



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

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

Immunité et vaccinations antivirales : exemple de la muqueuse respiratoire

F. Denis, S. Hantz, S. Alain

EA 3175 « Biologie Moléculaire et Cellulaire des Micro-organismes », Laboratoire de Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHU Dupuytren, 2, avenue Martin Luther King, 87042 Limoges.

Correspondance : F. DENIS, voir adresse ci-dessus.

e-mail : francois.denis@unilim.fr

Résumé/Abstract

Immunité et vaccinations antivirales. Exemple de la muqueuse respiratoire

F. Denis, S. Hantz, S. Alain

Objectifs. Les surfaces muqueuses de l'arbre respiratoire constituant une porte d'entrée très importante pour de nombreux agents pathogènes, bactériens ou viraux, elles apparaissent comme un site critique pour la réponse immune. Ainsi, des vaccins stimulant cette immunité locale sembleraient constituer une approche intéressante dans la prévention de ces infections. Après avoir détaillé les différents mécanismes mis en jeu dans cette immunité muqueuse, cette étude a pour but d'analyser le principe d'une telle vaccination et les différents vaccins administrables par voie respiratoire.

Immunité muqueuse. Les principaux anticorps sécrétés localement appartiennent à l'isotype IgA (S-IgA), les anticorps de type IgM (S-IgM) et IgG (S-IgG) ayant un rôle encore largement discuté. Les cellules effectrices qui dominent au niveau de la muqueuse ne sont pas des cellules IgA de type B, mais des lymphocytes T qui peuvent représenter jusqu'à 80 % de la totalité des populations lymphocytaires de la muqueuse.

Immunoprophylaxie par voie respiratoire. Des immunoglobulines spécifiques administrées localement peuvent prévenir des infections virales comme cela a été démontré pour le VRS ; mais les quantités d'anticorps nécessaires pour être actives sont très importantes et difficiles à obtenir.

Parmi les facteurs susceptibles d'induire une réponse immune muqueuse et une immunité à médiation cellulaire, on retrouve la voie orale ou respiratoire et des virus répliquatifs.

À ce jour, très peu de vaccins antiviraux muqueux ont vu le jour et le seul exemple pour les virus respiratoires reste le vaccin grippal atténué administré par voie nasale.

D'autres vaccins commercialisés par voie parentérale ont été utilisés expérimentalement par voie nasale. Qu'il s'agisse de vaccins vivants (varicelle, rougeole) ou inactivés (grippe injectable), ils n'induisent par cette voie inhabituelle qu'une réponse locale modérée.

Conclusion. Il apparaît donc dans l'état actuel de nos connaissances et des vaccins disponibles que la voie muqueuse ne constitue pas une voie essentielle et incontournable pour élaborer un vaccin actif contre des virus respiratoires.

Mais l'exemple du vaccin grippe atténué administré par voie nasale est à lui seul prometteur pour l'avenir de la vaccination par voie muqueuse et d'autres approches plus sophistiquées pourraient voir le jour dans les années à venir.

Mots-clés : Vaccination muqueuse, virus, muqueuse respiratoire, IgA sécrétoires, vaccins grippaux vivants atténués.

Immunity and antiviral vaccinations. Example: the respiratory mucosa

F. Denis, S. Hantz, S. Alain

Objective. As the mucosal surfaces of the respiratory tract represent a major portal of entry for most human viruses and many bacteria, they seem to be a critical component of the mammalian immunologic repertoire. Thus, vaccines stimulating this local immunity could represent an interesting approach to prevent these infections. After detailing the different mechanisms implied in this mucosal immunity, the aim of this study is to analyze the basis of such a vaccination and the different vaccines available to mucosal respiratory tract use.

Introduction

L'objectif de la vaccination est de permettre à l'individu de développer une protection active spécifique vis-à-vis d'un agent infectieux : le procédé consiste à introduire dans l'organisme une substance immunogène non virulente dont les caractéristiques sont proches de l'agent infectieux de façon

Liste des abréviations

ADCC	: <i>antibody dependent cell-mediated cytotoxicity</i>
BALT	: <i>bronchus-associated lymphoid tissue</i>
CAIV	: <i>cold adapted influenza vaccine</i>
CTL	: <i>cytotoxic T lymphocyte</i>
GALT	: <i>gut-associated lymphoid tissue</i>
HA	: hémagglutinine
IgA	: immunoglobuline A
IgG	: immunoglobuline G
IPV-Salk	: vaccin polio injectable
M-IgA	: immunoglobuline A monomérique
MALT	: <i>mucosa-associated lymphoid tissue</i>
NA	: neuraminidase
NALT	: <i>nasal-associated lymphoid tissue</i>
OPV-Sabin	: vaccin polio oral
P-IgA	: immunoglobuline A polymérique
P-IgR	: récepteur des immunoglobulines polymériques
S-Ig	: immunoglobuline sécrétoire
TIV	: <i>trivalent inactivated influenza vaccine</i>
VRS	: virus respiratoire syncytial

Mucosal immunity. The major antibody isotype in external secretions is secretory immunoglobulin A (S-IgA); the role of IgM (S-IgM) and IgG (S-IgG) are actually questioned. It is, however, interesting that the major effector cells in the mucosal surfaces are not IgA B cells, but T lymphocytes that may represent up to 80% of the entire mucosal lymphoid cell population.

Immunoprophylaxis by the mucosal route. Passive antibodies were shown to protect against mucosal viral infections, such as those caused by RSV, but very high quantities of passive antibodies are needed to restrict virus replication on mucosal surface.

In general, factors which favor development of mucosal antibody and cell mediated immune responses include the oral or respiratory immunization and the replicating nature of the vaccine agents. However, to date only a few vaccines have become available to mucosal respiratory tract use, and cold-adapted influenza virus vaccines is the only one available using nasal route. Other parenteral licensed vaccines have not been recommended for mucosal administration. Some of them have been experimentally used with nasal administration of replicating agents (varicella and measles vaccines) or non replicating agents (influenza inactivated vaccine), but have been found to induce a very low mucosal response.

Conclusion. Based on the experience with existing vaccines, the development of mucosal immunity or administration of vaccines via the mucosal route is clearly not a prerequisite today for control or prevention of most viral infectious respiratory diseases or diseases with respiratory tract as a route of contamination. But the example of live attenuated intranasal influenza vaccine inducing both systemic and local immune response without immunopathology, is promising for the future of the mucosal immunization against respiratory viral infections.

Key words: Mucosal vaccination, virus, respiratory tract, S-IgA, cold-adapted influenza vaccines.

Antibiotiques 2007 ; 9 : 130-8

© 2007. Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés

à induire une réponse immunitaire capable de protéger le sujet vacciné contre les aléas de l'infection naturelle [1].

La plupart des agents pathogènes bactériens ou viraux infectent leurs hôtes respectifs au travers de la barrière muqueuse. Ceci vaut pour la plupart des pathogènes des systèmes respiratoires, intestinaux et génitaux. Ainsi, une forte immunité exprimée au niveau de la porte d'entrée de l'agent infectieux semble logiquement la plus appropriée pour prévenir l'infection. De plus, avec les nouveaux vaccins ou les nouvelles voies d'administration de vaccins déjà existants, on tend de plus en plus à induire une immunité protectrice au niveau muqueux.

