



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
جامعة عمار تليجي بالأغواط
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUCAT

كلية العلوم
FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Mémoire de MASTER

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Biologiques
Option : Pharmacotoxicologie

Thème

**Conception d'un vaccin multi-épitopes pour
l'immunothérapie à l'aide de la modélisation
bio-informatique**

Présente par :

- ❖ ABDELALI Maria Chaima
- ❖ BENCHAHED ZOHRA

Soutenu publiquement devant les membres de jury :

Promoteur : KADI Imededdine

URPM. Université Laghouat

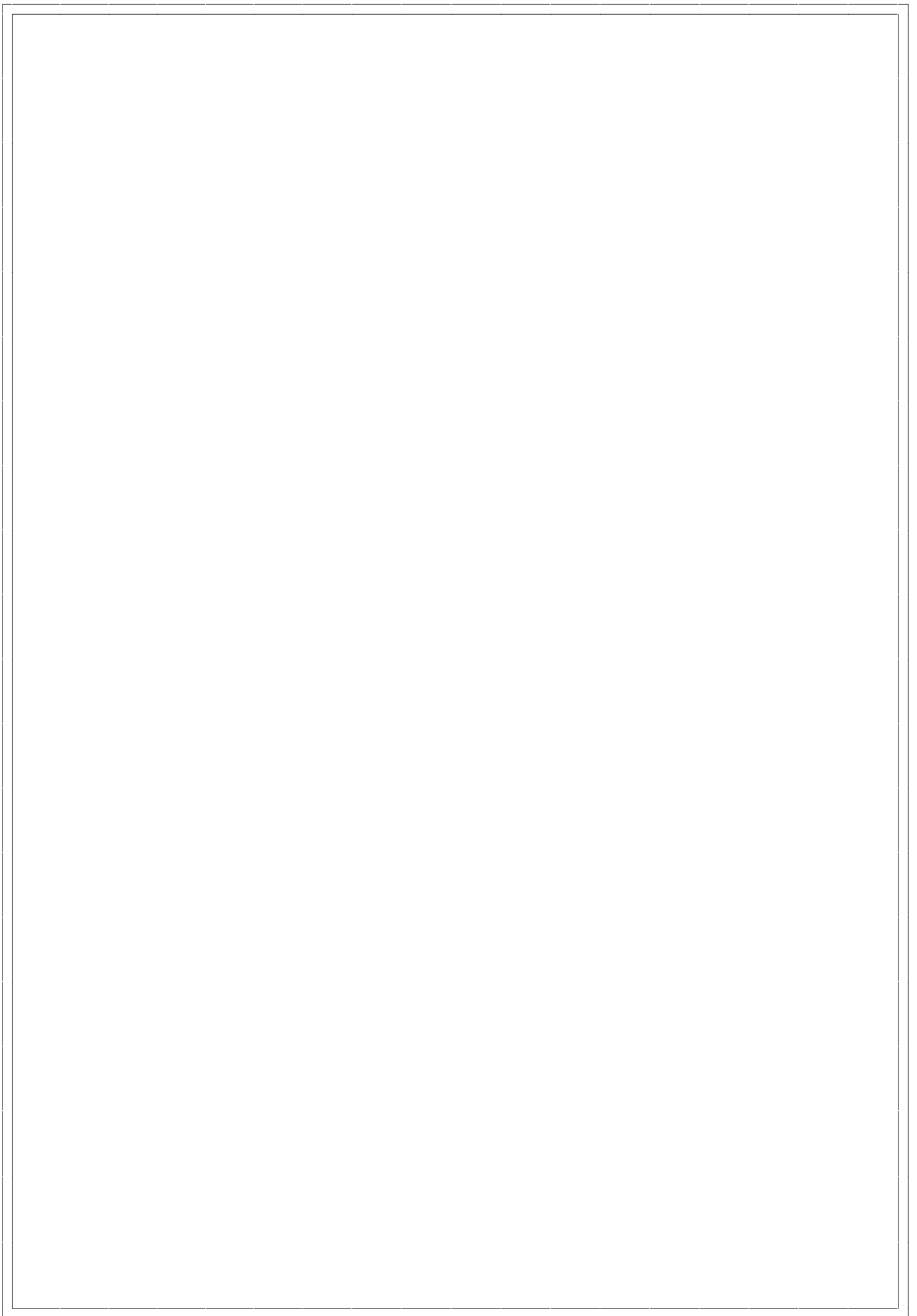
Président : BENACEUR Farouk

URPM. Université Laghouat

Examineur : BOUFISSIOU Ahmed

URPM. Université Laghouat

Année universitaire 2024/2025



Dédicaces

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

(واخر دعواهم ان الحمد لله رب العالمين)

صدق الله العظيم

Louange à Dieu, qui a facilité mes débuts, mené à bien mes fins et guidé mes pas vers la réussite.

Louange à Dieu, qui n'a jamais déçu mes efforts ni dissimulé sa réussite. Louange à Dieu jusqu'à ce qu'il soit satisfait, et après qu'il est satisfait.

Je dédie cette réussite à celle qui m'a donné la vie, qui était une étreinte d'amour, une âme sœur et une source de bonheur : ma mère bien-aimée.

À mon pilier dans cette vie, à celui qui m'a donné son nom, qui m'a accordé amour et protection, mon père – il était bien plus qu'un père, un frère et un ami ; il était un phare sur mon chemin.

À ceux qui ont toujours été une source d'encouragement et de motivation : ma sœur Amina, mes frères Ahmed et Zakaria.

À mon oncle Hajj Harzallah et à toute la famille Bourguiba. À la famille Abdelali, et que Dieu ait pitié de mon oncle Mabrouk. À mes fidèles amies : Nour, Amina et Iman, oulaya merci du fond du cœur.

Un merci tout particulier à mon encadrant Dr. KADI Imededdine, dont le soutien et les conseils ont été précieux. Les mots me Manquent pour exprimer ma gratitude.

Aujourd'hui, j'atteins le terme de ce voyage. Que l'avenir soit radieux et meilleur.

Dieu merci pour tout.



Dédicaces

Avec tout mon amour éternel et avec l'intensité de mes émotions je dédie ce mémoire

À mes parents

À ceux qui m'ont inculqué les valeurs d'ambition et de patience, et qui m'ont offert un amour et un soutien sans faille, ce succès n'est pas seulement le fruit de mes efforts, mais aussi le prolongement de vos sacrifices et de votre confiance en moi. Que Dieu vous protège et prenne soin de vous.

Et à mes chers frères, chacun nommément

Merci pour votre amour et votre soutien sincères, qui m'ont accompagné en silence et m'ont donné le sentiment d'appartenir à une famille. Merci du fond du cœur.

À ma sœur d'esprit et amie de cœur, Marwa

Tu as toujours été mon meilleur soutien par ton amour sincère et ta présence merveilleuse à chaque instant de mon

Mémoire

À la Palestine

Malgré les ténèbres, la lumière doit apparaître... et l'aube de la liberté se lèvera inévitablement sur votre terre pure.

zahra

Remerciement

On remercie dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé
et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.

Nous tenons à exprimer notre sincère gratitude envers Dr Kadi Imededdine
pour son soutien inestimable, son expertise et
sa patience tout au long de la réalisation de ce mémoire. Ses
conseils éclairés, sa disponibilité et son engagement ont
grandement enrichi cette expérience de recherche. Nous
sommes reconnaissants pour sa précieuse contribution qui a été
déterminante dans la réussite de ce travail.

Nos adressons nos vifs remerciements aux membres des jurys
pour avoir bien voulu
examiner et juger ce travail

Nos remerciement s'adresse également à tout nos professeurs
pour leurs générosités dans tout au long de notre parcours.

Leurs enseignements nous ont guidés et inspirés dans la
réalisation de ce mémoire.

notre développement personnel et professionnel.

A toutes et à tous qui, de loin ou de près, ont contribué à la
réalisation de ce mémoire.

RESUME

Depuis son isolement initial chez l'homme, *Helicobacter cinaedi* a attiré une attention croissante en microbiologie clinique en raison de sa capacité à provoquer des infections systémiques, en particulier chez les personnes immunodéprimées. Cette bactérie, appartenant à la famille des Helicobacteraceae, représente une menace émergente nécessitant le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques.

L'objectif principal de cette thèse était la conception d'un vaccin thérapeutique innovant ciblant *H. cinaedi*. Pour ce faire, une approche immunoinformatique a été adoptée afin de concevoir un vaccin multi-épitopique fondé sur les caractéristiques génétiques et antigéniques de la bactérie. Cette stratégie génotypique vise à induire une réponse immunitaire robuste, spécifique et durable.

À travers des analyses protéomiques approfondies, trois protéines candidates ainsi qu'un récepteur immunitaire ont été identifiés comme cibles vaccinales prometteuses. Ces protéines présentent une forte antigénicité et immunogénicité, tout en affichant une faible toxicité et une faible allergénicité, critères essentiels pour un vaccin sûr et efficace. Des épitopes capables d'être reconnus par les lymphocytes B et T ont été prédits à partir de ces protéines.

Par ailleurs, les études de modélisation moléculaire ont révélé des interactions stables entre les épitopes sélectionnés et les récepteurs du système immunitaire, renforçant l'hypothèse qu'un vaccin basé sur ces cibles pourrait déclencher une réponse immunitaire efficace contre *H. cinaedi*. Ces résultats ouvrent la voie au développement de vaccins thérapeutiques rationnels contre les infections opportunistes causées par cette espèce.

Mots clés : vaccin multi épitope, *Helicobacter cinaedi*, l'immuthérapie, Immuno informatique, maladies infectieuses

ABSTRACT

Since its initial isolation in humans, *Helicobacter cinaedi* has attracted increasing attention in clinical microbiology due to its ability to cause systemic infections, particularly in immunocompromised individuals. This bacterium, belonging to the Helicobacteraceae family, represents an emerging threat requiring the development of new therapeutic strategies.

The primary objective of this thesis was to design an innovative therapeutic vaccine targeting *H. cinaedi*. To achieve this, an immunoinformatics approach was adopted to design a multi-epitope vaccine based on the genetic and antigenic characteristics of the bacterium. This genotypic strategy aims to induce a robust, specific, and long-lasting immune response.

Through in-depth proteomic analyses, three candidate proteins and an immune receptor were identified as promising vaccine targets. These proteins exhibit high antigenicity and immunogenicity, while displaying low toxicity and low allergenicity, essential criteria for a safe and effective vaccine. Epitopes capable of being recognized by B and T lymphocytes were predicted from these proteins.

Furthermore, molecular modeling studies revealed stable interactions between the selected epitopes and immune system receptors, strengthening the hypothesis that a vaccine based on these targets could trigger an effective immune response against *H. cinaedi*. These results pave the way for the development of rational therapeutic vaccines against opportunistic infections caused by this species.

Keywords: multi-epitope vaccine, *Helicobacter cinaedi*, immunotherapy, immunoinformatics, infectious diseases

ملخص

منذ عزلها الأولي لدى البشر، حظيت بكتيريا الملوية السينايدية باهتمام متزايد في علم الأحياء الدقيقة السريري نظرًا لقدرتها على التسبب في عدوى جهازية، وخاصة لدى الأفراد الذين يعانون من نقص المناعة. تُمثل هذه البكتيريا، التي تنتمي إلى عائلة الملوية السينايدية، تهديدًا ناشئًا يتطلب تطوير استراتيجيات علاجية جديدة.

كان الهدف الرئيسي من هذه الأطروحة هو تصميم لقاح علاجي مبتكر يستهدف بكتيريا الملوية السينايدية. ولتحقيق ذلك، تم اعتماد نهج المعلوماتية المناعية لتصميم لقاح متعدد النظم بناءً على الخصائص الجينية والمستضدية للبكتيريا. تهدف هذه الاستراتيجية الجينية إلى تحفيز استجابة مناعية قوية ومحددة وطويلة الأمد.

من خلال تحليلات بروتينية متعمقة، تم تحديد ثلاثة بروتينات مرشحة ومستقبل مناعي كأهداف واعدة للقاح. تتميز هذه البروتينات بقدرة استضدية ومناعة عالية، مع انخفاض سميتها وحساسيتها، وهما معياران أساسيان للقاح آمن وفعال. تم التنبؤ بالأجسام المضادة القادرة على التعرف عليها من قِبل الخلايا الليمفاوية البائية والتائية من هذه البروتينات. علاوة على ذلك، كشفت دراسات النمذجة الجزيئية عن تفاعلات مستقرة بين الأجسام المضادة المختارة ومستقبلات الجهاز المناعي، مما يعزز فرضية أن اللقاح القائم على هذه الأهداف يمكن أن يُحفز استجابة مناعية فعالة ضد *H. cinaedi*. تمهد هذه النتائج الطريق لتطوير لقاحات علاجية عقلانية ضد العدوى الانتهازية التي يسببها هذا النوع.

الكلمات المفتاحية: لقاح متعدد النمط، هيليكوباكتر سينايدية، العلاج المناعي، المعلوماتية المناعية، الأمراض المعدية

SOMMAIRE

<i>RESUME</i>	6
<i>ABSTRACT</i>	7
ملخص	8
<i>SOMMAIRE</i>	9
<i>List des abréviations</i>	12
<i>Liste des figures</i>	13
<i>Liste des tableaux</i>	14
<i>Introduction</i>	15
Introduction général.....	1
<i>Chapitre 01</i>	3
<i>Généralités sur les vaccin</i>	3
1. Historique de la vaccination.....	4
2. Principes fondamentaux du fonctionnement vaccinal	4
3. Classification des vaccins	5
4. Les nouvelles générations des vaccins	6
4.1 Les vaccins à base d'ADN.....	6
4.2. Les vaccins à base d'ARNm	7
5. Le vaccin multiépitopique.....	7
5.1. Généralités	7
5.2. Les principes de bases	7
5.3. Avantages des vaccins multiépitope	8
5.4. Méthodologies de conception.....	8
5.5. Applications médicales.....	9
5.6. Limites, défis et perspectives	9
<i>Chapitre02</i>	11
1. Généralités.....	12
2. Classification taxonomique	12
3. Propriétés biochimiques	13
4. Propriétés génomiques	13
5. Épidémiologie et populations à risque.....	14
6. Manifestations cliniques.....	14
7. Perspectives vaccinales	15

<i>Chapitre 03</i>	16
<i>Matériels et méthodes</i>	16
1. Récupération de protéomes complet de l'espèce d'intérêt.....	17
2. Identification du Core-Protéome.....	17
3. Détermination de la localisation cellulaire du core-protéome.....	18
4. Analyse de l'antigénicité des protéines.....	18
5. Analyse des hélices alpha transmembranaires.....	18
6. Analyse de l'allergénicité des protéines.....	19
7. Analyse de la toxicité des protéines.....	19
8. Analyse de l'homologie aux protéines humaines.....	19
9. La sélection des épitopes-LB.....	20
10. Epitopes stimulants LT-CMH-II (LTH).....	20
11. Epitopes stimulants LTc (LT-CMH I).....	20
12. La construction du vaccin.....	20
13. La modélisation 2D/3D du vaccin produit.....	21
14. Simulation de la réponse immunitaire.....	21
<i>Chapitre 04</i>	22
<i>Résultats et discussion</i>	22
1. Récupération des protéomes complets de H. Cinaedi.....	23
2. La détermination du core-protéome.....	24
3. La localisation cellulaire des protéines conservées.....	24
4. Evaluation de l'antigénicité des protéines d'intérêt.....	25
5. Analyse des hélices alpha transmembranaires.....	26
6. Evaluation de l'allergénicité.....	27
7. Analyse de la toxicité des protéines.....	28
8. Analyse de l'homologie aux protéines humaines.....	29
9. La sélection des épitopes-LB.....	30
9.1. La protéine : lipopolysaccharide assembly protein LapB.....	30
9.2. La protéine : flagellar filament capping protein FliD.....	31
9.3. La protéine : penicillin-binding protein 2 PBP2.....	32
10. Epitopes stimulants LT-CMH-II (LTH).....	32
10.1. La protéine : lipopolysaccharide assembly protein LapB.....	33
10.2. La protéine : flagellar filament capping protein FliD.....	33
10.3. La protéine : penicillin-binding protein 2 PBP2.....	33
11. Détermination des épitopes stimulants LTc (LT-CMH I).....	34
11.1 La protéine : lipopolysaccharide assembly protein LapB.....	34
11.2 La protéine : flagellar filament capping protein FliD.....	35

11.3. La protéine : penicillin-binding protein 2 PBP2.....	36
11. La construction du vaccin.....	37
12. Modélisation en 2D/3D de la Structure du vaccin.....	38
13. Simulation de la réponse immunitaire	40
14.1 La réponse immunitaire humorale	40
14.2 La réponse immunitaire cellulaire	41
<i>Conclusion</i>	43
<i>Conclusion</i>	44
<i>Références bibliographiques</i>	45

List des abréviations

Abréviation	Signification
ADN	Acide Désoxyribonucléique
ARNm	Acide Ribonucléique messenger
BLAST	Basic Local Alignment Search Tool
CMH	Complexe Majeur d'Histocompatibilité
CTL	Cytotoxic T Lymphocyte (Lymphocyte T cytotoxique)
GC	Guanine - Cytosine
HLA	Human Leukocyte Antigen
HTL	Helper T Lymphocyte (Lymphocyte T auxiliaire)
IEDB	Immune Epitope Database
Ig	Immunoglobuline
IN-SILICO	Réalisé par modélisation informatique
LB	Lymphocyte B
LTh	Lymphocyte T helper (via CMH-II)
LTc	Lymphocyte T cytotoxique (via CMH-I)
NCBI	National Center for Biotechnology Information
PBP2	Penicillin Binding Protein 2
PSORTb	Prediction of Protein Subcellular Localization Tool
SEM	Scanning Electron Microscopy (Microscopie Électronique à Balayage)
TLR	Toll-Like Receptor
TMR	TransMembrane Region (hélice alpha transmembranaire)
VaxiJen	Vaccine Antigenicity Prediction Server

Liste des figures

- Fig. II.01** Image SEM de l'espèce *Helicobacter cinaedi*
- Fig. IV.01** Arbre phylogénétique et densité des protéomes des souches étudiées de *H. cinaedi*
- Fig. IV.02** la localisation subcellulaire des protéines conservées
- Fig. IV.03** Analyse de l'antigénicité des protéines conservées
- Fig. IV.04** Analyse de TMR des protéines candidates
- Fig. IV.05** Analyse de l'allergénicité des protéines candidates
- Fig. IV.06** Analyse de la toxicité des protéines candidates
- Fig. IV.07** Sélection des protéines candidates selon l'homology humaine
- Fig. IV.08** La similarité humaine des protéines candidates
- Fig. IV.09** Analyse des épitopes LB de la protéine LapB
- Fig. IV.09** Analyse des épitopes LB de la protéine FliD
- Fig. IV.10** Analyse des épitopes LB de la protéine PBP2
- Fig. IV.11** Modélisation de la structure 2D du vaccin
- Fig. IV.11** Modélisation de la structure 3D du vaccin
- Fig. IV.12** Simulation de la réponse humorale du vaccin
- Fig. IV.13** Simulation de la réponse Cellulaire du vaccin
- Fig. IV.14** Simulation de la coordination de la réponse cellulaire

Liste des tableaux

Tab. II.01	taxonomie de <i>H. cinaedi</i>
Tab. IV. 01	les épitopes LB de la protéine FliD sélectionnés
Tab. IV. 02	les épitopes LB de la protéine PBP2 sélectionnés
Tab. IV. 03	les épitopes LTh de la protéine LapB sélectionnés
Tab. IV. 04	les épitopes LTh de la protéine FliD sélectionnés
Tab. IV. 05	les épitopes LTh de la protéine FliD sélectionnés
Tab. IV. 05	les épitopes LTc de la protéine LapB sélectionnés
Tab. IV. 07	les épitopes LTc de la protéine FliD sélectionnés
Tab. IV.08	les épitopes LTc de la protéine PBP2 sélectionnés
Tab. IV.09	Récapitulatif des épitopes sélectionnés
Tab. IV.10	Propriétés physico-chimiques du vaccin construit
Tab. IV.10	modèles de raffinement de la structure 3D

Introduction

Introduction général

Les maladies infectieuses représentent un enjeu majeur de santé publique à l'échelle locale et mondiale, tant par leur fréquence que par leur capacité à provoquer des épidémies et à franchir les frontières humaines et animales. Elles résultent de l'invasion de l'organisme par des agents pathogènes tels que les bactéries, les virus, les parasites ou les champignons, et peuvent se transmettre de diverses manières, notamment par contact direct, par vecteur ou par voie environnementale. Malgré les progrès de la médecine moderne, les maladies infectieuses demeurent responsables d'une part significative de la morbidité et de la mortalité. L'émergence de nouveaux agents pathogènes, la résistance croissante aux antibiotiques et la mondialisation des échanges renforcent la nécessité de stratégies innovantes pour la prévention et le contrôle de ces affections (McArthur, 2019) (Baker et al., 2022).

