

# A quoi sert un adjuvant dans un vaccin?

Selim BADUR, PhD

Director of Scientific Affairs and Public Health for EM

GSK Vaccines

Istanbul-TURKEY



# Plan de la présentation

- L'histoire de la vaccination
- La notion d'adjuvant
  - Qu'est-ce qu'un adjuvant ?
  - Historique de l'utilisation des adjuvants
  - Les bases immunologiques
  - Les adjuvants actuellement utilisés
  - Les systèmes adjuvants
  - Apport des adjuvants
- Conclusions

# Histoire de la Vaccination

- La vaccination a un peu plus de **220** ans.
- La découverte du vaccin a été empirique datant du XVII<sup>e</sup> siècle. Les bases immunologiques n'ont été découvertes que plus tard, notamment suite aux travaux de Edward Jenner, médecin de campagne anglais.
- **Aucun progrès technologique (à part l'eau potable) -y compris les antibiotiques- n'a eu autant d'influence sur la réduction de la mortalité et la croissance de la population mondiale** (Stanley A. Plotkin).

**2-3 millions<sup>2</sup>**

de décès évités chaque année grâce à la vaccination

**750 000<sup>2</sup>**

enfants sauvés de l'invalidité chaque année



**150 milliards de \$<sup>3</sup>**

valeur ajoutée des vaccins dans les pays à faible et moyen revenu au cours des 10 années à venir

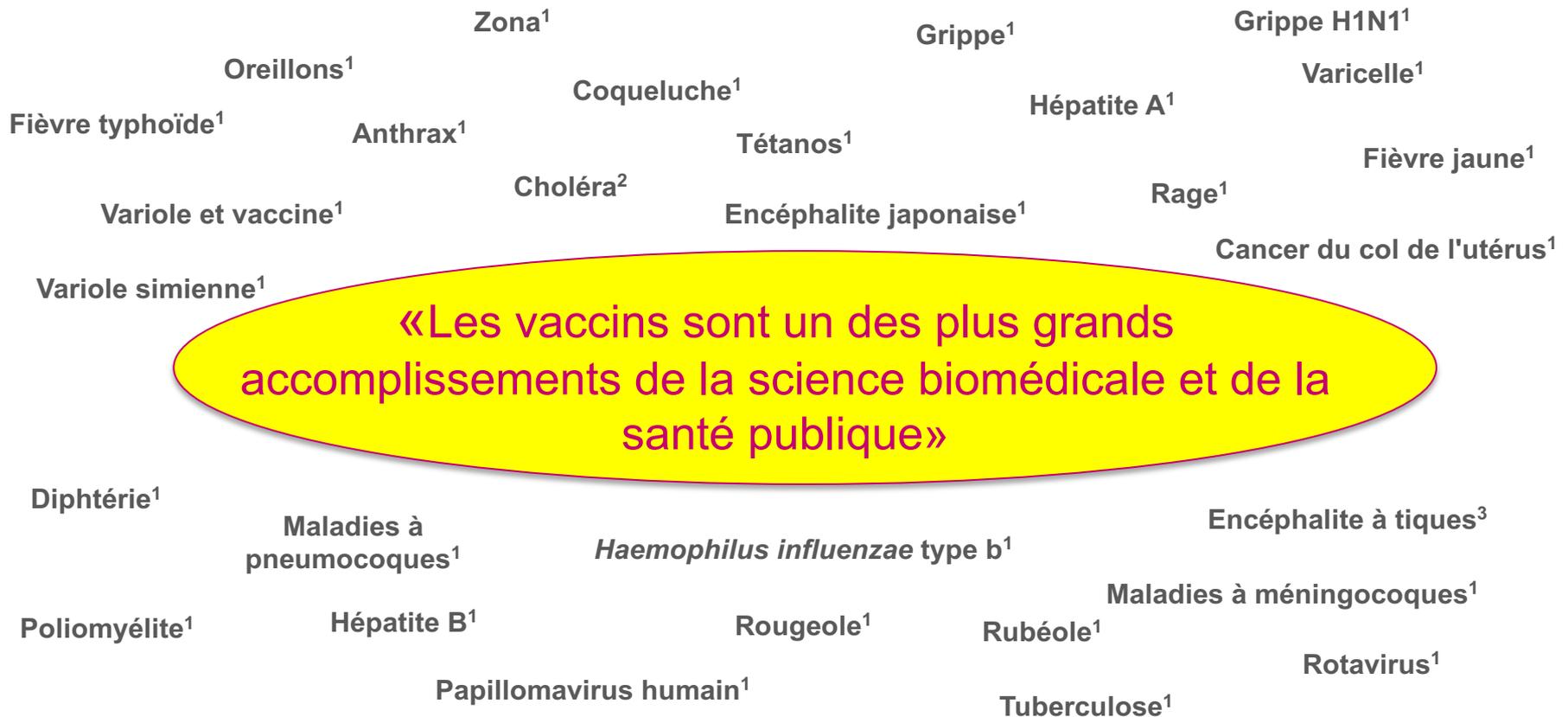
**x44<sup>4</sup>**

estimation du retour sur investissement de l'immunisation

*Guide des vaccinations 2012, pages 351-361, éditions INPES.* 2. Ehreth J, "The global value of vaccination" in Vaccine 2003 Jan 30; 21 (7-8):596-600.

3. GAVI Alliance Partners' Forum, December 2012 reported by JHB School of Public Health .4. Ozawa S. et al, "Return on investment from childhood immunisation in low- and Middle-Income countries, 2011-20", in Health Affairs, 35, 2 (2016): 199-207

# Il existe actuellement 29 maladies à prévention vaccinale

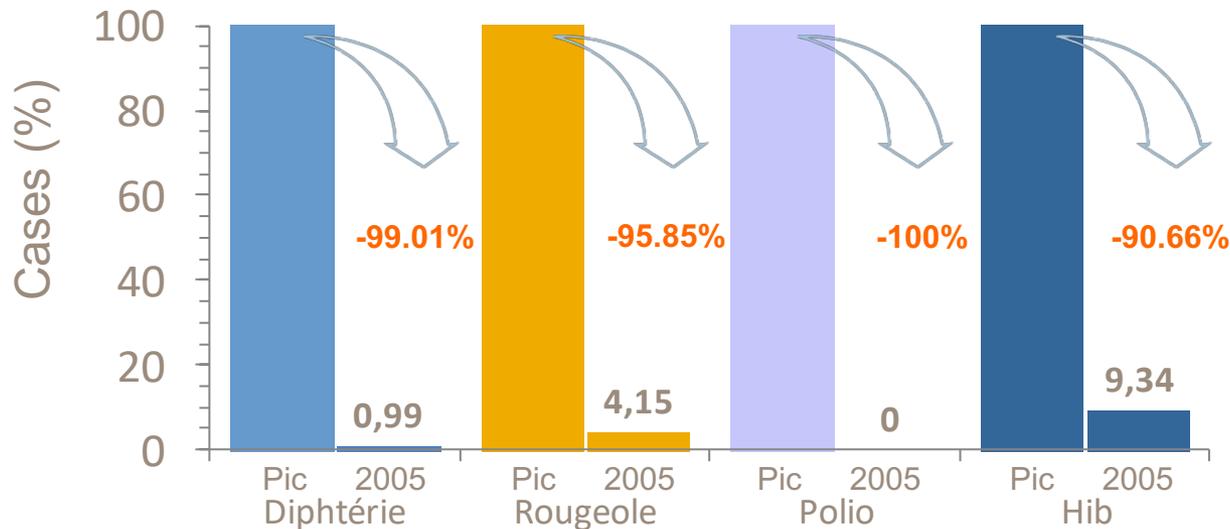


1. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Vaccines and preventable diseases. Disponible à : [www.cdc.gov/vaccins/vpd-vac/default.htm](http://www.cdc.gov/vaccins/vpd-vac/default.htm) (dernier accès juillet 2012); 2. Roush *et al.* *MMWR* 1999;48:243–248; 3. CDC. Special pathogens branch. Disponible à : [www.cdc.gov/ncidod/dvrd/spb/mnpages/dispages/TBE.htm](http://www.cdc.gov/ncidod/dvrd/spb/mnpages/dispages/TBE.htm) (dernier accès juillet 2012).

# Les maladies à prévention vaccinale

- Eradication de la variole (1980),<sup>1</sup> qui tuait 5 millions de personnes chaque année<sup>2</sup>
- Elimination de la polio en Europe<sup>3</sup> et dans la plupart des régions du monde : 5 millions de personne épargnées par la paralysie dans le monde<sup>4</sup>

**Pourcentage de réduction des cas de maladies à prévention vaccinale en Europe, entre le pic d'incidence et 2005<sup>3</sup>**

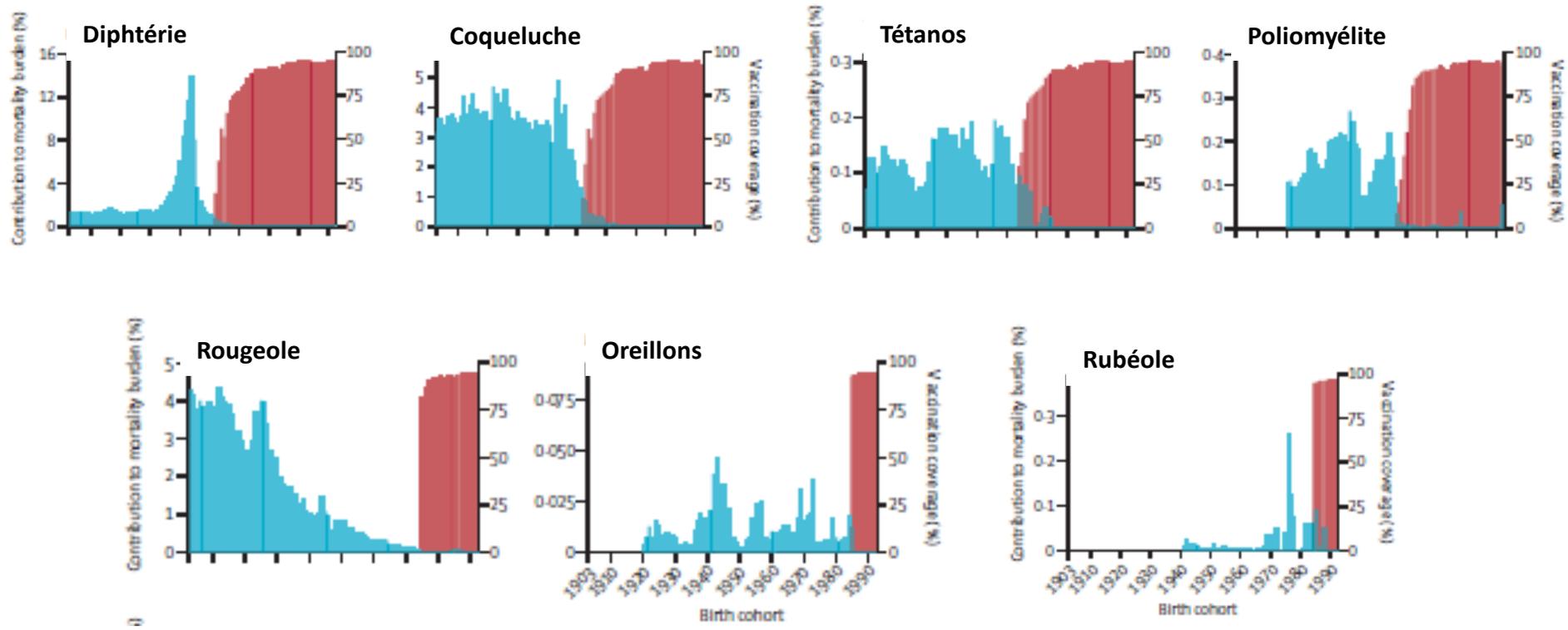


Hib = Haemophilus influenzae type b

1. Kennedy RB *et al.* in: Plotkin *et al.* Vaccines. 6<sup>th</sup> edition. Philadelphia: Saunders; 2013 (Chapter 32: p718–45); 2. UNICEF. Vaccines bring 7 diseases under control. Available at: <http://www.unicef.org/pon96/hevaccin.htm>; 3. WHO Immunization surveillance, assessment and monitoring: Disease Incidence. Available at: [http://www.who.int/entity/immunization/monitoring\\_surveillance/data/incidence\\_series.xls](http://www.who.int/entity/immunization/monitoring_surveillance/data/incidence_series.xls) (Accessed November 2014); 4. Global Polio Eradication Initiative. Frequently asked questions. Available at: <http://www.polioeradication.org/Aboutus/FAQ.aspx>; 5. WHO Immunization surveillance, assessment and monitoring: Vaccine-preventable diseases. Available at: [http://apps.who.int/immunization\\_monitoring/diseases/en/](http://apps.who.int/immunization_monitoring/diseases/en/) (Accessed November 2014)

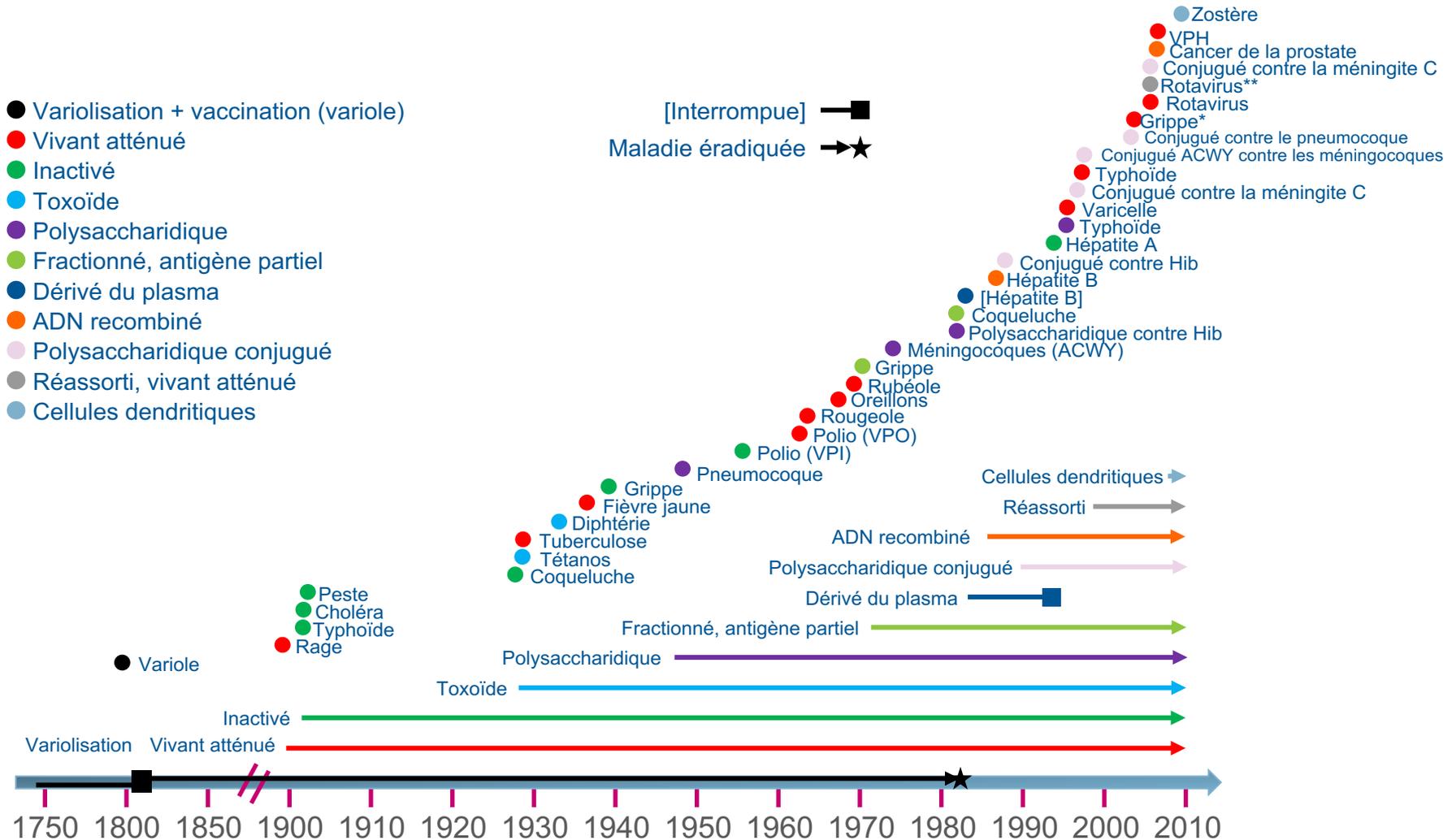
# Pays Bas : diminution de la mortalité infantile dues aux maladies infectieuses à prévention vaccinale, une étude historique

(Cohortes de naissance de 1903 à 1992)



- Couverture Vaccinale
- Contribution au fardeau de la mortalité infantile avant 20 ans pour la diphtérie, la coqueluche, le tétanos, la poliomyélite, la rougeole, les oreillons et la rubéole (%)

# De nombreuses techniques de vaccination importantes ont été développées depuis la fin du 18ème siècle



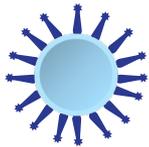
\*Réassorti; \*\*vivant atténué réassorti (espèces humaine/animales); des vaccins contre la grippe pandémique ont été développés en 2009 en utilisant toutes les techniques développées auparavant pour la grippe saisonnière

# L'histoire du développement des vaccins

Une recherche continue de solutions aux problèmes

**Approche empirique  
fondée sur des  
observations**

Jenner  
(variolisation)



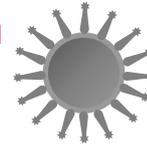
**Pas de connaissance  
du pathogène causant  
la maladie**

Vaccination contre la variole (Chine, 900)  
Variolisation de Jenner (1796)

**Antigène à base du  
pathogène**

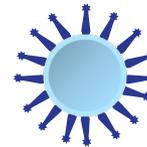
**Pas de réplication**

(pathogène entier inactivé)



**Réplication**

(pathogène vivant  
atténué)



**Toxoïdes**

(produites par le pathogène)

**Des pathogènes tués, morts,  
ou des toxines inactivées du  
pathogène peuvent être  
immunogènes**

Premier vaccin inactivé : typhoïde (1896)  
Premier vaccin atténué : rage (1885)  
Premier vaccin à base de toxoïde : diphtérie  
(années 1930)

**Antigène partiel dérivé  
du pathogène**

(virus fractionné, fragments de  
pathogènes)



**Antigènes purifiés**

(Antigènes protéiniques,  
protéines recombinées)

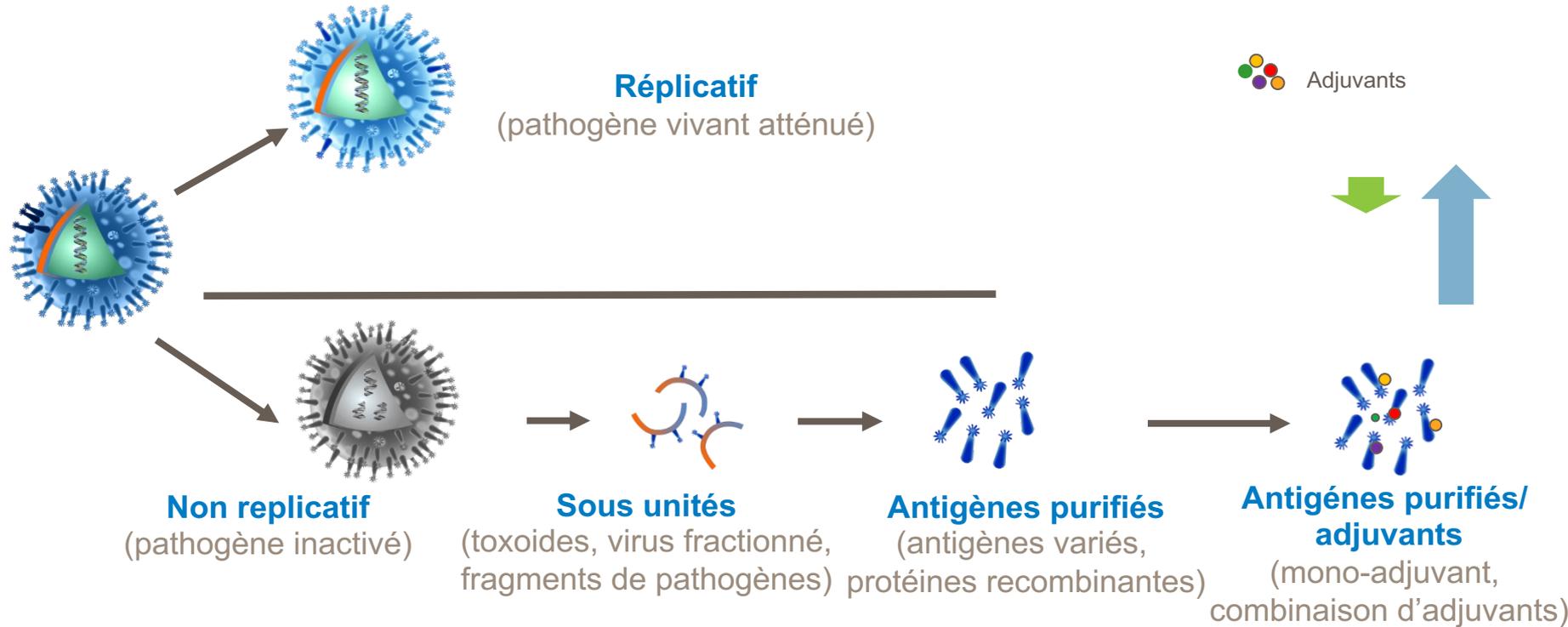


**Le matériel dérivé du  
pathogène peut être  
immunogène**

Vaccins fractionnés : grippe (années 1970)  
Vaccin à antigène partiel : coqueluche acellulaire  
(années 1980)  
Premier vaccin à protéines recomb. : VHB  
(1986)