L'objectif, en utilisant la voie muqueuse, est de stimuler une immunité muqueuse efficace, voire accompagnée d'une forte immunité cellulaire.

Par ailleurs, la voie muqueuse permet une apparente signification de la voie d'administration en évitant l'injection, ce qui est particulièrement intéressant chez l'enfant.

Protection et immunité au niveau de la muqueuse respiratoire

Les épithéliums respiratoires constituent un site primaire exposé au déclen-

chement d'infections potentiellement invasives.

À la surface de ces épithéliums respiratoires, en complément des mécanismes de l'immunité innée (sécrétions microbicides, piégeage des particules et évacuation par battements ciliaires), les anticorps locaux (IgA et IgG) constituent une première barrière efficace s'opposant à l'implantation, la prolifération et la dissémination des micro-organismes avec un ratio IgA/IgG variable selon que l'on se situe au niveau du tractus respiratoire supérieur ou des alvéoles pulmonaires [2, 3] (*figure 1*).

Outre des moyens de défense mécaniques et non spécifiques, les muqueuses disposent en abondance des acteurs du système immunitaire puisqu'on considère que 80 % de toutes les cellules immunitaires se situent au niveau des muqueuses.

Des structures lymphoïdes qui nous intéressent tout particulièrement tapissent les muqueuses respiratoires du nez et des bronches ; de plus, d'autres structures se retrouvent au niveau des voies respiratoires telles que les amygdales ou l'anneau de Waldeyer. Les cryptes amygdaliennes captent les virus qui traversent l'épithélium muqueux pour parvenir aux tissus lymphoïdes. Enfin, les poumons contiennent des quantités importantes de macrophages dans les alvéoles et de cellules dendritiques au

niveau de l'épithélium des voies respiratoires et dans les parois des alvéoles où les cellules citées précédemment (macrophages, cellules dendritiques) captent les antigènes viraux et les transportent directement vers les ganglions lymphatiques pour les présenter aux lymphocytes.

Les effecteurs du système immunitaire des muqueuses se répartissent en deux catégories : les effecteurs cellulaires (lymphocytes et macrophages) et les effecteurs humoraux, essentiellement et classiquement les immunoglobulines A sécrétées, voire les immunoglobulines G qui atteignent la lumière par transudation et que l'on peut tenter d'illustrer dans le cas de la réponse antivirale (*figure 2*) en faisant figurer la majorité des acteurs (*figure 3*) [4].

LES IGA SÉCRÉTOIRES

Nature et synthèse des IgA sécrétoires

La majorité des immunoglobulines sécrétoires (S-Ig) appartient à l'isotype majoritaire IgA. Alors que dans le sérum cet isotype est présent sous forme monomérique (M-IgA), il est au niveau des muqueuses sous forme polymérique : dimérique ou tétramérique (P-IgA). Les S-IgA comprennent une chaîne de 80 Kda appelée composant sécrétoire (SC) qui

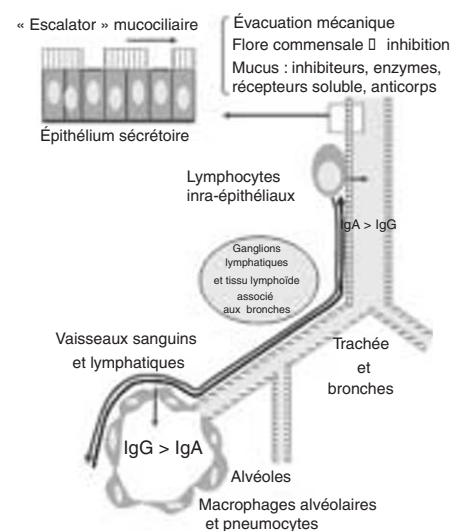


FIG. 1. — Bases de l'immunité des épithéliums respiratoires [2].

FIG. 1. — Protective immunity of the respiratory tract [2].

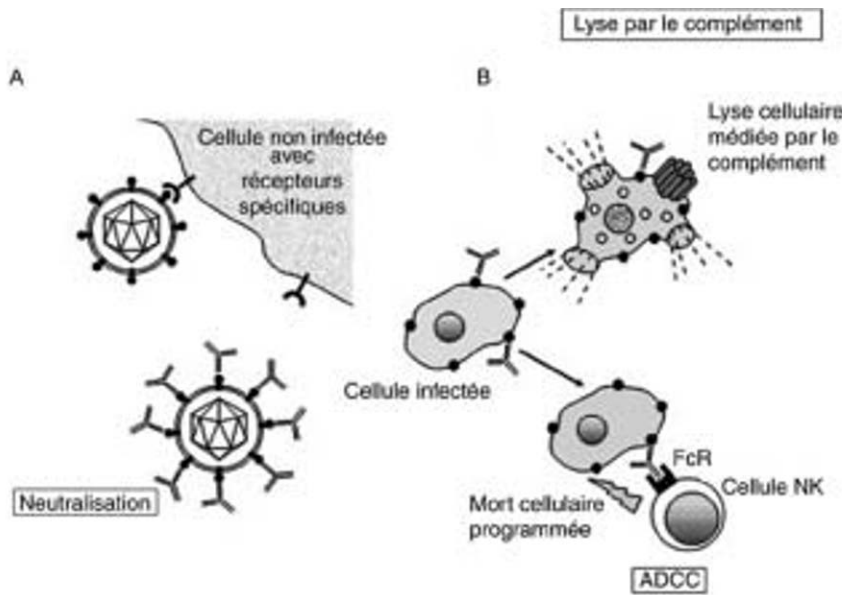


FIG. 2. — Réponse antivirale anticorps-dépendant.
A) Anticorps bloquant la fixation sur récepteur cellulaire.
B) Lyse cellulaire par ADCC et par activation du complément.

FIG. 2. — *Antibody-dependent control of viruses.*
A) *Viral neutralization antibody-dependent.*
B) *Cellular lysis by ADCC and activation of complement.*

132

correspond à un fragment du récepteur (P-IgR) assurant le transport des P-IgA au travers des cellules muqueuses.

Le transport des S-IgA se fait par transcytose. Les anticorps sont libérés

par des cellules spécialisées, en l'occurrence des plasmocytes à demi-vie courte (6 jours), situés juste en dessous de la membrane basale de l'épithélium ; ils traversent la membrane basale, sont pris

en charge par le récepteur spécialisé (le composant sécrétoire) et sont transportés dans une vésicule au travers de la cellule épithéliale et libérés dans le mucus.

On distingue deux sous-classes d'IgA (IgA₁ et IgA₂) dont la proportion varie selon les tissus. Les IgA₂ sont nettement plus abondantes dans les sécrétions (jusqu'à 60 % des IgA) que dans le sérum (10 % des IgA).

La régulation de la synthèse des IgA sécrétoires est indépendante de celle des IgA sériques, la quantité synthétisée par jour est égale à celle de l'ensemble de toutes les immunoglobulines sériques.