Parmi les agents pathogènes émergents, *Helicobacter cinaedi* occupe une place particulière. Cette bactérie à Gram négatif, appartenant à la famille des *Helicobacteraceae*, est de plus en plus reconnue comme responsable d'infections humaines variées, allant de la gastro-entérite à la cellulite, en passant par la bactériémie et des infections plus graves telles que l'ostéomyélite vertébrale ou les anévrismes infectés. Les infections à *H. cinaedi* sont souvent difficiles à diagnostiquer en raison de la discrétion des symptômes et de la difficulté à cultiver la bactérie par les méthodes conventionnelles. Les patients immunodéprimés ou ayant subi des interventions médicales sont particulièrement à risque, mais des cas sont également rapportés chez des sujets immunocompétents. L'augmentation de la résistance aux antibiotiques chez ce pathogène souligne l'urgence de développer des mesures préventives efficaces, au premier rang desquelles figure la vaccination (Oyama et al., 2012) (Izuta et al., 2023) (Ismail et al., 2022)

La vaccination s'est imposée au fil des décennies comme l'une des interventions les plus efficaces pour prévenir les maladies infectieuses et améliorer la santé mondiale. En stimulant le système immunitaire à reconnaître et à neutraliser de manière spécifique un agent pathogène, la vaccination permet non seulement de protéger l'individu vacciné, mais aussi de réduire la transmission au sein de la population, contribuant ainsi à l'immunité collective. Grâce à la vaccination, des maladies autrefois mortelles ou très fréquentes telles que la variole, la poliomyélite ou la diphtérie ont été éradiquées ou sont devenues rares dans de nombreuses régions du monde. Toutefois, la persistance de certains agents pathogènes, l'émergence de nouveaux variants et la limitation des vaccins traditionnels, notamment face à la variabilité antigénique, appellent à l'innovation en matière de conception vaccinale (Gebre et al., 2021) (Autran et al., 2017)

C'est dans ce contexte que la vaccination multiépitopes apparaît comme une solution prometteuse. Contrairement aux vaccins classiques, qui reposent sur l'utilisation de pathogènes entiers inactivés, atténués ou de protéines isolées, les vaccins multiépitopes sont conçus à partir de plusieurs fragments antigéniques (épitopes) sélectionnés pour leur capacité à induire une réponse immunitaire protectrice. Cette approche présente plusieurs

avantages, elle permet de cibler simultanément différentes parties du pathogène, d'induire des réponses immunitaires humorales et cellulaires robustes, de réduire les risques d'effets indésirables liés à des composants inutiles ou toxiques, et d'anticiper la variabilité génétique du micro-organisme. Les progrès de la bio-informatique et de la vaccinologie inverse facilitent aujourd'hui l'identification rapide des épitopes les plus pertinents à partir du génome du pathogène, ouvrant la voie à des vaccins personnalisés et adaptables (Ismail et al., 2022) (Gebre et al., 2021)

Ce projet fin d'étude qui est autour du développement d'un vaccin multiépitope contre *Helicobacter cinaedi* s'inscrit dans cette dynamique d'innovation. Récemment, des études de pan-génomique ont permis d'identifier, au sein du génome central de *H. cinaedi*, plusieurs protéines de surface essentielles et hautement antigéniques. À partir de ces cibles, des épitopes non allergènes, non toxiques et immunogènes ont été sélectionnés et assemblés pour construire une molécule vaccinale multiépitope. Cette approche vise à offrir une protection large et durable contre les infections à *H. cinaedi*, tout en limitant la dissémination de la bactérie et la propagation des déterminants de résistance aux antibiotiques.

Chapitre 01

Généralités sur les vaccins

1. Historique de la vaccination

La vaccination a profondément transformé notre rapport aux maladies infectieuses et représente l'une des plus grandes avancées de la santé publique. Bien avant l'apparition de la médecine moderne, des méthodes empiriques comme la variolisation étaient déjà pratiquées en Chine et en Inde au XVIII^e siècle pour protéger les populations contre la variole (Orenstein et al., 2017).

C'est en 1796 qu'Edward Jenner, un médecin anglais, réalise une expérience décisive en utilisant le virus de la vaccine bovine (cowpox), il parvient à immuniser un jeune garçon contre la variole humaine. Cette découverte marque le début de la vaccinologie moderne, en prouvant qu'une exposition contrôlée à un agent infectieux affaibli pouvait protéger efficacement contre une maladie grave (Riedel, 2005) (Hopkins, 2002).

Au XIX^e siècle, Louis Pasteur poursuit cette révolution en mettant au point des vaccins contre des maladies comme le choléra des poules, la maladie du charbon et la rage. Grâce à ses travaux sur l'atténuation des microbes, il ouvre la voie à la prévention de nombreuses infections (Hopkins, 2002).

De nos jours, la vaccination continue d'évoluer pour répondre aux défis sanitaires actuels. Le calendrier vaccinal s'est densifié et de nouvelles obligations sont apparues, et désormais obligatoire pour tous les nourrissons jusqu'à 2 ans, avec des campagnes de rattrapage recommandées jusqu'à 5 ans. La protection contre le pneumocoque est renforcée chez les seniors, tandis que la vaccination contre la coqueluche et le virus respiratoire syncytial (VRS) est élargie, notamment aux femmes enceintes et aux personnes âgées à risque. Par ailleurs, des avancées majeures ont été apparues avec l'arrivée imminente de vaccins à ARN messager personnalisés contre certains cancers, offrant de nouveaux espoirs pour la prévention et le traitement de maladies graves. Ces évolutions témoignent du dynamisme de la recherche et de l'adaptation constante des stratégies vaccinales pour mieux protéger toutes les générations (Krammer, 2020) (Pardi et al., 2018).

2. Principes fondamentaux du fonctionnement vaccinal

La vaccination repose sur le principe d'exposer le système immunitaire à un antigène affaibli, inactivé ou synthétique, afin de déclencher une réponse immunitaire sans provoquer la maladie. Cette exposition permet à l'organisme de développer des anticorps spécifiques et de générer des cellules mémoires, capables de réagir rapidement et efficacement lors d'un contact ultérieur avec le véritable agent pathogène (Pollard & Bijker, 2021) (Canoui & Launay, 2019).

Selon leur nature, les vaccins induisent des réponses immunitaires différentes. Les vaccins vivants atténués imitent de près l'infection naturelle, générant une forte réponse humorale et cellulaire, tandis que

les vaccins inactivés ou à sous-unités nécessitent souvent des adjuvants pour renforcer leur immunogénicité et peuvent requérir plusieurs doses pour assurer une protection durable. Les vaccins à ARN messager, plus récents, permettent aux cellules de produire elles-mêmes l'antigène ciblé, induisant ainsi une réponse immunitaire efficace. (Brochot, 2023)

L'efficacité d'un vaccin dépend de facteurs tels que l'âge, la maturité du système immunitaire, la présence d'anticorps maternels chez les nourrissons, et le respect du calendrier vaccinal. Un schéma de vaccination adapté, comprenant des doses de rappel, optimise la mémoire immunitaire et la protection à long terme contre les maladies infectieuses (Denis et al., 2022).

3. Classification des vaccins

Les vaccins se divisent en plusieurs catégories en fonction de leur composition, de leur capacité à induire une réponse immunitaire (immunogénicité) et de leur niveau de sécurité.

Les vaccins vivants atténués sont élaborés à partir de micro-organismes vivants dont la virulence a été réduite. Ils conservent la capacité de se répliquer faiblement dans l'organisme, ce qui permet de déclencher une réponse immunitaire robuste et durable, souvent proche de celle observée lors d'une infection naturelle. Généralement, une ou deux doses suffisent pour assurer une protection efficace, sans nécessité d'adjuvant (Pollard & Bijker, 2021).

En plus, les vaccins inactivés sont composés d'agents pathogènes tués ou de fragments purifiés (protéines, polysaccharides). Ils ne se répliquent pas dans l'organisme et nécessitent généralement plusieurs doses, ainsi que l'ajout d'adjuvants pour optimiser la réponse immunitaire. (Pollard & Bijker, 2021) (Li et al., 2022) Parmi eux, on distingue:

- Les vaccins entiers inactivés (ex. : polio injectable)
- Les vaccins à protéines purifiées ou recombinantes (ex. : hépatite B)
- Les vaccins polysaccharidiques purs ou conjugués (ex. : pneumocoque, méningocoque)
- Les vaccins à ARN messager (ex. : COVID-19)
- Les vaccins à vecteur viral (ex. : Ebola, COVID-19)

En parallèle, sous-unitaires ne contiennent que des fragments antigéniques spécifiques du pathogène, comme des protéines ou des polysaccharides. Les vaccins conjugués, qui associent un polysaccharide à une protéine porteuse, permettent d'induire une réponse immunitaire plus efficace, notamment chez le jeune enfant (Li et al., 2022).

Autres catégories technologiques peuvent être signalées comme Les vaccins à ARN messager ou ils introduisent un message génétique permettant à l'organisme de produire la protéine antigénique, stimulant ainsi la réponse immunitaire et Les vaccins à vecteur viral qui utilisent un virus inoffensif pour délivrer le gène codant pour l'antigène ciblé (Pardi et al., 2018)

4. Les nouvelles générations des vaccins

Les nouvelles générations de vaccins représentent une avancée majeure en vaccinologie, grâce à l'intégration de technologies innovantes qui visent à optimiser l'efficacité, accélérer le processus de développement et améliorer le profil de sécurité des vaccins. Ces approches modernes incluent notamment les vaccins à ARN messager, les vaccins à vecteur viral, ainsi que les vaccins à base de protéines recombinantes ou de nanoparticules. Ces plateformes permettent une adaptation rapide face à de nouveaux agents pathogènes et offrent des réponses immunitaires robustes, tout en réduisant les risques associés aux méthodes traditionnelles. Plusieurs études récentes, publiées dans des revues scientifiques de référence, confirment le potentiel de ces technologies pour répondre aux défis sanitaires actuels et futurs (Pardi et al., 2018) (Krammer, 2020) (Abioye et al., 2021)

4.1 Les vaccins à base d'ADN

Les vaccins à ADN constituent une avancée majeure dans le développement de nouvelles stratégies vaccinales. Ils reposent sur l'injection d'un plasmide d'ADN circulaire contenant un gène codant pour un antigène spécifique du pathogène ciblé. Une fois administré, cet ADN est capté par les cellules de l'hôte, où il doit atteindre le noyau pour être transcrit en ARN messager, puis traduit en protéine antigénique. Cette protéine est alors reconnue par le système immunitaire, induisant à la fois une réponse humorale (anticorps) et cellulaire (lymphocytes T), ce qui confère une protection contre la maladie (Pitard, 2019) (Lu et al., 2024)

Les vaccins à ADN présentent plusieurs avantages, ils sont faciles à produire, stables à température ambiante, et ne présentent pas de risque d'infection lié à l'utilisation d'agents pathogènes vivants ou inactivés. De plus, leur conception permet une adaptation rapide face à de nouveaux agents infectieux. Cependant, malgré des résultats prometteurs dans les modèles animaux, l'immunogénicité observée chez l'humain reste souvent inférieure à celle des autres plateformes vaccinales, principalement en raison de la difficulté à délivrer efficacement l'ADN dans les cellules cibles. Des innovations comme l'électroporation ou l'utilisation de vecteurs viraux ou non viraux sont actuellement à l'étude pour améliorer leur efficacité (Zhang et al., 2025)

4.2. Les vaccins à base d'ARNm

Les vaccins à ARN messenger (ARNm) représentent une innovation majeure dans la prévention des maladies infectieuses. Leur principe repose sur l'injection d'un brin d'ARNm codant pour un antigène spécifique du pathogène, généralement encapsulé dans des nanoparticules lipidiques pour en faciliter l'entrée dans les cellules. Une fois à l'intérieur, l'ARNm est traduit en protéine antigénique par la machinerie cellulaire, cette protéine est alors reconnue comme étrangère, déclenchant une réponse immunitaire à la fois humorale (anticorps) et cellulaire (lymphocytes T). Les vaccins à ARNm ne contiennent ni virus vivant ni adjuvant classique, ce qui limite les risques d'infection et permet un développement rapide face à de nouveaux agents pathogènes. Enfin, l'ingénierie de l'ARNm et l'optimisation des séquences non codantes ont permis d'augmenter la stabilité, l'expression des antigènes et la sécurité de ces vaccins, ouvrant la voie à de nouvelles générations de vaccins contre diverses maladies (Migus ,2022) (Sansonetti ,2023)

5. Le vaccin multiépitopique

5.1. Généralités

Les vaccins multiépitopes représentent une nouvelle génération de stratégies vaccinales, conçues pour induire une réponse immunitaire large et ciblée en combinant plusieurs épitopes issus de différents antigènes d'un même pathogène. Grâce aux avancées en bio-informatique et en immunoinformatique, la sélection rationnelle des épitopes B et T permet d'optimiser l'immunogénicité tout en minimisant les risques d'effets indésirables. Cette approche innovante s'est révélée particulièrement prometteuse contre des agents pathogènes complexes ou à forte variabilité antigénique, comme les virus émergents ou les bactéries multirésistantes, et ouvre la voie à des vaccins universels ou personnalisés. Les études récentes soulignent l'efficacité potentielle des vaccins multiépitope, tant en prévention des maladies infectieuses qu'en immunothérapie anticancéreuse, même si leur validation clinique reste un défi majeur (Shahid et al. ,2020)

5.2. Les principes de bases

Les vaccins multiépitope reposent sur le principe de combiner plusieurs épitopes immunogènes, issus de protéines différentes d'un agent pathogène, afin de susciter une réponse immunitaire large et ciblée. Cette approche utilise des outils de bio-informatique et d'immunoinformatique pour sélectionner des épitopes B et T capables d'induire à la fois une immunité humorale (anticorps) et cellulaire (lymphocytes T CD4+ et CD8+), tout en minimisant les risques d'allergénicité ou de toxicité. Les épitopes choisis sont ensuite assemblés dans une construction vaccinale unique, souvent associée à des adjuvants et des séquences linkers pour optimiser l'expression, la stabilité et la présentation des antigènes au système immunitaire. Des

analyses *in silico*, incluant la modélisation moléculaire et la simulation immunitaire, permettent d'évaluer la capacité du vaccin à interagir avec les récepteurs immunitaires (comme TLR4, MHC I et II) et à déclencher une réponse protectrice robuste et durable. Cette stratégie vise à couvrir une large diversité de variants et à offrir une protection universelle, notamment contre des pathogènes à forte variabilité antigénique (Deepthi et al. ,2025)(Sharma et al. ,2025)

5.3. Avantages des vaccins multiépitope

Les vaccins multiépitope présentent de nombreux avantages qui en font une approche particulièrement prometteuse pour la prévention et le contrôle des maladies infectieuses. Contrairement aux vaccins traditionnels, ils sont conçus pour inclure plusieurs épitopes issus de différentes régions antigéniques d'un pathogène, ce qui permet de stimuler à la fois des réponses immunitaires humorales (anticorps) et cellulaires (lymphocytes T CD4+ et CD8+), offrant ainsi une protection plus large et plus robuste contre des variants multiples ou des agents à forte variabilité antigénique. Cette stratégie permet également de réduire le risque d'effets indésirables, car la sélection précise des épitopes minimise l'exposition à des composants non essentiels ou potentiellement allergènes. Les vaccins multiépitope sont souvent associés à une faible charge antigénique, ce qui limite les réactions allergiques et améliore la tolérance vaccinale. De plus, l'intégration d'adjuvants et l'optimisation des séquences par bio-informatique renforcent l'immunogénicité et prolongent la durée de la protection. Enfin, la conception rationnelle et modulaire de ces vaccins, facilitée par les outils d'immunoinformatique, accélère leur développement et leur adaptation face à de nouveaux agents pathogènes, tout en permettant une couverture immunitaire étendue au sein de populations diversifiées (Chen, Li & Wang 2024)(Atanasova et al. 2024)

