conformation de l'antigène. Habituellement, seuls l'activité et le degré d'adsorption sont mesurés. Récemment, les progrès de la spectroscopie, tels que sensibilité accrue, L'amélioration de l'optique et meilleurs logiciels, permettent d'étudier les antigènes sous leur forme adsorbée. Un autre obstacle est l'évaluation de la qualité des antigènes individuels dans les vaccins combinés. L'efficacité de tous les antigènes doit être prouvée par un corrélat de protection ou par un test de libération. L'assurance qualité d'un vaccin combiné est principalement basée sur des études animales et des analyses immunochimiques et sérologiques. De nombreux tests physico-chimiques ne sont pas utiles car ils ne peuvent pas discriminer entre deux ou plusieurs antigènes [70].

| Exemples de contrôles effectués sur le produit fini | |
|---|--|
| Identité | Vérification de la nature de l'antigène |
| Stérilité / Pureté | Contrôle de l'efficacité de la purification et de l'absence de contamination microbienne |
| Inactivation Innocuité | Inoculation à l'animal En routine : tous les vaccins (absence de toxicité chez l'animal) Spécifique : neurotoxicité du VPO chez le singe |
| Immunogénicité / activité | VVA : détermination de la DIC50 |
| Détermination de la dose protectrice | Vaccins inactivés : modèle animal Challenge, test anticorps neutralisants Titration de l'antigène |
| Stabilité | Vérification des caractéristiques critiques du vaccin en fonction du temps et de la température |
| VPO : Vaccin Poliomyélite Oral VVA : Vaccin Vivant Atténué DIC50 : Dose Infectieuse en Culture de Cellules sensibles | |

Tableau V.1 – Contrôles effectués sur le produit fini [9].

V.4 Contrôles en cours de conservation et distribution

[71, 72, 73, 74, 75, 76, 77]

Pour maintenir un programme de vaccination efficace, les vaccins doivent être stockés correctement depuis leur fabrication jusqu'à leur administration. Un excès de chaleur ou de froid réduit leur puissance, augmentant ainsi le risque que les bénéficiaires ne soient pas protégés contre les maladies évitables par la vaccination.

V.4.1 Chaîne de froid

La chaîne du froid, parfois appelée chaîne du froid des vaccins est un système conçu pour protéger et maintenir la viabilité des vaccins. La chaîne du froid comporte trois composantes principales les équipements de transport et de stockage, la formation du personnel, et des procédures de gestion efficaces. Ces trois éléments doivent se combiner pour garantir la sécurité du transport et le stockage des vaccins.

La chaîne du froid commence par l'unité d'entreposage frigorifique de l'usine de fabrication de vaccins, se poursuit par le transfert du vaccin au distributeur, puis au cabinet du prestataire, et enfin et se termine par l'administration du vaccin au bénéficiaire (Figure V.2). Des températures de stockage appropriées doivent être maintenues à chaque maillon de la chaîne, sinon le vaccin peut être endommagé et devenir inefficace.

V.4.1.1 Structure de la chaîne de froid

Le maintien de températures appropriées pour les vaccins est impératif pour garantir leur efficacité. Un coordinateur des vaccins, qui est souvent l'infirmière en santé au travail, doit être chargé de veiller au respect de la chaîne du froid pendant le transport, l'expédition et la réception des vaccins. Des directives écrites fournissent l'information nécessaire pour protéger et maintenir l'efficacité du vaccin et devrait inclure des procédures opérationnelles standard la formation du personnel chargé de la vaccination et l'évaluation de son rendement, ainsi que des procédures de stockage et de manipulation appropriées.

Les fabricants ont déterminé que tous les vaccins sont substances biologiques sensibles qui peuvent perdre leur efficacité lorsqu'ils sont exposés à des températures situées en dehors de la plage de stockage recommandée. Une glacière correctement emballée qui maintient la température du vaccin dans la plage acceptable prescrite peut réduire l'effet de la température externe sur la température.

Le nombre et l'emplacement corrects des blocs réfrigérants à l'intérieur de la glacière sont importants car un nombre insuffisant de blocs réfrigérants peut ne pas maintenir la température interne de la glacière et entraîner une augmentation de la température du

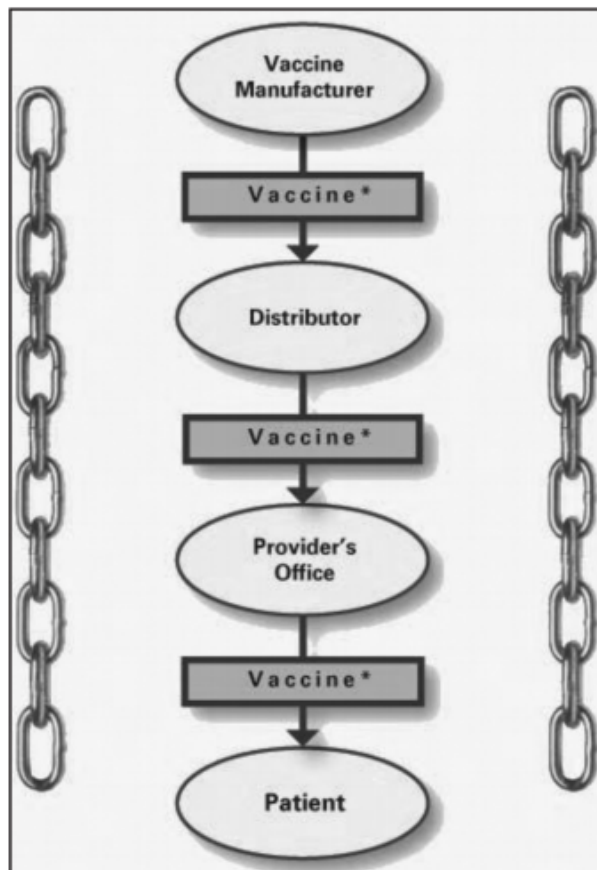


Figure V.2 – Les maillons de la chaîne du froid [72].

vaccin et trop de blocs réfrigérants peuvent potentiellement geler le vaccin.

Le placement des poches de glace est également essentiel pour protéger le vaccin de congélation. Une barrière telle que du papier à bulles, du papier brun froissé ou des cacahuètes en polystyrène doivent être placées entre le vaccin et les blocs réfrigérants.

Un thermomètre certifié doit être inclus dans le conteneur de transport pour un contrôle horaire de la température interne de la glacière. Le thermomètre doit être placé à côté du vaccin, et non à côté de la pochette réfrigérante.

Un équipement de stockage adéquat est essentiel pour garantir que la température du vaccin est maintenue. L'équipement nécessaire pour le stockage et la manipulation de routine des vaccins comprend des réfrigérateurs et des congélateurs, des thermomètres calibrés, et des alarmes. En outre, le choix de l'équipement doit tenir compte de la quantité de stocks à stocker.

Le réfrigérateur-congélateur choisi doit être équipé d'un régulateur de température qui peut être ajusté à des plages de température appropriées. La température de l'unité de réfrigération doit être maintenue entre 35°F et 46°F (2°C et 8°C), et la température du congélateur doit être de 5°F (-15°C) ou moins.

Les infirmières doivent surveiller la température du congélateur et du réfrigérateur deux fois par jour : une fois le matin et une fois le soir.

Le National Center for Immunization and Respiratory Diseases recommande l'utilisation de thermomètres certifiés et calibrés pour contrôler la température des unités de stockage.

Les contrôleurs de la chaîne de froid

Les contrôleurs de la chaîne du froid (CCM) sont utilisés pour surveiller les températures des vaccins pendant l'expédition. Il existe trois types fondamentaux de CCM :

- l'un indique si le vaccin a atteint des températures supérieures à 50°F ou 10°C ;
- un autre indique si le vaccin a atteint des températures de 32°F ou 0°C ;
- et un autre qui indique la température du vaccin en continu pendant toute la durée de l'expédition.

Les CCM indicateurs de chaleur sont à usage unique, ils sont sensibles à la température et doivent être placés au réfrigérateur avant utilisation pour garantir que le colorant ne soit pas altéré, pour s'assurer que le colorant est à l'état solide avant l'activation.

Un CCM indicateur de chaleur libère un colorant coloré dans les fenêtres de l'appareil lorsque la température d'activation a dépassé la plage définie (indiquée sur l'appareil). Le colorant se déplace progressivement à travers les fenêtres au fil du temps. Si la température redescend en dessous du seuil le colorant cesse de se déplacer mais ne disparaît pas ; par conséquent, l'indicateur indique également la durée, en heures ou en jours, pendant laquelle la température a dépassé le seuil.

Lorsqu'il est prêt à être utilisé, l'indicateur de chaleur CCM est retiré du réfrigérateur et placé dans l'environnement à surveiller. L'indicateur doit donc être fixé directement sur le flacon ou sur la boîte à vaccins rapidement. Les CCM indicateurs de congélation sont également à usage unique et libèrent un colorant liquide lorsqu'ils sont exposés à des températures de congélation (32°F ou 0°C). Cependant, ils n'indiquent pas la durée pendant laquelle le vaccin est à la plage de température indésirable. Certains types d'indicateurs de congélation nécessitent un pré conditionnement.

Les enregistreurs de données numériques

Les enregistreurs de données numériques sont de petits appareils électroniques, programmables, fonctionnant avec des piles, disponibles en modèles à usage unique ou multiple. Ces appareils sont dotés de voyants externes qui alertent l'utilisateur lorsque la température appropriée est atteinte et lorsqu'une température trop chaude ou trop froide s'est. La cargaison de vaccins ne doit pas être approuvée tant que les données de

température n'ont pas été interprétées. L'enregistreur de données numérique nécessite un logiciel spécial logiciel spécial qui interprète les données et révèle si le vaccin a atteint des températures en dehors de la plage recommandée.

V.4.2 Epreuve d'agitation des vaccins

Un bon contrôle de la température pendant le stockage et le transport des vaccins est essentiel pour garantir leur efficacité et leur sécurité. Les vaccins a formulations liquides à base d'aluminium contre la diphtérie, la coqueluche, le tétanos, l'hépatite B et l'Haemophilus influenzae type b, seuls ou en association (vaccins adsorbés), ne doivent pas être congelés.

Cependant, les pratiques qui exposent les vaccins à des températures inférieures à zéro sont très répandues dans les pays développés et en développement, à tous les niveaux du système de santé.

Lorsqu'un vaccin est endommagé par la congélation, la puissance perdue ne peut jamais être restaurée le dommage est permanent .Les vaccins endommagés par la congélation ont une immunogénicité plus faible et sont plus susceptibles de provoquer des réactions locales, comme des abcès stériles.

Le test d'agitation permet de déterminer si les vaccins adsorbés ont été affectés par la congélation. Après la congélation, le réseau (constitué de liaisons entre l'adsorbant et l'antigène) d'un vaccin est brisé .L'adsorbant séparé a tendance à former des granules plus grands et plus lourds, qui se déposent progressivement au fond du flacon lorsque celui-ci est secoué. Lorsque les cycles de congélation et de décongélation sont répétés, les granules semblent augmenter en taille et en poids.

La figure V.3 illustre comment l'apparence d'un échantillon congelé peut être perçue, 1 minute et 28 secondes après l'agitation.

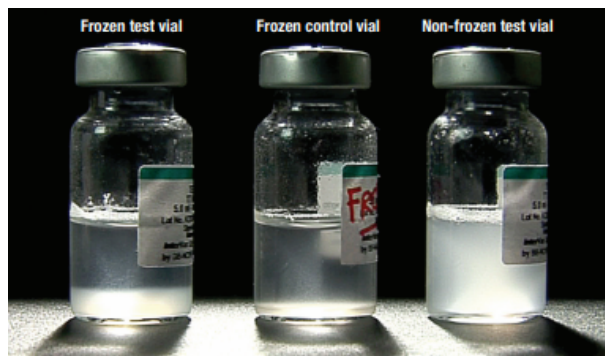


Figure V.3 – Différence visuelle après le test d'agitation [74].

À la fin des années 1980, un protocole de test d'agitation a été développé basé sur des

observations empiriques sur le terrain. Cependant, sa description n'était disponible nulle part, sauf sur une affiche dans les archives de l'*Organisation Mondiale de la Santé* (OMS).

Bien que le test d'agitation soit largement pratiqué sur le terrain par le personnel à tous les niveaux du système de santé, il n'était pas validé en tant que test de référence.

Une étude a été menée pour établir la sensibilité et la spécificité du test de l'agitation en utilisant la microscopie. La concordance dans l'établissement du statut d'un vaccin comme congelé ou non congelé était de 100% entre la microscopie à contraste de phase et le test d'agitation effectué.

V.4.3 Les pastilles de contrôles des vaccins (PCV)

Ce sont des étiquettes qui sont fixés sur les flacons de vaccin pendant la fabrication, ils sont sensibles au temps écoulé et à la température, ils mesurent l'exposition à la chaleur.

Au moyen d'une modification progressive de leur couleur, ils préviennent les agents de santé et les responsables du stockage quand un vaccin ne doit pas être utilisé à cause de son exposition a une chaleur hors de ces normes.

L'information donnée par une PCV est simple :

- Si le carré intérieur est d'une couleur plus claire que l'anneau de référence externe, le vaccin peut être alors employé ;
- Si ce carré est de la même couleur ou plus foncé que l'anneau extérieur, le vaccin ne peut plus être utilisé.

