

**THESE**  
**POUR LE DIPLOME D'ETAT**  
**DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

**Soutenu publiquement le 17 octobre 2017**

**Par Mlle. RIVEAU Dalann**

---

**Un nouveau vaccin vivant atténué contre la  
coqueluche : de la recherche aux premiers essais cliniques**

---

**Membres du jury :**

**Président :**

Docteur Emmanuel HERMMAN, Maitre de conférences, Laboratoire d'Immunologie  
Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Université de Lille II

**Assesseur :**

Docteur Christophe CARNOY, Maitre de conférences, Laboratoire d'Immunologie  
Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Université de Lille II

**Membres extérieurs :**

Docteur Nathalie MIELCAREK, Directeur de recherche, Inserm  
Institut Pasteur de Lille

Docteur Aurélie HUYGHE, Pharmacien titulaire d'officine  
Pharmacie Saint-Pierre, Steenvoorde



## Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille



3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE CEDEX

### Université Lille 2 – Droit et Santé

Président :	Professeur Xavier VANDENDRIESSCHE
Vice- présidents :	Professeur Alain DUROCHER Professeur Régis BORDET Professeur Eric KERCKHOVE Professeur Eric BOULANGER Professeur Frédéric LOBEZ Professeur Damien CUNY Professeur Benoit DEPREZ Professeur Murielle GARCIN Monsieur Pierre RAVAUX Monsieur Larbi AIT-HENNANI Monsieur Antoine HENRY
Directeur Général des Services :	Monsieur Pierre-Marie ROBERT

### Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques

Doyen :	Professeur Damien CUNY
Vice-Doyen, 1 <sup>er</sup> assesseur :	Professeur Bertrand DECAUDIN
Assesseur en charge de la pédagogie	Dr. Annie Standaert
Assesseur en charge de la recherche	Pr. Patricia Melnyk
Assesseur délégué à la scolarité	Dr. Christophe Bochu
Assesseur délégué en charge des relations internationales	Pr. Philippe Chavatte
Assesseur délégué en charge de la vie étudiante	M. Thomas Morgenroth
Chef des services administratifs :	Monsieur Cyrille PORTA

### Liste des Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	ALLORGE	Delphine	Toxicologie
M.	BROUSSEAU	Thierry	Biochimie
Mme	CAPRON	Monique	Immunologie
M.	DECAUDIN	Bertrand	Pharmacie Galénique
M.	DINE	Thierry	Pharmacie Clinique
Mme	DUPONT-PRADO	Annabelle	Hématologie
M.	DUTHILLEUL	Patrick	Hématologie
M.	GRESSIER	Bernard	Pharmacologie
M.	LUYCKX	Michel	Pharmacie Clinique
M.	ODOU	Pascal	Pharmacie Galénique
M.	DEPREUX	Patrick	Chimie Organique (ICPAL)

### Liste des Professeurs des Universités

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	ALIOUAT	El Moukhtar	Parasitologie
Mme	AZAROUAL	Nathalie	Physique
M.	BERTHELOT	Pascal	Chimie Thérapeutique 1
M.	CAZIN	Jean-Louis	Pharmacologie – Pharmacie Clinique
M.	CHAVATTE	Philippe	Chimie Thérapeutique 2
M.	COURTECUISSÉ	Régis	Sciences Végétales et Fongiques
M.	CUNY	Damien	Sciences Végétales et Fongiques
Mme	DELBAERE	Stéphanie	Physique
M.	DEPREZ	Benoît	Chimie Générale
Mme	DEPREZ	Rebecca	Chimie Générale
M.	DUPONT	Frédéric	Sciences Végétales et Fongiques
M.	DURIEZ	Patrick	Physiologie
M.	GARÇON	Guillaume	Toxicologie
Mme	GAYOT	Anne	Pharmacotechnie Industrielle
M.	GOOSSENS	Jean François	Chimie Analytique

Mme	GRAS	Hélène	Chimie Thérapeutique 3
M.	HENNEBELLE	Thierry	Pharmacognosie
M.	LEMDANI	Mohamed	Biomathématiques
Mme	LESTAVEL	Sophie	Biologie Cellulaire
M.	LUC	Gerald	Physiologie
Mme	MELNYK	Patricia	Chimie Thérapeutique 2
Mme	MUHR – TAILLEUX	Anne	Biochimie
Mme	PAUMELLE-LESTRELIN	Réjane	Biologie Cellulaire
Mme	PERROY – MAILLOLS	Anne Catherine	Droit et économie Pharmaceutique
Mme	ROMOND	Marie Bénédicte	Bactériologie
Mme	SAHPAZ	Sevser	Pharmacognosie
M.	SERGHERAERT	Eric	Droit et économie Pharmaceutique
M.	SIEPMANN	Juergen	Pharmacotechnie Industrielle
M.	STAELS	Bart	Biologie Cellulaire
M	TARTAR	André	Chimie Organique
M.	VACCHER	Claude	Chimie Analytique
M.	WILLAND	Nicolas	Chimie Organique
M.	MILLET	Régis	Chimie Thérapeutique (ICPAL)

### Liste des Maitres de Conférences - Praticiens Hospitaliers

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	BALDUYCK	Malika	Biochimie
Mme	GARAT	Anne	Toxicologie
Mme	GOFFARD	Anne	Bactériologie
M.	LANNOY	Damien	Pharmacie Galénique
Mme	ODOU	Marie Françoise	Bactériologie
M.	SIMON	Nicolas	Pharmacie Galénique

### Liste des Maitres de Conférences

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	AGOURIDAS	Laurence	Chimie Thérapeutique 2

Mme	ALIOUAT	Cécile Marie	Parasitologie (90%)
M.	ANTHERIEU	Sébastien	Toxicologie
Mme	AUMERCIER	Pierrette	Biochimie
Mme	BANTUBUNGI	Kadiombo	Biologie Cellulaire
Mme	BARTHELEMY	Christine	Pharmacie Galénique
Mme	BEHRA	Josette	Bactériologie
M	BELARBI	Karim	Pharmacologie
M.	BERTHET	Jérôme	Physique
M.	BERTIN	Benjamin	Immunologie
M.	BLANCHEMAIN	Nicolas	Pharmacotechnie Industrielle
M.	BOCHU	Christophe	Physique
M.	BORDAGE	Simon	Pharmacognosie
M.	BRIAND	Olivier	Biochimie
Mme	CACHERA	Claude	Biochimie
M.	CARNOY	Christophe	Immunologie
Mme	CARON	Sandrine	Biologie Cellulaire (80%)
Mme	CHABÉ	Magali	Parasitologie (80%)
Mme	CHARTON	Julie	Chimie Organique (80%)
M	CHEVALIER	Dany	Toxicologie
M.	COCHELARD	Dominique	Biomathématiques
Mme	DANEL	Cécile	Chimie Analytique
Mme	DEMANCHE	Christine	Parasitologie (80%)
Mme	DEMARQUILLY	Catherine	Biomathématiques
Mme	DUMONT	Julie	Biologie Cellulaire
M.	FARCE	Amaury	Chimie Thérapeutique 2
Mme	FLIPO	Marion	Chimie Organique
Mme	FOULON	Catherine	Chimie Analytique
M.	GELEZ	Philippe	Biomathématiques
Mme	GENAY	Stéphanie	Pharmacologie Galénique
M.	GERVOIS	Philippe	Biochimie
Mme	GRAVE	Béatrice	Toxicologie
Mme	GROSS	Barbara	Biochimie

Mme	HAMOUDI	Chérifa Mounira	Pharmacotechnie Industrielle
Mme	HANNOTHIAUX	Marie-Hélène	Toxicologie
Mme	HELLEBOID	Audrey	Physiologie
M.	HERMANN	Emmanuel	Immunologie
M.	KAMBIA	Kpakpaga Nicolas	Pharmacologie
M.	KARROUT	Youness	Pharmacotechnie Industrielle
Mme	LALLOYER	Fanny	Biochimie
M.	LEBEGUE	Nicolas	Chimie Thérapeutique 1
Mme	LECOEUR	Marie	Chimie Analytique
Mme	LEHMANN	Hélène	Droit et Economie Pharmaceutique
Mme	LIPKA	Emmanuelle	Chimie Analytique
Mme	MARTIN	Françoise	Physiologie
M.	MOREAU	Pierre Arthur	Sciences végétales et fongiques
Mme	MUSCHERT	Susanne	Pharmacotechnie Industrielle
Mme	NEUT	Christel	Bactériologie
Mme	NIKASINOVIC	Lydia	Toxicologie
Mme	PINÇON	Claire	Biomathématiques
M.	PIVA	Frank	Biochimie
Mme	PLATEL	Anne	Toxicologie
M.	RAVAUX	Pierre	Biomathématiques
Mme	RIVIERE	Céline	Pharmacognosie
Mme	ROGER	Nadine	Immunologie
M.	ROUMY	Vincent	Pharmacognosie
Mme	SEBTI	Yasmine	Biochimie
Mme	SIEPMANN	Florence	Pharmacotechnie Industrielle
Mme	SINGER	Elisabeth	Bactériologie
Mme	STANDAERT	Annie	Parasitologie
M.	TAGZIRT	Madjid	Hématologie
M.	WILLEMAGNE	Baptiste	Chimie Organique
M.	WELTI	Stéphane	Sciences Végétales et Fongiques
M.	YOUS	Saïd	Chimie Thérapeutique 1
M.	ZITOUNI	Djamel	Biomathématiques

---

M.	FURMAN	Christophe	Pharmacobiochimie (ICPAL)
Mme	GOOSSENS	Laurence	Chimie Organique (ICPAL)
Mme	LELEU-CHAVAIN	Natascha	ICPAL

---

### Professeurs Agrégés

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	MAYES	Martine	Anglais
M.	MORGENROTH	Thomas	Droit et Economie Pharmaceutique

---

### Professeurs Certifiés

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	HUGES	Dominique	Anglais
Mlle	FAUQUANT	Soline	Anglais
M.	OSTYN	Gaël	Anglais

---

### Professeur Associé - mi-temps

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	DHANANI	Alban	Droit et Economie Pharmaceutique

---

### Maîtres de Conférences ASSOCIES - mi-temps

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	BERTOUX	Elisabeth	Pharmacie Clinique - Biomathématiques
M.	BRICOTEAU	Didier	Biomathématiques
M.	CUCCHI	Malgorzata	Information Médicale
M.	FRIMAT	Bruno	Pharmacie Clinique
M.	GILLOT	François	Droit et économie Pharmaceutique
M.	MASCAUT	Daniel	Pharmacie Clinique
M.	ZANETTI	Sébastien	Biomathématiques

---

## AHU

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	DEKYNDT	Bérengère	Pharmacie Galénique
M.	PEREZ	Maxime	Pharmacie Galénique

---

***Faculté des Sciences Pharmaceutiques  
et Biologiques de Lille***

3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE CEDEX

Tel. : 03.20.96.40.40 - Télécopie : 03.20.96.43.64

<http://pharmacie.univ-lille2.fr>

**L'Université n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses ; celles-ci sont propres à leurs auteurs.**

## Remerciements :

Merci au Dr Hermann pour ces conseils depuis plusieurs années et qui me fait l'honneur de présider le jury de ma soutenance de thèse.

Tous mes remerciements au Dr Carnoy qui a bien voulu superviser mon travail et me consacrer de son temps précieux.

Au Dr Mielcarek que j'ai côtoyé à travers ses remarquables travaux. Merci d'avoir bien voulu juger mon travail.

A Aurélie, le Dr Huyghe, pour m'avoir donné ma chance. Merci pour ta gentillesse sans limite et pour m'avoir redonné confiance, en moi et au métier de pharmacien.

A mes parents, pour votre soutien à toute épreuve et votre amour inconditionnel. Grace à vous j'ai pu me former à un métier passionnant. Merci !

A mon père, qui m'a permis de me découvrir et de me transmettre la passion de la science, grâce aux dessins sur le tableau blanc.

A mon cher et tendre Julien qui a dû supporter mon caractère et mes doutes. Merci de m'avoir soutenu tout au long de mon parcours et pour toutes tes charmantes attentions.

A Anne-Marie, pour ton soutien et tes conseils si précieux, merci.

A mes grand parents, mes oncles et tantes, cousins, cousines, demi-frères qui ont formé autour de moi une chaîne d'affection si sincère.

A Coralie, mon âme sœur au féminin, mon modèle. Merci à toi et à Florian pour tous ces moments passés à quatre et pour les prochains. Merci d'être là.

A mes amis, Aude, Hélène, Pauline, Mélanie, Pierre et Simon, merci pour ces 6 années passées ensemble, remplis de fou rires, de soirées mémorables et de partages du stress des examens.

A mes beaux-parents, à Alexandre, Clémence et Charlotte, je ne vous oublie pas même si des kilomètres nous séparent.

Mes anciennes collègues, Marie, Janyck, Delphine L, Delphine P, Sylvie et Cathy qui sont devenu des amies, pour ces bons moments passés ensemble.

A mes petits monstres, Mia et Snow pour leurs ronrons et leur présence au quotidien.

**Marius** : *Oh, vous savez, la coqueluche, ce n'est pas si terrible !*

**César** : *Malheureux ! Ça s'attrape rien qu'en regardant ! C'est une espèce de microbe voltigeant, cent millions de fois plus petit qu'un moustique ! Et c'est un monstre qui a des crochets terribles... Et dès qu'il voit un petit enfant, cette saloperie lui saute dessus, et essaye de lui manger le gosier, et lui fait des misères à n'en plus finir !*

Marcel Pagnol ; *Marius*, 1931

## Table des matières

<b>Introduction.....</b>	<b>17</b>
<b>I- La coqueluche.....</b>	<b>18</b>
A- Historique.....	18
B- La transmission.....	20
C- Epidémiologie.....	23
D- Manifestations cliniques.....	26
1- La forme classique typique chez l'enfant non vacciné .....	27
2- La forme clinique chez le nourrisson non vacciné (âge < 6 mois).....	29
a- Forme classique :.....	29
b- Forme grave ou coqueluche maligne :.....	30
c- La forme clinique de l'enfant anciennement vacciné et de l'adulte : .....	32
E- Diagnostic .....	34
1- Diagnostic clinique.....	34
2- Diagnostic différentiel.....	34
3- Diagnostic biologique .....	35
4- Diagnostic bactériologique .....	35
a- Diagnostic direct .....	35
Le prélèvement :.....	36
La Culture : .....	36
La PCR :.....	37
b- Diagnostic indirect : La sérologie :.....	38
F- Mesures thérapeutiques et préventives .....	39
1- Les différentes mesures et traitements .....	39
a- Hospitalisation :.....	39
b- Isolement : .....	40
c- Traitements :.....	40
Traitements antibiotiques :.....	40
d- Mesures associées :.....	43
e- Mesure pour l'entourage :.....	44
2- La prévention.....	45
3- Cas de la femme enceinte.....	45
<b>II- Bactérie de la coqueluche : <i>B. pertussis</i> .....</b>	<b>47</b>
A- Présentation.....	47
B- Le génome de <i>B. pertussis</i> .....	48
C- Les antigènes ou facteurs de virulence de <i>B. pertussis</i> .....	49

1-	Les toxines.....	50
a-	La toxine coquelucheuse ou pertussique (PTX) :.....	50
b-	L'adénylate cyclase (ACT) : .....	52
c-	La cytotoxine trachéale (TCT) : .....	53
d-	La toxine dermonécrotique (DNT) :.....	53
e-	L'endotoxine lipopolysaccharidique :.....	54
2-	Les adhésines .....	54
a-	L'hémagglutinine filamenteuse (FHA) : .....	54
b-	Les fimbriae (FIM) : .....	56
c-	La pertactine (PRN) :.....	57
d-	Le facteur de colonisation trachéal (Tcf) :.....	57
3-	Les propriétés de la bactérie.....	58
a-	L'adhésion : .....	58
b-	Virulence : .....	59
c-	Cytotoxicité : .....	59
d-	Formation de biofilm :.....	60
e-	Acquisition du fer : .....	60
D-	La réponse immunitaire induite par <i>B. pertussis</i> .....	60
1-	L'immunité innée.....	61
2-	L'immunité adaptative .....	62
a-	L'immunité humorale : .....	63
b-	L'immunité cellulaire :.....	63
c-	Action des facteurs de virulence de <i>B. pertussis</i> sur le système immunitaire : ....	64
<b>III-</b>	<b>Vaccins actuels .....</b>	<b>66</b>
A-	Les vaccins cellulaires .....	66
B-	Les vaccins acellulaires .....	67
C-	Effets indésirables et contre-indications.....	69
1-	Au sujet des vaccins cellulaires.....	69
2-	Au sujet des vaccins acellulaires.....	70
D-	Modalité de la vaccination .....	71
E-	Réponse immunitaire induite par les vaccins.....	72
1-	La nature de la réponse immune induite.....	72
2-	La durée de l'immunité protectrice .....	75
3-	Le type de protection induite.....	76
F-	Plan vaccinal .....	76
<b>IV-</b>	<b>La voie nasale .....</b>	<b>79</b>