VHB : virus de l'hépatite B

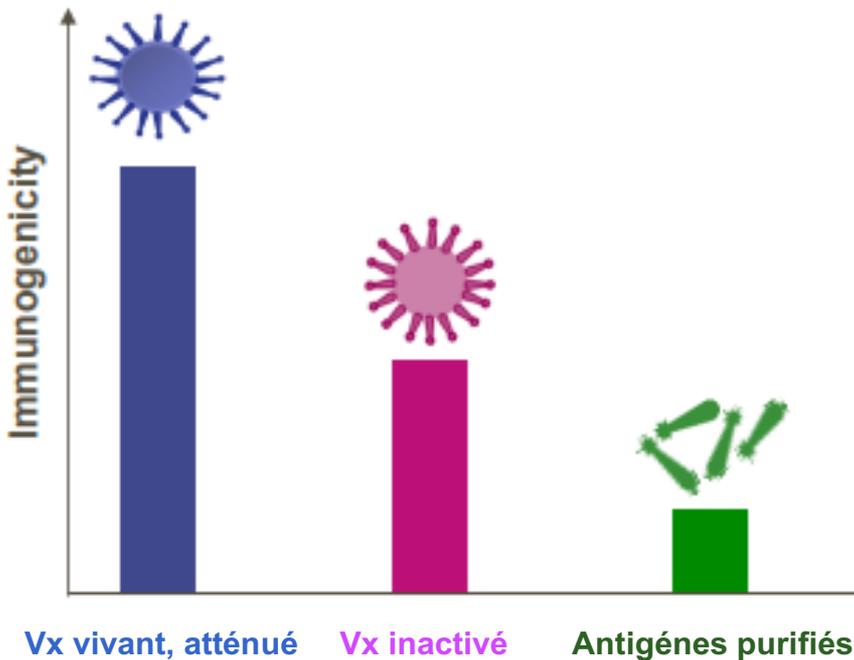
# Le rôle des adjuvants : amplifier la réponse immune à l'antigène



Immunogénicité

Tolérance

# Quels types de vaccins ont besoin d'adjuvants



## Vx vivant, atténué

- En général immunogénéité élevée
- Pas besoin d'adjuvant



## Vx inactivé

- Manque des déclencheurs des défenses
- Peut avoir besoin d'adjuvants



## Vaccins a base d'antigènes purifiés

- En général immunogénéité faible
- Nécessite la présence d'adjuvants

Figure is illustrative only – Adapted from Di Pasquale A et al. Vaccine 2015;3:320-343

# Qu'est ce qu'un adjuvant ?

- Le mot adjuvant vient du mot latin « **Adjuvare** » qui signifie **aider, assister**.
- Un adjuvant est défini comme toute **substance capable d'accélérer, d'améliorer ou de prolonger la réponse immune dirigée contre un antigène, administré simultanément**.<sup>1,2</sup>
- En immunologie, un adjuvant est **un agent capable de stimuler le système immunitaire et d'augmenter la réponse d'un vaccin, sans avoir aucun effet spécifique en soi**.<sup>1,2</sup>
- L'amélioration des réponses immunitaires par des adjuvants est généralement constatée par une augmentation des taux d'anticorps chez les animaux vaccinés.<sup>3</sup>

# L'adjuvantation des vaccins remonte à presque 100 ans

Year	Vaccine	Adjuvant and mechanism	Scientific findings
1885	Rabies	ssRNA TLRs 7 and 8	
1886			Briegen describes endotoxin
1889			Coley shows tumor necrosis with bacterial extracts
1911	Typhoid	LPS, DNA TLRs 1, 2, 4, 5, 6 and 9	
1916		Lipovaccine	More durable immune response to typhoid vaccine
1921	BCG for TB	DNA, lipoprotein TLRs 1, 2, 6 and 9	
1926		Aluminum salts	Enhanced antibody responses to diphtheria vaccine
1937		Incomplete Freund's adjuvant (IFA) (water-in-oil emulsion)	Enhanced cellular and antibody responses to TB
1942	Diphtheria, pertussis and tetanus	LPS, DNA TLRs 1, 2, 4, 5, 6 and 9	
1949	Whole-cell influenza	ssRNA TLRs 7 and 8	
1955	Inactivated polio vaccine	ssRNA TLRs 7 and 8	
1966			LPS structure determined
1979			Ribi makes detoxified endotoxin MPL
1991	Hepatitis A		MPL tested in clinic
1996			TLRs discovered
1997	Fluad	MF59 (oil-in-water emulsion)	
1997	Epaxal (for hepatitis A) Inflexal (for influenza)	Virosome	
1998			LPS shown to be TLR ligand
2004	Invivac (for influenza; Europe)	Virosome	
2005	Fendrix (for hepatitis B; Europe)	MPL Defined TLR4	
2007–2009	Pandemic influenza vaccines (Europe)	MF59, AS03 (oil-in-water emulsion)	
2009	Cervarix (for HPV16 and HPV18; USA)	MPL Defined TLR4	

### 1925 : le hasard et la nécessité...

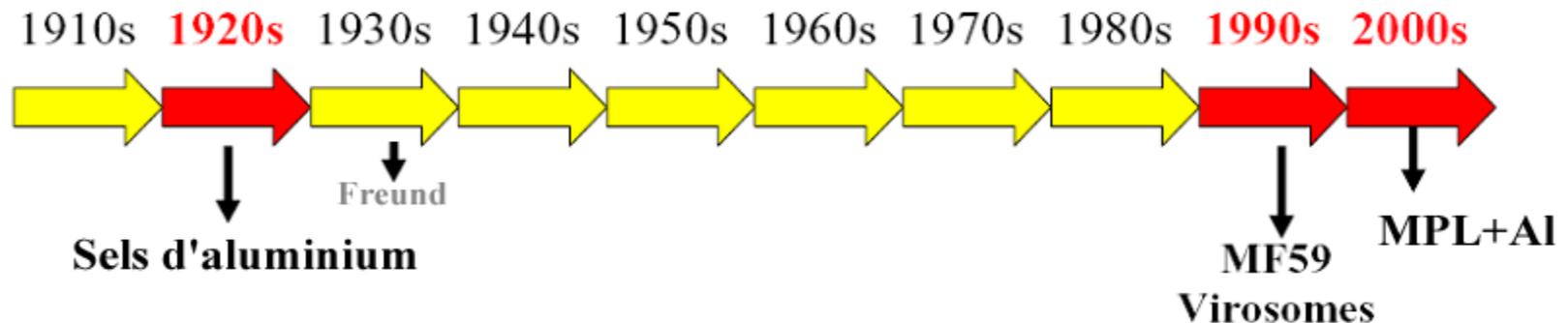
- L'administration chez la souris d'une émulsion composée d'extrait de pétrole et de la lanoline associée à un antigène «*Salmonella typhimurium* tué» a été réalisée pour la première fois par **Le Moignic et Pinoy en 1916**.
- **En 1925, Gaston RAMON** est le premier à démontrer que l'adjonction de substances peut induire une augmentation de la réponse en AC antidiphtérique et antitétanique.
- En effet durant la production d'antitoxine diphtérique chez des chevaux par injection de toxoïde diphtérique, **Ramon** a remarqué que les chevaux présentant des abcès spontanés au site d'injection produisaient des titres d'antitoxine sérique plus élevés.
- Il a ensuite conduit des expériences avec des substances (comme le tapioca) capables de causer des abcès stériles, et observait une augmentation de la réponse d'antitoxine

### 1926 : Les sels d'aluminium – l'aube d'une ère...

- En 1926 **Glenny** fut le premier à démontrer la capacité **aux sels d'aluminium** à augmenter la réponse immune quand l'antigène est administré en même temps que l'adjuvant par rapport à l'antigène seul. En effet les sels d'aluminium stimulent la production d'anticorps en réponse à la toxoïde diphtérique chez l'homme<sup>2</sup> (1932)
- Dans les **années 1930** et début des **années 1940**, **Freund** a développé son émulsion eau-dans-huile contenant des mycobactéries tuées par la chaleur (CFA) puis a développé l'émulsion sans les mycobactéries (IFA)

## Les années >1950

- En 1956, **Johnson** a démontré l'activité adjuvante des endotoxines lipopolysaccharide (LPS) de bactéries Gram négatif (adj en cours d'évaluation)
- Enfin, en 1974, **Lederer** et ses collaborateurs ont identifié le **muramyl dipeptide** (MDP) le plus petit élément actif de la mycobactérie comme adjuvant mais ayant des effets indésirables jusqu'à ce jour.
- A partir des années 1990, commence le développement de l'AS



•Ramon G. Sur l'augmentation anormale de l'antitoxine chez les chevaux producteurs de sérum antidiphthérique. Bull Soc Centr Med Vet 1925;101:227-34.

•Ramon G. Procédés pour accroître la production des antitoxines. Ann Inst Pasteur 1926;40:1-10.

•Glenny AT, et al. The antigenic value of toxoid precipitated by potassium-alum. J Path Bact 1926;29:38-45

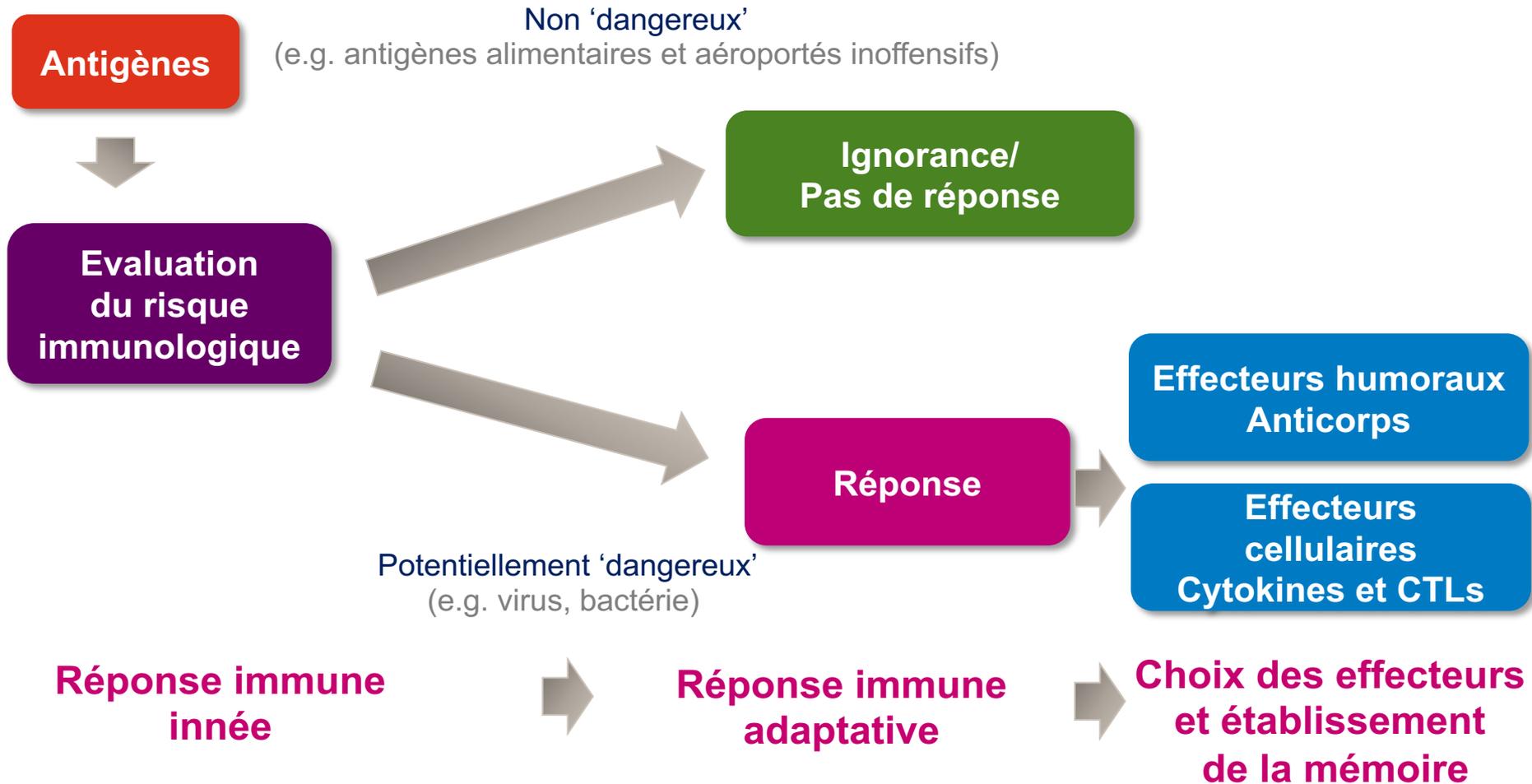
•Vogel Immunologic Adjuvants for Modern Vaccine Formulations ANNALS NEW YORK ACADEMY OF SCIENCES Vol754, issue 1, 1995, pp:153-160

•Frazer C, Improving vaccines by incorporating Immunological adjuvants Experts rev vaccines 6(4), 2007

•Dengen W.V vaccine Adjuvant technology Expert Rev Vaccines 2 (2) 327-335 2003

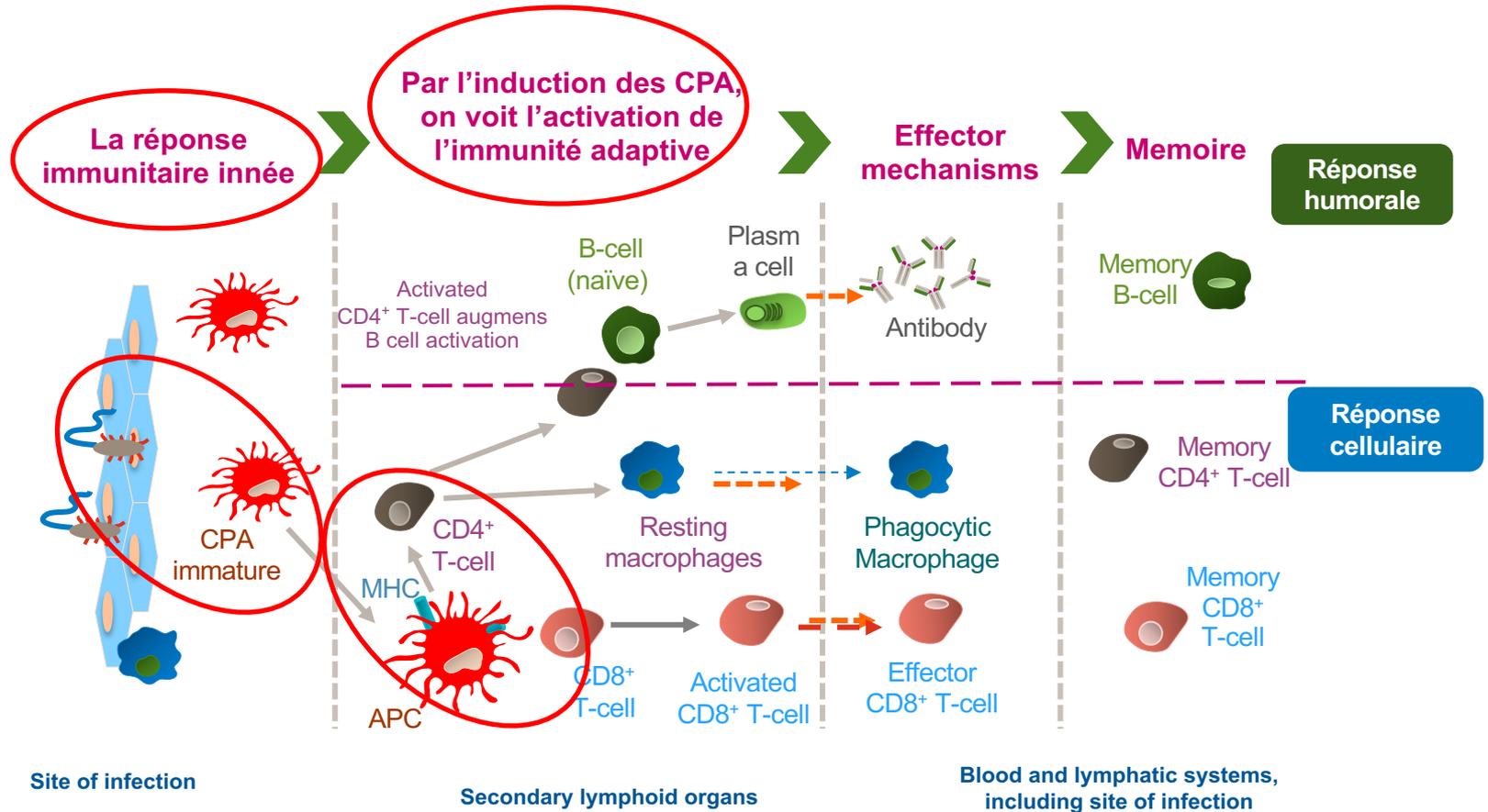
•N.Garcon, GSK AS in vaccines : concepts, achievements and perspectives, Expert Rev vaccines 6(5) 723 739 (2007)

# Des différentes étapes de la réponse immunitaire



# Les cellules de l'immunité innée reconnaissent «le danger»

## Ensuite il faut activer la réponse adaptative



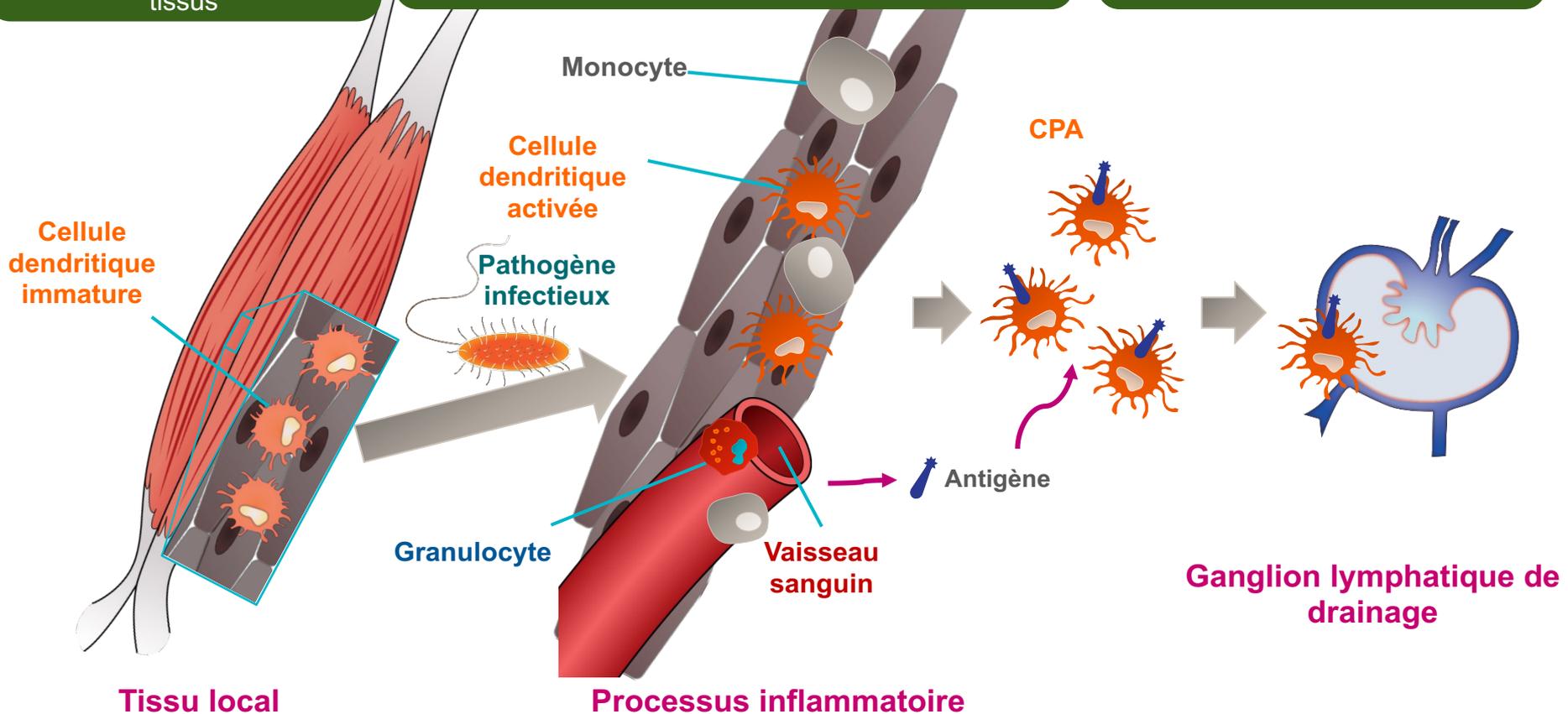
Les réponses immunes innée et adaptative surviennent séquentiellement et aux différents sites