5.4. Méthodologies de conception

Brièvement, La conception des vaccins multiépitope repose sur une méthodologie intégrant des outils avancés de bio-informatique et d'immunoinformatique pour sélectionner et assembler des épitopes issus de différentes protéines d'un agent pathogène. Le processus débute par l'analyse des séquences protéiques du pathogène, généralement récupérées depuis des bases de données comme NCBI, suivie de la prédiction *in silico* des épitopes B, des lymphocytes T cytotoxiques (CTL) et des lymphocytes T auxiliaires (HTL) à l'aide de plateformes telles que l'IEDB ou des algorithmes spécialisés. Les épitopes sélectionnés sont évalués pour leur antigénicité, leur immunogénicité, leur conservativité, ainsi que l'absence de toxicité et d'allergénicité, afin de garantir une réponse immunitaire efficace et sécuritaire. Pour optimiser la présentation des antigènes, les épitopes sont reliés par des séquences linkers spécifiques et un adjuvant peut

être ajouté en N-terminal pour renforcer la réponse immunitaire. La structure finale du vaccin est ensuite modélisée et validée par des analyses de dynamique moléculaire, de docking avec les récepteurs immunitaires (MHC-I, MHC-II, TLR), et des simulations immunitaires, afin d'anticiper son efficacité et sa stabilité avant les validations expérimentales. Cette approche rationnelle permet de concevoir rapidement des vaccins ciblés, adaptés à une large couverture de population et à la variabilité antigénique des agents infectieux (Lu et al. 2024) (Huang et al. 2022)

5.5. Applications médicales

Les vaccins multiépitope constituent une approche innovante et prometteuse pour lutter contre les maladies virales émergentes et zoonotiques. Grâce à l'intégration de plusieurs épitopes issus de différentes protéines virales, ces vaccins sont capables de stimuler simultanément des réponses immunitaires humorales et cellulaires, offrant ainsi une protection étendue face à des virus hautement variables ou à fort potentiel de mutation. Les progrès en bio-informatique et en immunoinformatique ont permis de concevoir rapidement des vaccins multiépitope ciblant des agents pathogènes tels que le virus de la fièvre porcine africaine, le syndrome dysgénésique et respiratoire du porc (PRRSV), la fièvre aphteuse ou encore la variole du singe, avec des résultats encourageants en termes d'immunogénicité et de protection chez l'animal. Cette stratégie permet également de réduire la charge antigénique et le risque d'effets secondaires, tout en couvrant un large spectre de souches virales et en facilitant l'adaptation rapide à l'émergence de nouveaux variants. Enfin, des plateformes vaccinales combinant plusieurs antigènes de différents virus sont en cours de développement pour répondre aux défis posés par les zoonoses et les épidémies simultanées dans certaines régions du monde (Chen, Li & Wang .2024) (Waqas et al. 2023)

5.6. Limites, défis et perspectives

Malgré leur potentiel, les vaccins multiépitope font face à plusieurs limites et défis majeurs. Premièrement, la faible immunogénicité intrinsèque de nombreux peptides nécessite souvent l'ajout d'adjuvants puissants et l'optimisation des linkers pour renforcer la réponse immunitaire, mais l'utilisation non contrôlée de ces éléments peut nuire à l'efficacité vaccinale ou induire des effets indésirables. Deuxièmement, la prédiction *in silico* des épitopes, bien qu'accélégrant la conception, reste limitée par la variabilité des populations HLA et la complexité des interactions immunitaires. Les résultats obtenus par modélisation doivent impérativement être validés par des études *in vitro* et *in vivo*, car tous les épitopes prédits ne génèrent pas forcément la réponse escomptée chez l'humain ou l'animal(Shah,Rafiq & Woo .2024)(Alizadeh et al. 2022)

La couverture immunitaire universelle reste un défi, car la diversité génétique des populations humaines peut limiter l'efficacité de certains épitopes, et la sélection d'épitopes conservés doit être

soigneusement équilibrée pour éviter une perte d'immunogénicité. Par ailleurs, le passage de la conception informatique à la production à grande échelle soulève des questions de coût, de qualité, de stabilité (chaîne du froid) et de contrôle réglementaire, notamment dans les contextes de maladies émergentes ou de régions à ressources limitées. En plus, des défis éthiques et sociaux persistent, liés à l'acceptabilité des nouvelles technologies vaccinales et à l'accès équitable aux innovations (Oscherwitz, J. 2016). (Deepthi, V. et al. 2025).

Parallèlement, les perspectives sont encourageantes, l'intégration de l'intelligence artificielle, l'amélioration des plateformes de délivrance (nanoparticules, VLPs), et le développement de nouveaux adjuvants devraient permettre d'optimiser la sécurité, l'immunogénicité et la rapidité de développement des vaccins multiépitope, ouvrant la voie à des applications élargies contre des pathogènes variés et des cancers (Li, J. et al. 2025). (Nafiah, Z. et al. 2025).

Chapitre02
Présentation de la bactérie
H.cinaidi

1. Généralités

Le genre *Helicobacter* comprend une quarantaine d'espèces, dont la plus connue chez l'homme est *Helicobacter pylori*, principalement impliquée dans les infections gastriques. Toutefois, certaines espèces dites « entérohépatiques », telles que *Helicobacter cinaedi*, ont émergé comme agents pathogènes chez l'humain (Kawamura et al., 2014) *H. cinaedi* a été identifiée pour la première fois en 1984 à partir de prélèvements rectaux chez des hommes homosexuels présentant des symptômes intestinaux. Initialement classée comme une bactérie apparentée au genre *Campylobacter*, elle a ensuite été reclassée dans le genre *Helicobacter* à la suite d'analyses moléculaires. Depuis, des cas d'infection ont été rapportés chez des patients immunodéprimés, mais aussi chez des personnes immunocompétentes (Kawakami, 2014)

Sur le plan morphologique, *H. cinaedi* est une bactérie à Gram négatif, de forme spiralée, micro aérophile et mobile grâce à la présence de flagelles polaires. Contrairement à *H. pylori*, qui cible principalement le tractus gastrique, *H. cinaedi* est associée à des infections systémiques, telles que des bactériémies, des cellulites, des arthrites ou des méningites, avec une capacité d'invasion vasculaire marquée (Izuta et al., 2023)

2. Classification taxonomique

Le tableau ci-dessous (**Tab. II.01**) récapitule la classification taxonomique de *H. cinaedi* (Gotoh et al., 2022) (Voronina & Arapidi, 2024)

Tab. II.01 : taxonomie de *H. cinaedi*

Domaine	Bacteria
Phylum	Campylobacterota (syn. Pseudomonadota)
Classe	Epsilonproteobacteria
Ordre	Campylobacterales
Genre	<i>Helicobacter</i>
Espèce	<i>Helicobacter cinaedi</i>

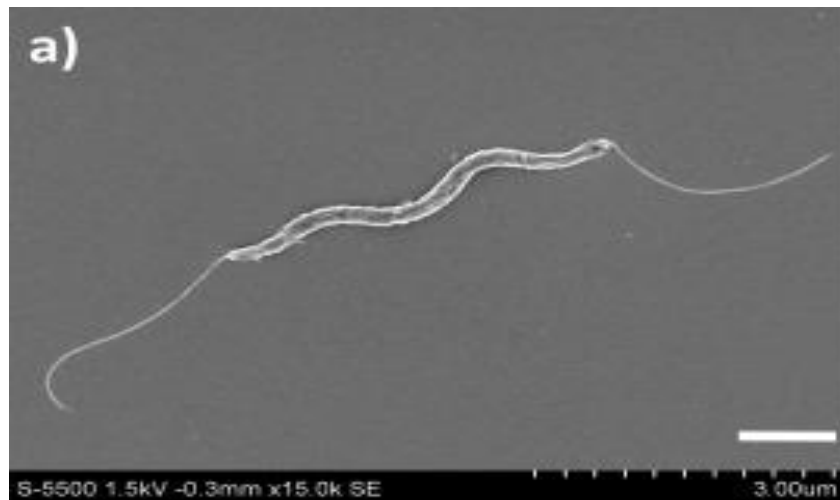


Fig. II.01 : Image SEM de l'espèce *Helicobacter cinaedi* (Holst et al., 2008)

3. Propriétés biochimiques

Helicobacter cinaedi se distingue par un profil biochimique particulier au sein du genre *Helicobacter*. Contrairement à *H. pylori*, cette espèce ne possède pas d'activité uréase, ce qui constitue un critère différentiel important pour l'identification en laboratoire. *H. cinaedi* est catalase positive, oxydase positive et nitrate réductase positive, mais elle est négative pour l'hydrolyse de l'indoxyl acétate, la phosphatase alcaline et la γ -glutamyl transpeptidase (Charoenlap et al., 2012). Sa croissance nécessite une atmosphère micro aéroophile, avec une température optimale autour de 35°C, la croissance à 25°C ou 42°C est généralement absente, bien que certaines souches puissent tolérer 42°C. Sur gélose au sang de mouton, les colonies apparaissent fines et non hémolytiques. Sur le plan métabolique, *H. cinaedi* utilise efficacement le L-lactate comme source d'énergie, ce qui favorise sa croissance, notamment en présence de cellules épithéliales ou en conditions aérobies sans hydrogène (Schmitz et al., 2016)

4. Propriétés génomiques

Helicobacter cinaedi possède un génome circulaire d'environ 2,24 millions de paires de bases, avec une teneur moyenne en GC de 38,3 % et environ 2 322 gènes codant pour des protéines, ainsi que 40 gènes d'ARNt couvrant tous les acides aminés et deux opérons ribosomiques. Le génome comprend aussi plusieurs éléments prophagiques, reflétant une histoire d'acquisitions horizontales (Voronina & Arapidi, 2024)

. Du point de vue des facteurs de virulence, le génome de *H. cinaedi* code notamment pour la toxine distendant les cellules (CDT), impliquée dans l'entérite, ainsi que pour la protéine CAIP (Cinaedi

Atherosclerosis Inflammatory Protein), un antigène majeur qui module la réponse immunitaire de l'hôte. Enfin, le gène *ahpC*, codant un alkyl hydroperoxide réductase, joue un rôle clé dans la défense contre le stress oxydatif et la capacité de colonisation intestinale (D'elios et al., 2017) (Charoenlap et al., 2012).

5. Épidémiologie et populations à risque

L'épidémiologie de *H. cinaedi* révèle une distribution mondiale, ce qui suggère une large dissémination du pathogène malgré sa difficulté de détection en routine. C'est un agent infectieux chez une grande variété de populations, touchant aussi bien les patients immunodéprimés (atteints de leucémie, cancers, insuffisance rénale, ou sous corticothérapie) que les personnes immunocompétentes (Araoka et al., 2018) (Kitamura et al., 2007). Les facteurs de risque les plus fréquemment identifiés incluent l'utilisation de stéroïdes, d'immunosuppresseurs, la présence de maladies chroniques (diabète, insuffisance rénale, pathologies hépatiques), et l'exposition à des traitements anticancéreux (Yamamoto et al., 2025). Néanmoins, des infections ont été rapportées chez des sujets sans immunodépression évidente, ce qui témoigne du potentiel pathogène de *H. cinaedi* dans la population générale. La transmission semble principalement endogène, via la translocation de la bactérie du tube digestif vers la circulation sanguine, mais des cas d'infection nosocomiale et communautaire ont également été décrits (Suzuki et al., 2019).

6. Manifestations cliniques

Les manifestations cliniques de l'infection à *H. cinaedi* sont variées et souvent non spécifiques, ce qui peut compliquer le diagnostic initial. La présentation la plus fréquente est la fièvre, qui peut survenir isolément ou s'accompagner d'autres symptômes tels que des douleurs articulaires, des myalgies ou des troubles digestifs comme la diarrhée, la gastro-entérite ou la proctite. Un signe distinctif, particulièrement en cas de bactériémie, est la survenue de lésions cutanées sous forme de cellulites superficielles, celles-ci se manifestent par des érythèmes douloureux ou des plaques érythémateuses infiltrées, le plus souvent localisées aux extrémités. Ces lésions cutanées, parfois associées à une forte fièvre, peuvent constituer un indice précoce d'infection à *H. cinaedi* dans un contexte nosocomial ou communautaire (Roupie et al., 2023) (Shimada et al., 2023). D'autres complications ont été rapportées, notamment des arthrites, des méningites, des érysipèles, des ostéomyélites, des anévrismes infectés et des infections de kystes viscéraux, en particulier chez les patients immunodéprimés, mais aussi chez des sujets immunocompétents (Izuta et al., 2023). La diversité des tableaux cliniques, allant de formes bénignes à des infections systémiques sévères, souligne l'importance de considérer *H. cinaedi* devant toute fièvre inexplicquée, surtout en présence de manifestations cutanées atypiques ou de facteurs de risque sous-jacents (Shimizu et al., 2013).

7. Perspectives vaccinales

Les perspectives vaccinales contre *H. cinaedi* sont actuellement en pleine émergence, portées par la nécessité de prévenir des infections récurrentes et de limiter la propagation de souches résistantes aux antibiotiques. Des travaux récents ont utilisé l'approche pangénomique et l'immunoinformatique pour identifier des cibles vaccinales potentielles au sein du génome cœur de *H. cinaedi*. Plusieurs protéines de surface essentielles (le récepteur dépendant de TonB, la protéine du crochet flagellaire FlgE, une protéine effectrice du système de sécrétion de type VI, et la protéine MotB du moteur flagellaire) ont été sélectionnées comme candidats vaccinaux, puis soumises à un criblage d'épitope pour concevoir un vaccin multi-épitopes (Ismail et al., 2022).

. Dans notre étude, on a adopté une analyse approfondie de protéomes de plusieurs souches afin de sélectionner des meilleures protéines candidates, et donc construire un vaccin multi-épitopique robuste qui génère une excellente réponse immunitaire, ce qui le rend applicables en santé humaine. Les chapitres III et IV montrent les différents détails méthodiques et les principaux résultats obtenus

Chapitre 03

Matériels et méthodes

1. Récupération de protéomes complet de l'espèce d'intérêt

La récupération des protéomes complets de *Helicobacter cinaedi* depuis la base de données NCBI a été réalisée via un script Python exécuté sur Google Colab le 14 avril 2025. Cette démarche automatisée a permis d'extraire l'ensemble des séquences protéiques annotées pour cette espèce. Le script Python exploite l'interface de programmation de NCBI via le module Biopython (National Center for Biotechnology Information (NCBI), 1988). Une requête ciblée a été construite pour :

- Identifier les entrées **protéiques complètes**
- Filtrer par organisme (*Helicobacter cinaedi*)
- Sélectionner les entrées avec statut "**reviewed**"

Chaque protéome a été stocké dans un fichier FASTA distinct, nommé selon son identifiant d'accès NCBI. Ensuite, les fichiers ont été enregistrés dans Google Drive via l'interface Colab.

Une approche intégrative a été adoptée pour évaluer les relations évolutives entre 62 souches de *Helicobacter cinaedi*, combinant des données protéomiques et des outils bio-informatiques. L'ensemble des étapes ont été exécuté par des scripts de python sur google colab.

- Utilisation de BLAST multiple pour comparer les protéomes et la génération d'une matrice de distances génétiques
- Application de l'algorithme Neighbor-joining pour produire le fichier Newick (.nwk)
- Visualisation des résultats obtenus sur iTOL

2. Identification du Coré-Protéome

Une analyse protéomique comparative a été réalisée sur les 62 souches de *H. cinaedi* afin d'identifier le noyau protéique conservé au sein de l'espèce. Cette étude s'appuie sur le logiciel BPGA (Bacterial Pan-Génome Analysis Tool), outil spécialisé pour l'exploration des génomes bactériens (Chaudhari, Gupta & Dutta, 2016).

Le pipeline analytique a suivi quatre étapes clés :

- Préparation du dataset : Agrégation des fichiers FASTA dans un répertoire structuré
- Clustering des protéines : Alignement multiple avec CD-HIT (seuil d'identité $\geq 70\%$)
- Calcul du Pan-Génome : Identification de protéines communes et spécifiques
- Extraction du coré protéique : Sélection de protéines présentes dans toutes les souches

3. Détermination de la localisation cellulaire du core-proteome

L'outil PSORTb v3.0.2 a été utilisé pour déterminer la localisation cellulaire des protéines conservées avec les paramètres par défaut pour les bactéries à Gram négatif. Les prédictions s'appuient sur:

- L'analyse des motifs signal et des domaines transmembranaires
- La composition en acides aminés
- L'homologie avec des protéines de localisation connue

Les données complètes sont récupérées, incluant les scores de prédiction et les motifs fonctionnels identifiés pour chaque protéine, et traitées à l'aide d'un script de python sur google colab (Salod & Mahomed, 2022). (Yu et al., 2010)

4. Analyse de l'antigénicité des protéines

L'outil VaxiJen est essentiel pour évaluer l'antigénicité des protéines candidates. Un seuil de 0,5 distingue les protéines antigéniques des non-antigéniques. Cet outil nous permettra d'analyser l'antigénicité des protéines et même les épitopes LB, LTh et LTc qui seront générés après la sélection des protéines d'intérêts. Cette analyse préalable garantit que les candidats vaccins multiépitopes ciblent exclusivement des régions antigéniques, optimisant ainsi leur efficacité immunologique. 2022(Mapping potential vaccine candidates)

5. Analyse des hélices alpha transmembranaires

L'outil TMHMM (Transmembrane Helices Hidden Markov Model) est utilisé pour analyser les hélices alpha transmembranaires des protéines candidates, une étape cruciale pour éliminer les cibles inadaptées à la formulation vaccinale. TMHMM prédit avec une précision de 97-98% la présence et la topologie des hélices transmembranaires dans les séquences protéiques, identifiant les protéines à hélices multiples comme non viables pour le développement vaccinal car difficiles à exprimer, purifier et cloner. Les candidats sélectionnés dans cette étude doivent présenter zéro ou une hélice transmembranaire pour garantir une production efficace et une réponse immunitaire optimale. Cette analyse préalable permet de filtrer les antigènes membranaires complexes au profit de protéines solubles mieux adaptées à la formulation multiépitopique (Salahlou et al., 2024) (Jaan et al., 2022)

6. Analyse de l'allergénicité des protéines

Dans la conception de vaccins multiépitopes, l'outil AlgPred est essentiel pour prédire et éviter les réponses allergéniques indésirables en analysant les protéines et les épitopes candidates. AlgPred intègre plusieurs approches bioinformatiques :

- Similarité avec des épitopes IgE connus pour identifier des régions à risque
- Recherche de motifs allergéniques via MEME/MAST
- Méthodes SVM basées sur la composition en acides aminés ou dipeptides
- Recherche BLAST contre des peptides représentatifs d'allergènes (ARPs)
- Une approche hybride combinant ces méthodes pour une précision accrue.