A-	Introduction .....	79
B-	Anatomie du nez .....	79
	<i>a- Les cartilages :</i> .....	79
	<i>b- Les cornets :</i> .....	80
	<i>c- Les sinus :</i> .....	82
	<i>d- Les voies de communication avec le nez :</i> .....	82
	<i>e- La muqueuse :</i> .....	83
C-	Rôles et fonctions .....	84
	1- Conditionnement de l'air .....	84
	2- Fonction de défense .....	85
	3- L'olfaction .....	86
D-	Histologie nasale.....	86
	1- Le vestibule nasal .....	88
	2- Les fosses nasales .....	88
	3- Les sinus .....	88
E-	Les systèmes de défenses locales .....	89
	1- La 1 <sup>ère</sup> ligne de défense : l'inflammation .....	89
	2- La 2 <sup>ème</sup> ligne de défense : la muqueuse respiratoire.....	90
	<i>a- La barrière épithéliale :</i> .....	90
	<i>b- La flore commensale :</i> .....	90
	<i>c- Le système muco-ciliaire :</i> .....	90
	3- La 3 <sup>ème</sup> ligne de défense: système immunitaire annexé à la muqueuse nasale .....	91
	<i>a- Présentation :</i> .....	91
	<i>b- Le système MALT :</i> .....	92
	<i>c- La mise en place d'une réponse immunitaire :</i> .....	93
	<i>d- Les lymphocytes T muqueux cytotoxiques :</i> .....	93
	<i>e- Les IgA :</i> .....	94
<b>V-</b>	<b>Développement d'un vaccin vivant atténué par voie nasale contre la</b>	
	<b>coqueluche.....</b>	<b>96</b>
A-	Introduction .....	96
B-	Le projet CHILD-INNOVAC .....	98
	1- Organisation .....	98
	2- Les objectifs du projet CHILD-INNOVAC.....	99
	3- Les activités de recherche du projet CHILD-INNOVAC .....	99
	4- La souche utilisée lors de l'essai clinique .....	100
	5- Niveau de biosécurité.....	101

C-	Phase préclinique .....	102
1-	Objectifs des essais précliniques .....	102
2-	Expérimentations précliniques.....	103
	<i>Les modalités :</i> .....	103
3-	Analyse des expériences effectuées .....	103
a-	<i>Analyse histologique :</i> .....	103
b-	<i>Production d'anticorps spécifiques :</i> .....	104
c-	<i>La protection induite par l'administration de BPZE1 :</i> .....	105
d-	<i>Longévité de la protection induite par BPZE1 :</i> .....	106
e-	<i>Induction d'une immunité innée :</i> .....	106
4-	Conclusion des études précliniques .....	106
5-	Sécurité de PBZE1 dans les modèles de souris.....	107
D-	L'essai clinique de phase 1 (110).....	108
1-	Production du vaccin.....	108
2-	Le vaccin utilisé.....	109
3-	Les modalités de l'essai.....	109
4-	Les sujets de l'étude.....	110
5-	Suivie des sujets .....	112
6-	Collecte et analyse des échantillons.....	115
	Evaluation de la réponse des lymphocytes B : .....	116
	Analyse des taux d'IgG sérique :.....	117
<b>VI-</b>	<b>Conclusion .....</b>	<b>120</b>
A-	Vaccination avec BPZE1 .....	120
B-	Les avantages de la vaccination par voie nasale .....	122
C-	Vaccination et pharmacien .....	123
<b>VII-</b>	<b>Bibliographie .....</b>	<b>124</b>
<b>VIII-</b>	<b>Annexe .....</b>	<b>132</b>

# Introduction

La coqueluche est une maladie infectieuse qui a accompagnée l'homme depuis des siècles. S'adaptant aux espèces et pourvu d'un système de transmission adapté à la promiscuité des individus vivant nécessairement en groupe, la bactérie *Bordetella pertussis* reste un problème de santé publique.

Ce germe provoque une physiopathologie souvent mortelle chez le nourrisson et reste une cible permanente et prioritaire pour la recherche médicale.

Dans cette thèse, nous aborderons quelques données historiques de la coqueluche, la présentation de son agent étiologique, son épidémiologie, les réactions immunitaires qui lui sont propres, et les moyens de prévention et de lutte contre cette maladie.

Nous abordons ensuite la vaccination anti-coquelucheuse et ses limites, qui pourraient être reculées par le développement d'un tout nouveau vaccin administrable par voie nasale. Ainsi, notre travail s'est focalisé sur les premiers essais cliniques utilisant une souche de *B. pertussis* modifiée développée par l'équipe du Docteur Camille Locht à l'Institut Pasteur de Lille. Cette souche appelée BPZE1 qui ne présente plus les éléments pathogènes induisant la maladie mais à qui l'on a préservé les qualités colonisatrices et immunisantes, représente sans aucun doute, un tournant décisif en santé publique vis-à-vis d'une maladie infantile toujours si préoccupante.

*Cette thèse se veut être un hommage aux chercheurs qui, dans l'ombre, œuvrent avec dévouement à la santé de l'humanité.*

# I- La coqueluche

## A-Historique

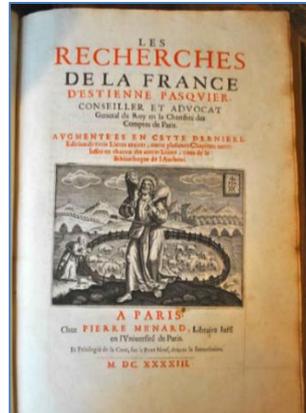
L'époque exacte d'apparition de la coqueluche reste inconnue. Il est probable qu'elle serait survenue pour la première fois en Afrique de l'Est ou dans les Indes orientales. C'est en 1414 qu'elle semble faire son apparition en Europe et plus particulièrement en France. Des épidémies sont décrites en Suède, en 1679. Entre 1749 et 1764 cette maladie aurait entraîné la mort de 43 393 enfants en Europe.

La maladie se développe alors sur le continent américain, puis en Australie et en Océanie, et provoque une mortalité infantile élevée. Au XIX<sup>e</sup> siècle, la coqueluche et la rougeole, sont les premières causes de décès d'enfants par maladies infectieuses. On rapporte alors la mort par coqueluche d'un enfant sur 1 000. Néanmoins, il faut comprendre que la coqueluche fut souvent confondue avec d'autres infections pulmonaires.

Les premières descriptions cliniques sont faites par Hippocrate, et mentionnées également dans les œuvres d'Avicenne. Mais la première description clinique authentique sera faite par Guillaume de Baillou en 1578, lors d'une épidémie à Paris (1). Cette maladie sera alors appelé *Tussis quinta* ou *Tussis quintana* qui vient de cinq en latin. D'après Baillou, il aurait remarqué que les accès de toux survenaient toutes les 5 heures (2). Ce « *quinta* » ou « *quintana* » pourrait être également associé à la quinte musicale, car le malade émettait un son bitonal réalisant un accord de quinte.

Le terme « coqueluche » a été utilisé pour la première fois en 1414, et aurait plusieurs origines. Ce terme dérivé du latin *cucullum* pourrait désigner un capuchon porté par les malades pour se protéger du froid et qui ressemblait au coqueluchon de moine. Ce terme apparaît clairement comme un nom d'origine populaire et qui sera ensuite repris par la Médecine. En 1580, ce terme de « Coqueluche » disparue du vocabulaire médicale pour ensuite réapparaître en 1724. Cette maladie a porté de nombreux noms différents au cours des siècles et dans différents pays ; le nom de « chant du coq » en France, Mal du Mouton ou Toux de l'Ane en Italie, Mal des Poules en Allemagne et Toux des 100 Jours en Chine. On aura aussi noté les termes comme Tac, Horion, Vervecine, Gloussement de la Poule et Fièvre Catarrheuse.

Au cours des XVI-XVII<sup>ème</sup> siècles, on pourra également associer le terme de coqueluche au coquelicot ou Pavot (*papaver somniferum*), utilisé pour dans préparation d'un sirop antitussif pour la toux quinteuse. (3).



**Figure 1 : Etude d'Etienne Pasquier sur les épidémies de coqueluche en France**  
[https://books.google.fr/books?id=gmJEAAAACAAJ&printsec=frontcover&hl=fr&source=gbs\\_ge\\_summary\\_r&cad=0#v=onepage&q&f=false](https://books.google.fr/books?id=gmJEAAAACAAJ&printsec=frontcover&hl=fr&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false)

Plusieurs épidémies furent décrites par Etienne Pasquier en France comme celles de 1403 et de 1411, avec des signes similaires à la pathologie coquelucheuse comme les toux convulsives (Figure 1) (4). Par la suite, de nombreuses épidémies furent décrites en Europe durant le XVIII<sup>ème</sup> et le XIX<sup>ème</sup> siècle.

C'est à partir du XIX<sup>ème</sup> siècle que la coqueluche fut décrite cliniquement en France, en Allemagne et en Angleterre comme étant une maladie à 3 phases : l'invasion (*stadium catarrhale*) comparée à un rhume classique avec une toux sèche, la période convulsive (*stadium convulsivum*) et enfin la période d'expectoration (*stadium miasmaticum*). (5).



Figure 2 : Photographie de Jules Bordet (à gauche) et d'Octave Gengou (à droite) [https://fr.wikipedia.org/wiki/Jules\\_Bordet](https://fr.wikipedia.org/wiki/Jules_Bordet)

En 1900, l'agent de la coqueluche fut identifié à Bruxelles, par deux immunologistes, microbiologistes, Jules Bordet et son beau-frère Octave Gengou (Figure 2). Lors d'observation microscopiques, ils identifièrent la bactérie dans des expectorations d'un nourrisson de 5 mois atteint de la maladie. Ils n'arriveront pas à isoler l'agent infectieux du fait de la trop grande fragilité de la bactérie. Ce fut en 1906, que la bactérie fut isolée la première fois sur un milieu à base d'extrait de pomme de terre supplémenté de sang défibriné de lapin, cheval ou mouton, et cela à partir des expectorations du fils de Jules Bordet (6,7). Par ailleurs, J. Bordet et O. Gengou mettent en évidence la production d'une endotoxine par cette bactérie et mettent au point les conditions de production d'un vaccin coquelucheux composé de bactéries entières (8).

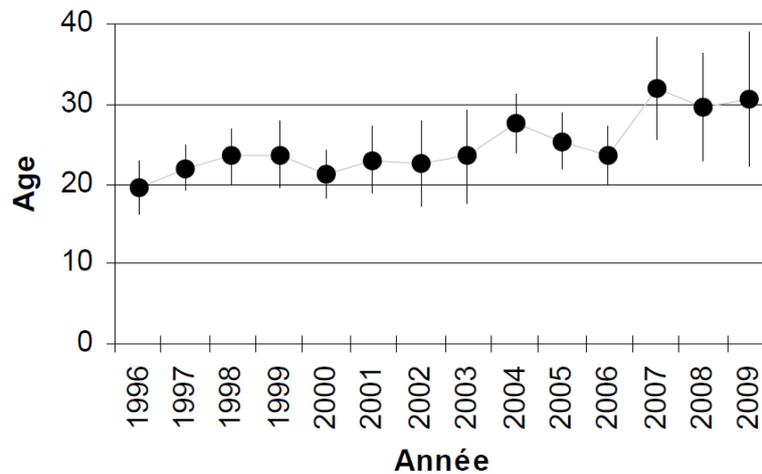
Tous d'abord dénommée *Haemophilus pertussis* ou *Bacillus pertussis*, c'est en 1950 avec la description du genre *Bordetella* Moreno Lopez que cette bactérie sera renommé *Bordetella pertussis* en hommage à Jules Bordet prix Nobel de Médecine en 1919 (9,10).

## B- La transmission

L'hypothèse avancée de l'origine de *Bordetella pertussis* serait l'adaptation à l'homme d'une bactérie d'origine animale, en particulier d'animaux domestiques. Il semblerait en effet que cette bactérie dérive d'une *Bordetella bronchiseptica* pouvant infecter un certain nombre de mammifères et qui se serait adaptée à l'homme. Les hypothèses qui en découlent sont que, soit *B. pertussis* serait adapté à l'homme depuis longtemps mais que son introduction en Europe serait récente ; soit *B. bronchiseptica* se serait adaptée à l'Homme il y a un ou deux millions d'année mais que *B. pertussis* ne se serait que récemment particularisée (11).

La transmission se fait par voie aérienne, via des gouttelettes (gouttes de grande taille > 5 µm véhiculées sur des distances inférieures à 1 mètre) ou via des aérosols (gouttes de petites tailles, < 5 µm, véhiculées sur de grande distance pouvant aller jusqu'à 10 mètres). (12). La coqueluche est très contagieuse, en effet, le taux

atteinte secondaire peut être de plus de 90 % chez les sujets les plus proches et non immunisés.



**Figure 3 : Etude du réseau Renacoq sur l'âge des contamineurs chez les enfants de moins de 6 mois. (17)**

Cette transmission se fait donc au contact d'un sujet malade, lors de la toux. Elle est fortement intrafamiliale ce qu'on appelle la contamination verticale. Le stéréotype de la coqueluche véhiculée par les enfants entre eux au sein des collectivités, semble pouvoir être écarté. A la vue des résultats de l'enquête menée par le réseau Renacoq (Figure 3), on remarque que l'âge moyen des contamineurs est de 31 ans depuis 2007 alors qu'elle était en moyenne de 25 ans en 1996 (13). Selon des données 2013 de l'Institut de Veille Sanitaire (InVS), les sources de contamination sont dans la majorité des cas (plus de 50%) sont les adultes et que la transmission s'est effectuée par contamination verticale (14). Ainsi, le réservoir actuel le plus important est constitué par les adultes. Néanmoins, le nourrisson peut être également contaminé par la fratrie et ceci dans 27% des cas. Ce rôle de réservoir de la bactérie que sont les adultes a été démontré dans plusieurs pays dont la France. Une étude réalisée en région parisienne montre que 32% des adultes qui sont suivis pour une toux persistante de plus de 7 jours sont positifs au test de la coqueluche (15).

Par contre, aux Etats-Unis, une étude récente effectuée entre 2006 et 2013, démontre que la fratrie est majoritairement mise en cause pour la contamination des nouveau-nés (35,5%) (16).

De toute évidence, il est fortement conseillé qu'une enquête soit menée par l'équipe médicale autour du sujet malade pour dépister les contamineurs. Elle permet en outre de traiter rapidement les autres malades et de réduire la propagation de la maladie, surtout chez les sujets les plus à risque : nouveau-nés et nourrissons, femmes enceintes, personnes âgées et asthmatiques.

Les résultats d'une étude menée par le réseau de Renacoq sur les types de contamineur de 1996 à 2015 (extrait du bilan établi par les participants du réseau Renacoq (17)) sont présentés dans le tableau suivant:

**Tableau 1 : Répartition des types de contamineurs des nourrissons en fonction des ans.**

Années		1996 - 2001	2002 - 2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015
Type de contamineur	Parents	53%	60%	48%	52%	61%	63%	67%	57%	56%
	Fratrie	28%	18%	21%	22%	27%	27%	27%	20%	40%
	Grand parents							7%	6%	8%
	Autres	17%	21%	31%	26%	13%	9%	19%	20%	4%
	Inconnu	2%	1%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%

On observe qu'en grande majorité les parents sont les 1<sup>ers</sup> contamineurs des enfants (Tableau 1). On peut observer que la transmission par la fratrie, est en forte progression depuis 2015.

Depuis son origine, la propagation de la maladie par *B. pertussis* a vraisemblablement été interhumaine. Cette propagation serait liée à l'accroissement des densités de populations et aux échanges par transport de plus en plus nombreux et rapide. La contagiosité de la coqueluche est très élevée. Elle est maximale pendant la phase catarrhale puis elle diminue avec le temps. Elle est considérée comme nulle après 5 jours de traitement antibiotique efficace. Sans traitement, la période de contagiosité est estimée à 21 jours dès le début de la toux, mais elle peut être plus longue chez les nourrissons. La particularité de cette maladie est qu'elle n'est pas considérée comme infantile à l'inverse de nombreuses infections, et il est possible d'avoir plusieurs fois la coqueluche au cours de la vie (15).

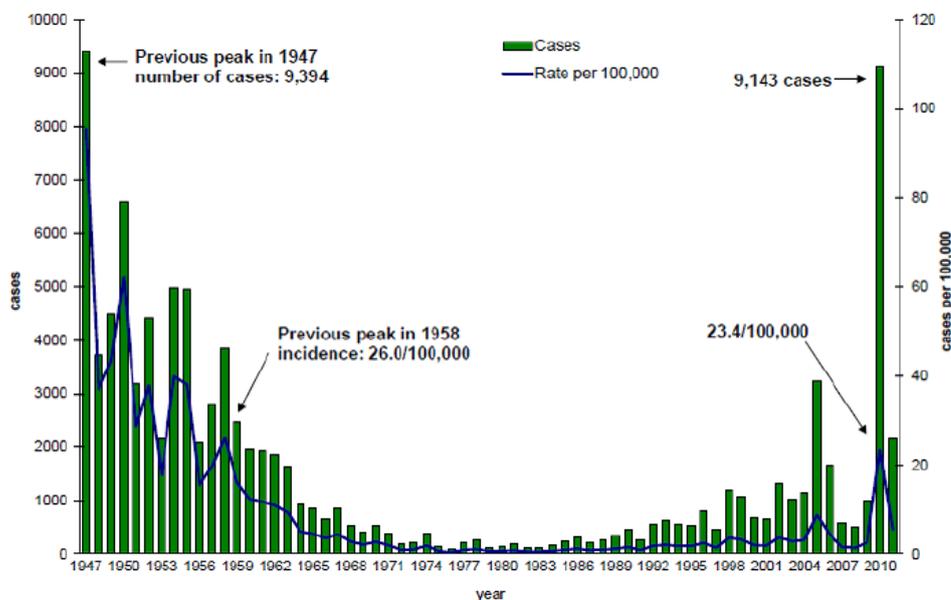
## C-Epidémiologie

Au sein de la population, la coqueluche est une maladie infectieuse cyclique, dont la périodicité est estimée à environ 3 à 5 ans en moyenne. Cette caractéristique n'a pas changé avec l'introduction des vaccins (16).