# La réponse immune innée détermine l'immunité adaptative

Quelques cellules sentinelles de l'immunité innée sont présentes dans tous les tissus

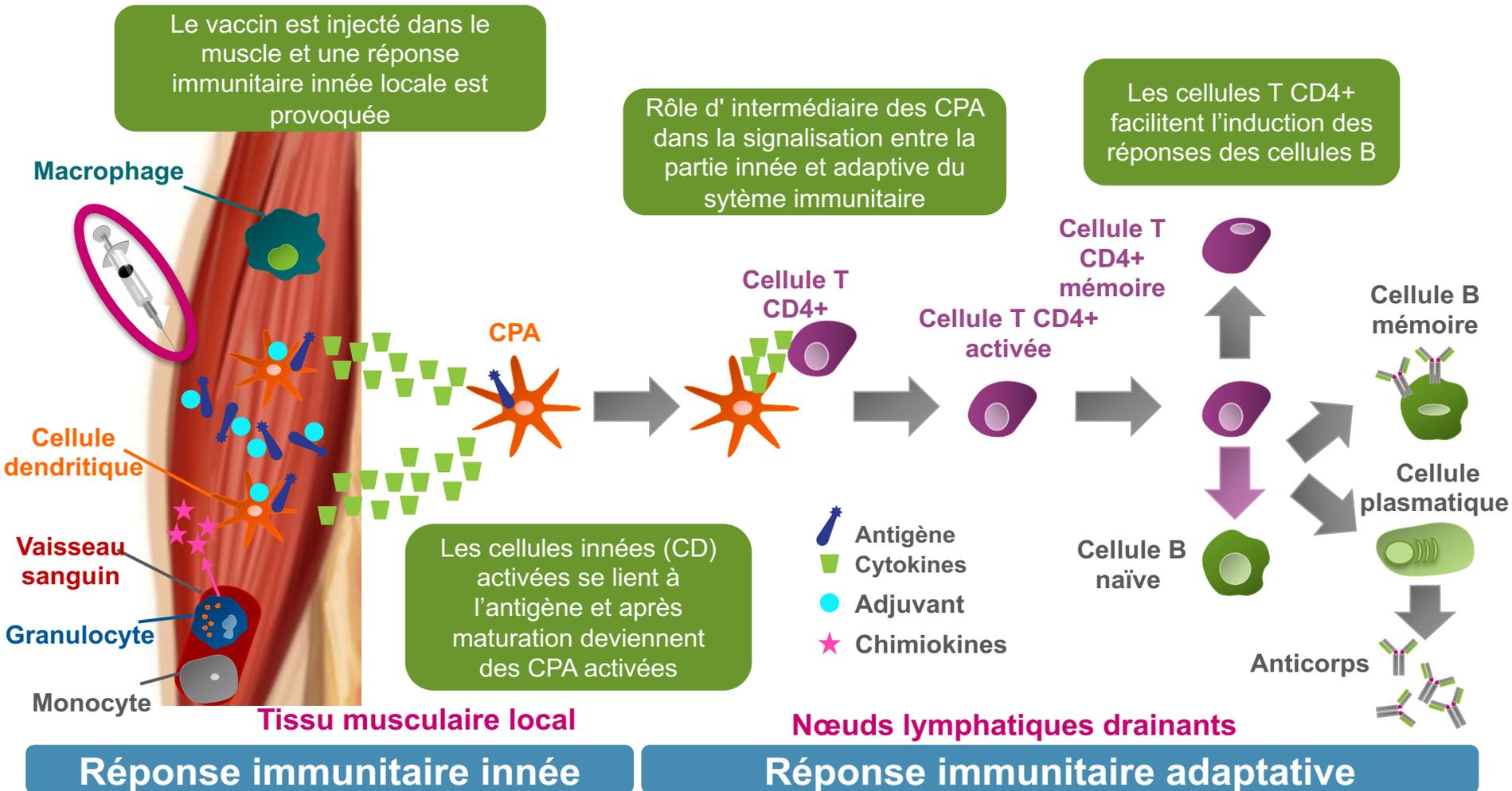
Les pathogènes active ces cellules, augmentant l'expression des cytokines, entraînant l'inflammation et l'ingestion des pathogènes par les CPA

Les cellules innées porteuses de l'antigène gagnent le ganglion lymphatique de drainage



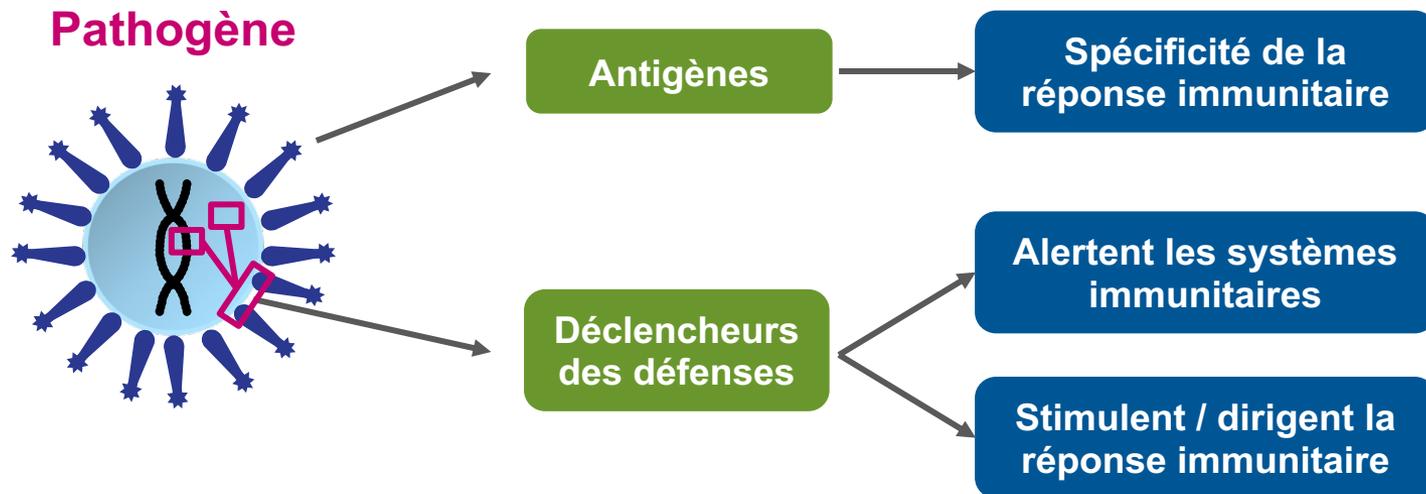
APC = antigen-presenting cell

# Comment une réponse immunitaire contre l'antigène vaccinal est-elle provoquée



# Les structures microbiennes contiennent :

- **des déclencheurs des défenses** (signaux de danger): par ex. les PAMP agissent comme des déclencheurs intrinsèques des défenses immunitaires
- **des antigènes**

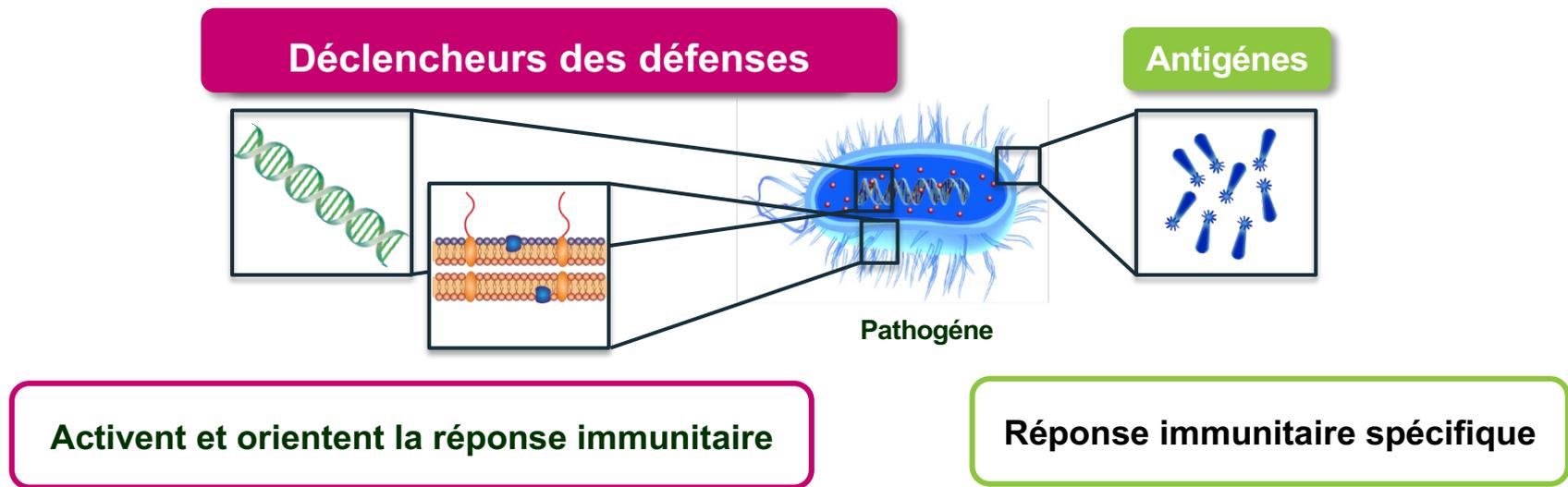


- **Les pathogènes modifiés peuvent perdre un élément clé du déclenchement des défenses immunitaires**

# Lors de la purification, les pathogènes peuvent perdre certains éléments déclencheurs d'immunité <sup>1-3</sup>

Le microorganisme contient:

- Les antigènes
- Les déclencheurs des défenses (*danger signals*)

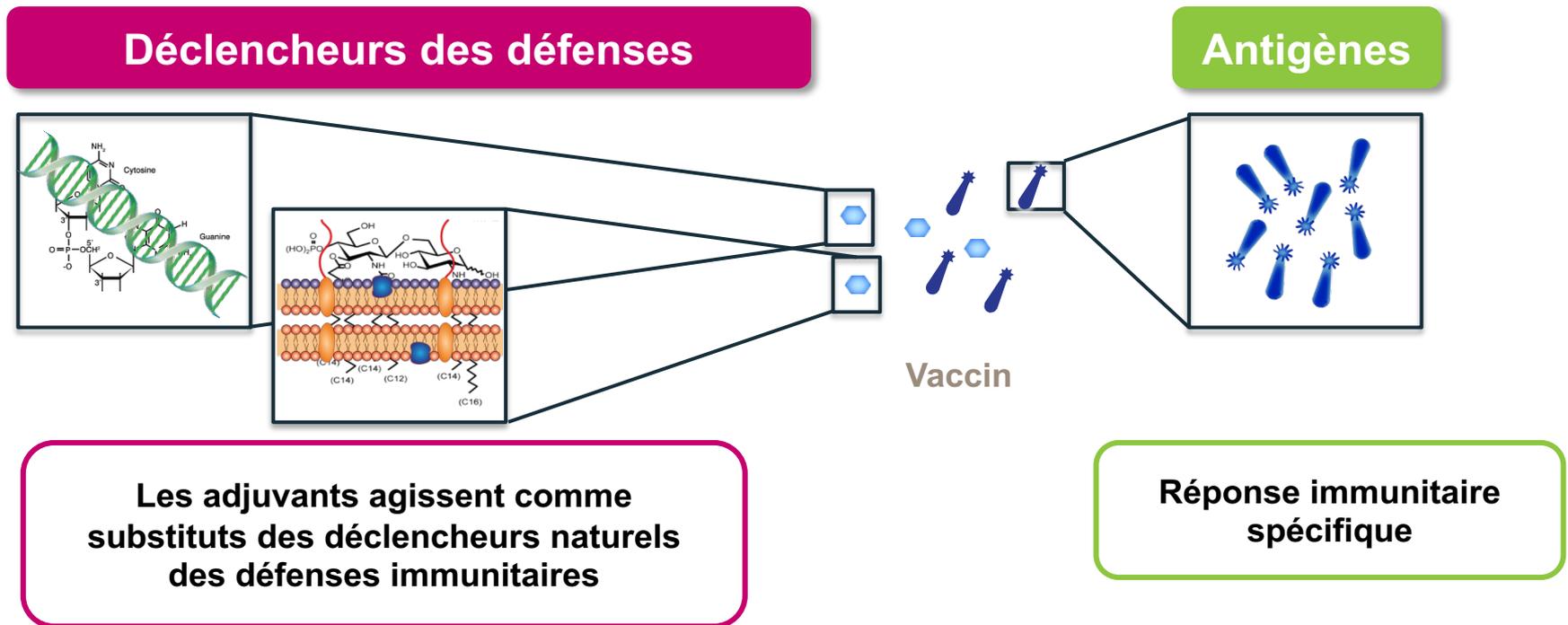


PAMPs = pathogen-associated molecular patterns

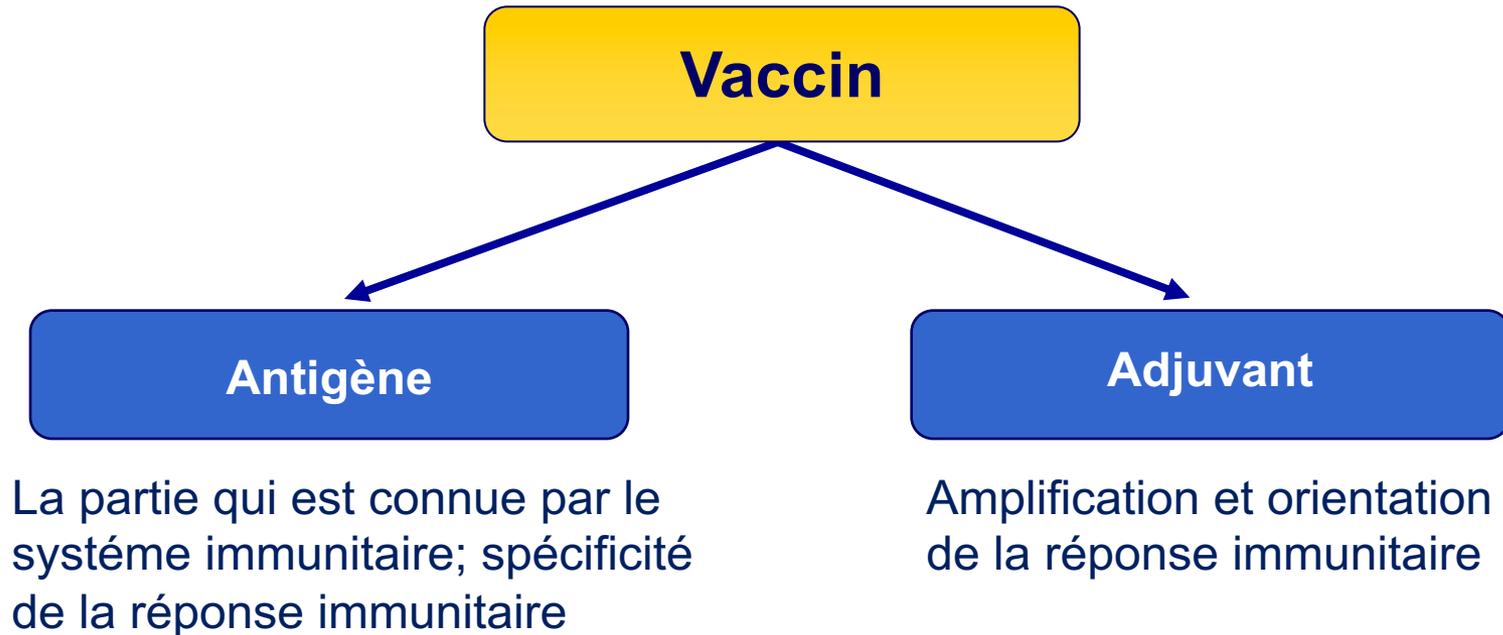
1. Dougan G & Hormaeche C. *Vaccine* 2006;**24**S2:S2/13–S2/19; 2. O'Hagan DT & Valiente NM. *Nat Rev Drug Discov* 2003;**2**:727–35; 3. Garçon N, *et al.* Understanding modern vaccines, Perspectives in vaccinology, Vol 1. Amsterdam: Elsevier; 2011 (Chapter 4: p89–113).