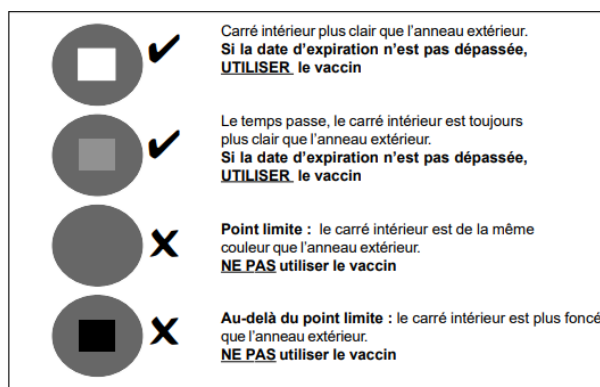


Figure V.4 – Pastilles de contrôle du vaccin [76].

V.4.4 Epreuve de dégradation accélérée (EDA)

Certains auteurs ont cherché à déterminer la période de validité d'un vaccin en estimant la perte d'activité pendant de longues périodes de stockage à différentes températures. Le test de dégradation accélérée (*Accelerated Degradation Test*, ADT) est plus pratique.

Dans ce test, les échantillons sont soumis à une gamme de températures élevées auxquelles une dégradation significative et facilement détectable est induite en un temps relativement court. La vitesse à laquelle elle se produit est mesurée et une extrapolation est faite aux températures plus basses auxquelles les vaccins sont stockés.

La précision avec laquelle l'ADT prédit les taux de dégradation diffère considérablement, selon la plage de températures utilisée, du nombre d'échantillons testés et de la conception de l'essai.

Les vaccins et les anatoxines sont constitués de protéines, d'acides nucléiques, de lipides et de glucides, qui subissent des modifications lors de l'exposition à la chaleur. La vitesse de dégradation d'un vaccin est déterminée par la température de stockage : plus la température est élevée, plus la dégradation est rapide et étendue.

Cependant, la vitesse de dégradation (b) n'est pas le seul facteur qui détermine l'activité résiduelle (Y_t) d'un vaccin : le temps (T) pendant lequel un vaccin est stocké à une température donnée et l'activité initiale du vaccin (Y_o) sont des facteurs déterminants.

La relation entre ces trois facteurs s'exprime comme suit : $Y_t = Y_o - bT$

Cependant, la connaissance des caractéristiques de la vitesse de dégradation à différentes températures et du temps d'exposition d'un vaccin suspect à une température donnée peut aider l'agent de santé à décider de ce qu'il faut en faire.

L'étude est conçue pour déterminer le taux de changement des propriétés du vaccin au fil du temps suite à l'exposition à des températures supérieures à celles recommandées pour le stockage. Elle peut fournir des données utiles pour établir la durée de conservation ou les spécifications de libération. Elles peuvent également fournir des informations préliminaires sur la stabilité du vaccin à des stades de développement et aider à évaluer le profil de stabilité d'un vaccin après des changements de fabrication.

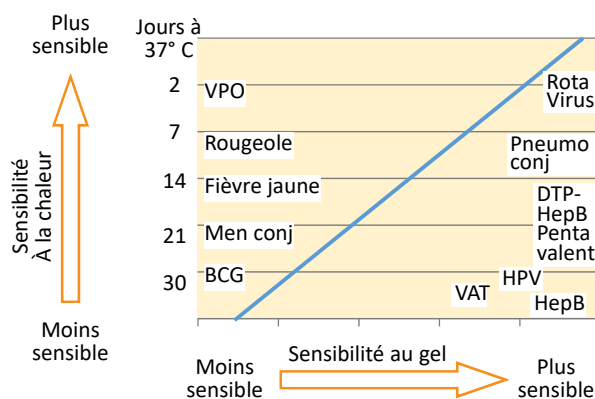


Figure V.5 – Thermo-sensibilité des vaccins [78].

Commercialisation des vaccins

VI.1 Marché des vaccins

L'industrie du vaccin est composée d'entreprises qui sont engagées dans l'une ou autre des activités suivantes : recherche (y compris celle effectuée dans l'industrie et la biotechnologie), le développement, la fabrication, la vente, le marketing et la distribution de vaccins. Leurs revenus proviennent principalement de la vente de produits de vaccination ou de leurs prévisions. Le marché des vaccins ne représente qu'un faible pourcentage du marché pharmaceutique, mais les vaccins constituent un segment en forte croissance [39] [79].

GlaxoSmithKline (GSK) est le leader du marché mondial des vaccins avec des revenus de 8.3 milliard d'euro en 2019 et devrait conserver cette position jusqu'en 2024. Ce fabricant génère environ un cinquième de ses revenus totaux grâce au segment des vaccins. Les autres grands acteurs du marché mondial des vaccins sont Merck, Pfizer et Sanofi avec des revenus de 7.3 ; 5.9 et 5.8 milliards d'euro respectivement (année 2019). Ces 4 entreprises représentent 80% du marché mondial des vaccins [80] [81].

La *Market Information for Access to Vaccines* (MI4A) estime que la valeur du marché mondial des vaccins en 2019 était d'environ 33 milliards de dollars (29.7 milliards d'euro), soit environ 2% du marché pharmaceutique global [82].

Cette année, la concurrence sur la fabrication de vaccins contre le covid-19 a bouleversé le marché mondial, parmi les 4 leaders, seul Pfizer a fabriqué et mis sur le marché un vaccin efficace développé avec BioNTech, ce dernier a passé d'un bilan négatif l'année dernière à un bénéfice net de plus d'un milliard de dollar cette année, le cas est similaire pour Moderna. Quant à AstraZeneca, l'impact du covid-19 est visible avec un profit qui a plus que doublé de 2020 à 2021. Alors que GSK en collaboration avec Sanofi sont en

phase III du développement d'un vaccin [83] [84].

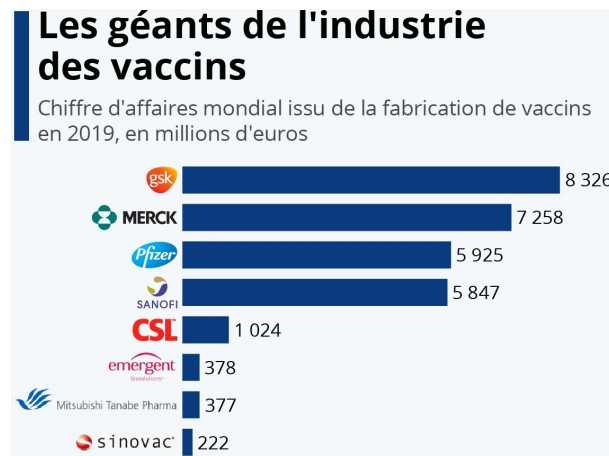


Figure VI.1 – Les géants de l'industrie des vaccins [80].

VI.2 Analyse du marché de vaccin

On va opter pour l'analyse SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities, and Threats*) : cette méthode d'analyse a été développée par la communauté des affaires pour faciliter la planification stratégique. Elle permet d'évaluer les plans en identifiant les forces et les faiblesses intrinsèques d'une organisation, ainsi que les opportunités et les menaces dans l'environnement externe [85].

VI.2.1 Les forces du marché (strengths)

VI.2.1.1 Le rapport coût/efficacité largement prouvé

La vaccination est une intervention d'une grande efficacité par rapport à son coût ; elle permet d'éviter la souffrance des maladies, prévenir certaines incapacités et sauver des vies (des maladies infectieuses qui avaient autrefois un taux de mortalité élevé, comme la polio et la variole, ont été quasiment éradiquées). Elle présente non seulement des avantages en ce qui concerne la santé et l'espérance de vie mais aussi par son impact socio-économique aux niveaux mondial, national et local. L'amélioration de la santé que permet la vaccination, contribue dans une large mesure au développement et à la lutte contre la pauvreté [86] [87].

VI.2.1.2 Oligopole fortement concentré avec un fort retour sur investissement

Comme déjà mentionné, 80% du marché mondial des vaccins est partagé entre 4 multinationales, la concurrence entre eux est donc très faible voire inexistante.

Les vaccins ont la capacité de devenir des « *blockbusters* » c'est-à-dire de générer plus

d'un milliard de dollars par an. Ex : le Prevenar (vaccin contre le pneumocoque conjugué) de Wyeth a atteint les 1.5 Milliards de dollars en 2005 [88] et 3 milliards de dollars en 2008 [89].

VI.2.1.3 Absence de vaccins génériques

Cependant, plutôt que d'être classé comme un médicament, un vaccin est techniquement un produit biologique. En raison de la structure complexe et des processus de fabrication associés aux produits biologiques, il est impossible pour les fabricants de produits génériques de prouver que leur version est bioéquivalente au produit biologique original. Cela signifie que tout vaccin qui prétend être un bioéquivalent d'un produit actuellement homologué doit passer par les mêmes procédures d'essais cliniques et d'homologation que le produit original, et ne peut pas utiliser les données de sécurité et d'efficacité générées par l'innovateur du produit original de la même manière que les fabricants de génériques de médicaments solides à usage oral [90].

VI.2.2 Les faiblesses du marché vaccinal (weaknesses)

VI.2.2.1 Temps de la mise sur le marché

Le délai de mise sur le marché des vaccins est plus long que pour les médicaments conventionnels, estimé de 10-15ans, car en plus du temps pris pour les longues étapes de développement et de fabrication, le produit subit un ensemble de contrôles d'efficacité et de sécurité (représente en moyenne 70% du temps total) [39] [30].

VI.2.2.2 Investissement coûteux

La R&D, le processus de fabrication, les contrôles, les essais cliniques, et en prenant compte l'unité de production : le bâtiment lui-même, ses équipements sophistiqués, et les procédures de qualification et de validation représentent un fort investissement à rentabiliser pour les industries pharmaceutiques.

De plus, la R&D qui représente 20% des dépenses du chiffre d'affaire est très risquée et elle peut échouer à tout moment [91].

Les estimations du coût de développement d'un nouveau médicament ou vaccin sont passées de 231 millions de dollars en 1991 à 802 millions de dollars en 2003, à 1 milliard de dollars en 2010. Ces estimations prennent en tous les coûts, y compris les coûts de R&D des produits qui échouent, les études cliniques post-approbation et les améliorations des processus de fabrication. Environ 50% des coûts sont liés à la construction, le reste étant le coût des intérêts du capital [39].

VI.2.3 Les opportunités (opportunities)

VI.2.3.1 La croissance continue

Grace à des avancées scientifiques majeures, ce secteur n'a pas cessé de s'améliorer. Avec un chiffre d'affaire mondial multiplié par 2,4 entre 2005 et 2013 (de 10,6 à 25,6 Milliards de dollars) et malgré un ralentissement au niveau des ventes, le CA a atteint 33 Milliards de dollars en 2019, puis a explosé à cause de la pandémie, et devrait conserver cette croissance pendant plusieurs années [39] [82].

VI.2.3.2 L'innovation

Grâce à l'implantation incessante de nouvelles souches microbiennes à l'échelle mondiale, la recherche en vaccinologie doit innover en permanence.

Les moteurs de croissance se concentrent sur les produits innovants, le nouveau vaccin du Covid-19 par exemple, a réussi à faire doubler le bénéfice d'AstraZeneca d'une année à une autre et à générer plus d'un Milliard de dollar pour Moderna et BioNTech.

L'innovation ne concerne pas que la R&D, mais aussi l'application de nouvelles technologies, nouveaux adjuvants, changement de la voie d'administration... [92] [39] [83].

VI.2.4 Les menaces du marché des vaccins

VI.2.4.1 Perte de la confiance des populations

La perte de confiance du public vis-à-vis d'un vaccin à cause de son implication réelle ou imaginaire dans des événements indésirables peut réduire ou arrêter les activités de vaccination avec des conséquences qui risquent d'être catastrophiques.

L'exemple du Nigeria en 2003 lors de la campagne de lutte contre la poliomyélite, des rumeurs sur l'innocuité du vaccin ont causé le boycott (ou le refus) de vaccination de plusieurs états du pays. Cet arrêt de vaccination était à l'origine d'une épidémie de poliomyélite qui a touché une vingtaine de pays [65].

VI.3 Prix des vaccins

La tarification échelonnée est l'instrument le plus largement utilisé pour accroître la disponibilité des nouveaux vaccins dans les pays en développement. Dans le cadre de cette approche, le prix d'un vaccin varie selon les pays, en fonction de la richesse relative. Elle repose sur l'idée que les pays les plus pauvres devraient payer moins que le coût marginal de production, les marchés les plus riches subventionnant effectivement les coûts de R&D. De ce fait, les prix des vaccins sont plus élevés dans les pays en développement que dans

les pays industrialisés. En conséquence, La tarification différenciée garantit la viabilité du marché global du produit et préserve les incitations à innover .Les plus grands fabricants multinationaux de vaccins en termes de ventes - GlaxoSmithKline, Merck, Pfizer et Sanofi - différencient les marchés des vaccins en fonction de certains critères, dont le revenu national brut [93].

VI.4 La pharmacovigilance des vaccins (suivit post-AMM)

[10, 94]

La sécurité des vaccins doit être excellente pour que la stratégie vaccinale soit acceptable, car les vaccins présentent souvent un bénéfice individuel différé mais des effets indésirables immédiats. Ces événements peuvent être liés à la composition du vaccin, aux individus vaccinés, à la technique utilisée pour l'administration (erreurs de programmation), ou se superposer à d'autres problèmes de santé.

La pharmacovigilance des vaccins après leur commercialisation est cruciale car, avant leur mise sur le marché, la taille des essais cliniques est insuffisante pour identifier les effets indésirables rares ou différés.