Cette analyse préalable garantit la sécurité des protéines vaccinales retenues en éliminant les risques d'hypersensibilité (Saha & Raghava, 2006) (Sundararaj et al., 2024)

7. Analyse de la toxicité des protéines

Dans la conception de vaccins multiépitopes, l'outil ToxinPred analyse la toxicité des protéines et épitopes candidats pour éliminer les séquences nocives, garantissant ainsi la sécurité du vaccin. Cette méthode prédit la toxicité peptidique via des approches multiples par la Recherche de motifs toxiques pour identifier des signatures structurales à risque et des Modèles d'apprentissage automatique et réseaux de neurones profonds basés sur la composition en acides aminés, atteignant une précision élevée. La version ToxinPred 3.0, offre une fiabilité supérieure grâce à son pipeline optimisé. Cette étape critique permet de retenir uniquement les composants non toxiques, compatibles avec une réponse immunitaire sûre et efficace (Rathore et al., 2024) (Sharma et al., 2025)

8. Analyse de l'homologie aux protéines humaines

L'analyse d'homologie aux protéines humaines est cruciale pour prévenir les réactions auto-immunes. Dans Cette étape, on utilise l'outil BLASTp en utilisant un script sur python pour comparer les séquences des protéines et épitopes candidats avec le protéome humain. Un seuil d'identité de 25% est appliqué, toute séquence dépassant ce seuil est rejetée pour éviter des réponses immunitaires contre les propres protéines de l'hôte. Cette validation garantit que le vaccin cible exclusivement des antigènes étrangers, éliminant les risques d'auto-immunité tout en optimisant la sécurité clinique (Yang, Bogdan & Nazarian, 2021) (Salahlou et al., 2024)

9. La sélection des épitopes-LB

Dans ce travail, la détermination des épitopes B (LB) repose sur l'outil bio-informatique insérée dans la base de données IDEB. Il permet d'identifier des séquences peptidiques inductrices d'une réponse anticorps. Les épitopes validés sont ensuite intégrés au vaccin via des *linkers* spécifiques (comme KK ou EAAAK), optimisant leur présentation au système immunitaire. Cette approche assure la sélection d'épitopes stables, antigéniques et compatibles avec une réponse humorale robuste (Dhanda et al., 2019) (Yin et al., 2023).

10. Epitopes stimulants LT-CMH-II (LTH)

La sélection des épitopes LT-CMH-II (LTH) via l'outil IEDB repose sur la prédiction de liaison aux molécules du complexe majeur d'histocompatibilité de classe II (CMH-II), essentielle pour activer les lymphocytes T auxiliaires (CD4+). L'IEDB utilise des algorithmes avancés comme NetMHCIIpan (version utilisée : 4.1 EL) pour prédire l'affinité des peptides aux allèles CMH-II. Le processus implique une sélection des allèles, prédiction de liaison et un filtrage rigoureux. Les épitopes retenus sont ensuite assemblés via des *linkers* (ex : AAY, GPGPG) pour optimiser la présentation aux cellules dendritiques et induire une réponse Th1/Th2 robuste (Fleri et al., 2017)(Srinivasan et al., 2022).

11. Epitopes stimulants LTc (LT-CMH I)

Dans la conception d'un vaccin multiépitope, l'outil IEDB permet d'identifier les épitopes LT-CMH-I en prédisant quels fragments protéiques se lient fortement aux molécules HLA de classe I, nécessaires à l'activation des lymphocytes T cytotoxiques (CD8+). Ce processus utilise des algorithmes avancés comme NetMHCpan pour analyser les séquences et sélectionner des peptides courts (8 à 14 acides aminés) présentant une forte affinité pour un large éventail d'allèles HLA-I. Seuls les épitopes présentant une forte antigénicité, une bonne immunogénicité, et étant non toxiques et non allergènes sont retenus. Ces épitopes sélectionnés sont ensuite assemblés et associés à des adjuvants pour optimiser leur présentation au système immunitaire, afin de déclencher une réponse CD8+ efficace et sûre contre l'agent pathogène ciblé (Yin et al., 2023)(Fleri et al., 2017).

12. La construction du vaccin

L'assemblage des épitopes candidats repose sur une stratégie structurée utilisant des *linkers* spécifiques pour garantir stabilité, flexibilité et reconnaissance immunitaire optimale. Les étapes clés comprennent la Connexion des épitopes B (des *linkers* KK ou GPGPG), les épitopes T cytotoxiques (CTL) (le linker AAY) et les épitopes T auxiliaires (HTL) (le linker GPGPG ou AAY). Ensuite, on passe à l'intégration d'adjuvant

(β -défensine) au N-terminal via un linker EAAAK pour amplifier l'immunogénicité. Cette architecture, validée par des tests *in silico*, permet de créer un vaccin compact, soluble et hautement immunogène (Dong et al., 2020).

13. La modélisation 2D/3D du vaccin produit

La modélisation 2D/3D via PSIPRED nous a permis de prédire la structure secondaire du candidat vaccinal, révélant la répartition des hélices alpha (α), brins bêta (β) et boucles (coils) dans sa séquence peptidique. Les données de PSIPRED guident ensuite la modélisation 3D via l'outil I-TASSER, permettant d'optimiser la conformation spatiale pour une reconnaissance immunitaire optimale (Yang, Bogdan & Nazarian, 2021).

14. Simulation de la réponse immunitaire

La stimulation *in silico* de la réponse immunitaire a été faite par l'outil C-ImmSim, un simulateur immunologique basé sur des agents qui modélise la réponse immunitaire humaine aux antigènes. Cette simulation implique:

- Protocole d'administration : Trois injections virtuelles espacées (jours 1, 30, 60) du candidat vaccinal
- Dynamique cellulaire : Suivi des populations de lymphocytes B (production d'IgM/IgG), lymphocytes T (activation CTL et HTL), cellules dendritiques et macrophages.
- Profils cytokiniques : Mesure des cytokines pro-inflammatoires (IFN- γ , IL-2, IL-12) et anti-inflammatoires (TGF- β , IL-10), avec une forte production d'IFN- γ caractéristique d'une réponse Th1 robuste.
- Réduction antigénique : Diminution significative de l'antigène circulant dès le 3^e jour post-injection, associée à une expansion des cellules mémoire.

Ces prédictions permettent d'optimiser la formulation vaccinale avant les tests *in vivo* (Motamedi et al., 2023) (Yun et al., 2024)

Chapitre 04

Résultats et discussion

Cet arbre phylogénétique représente les relations évolutives entre différentes souches de *Helicobacter cinaedi*. On observe que les souches se regroupent en plusieurs clusters colorés, suggérant une diversité génétique notable au sein de l'espèce. Certains groupes sont composés de souches très proches, indiquant une origine commune récente, tandis que d'autres branches montrent une divergence plus ancienne. Ce type d'arbre permet de visualiser la proximité ou l'éloignement évolutif entre les différentes souches, ce qui est essentiel pour comprendre l'épidémiologie, la dynamique de transmission et potentiellement l'adaptation de *H. cinaedi* à différents environnements ou hôtes.

Concernant la distribution de protéines chez **62** souches de *H. cinaedi*. On observe une variation du nombre de protéines entre les souches, allant d'environ **1710** à **2408** protéines. La majorité des souches présente un nombre de protéines relativement stable autour de **2140** à **2160**, tandis que quelques souches se distinguent par des valeurs nettement plus basses ou plus élevées. Cette diversité suggère des différences dans le contenu génétique, probablement liées à des adaptations spécifiques ou à des événements d'acquisition ou de perte de gènes au cours de l'évolution de ces souches.

2. La détermination du core-proteome

L'analyse des protéines conservées chez *Helicobacter cinaedi* a identifié **1303** protéines conservées présentes dans les 62 souches étudiées. Ces résultats, issus d'une analyse protéomique comparative via le logiciel BPGA, révèlent le cœur fonctionnel essentiel à la survie et à l'adaptation de cette espèce bactérienne. Cette coré protéique représente des cibles potentielles pour thérapies antibactériennes largement efficaces, une base pour étudier l'évolution génomique chez *H. cinaedi* ou bien des marqueurs de virulence conservés malgré la diversité des souches.

3. La localisation cellulaire des protéines conservées

L'analyse de localisation cellulaire des **1303** protéines conservées chez *les souches étudiées*, réalisée avec l'outil **PSORTb**, a révélé une répartition distincte selon les compartiments cellulaires. Cette caractérisation fonctionnelle permet d'identifier les processus biologiques prioritaires pour cette espèce. **Fig. IV.02**

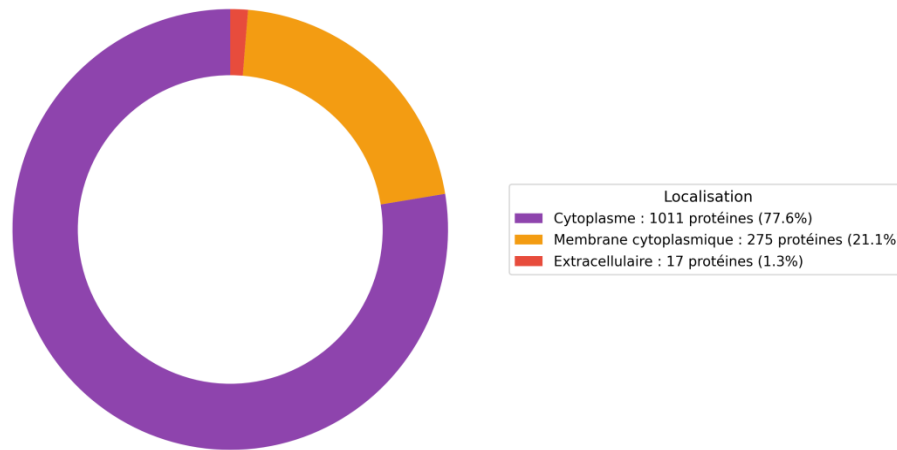


Fig. IV.02 : la localisation subcellulaire des protéines conservées

Dans le cadre de notre conception d'un vaccin multi-épitope, l'accent est mis sur les **292** protéines (**22,4 %**) membranaires et extracellulaires, car ces dernières sont plus accessibles au système immunitaire et représentent donc de meilleures cibles pour l'induction d'une réponse immunitaire protectrice. Ce choix méthodologique est cohérent avec les stratégies vaccinales modernes, qui privilégient les antigènes exposés à la surface bactérienne pour maximiser l'efficacité du vaccin.

4. Evaluation de l'antigénicité des protéines d'intérêt

L'outil web VaxiJen permet d'analyser l'antigénicité des protéines, ce qui est un critère clé dans l'identification de protéines potentiellement pathogènes ou utilisables comme cibles vaccinales. Avec un seuil de pathogénicité de **0,5**, La majorité des scores se situent entre **0,3** et **0,7**, indiquant une prédominance de protéines modérément antigéniques. La courbe de tendance suggère une répartition proche de la normale autour de la valeur moyenne. Nos résultats ont montré **234** protéines qui présentent un potentiel antigénique suffisant pour être considérées comme susceptibles d'induire une réponse immunitaire, tandis que **58** n'ont pas atteint ce seuil et sont donc considérées comme non antigéniques. **Fig. IV.03**

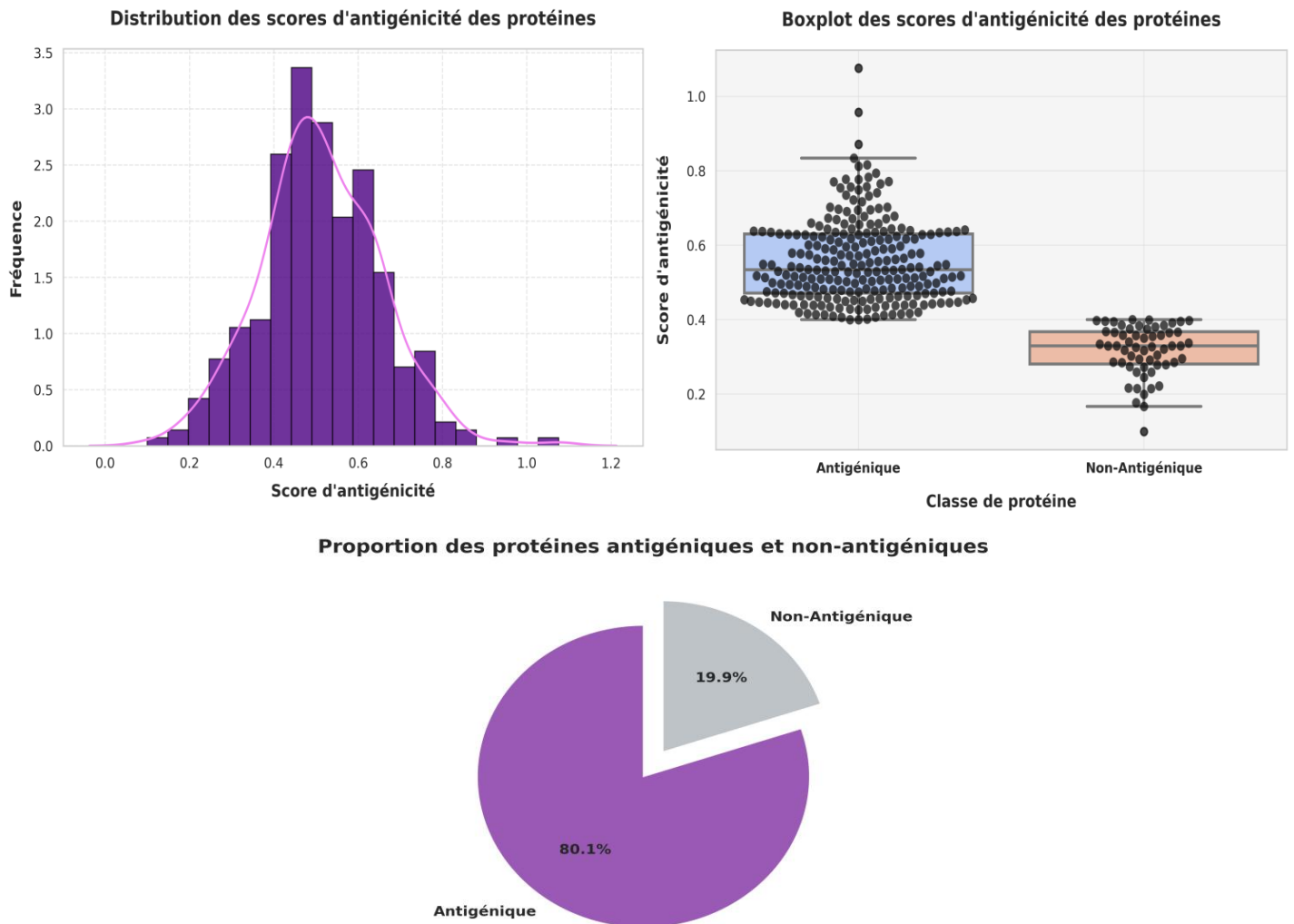


Fig. IV.03 : Analyse de l'antigénicité des protéines conservées

5. Analyse des hélices alpha transmembranaires

L'analyse des hélices alpha transmembranaires (TMR) révèle des informations cruciales pour la conception de vaccins multi-épitopes. Les résultats montrent une distribution bimodale des protéines, **72,3%** possèdent plus d'une région transmembranaire, tandis que **27,7%** en ont une ou aucune. Cette répartition est particulièrement significative car les protéines transmembranaires constituent des cibles vaccinales privilégiées en raison de leur exposition à la surface cellulaire, les rendant accessibles au système immunitaire de l'hôte. Les hélices alpha transmembranaires sont ancrées dans la membrane par des liaisons hydrophobes entre les chaînes latérales d'acides aminés et les lipides membranaires, formant des structures stables qui peuvent servir d'épitopes conservés. Dans le contexte du développement vaccinal, les protéines avec un nombre modéré représentent un compromis optimal, elles sont suffisamment exposées pour être

reconnues par les anticorps tout en conservant une stabilité structurale nécessaire à la présentation antigénique. L'ensemble des résultats de cette partie est organisé dans la figure **Fig. IV.04**