Selon JP Bouvet [5], « on estime que le système immunitaire sécrétoire est au moins équivalent en volume au système immunitaire systémique ». Dans toutes les muqueuses où elles sont observées (muqueuse digestive essentiellement), les cellules M (équivalents fonctionnels des plaques de Peyer) semblent constituer un site de passage privilégié des antigènes et des virus pour les amener au contact des lymphocytes.

Les lymphocytes B stimulés dans les formations inductrices entreprennent un cycle de maturation dans le sang puis gagnent préférentiellement les sites effecteurs du système immunitaire sécrétoire (MALT : *mucosa associated lymphoid tissue*), subdivisé en zones fonctionnelles telles que le GALT (intestin), le NALT (fosses nasales et le pharynx) et le BALM (bronches) ; les deux derniers nous intéressent tout particulièrement (figure 4). La localisation préférentielle des lymphocytes B producteurs d'IgA sécrétoires a été démontrée par des techniques de numération par ELISPOT au sein des tissus muqueux. Les lymphocytes B possèdent des marqueurs spécifiques suivant leur site d'induction et leur localisation secondaire de maturation : ces marqueurs sont désignés sous le terme de récepteurs spécifiques de site. Les lymphocytes B matures sont transformés en plasmocytes sécrétants après un deuxième contact avec l'antigène.

Rôle des anticorps IgA sécrétoires

Les S-IgA ont pour rôle principal d'empêcher la propagation des virus dans l'organisme au-delà de la muqueuse respiratoire, selon trois mécanismes [4-6] démontrés *in vitro* (figure 5) :

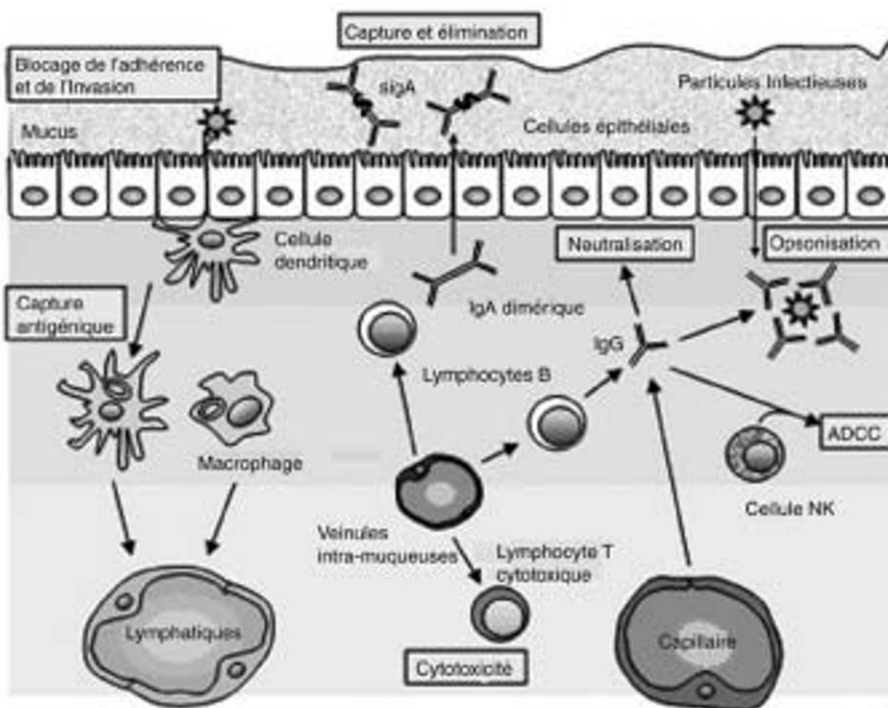


FIG. 3. — Mécanismes de la protection immunitaire à la surface des muqueuses adaptés [4].

FIG. 3. — *Mechanisms of immune protection at mucosal surface [4].*

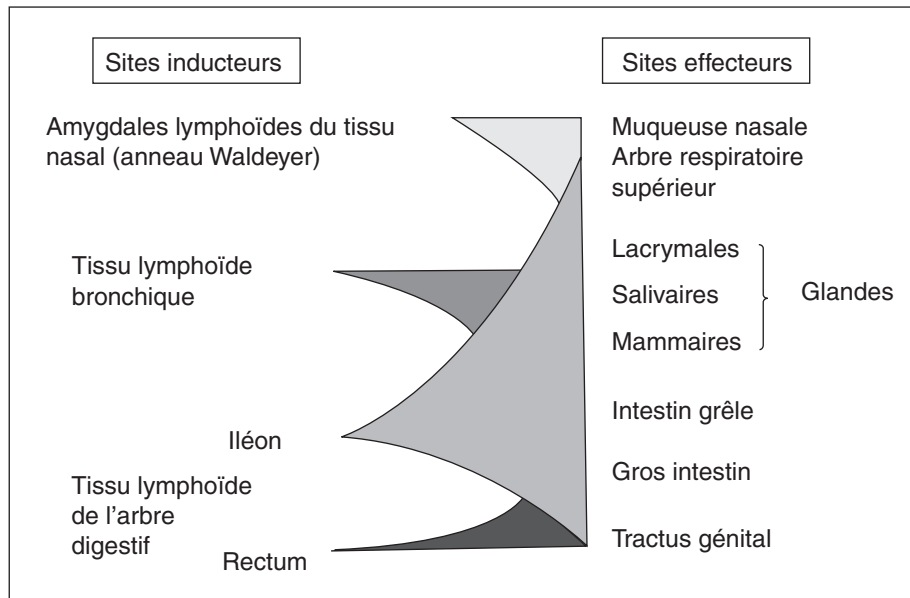


FIG. 4. — Schéma résumant les différentes localisations du système MALT (*mucosa-associated lymphoid tissues*), sites d'activation et spectre des sites effecteurs.

FIG. 4. — Schematic representation of the inductive mucosal sites of the MALT system (*mucosa-associated lymphoid tissues*) and the effector sites.

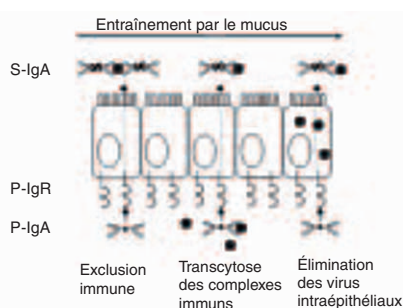


FIG. 5. — Les trois principaux modes d'action des IgA sécrétoires (S-IgA). Les IgA polymériques (P-IgA) synthétisées dans le chorion se fixent sur le récepteur des immunoglobulines polymériques (P-IgR) et sont ensuite transportées activement par transcytose à travers la cellule épithéliale [5].

FIG. 5. — Multiple roles of S-IgA in mucosal defence. It promotes the entrapment of microorganisms in the mucus, a mechanism of immune exclusion. Alternatively, S-IgA might intercept incoming pathogens within epithelial-cell vesicular compartment, and dimeric P-IgA of the interstitial fluid might prevent mucosal-cell infection by mediating the transport of pathogens that have breached the epithelial barrier back into the lumen through P-IgR [5].