La pharmacovigilance est basée sur la "notification spontanée" des effets indésirables au Centre régional de pharmacovigilance (CRPV) qui établit une relation entre chaque médicament pris par le patient (pas seulement le médicament ou le vaccin suspecté) et la survenue des effets indésirables (imputabilité), cette démarche est objective et elle est basée sur un raisonnement logique. Cette méthode est cruciale pour générer des alertes, mais sous-estime la fréquence réelle des EIM (1 à 10% des EIM graves sont déclarés). Des études de pharmaco-épidémiologie sont donc nécessaires pour confirmer ou infirmer les alertes identifiées par la notification spontanée : Si la période d'apparition et les symptômes/signes indiquent la possibilité que cet événement ait une relation avec le vaccin, une enquête plus approfondie doit être immédiatement lancée avec l'aide de l'État et du niveau national. L'objectif de l'enquête est donc de confirmer ou d'infirmer l'événement notifié, de déterminer s'il existe d'autres causes possibles, de vérifier s'il s'agit d'un événement isolé et de faire un rapport aux parties concernées.

Les vaccins étant utilisés chez des personnes en bonne santé, leur sécurité doit être excellente pour être acceptée. Les surveiller après leur mise sur le marché est le seul moyen de détecter les effets indésirables rares. Cette surveillance se fait par la déclaration des EIM au CRPV. Cependant, une surveillance active et intensive des EIM devrait être systématique.

Chapitre VII

Différents types de vaccins

VII.1 Vaccins dans le monde

[95, 96, 97, 98, 99, 100, 22]

Il existe une variété de types de vaccins qui sont soit actuellement utilisés ou en cours de développement pour la prévention des maladies infectieuses. Ils présentent à la fois des avantages et des inconvénients qui peuvent affecter la stimulation du système immunitaire et limiter ainsi l'utilité du type de vaccin. Ces différents vaccins disponibles dans le commerce peuvent être classés en quatre types selon la nature des antigènes du vaccin - vivant atténué, tué inactivé, anatoxine et sous-unité.

VII.1.1 Les vaccins vivants atténués

Les vaccins vivants sont dérivés de virus ou de bactéries « *sauvages* » ou pathogènes. Il existe plusieurs approches de l'atténuation d'un pathogène viral pour une utilisation chez l'homme. L'une d'elles consiste à cultiver le virus dans un hôte étranger - par exemple, le virus de la rougeole est cultivé dans des fibroblastes d'œuf de poulet - la réplication virale dans de telles circonstances entraîne l'apparition d'un certain nombre de types de mutants : les mutants qui présentent une virulence accrue pour l'hôte étranger sont ensuite sélectionnés comme souches vaccinales potentielles, car elles présentent généralement une virulence réduite pour l'hôte humain, ce qui constitue une approche particulièrement utile pour les virus à ARN qui ont un taux de mutation élevé.

On ne connaît pas la base moléculaire de l'atténuation dans ces circonstances, car le processus est largement empirique et il n'est pas possible de déterminer quels sont les gènes observés. Il n'est pas possible de déterminer quelles modifications des nucléotides génomiques observées sont associées à une diminution de la virulence. Par exemple, le virus de la rougeole utilisé comme vaccin aujourd'hui a été isolé d'un enfant atteint de la

maladie de la rougeole en 1954. Près de 10 ans de passages en série sur des milieux de culture tissulaire ont été nécessaires pour transformer le virus sauvage en virus vaccinal atténué.

Une autre approche consiste à cultiver le virus sauvage dans un milieu de croissance artificiel à une température inférieure à celle que l'on trouve dans le corps humain qui se développe bien à cette température plus basse mais qui se multiplie si lentement chez l'homme que les réponses immunitaires adaptatives sont capables de l'éliminer avant que le virus ne soit capable de se propager et de causer une infection. Le vaccin antigrippal vivant atténué adapté au froid en est un exemple.

Pour produire une réponse immunitaire, les vaccins vivants atténués doivent se répliquer (se développer) chez la personne vaccinée. Une dose relativement faible de virus ou de bactérie est administrée, qui se réplique dans l'organisme et crée une quantité suffisante pour stimuler une réponse immunitaire. La réponse immunitaire à ce vaccin est pratiquement identique à celle produite par une infection naturelle. Le système immunitaire ne fait pas la différence entre une infection par un virus vaccinal affaibli et une infection par un virus sauvage. L'immunité active d'un vaccin vivant atténué peut ne pas se développer en raison de l'interférence des anticorps circulants au virus du vaccin. Les anticorps de n'importe quelle source (par ex, transplacentaire, transfusion) peuvent interférer avec la réplication de l'organisme vaccinal et entraîner une réponse médiocre ou une absence de réponse au vaccin (également appelée échec vaccinal).

Les vaccins vivants atténués produisent une immunité chez la plupart des receveurs avec une seule dose, sauf ceux administrés par voie orale. Cependant, un petit pourcentage de personnes ne réagit pas à la première dose d'un vaccin injecté comme le ROR (*Rougeole, Oreillon et Rubéole*) ou la varicelle. et une seconde dose est recommandée pour assurer un niveau d'immunité très élevé dans la population.

Bien que les vaccins vivants atténués se répliquent, ils ne provoquent généralement pas de maladies comme celles qui peuvent survenir avec la forme "sauvage" de l'organisme. Lorsqu'un vaccin vivant atténué provoque une "maladie", elle est généralement beaucoup plus bénigne que la maladie naturelle et on parle alors d'une réaction indésirable. Ils peuvent provoquer des réactions graves ou mortelles en raison de la réplication (croissance) incontrôlée du virus vaccinal. Cela ne se produit que chez les personnes immunodéficientes par exemple, à cause d'une leucémie, d'un traitement par certains médicaments ou d'une infection par le virus de l'immunodéficiência humaine (VIH).

Les vaccins vivants atténués sont fragiles et peuvent être endommagés ou détruits par la chaleur et la lumière, la réfrigération est nécessaire pour préserver l'activité du vaccin. Ils doivent être manipulés et conservés avec soin.

En général, il est moins difficile de créer des vaccins vivants atténués à partir de virus que de bactéries, car les virus ont moins de gènes et il est donc plus facile de contrôler les caractéristiques virales. Les vaccins viraux vivants atténués actuellement disponibles sont ceux de la rougeole, les oreillons, la rubéole, la vaccine, la varicelle, le zona (qui contient le même virus que le vaccin contre la varicelle, mais en beaucoup plus grande quantité), la fièvre jaune, le rotavirus et la grippe. Le vaccin oral contre la polio est un vaccin viral vivant. Les vaccins bactériens vivants atténués sont le bacille Calmette-Guérin (BCG) et le vaccin oral contre la typhoïde.

VII.1.2 Les vaccins inertes

VII.1.2.1 Les vaccins inertes à germes entiers (vaccins inactivés)

Les vaccins inactivés sont produits en cultivant la bactérie ou le virus dans un milieu de culture, puis en l'inactivant par la chaleur et/ou des produits chimiques (généralement du formol). La typhoïde a été l'un des premiers vaccins tués à être produit. Il a été utilisé par les troupes britanniques à la fin du XIX^e siècle. La polio et l'hépatite A sont actuellement les principaux vaccins inactivés utilisés au *Royaume-Uni*. Le vaccin antioquelucheux à cellules entières continue d'être le vaccin tué le plus largement utilisé. Cette inactivation du micro-organisme rend le vaccin plus stable. Ces vaccins ne nécessitent pas de réfrigération et peuvent être lyophilisés pour le transport.

Puisqu'ils ne sont pas vivants et ne peuvent pas se répliquer, la totalité de la dose d'antigène est administrée dans l'injection. Et ils nécessitent toujours plusieurs doses. En général, la première dose ne produit pas d'immunité protectrice, mais "amorce" le système immunitaire. Une réponse immunitaire protectrice se développe après la deuxième ou la troisième dose.

La réponse immunitaire à un vaccin inactivé est principalement humorale. Il en résulte peu ou pas d'immunité cellulaire. Les titres d'anticorps contre les antigènes inactivés diminuent avec le temps. Par conséquent, certains vaccins inactivés peuvent nécessiter des doses supplémentaires périodiques pour augmenter, ou "booster", les titres d'anticorps. Ainsi, après l'injection, l'organisme entier est phagocyté par les cellules dendritiques immatures ; la digestion au sein du phagolysosome produit un certain nombre de fragments antigéniques différents qui sont présentés à la surface des cellules sous forme d'anticorps.

Dans le ganglion lymphatique drainant, un certain nombre de TH2, chacun avec un TCR pour un fragment antigénique distinct, seront activés par présentation par la cellule dendritique mature activée.

Les cellules B, chacune dotée d'un BCR pour un fragment antigénique distinct, se

lieront aux antigènes qui s'écoulent le long des canaux lymphatiques : les antigènes séparés seront internalisés et présentés comme un fragment antigénique du CMH II ; cela conduira à une reconnaissance par le TH2 approprié.

La libération par le TH2 de IL2, IL4, IL5 et IL6 induit l'activation des lymphocytes B, différenciation et la prolifération des lymphocytes B, avec un changement d'isotype (IgM à IgG) et la formation de cellules mémoire.

Ce processus dure au minimum 10 à 14 jours, mais lors d'une exposition ultérieure à l'organisme, une réponse secondaire est induite par l'activation des différentes cellules B mémoires, ce qui conduit à des niveaux élevés des différentes molécules IgG dans les 24 à 48 heures.

Les vaccins tués/inactivés présentent un certain nombre d'inconvénients :

- Ils nécessitent généralement plusieurs doses car les microbes sont incapables de se multiplier dans l'hôte et qu'une seule dose ne donne pas un signal fort au système immunitaire adaptatif ; les approches permettant de surmonter ce problème comprennent l'utilisation de plusieurs doses et l'administration du vaccin avec un adjuvant ;
- Les réactions locales au site du vaccin sont plus fréquentes. Ceci est souvent dû à l'adjuvant ;
- L'utilisation de microbes tués pour les vaccins est parfois inefficace, car certains anticorps seront produits contre des parties du pathogène qui ne jouent aucun rôle dans la maladie. Certains des antigènes contenus dans le vaccin, en particulier les protéines de surface, peuvent en fait réguler à la baisse la réponse adaptative du corps - vraisemblablement, leur présence est un développement évolutif qui aide l'agent pathogène à surmonter les défenses de l'organisme ;
- Et enfin, les vaccins tués/inactivés ne donnent pas lieu à des cellules T cytotoxiques qui peuvent être importantes pour arrêter les infections par des agents pathogènes intracellulaires, en particulier les virus.

VII.1.2.2 Les vaccins sous unitaires

Les vaccins à base d'anatoxines

Certains agents pathogènes provoquent des maladies en sécrétant une exotoxine : Il s'agit notamment du tétanos, de la diphtérie, du botulisme et du choléra. En outre, certaines infections, par exemple la coqueluche, semblent être partiellement médiées par la toxine. Le vaccin contre l'anatoxine tétanique est fabriqué en cultivant une souche hautement toxigène de *Clostridium tetani* dans un milieu semi-synthétique : la croissance bactérienne et la lyse qui s'ensuit libèrent la toxine dans le surnageant et le traitement au formaldéhyde

convertit la toxine en anatoxine en modifiant certains acides aminés et en induisant des changements mineurs de conformation moléculaire. L'ultrafiltration élimine ensuite les protéines inutiles laissées comme résidu du processus de fabrication pour obtenir le produit final. L'anatoxine est physico-chimiquement similaire à la toxine native, ce qui induit des anticorps croisés, mais les modifications induites par le traitement au formaldéhyde la rendent non-toxinogène.

Dans le cas du tétanos, la principale toxine (appelée tétaospasmine) se lie à des récepteurs membranaires spécifiques situés uniquement sur les cellules nerveuses motrices présynaptiques. L'internalisation et la migration de cette toxine dans le système nerveux central bloquent le métabolisme de la glycine, essentielle au fonctionnement normal des neurones à acide gamma amino butyrique (GABA). Et comme les neurones GABA sont inhibiteurs pour les motoneurones, leur non-fonctionnement entraîne une activité excessive des motoneurones. Et les muscles alimentés par ces nerfs se contractent plus fréquemment que la normale, donnant lieu à des spasmes musculaires qui sont une caractéristique du tétanos.

Après une administration sous-cutanée/intramusculaire profonde (SC/IM) du vaccin antitétanique, les molécules d'anatoxine sont absorbées sur le site de vaccination par des cellules dendritiques immatures : à l'intérieur de cette cellule, elles sont traitées par la voie endosomale (impliquant le phagolysosome) où elles sont liées aux molécules du complexe majeur d'histocompatibilité de type II (CMH II) ; le complexe CMH II-anatoxine migre ensuite vers la surface cellulaire. Pendant que ce processus se déroule à l'intérieur de la cellule, la cellule dendritique mature, maintenant activée, migre le long des canaux lymphatiques vers le ganglion lymphatique drainant où elle rencontre des cellules naïves T helper de type 2 (TH2) naïves, chacune possédant son propre récepteur des cellules T (TCR). L'identification puis la liaison de l'anatoxine du CMH II au récepteur TH2 spécifique, puis active la cellule T naïve, entraînant sa prolifération. Simultanément, les molécules d'anatoxine qui ne sont pas absorbées par les cellules dendritiques passent le long des canaux lymphatiques jusqu'aux mêmes ganglions lymphatiques drainants où elles entrent en contact avec les cellules B, chacune possédant son propre récepteur de cellules B (BCR). Ces deux processus se produisent dans la même partie du ganglion lymphatique, ce qui a pour conséquence que la cellule B avec le complexe CMH II-anatoxine entre maintenant en contact avec le TH2 activé dont les récepteurs sont spécifiques de ce complexe. Le processus, appelé reconnaissance liée, aboutit à l'activation par le TH2 de la cellule B pour qu'elle devienne une cellule plasmatique avec la production initiale d'IgM, et ensuite, il y a un changement d'isotype vers l'IgG ; en outre, un sous-ensemble de cellules B devient une cellule mémoire.