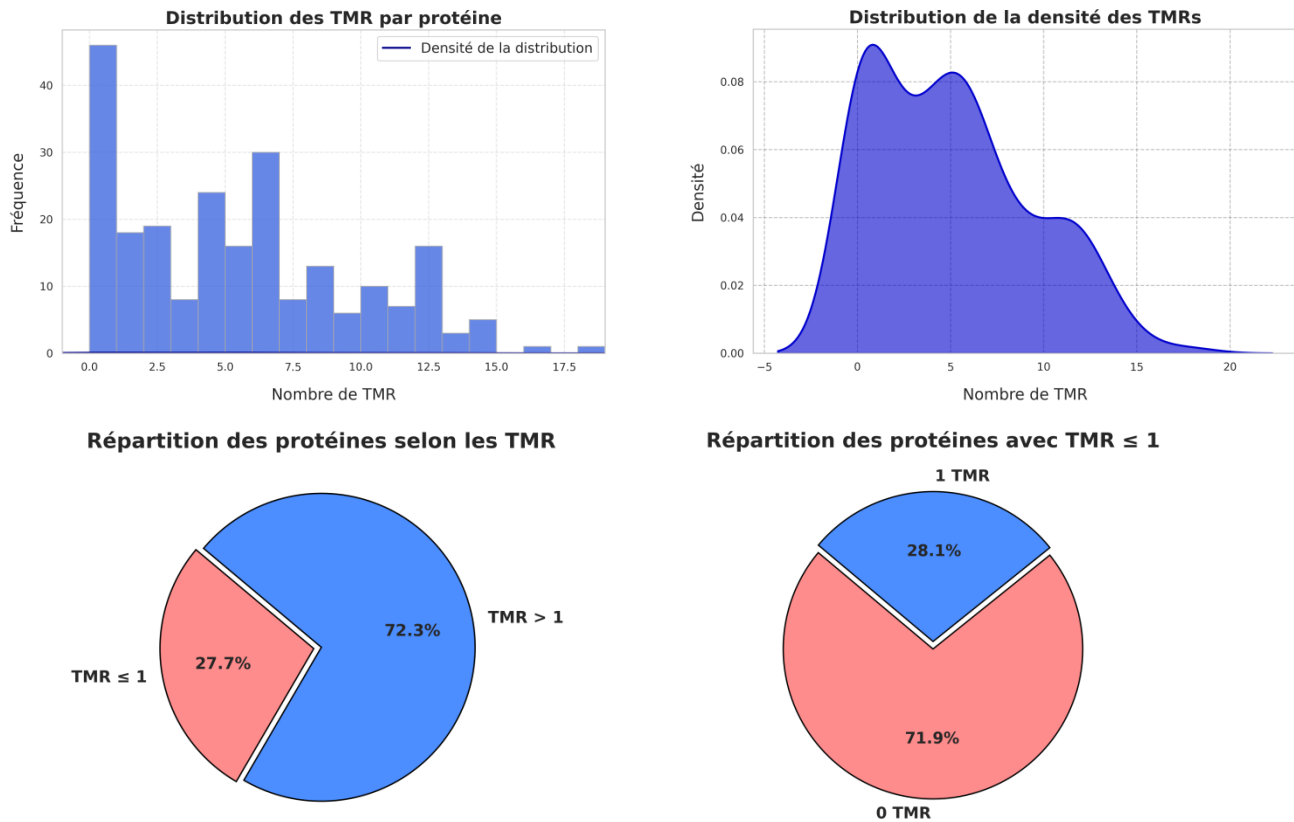


Fig. IV.04 : Analyse de TMR des protéines candidates

6. Evaluation de l'allergénicité

En continuant le parcours de sélection, l'analyse de l'allergénicité des protéines candidates, illustrée par la figure **Fig. IV.05**, met en évidence que la grande majorité des protéines sélectionnées (**84,4 %**) sont prédites comme non allergènes, tandis que seulement **15,6 %** présentent un potentiel allergène. Cette répartition est favorable dans le contexte du développement d'un vaccin multi-épitope, car l'utilisation de protéines non allergènes réduit significativement le risque d'effets indésirables chez l'hôte. Les courbes de densité des scores hybrides, MERCI et ML montrent une bonne séparation entre les classes «allergène» et «non-allergène», confirmant la robustesse des outils de prédiction utilisés ou les non-allergènes se concentrent autour de scores faibles ou négatifs, tandis que les allergènes affichent des scores plus élevés, avec un chevauchement minimal.

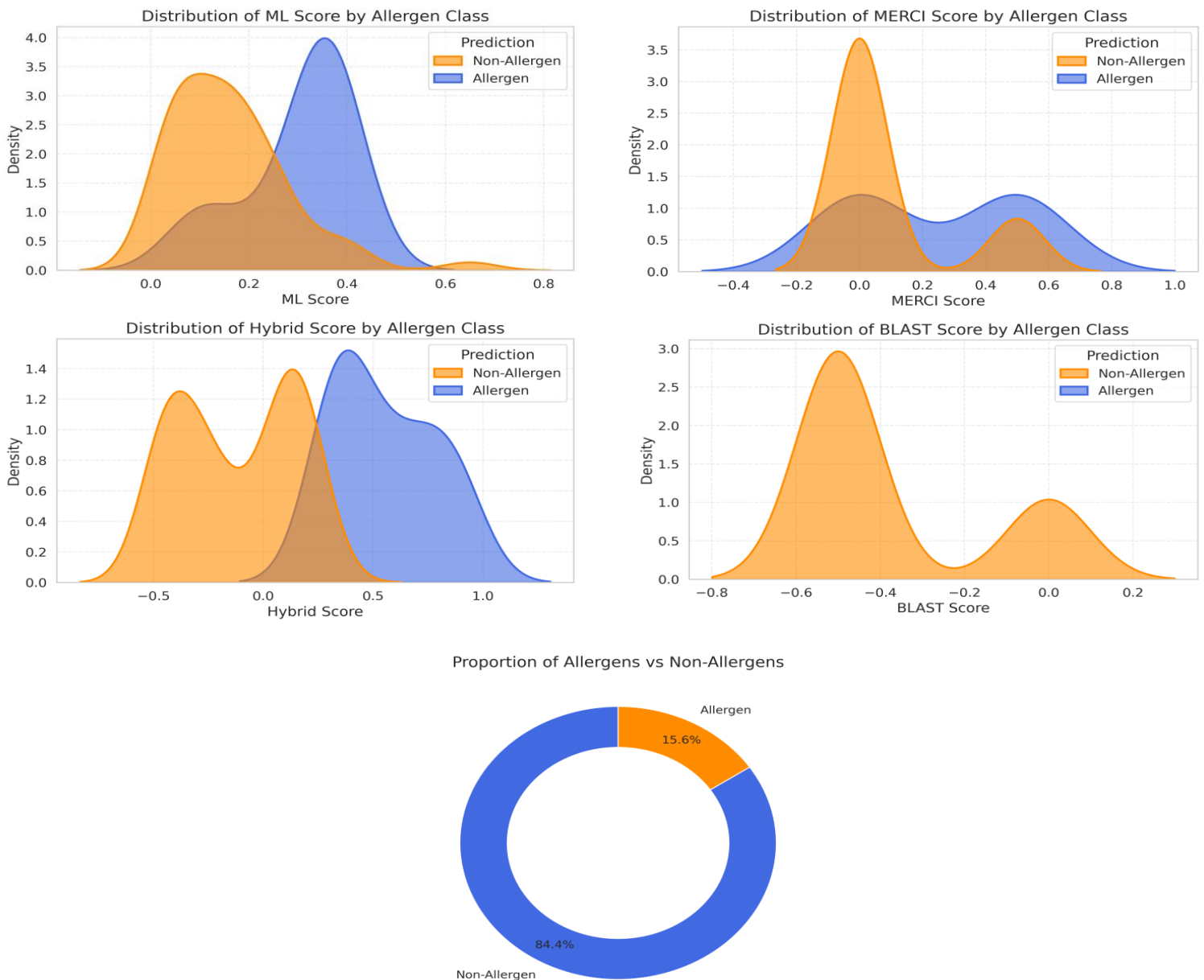


Fig. IV.05 : Analyse de l'allergénicité des protéines candidates

7. Analyse de la toxicité des protéines

L'analyse de la toxicité des protéines candidates, montrée par la figure Fig. IV.06, révèle que sur les 55 protéines testées, 49 (89,1 %) sont classées comme non toxiques, tandis que seulement 6 (10,9 %) présentent un potentiel toxique. Ce résultat indique que la grande majorité des protéines sélectionnées ne présentent pas de risque de toxicité pour l'hôte. L'exclusion des protéines toxiques à ce stade permet d'améliorer la sécurité du vaccin multi-épitope, en réduisant la probabilité d'effets indésirables liés à la

toxicité. Ainsi, la sélection finale pourra se concentrer sur des antigènes à la fois immunogènes, non allergènes et non toxiques, optimisant le profil de sécurité du candidat vaccin.

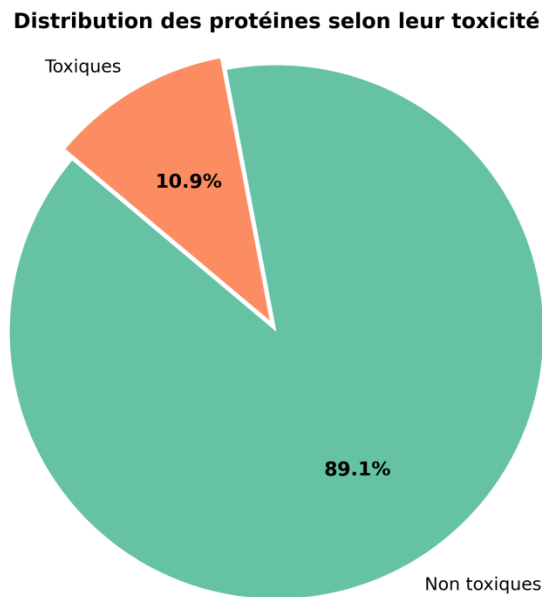


Fig. IV.06 : Analyse de la toxicité des protéines candidates

8. Analyse de l'homologie aux protéines humaines

La sélection des protéines pour un vaccin repose sur leur similarité avec les protéines humaines, seules celles ayant une similarité inférieure à **25 %** sont retenues, ce qui permet de minimiser les risques de réactions indésirables.

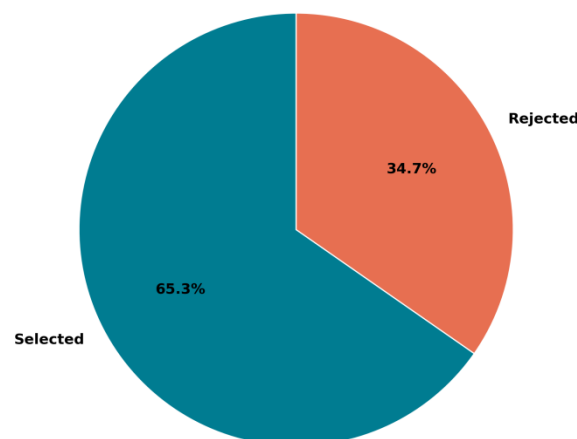


Fig. IV.07 : Sélection des protéines candidates selon l'homologie humaine

Dans cette partie, les deux figures **Fig. IV.07** et **Fig. IV.08** montrent que **65,3 %** des protéines candidates ont été sélectionnées contre **34,7 %** rejetées, illustrant une stratégie qui privilégie la sécurité tout en conservant une diversité antigénique suffisante

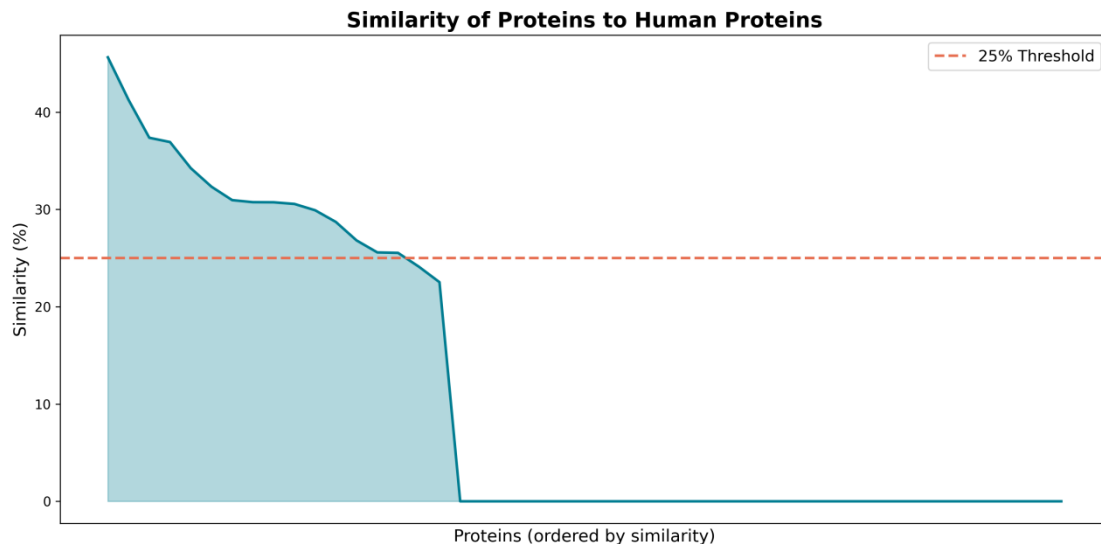


Fig. IV.08 : la similarité humaine des protéines candidates

9. La sélection des épitopes-LB

La détermination des épitopes B est cruciale dans la conception de vaccins multiépitopes car ces régions antigéniques stimulent directement la production d'anticorps neutralisants, clés de l'immunité humorale. En intégrant plusieurs épitopes B, on évite les échecs immunitaires liés à une réponse insuffisante tout en ciblant divers antigènes pathogènes pour une protection élargie. Leur sélection rigoureuse permet aussi de minimiser les risques d'allergénicité et de garantir une présentation optimale aux lymphocytes B, renforçant l'efficacité du vaccin. Dans notre travail, trois protéines sont sélectionnées pour préparer les déterminants antigéniques.

9.1. La protéine : lipopolysaccharide assembly protein LapB

37 épitopes ont été générés dont 36 sont allergènes et un qui ne répond pas aux normes

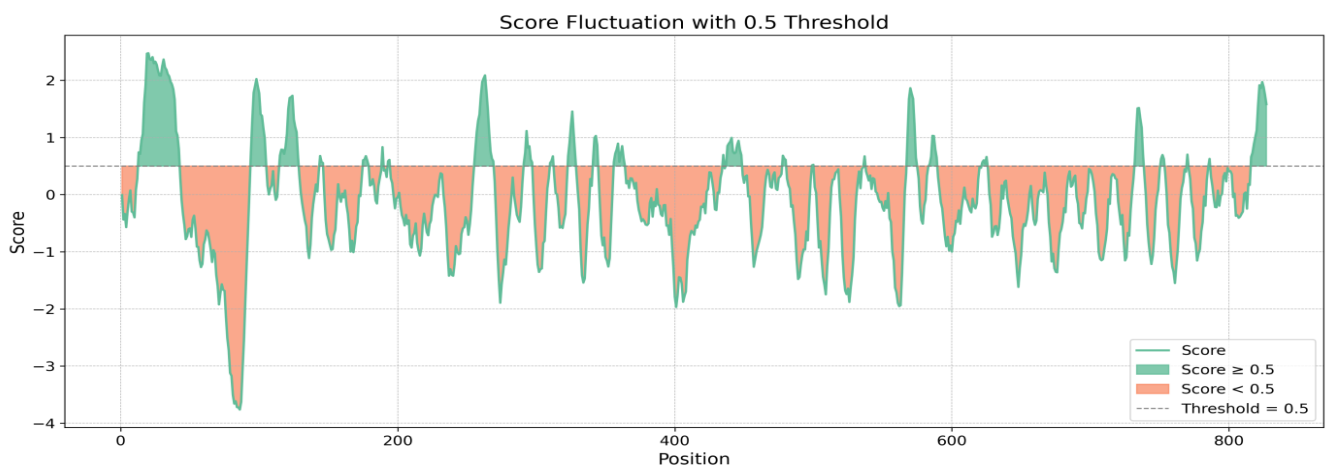


Fig. IV.09 : Analyse des épitopes LB de la protéine LapB

9.2. La protéine : flagellar filament capping protein FliD

40 épitopes différents ont été identifiés dont 4 répondent aux critères de sélection (Fig. IV.10) et (Tab. IV.01)

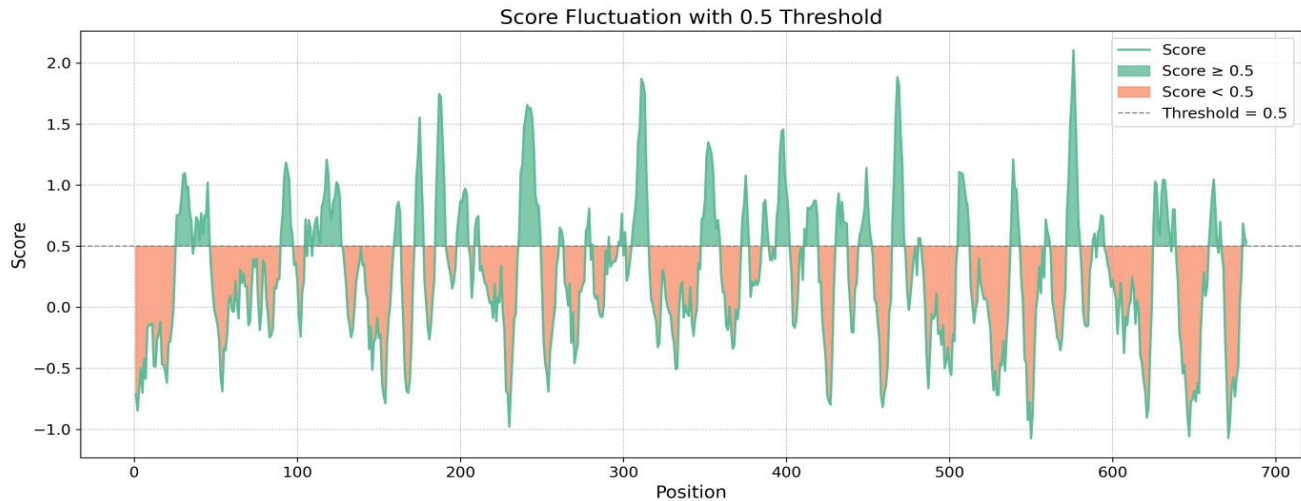


Fig. IV.09 : Analyse des épitopes LB de la protéine FliD

Tab. IV. 01 : les épitopes LB de la protéine FliD sélectionnés

Principaux épitopes	Début	Fin	Longueur	Score
RKADESTHIDPIDKKIEQNVEK	25	46	22	0.756
VATSDINEIGSKYESRESAFSQKD	105	128	24	0.7258
KDTGESSR	185	192	8	1.124
TRYDEDSK	505	512	8	0.898

Peptide	Antigénicité	Allergénicité	Toxicité	Blastp-HS
RKADESTHIDPIDKKIEQNVEK	0.9435	Non	Non	0.0%
VATSDINEIGSKYESRESAFSQKD	0.8417	Non	Non	0.0%
KDTGESSR	1.9672	Non	Non	0.0%
TRYDEDSK	0.9378	Non	Non	0.0%

9.3. La protéine : penicillin-binding protein 2 PBP2

31 épitopes différents ont été identifiés dont un seul répond aux critères de sélection (**Fig. IV.10**) et (**Tab. IV.02**)

Tab. IV. 02 : les épitopes LB de la protéine **PBP2** sélectionnés

Principaux épitopes	Début	Fin	Longueur	Score
KANDNDIQKNPLSQ	169	182	14	0.994

Peptide	Antigénicité	Allergénicité	Toxicité	Blastp-HS
KANDNDIQKNPLSQ	0.9763	Non	Non	0.0%