— l'exclusion immunitaire fait que le virus recouvert d'IgA ne peut se fixer sur le récepteur cellulaire et est entraîné par le mucus ;

— la transcytose des complexes immuns permet aux virus qui ont échappé

au premier mécanisme et qui ont franchi la barrière cellulaire de la muqueuse d'être en contact avec les P-IgA synthétisées dans le chorion et les IgG sériques ou locales, de constituer ainsi un immun complexe qui sera reconduit à la surface apicale de la cellule, enfin ;

— l'élimination des virus intra-épithéliaux est également possible par capture des virus par des IgA spécifiques durant la transcytose et par reconduction vers la lumière et le mucus.

Rappelons, pour mémoire, que les déficits en IgA sont les plus fréquents des déficits immunitaires congénitaux chez l'homme et qu'ils affectent l'immunité muqueuse. Cependant, ils restent très souvent asymptomatiques.

Au total, les S-IgA ont pour rôle soit le maintien des virus spécifiques de ces S-IgA en dehors des cellules de l'arbre respiratoire, soit le rejet des virus qui auraient pénétré ou franchi la muqueuse respiratoire.

Il faut aussi souligner le fait qu'une immunisation par voie nasale ou par aérosols entraîne une réponse IgA avec un spectre beaucoup plus étendu que celui conféré au site d'infection ou d'immunisation qu'il s'agisse d'une réponse primaire ou secondaire (tableau 1) du fait des spectres de sites effecteurs beaucoup plus étendus que les sites inducteurs au sein du système MALT [7].

LES IGM SÉCRÉTOIRES

Les S-IgM sont rares sauf en cas de déficit en IgA, leur intérêt fonctionnel est limité.

LES IGG SÉCRÉTOIRES

Dans certaines sécrétions (pulmonaires, gingivales...), les IgG sont largement majoritaires (80 à 90 %).

Elles sont dirigées contre un agent pathogène muqueux si celui-ci a franchi la muqueuse et/ou si les antigènes ont diffusé à travers celle-ci.

Elles dépendent du système immunitaire systémique et sont soit produites sur place soit diffusées à partir du sang.

En cas d'infection, le passage des IgG à partir du plasma est accru. Ces anticorps résistent aux enzymes protéolytiques et ont une très haute affinité. Certains auteurs parlent d'IgG sécrétoires, mais si le rôle joué par les IgG « plasmatiques » dans la défense muqueuse est certainement important, la place d'éventuelles S-IgG est discutée.

La question des lymphocytes T des muqueuses ne sera pas développée, on peut seulement signaler qu'il y a peu de véritables cellules NK locales.

Vaccination *via* la muqueuse respiratoire

PRINCIPES DE LA VACCINATION

Selon la voie d'administration utilisée, selon la nature des antigènes du vaccin (agents infectieux vivants atténués, inactivés, qu'il s'agisse de vaccins entiers ou de fractions antigéniques ou de sous-unités vaccinales), le recours ou non à des adjuvants ou le mode d'administration, la réponse immunitaire peut être modulée en nature (isotypes différents), en intensité et en terme de mémoire immunitaire.

Les vaccins injectables traditionnels engendrent une bonne immunité systémique, mais n'induisent pas ou peu d'immunité muqueuse, certains d'entre eux toutefois confèrent une protection par transsudation des immunoglobulines à travers la muqueuse.

La voie intramusculaire est classique et la plus utilisée avec la voie sous-cutanée,

Tableau 1

Distribution et amplitude de la réponse dans l'isotype IgA après immunisation par différentes voies [7].

Distribution and magnitude of specific antibody response following immunization by different routes [7].

Voie d'immunisation	Réponse IgA									
	Glande mammaire		Naso/oropharynx		Arbre respiratoire		Intestin		Tractus génital	
	Primaire	Rappel	Primaire	Rappel	Primaire	Rappel	Primaire	Rappel	Primaire	Rappel
Orale	+	++	++	+++	+	+	+	+++	+	++
Nasale	+	++	+	+++	+	++	+	++	++	+++
Rectale	+	++	+	++	+	++	++	+++	+	++
Génitale	-	-	-	-	-	-	-	-	±	++
Systémique	+	+	+	+	+	++	+	++	+	++
Transcutanée	?	?	+	++	?	?	?	?	?	?

la voie intradermique n'est préconisée que pour certains vaccins, elle est de réalisation plus délicate.

Les vaccinations non invasives épidermiques (percutanées) et muqueuses sont les plus prometteuses.

Les vaccins muqueux sont administrés essentiellement par voie nasale ou orale ; ils offrent l'avantage singulier d'induire une réponse immunitaire protectrice à la fois muqueuse et systémique.

L'administration d'un vaccin par voie muqueuse nécessite un système de vectorisation assurant un ciblage optimal vers les organes lymphoïdes inducteurs de la réponse muqueuse.

Schématiquement, deux approches sont développées pour les vaccins viraux muqueux :

— les vaccins sous-unités : ils sont constitués d'antigènes protecteurs délivrés *via* divers systèmes de vectorisation tels que microparticules (polyglycolipides, alginate) de taille adaptée à leur capture par les cellules M et à l'intérieur desquels l'antigène soluble est protégé de la dégradation lors des diverses étapes du transit digestif ; ces antigènes doivent être combinés à des adjuvants muqueux à usage humain. Récemment de tels épitopes (sous-unités) ont été introduits dans des vecteurs bactériens faisant partie de la flore commensale, exprimant la sous-unité en même temps que la bactérie se multiplie au niveau muqueux ;

— les vaccins vivants de virulence atténuée.

Différentes voies d'administration sont envisageables :

— orale (voire rectale) pour les agents de maladies diarrhéiques ou dont la porte d'entrée est digestive ;

— nasale et/ou par aérosols pour les microbes responsables d'infections respiratoires,

— génitale pour les infections sexuellement transmissibles (IST).

Mais en dehors du recours à une immunisation grâce à une voie qui correspond à la porte d'entrée, on peut aussi utiliser une voie muqueuse pour induire une réponse au niveau d'autres muqueuses et une réponse systémique vis-à-vis de n'importe quel antigène pour prévenir une infection quelle qu'en soit la porte d'entrée ou les manifestations cliniques.

MODE D'ADMINISTRATION MUQUEUSE RESPIRATOIRE

Elle a l'avantage d'être non invasive. L'administration par voie nasale constitue un mode assez aisé de délivrance du vaccin notamment chez les enfants, elle se pratique généralement avec une sorte de seringue avec laquelle on délivre un spray (*figure 6*) dans chaque narine à raison de 0,25 ml par narine [8]. D'autres essais [9] ont eu recours à une sorte de masque relié à un système de barbotage et un compresseur délivrant un volume de 0,10 à 0,18 ml en 30 secondes, aérosols constitués de particules de moins de 10 µm (*figure 7*).