# Sélection à partir de la nature : les bons antigènes et des adjuvants bien caractérisés

- Les antigènes vaccinaux seuls peuvent ne pas être suffisamment immunogènes
- Certains adjuvants sélectionnés agissent comme des substituts des signaux de défense de l'immunité naturelle, amplifiant et dirigeant la réponse immune

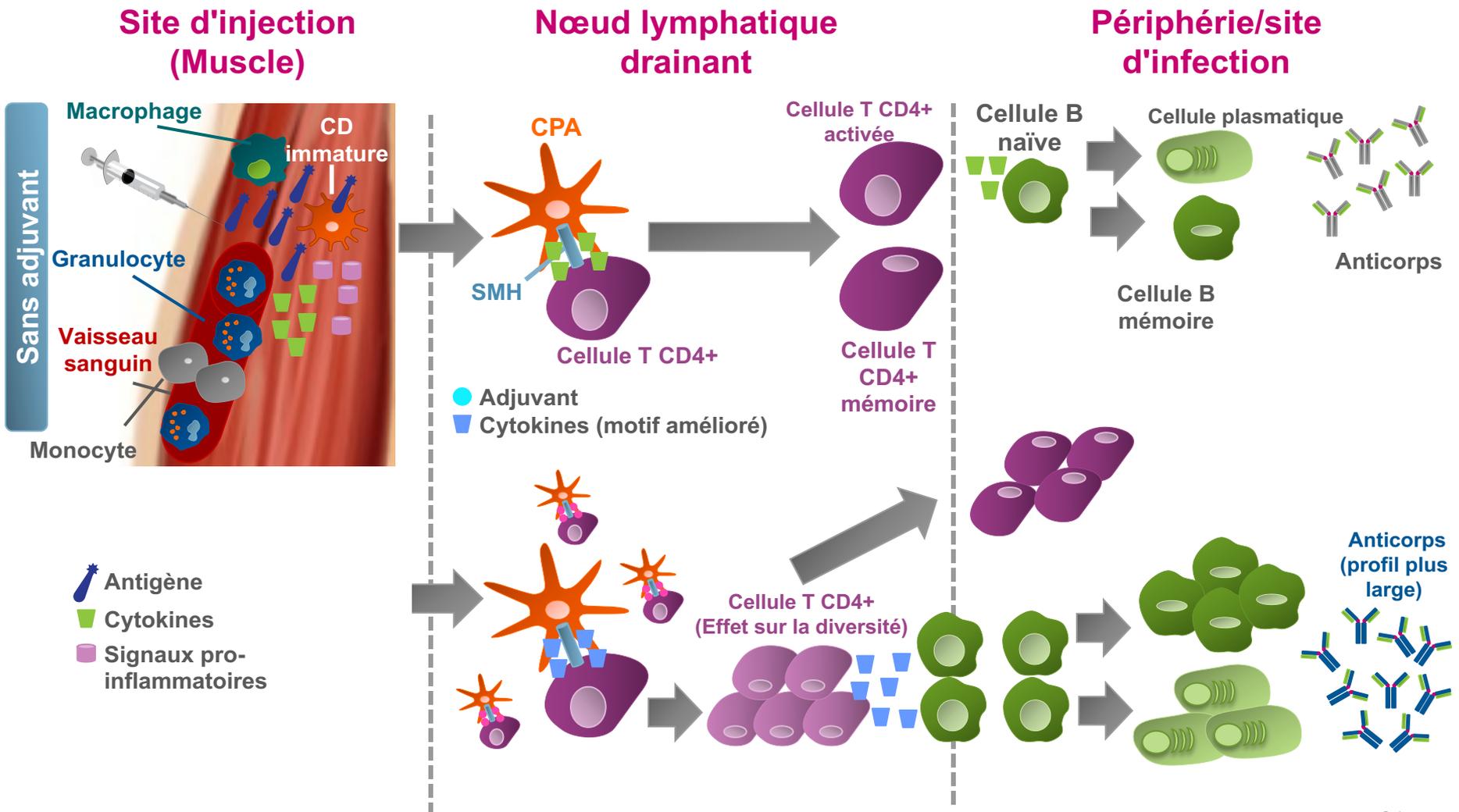


# Principe de conception vaccinale

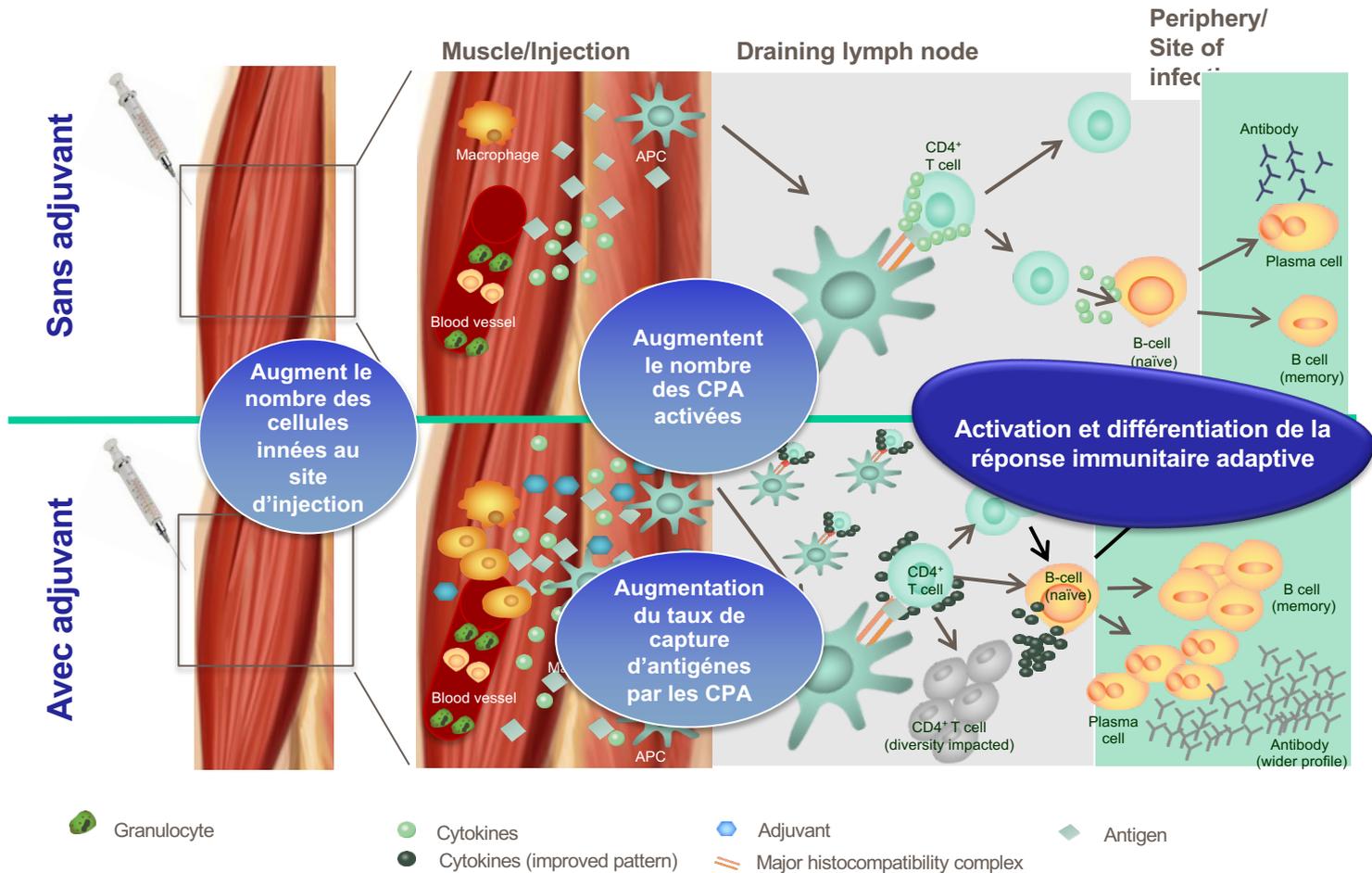


**Les adjuvants sont des substances utilisées pour améliorer la réponse immunitaire aux antigènes**

# Mode d'action général d'un adjuvant



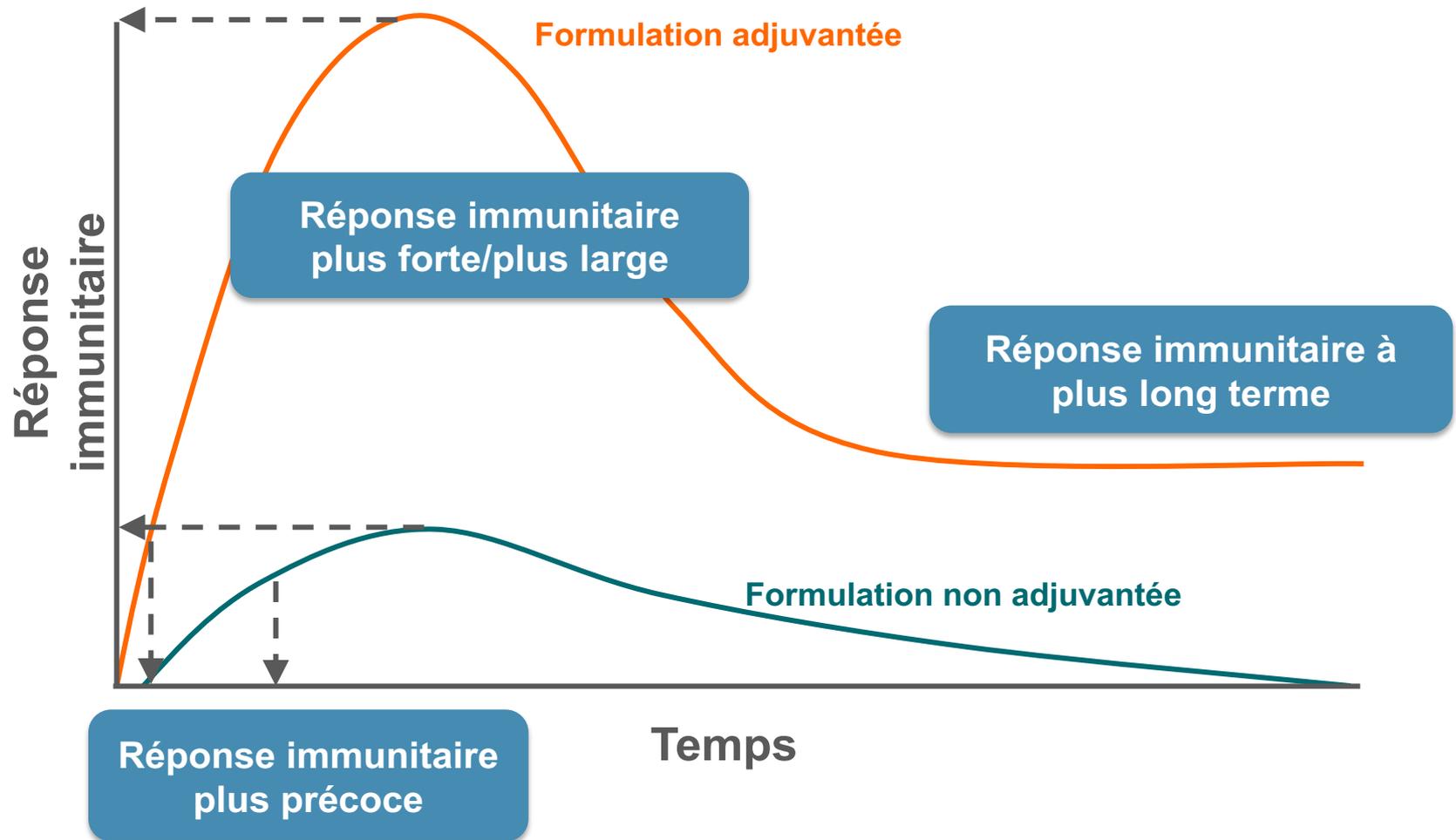
# Les principaux modes d'action des adjuvants



# Les Intérêts des adjuvants

- **Améliorer l'immunogénicité d'un antigène pour une meilleure réponse immune (Cellules B, T et CD8)**
- **Induire une réponse immunitaire plus forte**
  - Malaria** (maladie complexe)
  - Vaccin contre Hep B chez les hémodialysés** (immunosuppression)
  - Vaccin anti grippal chez la personne âgée** (immunosénescence)
- **Induire une réponse immunitaire prolongée**
  - Vaccin HPV**
- **Induire une réponse immunitaire plus large; protection croisée**
  - Vaccin pré-pandémique contre la grippe**
- **Augmenter la capacité de production en réduisant la quantité d'antigène**
  - Vaccin contre la grippe pandémique**

# Adjuvant : effet anticipé sur la réponse vaccinale



# Classifications des adjuvants

- De nombreuses classifications d'adjuvants ont été décrites selon :
  - ❖ leur origine ou composition
  - ❖ leur action TLR dépendant ou indépendant
  - ❖ leur rôle d'«agents immunostimulants» ou de « véhicules »

# Les adjuvants selon leur origine

Origine ou composition de l'adjuvant	Nom de l'adjuvant
Type gel	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Alun ( hydroxyde d'aluminium / phosphate d'aluminium)</li> <li>• Phosphate de calcium</li> </ul>
Bactéries	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Monophosphoryl lipide A (MPL®)</li> <li>• Muramyl peptides ( MDP®,MTP-PE®)</li> </ul>
Particules	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Complexes Immunostimulateurs (ISCOMS)</li> <li>• Liposomes</li> <li>• Microsphères biodégradables</li> </ul>
Emulsions eau dans huile ou huile dans eau	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Adjuvant incomplet de Freund (IFA),</li> <li>• Syntex Adjuvant Formulation (SAF)</li> <li>• MF59</li> <li>• Squalène</li> </ul>
Adjuvants synthétiques	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Nonionic block Copolymères</li> <li>• Analogues Muramyl peptide</li> <li>• Lipid A synthétique</li> <li>• Polynucléotides synthétiques</li> </ul>

# Les adjuvants selon leur rôle

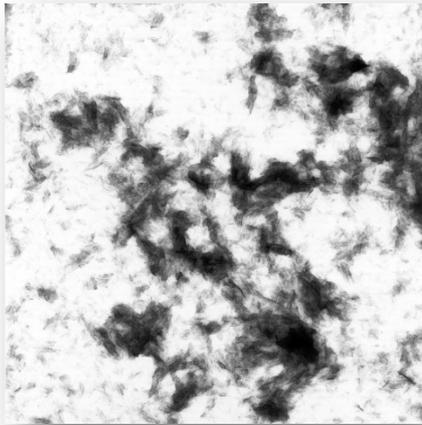
Les adjuvants peuvent être différenciés:  
en « véhicules » et en « agents immunostimulants »

Propriétés	Exemples
<b>« Véhicules »</b>	
<ul style="list-style-type: none"><li>• Change la composition de l'antigène dans le vaccin</li><li>• Augmente l'absorption d'antigène par les CPA</li><li>• Diminue la clairance de l'antigène</li><li>• Dirige l'antigène sur une localisation physiologique spécifique</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Alun</li><li>• Emulsions</li><li>• Saponines</li><li>• Lipides cationiques</li></ul>
<b>« Agents immunostimulants »</b>	
<ul style="list-style-type: none"><li>• Agit directement sur les cellules immunes en activant des voies significatives d'induction de l'immunité innée, résultant en une augmentation de la réponse acquise.</li><li>• Dirigé préférentiellement sur les CPA</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Dérivés microbiens ou mimétiques : agonistes des TLR, agonistes des nucleotide oligomerization domain (NOD ) like récepteurs</li><li>• Composés recombinants endogènes : cytokines, chémokines, molécules costimulantes</li></ul>

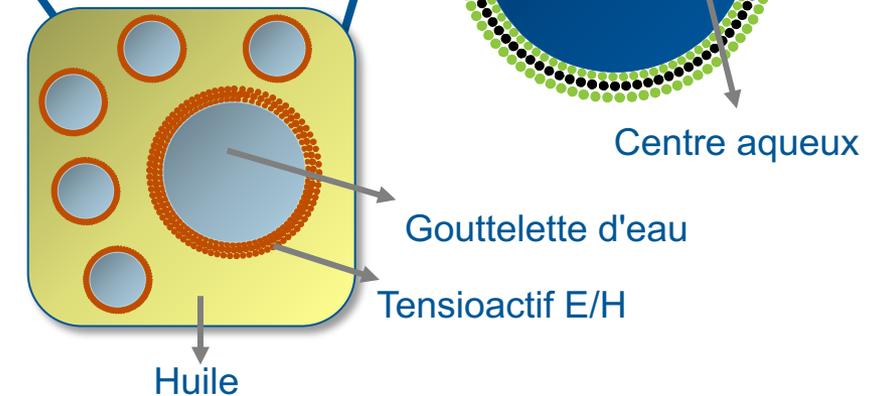
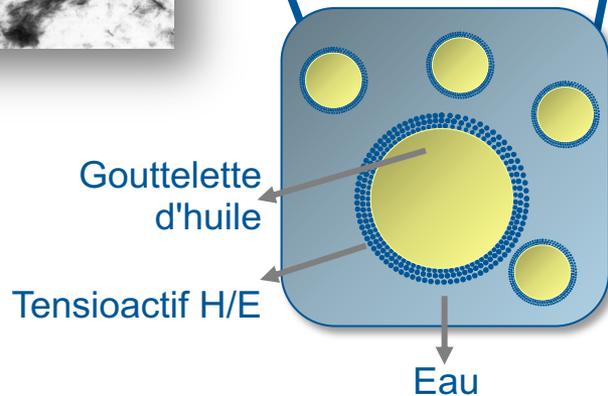
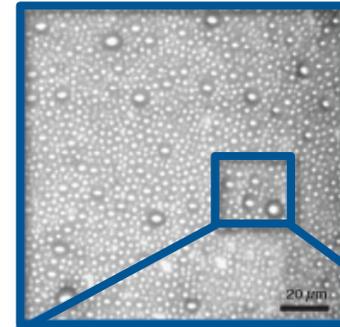
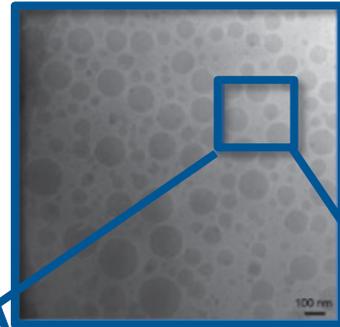
# Plusieurs substances ont montré des qualités d'adjuvant

## 1- Les adjuvants classiques

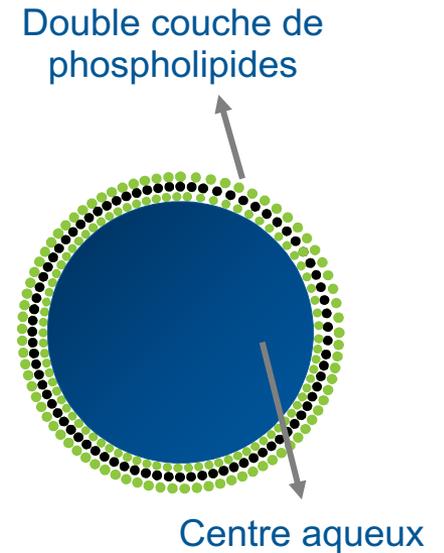
### Sels d'aluminium



### Émulsions



### Liposomes

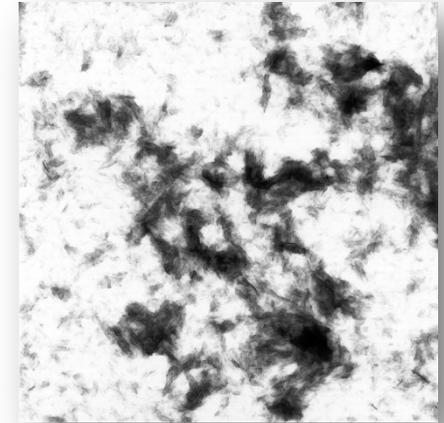


\*University of Oklahoma, États-Unis

H/E : huile dans l'eau ; E/H : eau dans l'huile

# Les sels d'aluminium

- **Gels de sels d'aluminium (par ex.  $\text{AlPO}_4$  ou  $\text{Al}(\text{OH})_3$ ) mélangés avec un antigène (adsorption)**
  - Les adjuvants les plus largement utilisés depuis plus de 80 ans
  - Profil de sécurité bien établi
  - Bénéfice indirect sur la stabilité de l'antigène
  - Dû à l'adsorption, l'antigène apparaît sous forme de particules
- **Le mécanisme d'action est encore à l'étude**
  - Effet de dépôt (persistance de l'antigène)
  - Irritation/inflammation locale : inflammasome
  - Meilleure assimilation de l'antigène par les CPA



$\text{AlPO}_4$  : phosphate d'aluminium ;  $\text{Al}(\text{OH})_3$  : hydroxyde d'aluminium ; CPA : cellule présentatrice d'antigène

# Tolérance des adjuvants aluminiques

- **Effets indésirables locaux** : granulomes ou « pseudo-abcès » au point d'injection, plus fréquent en SC qu'en IM. Nodules de taille variable pouvant persister plusieurs mois.
- **Réactions plus importantes mais bénignes** : tuméfactions étendues, pseudo-phlegmoneuses
  - Sont fortement controversés :
- **La myofasciite à macrophages** : description d'une lésion inflammatoire exclusivement localisée au point d'injection, renfermant des cristaux d'aluminium au sein des macrophages (équipe de GHERARDI à Créteil, 1998). La relation entre cette lésion et la symptomatologie clinique associée à la MFM (myalgies, arthralgies et fatigue) est toujours fortement débattue :
  - majorité des cas de MFM notifiés au système de Pharmacovigilance anciens : un seul nouveau cas de survenu depuis 2012, alors qu' environ 12 millions de doses de vaccins contenant un adjuvant aluminique administrées chaque année en France)
- **Les complications neurodégénératives à distance** (maladie d'Alzheimer) : rien ne démontre à ce jour le rôle éventuel de l'aluminium

# Les études réalisées à ce jour ne fournissent aucune preuve de toxicité neurologique imputable à l'aluminium

- L'hydroxyde d'aluminium forme des agrégats dont la dissolution n'est possible qu'à pH2 (non physiologique) : libération de nanoparticules d'aluminium peu probable
- **Origine exogène de l'aluminium** : principalement les aliments, eau de consommation, parfois exposition accidentelle ou professionnelle, médicaments, onguents et vaccins contenant un adjuvant aluminique
- Valeurs toxicologiques de référence (VTR) :
  - MLR alimentation orale : **1 mg/kg/jour** (*Agence des substances toxiques des CDC d'Atlanta, 2010*)
  - Limite d'aluminium métal par dose vaccinale : **0,85 mg**

***La dose d'aluminium présente dans les vaccins du calendrier vaccinal en France est toujours inférieure à ce seuil.***

MRL : minimal risk level

Rapport « Les adjuvants aluminiques : le point en 2016 » Mars 2016

[http://www.acadpharm.org/dos\\_public/Rapport\\_Adjuvants\\_aluminiques\\_VF\\_CORR\\_5.pdf](http://www.acadpharm.org/dos_public/Rapport_Adjuvants_aluminiques_VF_CORR_5.pdf)