L'incidence moyenne chez les nourrissons de moins de trois mois varie de 96 à 444 / 100,000 (réseau Renacoq) selon les années (17). Il y a 70 ans, l'incidence de la coqueluche était la plus élevée chez les 5–7 ans. Elle était considérée alors comme une pathologie pédiatrique. La coqueluche est une cause majeure de mortalité infantile au même titre que la rougeole et la diphtérie (18).

Depuis plusieurs années et malgré la couverture vaccinale, on observe une recrudescence de la coqueluche dans le monde. Elle est toujours une maladie d'actualité, et reste endémique dans tous les pays.

De 1947 à 1980, aux Etats-Unis, l'incidence de la coqueluche a diminué significativement grâce à l'introduction du premier vaccin en 1949 (Figure 4) (19, 20).



**Figure 4 : Nombre de cas de coqueluche par an en Californie aux USA 1947 à 2011 (13).**

En 1980, à Bass aux Etats Unis, on observe une augmentation de nouveau-nés hospitalisés par suite d'une épidémie de coqueluche, soit 35 ans après la mise sur le marché du premier vaccin (19).

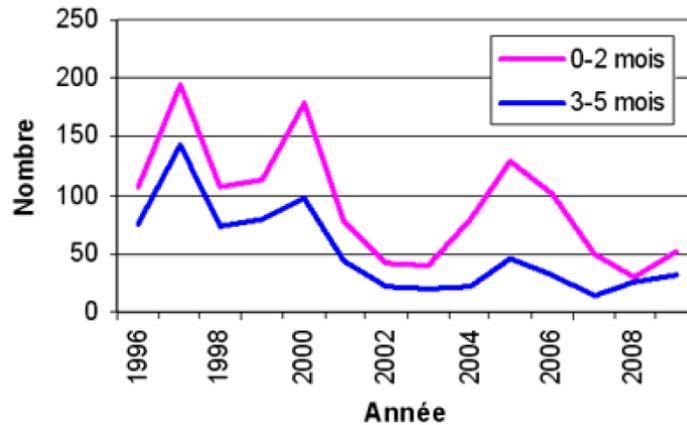
Depuis 1980, l'incidence de la maladie n'a cessé d'augmenter pour revenir au même nombre de cas qu'en 1947 (20). La surveillance de la coqueluche aux USA a montré que de 1997 à 2000, 29% des cas restitués ont moins de un an, 22% ont entre 1 an et 9 ans, 29% entre 10 et 19 ans et 20% pour les plus de 20 ans (21). Ce qui montre bien le « vide » de protection contre la coqueluche chez les plus jeunes.

En France, de 1903 à 1986, la coqueluche a été surveillée par notification. Depuis 1986, la coqueluche n'a plus le statut de maladie à déclaration obligatoire. Mais l'inquiétude d'une résurgence de la coqueluche, observée notamment aux USA, a amené spécialement en 1993 et 1994 à réaliser une enquête préliminaire qui à attester de la persistance de la circulation et la mobilité de la bactérie.

En 1993, l'Institut Pasteur a mis en place par son Centre National de Référence (CNR), un réseau de surveillance des formes pédiatriques sévères. Ce réseau permet l'identification et la surveillance des souches qui lui sont adressées par l'ensemble des laboratoires hospitaliers français (15). De plus, entre 1982 à 1999, 61 décès provoqués par la coqueluche ont été déclarés en France dont 85% sont survenus chez des enfants de moins d'un an. (15).

Une étude française réalisée sur un an, fin des années 90, dans 30 unités de réanimation pédiatrique montre que cette bactérie est la première cause de décès par infection bactérienne communautaire chez le nourrisson entre 10 jours et 2 mois et constitue la 3<sup>ème</sup> cause (13%) de décès tous âges confondus, après le pneumocoque (28%) et le méningocoque (34%). En 2001, la coqueluche fut également la 1<sup>ère</sup> cause de décès par infection bactérienne chez les enfants de moins de 3 mois en France (16).

Ainsi, de 1979 à 2011, la quasi-totalité des décès survient avant l'âge de 3 mois. La moyenne est de 3 décès environ par an (entre 0 et 11 décès selon les années). Le nombre maximum de décès a été observé au moment des pics de 2000 et 2005 avec 10 décès chez des enfants âgés de moins de 1 an (15 ; CépiDC, Inserm. 2014. Données de mortalité. <http://www.cepidc.vesinet.inserm.fr/>).



**Figure 5 : Graphique représentant les cas annuels chez les enfants de moins de 5 mois documenté par le réseau Renacoq (13).**

L'année 1996, a vu la création d'un réseau de surveillance des formes pédiatriques sévères de la coqueluche dans les services pédiatriques 44 hôpitaux, de l'hexagone appelé RENACOQ, dirigé par le Docteur Nicole Guiso (15,17). Les cas de coqueluche vus en consultation ou hospitalisation par les cliniciens et bactériologistes, sont alors notifiés à l'InVS (14) (Figure 5). Entre 1996 et 2012, 3318 cas ont été recensés et confirmés chez les moins de 5 mois, par ce réseau de surveillance. Parmi ces patients, 64% avaient moins de 2 mois et la mortalité dans cette population s'est élevée à 33 décès. On a recensé au cours de cette période 4 décès chez les 2 à 5 mois (15, 22, 23). En 2011, RENACOQ a répertorié une augmentation de la fréquence des cas pédiatriques hospitalisés dont 54% étaient chez les moins de 6 mois (Figure 5), dont 210 cas sur 100 000 chez les moins de 3 mois. Chez les adultes, l'incidence est estimée à 507 cas sur 100 000 (24, 25).

Aux Etats-Unis, en 2012, le nombre de cas de coqueluche notifiés a atteint le chiffre record de 48 277 cas dont 20 patients décédés (26). Durant la même année, au Royaume-Uni, 10 000 cas recensés et confirmés sont apparus dont 14 décès d'enfant (27). On retrouve la même chose dans d'autres pays Européens, Pays-Bas (28), Norvège (29) et l'Allemagne (30) et hors Europe comme en Australie (23, 31)

L'OMS, en 2008, estime que 16 millions de personnes sont affectées par la coqueluche et dont 195 000 enfants meurent chaque année de cette maladie. Néanmoins, ces données sont probablement largement sous-estimées notamment

dans les pays en développement où la coqueluche est toujours circulante (32) et les campagnes de vaccination souvent erratique malgré des efforts de l'UNICEF.

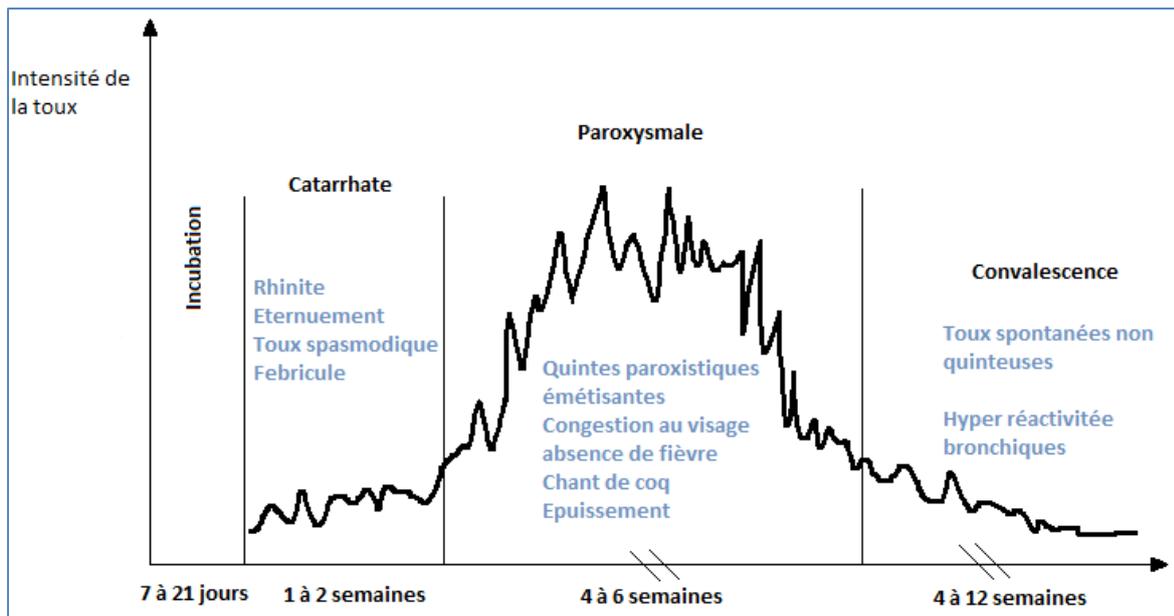
## D-Manifestations cliniques

La coqueluche est une infection bactérienne de l'arbre respiratoire inférieure. Elle est peu ou pas fébrile, d'évolution longue et hautement contagieuse. Ce sont deux bactéries du genre *Bordetella* qui sont responsables des signes cliniques ; *B. pertussis* et *B. parapertussis*. Dans ce mémoire, nous nous intéresserons essentiellement à *B. pertussis*. *B. parapertussis* provoquant une coqueluche beaucoup moins sévère.

Cette maladie se caractérise par une association de deux syndromes :

- Un syndrome infectieux durant lequel la bactérie se fixe et se multiplie dans les cellules cibles, cellules ciliées, qui tapissent l'arbre respiratoire, trachée et bronches.
- Un syndrome toxique généré par les toxines que cette bactérie sécrète qui vont détruire ces mêmes cellules ciliées.

L'expression clinique de la coqueluche est variable selon les sujets, leurs âges et de leur situation vaccinale. La coqueluche se caractérise par plusieurs phases, dont l'intensité de la toux sera plus ou moins importante (Figure 6). Les cas de porteurs chroniques asymptomatiques sont rares.



**Figure 6 : Intensité de la toux et autres symptômes suivant les phases de l'infection par la coqueluche. (7)**

1- La forme classique typique chez l'enfant non vacciné (15, 33, 34, 35)

- L'incubation est de 10 jours en moyenne, elle peut s'étendre de 7 à 21 jours.
- La période d'invasion ou catarrhale est d'une dizaine de jours et est caractérisée par l'apparition une toux sèche banale au début associée à une rhinite, des éternuements et une fébricule. Puis la toux pour devenir progressivement tenace, spasmodique, émétisante, à prédominance nocturne et rebelle aux antitussifs puis devient quinteuse à la période paroxystique. L'enfant reste apyrétique. On pense souvent à une trachéobronchite, à un corps étranger inhalé si la toux est résistante et épuisante voire à une allergie.
- La période paroxystique ou d'état ou phase des quintes, qui durent 4 à 6 semaines, se caractérise par des quintes paroxystiques qui sont des accès répétitifs et violents de secousses expiratoires de toux sans inspiration efficace, entraînant alors une cyanose, une congestion du visage et finissant par une reprise inspiratoire sonore caractéristique qui possède le nom de

« chant de coq ». Il n'y aura pas de fièvre durant cette période. Ces quintes sont épuisantes pour le malade. Ce sont des toux très caractéristiques, il y a tout d'abord une « préparation de la quinte », l'enfant s'immobilise et paraît inquiet. Puis il réalise d'une seule traite une quinte sans reprise respiratoire jusqu'à vider complètement ses poumons ; enfin reprend sa respiration, qui est très ample et bruyante avant de tousser de nouveau. Cette respiration peut être accompagnée d'expectoration finale comme des mucosités adhérentes qui peuvent être transparentes ou blanchâtres. Elles peuvent être accompagnées de vomissement, elles sont dites émétisantes, de prédominance nocturne et « provocables » (examen de la bouche, l'alimentation ou le son d'une personne toussant à côté). La période de ces quintes dure 2 à 4 semaines. On remarquera une augmentation de la fréquence des quintes avec une moyenne de 10 à 20 quintes par 24 heures au pic de la pathologie et pouvant atteindre jusqu'à 60 ou 80 quintes par jour pour les formes graves. L'examen de l'enfant est normal, il est sans fièvre, seulement épuisé par la fréquence des accès quinteux et par les vomissements qui réduisent l'apport calorique. L'auscultation pulmonaire peut juste noter un râle bronchique. La période de quintes n'est pas homogène. En effet durant les 2 premières semaines les quintes augmentent en nombre et en sévérité puis au cours des semaines suivantes, les quintes perdent en force et en fréquence, pour enfin disparaître complètement. L'individu est contagieux pendant toute cette phase paroxystique, par la diffusion de gouttelettes lors de la toux.

- La phase de convalescence dure plusieurs semaines et on y note une toux spontanée non quinteuse ou provoquée par l'effort, le froid, les cris ou une infection virale, qui témoigne d'une hyper réactivité bronchique, appelée « Tic de Coqueluche ». L'enfant n'est plus contagieux, son état général est altéré et reste fragile vis-à-vis d'autres infections respiratoires même si il n'y a pas de baisse de réactivité du système immunitaire.

## 2- La forme clinique chez le nourrisson non vacciné (âge < 6 mois) (15, 33, 34, 35)

### *a- Forme classique :*

Les nouveaux nés avant l'âge d'un an non immunisés ou incomplètement vaccinés représentent 50 % des cas de coqueluche, car ils sont bien sûr les plus réceptifs. La protection immunitaire materno-fœtale qui se transmet surtout lors des derniers mois de grossesse, est rarement retrouvée car la vaccination lors de la grossesse n'est pas recommandée. De plus, l'immunité pouvant être transmise par dans le lait maternel est quasi inexistante vis-à-vis la coqueluche.



**Figure 7 : photo d'un nouveau-né atteint de coqueluche lors d'une toux cyanosante.** Infovac, suisse. <https://www.infovac.ch/fr/>

Les nourrissons expriment plus volontiers l'infection par une toux quinteuse prolongée et cyanosante sans reprise inspiratoire (quinte asphyxiantes) et généralement sans « chant du coq » (Figure 7). Ces toux quinteuses sont souvent déclenchées lors de stimuli comme la prise du biberon, du mouchage et des examens de la gorge.

Les signes accompagnateurs des quintes sont le visage bouffi et rouge écarlate de l'enfant cyanosé, dû à la dilatation des vaisseaux de la face et du cou, voire au niveau orbitaire, un purpura pétéchial.

### *b- Forme grave ou coqueluche maligne :*

Ces quintes sont très mal tolérées avant 3 mois et peuvent conduire au décès en raison du risque de complications surtout lors de la 3<sup>ème</sup> semaine de la maladie durant laquelle, les quintes sont les plus intenses. Le caractère grave de la maladie est lié aux complications qui en découlent au regard d'une défaillance multi viscérales.

Les complications sont (33, 36) :

- Des accès de cyanose dus aux quintes asphyxiantes, une détresse respiratoire, des convulsions et un risque de décès en absence de stimulation respiratoire rapide et énergique.
- Des apnées soit cyanosantes par impossibilité à reprendre rapidement l'inspiration, soit syncopales, d'origine neurologique, avec perte de conscience.
- Des complications cardiaques : troubles du rythme, bradycardie profonde, voire arrêt cardiaque dû à l'hypoxie le plus souvent. Des accès hypertensifs au moment de la toux.
- Des complications respiratoires : la présence d'un encombrement dû à une hyper sécrétion bronchique épaisse pouvant obstruer les voies respiratoires qui sont de petit diamètre chez le nourrisson, provoquer des zones d'atélectasie (rétractation des alvéoles pulmonaires), hypoventilation d'origine centrale, ce qui réduit la SaO<sub>2</sub>.
- Des complications mécaniques : ces complications peuvent se retrouver à tous âges. Elles sont liées à l'hyperpression thoraco-abdominale lors des accès de toux. On aura des atteintes ulcéreuses du frein de la langue, prolapsus rectal du nourrisson, hernies ombilicales, des hémorragies au niveau de conjonctives, pneumothorax, des fractures costales, voir un emphysème cervical ou médiastinal (destruction de la paroi des alvéoles et provoque la formation de poche d'air sous-cutanée) et hématomes intracérébraux qui sont beaucoup plus graves.

- Des complications infectieuses : des surinfections broncho-pulmonaires, otite suppurée, laryngite de surinfection, pleurésie, pneumonie de déglutition. La co-infection avec *B. pertussis* peut être virale comme avec le virus respiratoire syncytial (VRS), adénovirus, virus *Influenza* et *para influenza* ainsi surinfection bactérienne comme le pneumocoque et streptocoque A, jusqu'à des pathogènes atypiques comme *Mycoplasma pneumoniae* et *Chlamydia pneumoniae*. La surinfection par *Staphylococcus aureus* est devenue très rare. (36).
  