NATURE DES VACCINS ET ADJUVANTS

Une première approche logique a consisté à administrer des vaccins vivants atté-

nués par la porte d'entrée naturelle de la souche sauvage, puis on s'est rendu compte que des antigènes purifiés administrés par la muqueuse respiratoire pouvaient induire une immunité protectrice à condition de recourir à des adjuvants afin d'optimiser la réponse.

Différents produits sont à l'étude en tant qu'adjuvants tels que la toxine cholérique (CT, sous-unité B), la toxine LT d'*E. coli*, des lectines, des polyélectrolytes, des ISCOM (*immune-stimulating complexes*), des actines, de l'avridine, des solutions huileuses (MF 59), du monophosphoryl lipide A (MPA), du lipide A, du lysophosphatidyl glycerol, et des cytokines (IL-5). Les études *in vitro* et *in vivo* utilisant des vecteurs ou des vecteurs-adjuvants tels que liposomes, composés de lipides cholestérol Quil A, vésicules contenant de la bile (bilosomes), ISCOM, microparticules de polymères biodégradables pour protéger les antigènes vaccinaux tels le polylactide-co-glycolide (PLG), le chitosan, etc. sont entreprises [10, 11].

Vaccins administrés par voie respiratoire

Différents vaccins sont ou ont été administrés par voie respiratoire (nasale ou aérosols), certains ont fait leurs preuves, il s'agit soit d'une voie classique (virus grippal vivant), soit détournée alors qu'ils sont normalement utilisés par voie parentérale (rougeole-oreillons-rubéole), d'autres sont expérimentaux...



FIG. 6. — Réalisation de spray obtenu avec une seringue pour administration du vaccin grippe vivant atténué par voie nasale [8].

FIG. 6. — Illustration of large-particle aerosol generated for intranasal application of live attenuated influenza vaccine [8].

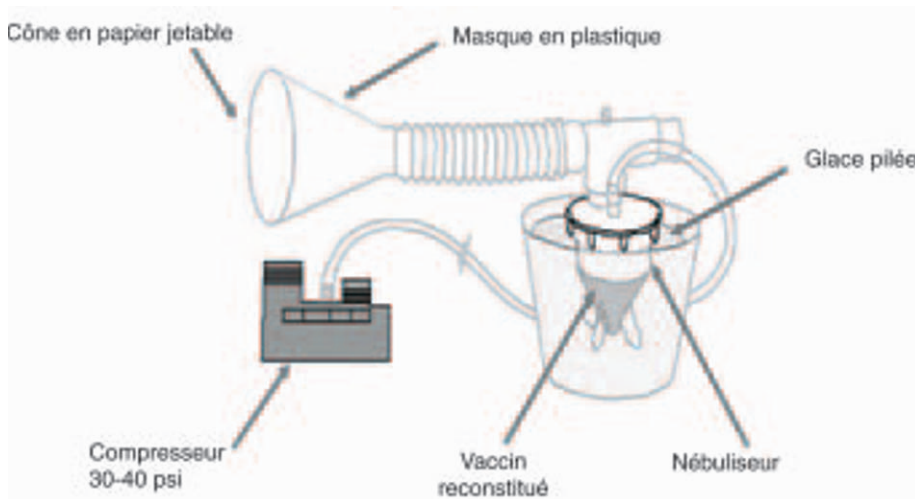


FIG. 7. — Schéma de l'appareil avec masque utilisé au Mexique pour administrer le vaccin rougeole atténué par aérosols [9].

FIG. 7. — Diagram of the classic Mexican device to produce aerosols containing measles vaccine viral particles [9].

VACCINS CLASSIQUES

Vaccin influenza

La vaccination avec des souches de virus grippal vivantes nécessite une atténuation de la virulence, plusieurs approches ont été utilisées pour obtenir cette atténuation, on cultive généralement les souches à basse température 25-26 °C au lieu de 37 °C en réalisant des dizaines de passages successifs afin d'obtenir des souches dites « cold-adapted » ou Ca. Ceci a

pour effet de réduire leur réplication par rapport aux souches de départ [8].

Puis, on fabrique les souches vaccinales en réalisant des cocultures des souches Ca atténuées et de souches grippales virulentes. La souche vaccinale (figure 8) garde six des huit gènes de la souche Ca et intègre deux gènes de la souche sauvage en l'occurrence codant l'hémagglutinine (H ou HA) et la neuraminidase (N ou NA). Le vaccin trivalent dit « live-cold adapted » (CAIV-T) contient approxi-

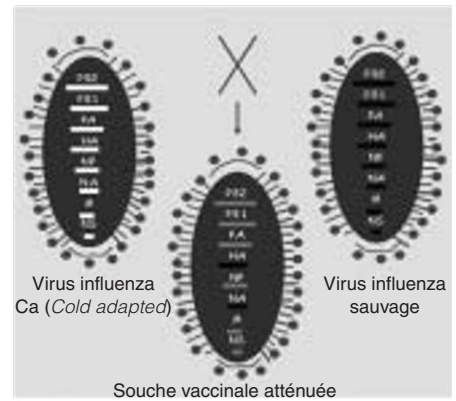


FIG. 8. — Schéma illustrant l'obtention d'un vaccin grippal vivant atténué en substituant dans la souche atténuée (Ca) hémagglutinine (HA) et neuraminidase (NA) venant d'une souche sauvage que l'on veut prévenir.

FIG. 8. — Diagram illustrating the process of genetic reassortment to generate vaccine strains. Reassorting virus containing six attenuating genes (Ca) and HA and NA genes of the wild strain for use in the vaccine.

mativement 10^7 TCID₅₀/dose de chaque souche A/H1 N1, A/H3 N2 et B ; la formule étant adaptée annuellement.

L'administration se fait par voie intranasale avec 0,5 ml à raison de 0,25 ml dans chaque narine [8].

Ce vaccin entraîne une montée des anticorps sériques dans les isotypes IgM et IgA deux semaines après vaccination, déclinant ensuite après quatre semaines, alors que le pic des IgG se situe entre les 4^e et 12^e semaines post-vaccination, ces anticorps persisteraient au moins 1 an.

Il induit une production nasale d'IgA avec un pic entre deux et onze semaines et un déclin au-delà de 6 mois ; ces isotypes peuvent persister chez l'enfant durant 1 an.

Il existe une « certaine » [12] corrélation entre les titres d'IgG et IgA sériques et muqueux. Mais la synthèse d'anticorps muqueux est considérée comme un meilleur indicateur que les anticorps sériques de l'immunogénicité du vaccin atténué. Plusieurs travaux ont analysé les résultats comparatifs de vaccinations avec des vaccins vivants atténués administrés par voie per nasale (CAIV) et de vaccins tués (TIV) en pratiquant un challenge chez les populations avec des souches sauvages H1N1 et H3N2. Clements *et al.* [13] ont montré que la protection était corrélée avec le titre des anticorps sériques pour les vaccins inactivés (titre moyen IHA : 6,4 log₂), mais pas pour les vaccins vivants (titre moyen IHA : 1,6 log₂), alors que pour ces

derniers, la corrélation est retrouvée avec le titre des IgA au niveau nasal (titre moyen IHA : 6,9 log₂). À noter que le vaccin atténué confère une réponse anticorps avec une réactivité croisée ce qui laisse espérer une protection contre les souches mutées au cours d'une même saison. Cette discordance entre titres d'anticorps sériques modestes et bonne protection est en faveur d'une protection conférée par la synthèse d'IgA au niveau de la muqueuse nasale [14].