Le mécanisme ci-dessus décrit la réponse immunitaire adaptative à un antigène protéique, comme l'anatoxine tétanique. Ils sont aussi appelés vaccins T-dépendants car l'implication des cellules auxiliaires T est essentielle pour la réponse immunitaire générée.

La justification de la vaccination contre le tétanos est donc basée sur la production d'anticorps dirigés contre l'anatoxine .ces anticorps ont une capacité accrue à fixer l'anatoxine par rapport aux sites de liaison des récepteurs de la toxine sur les cellules nerveuses. Donc en cas d'exposition à *C. tetani*, ce complexe toxine/anticorps de grande taille est alors incapable de se lier au récepteur, neutralisant ainsi la toxine et empêchant le développement de la maladie.

Les vaccins anatoxines ne sont généralement pas très immunogènes, sauf si de grandes quantités ou des doses multiples sont utilisées. Par conséquent, afin de garantir que la réponse immunitaire adaptative est suffisamment efficace pour fournir une immunité durable, un adjuvant est inclus dans le vaccin.

Les vaccins anatoxines présentent trois avantages principaux :

- *Premièrement*, ils sont sûrs car ils ne peuvent pas provoquer la maladie qu'ils préviennent et il n'y a aucune possibilité de retour à la virulence ;
- *Deuxièmement*, comme les antigènes du vaccin ne se multiplient pas activement, ils ne peuvent pas se propager aux personnes non immunisées ;
- *Troisièmement*, ils sont généralement stables et durables car ils sont moins sensibles aux changements de température, d'humidité et de lumière qui peuvent survenir lorsque les vaccins sont utilisés dans la communauté.

Les vaccins toxoïdes présentent deux inconvénients :

- *Premièrement*, ils nécessitent généralement un adjuvant et plusieurs doses ;
- *Deuxièmement*, les réactions locales au niveau du site vaccinal sont plus fréquentes, ce qui peut être dû à l'adjuvant ou à une réaction de type III, cette dernière se manifeste généralement par une rougeur et une induration au niveau de l'injection.

Vaccins polysaccharidiques

Vaccin pure polysaccharidiques

Les vaccins polysaccharidiques sont un type unique de vaccin inactivé composé de longues chaînes de molécules de sucre, qui constituent la capsule de surface de certaines bactéries.

La réponse immunitaire à un vaccin polysaccharide pur est généralement indépendante des lymphocytes T, ce qui signifie que ces vaccins sont capables de stimuler les lymphocytes

B sans l'aide des cellules T auxiliaires. Au point d'injection, certaines molécules de polysaccharide sont phagocytées par des cellules dendritiques immatures qui migrent ensuite vers les ganglions lymphatiques locaux où elles rencontrent des TH2 naïfs. Cependant, le TCR ne reconnaît que les molécules protéiques et donc même s'il est présenté par une cellule dendritique mature et affiché sur les molécules du CMH II, le TH2 n'est pas activé.

Simultanément, les molécules de polysaccharide non phagocytées passent le long des canaux lymphatiques jusqu'aux mêmes ganglions lymphatiques drainants où elles rencontrent des cellules B, chacune avec son propre BCR, il se lie avec une grande avidité à de multiples récepteurs sur une cellule cette liaison multivalente est capable d'activer le lymphocyte B sans qu'il soit nécessaire de faire intervenir le TH2 conduisant à la production d'IgM et que seules de petites quantités d'IgG sont produites et que peu de cellules B à mémoire sont produites.

Cela explique le fait que des doses répétées de la plupart des vaccins protéiques inactivés entraînent l'augmentation progressive du titre d'anticorps, Ce phénomène ne se produit pas avec les antigènes polysaccharidiques. Les anticorps induits par les vaccins polysaccharidiques ont une activité fonctionnelle moindre que ceux induits par des antigènes protéiques.

Les jeunes enfants ne répondent pas systématiquement aux antigènes polysaccharidiques, probablement en raison de l'immaturité du système immunitaire.

Des vaccins polysaccharidiques purs sont disponibles pour trois maladies : l'infection à pneumocoques, l'infection à méningocoques, et Salmonella Typhi. Un vaccin polysaccharidique pur pour Haemophilus influenzae de type b (Hib).

Vaccin conjugués

À la fin des années 1980, on a découvert que les problèmes des vaccins polysaccharidiques pouvaient être résolus par un processus appelé conjugaison, dans lequel le polysaccharide est chimiquement combiné avec une molécule de protéine. La conjugaison modifie la réponse immunitaire d'indépendante des cellules T à dépendante des cellules des cellules T, ce qui entraîne une immunogénicité accrue chez les nourrissons et une réponse des anticorps à des doses multiples de vaccin.

Le premier vaccin polysaccharidique conjugué était destiné au Hib. Un autre vaccin conjugué contre les maladies pneumococciques a été homologué en 2000. Un vaccin conjugué contre le méningocoque a été homologué en 2005.

| Composition du vaccin | Maladies bactériennes à éviter | Maladies virales à éviter |
|---|--|---|
| Vivants atténués | Tuberculose | Fièvre jaune Oreillons Rougeole Rubéole Poliomyélite (voie buccale) |
| Inactivés entiers | Choléra Coqueluche | Grippe Poliomyélite (voie injectable) Rage Encéphalite japonaise Hépatite A |
| Polysaccharides | Méningococcie : Pneumococcie Typhoïde | |
| Protéines purifiées | Tétanons Diphthérie Coqueluche | Hépatite B Influenzae |
| Conjugués (polysaccharides et protéines) | Méningite à Haemophilus Influenzae type b Pneumococcie | |

Tableau VII.1 – Principaux vaccins actuellement disponibles [100].

VII.2 Vaccins en Algérie

[28, 101, 102, 103]

VII.2.1 Les vaccins systémiques

VII.2.1.1 Vaccin antidiphthérique

La diphtérie, maladie à déclaration obligatoire, elle frappe des personnes de tous âges, mais surtout les enfants qui ne sont pas vaccinés, elle peut toucher la gorge et, parfois, les amygdales. Une autre forme plus répandue sous les tropiques, provoque des ulcères cutanés. En Algérie depuis 2007 et grâce au vaccin obligatoire aucun cas n'a été enregistré.

VII.2.1.2 Vaccin anti rougeoleux

La rougeole, maladie à déclaration obligatoire, est une fièvre. Elle reste l'une des causes importantes de décès du jeune enfant, alors qu'il existe un vaccin sûr et efficace. Ces dernières années Le nombre de cas à baisser ensuite de façon significative avec moins de 100 cas par an.

VII.2.1.3 Vaccin anti oreillons

Les oreillons sont une maladie infectieuse, contagieuse et épidémique, Elle touche principalement les enfants avec une évolution bénigne, la maladie confère une immunité à

vie. Généralement elle ne touche pas les nourrissons vu le transfère passive d'anticorps part la maman.

VII.2.1.4 Vaccin anti coquelucheux

La coqueluche est une maladie à déclaration obligatoire des voies respiratoires responsables d'une toux et d'une dyspnée prolongées pouvant être graves chez les nourrissons. Les rappels vaccinaux sont nécessaire cause d'une diminution de l'immunisation avec le temps.

VII.2.1.5 Vaccin antipoliomyélitique

La poliomyélite maladie de HEINE-MEDIN est une maladie à déclaration obligatoire, cosmopolite d'expression le plus souvent neurologique à type de paralysie flasque .la poliomyélite a été éradiquée dans notre pays puisqu'aucun cas de poliomyélite à virus sauvage n'a été notifié depuis 1997.

VII.2.1.6 Vaccin anti rubéole

La rubéole est une infection virale aiguë contagieuse Elle est généralement bénigne chez l'enfant mais elle a de graves conséquences chez la femme (elle peut causer la mort du fœtus ou des malformations congénitales). Le vaccin est obligatoire et gratuit, Il induit une réponse immunitaire sûre et efficace.

VII.2.1.7 Vaccin anti tétanos

Le tétanos est une maladie à déclaration obligatoire grave, c'est une maladie non immunisante liée à l'action d'une neurotoxine qui se manifeste part des trouble neuronal (généralement des spasmes) cette maladie peut sévir à tout âge.

VII.2.1.8 Vaccin anti tuberculeux

La tuberculose est une maladie à déclaration obligatoire, elle peut atteindre n'importe quel tissu de l'organisme. Provoquant une réaction immunitaire, puis un état d'infection latente dont le seul signe est la réaction tuberculique. Une baisse de toute forme de tuberculose a était remarqué ces dernières années en Algérie.

VII.2.1.9 Vaccin anti hépatite B

L'hépatite virale B est une maladie à déclaration obligatoire, Potentiellement grave, Elle peut prendre Une forme chronique et exposer les malades à un risque important de décès par cirrhose et cancer hépatique. La situation épidémiologique en Algérie se présente comme suit : le nombre de nouveaux cas varie de 1300 à 1500 cas/an.

VII.2.1.10 Vaccin anti Haemophilus influenza B

L'infection à *Haemophilus influenzae* type b constitue une des causes majeures d'infection bactérienne chez les jeunes enfants. Elle touche essentiellement les enfants de 3 mois à 3 ans. Pour prévenir cette infection il existe un vaccin obligatoire et gratuit il est très efficace pour le jeune enfant.

VII.2.1.11 Vaccin anti pneumocoque

Les infections à pneumocoques comprennent l'ensemble des infections invasives (méningite, pneumonie, pleurésie, bactériémie) et non invasives (otite, sinusite et bronchite) elle se manifeste par une fièvre et des manifestations selon la localisation. Le vaccin est un conjugué de plusieurs antigènes polysaccharidiques il protège l'enfant âgés de moins de 2ans.

VII.2.2 Calendrier vaccinal en Algérie

En Algérie comme partout dans le monde les nourrissons doivent être vaccinés le plus tôt possible afin de réduire au minimum la période pendant laquelle ils sont sensibles aux infections.

Le calendrier national de vaccination est appliqué aux enfants nés prématurément et les enfants avec un petit poids de naissance de la même façon que les enfants nés à terme. La réponse immunitaire de l'enfant prématuré suit son âge chronologique et pas l'âge gestationnel.

| Age \ Vaccin | Naissance | 2 mois | 3 mois | 4 mois | 11 mois | 12 mois | 18 mois | 6 ans | 11-13 ans | 16-18 ans | Tous les 10 ans à partir de 18 ans |
|--------------|-----------|--------|--------|--------|---------|---------|---------|-------|-----------|-----------|------------------------------------|
| BCG | ✓ | | | | | | | | | | |
| HVB | ✓ | | | | | | | | | | |
| VPO | ✓ | ✓ | | ✓ | | ✓ | | ✓ | ✓ | | |
| DTC-Hib-HVB | | ✓ | | ✓ | | ✓ | | | | | |
| Pneumocoque | | ✓ | | ✓ | | ✓ | | | | | |
| VPI | | | ✓ | | | | | | | | |
| ROR | | | | | ✓ | | ✓ | | | | |
| DTC | | | | | | | | ✓ | | | |
| dT Adulte | | | | | | | | | ✓ | ✓ | ✓ |

BCG : tuberculose – HVB : hépatite B – VPO : poliomyélite orale – VPI : poliomyélite injectable
DTC-Hib-HVB : Diphtérie-Tétanos-Coqueluche-Haemophilus influenzae type b-Hépatite B
ROR : Rougeole-Oreillons-Rubéole – DTC : Diphtérie Tétanos Coqueluche – dT Adulte : diphtérie Tétanos Adulte

Tableau VII.2 – Nouveaux calendrier Algérien de vaccination [101].

Nouveaux vaccins

[104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111]

Les vaccins traditionnels, tels que les vaccins vivants-atténués ou les vaccins entiers, ont été largement utilisés au cours des cent dernières années. Cependant, l'innocuité et l'efficacité des vaccins traditionnels basées sur l'organisme entier sont devenues un sujet de préoccupation. Pour cela, entre autres, de nouvelles approches sont envisagées pour le développement de vaccins, quelques approches comprennent :

- L'utilisation de la technologie de l'ADN recombinant pour la production de protéines protectrices microbiennes pertinentes dans des cellules bactériennes pour la préparation de vaccins ;
- L'utilisation des techniques de l'ADN recombinant pour la production de vaccins vivants par l'introduction du ou des gènes pertinents dans le génome d'un vecteur adéquat ;
- L'utilisation de vaccins à ADN nu, consistant en un ADN plasmidique dans lequel le(s) gène(s) pertinent(s) de l'agent microbien a été inséré ;
- L'utilisation de peptides synthétiques qui constituent les épitopes protecteurs pertinents des virus, toxines bactériennes ou toxines bactériennes ou parasites ;
- A nouveau moyen, appelé vaccins recombinants synthétiques, basé sur des oligonucléotides synthétiques, qui codent pour l'épitope ou les épitopes pertinents, qui sont insérés dans un vecteur approprié pour l'expression de cet épitope .Cette approche peut permettre l'inclusion de plus d'un épitope dans le vaccin souhaité ;

Ces vaccins synthétiques peuvent être adaptés pour interagir de manière différentielle avec le système immunitaire afin de personnaliser la réponse.