- Des complications neurologiques : 2.7% de convulsions (2 à 4 cas pour 100), 0.7% de séquelles neurologiques secondaires à l'anoxie cérébrale (1 cas pour 1000) et les cas d'encéphalopathie à *B. pertussis* qui dans 75% cas entraîne le décès. Cette encéphalite de la coqueluche est due en fait à la conjonction de plusieurs mécanismes sur l'encéphale : action de la toxine sur les centres végétatifs (coma, trouble de la régulation thermique et cardiorespiratoire) ; effet de microhémorragies d'origine mécanique (pétéchies cérébrales) ; effet de l'hypoxie ou des apnées ; œdème mécanique ; accès d'hypertension intracrânienne. Les signes cliniques de cette encéphalite sont des troubles de la vigilance, crises convulsives, troubles déficitaires. Il faudra réaliser des examens neuroradiologiques pour détecter d'éventuels hématomes qui seront à évacuer et/ou œdèmes cérébraux. En dehors, de ces atteintes, les soins sont seulement palliatifs (apport calorique, hydratation, anticonvulsivants, oxygénothérapie). Ces complications peuvent amener des séquelles neurologiques parfois irréversibles qui compromettront le développement normal du SNC de l'enfant (36).
  
- Complications nutritionnelles : les quintes entraînent des vomissements et donc un refus de s'alimenter qui peut entraîner une dénutrition, une déshydratation, un risque d'hypocalcémie (tremblement, crampe musculaire, tétanie, trouble du rythme cardiaque voir arrêt cardiovasculaire) et d'hypoglycémie. Le tout pouvant jouer sur la courbe de croissance du nourrisson si absence de prise en charge.
  
- Dysfonctionnements multi-viscéraux dus à une leucostase (désigne l'accumulation anormale de globules blancs dans les vaisseaux capillaires sanguins. Cet amas bloque alors la circulation sanguine dans les capillaires par la formation de thrombi blancs). Ce dysfonctionnement qui touche le cerveau, les

poumons, le foie ou les reins restent néanmoins assez rare. Cette forme particulière de coqueluche atteint exclusivement les nourrissons de moins de 3 mois et est décrite en France sous le terme de coqueluche maligne. Elle est caractérisée également par une détresse respiratoire aiguë associant une hypoxie et une hypertension artérielle pulmonaire réfractaire, ainsi qu'une augmentation concomitante des globules blancs.

Le taux de létalité chez le nouveau-né et le nourrisson atteint les 2 à 3%. Par ailleurs, la coqueluche est sans doute impliquée dans la mort subite du nourrisson (35).

### *c- La forme clinique de l'enfant anciennement vacciné et de l'adulte :*

C'est environ entre 5 et 10 ans que dure l'immunité naturelle due à la maladie ainsi que l'immunité d'origine vaccinale. Néanmoins cette durée sera assez variable selon les types de vaccins. Les vaccins dits « entiers », voient leur durée moyenne de protection d'environ 6 ans dans la majorité des pays, voir 8 ans en France. Pour les vaccins dits acellulaires, la durée de protection est au maximum de 4 ans. Ils ont donc une durée moindre que les vaccins « entiers » mais présentent moins d'effets indésirables.

La protection que donne la vaccination diminue progressivement, ce qui peut expliquer la grande fluctuation de sévérité de la pathologie, mais on pourra prédire le tableau clinique et sa sévérité chez l'enfant ou l'adulte anciennement vaccinés, en prenant compte l'âge et le statut vaccinal.

Cette forme sera toutefois moins sévère que la forme classique observée chez l'enfant non vacciné, et se traduira par une toux atypique sans reprise inspiratoire, simple bronchite traînante, toux quinteuse persistante ou toux spasmodique, qui peut être émétique. (Tableau 2).

**Tableau 2 : Différentes présentation cliniques de la coqueluche selon l'âge.**

	<b>NOURRISSONS</b>	<b>ENFANTS</b>	<b>ADOLESCENTS (10- 19 ANS)</b>	<b>ADULTES</b>
<b>TOUX PAROXYSTIQUE</b>	+++	+++	+++	+++
<b>CHANT DU COQ</b>	+	+++	+	+
<b>ETAT FEBRILE</b>	Rare	Rare	Rare	Rare
<b>APNEE</b>	+++	++	+	++
<b>CYANOSE</b>	+++	+	Rare	Rare
<b>VOMISSEMENTS</b>	+++	+++	++	++
<b>TOUX &gt; 4 SEMAINES</b>	+	++	++	+++
<b>CONVULSIONS</b>	++	+		
<b>PERTE PONDERALE</b>	++	+	Rare	Rare
<b>PNEUMONIE</b>	++	+	Rare	Rare
<b>HOSPITALISATION</b>	+++	+	Rare	Rare

Cette toux sera facilement attribuée à d'autres agents infectieux ou chez l'adulte, au tabagisme. Les complications sont rares. Ainsi la coqueluche chez l'adulte et l'adolescent est souvent ignorée et méconnue, et dont le diagnostic devrait être mis en place devant une toux sans étiologie évidente, persistante, ou qui s'aggrave après 1 semaine, avec un surcroît nocturne et insomniant. Une toux prolongée, c'est-à-dire de durée supérieure à 1 semaine doit faire l'objet d'une recherche biologique. (37). Dans une étude réalisée en Ile-de-France, chez des médecins de ville, incluant 271 personnes de plus de 18 ans et ayant une toux persistante depuis 7 à 31 jours sans étiologie particulière, la présence du germe de la coqueluche a été mise en évidence dans 32% des cas. L'historique de ces patients a montré que 66% avaient été vaccinés. (15)

Mais la coqueluche de l'adulte peut avoir des conséquences dramatiques chez les sujets fragiles à risque, comme les femmes enceintes et les personnes âgées. Dans ces populations, la coqueluche peut être grave, surtout si elle est associée avec d'autres facteurs à risque comme l'IMC  $\geq 30$  Kg/m<sup>2</sup>, une pathologie pulmonaire chronique comme une broncho-pneumopathie chronique obstructive (BPCO) ou un

terrain asthmatique déjà présent, des problèmes cardiovasculaires, le tabagisme et une absence d'activité physique (15,33, 34).

Chez la femme enceinte, les quintes de toux peuvent provoquer des contractions utérines, des fausses couches ou des accouchements prématurés. Si la mère se fait contaminer après la 30<sup>ème</sup> semaine de grossesse, le risque de transmission de la bactérie au nourrisson est possible (36, 37).

## E- Diagnostic

Que ce soit chez le nourrisson, le nouveau-né, l'enfant non vacciné, l'adolescent ou bien l'adulte, la recherche efficace d'un diagnostic suite à une toux évocatrice qui dure depuis plus de 14 jours en absence d'autres causes évocatrices, est fondamental. Ce diagnostic assure une prise en charge au plus vite des personnes à risque de complications, cela permet, également d'éviter ou de limiter la contamination du pathogène à d'autres individus et d'éviter les traitements antibiotiques injustifiés. (23).

### 1- Diagnostic clinique

Le diagnostic clinique repose sur quatre critères sachant que la maladie peut être difficile à diagnostiquer précocement (38). L'ensemble des manifestations cliniques a été décrit dans le chapitre précédent. En résumé, ces critères sont les suivants :

- Le déroulement de la pathologie
- Type et caractère de la toux
- L'identification des contamineurs
- La date d'apparition de la toux

La date d'apparition de cette toux chronique devra donc être déterminée de la meilleure façon pour mettre en place un traitement antibiotique (39).

### 2- Diagnostic différentiel

On pourra réaliser un diagnostic différentiel pour mettre de côté d'autres causes provoquant un syndrome coquelucheux comme la bronchopathie à *Adénovirus* ou

VRS (virus respiratoire syncytial), pneumopathies infectieuses à *Chlamydia trachomatis* et *mycoplasmes*.

D'autres causes de toux rebelles devront être écartées comme celle pouvant être provoquée par la grippe, la présence de corps étranger dans les voies respiratoires, les trachéo-bronchites, les laryngo-trachéites infectieuses, ou bien un reflux gastro-œsophagien, une primo-infection tuberculeuse, une compression bronchique par adénopathie, une mucoviscidose, le tabagisme, des allergies respiratoires, toux psychogène, effets indésirables médicamenteux (Inhibiteur de l'enzyme de conversion IEC). Une toux systématique chez les nouveau-nés lors des tétées peut évoquer une fistule trachéo-œsophagienne (40).

Pour cribler ces différents accidents ou infections, il est conseillé de réaliser des radiographies thoraciques permettant de rechercher des opacités péri-bronchiques ou péri-hilaires, parfois de l'atélectasie ou de l'emphysème.

### 3- Diagnostic biologique

Le diagnostic biologique de la coqueluche est devenu nécessaire dans les populations vaccinées car cette maladie est en recrudescence tout en restant cliniquement atypique. On peut pratiquer un diagnostic d'orientation non spécifique lorsque le malade présente une hyperleucocytose entre 15 000 et 20 000/mm<sup>3</sup> avec une hyper lymphocytose (60-90%) à la phase paroxystique de la maladie, associées à une thrombocytose fréquente chez le nourrisson et une absence de syndrome inflammatoire. (41).

### 4- Diagnostic bactériologique

Pour ce diagnostic, on aura alors deux types de technique, soit le diagnostic dit direct, avec la mise en culture ou la PCR d'un échantillon biologique prélevé, soit indirect avec la recherche d'anticorps dirigés contre des antigènes de la bactérie à partir d'un échantillon de sang.

#### a- Diagnostic direct

### Le prélèvement :

L'échantillon prélevé sera le même pour les deux diagnostics directs. On prélève un échantillon de sécrétion nasopharyngée par aspiration ou par écouvillonnage péri nasal (Figure 8).

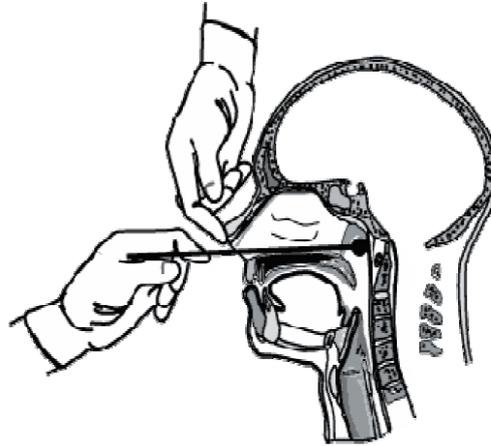


Figure 8 : **représentation du prélèvement de sécrétion nasopharyngée par écouvillonnage** (42).

Selon la technique de diagnostic choisie, le matériel utilisé différera. Pour la culture, un écouvillon en alginate est préférable. Il convient d'utiliser un milieu de transport semi solide au charbon, type Regan Lowe, et conservé à température ambiante de 24 à 36 heures.

Pour la PCR, on utilisera un écouvillon en Dacron avec un milieu de transport de type Remel M4RT, il est alors conservé à 4°C ou congeler à -20°C (40).

### La Culture :

Le prélèvement biologique sera prélevé et transporté à température ambiante et ensemencé dans les 2 heures sur un milieu spécifique aux Bordetelles, un milieu dit Bordet-Genou ou Regan Lowe (23).

Le diagnostic est confirmé par l'isolement de la bactérie en 5 à 7 jours ce qui est assez long. La spécificité de la culture est quasi absolue. La sensibilité est de 50 à 60% à la période catarrhale de la maladie mais de 30% à la période des quintes c'est-à-dire dans les deux premières semaines de toux. La sensibilité va diminuer rapidement après 15 jours d'évolution surtout si le sujet est sous antibiotiques, (41). Ainsi, la culture doit être réalisée le plus rapidement possible, dans les 3 semaines

après le début de la maladie. Ce type de diagnostic n'est pratiqué que par certains laboratoires hospitaliers et par le CNR. (43, 38)

Une culture positive pose le diagnostic d'infection, mais une culture négative ne l'exclut pas, car cela dépend des conditions de prélèvement, de transport de l'échantillon, de la durée d'évolution des symptômes lors du prélèvement ou de la mise en place d'une antibiothérapie avant le prélèvement.

Elle permet la différenciation des souches *B. pertussis* et *B. parapertussis*. La culture sera maintenue et conservée afin d'analyser l'évolution des souches circulantes et de les mettre à disposition du Centre National de Référence de la Coqueluche et autres bordetelloses.

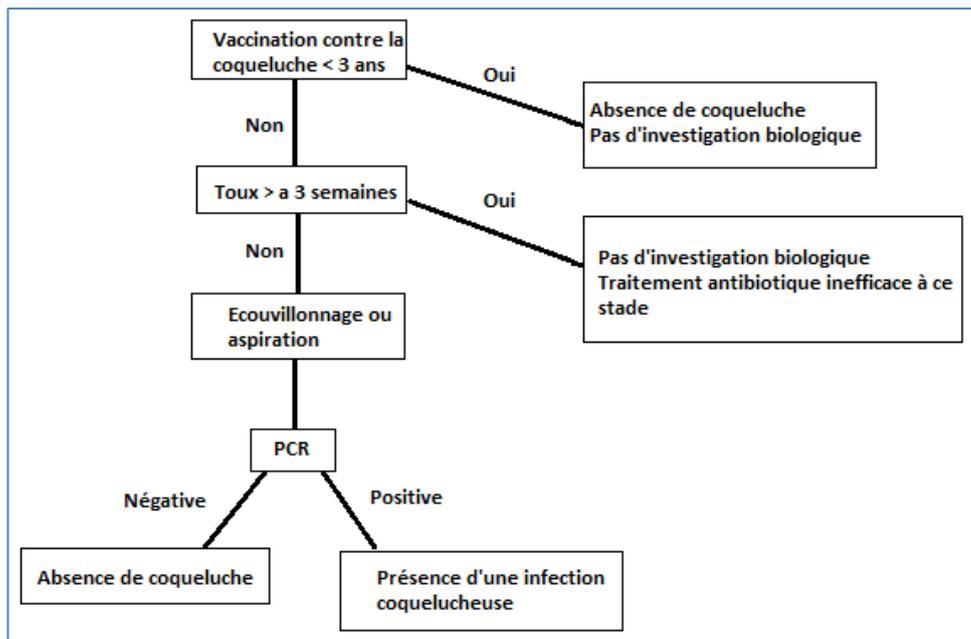
Une culture est souvent demandée en parallèle à une PCR, ce qui permettra d'identifier la souche et de réaliser un antibiogramme. (40, 43). Cette méthode sera utile chez les sujets en phase d'état ou sous antibiotiques (38). Actuellement, cette technique est la seule qui soit remboursée par la sécurité sociale depuis le 15 mars 2011.

## La PCR :

La PCR ou Réaction en Chaîne par Polymérase en temps réel est une technique de détection du matériel génétique, c'est-à-dire une méthode d'amplification in vitro de l'ADN recherché à partir d'un échantillon biologique. Le seuil de détection est de 0,2 Unités Formant Colonies/ml pour *B. pertussis* (42). Elle permet d'obtenir un très grand nombre de copies d'une séquence d'ADN spécifique qui permettra une détection de l'ADN de la bactérie.

Plusieurs régions du génome pourront être amplifiées, comme la région promotrice du gène codant la toxine pertussis car elle est particulièrement spécifique à *Bordetella pertussis*. (23).

Les résultats de la PCR seront disponibles en 2 jours. Cette technique est plus sensible que la culture et sa spécificité est bonne. Il est plus rare de détecter de l'ADN lorsque l'on dépasse les 3 semaines après le début des symptômes. Cette technique nécessite un matériel et des locaux adaptés mais elle peut se faire dans des laboratoires d'analyses médicales, dans certains laboratoires hospitaliers et bien sûr, au CNR. Avec une spécificité proche de 90%. Cette technique permet d'établir une surveillance des souches circulantes en France par le CNR. (23)



**Figure 9 : Arbre décisionnel pour l'utilisation du type de diagnostic de la coqueluche a réalisé.**

Selon l'arbre décisionnel (Figure 9), la PCR est réalisée si le statut vaccinal est inconnu ou si la vaccination a été réalisée il y a plus de 3 ans, et si la présence d'une toux de moins de 3 semaines est objectivée (42).

### *b- Diagnostic indirect : La sérologie :*

Un échantillon de sang veineux sur tube sec sera prélevé au pli du coude pour l'enfant et l'adulte. Chez le nourrisson, le prélèvement sera réalisé sur le dessus de la main voir au niveau des veines du crâne. Le sérum recueilli sera conservé à 4°C.

Les techniques utilisées en sérologie sont l'ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*) et l'immunoempreinte ou Western Blot. L'ELISA est employé dans la détection semi-quantitative d'anticorps spécifiques de *B. pertussis* grâce à l'utilisation d'antigènes purifiés (toxine pertussique, hémagglutinine filamenteuse) (43). Le Western Blot permet de détecter simultanément les anticorps dirigés contre la toxine pertussique et contre adénylate cyclase. Cette dernière n'est pas spécifique à la souche *B. pertussis* mais commune avec *B. parapertussis* alors que la toxine est spécifique à *B. pertussis*. Etant donné que la très grande majorité des cas de

coqueluche chez l'homme est due à la souche *Bordetella pertussis*, seul le taux anticorps anti toxine pertussique est à établir. On retrouve fréquemment la présence isolée d'anticorps anti adénylase cyclase mais cette présence est sans relation avec une infection (43).