# Rapport du Haut Conseil de la Santé Publique (HCSP) « Aluminium et vaccins » du 11 juillet 2013,

- Le HCSP estime que les données scientifiques disponibles à ce jour **ne permettent pas de remettre en cause la sécurité des vaccins contenant de l'aluminium au regard de leur rapport bénéfice/risque.**
- Il recommande **la poursuite des vaccinations conformément au calendrier vaccinal en vigueur en France.**
- **Il met en garde contre les conséquences, en matière de réapparition de maladies infectieuses,** que pourrait avoir une baisse de la couverture vaccinale résultant d'une remise en cause des vaccins contenant de l'aluminium en l'absence de justification scientifique.
- Le HCSP encourage **la poursuite des recherches visant à évaluer la sécurité des adjuvants disponibles ou en développement.**



## Quels dérivés de l'aluminium utilisés comme adjuvants dans les vaccins commercialisés en France ?

Dénomination	Formule chimique	Forme
oxyde d'aluminium, alumine	$\text{Al}_2\text{O}_3$	poudre cristalline
hydroxyde d'aluminium, oxyde d'aluminium hydraté, alumine hydratée	$\text{Al}(\text{OH})_3$	solide cristallisé (forme tri-hydratée) ou poudre amorphe
oxyhydroxyde d'aluminium	$\text{AlO}(\text{OH})$	solide cristallisé (forme mono-hydratée) ou poudre amorphe
phosphate d'aluminium	$\text{AlPO}_4$	poudre amorphe
sulfate d'hydroxyphosphate d'aluminium	$\text{AlH}_2\text{O}_8\text{PS}$	poudre amorphe

# Adjuvants aluminiques dans les vaccins commercialisés en France en 2015

Dérivé de l'aluminium	Équivalent aluminium/dose	Vaccin
oxyhydroxyde hydraté	0,50 mg	Cervarix <sup>®</sup> , Engérix B <sup>®</sup> suspension à 20 µg d'antigène, Havrix <sup>®</sup> , Infanrixtetra <sup>®</sup> , Infanrixquinta <sup>®</sup>
oxyhydroxyde hydraté	0,25 mg	Engérix B <sup>®</sup> suspension à 10 µg d'antigène
hydroxyde hydraté	0,60 mg	vaccin tétanique Pasteur <sup>®</sup>
hydroxyde hydraté+ phosphate	0,30 mg 0,20 mg	Boostrixtétra <sup>®</sup>
phosphate + hydroxyde hydraté	0,40 mg 0,05 mg	Twinrix <sup>®</sup>
phosphate + hydroxyde hydraté	0,32 mg 0,50 mg	Infanrixhexa <sup>®</sup>
sulfate d'hydroxyphosphate	0,225 mg	Gardasil <sup>®</sup>
sulfate d'hydroxyphosphate	0,25 mg	HBVAXPRO <sup>®</sup>

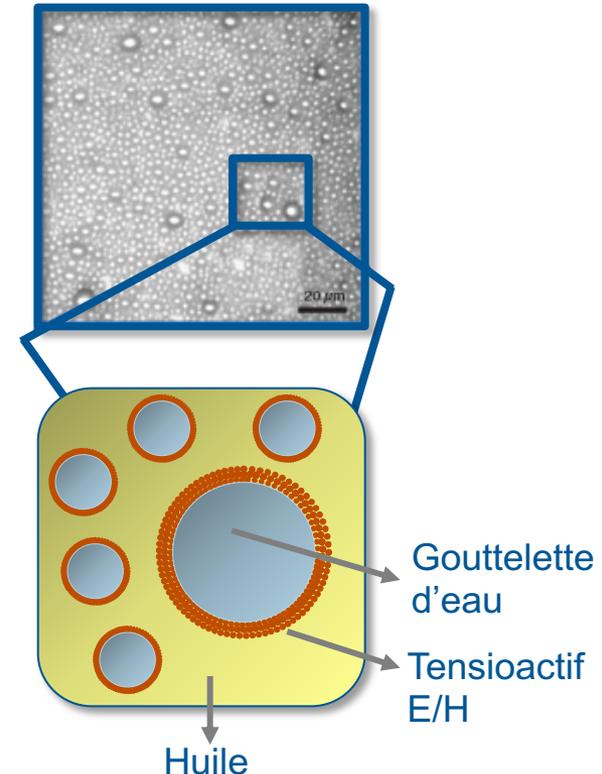
**Q par dose vaccinale toujours inférieure au seuil réglementaire de 0,85 mg/dose,**  
très faible par rapport à l'exposition journalière de l'ordre de 10 à 15 mg/j

# Émulsions : eau dans l'huile (E/H)

- Émulsion E/H de Freund
  - induit une forte réponse immunitaire, mais son utilisation chez l'homme a été abandonnée en raison de sa forte réactogénicité
- Montanide™ ISA51
  - une formulation modifiée, avec un profil de sécurité amélioré comparé à l'émulsion de Freund
  - on observe tout de même des réactions locales légères à sévères
    - les adjuvants Montanide™ ISA51 sont utilisés essentiellement en immunothérapie
  - un vaccin contenant du Montanide™ le cancer du poumon non à petites cellules a été enregistré à Cuba et au Chili

**Émulsion** : association de deux constituants immiscibles, l'huile et l'eau, stabilisée par un tensioactif/émulsifiant

Avec permission du Pr Resasco\*

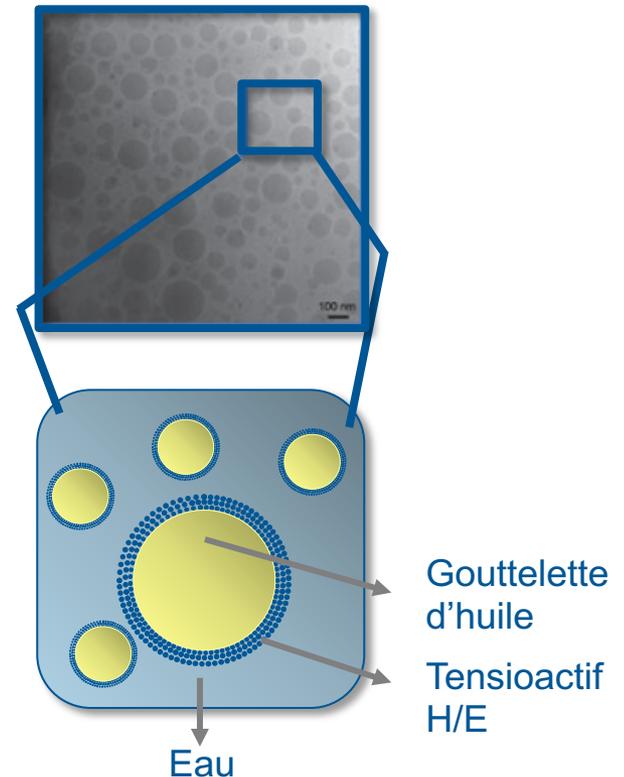


\*University of Oklahoma, États-Unis

Aucouturier *et al.* *Vaccine* 2006;24(Suppl 2):S44–S45; Garçon & Goldman. *Sci Am* 2009;301:72–9; Miller *et al.* *Trends Parasitol* 2005;21:412–4;Rodriguez *et al.* *MEDICC Rev* 2010;12:17–23; Garçon *et al.* Chapitre 4 dans : Garçon *et al.* *Understanding Modern Vaccines, Perspectives in vaccinology*, Vol 1, Amsterdam. Elsevier 2011;p89–113

# Émulsions : huile dans l'eau (H/E)

- Les émulsions H/E ont été développées à la recherche d'un meilleur profil de réactogénicité pour les émulsions
- La plupart des émulsions H/E sont à **base de squalène**, un constituant organique naturel présent dans les plantes, les animaux et chez l'homme
  - précurseur pour la biosynthèse de plusieurs hormones stéroïdiennes, de la vitamine D et du cholestérol
  - le squalène destiné à un usage médical est dérivé **d'huile de foie de requin**
- Les émulsions sont stabilisées avec des molécules amphiphiles qui s'appellent des tensioactifs ou des émulsifiants
  - Les tensioactifs utilisés dans les émulsions vaccinales H/E sont le **polysorbate 80 (Tween)** et le **Span 85**

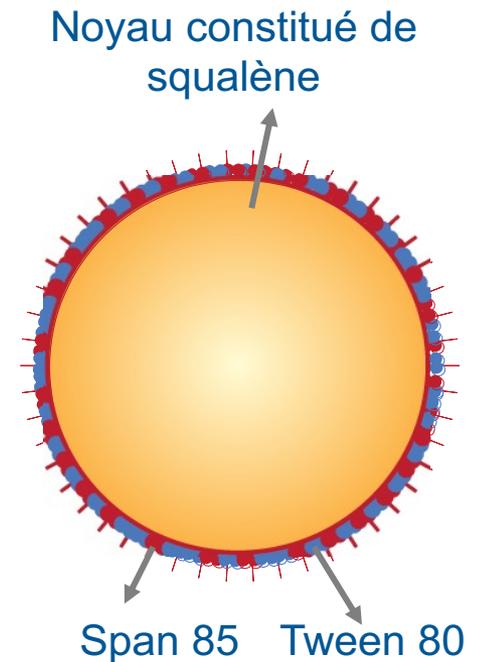


\*University of Oklahoma, États-Unis

H/E : huile dans l'eau

# MF59 : émulsion H/E

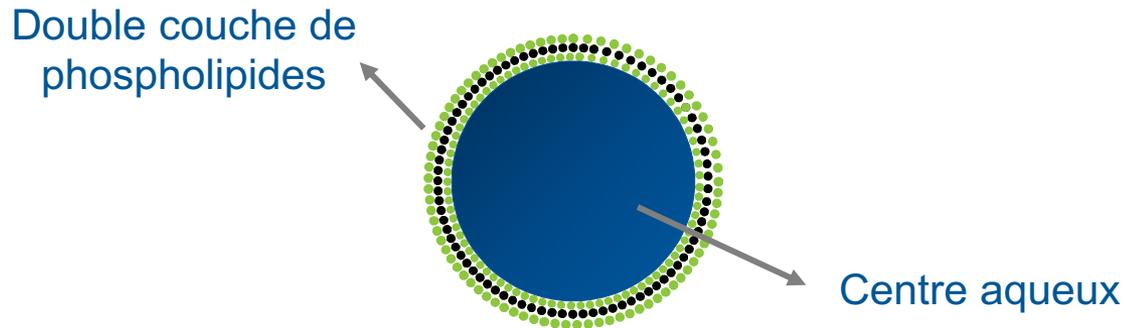
- Présent dans les vaccins antigrippaux (grippe saisonnière et grippe pandémique)
  - autorisés en Europe et à l'échelle internationale
- Favorise la réponse immunitaire chez les personnes âgées
- Favorise les réponses immunitaires contre des variantes spécifiques du virus de la grippe saisonnière issues de dérive antigénique
- S'est avéré induire des réponses inflammatoires :
  - agit sur les macrophages (site d'injection)
  - ↑ la libération de chimiokines
  - ↑ le recrutement des cellules immunitaires (principalement les monocytes)
  - induit le recrutement et l'activation des CPA avec ↑ de la charge antigénique et favorise la migration au nœud lymphatique
- **Provoque une plus forte réponse d' anticorps par rapport à l'aluminium**



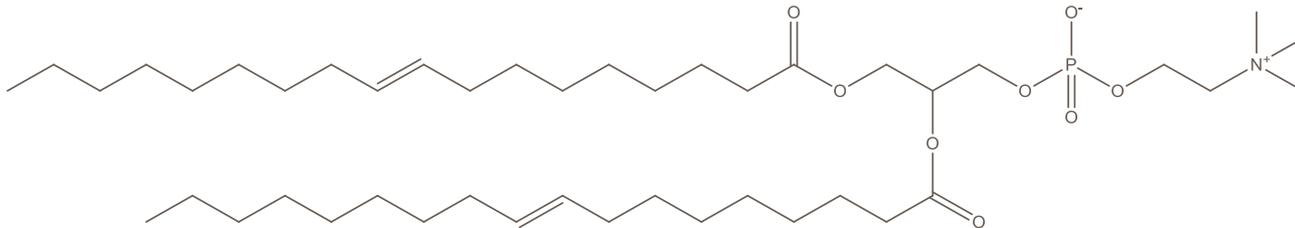
H/E : huile dans l'eau ; CPA : cellule présentatrice d'antigène

# Liposomes

- Des vésicules dans lesquelles le volume aqueux est entièrement entouré d'une membrane constituée de lipides



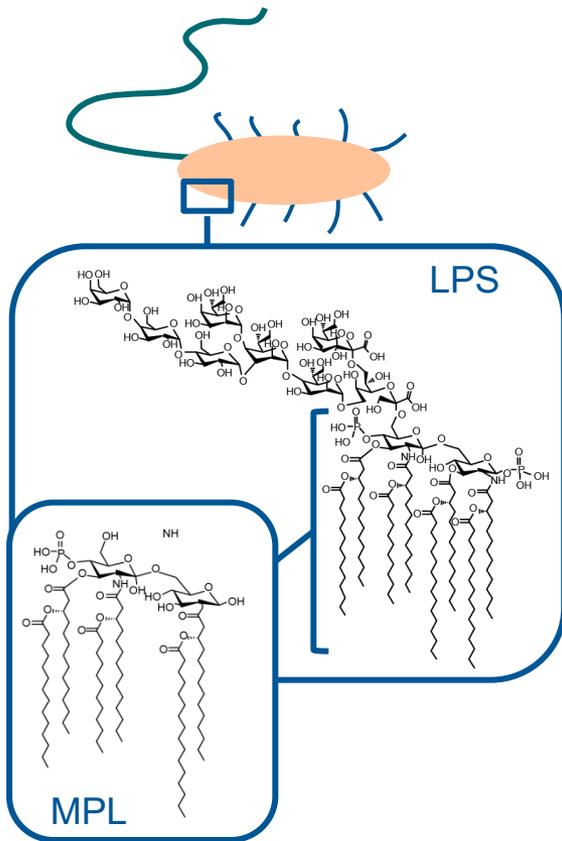
- Phospholipides standard des bicouches des membranes cellulaires



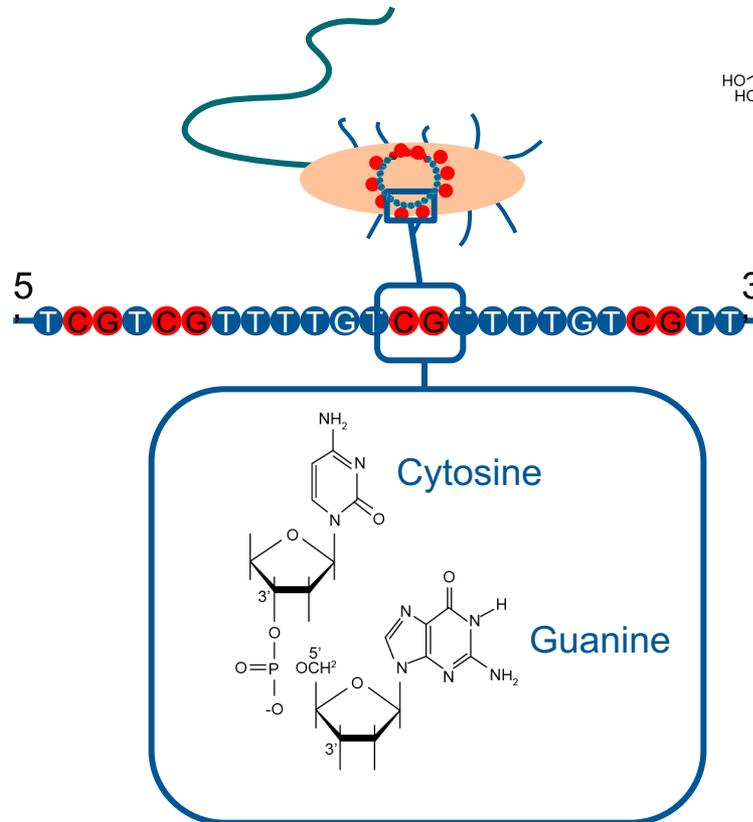
# Plusieurs substances ont montré des qualités d'adjuvant

## 2- Les adjuvants plus récents

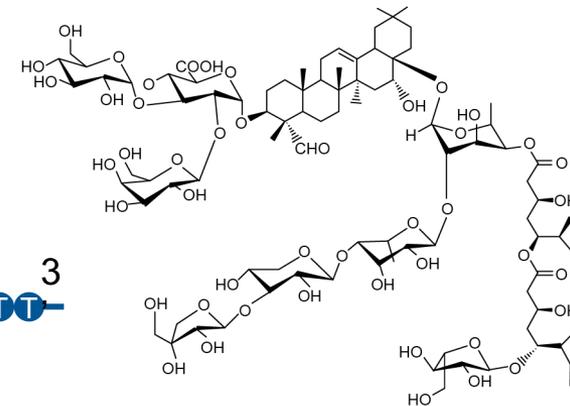
MPL de membrane microbienne



CpG d'ADN microbien



Saponine QS21 de plantes



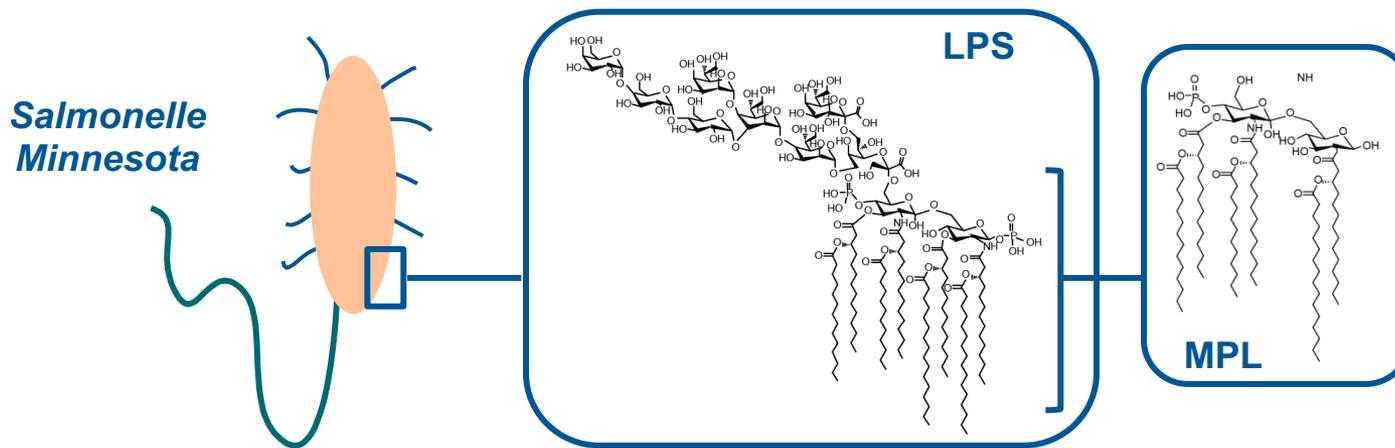
LPS : lipopolysaccharide ; MPL : monophosphoryl lipide A ;

CpG : cytosine et guanine adjacentes connectées par une liaison phosphodiester ; QS : *Quillaja saponaria*

Garçon *et al.* Chapitre 4 dans : Garçon *et al.* Understanding Modern Vaccines, Perspectives in vaccinology, Vol 1, Amsterdam. Elsevier 2011;p89–113

# 3-déacyl-monophosphoryl lipide A

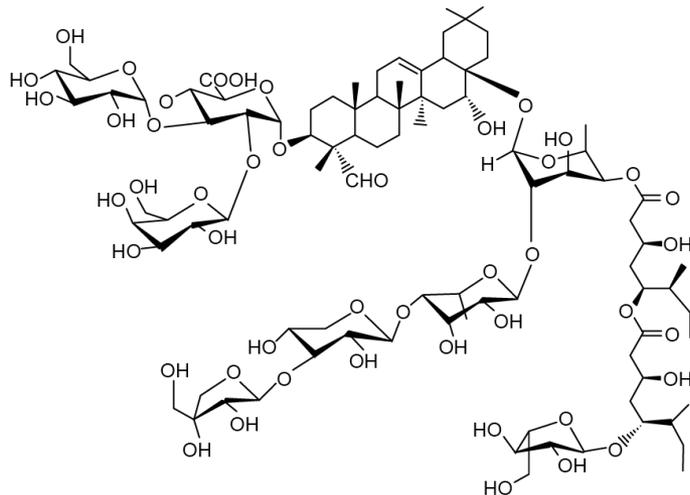
- Dérivé de LPS de *Salmonelles Minnesota*
- **Agoniste de TLR-4: agit via ces récepteurs**
- **La reconnaissance de signaux de dangers par les récepteurs Toll-like est connue pour être importante lors de l'induction de la maturation des cellules dendritiques qui sont elles même indispensables pour l'initiation de la réponse de lymphocytes T.<sup>1</sup>**