VIII.1 Vaccins à ADN et à ARN

Les technologies basées sur les acides nucléiques utilisent soit de l'ADN plasmidique codant pour un antigène, soit de l'ARN, sous forme d'ARN messager ou de réplicons viraux. Contrairement à la thérapie génique, l'intégration n'est pas prévue. En effet, la construction d'un vaccin à ADN est conçue pour permettre l'expression localisée et à court terme de l'antigène cible.

Lorsqu'ils sont absorbés et exprimés par les cellules, les antigènes codés par les acides nucléiques peuvent déclencher des réponses immunitaires humorales et à médiation cellulaire. Bien que plusieurs tentatives aient été faites pour étudier les voies cellulaires de traitement de ces antigènes et de leur présentation aux lymphocytes T, le mécanisme précis basé reste inconnu. Cependant, il est bien documenté que la puissance et le type de la réponse immunitaire induite après une immunisation par l'ADN sont influencés par un certain nombre de paramètres différents.

Ces deux technologies sont extrêmement polyvalentes en raison de la facilité de manipulation des antigènes. La production d'antigènes dans les cellules cibles offre l'avantage d'imiter la synthèse des protéines au cours d'une infection, c'est-à-dire que les localisations des protéines, comme leur présence dans la membrane plasmique, peuvent être formées avec un haut degré de fidélité. Il est important de noter qu'ils permettent la délivrance de tout antigène de choix, qu'il soit dérivé d'un virus, d'une bactérie ou d'un parasite, ce qui favorise le développement de vaccins contre un large éventail d'agents pathogènes.

Le développement de différents vaccins peut se faire sans qu'il soit nécessaire de mettre en place de nouvelles méthodes de production, de purification et de validation ainsi que de nouvelles installations de fabrication, car les caractéristiques des vaccins sont indépendantes des protéines codées.

Les technologies basées sur l'acide nucléique permettent donc un développement et une production rapides et flexibles des vaccins. Étant donné que tous les vaccins peuvent être produits à partir des mêmes composants de base, la fabrication de plusieurs vaccins peut avoir lieu dans une seule installation établie, ce qui réduit considérablement les coûts et le temps de production des vaccins. Enfin, leur synthèse repose principalement sur matériaux synthétisés chimiquement, ce qui permet une production à grande échelle relativement facile.

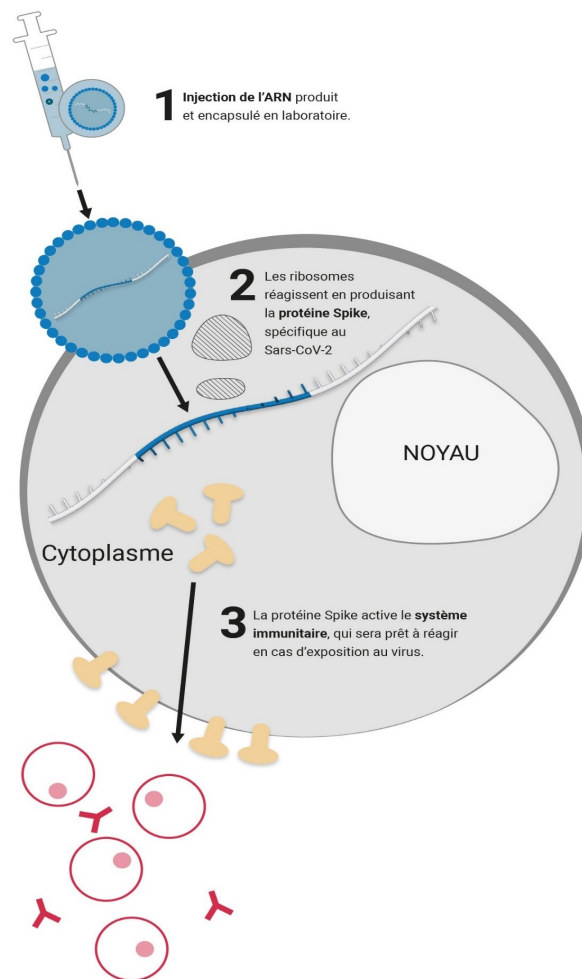


Figure VIII.1 – Principe du vaccin a ARNm [112].

VIII.2 Vaccins à base de protéines recombinantes

Il s'agit de vaccins sous-unités ne contenant qu'une fraction de l'organisme pathogène. Il s'agit souvent de peptides synthétiques qui représentent le composant protéique qui induit une réponse immunitaire. Mais ils peuvent aussi consister en des sous-unités protéiques (antigènes) exprimées dans un système d'expression hétérologue (*E. coli*, levure, insecte, etc.) à l'aide des technologies d'expression des protéines recombinantes. La plupart des vaccins étudiés aujourd'hui sont basés sur de telles protéines recombinantes purifiées ou des sous-unités d'antigènes. Les systèmes d'expression procaryotes pour la production d'antigènes vaccinaux comprennent des bactéries telles que *E. coli* et les systèmes eucaryotes comprennent des cellules de mammifères, de levures ou d'insectes.

L'exemple classique de vaccins à base de protéines recombinantes actuellement utilisés chez l'homme est le vaccin contre l'hépatite B. L'infection par le virus de l'hépatite B (VHB) est une maladie chronique du foie présente dans le monde entier. Le VHB présente un tropisme marqué pour les cellules du foie humain, en partie grâce à un récepteur

spécifique qui est exprimé à la surface des cellules infectées. Les vaccins actuels sont produits en exprimant l'antigène de surface de l'hépatite B (HBsAg) dans des cellules de levure. L'AG HBs s'assemble en particules de type viral (VLP), qui sont extrêmement immunogènes, ce qui fait du vaccin contre le VHB un vaccin très efficace. Le système d'expression de la levure peut sécréter l'antigène dans le surnageant de culture, ce qui peut faciliter sa purification.

De plus, les cellules de levure offrent une partie de la machinerie cellulaire eucaryote responsable de la modification post-traductionnelle des protéines, étant capables de rendre les protéines glycosylées. La technologie de production du vaccin contre le VHB a été transférée à plusieurs fabricants et les prix ont diminué en raison de la concurrence, ce qui a rendu ce vaccin abordable pour la plupart des pays en développement.

VIII.3 Vaccins utilisant un vecteur vivant recombinant

Grâce aux progrès réalisés dans les domaines de la biologie moléculaire et du génie génétique, il est désormais possible de créer des vecteurs recombinants vivants capables de délivrer des antigènes hétérologues par l'introduction de gènes codant. L'idée derrière cette approche est d'utiliser la capacité d'infection et les propriétés immunologiques du vecteur vivant pour susciter une réponse immunitaire contre ses propres protéines, ainsi que contre la protéine hétérologue présentée. Un certain nombre de bactéries (telles que *Salmonella typhi*) et le bacille Calmette-Guérin (BCG) et de virus (tels que la vaccine et l'adénovirus) ont été étudiés comme vaccins à vecteur recombinant vivant.

L'utilisation de vaccins bactériens vivants-atténués n'est pas nouvelle. Cependant, leur utilisation en tant que porteurs ou véhicules de livraison pour l'expression d'antigènes hétérologues représente une technologie avec une large applicabilité qui pourrait avoir un impact significatif sur le développement de vaccins. Des avancées significatives en biologie moléculaire ont permis la délétion précise de gènes codant pour d'importants facteurs de virulence, ainsi que l'introduction d'ADN recombinant dans des souches vaccinales avirulentes mais immunogènes. Les vecteurs bactériens présentent de nombreux avantages qui en font des systèmes attrayants pour la présentation d'antigènes hétérologues. Ils peuvent susciter des réponses immunitaires humorales et/ou cellulaires et peuvent être administrés par voie orale, suscitant ainsi l'immunité des muqueuses. La plupart sont des souches sensibles aux antibiotiques, ce qui permet un traitement antibiotique en cas de réaction indésirable. En général, ils présentent un rapport coût-efficacité très favorable.

Plusieurs études ont démontré que les vecteurs viraux recombinants codant pour des gènes d'agents pathogènes importants (tels que le paludisme, le VIH et la tuberculose) sont capables d'induire des réponses immunitaires à la fois humorales et à médiation cellulaire,

De nombreux vecteurs viraux sont disponibles pour le développement de vaccins, tels que le virus de la vaccine, le virus modifié de la vaccine Ankara (MVA), l'adénovirus (Ad), le virus adéno-associé (AAV), le rétrovirus/lentivirus, l'alphavirus, le virus de l'herpès et bien d'autres. Il existe de nombreuses différences entre les vecteurs viraux disponibles. Ils peuvent être classés selon le type de virion (ADN ou ARN), la taille des particules, la capacité du transgène et le tropisme cellulaire. Les vecteurs viraux peuvent être des virus réplicatifs ou non réplicatifs ; les virus non réplicatifs sont les plus testés dans les essais cliniques, en partie en raison de leur plus grande sécurité. Cependant, certains groupes se concentrent sur l'utilisation de vecteurs réplicatifs dans les essais cliniques, car ils sont plus susceptibles de provoquer des réponses immunitaires cellulaires et muqueuses plus fortes, ainsi que des anticorps contre les protéines exprimées.

VIII.4 Vaccin cellulaire

Les vaccins anticancéreux visent spécifiquement à activer le système immunitaire des patients atteints de cancer. Comme les cellules dendritiques (CD) relient le système immunitaire inné et adaptatif en tant que puissantes cellules présentatrices d'antigènes, elles ont été utilisées comme vaccins contre le cancer dans plusieurs essais cliniques. L'immunothérapie à base de CD s'est avérée sûre et capable d'induire une immunité anti-tumorale.

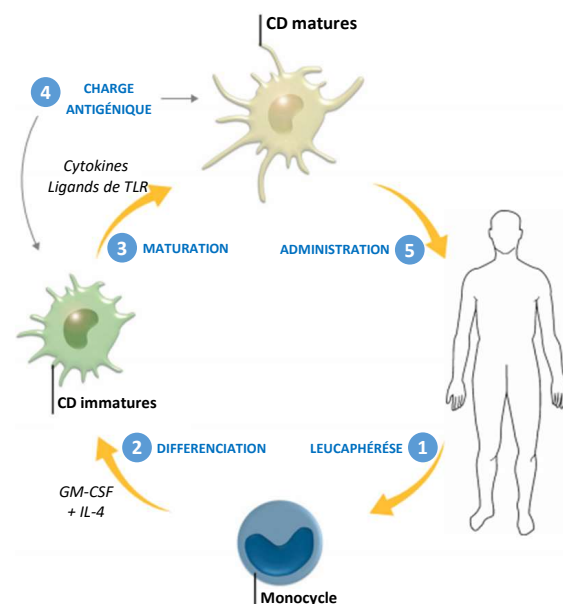


Figure VIII.2 – Vaccination par des cellules dendritiques [113].

VIII.5 Covid-19 et les défis de formulation de vaccins appropriés

[94, 114, 115, 116, 117, 118]

Le Covid-19 est une maladie infectieuse causée par un nouveau virus appelé SRAS-CoV-2. Signalée pour la première fois à Wuhan, en Chine, la maladie est désormais considérée comme une pandémie d'intérêt mondial. L'Algérie est le quatrième pays le plus touché en Afrique avec 2718 cas positifs en avril 2020 et le 55ème pays au monde [114].

Dans la course à un vaccin sûr et efficace contre la maladie à coronavirus (COVID)-19, la science de la formulation pharmaceutique joue un rôle essentiel tout au long des phases de développement, de fabrication, de distribution et de vaccination. Le choix approprié du type de vaccin, du support ou du vecteur, de l'adjuvant, des excipients, de la forme posologique et de la voie d'administration peut avoir un impact direct non seulement sur les réponses immunitaires induites et l'efficacité résultante contre le COVID-19, mais aussi sur la logistique de la fabrication, du stockage et de la distribution du vaccin, ainsi que sur la vaccination de masse [115].

VIII.5.1 Types de vaccins candidats contre le COVID-19

Les vaccins candidats contre COVID-19 ont des compositions diverses, allant des vaccins traditionnels à pathogène entier à divers vaccins de nouvelle génération.

Les vaccins traditionnels contre des agents pathogènes entiers sont constitués de vaccins vivants-atténués et de vaccins inactivés, dont les processus de développement sont relativement simples.

- **Les vaccins vivants-atténués** introduisent une infection légère qui ressemble à l'infection réelle, ce qui entraîne une forte réponse immunitaire et la mémoire immunologique peut durer des années. Ils ont souvent une réactogénicité (capacité à induire des réactions secondaires ou des effets indésirables) plus élevée que les vaccins à base de protéines recombinantes, et ont le potentiel d'infecter des personnes dont le système immunitaire est compromis ou de revenir à une souche virulente [114].

- **Les vaccins inactivés** sont relativement plus sûrs car ils ne contiennent pas d'agents pathogènes vivants, mais leur immunogénicité peut être moindre et ils nécessitent souvent plusieurs doses pour établir une mémoire immunitaire. Bien que le vaccin lui-même soit théoriquement sûr, un défaut dans le processus de fabrication peut provoquer une épidémie.

Comme par exemple le vaccin CoronaVac[®] de la société biopharmaceutique chinoise « SINOVAC » [115].

Les vaccins de nouvelle génération y compris les vaccins à base de protéines recombinantes et les vaccins à base de vecteurs, n'incorporent qu'un ou plusieurs antigènes spécifiques de l'agent pathogène, au lieu de l'agent pathogène entier, ce qui leur confère un meilleur profil de sécurité.