Ces deux techniques immuno diagnostiques sont sensibles et spécifiques sauf chez le nourrisson où elles sont peu performantes. De plus, elles sont utiles quand la culture et la PCR n'ont pu être réalisées ou sont négatives. Néanmoins, comme ces techniques dosent des anticorps circulants, elles ne peuvent qu'offrir un diagnostic rétrospectif. Elles ont un fort intérêt lors de forme atypique et d'évolution prolongée (43), mais ne doivent pas être substituées à la PCR. (41)

La sérologie est ininterprétable lorsque le sujet a été vacciné il y a moins d'un an, car elle ne permet pas de différencier les anticorps induits par le vaccin des anticorps naturels dus à une infection par la coqueluche. Dans ce cas, la technique ELISA est réalisée au CNR. Selon l'OMS, l'interprétation des résultats nécessite toujours de comparer les taux d'anticorps IgG et IgA anti toxine pertussique dans deux sérums prélevés à 3 ou 4 semaines d'intervalle. Le diagnostic est confirmé positif s'il y a une augmentation de 100% du taux des deux isotypes entre les deux sérums ou une diminution de 50% expliquant une séroconversion.

Dans le cas où le sujet adulte ou adolescent a été vacciné depuis plus de 1 an, la seule présence d'un taux élevé d'anticorps dans le premier sérum est suffisante pour confirmer l'infection (taux d'anticorps anti toxine pertussique > 100 UI en ELISA pour une valeur moyenne de 20 UI pour une population saine. (43)).

## F- Mesures thérapeutiques et préventives

### 1- Les différentes mesures et traitements

#### *a- Hospitalisation :*

Pour la coqueluche du nouveau-né de moins de 3 mois, l'hospitalisation sera systématique et nécessaire en service spécialisé de pédiatrie. (34). Il devra être sous surveillance cardio-respiratoire constant et un nursing adapté par l'équipe soignante

(15), et pourra être envisagée au-delà de 3 mois suivant la tolérance clinique de l'enfant. (23)

### *b- Isolement :*

L'isolement servira à éviter la contamination à d'autres sujets dans les milieux à risque comme le milieu familial, établissements scolaires, centres médico-sociaux, hôpitaux, et surtout les collectivités susceptibles de recevoir de très jeunes enfants ou enfants non vaccinés. (34, 44).

En collectivité comme à la crèche, le sujet sera non désiré s'il n'a pas été traité au moins 5 jours par antibiothérapie. La durée de l'éviction du sujet est fixée à 30 jours après le début de la maladie. (Arrêté du 30 mai 1989 ; 15, 44)

En cas d'hospitalisation, le sujet devra être seul dans la chambre pendant au moins les 5 premiers jours du traitement antibiotique. (34, 44).

### *c- Traitements :*

La précocité du diagnostic et de la prise en charge des cas est essentielle pour limiter la transmission de la maladie. (34). Les traitements seront essentiellement antibiotiques et symptomatiques. Les traitements de type fluidifiant ou antitussif ne seront pas utilisés car ils sont dans ce cas présent inefficaces.

### **Traitements antibiotiques :**

La difficulté du traitement de la coqueluche vient du fait que les antibiotiques ne sont efficaces que durant la phase catarrhale, qui est souvent pauci-symptomatique. Durant la phase paroxystique, lorsque la toux est présente, le traitement antibiotique n'a que peu d'effets sur la maladie elle-même (45).

Selon ANSM (anciennement l'AFSSAPS), l'antibiothérapie est donc indiquée pour les 3 premières semaines de l'évolution de la maladie, c'est-à-dire la phase catarrhale. Elle permet d'éradiquer le germe *B. pertussis* en 4 à 5 jours si elle est administrée dans les temps. Cette antibiothérapie sera dispensée pour une durée qui peut varier de 5 à 14 jours selon l'antibiotique utilisé. (45).

Comme indiqué précédemment, l'antibiothérapie administrée lors de la phase paroxystique ne modifie pas l'évolution de la pathologie. Elle sera recommandée seulement pour permettre de limiter la contagiosité, surtout pour éviter de transmettre aux sujets fragiles ou à risque. En effet, sa période de transmission sera alors réduite jusqu'à 5 jours après le début du traitement. L'antibiothérapie ne sera pas également recommandée durant la phase de convalescence même si le patient tousse à cette période, sauf si, il y a surinfection bactérienne.

Les antibiotiques utilisés pour traiter la coqueluche sont de la famille des macrolides. Ce sont des antibiotiques aux propriétés bactériostatiques. Ils vont bloquer la synthèse protéique bactérienne ARN dépendante. Ils vont se fixer de façon réversible au niveau de la sous-unité ribosomale bactérienne 50S et modifier sa structure par encombrement stérique. Le traitement de référence était l'érythromycine, mais on privilégie maintenant la clarithromycine et l'azithromycine. La josamycine pourra être utilisée même si elle est moins recommandée (15, 46, 47).

#### **Erythromycine ERYTHROCINE® :**

<b>Age</b>	<b>Chez l'enfant à partir de 25kg et chez adulte</b>
<b>Voie</b>	Oral, avant le repas.
<b>Posologie</b>	- 40 mg/kg/jour en 2 ou 3 prises chez l'enfant - Entre 25 – 35 Kg (8 et 12 ans) : 1 sachet 2 fois par jour. - Entre 35 et 50 kg (12 et 15 ans) : 1 sachet 3 fois par jour. - 1 g en 2 prises par jour chez l'adulte.
<b>Forme galénique</b>	- Sachet de 500mg pour solution buvable - Sachet de 1 g pour solution buvable - Comprimés pelliculer de 500mg - Granulé pour sirop de 500mg/5ml à reconstituer.
<b>Dose maximum</b>	1g/jour
<b>Durée du traitement</b>	14 jours
<b>Effets indésirables</b>	Manifestation digestif dose dépendante: nausées, vomissements, gastralgies, diarrhées. Manifestation cutanées allergique
<b>Contre-indication</b>	Si allergie aux macrolides.

#### **Clarithromycine ZECLAR®:**

<b>Age</b>	<b>Dès 1 mois de vie</b>
<b>Voie</b>	Orale
<b>Posologie</b>	15 mg/kg/j à répartir en 2 prises journalières chez l'enfant, 500 mg à 1000 mg/jour en 2 prises chez l'adulte.

<b>Forme galénique</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Granulé pour suspension buvable de 25mg/ml de 100 ml.</li> <li>- Granulé pour suspension buvable de 50mg/ml de 60 ml.</li> <li>- Comprimés pelliculés de 250 mg.</li> </ul>
<b>Dose maximum</b>	500 mg/jour en 2 prises pour l'enfant
<b>Durée du traitement</b>	7 jours
<b>Effets indésirables</b>	<p>Manifestation digestif : nausées, vomissements, gastralgies, diarrhées, colite a clostridium difficile, candidose buccale, glossite.</p> <p>Manifestation cutanée allergique</p> <p>Manifestations cardiaque : augmentation de l'intervalle QT.</p> <p>Manifestation hépatobiliaire : augmentation transitoire des transaminases ASAT-ALAT et phosphatase alcaline.</p> <p>Manifestation musculaire : Myalgie.</p>
<b>Contre-indication</b>	Si allergie aux macrolides

### **Azithromycine ZITHROMAX® :**

<b>Age</b>	<b>A partir de 3 ans</b>
<b>Voie</b>	Orale
<b>Posologie</b>	20mg/kg/j en 1 prise journalière sans dépasser la posologie adulte 500mg/jour en 1 prise.
<b>Forme galénique</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Poudre pour solution buvable 40mg/ml</li> <li>- Comprimé pelliculé de 250 mg</li> </ul>
<b>Dose maximum</b>	500 mg/jour
<b>Durée du traitement</b>	3 jours
<b>Effets indésirables</b>	<p>Manifestation digestif dose dépendante: diarrhées, nausées, vomissements, gastralgies, douleur abdominale.</p> <p>Manifestation d'hypersensibilité</p>
<b>Contre-indication</b>	<p>Si allergie aux Macrolides.</p> <p>A éviter au cours de la grossesse.</p>

### **Josamycine JOSACINE®**

<b>Age</b>	<b>Nourrisson (dès 2 kg) jusqu'à l'adulte</b>
<b>Voie</b>	Orale
<b>Posologie</b>	50 mg/kg/j en 2 prises pour nourrissons et l'enfant jusqu'à 40 kg.
<b>Forme galénique</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Comprimé dispersible de 1g (adulte et enfant de plus 40 Kg). Ils doivent être préalablement dispersés dans de l'eau et bien mélangé avant d'avaler.</li> <li>- Comprimé pelliculé 500 mg (adulte et enfant de plus de 6 ans et de plus de 40 Kg)</li> <li>- Forme granulé pour suspension buvable : <ul style="list-style-type: none"> <li>• 500 mg/5mL (enfants de 10 à 40 Kg)</li> <li>• 250 mg/5mL (enfants de 5 à 10 Kg)</li> <li>• 125 mg/5mL (enfants de 2 à 5 Kg)</li> </ul> </li> </ul>

	➤ Utilisation pour la suspension d'une seringue graduée sur le piston de 2 à 20 Kg.
<b>Dose maximum</b>	50 mg/kg/j en 2 prises chez l'enfant ou 2 g/j chez l'adulte
<b>Durée du traitement</b>	14 jours
<b>Effets indésirables</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <u>Troubles digestifs</u> : Nausées, vomissements, gastralgies, diarrhées, douleurs abdominales.</li> <li>- <u>Troubles cutanés</u> : éruption érythémateux ou maculopapuleuse, dermatose bulleuse, syndrome de Lyell, syndrome de Steven-Johnson.</li> <li>- <u>Réaction d'hypersensibilité</u> : prurit, urticaire, œdème de Quincke, choc anaphylactique.</li> <li>- <u>Troubles hépatiques</u> : augmentation des transaminases, ictère.</li> <li>- <u>Troubles vasculaires</u> : Purpura, vascularite cutanée.</li> </ul>
<b>Contre-indication</b>	Si allergie aux Macrolides

En cas d'intolérance aux macrolides, on pourra administrer alors (15) le cotrimoxazole BACTRIM® (sulfaméthoxazole et trimétoprime)

- Chez l'enfant : 30 mg/kg/j de sulfaméthoxazole et 6 à 10 mg/kg/j de trimétoprime en 2 prises journalière.
- Chez l'adulte : 800 mg/jour de sulfaméthoxazole et 320 mg/jour de trimétoprime en 2 prises journalières.
- Pour une durée de 10 jours.
- Peut être utilisé chez la femme enceinte, mais à éviter durant les 10 premières semaines d'aménorrhée ou associer à une supplémentation en acide folique.

Il sera contre-indiqué chez le prématuré et le nouveau-né en raison de l'immaturation de leur système enzymatique.

Il est à noter qu'un cas d'infection à *B. pertussis* a été décrit comme résistant aux traitements utilisant des macrolides, indiquant la nécessité de rechercher des antibiotiques adaptés aux futures souches probables de *B. pertussis* (48).

#### *d- Mesures associées :*

Les mesures associées sont utiles souvent lors des cas les plus complexes et chez les nourrissons. Elles sont réalisées à l'hôpital dans le service pédiatrique voir de réanimation pour les cas les plus graves quel que soit l'âge. Le service va assurer une

surveillance continue et monitorée des activités respiratoires et cardiaques du nouveau-né. Le personnel devra s'assurer de la liberté des voies aériennes par aspiration régulière des sécrétions, une kinésithérapie de drainage douce avec aspiration étant recommandée (15). Une oxygénothérapie peut être mise en place si besoin, voir pour les cas les plus graves, une oxygénation extra corporelle. (23)

L'équipe médicale devra veiller au bon état d'hydratation et de nutrition par un apport alimentaire suffisant, les repas devront être fractionnés voir assurés par voie entérale continue par sonde nasogastrique (33).

Des corticoïdes sont parfois administrés en cas de formes graves mais rien n'indique encore leur bonne efficacité anti-inflammatoire dans le cas d'une telle infection et leurs effets secondaires immunodépresseurs sont à considérer (15, 33, 35).

Lors de troubles neurologiques, des anticonvulsivants pourront être administrés ainsi que des anti-œdémateux (36).

#### *e- Mesure pour l'entourage :*

La notification des cas groupés (c'est-à-dire plus de 2 cas) survenant dans les collectivités (écoles, internats, crèches, service hospitalier) devra être effectuée et transmise au médecin inspecteur de santé publique du département. De 2008 à 2010, pas moins de 90 épisodes nosocomiaux ont été signalés à l'InVS. Dans 49% des cas cela concernait les services de soins de courte durée recevant des adultes et dans 20% ceux recevant des enfants. (49)

Ces mesures s'accompagnent par une antibioprophylaxie pour l'entourage, traitement antibiotique préventif d'un risque de contamination secondaire.

- L'antibioprophylaxie doit être prescrite au plus tard avant le 14<sup>ème</sup> jour à partir du premier contact, voir jusqu'au 21<sup>ème</sup> jour en milieu familial.
- Au sein de la famille, elle doit être systématique pour tous les membres de la famille, quel que soit l'âge et leur statut vaccinal.
- Dans les crèches, internats, collectivités d'enfants handicapés, service de pédiatrie, l'antibioprophylaxie est alors systématique pour les enfants et le personnel en contact non à jour dans leur vaccination contre la coqueluche. Cette mesure vise surtout les sujets n'ayant pas reçu de vaccin contre la coqueluche dans les 5 dernières années (49).

- L'antibioprophylaxie est à mettre en place chez tous les sujets fragiles (nourrisson non vacciné, femme enceinte).
- L'antibioprophylaxie est dans sa nature identique au traitement curatif mais sera d'une durée plus courte, généralement de 10 jours (34).

Il sera nécessaire de mettre à jour le calendrier vaccinal chez les sujets contacts, que ce soit dans la famille ou dans les collectivités.

## 2- La prévention

La maladie n'est pas immunisante. En effet, on peut être infecté plusieurs fois avec la même souche au cours de la vie et quel que soit l'âge. Il est donc nécessaire de mettre en place des moyens de prévention efficace.

Le meilleur moyen de prévention reste la vaccination et passe par la mise à jour du calendrier vaccinal chez les sujets jeunes et adultes, les personnes à risque et les femmes enceintes. Les vaccins actuels permettent une protection efficace contre la coqueluche mais reste temporaire. Ainsi les adolescents et adultes ne sont plus protégés et peuvent être atteints. Ils représentent donc un réservoir pouvant contaminer les nourrissons non encore vaccinés.

Si, il y a contact fréquent avec un ou plusieurs nouveau-nés (parents, fratrie, nourrice, baby-sitter, grands-parents), il est nécessaire de faire vacciner cet entourage. On parle alors de stratégie « cocooning ». Cette stratégie vise à protéger les nourrissons de moins de 6 mois de la contamination. En effet, à cette période de la vie, le nouveau-né n'est pas encore couvert par la vaccination et présente donc un haut risque de contamination. Mettre à jour son carnet vaccinal avant la conception d'un enfant est un moyen efficace de protéger le futur nourrisson. Il faut attendre au moins 2 semaines après la vaccination avant tous contacts avec un nourrisson (15,34).

La prévention par la vaccination doit être réalisée aussi par tout le personnel dans les services pédiatriques et de maternités (50).

## 3- Cas de la femme enceinte

La maladie ne présente pas de risque vital direct pour la future maman mais c'est la mauvaise tolérance des quintes de toux qui peut être une menace sur le

déroulement normal de la grossesse. Les quintes de toux importantes peuvent provoquer une fausse couche voire au plus tard de la grossesse un accouchement prématuré. Le risque de défaillance cardio-respiratoire provoqué par la maladie peut entraîner une souffrance fœtale.

Il existe également un risque de contamination de la mère à l'enfant par contact respiratoire après l'accouchement. Un traitement antibiotique doit être instauré pendant la grossesse pour réduire le risque de cette transmission après l'accouchement. De plus des mesures de protection supplémentaires pour limiter la contamination seront mises en place comme le port d'un masque.

La vaccination pendant la grossesse est pratiquée dans plusieurs pays comme la Belgique, le Royaume-Uni, les Etats-Unis, en utilisant un vaccin acellulaire à dose réduite d'antigène. L'intérêt serait que le nourrisson bénéficierait d'une protection durant ses premières semaines de vie grâce aux anticorps maternels. De plus, cela réduirait le risque pour la mère de contracter la coqueluche. Plusieurs études ont montré que le vaccin est sûr et bien toléré durant la grossesse. En France, la vaccination pourra être réalisée lors de l'allaitement, à la sortie de maternité (23).

## II- Bactérie de la coqueluche : *B. pertussis*

### A- Présentation

Le bacille de Bordet et Gengou est un pathogène strict à l'homme. *Bordetella pertussis* a un tropisme pour les voies supérieures du tractus respiratoire.

Le genre *Bordetella* fait partie de la famille *Alcaligenaceae* (Tableau 3). Il existe actuellement 9 espèces connues : *B. pertussis*, *B. parapertussis*, *B. bronchiseptica*, *B. Holmesii*, *B. hinzii*, *B. trematum*, *B. avium*, *B. petrii* et *B. ansorpii*. (60)

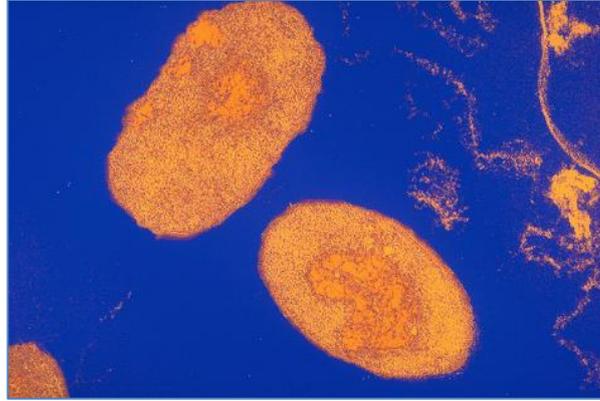
Tableau 3 : Classification de *B. pertussis*.