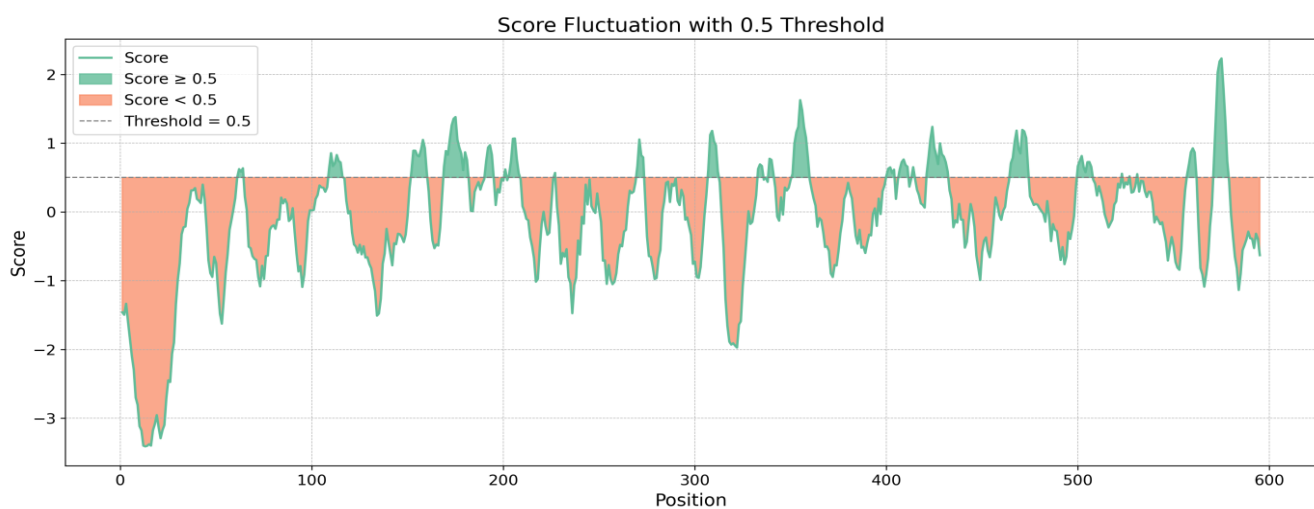


Fig. IV.10 : Analyse des épitopes LB de la protéine PBP2

10. Epitopes stimulants LT-CMH-II (LTH)

En parallèle, La détermination des épitopes LTh (présentés par le CMH II) est fondamentale, ces régions spécifiques activent les lymphocytes T helper (CD4+), qui orchestrent la réponse immunitaire en stimulant la production d'anticorps par les lymphocytes B et en favorisant la génération de mémoire immunitaire, garantissant ainsi une protection durable et une réponse coordonnée contre l'agent pathogène ciblé.

En considérant les trois protéines sélectionnées, les critères de détermination des épitopes stimulants LTh sont les suivants :

- Score < 50 nM : épitopes à forte affinité.
- Rank (%) < 2 : épitopes fortement liés (high binders).
- L'épitope doit être conservé dans plusieurs souches (analyse de conservation).
- L'épitope doit être reconnu par ≥ 3 allèles HLA (épitope promiscuous).
- L'épitope doit avoir un score d'immunogénicité positif.
- L'épitope doit être non toxique
- L'épitope doit être non allergène

- L'épitope doit être situé en surface et exposé
- Les propriétés physico-chimiques doivent être favorables

10.1. La protéine : lipopolysaccharide assembly protein LapB

Les épitopes LTh sélectionnés de la protéine LapB sont organisés dans le tableau **Tab. IV.03**

Tab. IV. 03 : les épitopes LTh de la protéine **LapB** sélectionnés

Peptide	Début	Fin	Taille	Rank	Score	Couverture HLA
FIRAYHLDNNNTMAG	27	41	15	0,06	0,9516	
IRAYHLDNNNTMAGI	28	42	15	0,07	0,9469	
EEVINLDENLEIEDS	3	17	15	0,08	0,9242	

Peptide	Antigénicité	Allergénicité	Toxicité	Blastp-HS
FIRAYHLDNNNTMAG	0.6690	Non	Non	0.0%
IRAYHLDNNNTMAGI	0.6227	Non	Non	0.0%
EEVINLDENLEIEDS	0.5365	Non	Non	0.0%

10.2. La protéine : flagellar filament capping protein FliD

Les épitopes sélectionnés de la protéine FliD sont organisés dans le tableau **Tab. IV.04**

Tab. IV. 04 : les épitopes LTh de la protéine **FliD** sélectionnés

Peptide	Début	Fin	Taille	Rank	Score	Couverture HLA
VKYGLALDEKKGKMSL	8	22	15	0,07	0,9596	
LVKYGLALDEKKGKMS	7	21	15	0,10	0,9512	

Peptide	Antigénicité	Allergénicité	Toxicité	Blastp-HS
VKYGLALDEKKGKMSL	0.6253	Non	Non	0.0%
LVKYGLALDEKKGKMS	0.5053	Non	Non	0.0%

10.3. La protéine : penicillin-binding protein 2 PBP2

Les épitopes sélectionnés de la protéine PBP2 sont organisés dans le tableau **Tab. IV.05**

Tab. IV. 05 : les épitopes LTh de la protéine **FliD** sélectionnés

Peptide	Début	Fin	Taille	Rank	Score	Couverture HLA
GEAGYRKSQINSLYK	22	36	15	0,11	0,8368	

Peptide	Antigénicité	Allergénicité	Toxicité	Blastp-HS
GEAGYRKSQINSLYK	0.5292	Non	Non	0.0%

11. Détermination des épitopes stimulants LTc (LT-CMH I)

Les séquences peptidiques reconnues par les lymphocytes T cytotoxiques (CD8+) jouent un rôle clé dans l'immunité cellulaire en identifiant et détruisant spécifiquement les cellules infectées par des agents pathogènes, leur sélection permet donc d'induire une réponse cytotoxique ciblée, indispensable pour éliminer efficacement les cellules porteuses de l'antigène et renforcer la protection globale conférée par le vaccin.

Les critères considérés durant la sélection des CMH I épitopes sont :

- Percentile rank $\leq 2\%$
- Score de liaison élevé
- Le score est souvent normalisé de 0 à 1 ; un score > 0.9 est considéré comme excellent.
- Diversité des allèles HLA : Assurer une couverture populationnelle en gardant une diversité d'allèles.
- Redondance minimale

11.1 La protéine : lipopolysaccharide assembly protein LapB

Les épitopes sélectionnés de la protéine **LapB** sont organisés dans le tableau **Tab. IV.06**

Tab. IV. 05 : les épitopes LTc de la protéine **LapB** sélectionnés

Peptide	Début	Fin	Taille	Rank	Score	Couverture HLA
GEYTQAKQY	8	16	9	0.01	0.992336	
QENFWNRRF	24	32	9	0.01	0.974409	
FYYAPFLVF	44	52	9	0.01	0.951646	
AEMNFTNKL	7	15	9	0.01	0.939480	
KQRSSYERK	42	50	9	0.01	0.842398	
KVFDEYPIK	2	10	9	0.02	0.823917	
FYYAPFLVF	44	52	9	0.02	0.921156	
YTANQPLYSY	47	56	10	0.02	0.953769	
SLAAYNLGV	41	49	9	0.08	0.810301	
FALQMNIY	44	52	9	0.04	0.902699	
FEAKYALGL	51	59	9	0.07	0.890534	
SMEQSLATY	52	60	9	0.05	0.825644	

Peptide	Antigénicité	Allergénicité	Toxicité	Blastp-HS
GEYTQAKQY	0.5870	non	non	0.0%
QENFWNRRF	0.6379	non	non	0.0%
FYYAPFLVF	2.0836	non	non	0.0%
AEMNFTNKL	0.5526	non	non	0.0%
KQRSSYERK	1.5371	non	non	0.0%
KVFDEYPIK	1.1369	non	non	0.0%
FYYAPFLVF	2.0836	non	non	0.0%
YTANQPLYSY	0.6674	non	non	0.0%
SLAAYNLGV	1.0345	non	non	0.0%
FALQMNIY	1.7759	non	non	0.0%
FEAKYALGL	1.1632	non	non	0.0%
SMEQSLATY	0.5628	non	non	0.0%

11.2 La protéine : flagellar filament capping protein FliD

Les épitopes sélectionnés de la protéine **FliD** sont organisés dans le tableau **Tab. IV.07**

Tab. IV. 07 : les épitopes LTC de la protéine **FliD** sélectionnés

Peptide	Début	Fin	Taille	Rank	Score	Couverture HLA
IEIKAGMEL	22	30	9	0.01	0.975524	
FSYNGISMRR	17	25	9	0.05	0.928311	
KIEIKAGMEL	21	30	10	0.06	0.896278	
NIRYDIMAQR	44	53	10	0.12	0.869792	
FSYNGISMRR	17	26	10	0.13	0.864568	
AVEQLNIRY	39	47	9	0.05	0.838840	
KFSYNGISMRR	16	25	10	0.05	0.835252	
SYNGISMRR	18	26	9	0.05	0.835147	

Peptide	Antigénicité	Allergénicité	Toxicité	Blastp-HS
IEIKAGMEL	1.6934	non	non	0.0%
FSYNGISMRR	1.3497	non	non	0.0%
KIEIKAGMEL	1.7438	non	non	0.0%
NIRYDIMAQR	1.3206	non	non	0.0%
FSYNGISMRR	0.9284	non	non	0.0%
AVEQLNIRY	1.8946	non	non	0.0%
KFSYNGISMRR	1.5339	non	non	0.0%
SYNGISMRR	1.1489	non	non	0.0%

11.3. La protéine : penicillin-binding protein 2 PBP2

Les épitopes sélectionnés de la protéine **PBP2** sont organisés dans le tableau **Tab. IV.08**

Tab. IV.08 : les épitopes LTc de la protéine **PBP2** sélectionnés

Peptide	Début	Fin	Taille	Rank	Score	Couverture HLA
SYPEYNINLF	30	39	10	0.01	0.975201	
NEIGFSISL	7	15	9	0.01	0.974376	
VPYAQMLNI	6	14	9	0.01	0.960541	
YPEYNINLF	31	39	9	0.02	0.955880	
SYPEYNINLF	30	39	10	0.01	0.946540	
AIRESVDVY	3	11	9	0.01	0.931010	
AQMLNIYAY	9	17	9	0.01	0.929555	
RYKFLIIF	5	13	9	0.03	0.887651	

Peptide	Antigénicité	Allergénicité	Toxicité	Blastp-HS
SYPEYNINLF	0.8531	non	non	0.0%
NEIGFSISL	1.6315	non	non	0.0%
VPYAQMLNI	0.5996	non	non	0.0%
YPEYNINLF	1.1254	non	non	0.0%
SYPEYNINLF	0.8531	non	non	0.0%
AIRESVDVY	0.5582	non	non	0.0%
AQMLNIYAY	1.0597	non	non	0.0%
RYKFLIIF	2.2957	non	non	0.0%

11. La construction du vaccin

Les épitopes sélectionnés sont récapitulés et organisés dans le tableau **Tab. IV.09**

Tab. IV.09 : récapitulatif des épitopes sélectionnés

Epitopes LB	Epitopes LTh (LT-CMH II)	Epitopes LTc (LT-CMH I)
KDTGESSR KANDNDIQKNPLSQ RKADESTHIDPIDKKIEQNVEK TRYDEDSK	FIRAYHLDNNNTMAG IRAYHLDNNNTMAGI VKYGLALDEKKGKMSL GEAGYRKSQINSLYK LVKYGLALDEKKGKMS EEVINLDENLEIEDS	FYYAPFLVF RYKFLIIF FALQMNIY AVEQLNIRY KIEIKAGMEL IEIKAGMEL KQRSSYERK KFSYNGISMR NEIGFSISL
Total = 4	Total = 6	Total = 9

Dans la conception d'un vaccin multiépitope, l'ajout d'un adjuvant comme la bêta défensine humaine en position N-terminale permet de renforcer l'immunogénicité du vaccin, et son couplage avec la séquence d'épitope est assuré par le linker rigide **EAAAK**, qui maintient la stabilité structurale et l'indépendance fonctionnelle des domaines. Les linkers spécifiques, tels que **KK** pour relier les épitopes LB, **AA Y** pour les épitopes LTc (CMHI), et **GPGPG** pour les épitopes LTh (CMHII), jouent chacun un rôle clé : **KK** assure la flexibilité et la solubilité entre les épitopes B, **AA Y** facilite la reconnaissance et le clivage par le protéasome pour une présentation optimale des épitopes T cytotoxiques, tandis que **GPGPG** prévient la formation d'épitopes de jonction et favorise la présentation efficace des épitopes T helper, assurant ainsi une réponse immunitaire coordonnée et efficace. L'utilisation judicieuse de ces linkers optimise la structure, la stabilité, et la fonctionnalité du vaccin multiépitope, tout en maximisant son potentiel immunogène.

Notre produit final après l'intégration des linkers est le suivant : un vaccin avec **338 AA**

GIINTLQKYYCRVRGGRCAVLSCLPKEEQIGKCTRGRKCCRRKKEAAAKDGTGESSRKKKANDNDIQKNPLSQKRRKADESTHIDPIDKKIEQNVEKTRYDEDSKGGPGGFIRAYHLDNNNTMAGGGPGGIRAYHLDNNNTMAGI
GGPGVKYGLALDEKKGKMSLGGPGGEAGYRKSQINSLYKGGPGLVKYGLALDEKKGKMSGGPGGEEVINLDENLEIEDSAAYFYYAPFLVFAAYRYKFLIIFFAAYFALQMNIYAAYAVEQLNIRYAAYKIEIKAGMELAA
YIEIKAGMELAAAYKQRSSYERKAAYKFSYNGISMR
AAAYNEIGFSISL

12. Modélisation en 2D/3D de la Structure du vaccin

La modélisation en 2D de la structure d'un vaccin multiépitope consiste à prédire la répartition des éléments structuraux secondaires, tels que les hélices alpha, les feuillet bêta et les boucles (coils), au sein de la séquence protéique du vaccin (**Fig. IV.11**). Cette étape, réalisée à l'aide d'outils bioinformatiques comme PSIPRED ou GORIV, permet d'anticiper la conformation globale de la molécule, d'identifier les régions exposées ou enfouies, et d'évaluer la flexibilité ainsi que la stabilité de la construction vaccinale, informations essentielles pour comprendre son comportement biologique, optimiser sa conception, et faciliter les étapes ultérieures de modélisation 3D et d'analyse des interactions avec le système immunitaire

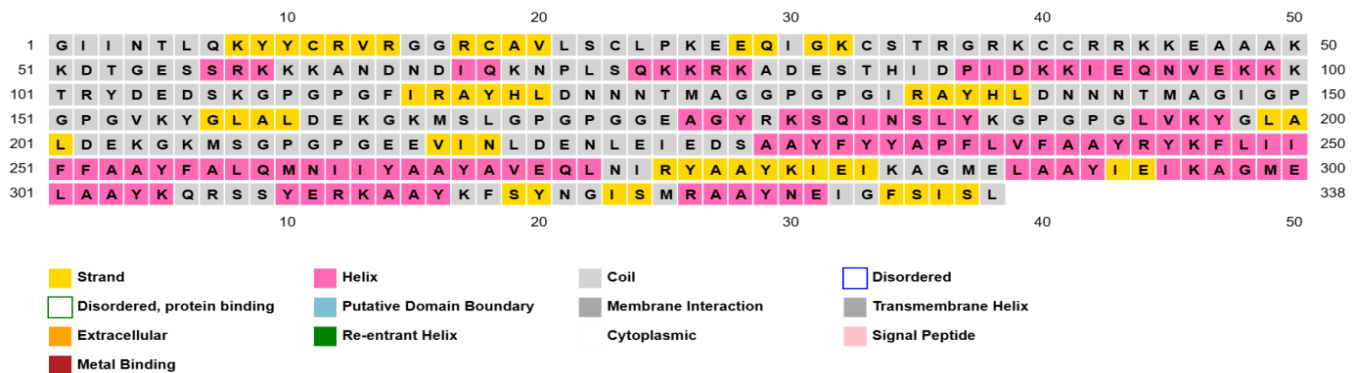


Fig. IV.11 : Modélisation de la structure 2D du vaccin

Le tableau **Tab. IV.10** montre les principales propriétés physico-chimiques du vaccin construit. La modélisation en 3D a donné la structure représentée dans la figure **Fig. IV.12**

Tab. IV.10 : Propriétés physico-chimiques du vaccin construit

Paramètre	Résultat
Nombre des acides aminés	338
Poids moléculaire	37,415 KDa
pI théorique	9,39
Demi-vie estimée (E. coli)	>10 hrs
Indice de l'insptabilité	42,91
Indice aliphatique	71,75

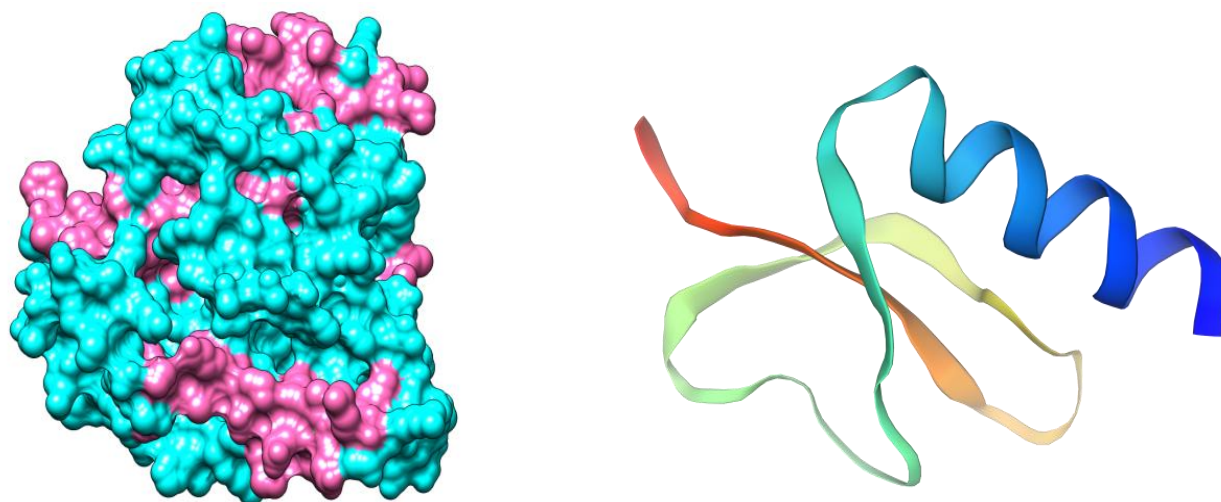


Fig. IV.11 : Modélisation de la structure 3D du vaccin

Le raffinement de la structure 3D en utilisant le webtool « Galaxy refine 2 » a montré 5 formes d'optimisation. Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau **Tab. IV.10**

Tab. IV.10 : modèles de raffinement de la structure 3D

Modèle	GDT-HA	RMSD	MolProbity	Clash score	Poor rotamers	Rama favored
1	0.8979	0.543	2.886	24.1	2.3	79.2
2	0.8964	0.556	2.955	26.1	2.6	80.4
3	0.8979	0.541	2.832	24.4	1.9	79.2
4	0.8942	0.553	2.954	26.3	2.6	80.7
5	0.8964	0.543	2.821	24.4	1.9	80.1

MODEL 5 a le meilleur score MolProbity, le plus faible taux de rotamères pauvres, et une bonne Ramachandran. Il est équivalent ou très proche de MODEL 3 et MODEL 1 sur les autres scores. MODEL 3 a le meilleur RMSD, mais MODEL 5 est presque identique (0.543 vs 0.541).