De plus, ce vaccin vivant stimule lymphoprolifération, réponse CTL et sécrétion d'interféron gamma ce qui pourrait expliquer la protection vaccinale observée en présence d'un sous-type H1N1 différent.

Schématiquement, le vaccin tué injectable (TIV) induirait une réponse plus importante que le vaccin muqueux (CAIV) dans les IgG et IgA sériques vis-à-vis des HA.

Par contre, le vaccin atténué induit dans le lavage nasal des titres d'IgA plus élevés que le vaccin inactivé, on peut considérer que respectivement 50 % des vaccinés par le CAIV et 25 % des vaccinés TIV produisent des IgA muqueux, mais que les TIV induisent des anticorps muqueux essentiellement dans l'isotype IgG.

De nombreux travaux comparatifs CAIV et TIV ont été menés [7, 12-15].

On voit donc que les deux vaccins stimulent différemment le système immunitaire avec une efficacité assez voisine qui serait toutefois en faveur du CAIV par rapport au TIV (efficacité 85 % vs 71 %), mais tous deux révèlent une immunogénicité et une efficacité réduites chez les sujets âgés [16, 17], ce qui a pu faire proposer une association CAIV plus TIV. À noter que des essais de vaccins H5N1 « cold adapted » sont en cours [18].

Vaccin rougeole-oreillons-rubéole

Le détournement de vaccins vivants atténués destinés à être utilisés par voie intramusculaire en les administrant sous forme d'aérosols donne des résultats très encourageants.

Le contrôle des anticorps après administration chez des adultes du vaccin rougeole-oreillons-rubéole par ces deux voies, montre que les aérosols induisent des titres d'anticorps sériques plus élevés que l'administration parentérale pour les trois valences [19] (tableau 2). Mais d'autres études soulignent le fait que des infections respiratoires dues à d'autres germes sont susceptibles d'interférer avec la réponse.

Des essais de vaccination rougeole en vraie grandeur ont été entrepris sur le terrain avec la souche Schwarz au Mexique avec des résultats en terme de sécurité et d'immunogénicité très satisfaisants chez les jeunes enfants et les enfants d'âge scolarisés [9]. Au nombre des difficultés, on retrouve le problème de standardisation de l'inoculum et de maintien de la chaîne du froid.

Des dizaines de tentatives de vaccination contre la rougeole [20-22] par différentes voies ont permis de cerner les avantages et les inconvénients de celles-ci, tout particulièrement des voies muqueuses respiratoires (tableau 3) [20].

Des essais de vaccination contre la rubéole ont également été entrepris par la même voie montrant parfois une meilleure réponse par aérosols que par voie parentérale [19, 23, 24] tout particulièrement avec la souche RA 27/3 [6].

Vaccin varicelle

La vaccination par voie nasale en utilisant la souche vaccinale contre la varicelle (OKA) a induit des IgA sériques ce qui n'est pas le cas en utilisant le vaccin normalement par voie parentérale [6].

Tableau 2

Réponse immunitaire comparée chez les adultes après vaccination rougeole-oreillons-rubéole administrée par deux voies d'après [19]. *Comparative response of triple viral vaccine (MMR) in adults given by two routes [19].*

	Aérosols	Injection	P
Séropositivité			
Rougeole (120 mUI/ml)	100 %	100 %	NS
Oreillons (10 UI/ml)	93,5 %	93,8 %	NS
Rubéole (15 UI/ml)	93,5 %	89,6 %	NS
Titre des anticorps (Moyenne, écarts)			
Rougeole mUI/ml	14164 (2100-19000)	13663 (299-19000)	NS
Oreillons U/ml	3670 (9-12000)	4852 (9-11100)	NS
Rubéole UI/ml	70 (7-112)	24 (7-61)	< 0,0001

Tableau 3

Avantages et inconvénients des voies différentes d'administration à partir de l'exemple du vaccin atténué rougeole adapté de [20].

Advantages and disadvantages of several administration routes for administering measles vaccine [20].

Voie administration	Avantages	Inconvénients
Aérosols	Méthode non invasive Bonne réponse chez les enfants initialement séronégatifs et bon effet rappel chez les autres Induction d'une immunité locale Administration possible par du personnel non médical	Nécessite une chaîne du froid Possibilité de contamination du nébuliseur par reflux Difficulté d'administration chez les jeunes enfants Interférence possible avec les Ac maternels chez le jeune enfant
Intra-nasale	Méthode non invasive Bonne réponse immune en général Efficacité possible même si Ac maternels Induction d'une immunité locale Possibilité d'administration par personnel non médical	Peu adapté pour vaccination individuelle Études de tolérance à développer Imprécision dans les doses administrées Résultats assez variables selon les études Interférences possibles avec virus respiratoires dues à d'autres agents

VACCINS EXPÉRIMENTAUX

Des vaccins administrés par la muqueuse respiratoire et dirigés contre différents virus sont à l'étude, notamment dans le domaine des virus responsables de maladies émergentes.

Virus respiratoires

Des essais de vaccins grippaux utilisant non plus des virus atténués mais des antigènes purifiés, en l'occurrence des hémagglutinines d'H1N1 administrées par voie nasale et utilisant comme adjuvant des microparticules SMP (*Surf Clam Microparticles*) ont montré sur modèle souris une remarquable efficacité et une protection croisée vis-à-vis de différentes souches d'H1N1 et même d'H3N2 [25]. Des essais sont en cours avec l'hémagglutinine de l'agent de la « grippe aviaire » H5N1.

De même, des travaux réalisés chez la souris ont montré une protection conférée contre l'agent du syndrome respiratoire aigu sévère ou SRAS, après administration au niveau nasal d'une souche modifiée de *Lactobacillus casei*, recombinant exprimant la protéine S (*spike*) du coronavirus responsable du SRAS [26]. Cette vaccination anti-SRAS confère une immunité locale et systémique protectrice alors que les essais d'immunisation parentérale avaient débouché sur des échecs, mais on n'a pas noté de supériorité de la voie nasale sur la voie orale.

Différentes approches vaccinales contre le virus respiratoire syncytial sont en phase III ayant notamment recours à des fractions antigéniques (protéines F et G).

La voie muqueuse utilisant un vaccin vivant atténué semblait prometteuse [27-31].

Divers mutants ont été testés : utilisant des mutants thermosensibles *cpts* (*cold passaged temperature sensitive*), souches génétiquement modifiées avec incorporation des protéines F et G, souches chimériques humains/bovins. Ces approches sont conceptuellement intéressantes, la vaccination mimant l'infection, mais les essais sont actuellement décevants et ces vaccins ne sont pas exempts d'effets secondaires. Les résultats de l'immunisation muqueuse sont donc décevants malgré l'efficacité démontrée d'IgA anti-VRS par immunothérapie.