<b>Règne</b>	Bacteria
<b>Embranchement</b>	Proteobacteria
<b>Classe</b>	Beta Proteobacteria
<b>Ordre</b>	Burkholderiales
<b>Famille</b>	Alicagenaceae
<b>Genre</b>	<i>Bordetella</i>
<b>Espèce</b>	<i>Bordetella pertussis</i>



**Figure 10 : Observation au microscope électronique des bactéries *Bordetella pertussis* dans la muqueuse respiratoire.** 2004 Pearson Education, Inc., Benjamin Cummings.

Les espèces *B. pertussis*, *B. parapertussis*, et *B. bronchiseptica* sont des coccobacilles aérobies strictes à Gram négatif pouvant infecter l'homme (Figure 10). Ils sont asporulés. (60). *B. pertussis* mesure de 0,5 à 1 µm (Figure 11). Elle possède une fine capsule et est immobile.



**Figure 11 : Observation au microscope électronique des bactéries *Bordetella pertussis* dans la muqueuse respiratoire.** (MicrobeWiki, the student-edited microbiology resource)

Les espèces de *Bordetella* peuvent toucher un ou plusieurs hôtes. Pour *B. pertussis*, elle est spécifique à l'espèce humaine. L'espèce *B. parapertussis* peut infecter le mouton, mais également l'homme tout en sachant que l'infection sera moins sévère qu'avec *B. pertussis*. *B. bronchiseptica* colonise les voies respiratoires et cause des infections chroniques ou asymptomatiques chez différents animaux. Elle est responsable de la rhinite atrophique chez le porc, le coryza chez le lapin et la toux du chenil (61). *B. bronchiseptica* pourra infecter l'espèce humaine, principalement les personnes immunodéprimées mais également des personnes immunocompétentes en contact fréquent avec des animaux contaminés.

Ces trois espèces sont génétiquement très proches et l'analyse de leur séquence génomique montre que *B. bronchiseptica* est un ancêtre commun à *B. pertussis* et à *B. parapertussis* (62, 63). De ce fait, la plupart des facteurs de virulence sont communs aux trois espèces.

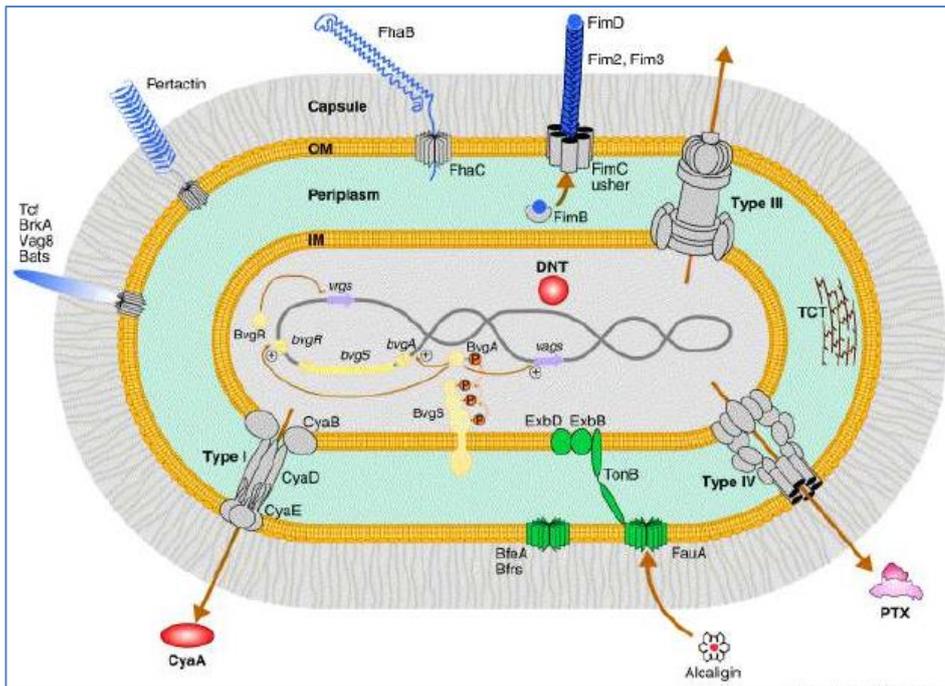
## *B- Le génome de B. pertussis*

Le génome complet de *B. pertussis*, comprenant 4.086.186 paires de bases instruisant 3 816 gènes a été publié en 2003 (63). La comparaison génomique entre

*B. bronchiseptica*, *B. parapertussis* et *B. pertussis* permet d'expliquer la différence entre ces trois organismes étroitement liés vis-à-vis de leur spécificité d'hôtes et leur pathogénèse spécifique. Contrairement à ce que l'on pourrait s'attendre, la gamme élargie d'hôtes de *B. bronchiseptica* et la virulence accrue chez l'homme de *B. pertussis* sur *B. parapertussis* ne semblent pas être dues à l'acquisition récente de facteurs d'interaction hôte-pathogène ou de déterminants de la virulence. À l'inverse, il semble que de nombreux traits individuels dans les deux espèces dérivées, *B. parapertussis* et *B. pertussis*, puissent être dus à des mécanismes d'inactivation génétique et de perte d'expression de gènes. La gamme d'hôtes limitée de ces espèces par rapport à celle de leur ancêtre putatif s'expliquerait donc par la perte des mécanismes d'interaction avec les hôtes de l'organisme ancestral. La virulence accrue chez les humains de *B. pertussis* serait alors due à une surexpression ou à une expression constitutive de traits de virulence qui sont soumis à un contrôle temporel ou environnemental plus étroit dans les autres espèces. De plus, il serait question également de l'élimination de structures ou de systèmes qui pourraient entraver la virulence ou la survie de *B. pertussis* chez l'homme.

### C- Les antigènes ou facteurs de virulence de *B. pertussis*

*Bordetella pertussis* est une bactérie pathogène aux multiples activités biologiques. Elle est une bactérie particulièrement bien pourvue en facteurs de virulence. L'infection est caractérisée par l'adhérence de la bactérie à l'épithélium cilié de l'appareil respiratoire puis la sécrétion de toxines. L'isolement de ces différentes substances a permis une meilleure compréhension de la pathogénie de la coqueluche. On pourra retrouver les facteurs de virulence sécrétés comme les toxines telles que la toxine pertussique (PTX), l'adénylase cyclase (ACT), la toxine dermonécrotique (DNT) la cytotoxine trachéale (TCT), le lipopolysaccharide (LPS), ainsi que le facteur de colonisation trachéale (Tcf), certains de ces facteurs étant sécrétés uniquement par l'espèce *B. pertussis* (Figure 12).



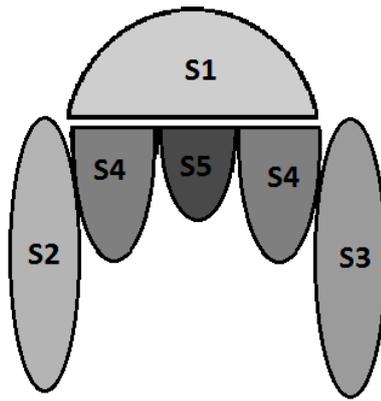
**Figure 12 : Principaux facteurs de virulence de *B. pertussis*.** Les adhésines sont représentées en bleu, les toxines en rouge, les protéines de régulation en jaune (64).

Nous retrouverons également certaines protéines de l'enveloppe de la bactérie exposées au système immunitaire, comme la pertactine (PRN), les fimbriaes (FIM), et l'hémagglutinine filamenteuse (FHA).

## 1- Les toxines

### *a- La toxine coquelucheuse ou pertussique (PTX) :*

La toxine pertussique est la principale toxine produite uniquement par l'espèce *B. pertussis*. C'est une toxine thermolabile, de nature protéique. Libérée du corps bactérien, elle peut être qualifiée d'exotoxine. Elle est considérée comme l'antigène majeur déterminant l'immunité anticoquelucheuse (65, 66).

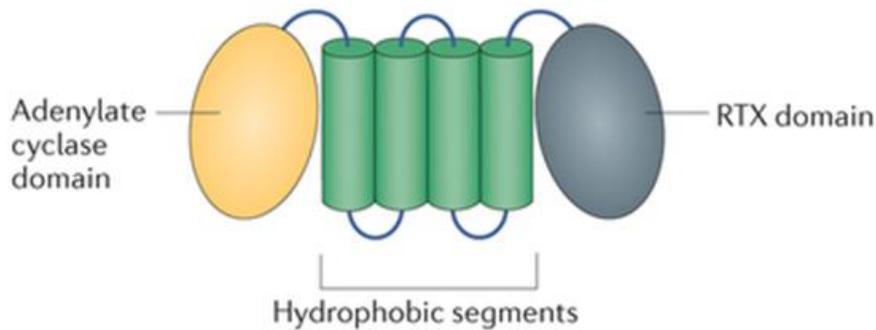


**Figure 13 : Toxine coquelucheuse, avec les différentes sous unités.** S1 (sous unité A) qui possède l'activité enzymatique et S2-S5 (sous unité B) constituent la partie oligomérique B qui va se lier au récepteur des cellules cibles.

Cette toxine est composée de deux unités principales de type A-B (Figure 13). La sous unité A (ou S1) possède une activité enzymatique d'ADP-ribosyltransférase. La sous unité B, qui est oligomérique, est constituée des sous unités S2 à S5. Ce fragment B non toxique mais indispensable à l'activité de la toxine, permet l'adhésion aux cellules et l'accessibilité de la sous unité A ou S1 au site d'action dans la cellule cible. En effet, les sous unités S2 – S5 se lient aux récepteurs des cellules cibles pour activer S1.

C'est la production de cette toxine qui donnerait la plupart des symptômes systémiques de la maladie et une augmentation de la production de mucus. Elle va induire la production d'anticorps, dont une immunité durable contre la maladie. La toxine est impliquée dans l'étape de colonisation par l'adhérence sur certains récepteurs de cellules immunitaires en permettant la fixation de l'hémagglutinine filamenteuse, et a une activité immunomodulatrice. La toxine transformée en anatoxine reste très immunogène. On remarque des titres importants d'anticorps dirigés vers cette protéine en post-infection ou après l'injection du vaccin anticoquelucheux entier inactivé.

### b- L'adénylate cyclase (ACT) :



**Figure 14 : Schéma de l'adénylate cyclase** (67).

L'adénylate cyclase est un polypeptide de 117 kDa et est la seconde toxine majeure sécrétée par *Bordetella* (Figure 14). Elle est sécrétée à la fois par *B. pertussis*, *B. parapertussis* et *B. bronchiseptica*, à une forte concentration dans l'espace extracytoplasmique de la bactérie. Elle a un effet direct sur l'appareil respiratoire de l'hôte et sur ses défenses immunitaires, ce qui contribue donc également à l'apparition des symptômes. Cette toxine renforce l'action de la toxine pertussis en détruisant les macrophages alvéolaires et en perturbant la fonction ciliaire. Elle est activée par la calmoduline intracellulaire.

Ce polypeptide va interagir avec l'intégrine CR3 présente sur la membrane des macrophages, des neutrophiles, cellules dendritiques et des cellules NK ainsi qu'avec les récepteurs présents à la surface des lymphocytes. L'adénylate cyclase va pénétrer dans les cellules et va augmenter la concentration en AMP-cyclique intracellulaire ce qui va induire plusieurs effets sur la cellule comme l'induction de l'apoptose et inhiber l'activité phagocytaire des monocytes circulants. La toxine a donc un effet immunomodulateur et va interférer avec l'initiation de l'immunité adaptative. Elle va également inhiber des effecteurs de l'immunité innée tels que la synthèse de cytokines pro-inflammatoires. Après contamination il y aura un fort titre d'anticorps antitoxine adénylate cyclase qui persistera au cours de la vie adulte. (66).

### c- La cytotoxine trachéale (TCT) :

Cette cytotoxine est un produit de dégradation des peptidoglycanes libérés dans l'environnement par la bactérie *B. pertussis* lors de sa croissance (Figure 15). Cette toxine est capable d'inhiber la synthèse de l'ADN et provoque des altérations cytotoxiques progressives dans les cellules ciliées. Elle provoque la sécrétion d'interleukine-1, facteur inflammatoire qui peut induire une toxicité cellulaire lors de l'infection. (68).

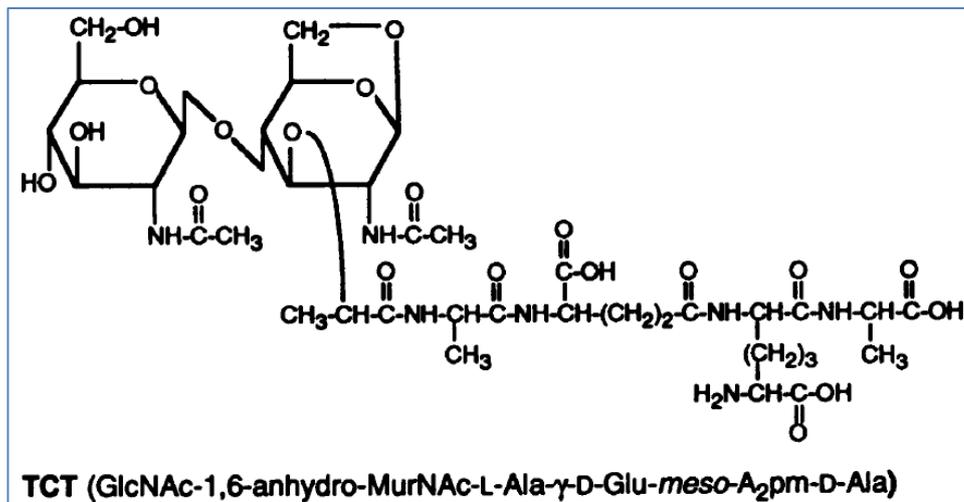


Figure 15 : Représentation moléculaire de la cytotoxine trachéale :

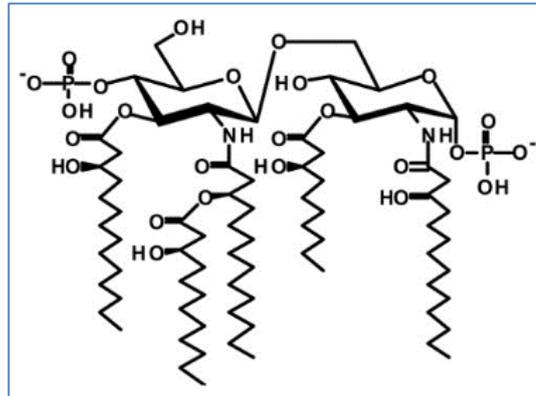
[https://en.wikipedia.org/wiki/Tracheal\\_cytotoxin](https://en.wikipedia.org/wiki/Tracheal_cytotoxin)

Cette toxine conduira à la production d'oxyde nitrique NO libre et autres dérivés réactifs de l'oxygène, induisant une toxicité cellulaire. Elle aura pour conséquence la destruction des cellules ciliées de l'épithélium respiratoire. Elle est vraisemblablement fortement impliquée dans le syndrome de toux.

### d- La toxine dermonécrotique (DNT) :

La toxine dermonécrotique est un polypeptide monomérique de 159 kDa. Cette toxine à l'inverse des autres toxines, reste localisée dans le cytoplasme de *B. pertussis*. Son rôle n'est pas tout à fait élucidé et il semblerait que sa libération nécessite la lyse bactérienne. Quoiqu'il en soit, la DNT est létale, si administrée par voie intraveineuse (iv) chez la souris. Elle est produite par les trois principales espèces de *Bordetella*. (64).

### e- L'endotoxine lipopolysaccharidique :



**Figure 16 : Représentation moléculaire de l'endotoxine lipopolysaccharidique.**

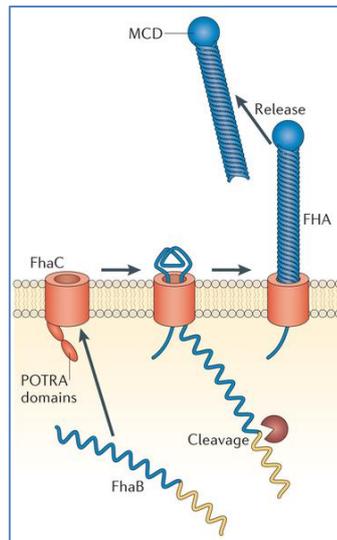
(69)

Cette endotoxine ou lipopolysaccharide (LPS) est commune aux bactéries Gram négatif (Figure 16). Ce produit constitutif de la paroi bactérienne se fixe sur le *Toll Like Receptor 4* ou TLR 4, présent à la surface des macrophages.

Le LPS serait fortement responsable des effets secondaires observés chez les enfants lors de la vaccination. La proportion de réponse fébrile à la vaccination est associée de façon proportionnelle à la quantité de LPS contenu dans le vaccin coquelucheux entier inactivé. Ce LPS a des propriétés antigéniques non protectrices et a des effets immunogènes faibles. Il n'aurait pas d'action dans le processus de colonisation mais dans la pathogénicité de la bactérie. En effet, le LPS a des propriétés fortement pro-inflammatoires en activant la production de cytokines de type IL-1 et TNF  $\alpha$  (*Tumor Necrosis Factor*). (70).