13. Simulation de la réponse immunitaire

La simulation de la réponse immunitaire permet de prédire *in silico* l'immunogénicité d'un vaccin en modélisant les interactions complexes entre cellules immunitaires (lymphocytes B, T CD4+/CD8+, cellules dendritiques) et antigènes, grâce à un modèle agent-based intégrant des mécanismes clés comme la sélection clonale, la sécrétion de cytokines et la production d'anticorps. Le serveur génère des données sur l'évolution des populations cellulaires, les niveaux d'interleukines et la diversité des lymphocytes T spécifiques. Les paramètres ajustables (dose, haplotype, volume simulé) permettent d'optimiser le protocole vaccinal, tandis que la prédiction de la réponse humorale et cellulaire valide le potentiel du candidat à induire une immunité durable, essentielle dans le développement de vaccins multi-épitopes contre les pathogènes.

14.1 La réponse immunitaire humorale

Dans notre étude, la simulation immunitaire montre une réponse vaccinale robuste. L'évaluation de la disparition rapide de l'antigène après l'injection, suivie d'une montée marquée des anticorps IgM puis IgG (notamment IgG1 et IgG2), indiquant une activation efficace de la réponse humorale et la mise en place d'une immunité spécifique. Cette modélisation met en évidence une forte production de cytokines, en particulier l'IFN- γ et l'IL-2, témoignant d'une activation puissante des réponses cellulaires Th1 et cytotoxiques, essentielles pour l'élimination des pathogènes intracellulaires. L'ensemble suggère que le vaccin produit induit à la fois une réponse humorale et cellulaire soutenue, gage d'une protection immunitaire efficace. **Fig. IV.12**

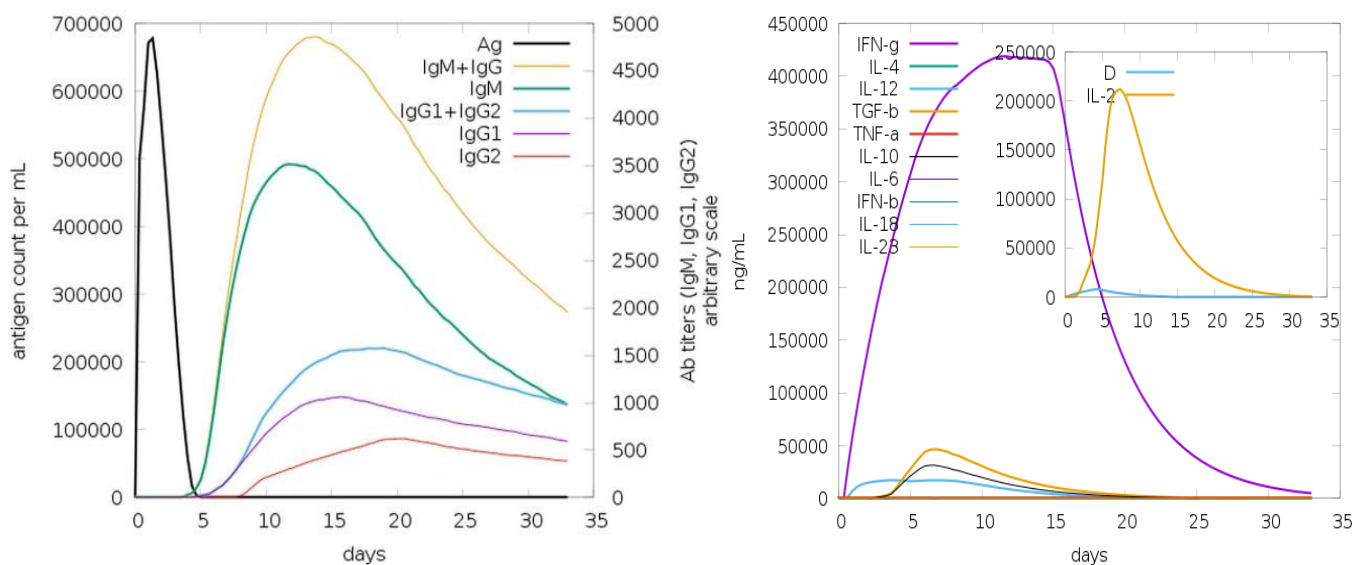


Fig. IV.12 : Simulation de la réponse humorale du vaccin

14.2 La réponse immunitaire cellulaire

En parallèle, la réponse cellulaire détaillée dans la figure **Fig. IV.13** montre que la vaccination induit une activation rapide et soutenue des lymphocytes B et T helper, accompagnée d'une différenciation efficace en cellules mémoires et en plasmocytes sécréteurs d'anticorps (IgM, IgG1, IgG2). En plus, cette réponse est accompagnée d'une activation rapide et massive des lymphocytes T helper, avec une forte expansion des sous-populations Th0 et une différenciation efficace en Th1, Th2 et Th17, traduisant une réponse humorale et cellulaire robuste, diversifiée et durable

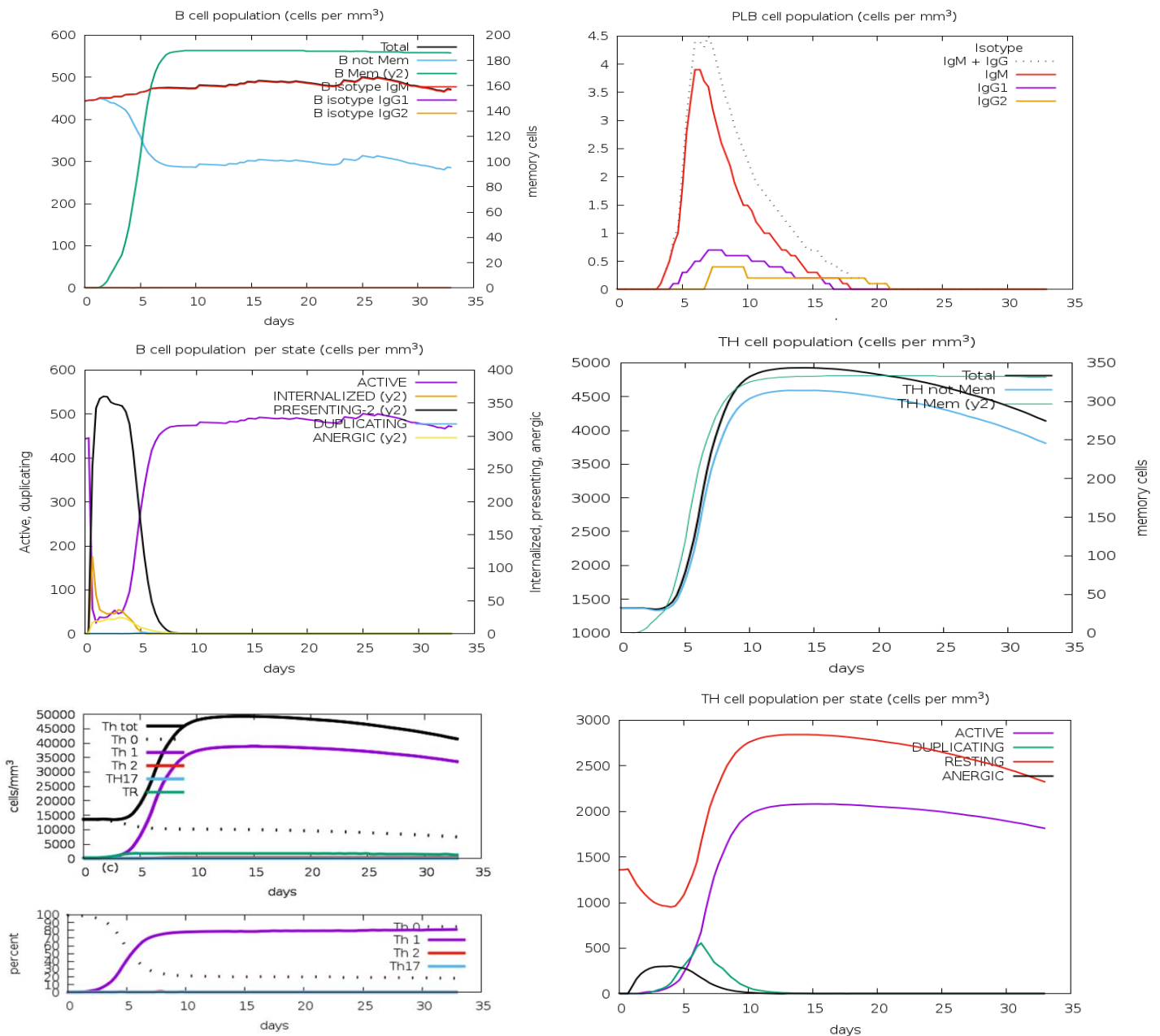


Fig. IV.13 : Simulation de la réponse Cellulaire du vaccin

En plus, Les graphiques illustrent une activation rapide puis une diminution progressive des lymphocytes T cytotoxiques, une augmentation continue des T actifs, une mobilisation efficace des macrophages et une fluctuation de la population des cellules NK, avec une stabilité globale de la population des cellules épithéliales et une activation progressive des cellules dendritiques, avec augmentation des formes actives et présentatrices, ce qui reflète une mobilisation efficace des cellules présentatrices d'antigène après la stimulation vaccinale et traduisant une réponse immunitaire cellulaire dynamique et coordonnée. **Fig. IV.14**

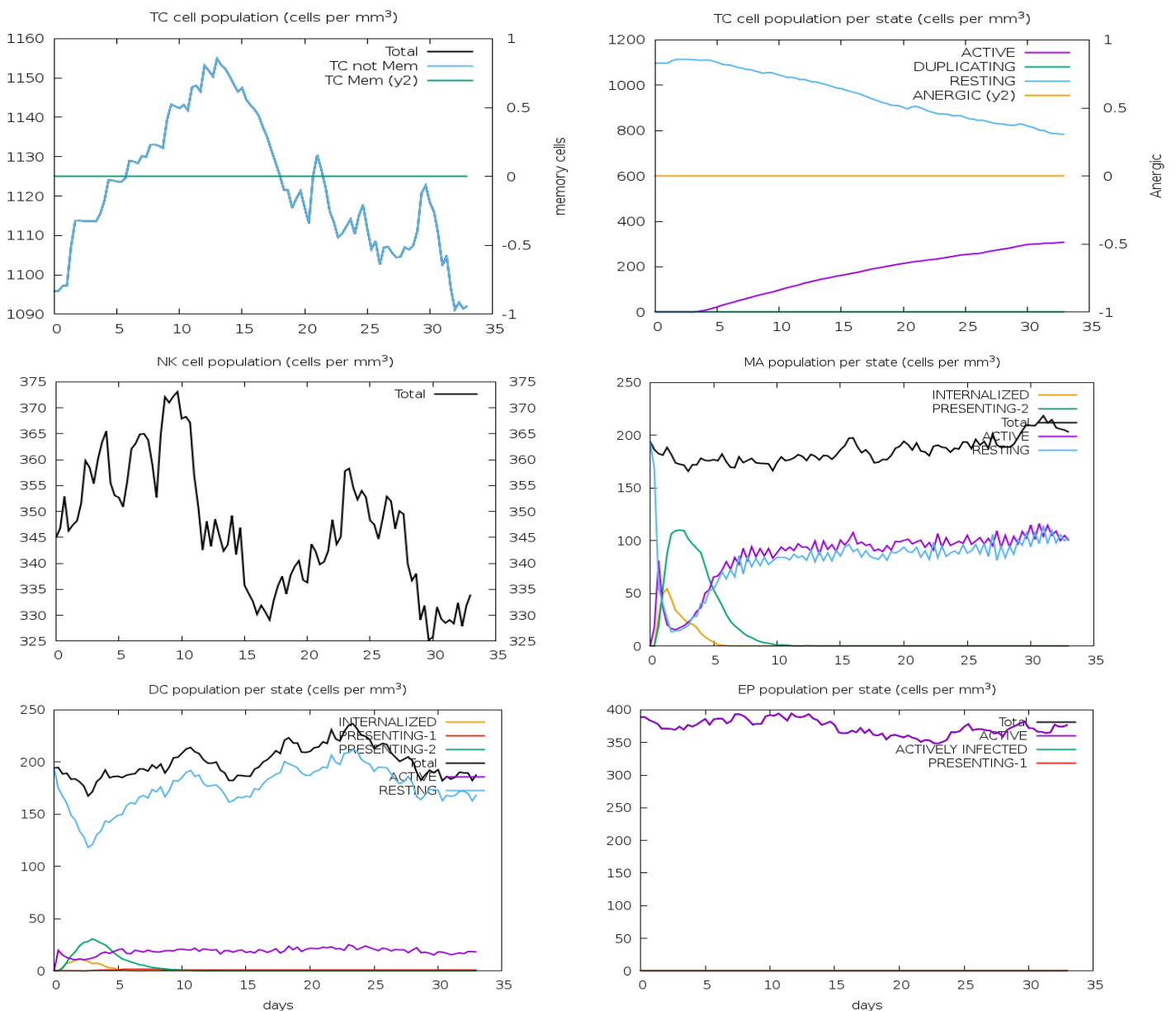


Fig. IV.14 : Simulation de la coordination de la réponse cellulaire

Conclusion

Conclusion

Cette étude a permis de mettre en lumière le potentiel d'une approche immunoinformatique innovante pour la conception d'un vaccin thérapeutique ciblant *Helicobacter cinaedi*, une bactérie émergente responsable d'infections systémiques particulièrement préoccupantes chez les patients immunodéprimés.

En intégrant des analyses protéomiques approfondies et des outils de prédiction d'épitopes, nous avons identifié trois protéines vaccinales prometteuses ainsi qu'un récepteur immunitaire clé, présentant des profils antigéniques et immunogéniques favorables tout en minimisant les risques toxiques et allergéniques.

La modélisation moléculaire a confirmé la stabilité des interactions entre les épitopes sélectionnés et les récepteurs immunitaires, suggérant la capacité de ce vaccin multi-épitopique à induire une réponse immunitaire ciblée, robuste et durable. Ces résultats constituent une avancée significative vers le développement de stratégies vaccinales rationnelles contre *H. cinaedi*, ouvrant ainsi de nouvelles perspectives pour la prévention et le traitement des infections opportunistes liées à cette bactérie.

En définitive, ce travail pose les bases d'un futur vaccin thérapeutique efficace, dont l'évaluation expérimentale *in vitro* et *in vivo* sera une étape cruciale pour valider son potentiel clinique. La lutte contre *H. cinaedi* pourrait ainsi bénéficier d'outils immunologiques novateurs, renforçant les moyens de protection des populations à risque et contribuant à la maîtrise des infections émergentes en microbiologie clinique.



Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Abioye, A., Naqvi, M., Pattni, D., & Adepoju-Bello, A. A. (2021). Non-intuitive behavior of polymer-ciprofloxacin nanoconjugate suspensions: a tool for flexible oral drug delivery. *AAPS PharmSciTech*, 22(7), 229.
- Alizadeh, M., Amini-Khoei, H., Tahmasebian, S., Ghatreh Samani, M., Ghatreh Samani, K., Edalatpanah, Y., ... & Bagheri, N. (2022). Designing a novel multi-epitope vaccine against Ebola virus using reverse vaccinology approach. *Scientific reports*, 12(1), 7757.
- Araoka, H., Baba, M., Okada, C., Kimura, M., Sato, T., Yatomi, Y., ... & Yoneyama, A. (2018). Risk factors for recurrent *Helicobacter cinaedi* bacteremia and the efficacy of selective digestive decontamination with kanamycin to prevent recurrence. *Clinical Infectious Diseases*, 67(4), 573-578.
- Atanasova, M., Dimitrov, I., Ralchev, N., Markovski, A., Manoylov, I., Bradyanova, S., ... & Doytchinova, I. (2024). Design, Development and Immunogenicity Study of a Multi-Epitope Vaccine Prototype Against SARS-CoV-2. *Pharmaceuticals*, 17(11), 1498.
- Autran, B., Combadière, B., Launay, O., Legrand, R., Locht, C., Tangy, F., ... & Garçon, N. (2017). Séance bi-académique de l'Académie nationale de médecine et de l'Académie des Sciences: «Confiance et défiance vis-à-vis des vaccins». *Bulletin de L'academie Nationale de Medecine*, 201(1-3), 259-272.
- Baker, R. E., Mahmud, A. S., Miller, I. F., Rajeev, M., Rasambainarivo, F., Rice, B. L., ... & Metcalf, C. J. E. (2022). Infectious disease in an era of global change. *Nature reviews microbiology*, 20(4), 193-205.
- Brochot, É. (2023). Apport de l'immunologie: réponse immunitaire à la vaccination et limites. *Néphrologie & Thérapeutique*, (HS1), 15-20.
- Canoui, E., & Launay, O. (2019). Histoire et principes de la vaccination. *Revue des maladies respiratoires*, 36(1), 74-81.
- Charoenlap, N., Shen, Z., McBee, M. E., Muthupalani, S., Wogan, G. N., Fox, J. G., & Schauer, D. B. (2012). Alkyl hydroperoxide reductase is required for *Helicobacter cinaedi* intestinal colonization and survival under oxidative stress in BALB/c and BALB/c interleukin-10^{-/-} mice. *Infection and immunity*, 80(3), 921-928.
- Charoenlap, N., Shen, Z., McBee, M. E., Muthupalani, S., Wogan, G. N., Fox, J. G., & Schauer, D. B. (2012). Alkyl hydroperoxide reductase is required for *Helicobacter cinaedi* intestinal colonization and survival under oxidative stress in BALB/c and BALB/c interleukin-10^{-/-} mice. *Infection and immunity*, 80(3), 921-928.
- Chaudhari, N. M., Gupta, V. K., & Dutta, C. (2016). BPGA-an ultra-fast pan-genome analysis pipeline. *Scientific reports*, 6(1), 24373. Salod, Z., & Mahomed, O. (2022).
- Chen, X., Li, Y., & Wang, X. (2024). Multi-epitope vaccines: a promising strategy against viral diseases in swine. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 14, 1497580.
- Chen, X., Li, Y., & Wang, X. (2024). Multi-epitope vaccines: a promising strategy against viral diseases in swine. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 14, 1497580.