Récemment, on a fait exprimer un fragment (aa 130-240) de la glycoprotéine G d'une souche de VRS de sous-type A à la surface d'une bactérie commensale *Streptococcus gordonii* et immunisé des souris

par voie intranasale [32]. Cette immunisation avec une bactérie vivante recombinée a permis à la fois la synthèse d'IgA et d'IgG dans le sérum et dans le liquide bronchoalvéolaire et entraîné une réduction significative de la réplication du VRS dans les poumons des souris vaccinées, mais le taux d'IgG sériques anti-VRS apparaît très bas.

La stratégie d'immunisation antivirale (avec synthèse d'IgA locale) à l'aide d'une bactérie commensale de la muqueuse respiratoire exprimant des épitopes viraux neutralisants apparaît donc prometteuse.

Autres virus

Grâce au système MALT, on peut aussi envisager des immunisations par voie respiratoire conférant des protections contre des infections, dont la porte d'entrée est très différente, notamment génitales ou entériques. Nous prendrons quelques exemples illustrant cette approche intéressante des vaccinations muqueuses contre des infections virales non respiratoires.

La voie nasale, voire nasale plus orale, a été utilisée lors de différentes études pour immuniser contre le virus du SIDA en tentant dans un premier temps de protéger des primates non humains contre des virus apparentés au VIH (SIV mac 251, S HIV 89.6 P) en induisant une réponse sérique (IgG) voire rectale et vaginale (IgA) en utilisant des virus recombinants poliovirus 1-SIV ou des particules SIV p55 (avec de la toxine cholérique CT) : cette approche vaccinale contre le VIH a fait l'objet d'une récente synthèse dans *Nature Reviews Immunology* [4].

Les vaccins prophylactiques actuels dirigés contre les papillomavirus (génotypes 6, 11, 16, 18) sont à base de pseudo-particules virales (VLP) constituées de la protéine majeure de capsid L1 et administrées par voie intramusculaire. Des essais d'immunisation intra-nasale [33] avec des pseudo-particules VLP-L1 associées à des adjuvants (toxine cholérique détoxifiée) ont montré sur la souris que l'on induisait des anticorps anti-L1 sériques et génitaux avec présence d'IgA dans les sécrétions vaginales de la souris, mais aussi synthèse de CTL spécifiques de la protéine majeure de capsid L1.

Un autre essai [34] a montré que l'administration intranasale de la protéine VP6 de rotavirus associée à de la toxine

LT détoxifiée d'*Escherichia coli* permettait chez la souris d'induire une protection. Chez les souriceaux nouveau-nés, elle est lente à apparaître, sans production d'anticorps anti-rotavirus mais avec des cellules T mémoires spécifiques. Chez les souris adultes, la protection est rapide dès le 10^e jour et on retrouve à la fois des anticorps IgG et des cellules mémoires T anti-rotavirus.

Il ressort de cette revue bibliographique et de la littérature [6, 7, 18, 21, 35-39] concernant les vaccins anti-viraux administrés par voie respiratoire que l'efficacité est avérée chez l'homme pour des vaccins vivants atténués (grippe, voire pour rougeole-oreillons-rubéole) que cette voie est prometteuse, mais l'inoculum est parfois difficile à standardiser et on n'est pas à l'abri d'échecs dus, soit à la présence de virus interférents au moment de la vaccination ou de mutations, voire de recombinaisons génétiques entre les souches atténuées et des souches sauvages. Pour les autres vaccins ne contenant que des antigènes purifiés combinés à des adjuvants ou des épitopes exprimés par des bactéries commensales, les résultats sont encourageants, mais ne portent le plus souvent que sur des modèles animaux. Ils démontrent toutefois que la voie muqueuse respiratoire permet d'induire une immunité locale (IgA) et systémique, mais aussi d'induire une mémoire immunitaire. Enfin, la voie respiratoire (inductrice) permet d'avoir un impact (effecteur) non seulement sur les muqueuses respiratoires, mais aussi génitales et intestinales.

À noter que l'on n'a pas encore exploré tous les facteurs limitants concernant la voie muqueuse [40], notamment des phénomènes de tolérance (tolérance muqueuse) ou l'induction de phénomènes d'auto-immunité telles des maladies inflammatoires. Tous points à prendre en compte dans les investigations pré et postautorisation de mise sur le marché (AMM).

Conclusion

Si des progrès considérables ont été réalisés dans la connaissance du système immunitaire muqueux, on doit reconnaître que même si la vaccination antivirale par voie muqueuse est extrêmement satisfaisante sur le plan conceptuel, les résultats restent à ce jour assez décevants en dehors des deux

modèles que constituent la vaccination avec des souches vivantes atténuées des virus de la grippe et de la rougeole, et même dans ce cas le rôle joué par les IgA sécrétoires est discutable. On peut conclure avec J.P. Bouvet [5] que « l'utilisation du système sécrétoire en vaccinologie en est à un stade expérimental et devrait se développer dans les prochaines années... ».

Mais il faut convenir du fait que les progrès réalisés dans le domaine des vaccinations par voie muqueuse sont plus lents que ce qu'on pouvait espérer, ne fût-ce qu'il y a une dizaine d'années, mais la voie respiratoire (nasale, aérosols) reste très prometteuse.

Il est possible que les progrès viennent d'une approche plus sophistiquée avec une immunisation à l'aide de bactéries commensales vivantes exprimant les antigènes viraux neutralisants, voire « génétique » par voie muqueuse par application d'ADN exprimant un antigène sous contrôle d'un promoteur eucaryotique...