## 2- Les adhésines

### a- L'hémagglutinine filamenteuse (FHA) :



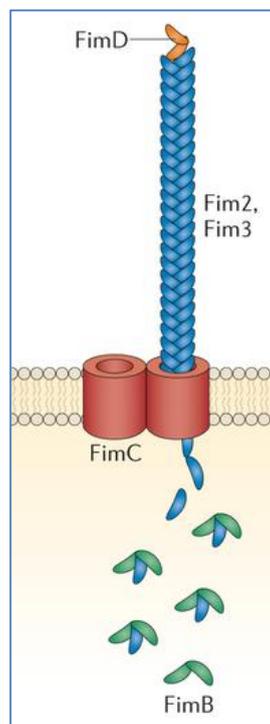
**Figure 17 : Schéma de l'hémagglutinine filamenteuse** (67).

L'Hémagglutinine filamenteuse (FHA pour *filamentous hemagglutinin antigen*) est une protéine de surface de haut poids moléculaire portée par les fimbriae (Figure 17). La FHA est une exoprotéine (FhaB) qui est translaté vers l'extérieur à travers la membrane par le port (FhaC). Une partie du pro-domaine (jaune) sera soumis à un cleavage avant d'être transloquée. (71). La partie terminale C-ter ou MCD sera mature nécessaire pour reconnaître les cellules épithéliales ciliées. C'est un constituant de l'enveloppe cellulaire. La FHA est un antigène non toxique qui intervient dans le processus d'adhérence de la bactérie à l'épithélium cilié de la muqueuse de l'appareil respiratoire supérieur. Cette protéine ne confère qu'une immunité de courte durée post infection. C'est une protéine monomérique de 220 kDa activée par la pertactine, et correspondant à la partie N-terminale du précurseur FhaB de 367 kDa.

La FHA possède au moins 3 sites distincts qui participent à l'adhérence aux cellules. Elle possède un motif de trois acides aminés RGD qui interagit avec les intégrines (majoritairement intégrine CR3) présentes à la surface des cellules de l'hôte. Cette interaction va favoriser la phagocytose des pathogènes par les macrophages, tout en permettant leur survie et leur persistance dans le tractus respiratoire. (72) L'hémagglutinine filamenteuse à également un domaine de reconnaissance des carbohydrates (CDR) qui permet la fixation aux cellules ciliées de l'épithélium. De plus, elle a la capacité de se fixer aux glycoaminoglycanes sulfatés qui sont présents à la surface des cellules épithéliales et à la matrice extra cellulaire. Elle permet donc la fixation de la bactérie aux cellules et l'invasion intracellulaire.

La FHA est particulièrement cruciale pour l'induction de l'apoptose des cellules épithéliales et des cellules phagocytaires de l'hôte, ainsi que pour la colonisation intracellulaire de la bactérie. (73).

*b- Les fimbriae (FIM) :*



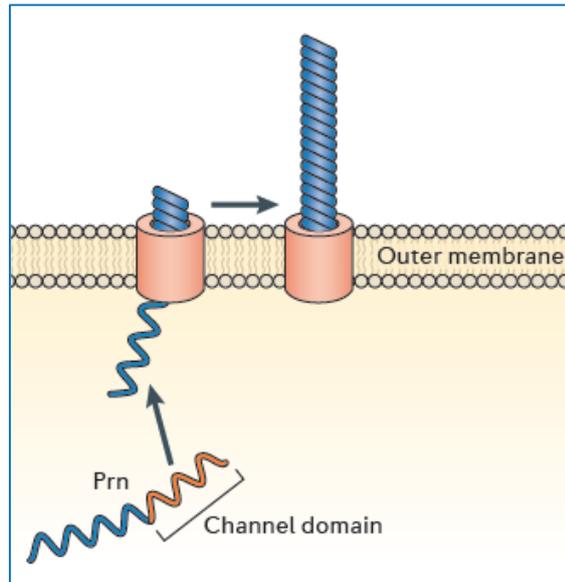
**Figure 18 : Schéma de la fimbriae, composée de 2 sous unités Fim1 et Fim2 et de la sous unité secondaire FimD (67).**

Les fimbriae sont de longs filaments situés à la surface de la bactérie. Leur structure est composée de 2 sous unités principales (FIM 2 et FIM 3) et une sous unité secondaire (FimD) (Figure 18). Ces structures sont impliquées dans l'adhérence de la bactérie aux cellules ciliées épithéliales et aux récepteurs VLA-5 (*Very Late Antigen-5*) situé à la surface des monocytes, appelés agglutinines car ils permettent l'agglutination des bactéries.

Les fimbriae (FIM) ou agglutinogènes spécifiques du sérotype (AGG) sont des constituants de la surface cellulaire qui jouent un rôle important dans l'immunité envers la maladie. Ces agglutinogènes permettent de classer les souches en sérotype. Actuellement, on décrit 3 immunogènes majeurs : AGG1, AGG2, AGG3. Ces

agglutinogènes semblent contribuer à l'efficacité du vaccin anticoquelucheux entier inactivé en générant la production d'anticorps. (74).

*c- La pertactine (PRN) :*



**Figure 19 : Structure de la pertactine** (67).

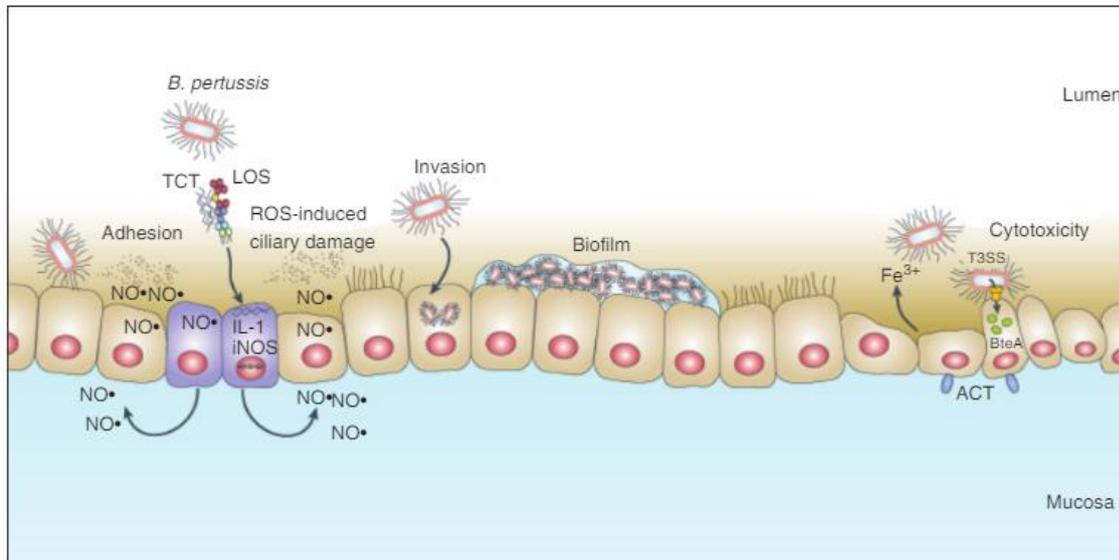
Cette protéine est associée à la surface de la bactérie. Elle appartient à la famille des auto-transporteurs (Figure 19). La PRN est impliquée dans la fixation de *B. pertussis* aux cellules ciliées de l'épithélium du tractus respiratoire, et assure également un rôle important dans l'internalisation de la bactérie dans les cellules épithéliales. Elle induit une synthèse d'immunoglobulines protectrices. (75).

*d- Le facteur de colonisation trachéal (Tcf) :*

Cette protéine est un auto-transporteur présent exclusivement chez l'espèce *B. pertussis*. Comme son nom l'indique, il joue un rôle important dans la colonisation de la trachée. (75).

### 3- Les propriétés de la bactérie

Par ses différents facteurs moléculaires, *B. pertussis* présente des propriétés particulière qui sont : l'adhésion, la virulence, la cytotoxicité, la formation de biofilm, et la captation de fer (Figure 20).



**Figure 20 : Schéma représentant les différentes activités de la bactérie *B. pertussis* sur les cellules de la muqueuse nasale (77).**

#### *a- L'adhésion :*

Après inhalation par le sujet des microgouttelettes contaminées, le site naturel d'attachement de la bactérie est la surface des cellules des muqueuses respiratoires grâce aux adhésines majeures présentes à la surface, comme la FHA, les agglutinogènes et la pertactine. Ces facteurs facilitent conjointement l'adhésion de la bactérie aux cellules ciliées (Figure 20). De plus, la liaison de la bactérie avec la FHA aux cellules ciliées serait dépendante de la présence de radeaux lipidiques à la surface des cellules. Ces radeaux sont des grappes de protéines et de lipides dans la membrane à double couche de la cellule et qui sont maintenues ensemble par des molécules de cholestérol. La FHA serait importante pour la colonisation initiale du nasopharynx et de la trachée lors de l'infection. Les fimbriae auraient pour fonction la

colonisation au niveau des poumons et un rôle immunosuppresseur. Le facteur de colonisation trachéal aurait également un rôle dans le mécanisme d'adhésion.

### *b- Virulence :*

La toxine pertussique contribue à l'établissement initial de l'infection puis à la persistance de la bactérie dans les voies respiratoires par une action conjointe avec l'hémagglutinine filamenteuse et adénylate cyclase. Les toxines ont aussi un rôle dans le processus pathologique propre à l'infection. Ils vont générer de manière synergique des dommages à l'épithélium ciliaire en déclenchant la libération d'espèce réactive de l'oxygène (ROS) et par conséquent une cytotoxicité sur les cellules du tractus respiratoire. (77).

Lors de l'infection, la bactérie est généralement localisée à la surface des cellules épithéliales ciliées, mais elle se présente également sous forme intracellulaire dans les macrophages. Cette localisation intracellulaire aurait un rôle important dans la persistance de la bactérie dans les poumons. Une fois présente, la bactérie va produire et sécréter la cytotoxine trachéale qui paralyse et détruit les cils et empêche la réparation comme le fait également la toxine dermonécrotique qui détruit les cellules ciliées. La toxine pertussique peut être responsable de l'augmentation de la sécrétion de mucus. Le mouvement ciliaire va être défaillant, ce qui va déclencher la toux caractéristique de la coqueluche. (77).

### *c- Cytotoxicité :*

Cette activité est induite par la toxine dermonécrotique et la cytotoxine trachéale. Cette cytotoxicité va établir par induction de dommage cellulaire, une niche qui sera dépourvue d'épithélium ciliaire et permettra l'exposition de récepteurs au niveau de la membrane basale, assurant à la bactérie la capacité de se fixer plus efficacement. L'hôte aura l'incapacité d'éliminer le mucus par le manque d'action ciliaire ce qui donnera une toux persistante qui contribue à la propagation du germe. On peut donc en déduire que ces facteurs de virulence jouent un rôle prédominant dans l'écologie de *B. pertussis*, non seulement en favorisant l'adhésion mais également sa transmission. (78)

#### *d- Formation de biofilm :*

De nombreuses bactéries pathogènes sont capables de former des structures en communauté sur différents substrats, cellules ou supports physiques qui sont appelées biofilms. Leur formation est essentielle pour majorité d'agent pathogène de la muqueuse, car cela permet de faciliter la colonisation et la persistance bactérienne dans l'hôte. Ceci participe à certaines résistances aux antibiotiques et à leur préservation vis-à-vis des mécanismes de défense immunitaire.

La création d'un biofilm est un processus très complexe. L'expansion clonale des bactéries se fait dans des composants matriciels riches en exo polysaccharides, protéines et ADN. Les micro-colonies vont grandir et fusionner en macro-colonie. FHA et fimbriae auraient des fonctions dans la formation de ces biofilms, alors que l'ACT aurait une fonction inverse, permettant la régulation de la formation du biofilm. (78).

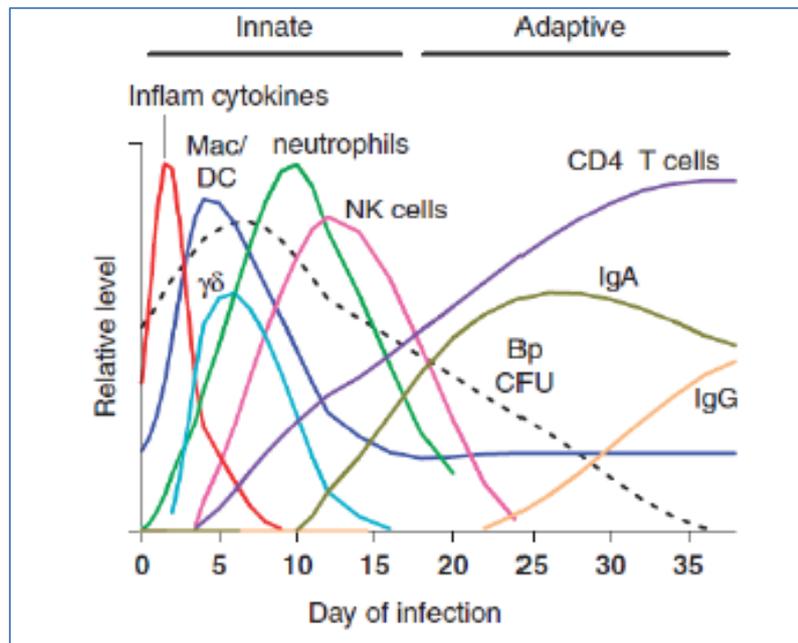
#### *e- Acquisition du fer :*

Comme toute bactérie, *B. pertussis* nécessite du fer pour un bon fonctionnement de nombreux processus cellulaires essentiels. Néanmoins, les concentrations en  $Fe^{3+}$  libre chez l'Homme sont très régulées, avec une concentration plus faible à celle nécessaire à la croissance bactérienne. La bactérie va utiliser certains moyens pour compenser cette faible concentration en Fer libre. La lactoferrine, présente en forte concentration dans les fluides à la surface des cellules respiratoires, sera la source dominante de fer pour la bactérie. Ainsi la bactérie sera capable de s'adapter rapidement au changement de source en fer disponible au cours de l'infection. (77).

### **D- La réponse immunitaire induite par *B. pertussis***

Lors de l'infection à *B. pertussis*, comme lors de la plupart des infections bactériennes, deux types d'immunité interviennent : l'immunité innée et l'immunité adaptative. Dès les premiers instants de l'infection, la réponse innée va se concrétiser par la production de cytokines pro-inflammatoires. Des cellules dendritiques, des neutrophiles et des cellules *natural killer* seront recrutés sur site (Figure 21). Lors de

la phase adaptative, une augmentation du nombre de lymphocytes T CD4+ ainsi qu'une production d'immunoglobulines IgA et IgG se produiront.



**Figure 21 : Cinétique de recrutement cellulaire et du taux d'anticorps dans les poumons au cours d'une infection par *B. pertussis* (79).**

## 1- L'immunité innée

L'immunité innée est la première ligne de défense vis-à-vis des agents infectieux. Elle se met en place immédiatement dans les muqueuses, qui sont directement en contact avec les pathogènes, elle est constituée de mécanismes induits au niveau de la barrière cutanéomuqueuse comme la phagocytose et la réponse inflammatoire, réactions impliquant des cellules phagocytaires et les cytokines régulant l'inflammation. Elle va empêcher l'adhésion par des actions d'origines mécaniques, chimiques et biologiques.

La bactérie sera détectée par les récepteurs TLR (*Toll like récepteurs*) des cellules présentatrices d'antigènes. (77). La colonisation de la muqueuse respiratoire déclenche une production locale de chimiokines qui va entraîner le recrutement de cellules immunitaires sur site de l'infection. Les premières cellules recrutées sont les neutrophiles, puis les *natural killer* (NK), les macrophages, des cellules dendritiques et

enfin les lymphocytes. Néanmoins, de nombreuses études ont montré que les toxines, entre autres la toxine pertussique PTX et la cytotoxine trachéale TCT, sont capables d'inhiber ce trafic cellulaire en bloquant la production de chimiokines par les cellules du tractus respiratoire. Par conséquent, *B. pertussis* peut repousser sa propre élimination médiée par les cellules phagocytaires. (80).

La phagocytose peut être réalisée par les macrophages, les cellules dendritiques et les polynucléaires. Les deux mécanismes de phagocytose de la bactérie sont induits soit par la reconnaissance directe des molécules exposées à la surface du pathogène, soit par l'intermédiaire des anticorps via une opsonisation (récepteurs Fc des Ig). La présence d'immunoglobulines anti-antigènes de *B. pertussis* va optimiser la phagocytose, via les récepteurs Fc présents à la surface des phagocytes, et accélérer ainsi la clairance des bactéries.