LPS : lipopolysaccharide ; MPL : monophosphoryl lipide A ; TLR : récepteur Toll-like

## QS21

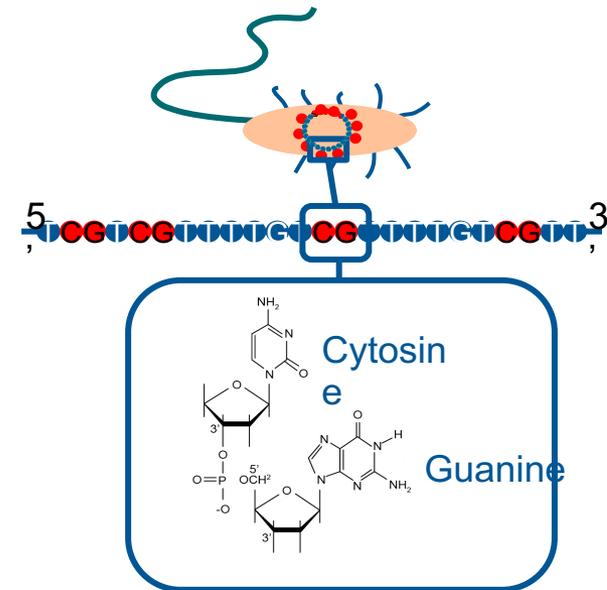
- Fraction purifiée (21) d'un mélange de saponines présentes dans un extrait de l'écorce de Quillaja Saponaria Molina, un arbre du Chili
- Famille des saponines de type triterpène glycoside : un **tensioactif**
- Propriétés détergentes en raison de leur nature amphipathique



QS : *Quillaja saponaria* CpG : cytosine et guanine adjacentes connectées par une liaison phosphodiester ;

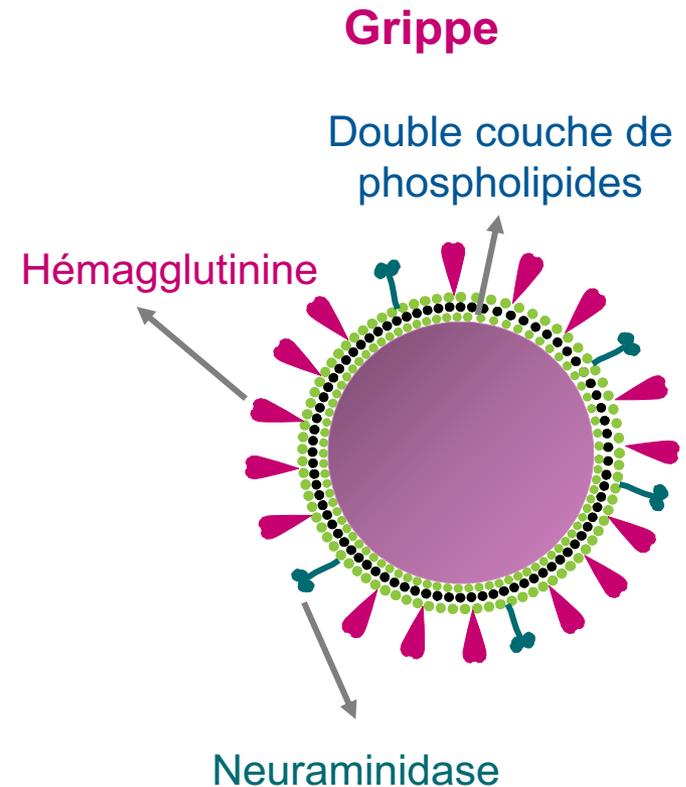
## CpG

- Motif répété de cytosine et de guanine dérivées d'ADN de microbes naturels (que l'on ne rencontre pas chez l'homme)
- Désigne un groupe d'oligodésoxynucléotides synthétiques
- **Agoniste de TLR-9**



# Virosomes

- Des vésicules lipidiques sphériques contenant des glycoprotéines virales fonctionnelles du virus de la grippe ; elles peuvent être chargées avec d'autres antigènes
- Mécanisme d'action proposé : **interaction directe avec les CPA ou les cellules B, facilitant l'assimilation des antigènes, et ensuite l'activation des cellules T**
- En Europe, deux vaccins adjuvantés avec des virosomes sont actuellement homologués :
  - grippe saisonnière
  - hépatite A



# Une nouvelle approche pour les adjuvants: l'arrivée des systèmes adjuvantés (AS)

## Concepts clés

- Les nouveaux adjuvants doivent induire une réponse:
  - adaptée aux agents pathogènes ou à la pathogenèse de la maladie
  - adaptée aux populations cible
- Plusieurs adjuvants peuvent être combinés dans les systèmes adjuvants afin d'obtenir la réponse immunitaire souhaitée
- Seul le bon couple sélectionné antigène et adjuvant peut induire une réponse immunitaire efficace permettant une protection renforcée et soutenue

**“ La taille unique ne convient pas à tous ”**

# Notre expérience de la technologie Adjuvant : “la taille unique ne convient pas à tous”

## Adjuvants classiques



Sels d'Aluminium



Emulsions  
Huile/eau



Liposome

## Immuno stimulants



MPL



QS-21

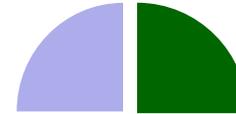


Vitamine E  
(Tocopherol)



CpG 7909

AS04<sup>1,2</sup>



- HBV ( (pre)-hémodialysés)\*\*
- HPV\*\*\*

AS03<sup>3</sup>



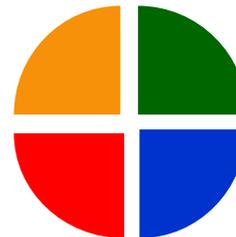
- Grippe pandémique\*

AS01<sup>1,2,4</sup>



- Malaria
- TB, VIH, Zoster

AS15<sup>2</sup>



- Antigen-Specific  
Cancer  
Immuno-  
therapeutics

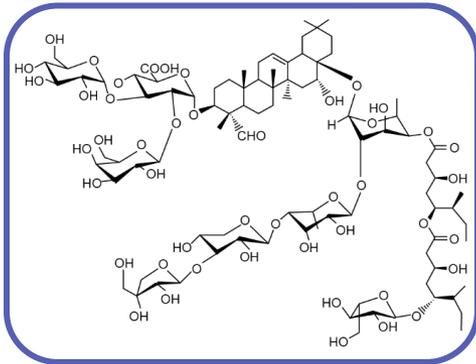
HBV = hepatitis B virus; HPV = human papilloma virus; MPL = 3-O-desacyl-4'-monophosphoryl lipid A; QS = Quillaja saponaria; TB = tuberculosis; HIV = human immunodeficiency virus

1. Garçon N *et al. Expert Rev Vaccines* 2007;6:723–39; 2. Garçon N *et al. Expert Rev Vaccines* 2011;10:471–86; 3. Garçon N *et al. Expert Rev Vaccines* 2012;11:349–66; 4. Lal H *et al. Hum Vaccin Immunother* 2013;9:1425–9

\* H1N1v/AS03 licensed in Europe and international countries; H5N1/AS03 licensed in Europe, US and international countries; \*\* Licensed only in Europe in >15 years of age; \*\*\* Licensed in Europe, Japan, US and international countries

# Système d'adjuvants AS01

## Saponine QS-21<sup>1-3</sup>



Le **QS-21** est un extrait végétal purifié, issu de l'arbre Quillaja saponaria, originaire d'Amérique du Sud

Bicouche de Phospholipide

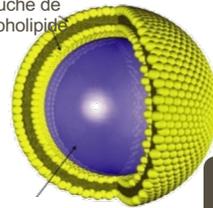


Figure reproduced with permission from Garçon N, et

Liposome<sup>1,3</sup>

Noyau aqueux

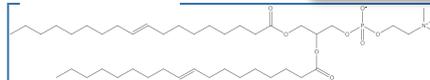
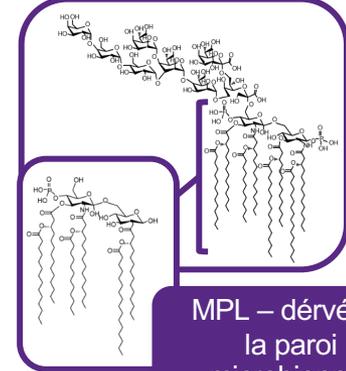


Figure adapted with permission from Garçon N, et al.

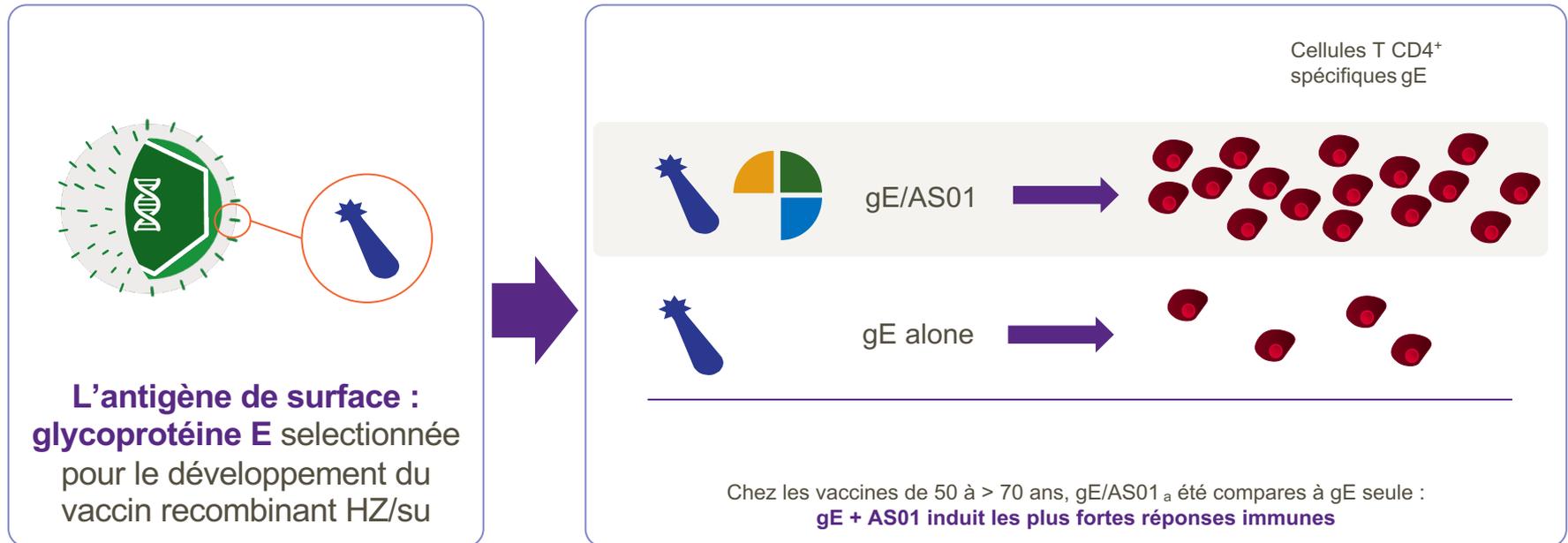


MPL – dérivé de la paroi microbienne<sup>1</sup>

MPL = 3-O-desacyl-4'-monophosphoryl lipid A; QS-21 = Quillaja Saponaria Molina, fraction 21 (Antigenics Inc, a wholly owned subsidiary of Agenus Inc, Lexington, MA, USA)<sup>5</sup>

# AS01 provoque une forte réponse immunitaire lorsqu'il est combiné avec la glycoprotéine E du VZV

(Exemple du Vaccin recombinant Varicella: la glycoprotéine E du VZV)

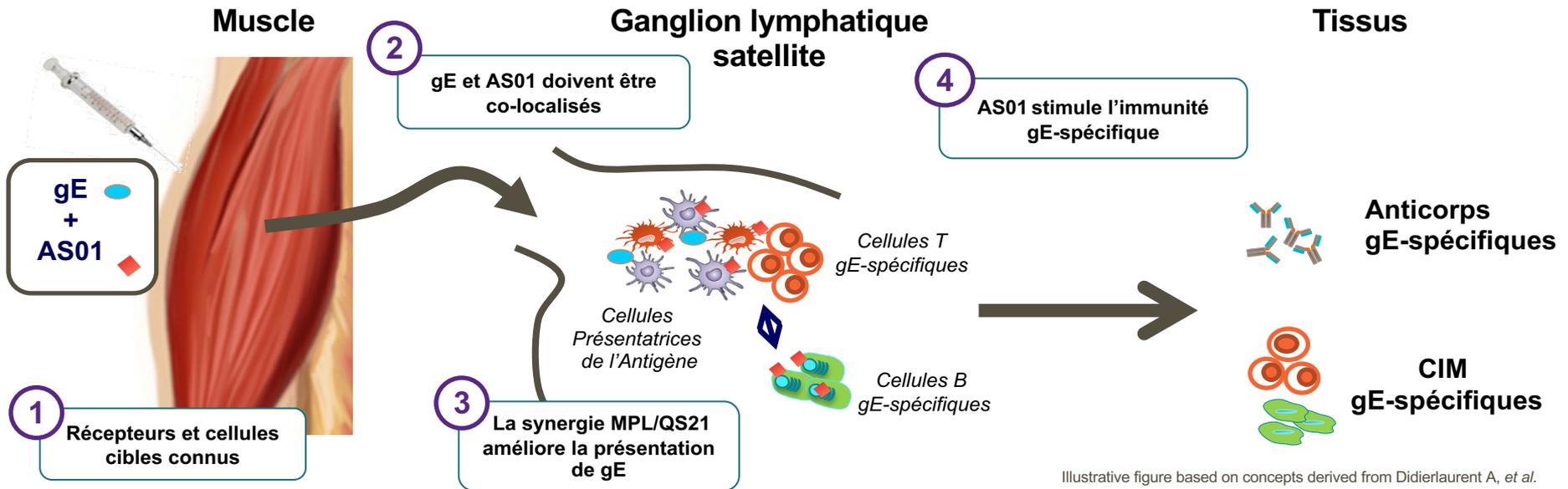


\* AS01E a 50% de moins de MPL et QS-21 que AS01B. AS, Adjuvant System; HZ, zona; MPL, 3-deacylated monophosphoryl lipid; QS-21, Quilaja saponaria Molina: fraction 21 (Antigenics Inc., a wholly owned subsidiary of Aenus Inc., Lexington, MA, USA); PHN, post-herpetic neuralgia; VZV, varicella zoster virus.

# AS01 induit une stimulation transitoire de l'immunité innée requise pour l'effet adjuvant

## La réponse innée transitoire induite par AS01 (0–72h)

## La réponse gE-spécifique (mois/années)

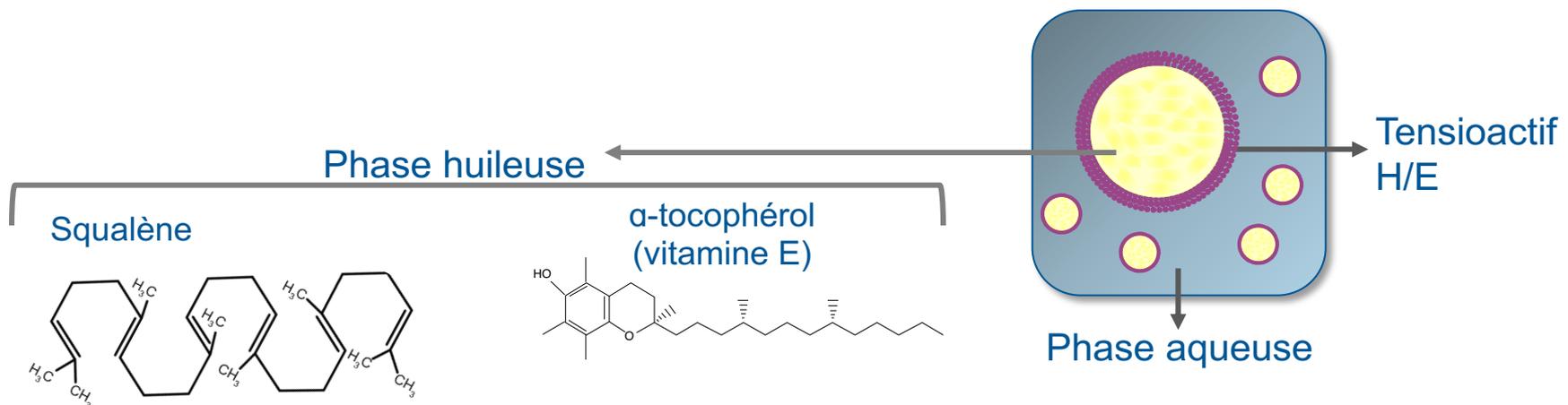


Illustrative figure based on concepts derived from Didierlaurent A, *et al.*

gE, Glycoprotéine E; MPL = 3-O-desacyl-4'-monophosphoryl lipid A; QS-21 = Quillaja Saponaria Molina, fraction 21.

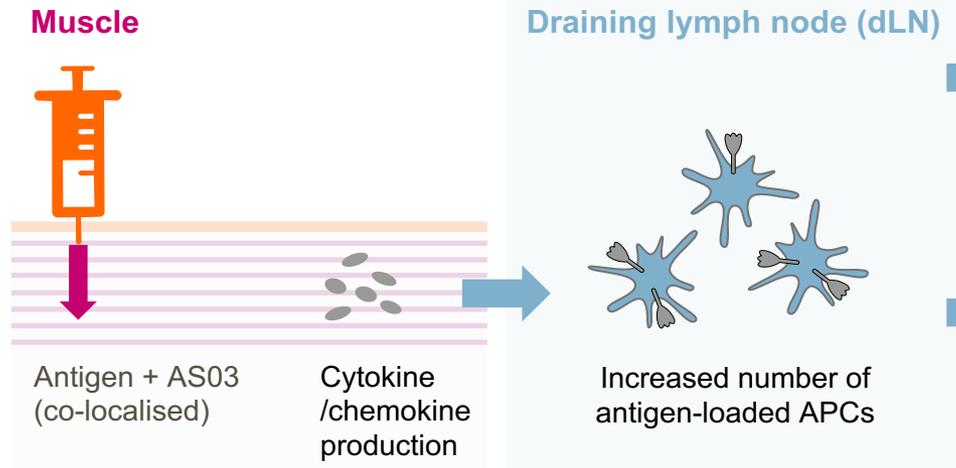
# Systeme d'adjuvants AS03

- AS03: adjuvant du groupe H/E contenant squalene et  $\alpha$ -tocopherol
- AS03 a été utilisé dans des vaccins contre la grippe pandémique
- Cette formulation avec AS03 s'est avérée permettre une réduction de la quantité d'antigène requise et une immunité croisée pour des souches hétérologues de H5N1

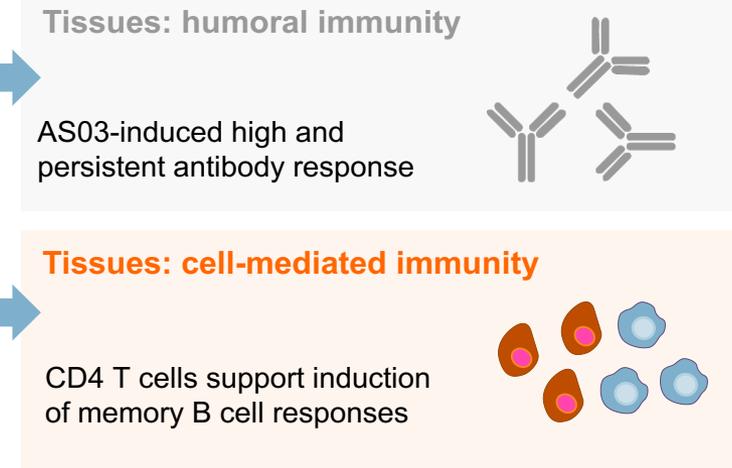


# AS03 active l'immunité inné suivie de la réponse immunitaire adaptative <sup>1,2</sup>

## Innate immune system



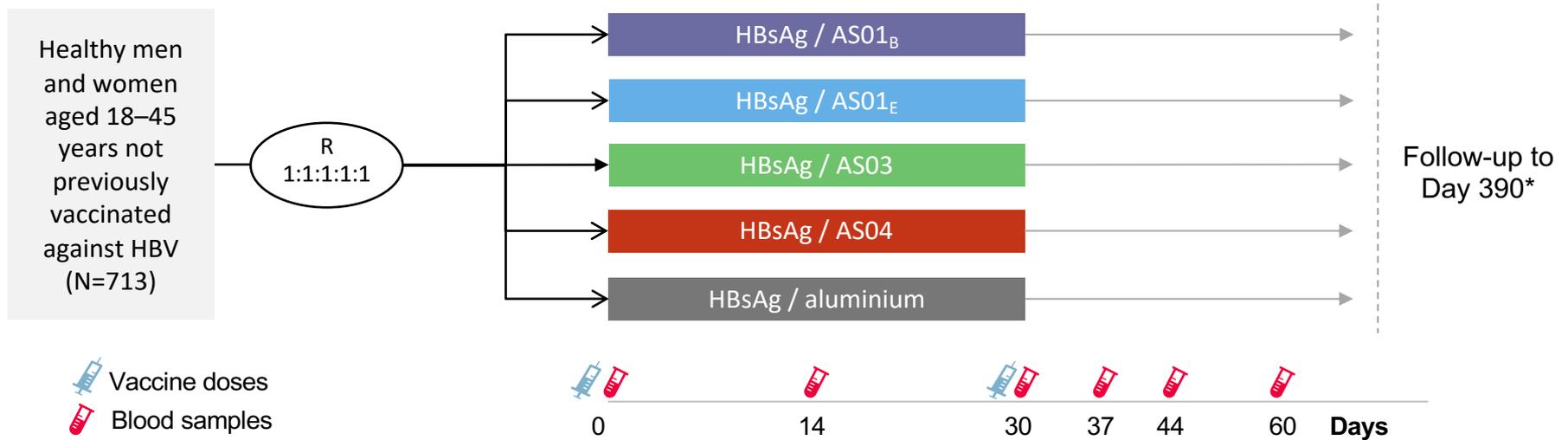
## Adaptive immune system



APC, antigen-presenting cell; AS03, Adjuvant System 03; dLN, draining lymph nodes