La conception d'un vaccin de nouvelle génération efficace nécessite une compréhension approfondie de la structure et de l'immunopathogénie de l'agent pathogène. Par conséquent, le développement de vaccins de nouvelle génération pour de nouveaux agents pathogènes peut prendre plus de temps. Heureusement, le virus du SRAS-CoV-2 est homologue du SRAS-CoV et du Coronavirus du syndrome respiratoire du Moyen-Orient (MERS-CoV), qui a été étudié pendant des années.

En fonction du support de l'antigène, les vaccins de nouvelle génération contre le COVID-19 peuvent être classés en vaccins à base de protéines recombinantes et en vaccins à base de vecteurs, par exemple les vaccins à ARN messager (ARNm), les vaccins à ADN plasmidique, les vaccins à base de vecteurs viraux et les vaccins à base de vecteurs bactériens non pathogènes [115].

- **Les vaccins à ARNm** L'ARNm code l'information génétique nécessaire à la production d'un antigène, et les vaccins à ARNm conduisent donc également à la production de protéines de coronavirus in vivo et induisent une expression rapide de l'antigène, et les antigènes exprimés génèrent des réponses immunitaires à la fois humorales et cellulaires [116]. Exemple : le vaccin COMIRNATY[®] de Pfizer (Etats-Unis) en collaboration avec BioNTech (Allemagne) et le vaccin de Moderna.

- **Les vaccins à ADN** Le vaccin ADN élimine la nécessité d'utiliser des virus vivants, et présente donc un meilleur profil de sécurité. Le processus de fabrication de l'ADN plasmidique est relativement simple, et les molécules d'ADN double brin sont plus stables que les virus, les protéines et l'ARNm, et peuvent être lyophilisées pour un stockage à long terme [115].

- **Vaccins à base de vecteurs viraux** Dans les vaccins basés sur des vecteurs viraux, l'antigène est cloné dans un vecteur viral qui n'a pas la capacité de se reproduire. Le vecteur viral imite l'état pathologique de l'infection virale et peut donc produire des réponses immunitaires cellulaires plus fortes que celle du vaccin protéique recombinant. Exemple :

le vaccin Vaxzevria[®] de la collaboration Suédo-britannique AstraZeneca/Oxford, et le vaccin Spoutnik V[®] du laboratoire russe Gamaleya [115].

- **Vaccins à base de vecteurs bactériens** Le vecteur bactérien est une autre option pour les vaccins à base de vecteurs. Parmi eux, les bactéries lactiques non pathogènes (LAB) sont les plus prometteuses. Le vaccin candidat COVID-19 de Symvivo, bacTRL-Spike[®], utilise les LAB comme vecteur et fait actuellement l'objet d'un essai clinique. Le vecteur vaccinal LAB présente certains avantages : son coût de fabrication est faible, et il peut être lyophilisé pour offrir un meilleur profil de stabilité [115].

- **Vaccin à base de sous-unités de protéines** Les vaccins sous-unités ne comprennent que les parties du virus qui stimulent le mieux le système immunitaire. Ce type de vaccin COVID-19 contient des protéines S inoffensives. Lorsque le système immunitaire reconnaît ces protéines, il crée des anticorps et des globules blancs défensifs (stimule l'immunité humorale et cellulaire) [117] [118].

La société pharmaceutique américaine Novavax travaille sur un vaccin COVID-19 à base de sous-unités de protéines.

VIII.5.2 Les vaccins Covid-19 autorisés en Algérie

L'Algérie a autorisé 3 vaccins :

- Un vaccin inactivé « *CoronaVac* » de la société SINOVAC ;
- Deux vaccins à base de vecteurs viraux : « *Vaxzevria* » d'AstraZeneca et « *Spoutnik V* » de Gamaleya.

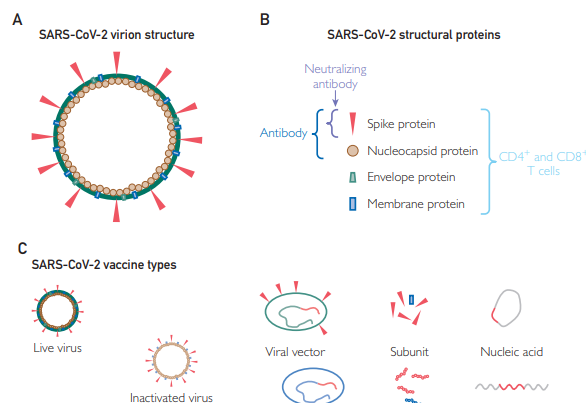


Figure VIII.3 – Les types de vaccins covid-19 (SARS-CoV-2).

| Laboratoire | Type | Doses | Stockage |
|---------------------------|--|-------|--|
| Oxford Uni-AstraZeneca | Vecteur viral (virus génétiquement modifié) | x2 | 2 à 8°C (6 mois) |
| Moderna | ARN (partie du code génétique du virus) | x2 | -25 à -15°C (7 mois) |
| Pfizer-BioNTech | ARN | x2 | -80 à -60°C (6 mois) |
| Gamaleya (Sputnik V) | Vecteur viral | x2 | -18,5°C (forme liquide) 2 à 8°C (forme sèche) |
| Sinovac (CoronaVac) | Virus inactivé | x2 | 2°C à 8°C |
| Sinopharm | Virus inactivé | x2 | 2°C à 8°C |
| Novavax | À base de protéines | x2 | 2°C à 8°C |

Tableau VIII.1 – différents types de vaccins covid-19.

Conclusion

Depuis leur introduction et jusqu'à aujourd'hui, les vaccins ont contribué à sauver des milliards de vies dans le monde entier, les principales maladies qui tuaient ou handicapait des millions d'enfants peuvent maintenant être évitées par la vaccination, ils ont même réussi à éradiquer la variole, avec une quasi-éradication de la poliomyélite et une diminution de plus de 90% des maladies infectieuses dans les pays qui appliquent correctement les recommandations vaccinales.

Mais les chercheurs et les scientifiques ne se sont pas contentés de cela et le domaine des vaccins est actuellement au cœur d'une puissante révolution technologique qui devrait permettre de mettre au point des vaccins contre les agents infectieux qui ne sont pas encore ciblés, comme les bactéries résistantes aux antibiotiques, le VIH, le paludisme et la tuberculose et des vaccins thérapeutiques capables de prévenir ou de guérir les maladies métaboliques, les maladies neurodégénératives et le cancer ,et cela en suscitant une immunité contre les antigènes du soi qui ont pris des formes ,ou ceux qui sont surexprimés, comme cela se produit dans le cancer. Ils ont aussi relevé le défi de la difficulté rencontrée avec les vaccins à antigènes hautement purifiés qui peuvent être des immunogènes faibles, et cela a été fait avec l'accouplement de ces antigènes avec des adjuvants.

Au fur et à mesure que la technologie des vaccins a progressé, les méthodes de production et de contrôles des vaccins ont évolué en parallèle. Les défis de l'innovation technologique comprennent l'objectif de réaliser un vaccin théoriquement idéal avec d'une part une efficacité plus sûre, plus immunogène avec une large couverture, moins couteux ainsi qu'une voie d'administration non invasive , avec d'autre part avoir des vaccins aussi plus accessibles surtout aux pays en développement, elles doivent également relever le défi de l'extinction rapide d'épidémies de maladies émergentes ou réémergentes, telles la pandémie COVID-19. Il en résultera de ces technologies des vaccins équivalents ou supérieurs à leurs prédécesseurs, mais produits avec des technologies de pointe à une échelle et à une vitesse permettant de répondre à la demande.

Malgré ces progrès, des défis de longue date subsisteront ou s'intensifieront. Il s'agit notamment de surmonter l'inertie nécessaire pour modifier des procédures de fabrication bien établies, de résoudre les problèmes réglementaires complexes liés à l'introduction de nouveaux types de vaccins pour les personnes en bonne santé et de gérer l'augmentation des coûts de production de nouveaux vaccins complexes. Il y a aussi une demande croissante pour la sécurité des vaccins, alimentée en partie par groupes anti-vaccination : Comme la maladie recule, le besoin de vaccination devient moins évident pour le public, et de plus en plus des personnes choisissent de ne pas respecter le contrat social de se faire vacciner.

Autrement dit, les rapports risque-bénéfice deviennent plus controversés lorsque la présence de la maladie diminue, donc il sera important de réduire au minimum les réactions associées aux vaccins et bien sûr, l'immunité collective (l'immunité de groupe) échouera si trop de gens refusent d'être vaccinés. Pour cette raison, les anciens vaccins doivent être réexaminés pour voir si la sécurité peut être améliorée, comme cela a été fait en remplaçant le vaccin antioquelucheux à cellules par des vaccins antioquelucheux acellulaires et le remplacement du vaccin antirabique fabriqué dans le cerveau par un vaccin fabriqué en culture cellulaire.

C'est pourquoi, nous devons mieux informer le public sur ce que l'on sait de la sécurité des vaccins, et en particulier, des adjuvants et des autres technologies en développement, afin qu'il puisse évaluer correctement les risques liés à ces agents.

Résumé

L'histoire de la vaccination remonte aux pratiques empiriques chinoises de la vario-
lisation du Vème siècle, cette dernière a laissé place à la vaccination grâce à Jenner et
Pasteur.

Le vaccin est une préparation contenant des substances antigéniques ayant la propriété
de créer une immunité active et spécifique contre l'agent infectants, il a donc un effet im-
munologique et non pas pharmacologique. La recherche et le développement des vaccins
comportent plusieurs phases commençant par l'exploration c'est-à-dire la compréhension
de la maladie et de l'agent infectieux en cause, passant par les essais préclinique qui com-
prennent des études d'innocuité et d'immunogénicité, en aboutissant aux essais clinique
à grande échelle qui, tout en confirmant les résultats des essais précédents, ils évaluent
l'effet protecteur et donc l'efficacité du vaccin. Les résultats de tous ces essais sont enre-
gistrés dans un document de format standard qui sera ensuite examiné par des autorités
compétentes chargées d'approuver ou de refuser la demande d'autorisation de mise sur le
marché du vaccin. Après avoir l'autorisation de mise sur le marché, le processus de fabri-
cation proprement dite s'instaure avec ses deux grandes étapes : fabrication biologique, et
fabrication pharmaceutique qui conduisent à l'acquisition de vaccins de différents types,
anciens et nouveaux (l'exemple du vaccin Covid-19 en particulier), stables, stériles, et
conditionnés. Divers contrôles sont mis au point dès la matière première au produit fini,
75% du temps de production est consacré aux contrôles, ce qui montre leur importance.

Une fois le vaccin produit, l'industriel doit le commercialiser, le marché du vaccin
qui ne représente qu'un faible pourcentage de l'industrie pharmaceutique, est en pleine
croissance. Les forts revenus, la domination de l'oligopole, et les innovations continues
constituent les opportunités et les forces du marché qui aident à affronter ses menaces et
ses faiblesses.

La surveillance des vaccins ne s'arrête pas aux essais cliniques quoique ce soit leur taille,
l'étude de pharmacovigilance en post-commercialisation concerne des millions d'individus
et peut permettre de déceler des effets indésirables rares ou très rares non identifiés
antérieurement.

Mots clés : Vaccin, Développement, Contrôle, Covid19, Blida-Algérie.

Abstract

The history of vaccines dates back to the empirical Chinese practices of variolisation in the 5th century, which gave way to vaccination thanks to Jenner and Pasteur.

Vaccine is a preparation containing antigenic substances with the property of creating an active and specific immunity against the infecting agent ; it has therefore an immunological rather than a pharmacological effect. The research and development of vaccines involves several phases, starting with the exploration that is the understanding of the disease and the infectious agent involved, passing through preclinical trials that include safety and immunogenicity studies, to reach a high-scale of clinical trials, which -while confirming the previous trial results - evaluate the protective effect, and effectiveness of the vaccine. The results of all these trials are recorded in a standard format document that is then reviewed by competent authorities responsible for approving or denying the marketing authorization application for the vaccine. After the marketing authorization is granted, the actual manufacturing process begins with its two main steps : biological manufacturing and pharmaceutical manufacturing, which lead to the acquisition of different types of vaccines, old and new (the example of the Covid-19 vaccine in particular), stable, sterile, and packaged. Various controls are developed from the raw material to the finished product, 70% of the production time is devoted to controls, which indicates their importance.

Once the vaccine is produced, the manufacturer must market it. The vaccine market, which represents only a small percentage of the pharmaceutical industry, is growing rapidly. High revenues, oligopoly dominance, and continuous innovation are the opportunities and strengths of the market that help to address its threats and weaknesses.

Vaccine surveillance does not stop at clinical trials, even though they are large, post-marketing pharmacovigilance studies involve millions of individuals and can detect rare or very rare adverse events not previously identified.

Key words : Vaccine, Development, Control, Covid19, Blida-Algeria.

ملخص :

يعود تاريخ التطعيم إلى الممارسات الصينية التجريبية المتمثلة في التباين في القرن الخامس الميلادي، فقد أفسح هذا الأخير المجال للتطعيم بفضل جينز وباستور.