D'elios, M. M., Vallese, F., Capitani, N., Benagiano, M., Bernardini, M. L., Rossi, M., ... & Codolo, G. (2017). The Helicobacter cinaedi antigen CAIP participates in atherosclerotic inflammation by promoting the differentiation of macrophages in foam cells. *Scientific reports*, 7(1), 40515.

Deepthi, V., Sasikumar, A., Mohanakumar, K. P., & Rajamma, U. (2025). Computationally designed multi-epitope vaccine construct targeting the SARS-CoV-2 spike protein elicits robust immune responses in silico. *Scientific Reports*, 15(1), 9562.

Deepthi, V., Sasikumar, A., Mohanakumar, K. P., & Rajamma, U. (2025). Computationally designed multi-epitope vaccine construct targeting the SARS-CoV-2 spike protein elicits robust immune responses in silico. *Scientific Reports*, 15(1), 9562.

Denis, J., Mura, M., Trignol, A., & Tournier, J. N. (2022). L'exploration de l'immunogénicité vaccinale. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2022(540), 40-52.

Dhanda, S. K., Mahajan, S., Paul, S., Yan, Z., Kim, H., Jespersen, M. C., ... & Peters, B. (2019). IEDB-AR: immune epitope database—analysis resource in 2019. *Nucleic acids research*, 47(W1), W502-W506.

Dong, R., Chu, Z., Yu, F., & Zha, Y. (2020). *Contriving multi-epitope subunit of vaccine for COVID-19: immunoinformatics approaches. Front Immunol 11: 1784.*

Fleri, W., Paul, S., Dhanda, S. K., Mahajan, S., Xu, X., Peters, B., & Sette, A. (2017). The immune epitope database and analysis resource in epitope discovery and synthetic vaccine design. *Frontiers in immunology*, 8, 278.

Gebre, M. S., Brito, L. A., Tostanoski, L. H., Edwards, D. K., Carfi, A., & Barouch, D. H. (2021). Novel approaches for vaccine development. *Cell*, 184(6), 1589-1603.

Gotoh, Y., Atsuta, Y., Taniguchi, T., Nishida, R., Nakamura, K., Ogura, Y., ... & Hayashi, T. (2022). Helicobacter cinaedi is a human-adapted lineage in the Helicobacter cinaedi/canicola/magdeburgensis' complex. *Microbial Genomics*, 8(5), 000830.

Holst, H., Andresen, K., Blom, J., Højlyng, N., Kemp, M., Kroghfelt, K. A., & Christensen, J. J. (2008). A case of Helicobacter cinaedi bacteraemia in a previously healthy person with cellulitis. *The open microbiology journal*, 2, 29.

Hopkins, D. R. (2002). *The greatest killer: smallpox in history* (Vol. 793). University of Chicago press.

Huang, S., Zhang, C., Li, J., Dai, Z., Huang, J., Deng, F., ... & Wang, Y. (2022). Designing a multi-epitope vaccine against coxsackievirus B based on immunoinformat

Ismail, S., Alsowayeh, N., Abbasi, H. W., Albutti, A., Tahir ul Qamar, M., Ahmad, S., ... & Abbasi, S. W. (2022). Pan-genome-assisted computational design of a multi-epitopes-based vaccine candidate against Helicobacter cinaedi. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(18), 11579.

Ismail, S., Alsowayeh, N., Abbasi, H. W., Albutti, A., Tahir ul Qamar, M., Ahmad, S., ... & Abbasi, S. W. (2022). Pan-genome-assisted computational design of a multi-epitopes-based vaccine candidate against *Helicobacter cinaedi*. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *19*(18), 11579.

Izuta, K., Matsuoka, Y., Hasuike, T., Hijikata, Y., Kuwahara, Y., Mizu, D., & Ariyoshi, K. (2023). *Helicobacter cinaedi* Infections in Emergency Departments: A Descriptive Study. *Cureus*, *15*(9), e44650.

Izuta, K., Matsuoka, Y., Hasuike, T., Hijikata, Y., Kuwahara, Y., Mizu, D., & Ariyoshi, K. (2023). *Helicobacter cinaedi* Infections in Emergency Departments: A Descriptive Study. *Cureus*, *15*(9).

Izuta, K., Matsuoka, Y., Hasuike, T., Hijikata, Y., Kuwahara, Y., Mizu, D., & Ariyoshi, K. (2023). *Helicobacter cinaedi* Infections in Emergency Departments: A Descriptive Study. *Cureus*, *15*(9).

Jaan, S., Shah, M., Ullah, N., Amjad, A., Javed, M. S., Nishan, U., ... & Ojha, S. C. (2022). Multi-epitope chimeric vaccine designing and novel drug targets prioritization against multi-drug resistant *Staphylococcus pseudintermedius*. *Frontiers in Microbiology*, *13*, 971263.

Kawakami, Y. (2014). Clinical and bacteriological examination in hospital of *Helicobacter cinaedi* (*H. cinaedi*). *Kansenshogaku zasshi. The Journal of the Japanese Association for Infectious Diseases*, *88*(4), 417-422.

Kawamura, Yoshiaki, et al. "Clinical and bacteriological characteristics of *Helicobacter cinaedi* infection." *Journal of Infection and Chemotherapy* 20.9 (2014): 517-526.

Kitamura, T., Kawamura, Y., Ohkusu, K., Masaki, T., Iwashita, H., Sawa, T., ... & Akaike, T. (2007). *Helicobacter cinaedi* cellulitis and bacteremia in immunocompetent hosts after orthopedic surgery. *Journal of clinical microbiology*, *45*(1), 31-38.

Krammer, F. (2020). SARS-CoV-2 vaccines in development. *Nature*, *586*(7830), 516-527.

Krammer, F. (2020). SARS-CoV-2 vaccines in development. *Nature*, *586*(7830), 516-527.

Li, J., Ju, Y., Jiang, M., Li, S., & Yang, X. Y. (2025). Epitope-based vaccines: the next generation of promising vaccines against bacterial infection. *Vaccines*, *13*(3), 248.

Li, Z., Liu, S., Li, F., Li, Y., Li, Y., Peng, P., ... & Liu, T. (2022). Efficacy, immunogenicity and safety of COVID-19 vaccines in older adults: a systematic review and meta-analysis. *Frontiers in immunology*, *13*, 965971.

Lu, B., Lim, J. M., Yu, B., Song, S., Neeli, P., Sobhani, N., ... & Chai, D. (2024). The next-generation DNA vaccine platforms and delivery systems: advances, challenges and prospects. *Frontiers in immunology*, *15*, 1332939.

Lu, Q., Wu, H., Meng, J., Wang, J., Wu, J., Liu, S., ... & Huang, W. (2024). Multi-epitope vaccine design for hepatitis E virus based on protein ORF2 and ORF3. *Frontiers in Microbiology*, *15*, 1372069.

Mapping potential vaccine candidates predicted by VaxiJen for different viral pathogens between 2017–2021—a scoping review. *Vaccines*, *10*(11), 1785.

- McArthur, D. B. (2019). Emerging infectious diseases. *The Nursing Clinics of North America*, 54(2), 297.
- Migus, A. (2022). Propriété industrielle et recherche fondamentale dans la genèse du vaccin ARNm contre la COVID-19. *Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine*, 206(9), 1214-1222.
- Motamedi, H., Alvandi, A., Fathollahi, M., Ari, M. M., Moradi, S., Moradi, J., & Abiri, R. (2023). In silico designing and immunoinformatics analysis of a novel peptide vaccine against metallo-beta-lactamase (VIM and IMP) variants. *PloS one*, 18(7), e0275237.
- Nafiah, Z., Atha, A., Rizkita, A. I., Ujjantari, N. S. O., & Hermawan, A. (2025). Recent update on multi-epitope vaccine development for treating breast cancer. *Vacunas*, 500390.
- National Center for Biotechnology Information (NCBI)[Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information; [1988] – [cited 2017 Apr 06]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Gg>
- Orenstein, Walter A., et al. *Vaccines E-Book: Vaccines E-Book. Elsevier Health Sciences, 2017.*
- Oscherwitz, J. (2016). The promise and challenge of epitope-focused vaccines. *Human vaccines & immunotherapeutics*, 12(8), 2113-2116.
- Oyama, K., Khan, S., Okamoto, T., Fujii, S., Ono, K., Matsunaga, T., ... & Akaike, T. (2012). Identification of and screening for human *Helicobacter cinaedi* infections and carriers via nested PCR. *Journal of clinical microbiology*, 50(12), 3893-3900.
- Pardi, N., Hogan, M. J., Porter, F. W., & Weissman, D. (2018). mRNA vaccines—a new era in vaccinology. *Nature reviews Drug discovery*, 17(4), 261-279.
- Pardi, N., Hogan, M. J., Porter, F. W., & Weissman, D. (2018). mRNA vaccines—a new era in vaccinology. *Nature reviews Drug discovery*, 17(4), 261-279.
- Pardi, N., Hogan, M. J., Porter, F. W., & Weissman, D. (2018). mRNA vaccines—a new era in vaccinology. *Nature reviews Drug discovery*, 17(4), 261-279.
- Pitard, B. (2019). Nanotaxi® pour les vaccins ARN et ADN. *médecine/sciences*, 35(10), 749-752.
- Pollard, A. J., & Bijker, E. M. (2021). A guide to vaccinology: from basic principles to new developments. *Nature Reviews Immunology*, 21(2), 83-100.
- Pollard, A. J., & Bijker, E. M. (2021). A guide to vaccinology: from basic principles to new developments. *Nature Reviews Immunology*, 21(2), 83-100.
- Rathore, A. S., Choudhury, S., Arora, A., Tijare, P., & Raghava, G. P. (2024). ToxinPred 3.0: An improved method for predicting the toxicity of peptides. *Computers in Biology and Medicine*, 179, 108926.
- Riedel, S. (2005, January). Edward Jenner and the history of smallpox and vaccination. In *Baylor University medical center proceedings* (Vol. 18, No. 1, pp. 21-25). Taylor & Francis.

- Roupie, A. L., Lafont, E., Fraitag, S., Ferroni, A., Lécuyer, H., Boccara, O., ... & Lortholary, O. (2023). Recurrent cellulitis revealing *Helicobacter cinaedi* in patient on Ibrutinib therapy, France. *Emerging Infectious Diseases*, 29(3), 640.
- Saha, S., & Raghava, G. P. S. (2006). AlgPred: prediction of allergenic proteins and mapping of IgE epitopes. *Nucleic acids research*, 34(suppl_2), W202-W209.
- Salahlou, R., Farajnia, S., Bargahi, N., Bakhtiyari, N., Elmi, F., Shahgolzari, M., ... & Venkataraman, S. (2024). Development of a novel multi-epitope vaccine against the pathogenic human polyomavirus V6/7 using reverse vaccinology. *BMC Infectious Diseases*, 24(1), 177.
- Salahlou, R., Farajnia, S., Bargahi, N., Bakhtiyari, N., Elmi, F., Shahgolzari, M., ... & Venkataraman, S. (2024). Development of a novel multi-epitope vaccine against the pathogenic human polyomavirus V6/7 using reverse vaccinology. *BMC Infectious Diseases*, 24(1), 177.
- Sansonetti, P. J. (2023). Vaccination ARN messenger (ARNm), modèle de transition de la biologie fondamentale à la médecine. *Comptes Rendus. Biologies*, 346(S2), 69-74.
- Schmitz, J. E., Taniguchi, T., Misawa, N., & Cover, T. L. (2016). Epithelial coculture and l-lactate promote growth of *Helicobacter cinaedi* under H₂-free aerobic conditions. *Applied and Environmental Microbiology*, 82(22), 6701-6714.
- Shah, M., Rafiq, S., & Woo, H. G. (2024). Challenges and considerations in multi-epitope vaccine design surrounding toll-like receptors. *Trends in Pharmacological Sciences*.
- Shahid, F., Ashfaq, U. A., Javaid, A., & Khalid, H. (2020). Immunoinformatics guided rational design of a next generation multi epitope based peptide (MEBP) vaccine by exploring Zika virus proteome. *Infection, genetics and evolution*, 80, 104199.
- Sharma, A. D., Magdaleno, J. S. L., Singh, H., Orduz, A. F. C., Cavallo, L., & Chawla, M. (2025). Immunoinformatics-driven design of a multi-epitope vaccine targeting neonatal rotavirus with focus on outer capsid proteins VP4 and VP7 and non structural proteins NSP2 and NSP5. *Scientific Reports*, 15(1), 11879.
- Sharma, A. D., Magdaleno, J. S. L., Singh, H., Orduz, A. F. C., Cavallo, L., & Chawla, M. (2025). Immunoinformatics-driven design of a multi-epitope vaccine targeting neonatal rotavirus with focus on outer capsid proteins VP4 and VP7 and non structural proteins NSP2 and NSP5. *Scientific Reports*, 15(1), 11879.
- Shimada, H., Hirata, R., Yamashita, S., Hirakawa, Y., Nakashima, O., Nakamura, M., ... & Tago, M. (2023). *Helicobacter cinaedi* Infection Presenting with Myalgia and Cellulitis. *The American Journal of Case Reports*, 24, e941777-1.
- Shimizu, S., Inokuma, D., Watanabe, M., Sakai, T., Yamamoto, S., Tsuchiya, K., & Shimizu, H. (2013). Cutaneous manifestations of *Helicobacter cinaedi* infection. *Acta Dermato-Venereologica*, 93(2), 165-167.
- Srinivasan, S., Selvaraj, G. F., Gopalan, V., Padmanabhan, P., Ramesh, K., Govindan, K., ... & Kitambi, S. S. (2022). Epitope identification and designing a potent multi-epitope vaccine construct against SARS-CoV-2 including the emerging variants. *Journal of Global Infectious Diseases*, 14(1), 24-30.

Sundararaj, R., Mathimaran, A., Prabhu, D., Ramachandran, B., Jeyaraman, J., Muthupandian, S., & Asmelash, T. (2024). In silico approaches for the identification of potential allergens among hypothetical proteins from *Alternaria alternata* and its functional annotation. *Scientific Reports*, *14*(1), 6696.

Suzuki, T., Kutsuna, S., Tsuboi, M., Ota, M., Hayakawa, K., & Ohmagari, N. (2019). *Helicobacter cinaedi* hepatic cyst infection with bacteremia. *Emerging Infectious Diseases*, *25*(3), 603.

Voronina, A. K., & Arapidi, G. P. (2024). *Helicobacter cinaedi* bacterium association with atherosclerosis and other diseases. *Frontiers in Microbiology*, *15*, 1371717.

Voronina, A. K., & Arapidi, G. P. (2024). *Helicobacter cinaedi* bacterium association with atherosclerosis and other diseases. *Frontiers in Microbiology*, *15*, 1371717.

Waqas, M., Aziz, S., Liò, P., Khan, Y., Ali, A., Iqbal, A., ... & Almajhdi, F. N. (2023). Immunoinformatics design of multivalent epitope vaccine against monkeypox virus and its variants using membrane-bound, enveloped, and extracellular proteins as targets. *Frontiers in Immunology*, *14*, 1091941.

Yamamoto, K., Ono, D., Nozaki, Y., Nishida, Y., Sakai, J., Mimura, K., ... & Oka, H. (2025). A case of *Helicobacter cinaedi* pleuritis and continuous ambulatory peritoneal dialysis-related peritonitis diagnosed by simultaneous-onset bacteremia. *IDCases*, *40*, e02197.

Yang, Z., Bogdan, P., & Nazarian, S. (2021). An in silico deep learning approach to multi-epitope vaccine design: a SARS-CoV-2 case study. *Scientific reports*, *11*(1), 3238.

Yang, Z., Bogdan, P., & Nazarian, S. (2021). An in silico deep learning approach to multi-epitope vaccine design: a SARS-CoV-2 case study. *Scientific reports*, *11*(1), 3238.

Yin, Z., Li, M., Niu, C., Yu, M., Xie, X., Haimiti, G., ... & Zhang, F. (2023). Design of multi-epitope vaccine candidate against *Brucella* type IV secretion system (T4SS). *PLoS One*, *18*(8), e0286358.

Yu, N. Y., Wagner, J. R., Laird, M. R., Melli, G., Rey, S., Lo, R., ... & Brinkman, F. S. (2010). PSORTb 3.0: improved protein subcellular localization prediction with refined localization subcategories and predictive capabilities for all prokaryotes. *Bioinformatics*, *26*(13), 1608-1615.

Yun, J. S., Kim, A. R., Kim, S. M., Shin, E., Ha, S. J., Kim, D., & Jeong, H. S. (2024). In silico analysis for the development of multi-epitope vaccines against *Mycobacterium tuberculosis*. *Frontiers in Immunology*, *15*, 1474346.

Zhang, J., Zhang, H., Yao, C., Gu, L., Dong, S., Wu, Y., & Miao, L. (2025). Global research hotspots and trends in DNA vaccine research: A bibliometric and visualization study from 2014 to 2024. *Human Vaccines & Immunotherapeutics*, *21*(1), 2457189.