# Comparaison du AS03 avec les autres AS et l'adjuvant

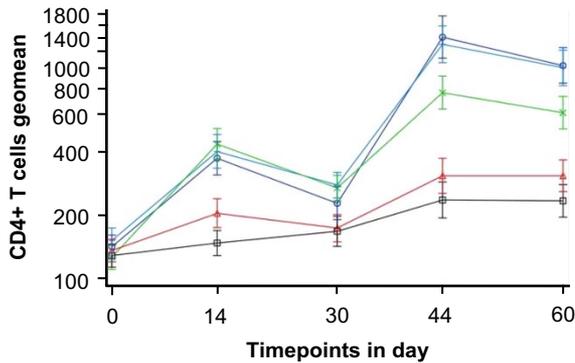
L'immunogénité et la réactogénicité du AS03 comparé aux autres adjuvants (AS01, AS03, AS04 and aluminium) combinés au model d'HBsAg



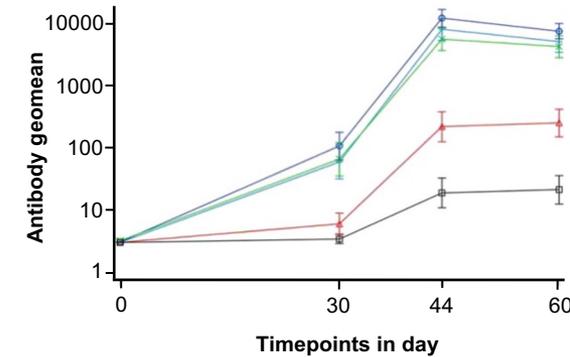
\*Participants in the sub-cohort for evaluation of secondary and exploratory endpoints were followed to Day 390; subjects not in the sub-cohort were followed to Day 360  
AS, adjuvant system; HBsAg, hepatitis B virus surface antigen; HBV, hepatitis B virus; R, randomisation

# AS03 procure une forte réponse cellulaire et humorale spécifique

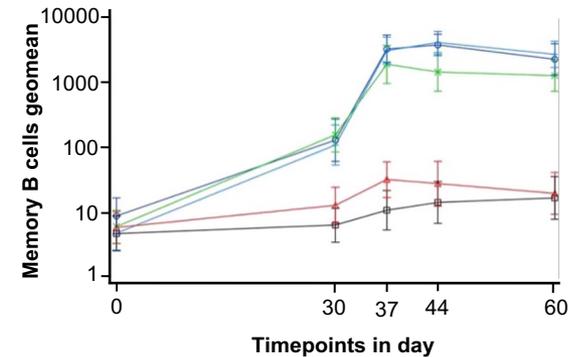
**CD4+ T cells**



**B cells**



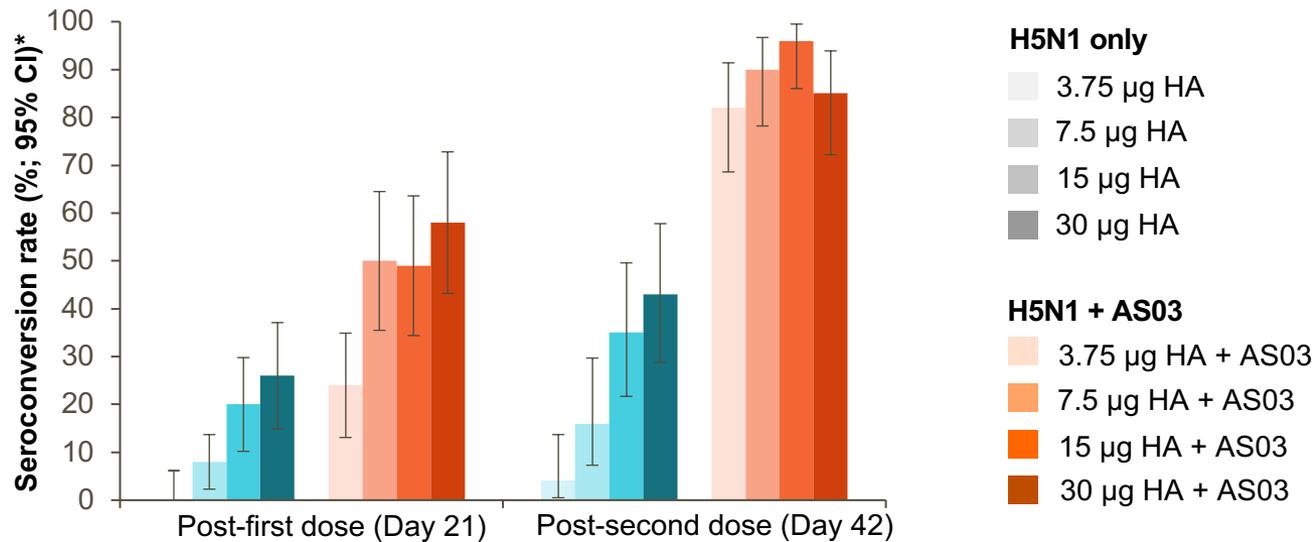
**Antibodies**



— AS01<sub>B</sub>    — AS01<sub>E</sub>    — AS03    — AS04    — Aluminium

Geometric mean values (geomean) and 95% confidence intervals are shown  
AS, adjuvant system

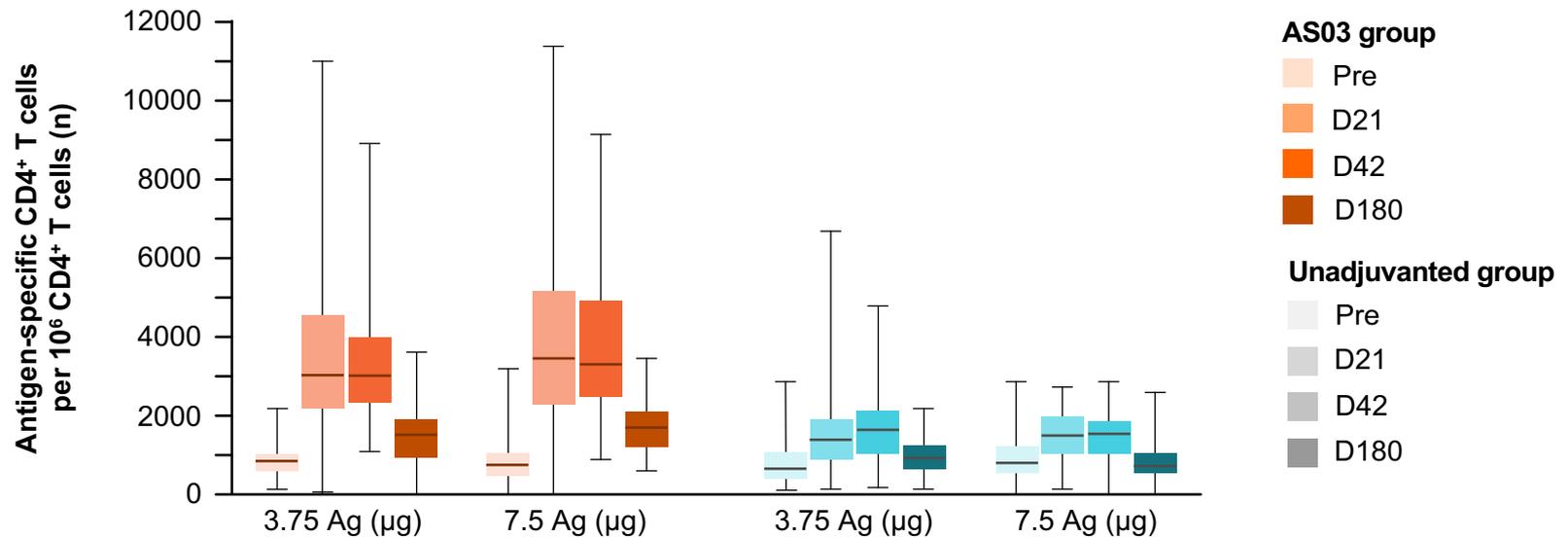
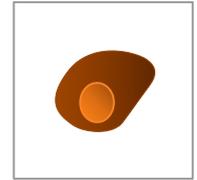
# L'immunogénité: La réponse amplifiée par le vaccin H5N1-Influenza en utilisant AS03



Superior immune responses with adjuvanted vs analogous unadjuvanted vaccines<sup>1,2</sup>

\*% subjects with  $\geq 4$ -fold increase in post-vaccination titre or pre-vaccination HI titre  $\geq 1:10$  and  $> 4$ -fold post-vaccination titre  
AS03, Adjuvant System 03; CI, confidence interval; HA, haemagglutinin; HI haemagglutination-inhibition

# L'immunogénité: La réponse cellulaire CD4 T amplifiée par le vaccin H5N1-Influenza en utilisant AS03



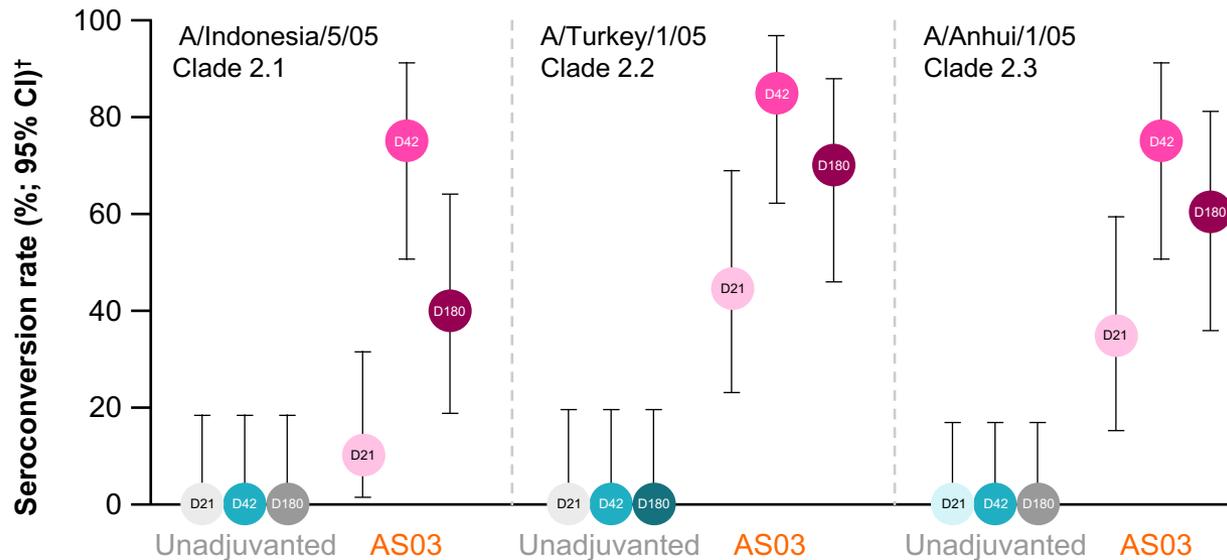
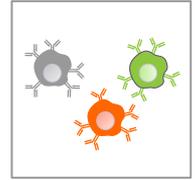
Significantly higher immune responses post-vaccination; persistence of immune response for up to 6 months

Ag, antigen; AS03, Adjuvant System 03

Moris P *et al.* *J Clin Immunol* 2011;31:443–454

Figure reproduced from Moris P *et al.* *J Clin Immunol* 2011;31:443–54. Copyright 2011, with permission from Springer Nature

# L'immunogénité: le vaccin H5N1-Influenza en utilisant AS03 procure une réaction croisée



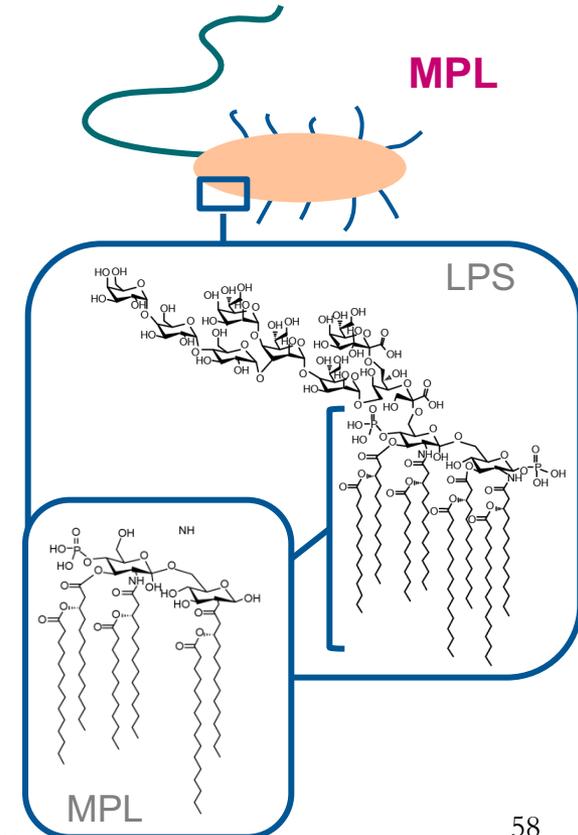
**Adjuvanted group:** seroconversion against all three clade 2 strains; persistence of NAb 6 months post-vaccination  
**Unadjuvanted group:** no response

AS03, Adjuvant System 03; CI, confidence interval; D, day; NAb, neutralising antibody

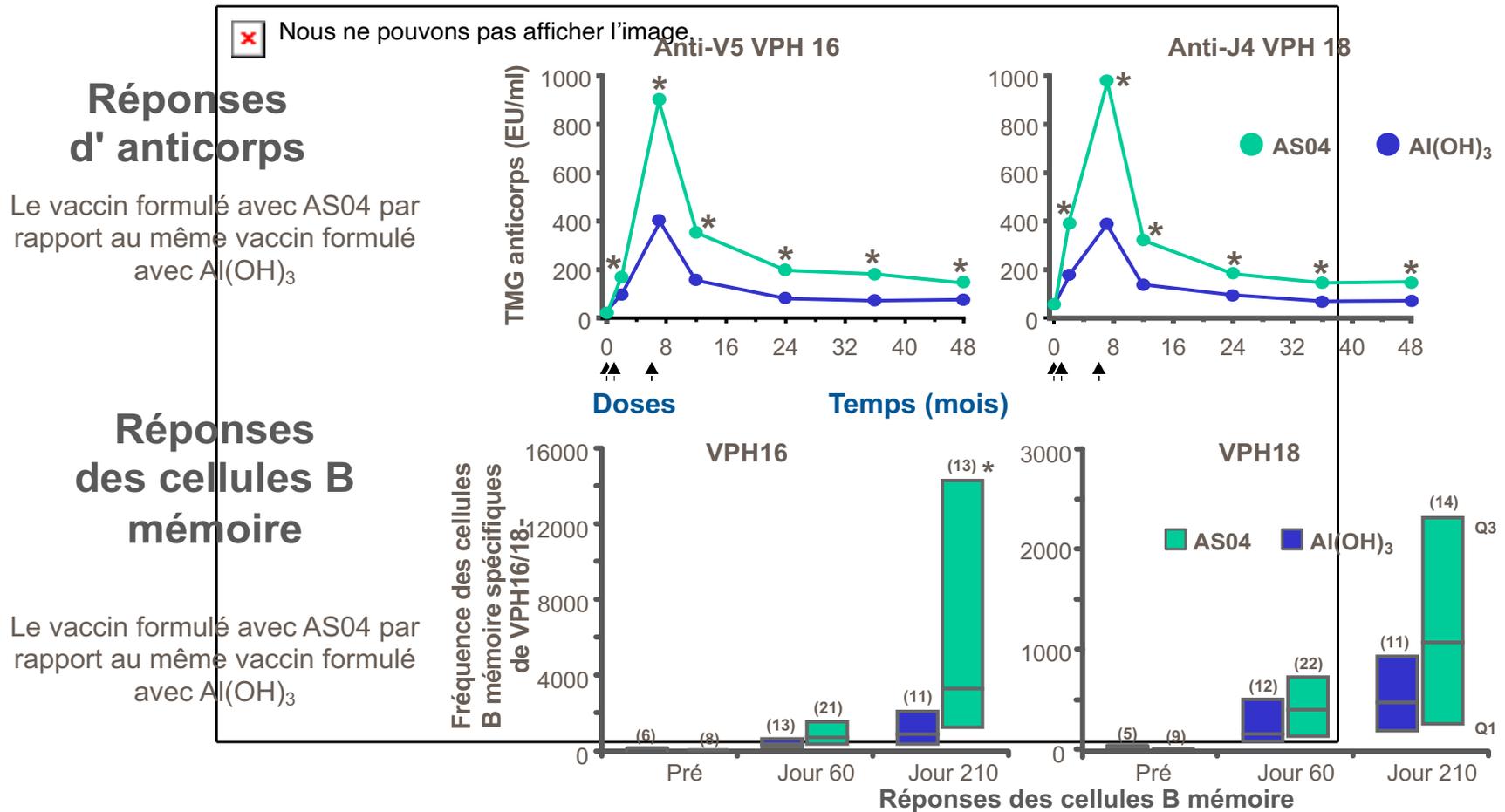
# Système d'adjuvants AS04

- AS04 est utilisé dans le vaccin VPH-16/18 et dans le vaccin contre le VHB\* pour des patients au stade pré-hémodialyse ou faisant l'objet d'une hémodialyse
- AS04 a prouvé sa valeur ajoutée par rapport à une **formulation comparable contenant des sels d'aluminium, en induisant une plus forte réponse immunitaire humorale et cellulaire**