اللقاح هو تحضير يحتوي على مواد مضادة للجراثيم لها خاصية إنشاء مناعة نشطة ومحددة ضد العامل المصاب، وبالتالي له تأثير مناعي لا دوائي. ينطوي البحث والتطوير في مجال اللقاحات على عدة مراحل تبدأ بالاستكشاف، أي فهم المرض والعامل المعدي المعني، مروراً بالتجارب قبل السريرية، التي تشمل دراسات تتعلق بالسلامة والتوليد المناعي، وصولاً إلى تجارب سريرية واسعة النطاق تقوم، مع تأكيد نتائج التجارب السابقة، بتقييم الأثر الوقائي وبالتالي فعالية اللقاح. تسجل نتائج جميع هذه الاختبارات في وثيقة نموذجية تدرسها بعد ذلك السلطات المختصة المكلفة بالموافقة على طلب الترخيص بتسويق اللقاح أو رفضه. بعد منح إذن التسويق، تبدأ عملية التصنيع الفعلية بخطوتيهما الرئيسيتين: التصنيع البيولوجي والتصنيع الصيدلاني، التي تؤدي إلى الحصول على أنواع مختلفة من اللقاحات، القديمة والجديدة (مثل لقاح Covid-19 على وجه الخصوص)، مستقرة، معقمة، ومغلقة. يتم تطوير ضوابط مختلفة من المادة الخام إلى المنتج النهائي، يتم تخصيص 70% من وقت الإنتاج للضوابط، وهو ما يشير إلى أهميتها.

بمجرد إنتاج اللقاح، يجب على الشركة المصنعة تسويقه. فسوق اللقاحات، التي لا تمثل سوى نسبة ضئيلة من صناعة الأدوية، في نمو مستمر. إن ارتفاع العائدات، وهيمنة الاحتكار على القلة، والإبداع المستمر، تشكل الفرص والقوى التي تتمتع بها السوق والتي تساعد في معالجة تهديداتها وضعفها.

لا تتوقف مراقبة اللقاحات عند إجراء التجارب السريرية، حتى وإن كانت كبيرة، فإن الدراسات الصيدلانية اللاحقة للتسويق تشمل ملايين الأفراد، ويمكن أن تكتشف أحداثاً سلبية نادرة أو نادرة جداً لم يتم تحديدها من قبل.

الكلمات المفتاحية : لقاح، تطور، مراقبة، كوفيد 19، البلدية-الجزائر

Références

- [1] Stanley A. Plotkin and Susan L. Plotkin. The development of vaccines : how the past led to the future. *Nature Reviews Microbiology*, 9(12) :889–893, December 2011.
- [2] Emanuele Andreano, Ugo D’Oro, Rino Rappuoli, and Oretta Finco. Vaccine Evolution and Its Application to Fight Modern Threats. *Frontiers in Immunology*, 10 :1722, 2019.
- [3] Phillip L Gomez, James M Robinson, and Joseph A Rogalewicz. Vaccine manufacturing. *Vaccines*, pages 44–57, 2013. Edition : 2012/11/07.
- [4] Ana F. Rodrigues, Hugo R. Soares, Miguel R. Guerreiro, Paula M. Alves, and Ana S. Coroadinha. Viral vaccines and their manufacturing cell substrates : New trends and designs in modern vaccinology. *Biotechnology Journal*, 10(9) :1329–1344, September 2015.
- [5] Ennio De Gregorio and Rino Rappuoli. From empiricism to rational design : a personal perspective of the evolution of vaccine development. *Nature Reviews Immunology*, 14(7) :505–514, July 2014.
- [6] Jessica O. Josefsberg and Barry Buckland. Vaccine process technology. *Biotechnology and Bioengineering*, 109(6) :1443–1460, June 2012.
- [7] Fred Zepp. Principles of vaccine design—Lessons from nature. *Vaccine*, 28 :C14–C24, August 2010.
- [8] Stanley A Plotkin. Vaccines : past, present and future. *Nature Medicine*, 11(S4) :S5–S11, April 2005.
- [9] B. Soubeyrand. De la fabrication d’un vaccin à sa mise à disposition en pharmacie. *Revue des Maladies Respiratoires*, 35(10) :1005–1019, December 2018.
- [10] E. Autret-Leca, L. Bensouda-Grimaldi, A.P. Jonville-Béra, and F. Beau-Salinas. Pharmacovigilance des vaccins. *Archives de Pédiatrie*, 13(2) :175–180, February 2006.

- [11] Mohamed Naceur Krifi. *Naissance et essor de la vaccinologie et de l'immunothérapie*. 2017. OCLC : 1238090002.
- [12] N. Guérin. Histoire de la vaccination : de l'empirisme aux vaccins recombinants. *La Revue de Médecine Interne*, 28(1) :3–8, January 2007.
- [13] Stanley A Plotkin, Walter A Orenstein, and Paul A Offit. *Vaccines*. Saunders/Elsevier, Philadelphia, Pa., 2008. OCLC : 489075133.
- [14] José Esparza, Seth Lederman, Andreas Nitsche, and Clarissa R. Damaso. Early smallpox vaccine manufacturing in the United States : Introduction of the “animal vaccine” in 1870, establishment of “vaccine farms”, and the beginnings of the vaccine industry. *Vaccine*, 38(30) :4773–4779, June 2020.
- [15] Pasteur L. Méthode pour prévenir la rage après morsure. 1885.
- [16] MOULIN Anne-Marie. Aventure de la vaccination. *La Flèche : Fayard*, 1996.
- [17] N.Guérin. Vaccinations.emc-pédiatrie 2. pages 65–95, 2005.
- [18] Simona Luca and Traian Mihaescu. History of BCG Vaccine. *Maedica*, 8(1) :53–58, March 2013. Publisher : Media Med Publicis.
- [19] Catherine Turberg-Romain. Journal de pédiatrie et de puériculture volume 34, issue 1. pages 12–35, February 2021.
- [20] Aurore Blin. Principe de la vaccination. *Actualités Pharmaceutiques*, 57(580) :47–49, November 2018.
- [21] Peter J Delves. *Fondements de l'immunologie*. De Boeck, Bruxelles, 2008. OCLC : 732686252.
- [22] Juillard-Condat B. et Durand M.-C. Degris É., Lapeyrade A. Un point sur les vaccins. *Actualités Pharmaceutiques Hospitalières*, pages 10–20, 2007.
- [23] Clere N. La vaccination, véritable enjeu de santé publique. *Actualités Pharmaceutiques*, pages 38–41, 2013.
- [24] E. Canouï and O. Launay. Histoire et principes de la vaccination. *Revue des Maladies Respiratoires*, 36(1) :74–81, January 2019.
- [25] N Rouas, J.M. Bidart, and D Bellet. Interactions cellulaires au cours de la réponse immunitaire. *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée*, 8(1) :9–15, March 1993.
- [26] Charline Miot, Caroline Poli, Emeline Vinatier, Pascale Jeannin, and Céline Beauvillain. Vaccins, adjuvants et réponse immunitaire post-vaccinale : bases immunologiques. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2019(512) :42–51, May 2019.
- [27] H Van Loveren, J G Van Amsterdam, R J Vandebriel, T G Kimman, H C Rümke, P S Steerenberg, and J G Vos. Vaccine-induced antibody responses as parameters

- of the influence of endogenous and environmental factors. *Environmental Health Perspectives*, 109(8) :757–764, August 2001.
- [28] Petra Zimmermann and Nigel Curtis. Factors That Influence the Immune Response to Vaccination. *Clinical Microbiology Reviews*, 32(2), March 2019.
- [29] L. Tomljenovic and C. A. Shaw. Aluminum Vaccine Adjuvants : Are they Safe ? *Current Medicinal Chemistry*, 18(17) :2630–2637, June 2011.
- [30] D. Speck. Aspects spécifiques de la production dans le domaine des vaccins. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 67(3) :213–218, May 2009.
- [31] Lawrence R. Stanberry Alan D.T. Barrett. *Aluminum Vaccine Adjuvants : Are they Safe ?* 2009.
- [32] Paul Wilson. Vaccins : Etats des lieux de l'accès dans les pays en developpement et de la recherche. page 31, 2010.
- [33] J. Volckmann. Recherche en biotechnologie. l'exemple des vaccins. *Sanofi. Pasteur*, 2009.
- [34] Protocole d'immunisation du quebec (piq), 2013.
- [35] Paul Erik Petersen. World Health Organization. Organisation Mondiale de la Sante. *Community Dentistry and Oral Epidemiology*, 31(6) :471–471, December 2003.
- [36] C. Griscelli. Développement des vaccins . tests précliniques et cliniques.
- [37] *Nonclinical Development of Novel Biologics, Biosimilars, Vaccines and Specialty Biologics*. Elsevier, 2013.
- [38] John Clemens. Recherches traductionnelles pour obtenir l'introduction rationnelle et efficace de nouveaux vaccins dans les pays en développement : l'expérience de l'International Vaccine Institute. *Annales Nestlé (Ed. française)*, 66(2) :81–91, 2008.
- [39] R. Gordon Douglas and Vijay B. Samant. The Vaccine Industry. In *Plotkin's Vaccines*, pages 41–50. Elsevier, 2018.
- [40] Odile Launay. Recherche publique et privée autour des vaccins en France. page 3.
- [41] Center for Disease Control and Prevention. Vaccine Testing and Approval License. <https://www.cdc.gov/>.
- [42] Direction générale de la santé. Comité technique des vaccinations. Guide des vaccinations, 2012.
- [43] J Gaudelus. *Vaccinologie*. Doin, Rueil-Malmaison, 2008. OCLC : 319067298.
- [44] F. Denis and M.-C. Ploy. Stratégies de recherche et développement, illustrées par les nouveaux vaccins. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 67(3) :198–202, May 2009.

- [45] Algérie presse service. Mise en place d'une procédure "accélérée" d'enregistrement des vaccins anti-covid. <https://www.aps.dz/>, 2020.
- [46] LEEM Les Entreprises du Médicament. Plateforme LEEM Vaccins. <https://www.leem.org/>.
- [47] Morgeaux Sylvie. *Contrôle des vaccins rabiques : utilisation des techniques de biologie moléculaire et d'immunologie cellulaire*. PhD thesis, Paris 7, 1992.
- [48] J Pilette. Opinions et réticences face à la vaccination. (11) :9, 2011.
- [49] Françoise Aubrit, Fabien Perugi, Arnaud Léon, Fabienne Guéhenneux, Patrick Champion-Arnaud, Mehdi Lahmar, and Klaus Schwamborn. Cell substrates for the production of viral vaccines. *Vaccine*, 33(44) :5905–5912, November 2015.
- [50] Emerging therapeutic vaccines – Drug Discovery World (DDW).
- [51] Ashok Katdare and Mahesh Chaubal. *Excipient Development for Pharmaceutical, Biotechnology, and Drug Delivery Systems*. CRC Press, July 2006. Google-Books-ID : _QVIS81xti8C.
- [52] Jeffrey B Ulmer, Ulrich Valley, and Rino Rappuoli. Vaccine manufacturing : challenges and solutions. *Nature Biotechnology*, 24(11) :1377–1383, November 2006.
- [53] S. Plotkin. History of vaccination. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(34) :12283–12287, August 2014.
- [54] Fiche technique réalisée à l'occasion de la rencontre des éleveurs félins. *Les technologies vaccinales*. October 2007.
- [55] Alain Branger, Marie-Madeleine Richer, and Sébastien Roustel. *Alimentation, sécurité et contrôles microbiologiques*. Educagri, Dijon, 2007. OCLC : 301792547.
- [56] Suivre l'évolution continue de l'amélioration des plantes - La mutagénèse.
- [57] Vaccine Ingredients | CDC, December 2020.
- [58] Friede Martin Garçon Nathalie. Plotkin's vaccines : General immunization practices. pages 96–120. Elsevier, 2018.
- [59] Mark J. Papania, Darin Zehrung, and Courtney Jarrahan. Technologies to Improve Immunization. In *Plotkin's Vaccines*, pages 1320–1353.e17. Elsevier, 2018.
- [60] Amish A Dangi, Navin R Sheth, Hima H Sodha, Purvi C Joshi, Divyesh S Bhalodiya, Ankita C Panchal, and Pooja R Ramanuj. FORMULATION AND DEVELOPMENT OF VACCINES AND THEIR SELECTION FOR NEXT GENERATION. page 14.
- [61] S. Sambhara J.S. Bresee, A.M. Fry. Plotkin's vaccine : Inactivated influenza vaccines. pages 456–488. Elsevier, 2018.
- [62] G RAMON. Sur l'augmentation anormale de l'antitoxine chez les chevaux producteurs de serum antidiphtherique. *Bull Soc Centr Med Vet*, pages 227–234, 1925.