Références

- BEYTOUT J, LAURICHESSE H, REY M. Vaccinations. *Encycl Med Chir (Éditions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS, Paris, droits réservés), Maladies infectieuses, 8-002-Q-10, 2001, 14 p.*
- DREFFIER C, RAMISSE F, ALONSO JM. Immunoprophylaxie des infections respiratoires. *Médecine/Sciences 2004; 20 : 999-1003.*
- REYNOLDS HY. Normal and defensive respiratory host defenses: *In: Respiratory infections. JE Pennington New York, Raven Press 1994 : 1-33.*
- NEUTRA MR, KOZLOWSKI PA. Mucosal vaccines: the promise and the challenge. *Nat Rev Immunol 2006; 6 : 148-58.*
- BOUVET JP. Immunité des muqueuses. *In Immunité et infection. Concepts immunopathologiques et perspectives thérapeutiques. MEGE JL, REVILLARD JP, RAOULT D éd., Arnette, Paris, 1997 : 27-38.*
- DENIS F, ALAIN S, HANTZ S, *et al.* Vaccination antivirale et immunité muqueuse respiratoire : un concept séduisant pour des résultats encore décevants. *Presse Med 2005; 34 : 1245-53.*
- OGRA PL, FADEN H, WELLIVER RC. Vaccination strategies for mucosal immune responses. *Clin Microbiol Reviews 2001; 14 : 430-45.*
- BELSHE RB, MAASSAB HF, MENDELMAN PM. Influenza Vaccine-Live. *In "Vaccines" Fourth Ed SA Plotkin and WA Orenstein Ed. Saunders Philadelphia 2004, p. 371-388.*
- VALDESPINO-GOMEZ JL, DE LOURDES GARCIA-GARCIA M, FERNANDEZ-DE-CASTRO J, *et al.* Measles aerosol vaccination. *Curr Top Microbiol Immunol, Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2006; 304 : 165-93.*
- BRAYDEN DJ, BAIRD AW. Microparticle vaccine approaches to stimulate mucosal immunisation. *Microbes and Infection 2001, 3 : 867-76.*
- BRAMWELL VW, PERRIE Y. Particle delivery systems for vaccines. *Critical ReviewsTM in Therapeutic Drug carrier systems 2005; 22 : 151-214.*
- BELSHE RB, GRUBER WC, MENDELMAN PM, *et al.* Correlates of immune protection induced by live, attenuated, cold-adapted, trivalent intranasal influenza virus vaccine. *J Infect Dis 2000; 181 : 1133-7.*
- CLEMENTS ML, BETTS RF, TIERNEY EL, *et al.* Serum and nasal wash antibodies associated with resistance to experimental challenge with influenza A wild-type virus. *J Clin Microbiol 1986; 24 : 157-60.*
- GREENBAUM E, ENGELHARD D, LEVY R, *et al.* Mucosal (S-Ig A) and serum (IgG) immunologic responses in young adults following intranasal administration of one or two doses of inactivated trivalent anti-influenza vaccine. *Vaccine 2004; 22 : 2566-77.*
- COX RJ, BROKSTAD KA, OGRA P. Influenza virus: immunity and vaccination strategies. Comparison of the immune response to inactivated and live, attenuated influenza vaccines. *Scand J Immunol 2004; 59 : 1-15.*
- POWERS DC, MURPHY BR, FRIES LF, *et al.* Reduced infectivity of cold-adapted influenza A H1N1 viruses in the elderly: correlation with serum and local antibodies. *J Am Geriatr Soc 1992; 40 : 163-7.*
- TREANOR JJ, BETTS RF. Evaluation of live, cold-adapted influenza A and B virus vaccines in elderly and high-risk subjects. *Vaccines 1998; 16 : 1756-60.*
- VAN GINKEL FW, NGUYEN HH, MCGHEE JR. Vaccines for mucosal immunity to combat emerging infectious diseases. *Emerging Inf Dis 2000; 6 : 123-132.*
- DE CASTRO JF, BENNETT JV, RINCON HG, *et al.* Evaluation of immunogenicity and side effects of triple viral vaccine (MMR) in adults, given by two routes: subcutaneous and respiratory (aerosol). *Vaccine 2005; 23 : 1079-84.*
- CUTTS FT, CLEMENTS CJ, BENNETT JV. Alternative routes of measles immunization: a review. *Biologicals 1997; 25 : 323-8.*
- KAUL D, OGRA P. Mucosal responses to parenteral and mucosal vaccines. *In Pre clinical development of new vaccines. Plotkin S, Brown F, Horaud F éd. Dev Biol Stand Basel Karger 1998; 95 : 141-6.*
- SIMASATHIEN S, MIGASENA S, BELLINI W, *et al.* Measles vaccination of Thai infants by intranasal and subcutaneous routes: possible interference from respiratory infections. *Vaccine 1997; 15 : 329-34.*
- CRADOCK-WATSON JE, MACDONALD H, RIDHALGH MK, *et al.* Specific immunoglobulin responses in serum and nasal secretions after the administration of attenuated rubella vaccine. *J Hyg 1974; 73 : 127-41.*
- OGRA PL, KERR-GRANT D, UMANA G *et al.* Antibody response in serum and nasopharynx after naturally acquired and vaccine induced infection with rubella virus. *N Engl J Med 1971; 285 : 1333.*
- ICHINOHE T, WATANABE I, TAO E, *et al.* Protection against influenza virus infection by intranasal vaccine with surf clam microparticles (SMP) as an adjuvant. *J Med Virol 2006; 78 : 954-63.*
- LEE JS, POO H, HAN DP, *et al.* Mucosal immunization with surface-displayed severe acute respiratory syndrome coronavirus spike protein on *Lactobacillus casei* induces neutralizing antibodies in mice. *J Virol 2006; 80 : 4079-87.*
- GAUDELUS J. Vaccination anti-virus respiratoire syncytial. *Virologie 2003; 7 : S170-S6.*
- HALL CB, WALSH EE, LONG CE, *et al.* Immunity to and frequency of reinfection with respiratory syncytial virus. *J Infect Dis 1991; 163 : 693-8.*
- KARRON RA, WRIGHT PF, BELSHE RB, *et al.* Identification of a recombinant live attenuated respiratory syncytial virus vaccine candidate that is highly attenuated in infants. *J Infect Dis 2005; 191 : 1093-104.*
- POTHIER P, AGNELLO D, MANOHA-BOURGEOIS G, *et al.* Physiopathologie des infections à virus respiratoire syncytial. *Virologie 2003; 7 : S145-155.*
- RAZAFIMAHEFA H, LACAZE-MASMONTEIL T. Infection à virus respiratoire syncytial : facteurs de risque et immunothérapie passive. *Virologie 2003; 7 : 5162-9.*
- FALCONE V, MIHM D, NEUMANN-HAETELIN D, *et al.* Systemic and mucosal immunity to respiratory syncytial virus induced by recombinant *Streptococcus gordonii* surface-displaying a domain of viral glycoprotein G. *FEMS Immunol Med Microbiol 2006; 48 : 116-22.*
- DELL K, KOESTERS R, LINNEBACHER M, *et al.* Intranasal immunization with human papillomavirus type 16 capsomers in the presence of non-toxic cholera toxin-based adjuvants elicits increased vaginal immunoglobulin levels. *Vaccine 2006; 24 : 2238-47.*
- VAN COTT JL, PRADA AE, MC NEAL M, *et al.* Mice develop effective but delayed protective immune responses when immunized as neonates either intranasally with nonliving VP6/LT (R192G) or orally with live rhesus Rotavirus vaccine candidates. *J Virol 2006; 80 : 4949-61.*
- BOUT D, MEVELEC M.M, VELGE-ROUSSEL F, *et al.* Vaccins muqueux. *In « La vaccinologie » G.N. Cohen et P. Sansonetti Ed. Elsevier Paris 2002, p. 55-65.*
- FERRO VA, CARTER KC. Mucosal immunisation : successful approaches to targeting different tissues. *Methods 2006; 38 : 61-64.*
- OGRA PL, FISHAUT M, GALLAGHER MR. Viral vaccination via the mucosal routes. *Rev Infect Dis 1980; 2 : 352-69.*
- PLOTKIN SA. Immunologic correlates to protection induced by vaccination. *Pediatr Infect Dis 2001; 20 : 63-75.*
- Système immunitaire muqueux et vaccination. *In Vaccinations. Actualisations et perspectives. Inserm, Paris, 1999, p. 161-97.*
- IJIMA H, TAKAHASHI I, KIYONO H. Mucosal immune network in the gut for the control of infectious diseases. *Rev Med Virol 2001; 11 : 117-33.*