Sels d'aluminium



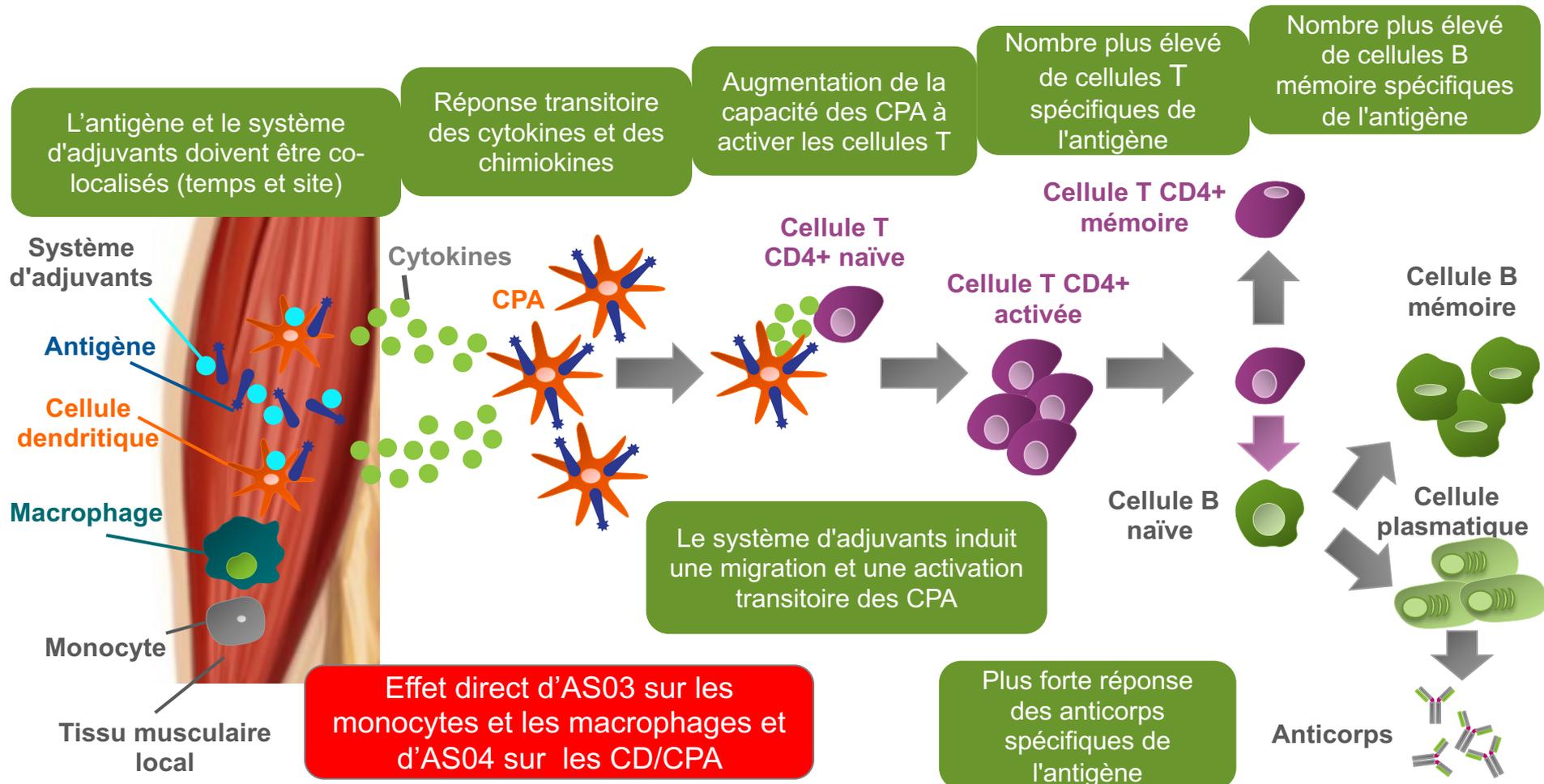
# L'association d'AS04 aux particules de type viral L1 induit une réponse immunitaire humorale élevée et soutenue et un haut niveau de cellules B mémoire chez l'homme



Al(OH)<sub>3</sub> : hydroxyde d'aluminium ; VPH : virus du papillome humain ; TMG, titre moyen géométrique des anticorps ; \*Statistiquement significatif : p<0,05

Giannini *et al. Vaccine* 2006;24:5937–5949 Réimpression à partir de *Vaccine*, 24, Giannini *et al. Enhanced humoral and memory B cellular immunity using VPH16/18 L1 VLP vaccine formulated with the MPL/aluminium salt combination (AS04) compared to aluminium salt only*, 5937–5949, Copyright (2006), avec la permission de The Edward Jenner Society, The International Society for Vaccines and The Japanese Society for Vaccinology

# Actions spécifiques des formulations AS04-VPH et AS03 contre la grippe sur les réponses immunitaires



CD : cellule dendritique ; CPA : cellule présentatrice d'antigène ; TLR : récepteur Toll-like

Adaptation de Garçon *et al.* *Biodrugs* 2011;25:217–226, Morel *et al.* *Vaccine* 2011;29:2461–2473

# Future: l'avenir des 2 AS importants: AS01 et AS03

- AS01: L'extraction du QS-21 détruit inévitablement l'arbre dont il est issu, ce qui a entraîné la mise en place de certaines réglementations sur sa culture.



- AS03: l'obtention du squalène qui est présent en grande quantité dans l'huile du foie des requins, peut être remplacé par la culture des levures

## On the hunt for alternatives to shark squalene for vaccines

Adjuvants wait vaccine makers to make a quantum from plant sources instead

by Wendy M. Sturgeon

September 8, 2015 | [www.pharmaceuticalbusiness.com](#) | Volume 36, Issue 27



# Surveillance de vaccins adjuvantés



Surveillance continue de la tolérance

L'évaluation de la tolérance d'un adjuvant est basée sur l'évaluation du vaccin (antigène et adjuvant)

## Etudes précliniques de toxicologie

*Etudes in vitro* et *in vivo* (animal), toxicité en dose unique, en doses répétées, tolérance locale et profil de tolérance général, mode d'action

## Essais cliniques

Evaluation des ES d'intérêt particulier, analyse globale de la tolérance

## Engagements Post AMM

Registres de grossesse, études post commercialisation, études supplémentaires

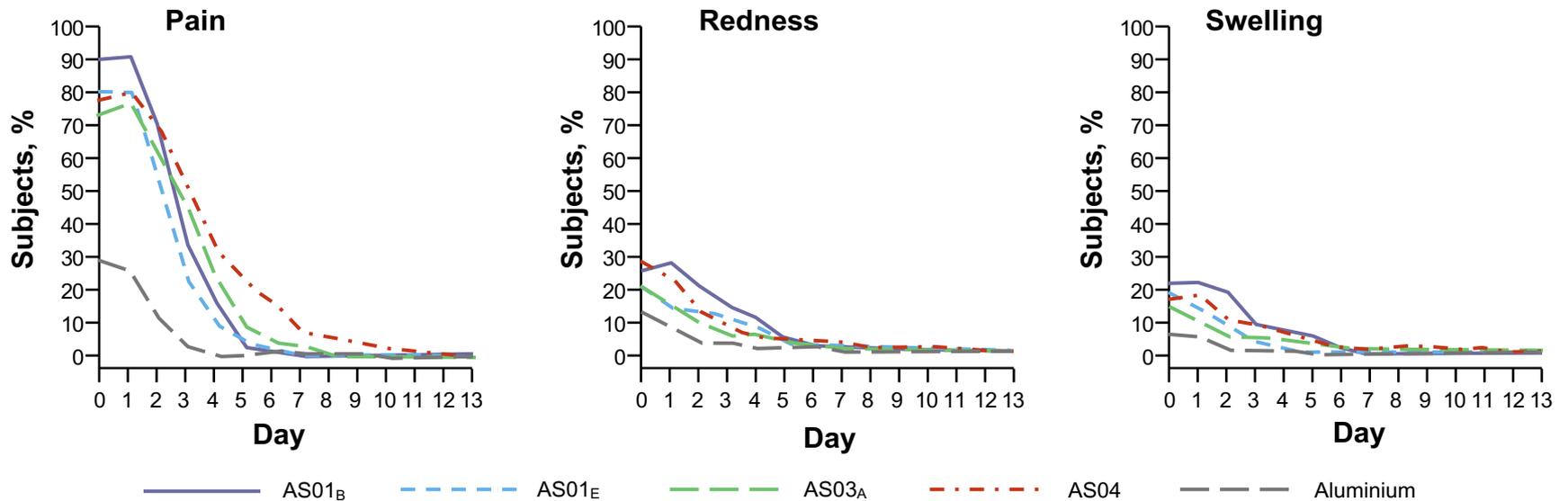
## Surveillance post commercialisation

Surveillance continue, détection des cas/cluster, analyse quantitative et qualitative, surveillance active des ES, analyse globale de la tolérance

## Vaccins adjuvantés : réactogénicité générale et profil de sécurité

- On observe constamment une réactogénicité augmentée, en particulier au site d'injection, pour les vaccins adjuvantés par comparaison avec les vaccins non adjuvantés
- Le profil de sécurité des sels d'aluminium utilisés comme adjuvants est bien établi par l'administration des milliards de doses, dans différentes populations, pendant plus de 80 ans
- Symptômes locaux liés à la vaccination :
  - généralement d'intensité légère à modérée
  - de courte durée
  - sans interférence avec le schéma de vaccination
- On considère que les vaccins adjuvantés autorisés ont des rapports bénéfice-risque cliniquement acceptables

# Comparé aux vaccins avec AI, les vaccins contenant AS ont une réaction locale plus forte mais transitoire



AS, adjuvant system

Leroux-Roels G *et al. Clin Immunol* 2016;169:16–27

Figure adapted from Leroux-Roels *et al.* 2016, under Creative Commons Attribution 4.0 International License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)

# Data concernant le suivi de la tolérance du Vaccin Influenza contenant AS03-1<sup>1</sup>



## Acceptable safety pre-licensure

Clinical experience in >55,000 vaccinated subjects<sup>1</sup>



Main AE: transient injection-site pain<sup>2-4</sup>  
No safety signals identified<sup>5</sup>

## Acceptable safety post-licensure



Clinically acceptable reactogenicity/safety profile;  
no evidence for increased risk of AESI<sup>1</sup>

Mass vaccination during 2009 H1N1 pandemic provides a large safety database

**90 million** doses administered<sup>1</sup>

Narcolepsy signal



GSK committed to ongoing surveillance



2016: CHMP positive opinion<sup>10</sup>

## Acceptable safety shown in different populations

Different age groups evaluated in clinical trials<sup>2-4</sup>



Special populations: acceptable benefit-risk profile (post-licensure experience)<sup>6-9</sup>

# Data concernant le suivi de la tolérance du Vaccin Influenza contenant AS03-2<sup>1</sup>



## Acceptable safety pre-licensure

Clinical experience in >55,000 vaccinated subjects<sup>1</sup>



Main AE: transient injection-site pain<sup>2-4</sup>  
No safety signals identified<sup>5</sup>

## Acceptable safety post-licensure



Clinically acceptable reactogenicity/safety profile;  
no evidence for increased risk of AESI<sup>1</sup>

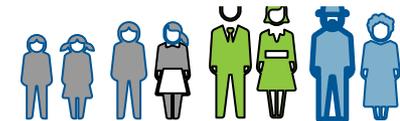
## Mass vaccination during 2009 H1N1 pandemic provides a large safety database

**90 million** doses administered<sup>1</sup>

Narcolepsy signal  GSK committed to ongoing surveillance  2016: CHMP positive opinion<sup>10</sup>

## Acceptable safety shown in different populations

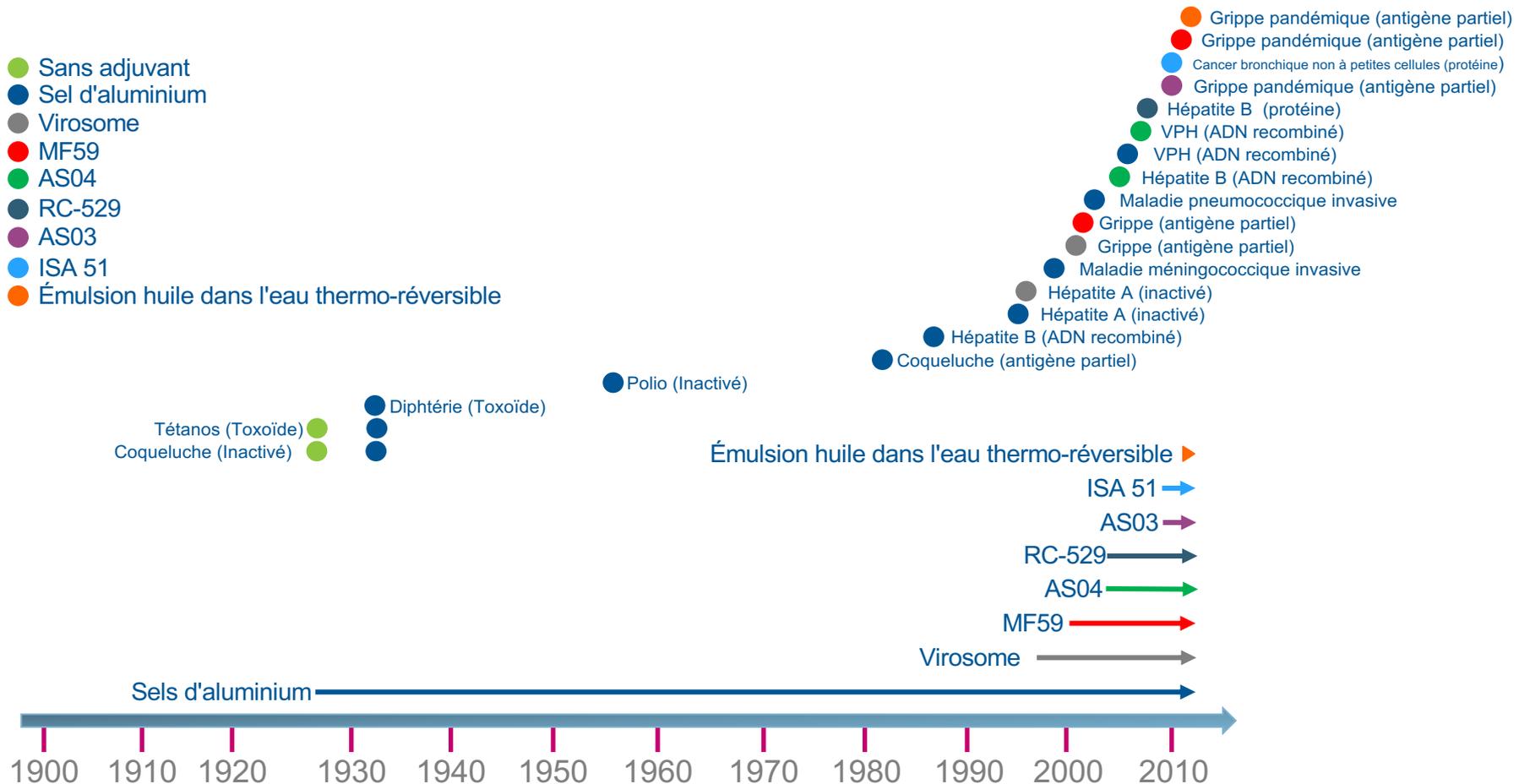
Different age groups evaluated in clinical trials<sup>2-4</sup>



Special populations: acceptable benefit-risk profile (post-licensure experience)<sup>6-9</sup>

1. Cohet C et al. *Vaccine* 2019;37:3006-3021; 2. Kosalaraksa P et al. *J Infect Dis* 2015;211:801-810; 3. Langley JM et al. *J Infect Dis* 2011;203:1729-1738; 4. McElhaney JE et al. *Lancet Infect Dis* 2013;13:485-496; 5. Tavares F et al. *Vaccine* 2011;29:6358-6365; 6. Leahy TR et al. *Influenza Other Respir Viruses* 2014;8:360-366; 7. Rousseau B et al. *Ann Oncol* 2012;23:450-457; 8. Cherif H et al. *Eur J Haematol* 2013;90:413-419; 9. European Medicines Agency (EMA), 2016. Assessment report: Pandemrix: EMA/CHMP/566359/2015

# Le nombre de vaccins adjuvantés a connu une croissance exponentielle au cours des deux dernières décennies



# Les maladies infectieuses nécessitent de nouvelles stratégies pour développer des vaccins efficaces

Besoin de nouvelles approches afin d'améliorer la réponse immunitaire et la protection

## Liées à l'agent pathogène

- Agents pathogènes de grande variabilité et complexes qui échappent ou subvertissent les défenses immunitaires (VIH, VHC, TB)<sup>1</sup>
- Agents pathogènes eucaryotes nécessitant des réponses immunitaires complexes, de plusieurs niveaux (malaria)<sup>2</sup>
- Agents pathogènes avec souches multiples ou différents sous-types<sup>3</sup> (grippe, HPV)
- Agents pathogènes induisant une latence ou localisés au site de l'infection<sup>3</sup> (VZV, HPV)
- Agents pathogènes d'émergence rapide et infectant des millions de personnes (grippe pandémique)

1. *Immunobiology*. Accessed at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/bv.fcgi?rid=imm.section.1480>; last accessed: 31 Mar 09;

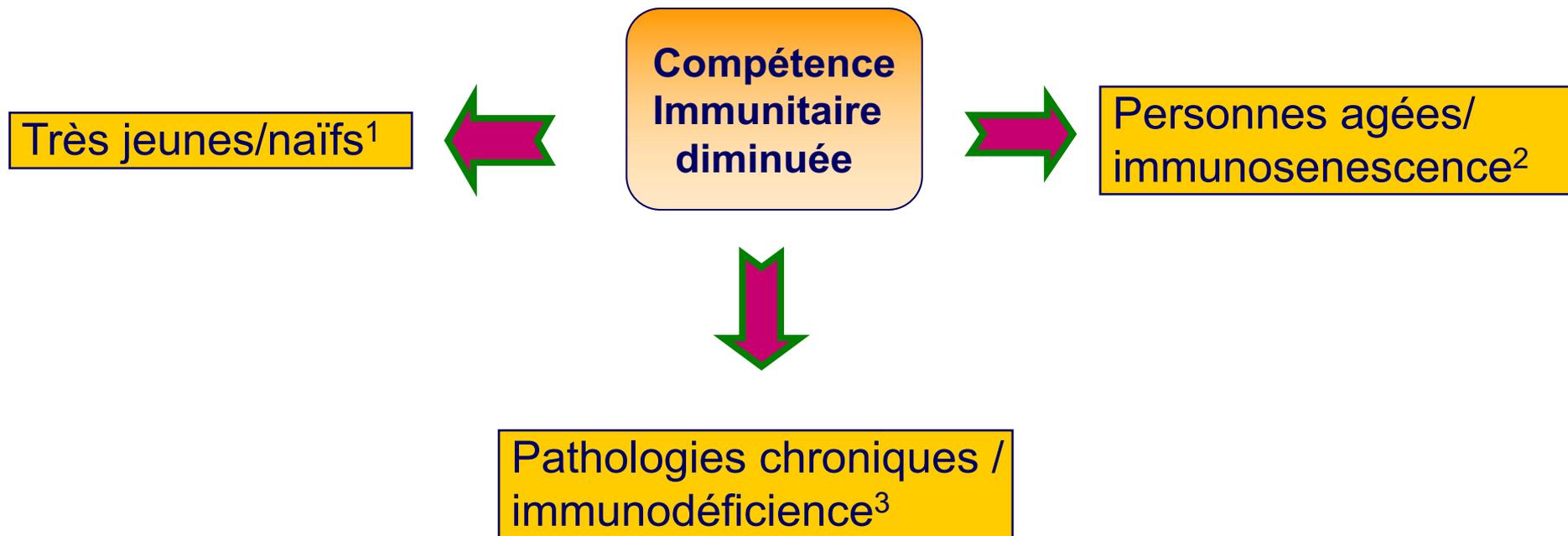
2. Cifuentes G et al. *Biochem Biophys Res Commun* 2009;384:455–460;

3. Paavonen J et al. *Lancet* 2007;369:2161–2170

# Besoins non satisfaits en immunisation : populations particulières

Liées à l'individu

Adapter les vaccins aux populations ayant des réponses sous - optimales <sup>4</sup>



Prendre en compte les caractéristiques des populations naïves versus les populations pré-exposées (ex varicelle, zona, grippe pandémique)

1. Garcia A et al. Immunologic Res 2000;22:177–190;
2. Targonski PV et al. Vaccine 2007;25:3066–3069;
3. Boasso A et al. J Intern Med 2008;265:78–6;
4. Jacques P et al. Vaccine 2002;20:3644–3649

# L'objectif des vaccins / approches modernes : moduler les interactions avec le système immunitaire

- **En ciblant la réponse immunitaire innée**
  - Les vaccins les plus efficaces imitent l'infection en ciblant activement la phase innée de la réponse
- **En modulant et en renforçant l'action intermédiaire des CPA,**  
Assurant l'apport/la présentation de l'antigène entre le système immunitaire inné et le système immunitaire adaptatif
- **En développant des nouveaux adjuvants**
- **En atteignant les seuils de stimulation requis**
  - sans rompre l'équilibre
  - avec un profil de sécurité acceptable

## Conclusion

Différentes maladies peuvent nécessiter différentes réponses immunitaires pour obtenir une protection par la vaccination

Une meilleure connaissance du rôle de la réponse immunitaire innée et des interactions hôte-pathogène a conduit à une meilleure compréhension du rôle des adjuvants en vaccinologie

Les adjuvants peuvent être des auxiliaires utiles, en augmentant et en modulant la réponse immunitaire adaptative aux antigènes vaccinaux

La sélection du meilleur adjuvant pour chaque antigène vaccinal sélectionné est essentielle et peut aider à répondre à certains des besoins de développement de vaccins restants

Les Systèmes Adjuvants (AS) sont destinés à fournir une protection immunitaire meilleure et plus large en tirant parti de l'effet synergique de molécules adjuvantes uniques

**Je vous remercie  
pour votre attention...**