- [63] Nathalie Garçon, Stanley Hem, and Martin Friede. Evolution of adjuvants across the centuries. In *Vaccines*, pages 58–70. Elsevier, 2013.
- [64] Nathalie Garçon, Geert Leroux-Roels, and Wen-Fang Cheng. Vaccine adjuvants. *Perspectives in Vaccinology*, 1(1) :89–113, August 2011.
- [65] Organisation mondiale de la santé, Fonds des Nations Unies pour l’enfance, and Banque mondiale (Terme général). *Vaccins et vaccination la situation dans le monde /2009*. Organisation mondiale de la Santé, Genève, 2010. OCLC : 690171583.
- [66] B.Losson S.Vermout, M.Denis. Choix d’un adjuvant lors d’essais de vaccination. *Ann. Méd*, pages 393–401, 2003.
- [67] Denis Brossard, Christine Charrueau, Jean-Claude Chaumeil, Sylvie Crauste-Manciet, and Alain Le Hir. *Pharmacie Galénique : Bonnes Pratiques de Fabrication des Médicaments*. Elsevier Health Sciences, October 2016. Google-Books-ID : WfDQD-wAAQBAJ.
- [68] Norman W. Baylor. The Regulatory Evaluation of Vaccines for Human Use. In Sunil Thomas, editor, *Vaccine Design*, volume 1404, pages 773–787. Springer New York, New York, NY, 2016. Series Title : Methods in Molecular Biology.
- [69] N. Dellepiane, E. Griffiths, and J. B. Milstien. New challenges in assuring vaccine quality. *Bulletin of the World Health Organization*, 78(2) :155 – 162, 2000. Publisher : World Health Organization Type : Journal / periodical articles.
- [70] Bernard Metz, Germie van den Dobbelsteen, Cécile van Els, Johan van der Gun, Lonneke Levels, Leo van der Pol, Nynke Rots, and Gideon Kersten. Quality-control issues and approaches in vaccine development. *Expert Review of Vaccines*, 8(2) :227–238, February 2009.
- [71] Vaccine Cold Chain : Part 1. Proper Handling and Storage of Vaccine. *AAOHN Journal*, 58(8) :345–346, August 2010.
- [72] Center for Disease Control and Prevention. Vaccine Storage and Handling. <https://www.cdc.gov/>.
- [73] M J Chojnacky, W M Miller, and G F Strouse. Methods for accurate cold-chain temperature monitoring using digital data-logger thermometers. page 7, 2015.
- [74] Ümit Kartoglu, Nejat Kenan Özgüler, Lara J Wolfson, and Wiesław Kurzatkowski. Validation of the shake test for detecting freeze damage to adsorbed vaccines. *Bull World Health Organ*, page 8, 2010.
- [75] Amarjeet GROVER, Ashoo et SINGH. Validity of the shake test to identify the frozen damaged vaccine vials. *Indian pediatrics*, 42(7) :724, 2005.

- [76] A Galazka, J Milstien, and M Zaffran. Thermostabilité des vaccins. *Genève : Organisation mondiale de la Santé*, page 66, 1998.
- [77] World Health Organization. Guidelines on stability evaluation of vaccines. *Biologicals*, 37(6) :424–434, 2009.
- [78] Philippe Jaillard. Conservation des vaccins, chaîne du froid. *Agence de médecine Préventive, Ouagadougou, Burkina Faso*, April 2009.
- [79] Kieny M P Milstien J B, Kaddar M. The impact of globalization on vaccine development and availability. *Health Affairs*, 25(4) :1061–1069, 2006.
- [80] T Gaudiaut. Les géants de l'industrie des vaccins. *statista*, 2020.
- [81] M.-A. Balinska and C. Léon. Opinions et réticences face à la vaccination. *La Revue de Médecine Interne*, 28(1) :28–32, January 2007.
- [82] World Health Organization. Global vaccine market report. *World Health Organization*, (WHO/IVB/19.03), 2019.
- [83] T Gaudiaut. Les profits de l'industrie pharma à l'heure du covid-19. *Statista*, 2021.
- [84] L. Abboud H. Kuchler. Les géants pharmaceutiques ont perdu la course aux vaccins. *Courrier international*, 2021.
- [85] Lori Uscher-Pines, Daniel J. Barnett, Jason W. Sapsin, David M. Bishai, and Ran D. Balicer. A systematic analysis of influenza vaccine shortage policies. *Public Health*, 122(2) :183–191, February 2008.
- [86] UNICEF OMS. La vaccination dans le monde : vision et stratégie 2006-2015. (WHO/IVB/05.05F) :82.
- [87] M mikulic. Leading pharmaceutical companies and total global vaccine revenue 2017 and 2024. *Statista*, 2020.
- [88] A.Sabow O. Wymann, A.Pasternak and C.Jones. Structural shift, promising yet challenging new markets for vaccines. *Health and Life Science*, page 12, 2006.
- [89] Rajat Gupta. World vaccines market 2008 2013 future forecast, critical trends and developments. *Renub Research*, April 2006.
- [90] M. Eccleston-Turner. Beyond patents : Scientific knowledge, and access to vaccine. *Ethics, Medicine and Public Health*, 3(1) :64–73, January 2017.
- [91] Canasse S. Vaccins : des enjeux sanitaires, économiques et stratégiques. *Carnet de santé*, June 2010.
- [92] Sanicas M Diop D. Innovations en vaccinologie : enjeux et perspectives pour l'afrique. *The Pan African Medical Journal*, page 26, 2017.
- [93] K. Debackere H. Stevens, I. Huys. Vaccines : Accelerating innovation and access. *Global challenges report*, 2017.

- [94] Carla Magda Allan S. Domingues, Antonia Maria da Silva Teixeira, and Sandra Maria Deotti Carvalho. National immunization program : vaccination, compliance and pharmacovigilance. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 54(suppl 18) :22–27, October 2012.
- [95] AngelaS Clem. Fundamentals of vaccine immunology. *Journal of Global Infectious Diseases*, 3(1) :73, 2011.
- [96] D. Baxter. Active and passive immunity, vaccine types, excipients and licensing. *Occupational Medicine*, 57(8) :552–556, December 2007.
- [97] William Atkinson. Epidemiology and prevention of vaccine-preventable diseases. Chapter 1 : principles of vaccination. *Department of Health & Human Services, Centers for Disease Control and Prevention*, 2006.
- [98] Stéphane Berthélémy and Jacques Buxeraud. La vaccination, une démarche de santé publique. *Actualités Pharmaceutiques*, 49(498) :14–19, September 2010.
- [99] J.E. Alouf. Vaccins anti-toxines. *Annales de l'Institut Pasteur / Microbiologie*, 136(3) :309–321, November 1985.
- [100] Nizar Ajjan, Nicole Guérin, François Denis, and Michel Rey. *La vaccination manuel pratique de tous les vaccins. Chapitre 1 : les différents types de vaccins et leur histoire*. Elsevier Masson, Paris, 2009.
- [101] de la Population et de la Réforme Hospitalière Ministère de la Santé. Le guide pratique de mise en œuvre du calendrier national de vaccination 2016.
- [102] Le CTNCV a été mis en place par arrêté ministériel (n° 68 du 02 août 2012 et décision n° 94 du 19 Mai 2013).
- [103] Journal officiel n49 du 08 Aout 2018 Arrêté du 19 Chaoual 1439 correspondant au 3 juillet 2018 page 30.
- [104] Ruth Arnon and Tamar Ben-Yedidia. Old and new vaccine approaches. *International Immunopharmacology*, 3(8) :1195–1204, August 2003.
- [105] Rui Zhang and Bret D. Ulery. Synthetic Vaccine Characterization and Design. *Journal of Bionanoscience*, 12(1) :1–11, February 2018.
- [106] Susanne Rauch, Edith Jasny, Kim E. Schmidt, and Benjamin Petsch. New Vaccine Technologies to Combat Outbreak Situations. *Frontiers in Immunology*, 9 :1963, September 2018.
- [107] Sidgi Syed Anwer Abdo Hasson, Juma Khalifa Zayid Al-Busaidi, and Talal Abdulmalek Sallam. The past, current and future trends in DNA vaccine immunisations. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 5(5) :344–353, May 2015.

- [108] Oliver Spadiut, Simona Capone, Florian Krainer, Anton Glieder, and Christoph Herwig. Microbials for the production of monoclonal antibodies and antibody fragments. *Trends in Biotechnology*, 32(1) :54–60, January 2014.
- [109] Ario de Marco. Recombinant antibody production evolves into multiple options aimed at yielding reagents suitable for application-specific needs. *Microbial Cell Factories*, 14(1) :125, December 2015.
- [110] I.P. Nascimento and L.C.C. Leite. Recombinant vaccines and the development of new vaccine strategies. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 45(12) :1102–1111, December 2012.
- [111] Christoph Seitz, Michael Rückert, Lisa Deloch, Eva-Maria Weiss, Sebastian Utz, Marika Izydor, Nina Ebel, Eberhard Schlücker, Rainer Fietkau, Udo S. Gaipl, and Benjamin Frey. Tumor Cell-Based Vaccine Generated With High Hydrostatic Pressure Synergizes With Radiotherapy by Generating a Favorable Anti-tumor Immune Microenvironment. *Frontiers in Oncology*, 9 :805, August 2019.
- [112] Gildas des Roseaux. L’arn, cet incroyable messenger. *Le figaro*, 2021.
- [113] Sébastien Anguille, Vigor Van Tendeloo, and Zwi Berneman. Vaccination thérapeutique à base de cellules dendritiques contre la leucémie aiguë myéloïde. *Bulletin du Cancer*, 99(6) :635–642, June 2012.
- [114] Mohamed Lounis. covid-19-in-algeria-chronology-and-evaluation-of-preventive-actions. *European Journal of Medical and Educational Technologies*, 13(1) :em2001, April 2020.
- [115] Jieliang Wang, Ying Peng, Haiyue Xu, Zhengrong Cui, and Robert O. Williams. The COVID-19 Vaccine Race : Challenges and Opportunities in Vaccine Formulation. *AAPS PharmSciTech*, 21(6) :225, August 2020.
- [116] Zuzana Strizova, Jitka Smetanova, Jirina Bartunkova, and Tomas Milota. Principles and Challenges in anti-COVID-19 Vaccine Development. *International Archives of Allergy and Immunology*, 182(4) :339–349, 2021.
- [117] Gregory A. Poland, Inna G. Ovsyannikova, Stephen N. Crooke, and Richard B. Kennedy. SARS-CoV-2 Vaccine Development : Current Status. *Mayo Clinic Proceedings*, 95(10) :2172–2188, October 2020.
- [118] Ning Wang, Jian Shang, Shibo Jiang, and Lanying Du. Subunit Vaccines Against Emerging Pathogenic Human Coronaviruses. *Frontiers in Microbiology*, 11 :298, February 2020.

Résumé :

L'histoire de la vaccination remonte aux pratiques empiriques chinoises de la variolisation du Vème siècle, cette dernière a laissé place à la vaccination grâce à Jenner et Pasteur.

Le vaccin est une préparation contenant des substances antigéniques ayant la propriété de créer une immunité active et spécifique contre l'agent infectants, il a donc un effet immunologique et non pas pharmacologique. La recherche et le développement des vaccins comportent plusieurs phases commençant par l'exploration c'est-à-dire la compréhension de la maladie et de l'agent infectieux en cause, passant par les essais précliniques qui comprennent des études d'innocuité et d'immunogénicité, en aboutissant aux essais cliniques à grande échelle qui, tout en confirmant les résultats des essais précédents, ils évaluent l'effet protecteur et donc l'efficacité du vaccin. Les résultats de tous ces essais sont enregistrés dans un document de format standard qui sera ensuite examiné par des autorités compétentes chargées d'approuver ou de refuser la demande d'autorisation de mise sur le marché du vaccin. Après avoir l'autorisation de mise sur le marché, le processus de fabrication proprement dite s'instaure avec ses deux grandes étapes : fabrication biologique, et fabrication pharmaceutique qui conduisent à l'acquisition de vaccins de différents types, anciens et nouveaux (l'exemple du vaccin Covid-19 en particulier), stables, stériles, et conditionnés. Divers contrôles sont mis au point dès la matière première au produit fini, 70% du temps de production est consacré aux contrôles, ce qui montre leur importance.

Une fois le vaccin produit, l'industriel doit le commercialiser, le marché du vaccin qui ne représente qu'un faible pourcentage de l'industrie pharmaceutique, est en pleine croissance. Les forts revenus, la domination de l'oligopole, et les innovations continues constituent les opportunités et les forces du marché qui aident à affronter ses menaces et ses faiblesses.

La surveillance des vaccins ne s'arrête pas aux essais cliniques quoique ce soit leur taille, l'étude de pharmacovigilance en post-commercialisation concerne des millions d'individus et peut permettre de déceler des effets indésirables rares ou très rares non identifiés antérieurement.

Mots clés : Vaccin, Développement, Contrôle, Covid19, Blida-Algérie.

Abstract:

The history of vaccines dates back to the empirical Chinese practices of variolisation in the 5th century, which gave way to vaccination thanks to Jenner and Pasteur.

Vaccine is a preparation containing antigenic substances with the property of creating an active and specific immunity against the infecting agent; it has therefore an immunological rather than a pharmacological effect. The research and development of vaccines involves several phases, starting with the exploration that is the understanding of the disease and the infectious agent involved, passing through preclinical trials that include safety and immunogenicity studies, to reach a high-scale of clinical trials, which -while confirming the previous trial results - evaluate the protective effect, and effectiveness of the vaccine. The results of all these trials are recorded in a standard format document that is then reviewed by competent authorities responsible for approving or denying the marketing authorization application for the vaccine. After the marketing authorization is granted, the actual manufacturing process begins with its two main steps: biological manufacturing and pharmaceutical manufacturing, which lead to the acquisition of different types of vaccines, old and new (the example of the Covid-19 vaccine in particular), stable, sterile, and packaged. Various controls are developed from the raw material to the finished product, 70% of the production time is devoted to controls, which indicates their importance.

Once the vaccine is produced, the manufacturer must market it. The vaccine market, which represents only a small percentage of the pharmaceutical industry, is growing rapidly. High revenues, oligopoly dominance, and continuous innovation are the opportunities and strengths of the market that help to address its threats and weaknesses.

Vaccine surveillance does not stop at clinical trials, even though they are large, post-marketing pharmacovigilance studies involve millions of individuals and can detect rare or very rare adverse events not previously identified.

Key words : Vaccine, Development, Control, Covid19, Blida-Algeria.