La bactérie phagocytée sera dans le phagosome qui fusionnera avec de lysosome donnant un nouveau compartiment, le phagolysosome. Les bactéries présentes dans ce compartiment sont alors exposées à un environnement acide et comportant un grand nombre de molécules antibactériennes et enzymes protéolytiques qui décomposeront les bactéries. Dès que la bactérie se retrouve dans le phagolysosome, elle sera donc généralement tuée en seulement 2 heures. Néanmoins, on a pu remarquer que certaines bactéries pouvant survivre bien plus longtemps. En effet, lorsqu'il y a absence d'anticorps, l'internalisation de la bactérie via le récepteur CR3 permet sa survie intracellulaire en bloquant la fusion du phagosome avec le lysosome. Par conséquent, les cellules phagocytaires auront alors la capacité de fournir aux bactéries une niche intracellulaire pour déployer l'infection. En effet, les bactéries résiduelles peuvent survivre et se multiplier dans un compartiment d'endosome non acide. (81).

## 2- L'immunité adaptative

C'est la deuxième ligne de défense, qui ciblera spécifiquement des antigènes. Il y aura une augmentation du nombre des lymphocytes et des immunoglobulines dans le plasma. L'immunité adaptative présente deux types d'immunité : l'immunité humorale et l'immunité cellulaire. L'immunité adaptative peut être considérée comme une

réaction tardive faisant intervenir les lymphocytes B et T. C'est un processus relativement lent mais qui est très spécifique et efficace car dirigée contre des antigènes particuliers et souvent majeurs.

#### *a- L'immunité humorale :*

La reconnaissance d'un antigène par un anticorps à la surface d'un lymphocyte B se traduit par une intense amplification clonale dans les ganglions lymphatiques, suivie d'une différenciation en cellules spécialisées, les plasmocytes, assurant la production d'anticorps solubles. Les plasmocytes vont ainsi sécrétés de grandes quantités d'anticorps à la fois dans le sérum mais également sur le lieu de l'infection. Les anticorps synthétisés vont assurer la neutralisation l'action de facteurs bactériens et participer à la destruction de la bactérie. Ainsi, ces anticorps spécifiques vont réduire la sévérité de la maladie et éviter la chronicité de l'infection. (82). Les immunoglobulines synthétisées (IgG et IgA sécrétoires) peuvent agir en neutralisant les toxines bactériennes et bloquer l'adhérence de la bactérie aux cellules de l'arbre respiratoire. (83). D'autre part, par la reconnaissance du complexe antigène-anticorps les cellules phagocytaires assureront l'internalisation et la destruction des bactéries. Enfin, certaines cellules lymphocytaires assureront la mémoire de la réponse humorale.

#### *b- L'immunité cellulaire :*

Les lymphocytes T vont jouer un rôle déterminant dans l'immunité spécifique à *B. pertussis*. Chez l'Homme, l'infection naturelle va induire une réponse de lymphocyte T CD4<sup>+</sup> spécifique pour la toxine pertussique, la FHA et la pertactine. L'infection à *B. pertussis* induit une réponse à cellules Th1 (lymphocyte helper ou auxiliaire) à médiation cellulaire avec une forte production de l'INF- $\gamma$ , plutôt que Th2 à médiation humorale (production d'anticorps) (84, 85). On observe également une réponse de type Th17 (réponse inflammatoire locale) mise en place lors de l'infection et qui aura comme elle aussi un rôle protecteur. (87).

La FHA et l'adénylate cyclase ont une place importante dans la modulation de la réponse immunitaire, elles favorisent l'induction des lymphocytes Treg ce qui facilite la persistance de la bactérie dans l'hôte, ainsi que l'inhibition de la maturation des

cellules dendritiques et des macrophages. Ceci permet à *B. pertussis* d'échapper à la réponse immunitaire à médiation cellulaire Th1.

L'immunité cellulaire contre *B. pertussis* est principalement médiée par les lymphocytes T CD4<sup>+</sup>. Les lymphocytes T CD4<sup>+</sup> sont subdivisés en cellules T helper type 1 (Th1) et en cellules Th2, en fonction de l'expression du type de cytokine sécrété. Les cellules Th1 expriment principalement l'INF- $\gamma$  et l'IL-2, et jouent un rôle majeur dans la réponse à médiation cellulaire. Les cellules Th2 sont importantes pour le développement des réponses anticorps et se caractérisent par la sécrétion à des niveaux élevés d'IL-4, d'IL-5 et d'IL-13. (84).

### *c- Action des facteurs de virulence de B. pertussis sur le système immunitaire :*

Les facteurs de virulence de *B. pertussis* vont moduler la réponse immunitaire de l'hôte. Le plus bel exemple est l'action de la toxine pertussique. La colonisation des surfaces de la muqueuse par *B. pertussis* déclenche une réponse locale par libération de chimiokines. Habituellement, les neutrophiles sont les premiers à être recrutés sur le site puis une seconde vague est constituée par les cellules NK, les macrophages, les cellules dendritiques et les lymphocytes. Mais la toxine pertussique est capable d'inhiber ce recrutement en supprimant la libération de chimiokines des cellules résidentes pulmonaires. La sous unité A de la toxine pertussique va inhiber cette sécrétion de chimiokines par les macrophages pendant que la sous unité B bloquera la reconnaissance par les récepteurs TCR et CXCR4 des lymphocytes T.

La cytotoxine trachéale aura un même rôle dans l'inhibition de sécrétion de chimiokines dans le milieu. Ainsi *B. pertussis* en produisant la toxine pertussique et la cytotoxine trachéale, permet de retarder le recrutement phagocytaire.

De plus, la FHA et l'adénylate cyclase ont un rôle important dans la modulation négative de la réponse immunitaire. Ceci va favoriser l'induction des lymphocytes Treg qui permet la persistance de la bactérie dans l'hôte et l'inhibition de la maturation des cellules dendritiques et des macrophages. Cela permet à *B. pertussis* d'échappé en partie à la réponse immunitaire Th1. (87).

D'autres facteurs vont altérer la mise en place d'une réponse immune protectrice :

- L'endotoxine lipopolysaccharidique inhibe la voie classique du complément.

- L'adénylate cyclase et l'hémagglutinine filamenteuse inhibent également les fonctions des macrophages. L'adénylate cyclase est le principal facteur de virulence impliqué dans l'apoptose cellulaire de l'hôte. Lorsque l'adénylate cyclase entre dans la cellule via le transport vésiculaire, les signaux apoptotiques réduisent le fonctionnement des mitochondries.
- La cytotoxine trachéale est capable de modifier la signalisation de l'AMP cyclique dans les phagocytes et affecter leur activité bactéricide en inhibant la chimiotaxie et la production de superoxydes. Cette toxine aura également une action de toxicité cellulaire sur les cellules épithéliales et les polynucléaires neutrophiles.

Ainsi *B. pertussis* en produisant la toxine pertussique, l'adénylate cyclase et l'hémagglutinine filamenteuse, va retarder son élimination par les phagocytoses. En entrant dans le compartiment endosomale phagocytaire, elle va intoxiquer le macrophage alvéolaire et supprimer l'activité bactéricide des monocytes et des macrophages et induire une apoptose. (77). Ainsi, l'action de ces trois facteurs de virulence permet à la bactérie de persister plus longtemps dans les voies respiratoires.

### III- Vaccins actuels

Avant l'introduction des vaccins dans les années 1950, la coqueluche était la 1<sup>ère</sup> cause de décès d'origine infectieuse chez les enfants de moins de 14 ans. En 2013, la couverture vaccinale avec les 3 doses de vaccin nécessaire à l'acquisition d'une protection optimale a atteint 90% dans 129 pays.

Les vaccins contre la coqueluche sont de 2 types :

- Vaccin à germe entier : il est combiné aux vaccins anti diphtérique, tétanique, poliomyélite et *Haemophilus influenzae* de type B.
- Vaccins acellulaires : composé d'un ou plusieurs antigènes purifiés pouvant être combinés avec les mêmes valences. Ils sont mieux tolérés que les vaccins à germe entier mais sembleraient moins efficaces.

#### A- Les vaccins cellulaires

Les vaccins cellulaires ont été développés au cours du XX<sup>ème</sup> siècle. Ils sont préparés à partir d'une culture bactérienne de *B. pertussis* tuée par la chaleur ou par contact avec du formol. Le premier vaccin cellulaire entier inactivé (Vaxicoq®) a été commercialisé en 1959 (34). Puis en 1966, ce vaccin a été combiné aux vaccins contre la diphtérie, le tétanos et la poliomyélite, pour donner le vaccin TetraCoq®. Son utilisation va se généraliser. Son efficacité contre *B. pertussis* est estimée à 95% après 3 injections. Son administration par voie intra musculaire entraîne fréquemment des réactions locales, régionales et systémiques. Ces effets indésirables ont entraîné une baisse de l'adhésion de la population au vaccin Vaxicoq®. Cette désaffection a généré une forte baisse de la couverture vaccinale dans de nombreux pays. De nouvelles épidémies de coqueluche sont alors apparues et ont fait de nombreuses victimes. Démontreront ainsi l'efficacité du vaccin et l'utilité de la vaccination. A ce jour les vaccins cellulaires ne sont plus commercialisés en France mais restent très utilisés dans les pays en développement en raison de leur coût réduit de production comparé à celui des vaccins acellulaires (23).

## B- Les vaccins acellulaires

À partir de les années 1970, un vaccin de deuxième génération a été développé qui aura l'avantage d'avoir moins d'effets indésirables que le vaccin cellulaire. Ce fut au Japon que le premier vaccin a été créé par le Dr Yuji Sato (53). C'est ce type de vaccin dit acellulaire qui finira par être le plus appliqué dans les pays développés. Ils ont été commercialisés en France à partir de 1998, les vaccins cellulaires n'étant plus utilisés (52).

Il est composé de 2 à 4 antigènes de *B. pertussis*. Dont la toxine pertussique détoxifiée ou anatoxine (toxine qui par l'action de la chaleur ou un agent chimique, a perdu son activité toxique mais a conservé ses propriétés immunogènes) et l'hémagglutinine filamenteuse A (FHA). Ces deux antigènes sont présents dans tous les vaccins. D'autres toxines peuvent être ajoutées comme la pertactine (PRN) et les fimbriaes de type 2 et type 3. Les vaccins acellulaires diffèrent entre eux par leurs compositions antigéniques, la quantité de chaque antigène contenu dans le vaccin, par le clone bactérien utilisé pour la production des antigènes, leur méthode de purification et de détoxification, et par le choix de l'adjuvant.

Ces vaccins sont administrés par voie intra musculaire et sont mieux tolérés que les vaccins cellulaires (12,23).

En France, le vaccin contre la coqueluche est systématiquement associé (Tableau 4) :

- aux vaccins contre la diphtérie, la poliomyélite et le tétanos (vaccin DTCP) ;
- aux vaccins contre la diphtérie, les infections à *Haemophilus influenzae* de type B, la poliomyélite et le tétanos (vaccin DTCP-Hib) ;
- aux vaccins contre la diphtérie, les infections à *Haemophilus influenzae* de type B, l'hépatite B, la poliomyélite et le tétanos (vaccin DTC-HepB-P-Hib).

Mais comme beaucoup de vaccins, on retrouvera comme effets indésirables des réactions locales, régionales, et/ou systémiques.

**Tableau 4 : Tableau des vaccins commercialisés en France contenant des antigènes coquelucheux (12, 44, 48) :**

Spécialité	Type de vaccin	Maladies concernées	Composition en antigène de <i>B. pertussis</i> :	Cible	Laboratoire
<b>Hexyon®</b>	Hexavalent	Diphtérie, tétanos, poliomyélite, coqueluche, méningites à <i>H. influenzae</i> , hépatite B. (DTCaP)	Toxine pertussique (25µg), FHA (25µg)	Nourrissons	Sanofi Pasteur MSD
<b>Infanrix Hexa®</b>	Hexavalent	Diphtérie, tétanos, poliomyélite, coqueluche, méningites à <i>H. influenzae</i> , hépatite B. (DTCaP)	Toxine pertussique (25µg), FHA (25µg), pertactine (8µg)	Nourrissons	GSK
<b>Infanrix Quinta®</b>	Pentavalent	Diphtérie, tétanos, poliomyélite, coqueluche, méningites à <i>H. influenzae</i> . (DTCaP)	Toxine pertussique (25µg), FHA (25µg), pertactine (8µg).	Nourrissons	GSK,
<b>Pentavac®</b>	Pentavalent	Diphtérie, tétanos, poliomyélite, coqueluche, méningites à <i>H. influenzae</i> (DTCaP)	Toxine pertussique (25µg), FHA (25µg)	Nourrissons	Sanofi Pasteur MSD
<b>Infanrix Tetra®</b>	Tétravalent	Diphtérie, tétanos, poliomyélite, coqueluche (DTCaP)	Toxine pertussique (25µg), FHA (25µg), pertactine (8µg).	Enfants	GSK
<b>Tetravac-acellulaire®</b>	Tétravalent	Diphtérie, tétanos, poliomyélite, coqueluche (DTCaP)	Toxine pertussique (25µg), FHA (25µg)	Nourrisson, enfants	Sanofi Pasteur MSD

<b>Boostrix tetra®</b>	Tétravalent	Diphtérie, tétanos, poliomyélite, coqueluche (dTcaP)	Toxine pertussique (8µg), FHA (8µg), pertactine (2,5µg)	Adultes, adolescents, enfants (11 -13 ans)	GSK,
<b>Repevax®</b>	Tétravalent	Diphtérie, tétanos, poliomyélite, coqueluche (dTcaP)	Toxine pertussique (2,5µg), FHA (5µg), pertactine (5µg), fimbriae (5µg)	Adultes, adolescents, enfants (11 -13 ans)	Sanofi Pasteur MSD

## C-Effets indésirables et contre-indications

### 1- Au sujet des vaccins cellulaires

Le vaccin coquelucheux à germes entiers est le vaccin le plus réactogène des vaccins pédiatriques. Les réactions locales à type de nodule d'induration douloureux, d'érythème et/ou de douleur, surviennent dans les heures qui suivent et s'observent dans 30 à 60 % des cas selon les essais et les vaccins. Les réactions systémiques sont dominées par la fièvre. Cette fièvre égale ou supérieure à 38 °C s'observe dans 30 à 50 % des cas. En revanche, une fièvre élevée ( $\geq 40$  °C) est rare et doit être considérée comme une réaction contre-indiquant une injection ultérieure. Les convulsions qui peuvent dans certains cas advenir sont la conséquence de la fièvre et s'observent dans 1/2 000 à 1/10 000 vaccinations selon les pays. Leur risque est égal à celui des convulsions fébriles habituelles et elles ne laissent pas de séquelles. Elles justifient la prescription systématique d'antipyrétiques après vaccination et pendant 48 heures. Les états de chocs (anaphylaxie, choc avec hypotonie-hypo réactivité) sont très rares mais sont des accidents sévères.

La mort subite a fait l'objet d'études approfondies conduites au Japon et aux États-Unis. Le vaccin à germes entiers a pu être tout à fait disculpé pour le risque de mort subite. L'arrêt de la vaccination dans certains pays est dû à la crainte de réactions encéphaliques. De nombreuses études ont été développées pour mesurer le risque d'encéphalopathie grave post vaccinale. En 1989, Griffith, reprenant le suivi neurologique des enfants, concluait à l'absence de preuve statistique de l'imputabilité

de la vaccination à germes entiers au regard des lésions cérébrales permanentes enregistrées dans l'étude (51, 53).

## 2- Au sujet des vaccins acellulaires

Les effets indésirables des vaccins contenant des antigènes de la bactérie *B. pertussis* sont communs aux autres vaccins acellulaires et bien moindres que ceux provoqués par les vaccins cellulaires. Néanmoins leur description est la suivante :

- On trouve très fréquemment des réactions au point d'injection (>10 cas sur 100 individus vaccinés) telle que douleur, rougeur, gonflements, et prurit passagère.
- Une réaction allergique provoquée par l'injection du vaccin reste extrêmement rare (1 cas sur 450 000 personnes vaccinées). Elle se traduit par une éruption cutanée qui peut être accompagnée de prurits persistantes et apparition de bulles. Un gonflement du visage et des yeux. Ce gonflement peut entraîner une difficulté à avaler voir respirer allant jusqu'à une hypotension et perte de connaissance. Cette réaction très rare de l'organisme contre le vaccin doit être prise au sérieux et nécessite une consultation chez le médecin traitant voir un passage aux urgences pour les cas les plus graves (Œdème de Quincke, phénomène d'Arthus, choc anaphylactique).

D'autres effets indésirables liés aux vaccins acellulaires de la coqueluche ont été décrits tels que :

- Observation fréquente (1 à 10 cas sur 100 personnes vaccinées) d'un état fébrile accompagné de myalgies et arthralgies dans les 24-48 heures après injection.
- Exceptionnellement sont observées des réactions dans les 48 heures suivant la vaccination avec une fièvre pouvant atteindre  $\geq 40^{\circ}\text{C}$ , des convulsions (0,1 ‰), un syndrome du cri persistant (cris inhabituels, plaintifs, différents des pleurs d'un enfant normal) (0,06 ‰), jusqu'à l'état de choc (0,05 ‰).

En prévention, il pourra être administré des médicaments antipyrétiques comme du paracétamol (une dose poids de 15 mg/kg toutes les 6 heures) pour éviter l'état fébrile, ainsi que l'administration d'anticonvulsivants en cas d'antécédent de convulsions non liées au vaccin ou à une encéphalopathie convulsivante. De plus, la vaccination ne devra pas être poursuivie en cas de forte réaction à l'injection précédente.

Les contre-indications que l'on peut retrouver pour tous vaccins sont :

- Hypersensibilité à l'un des composants
- Hyperthermie ou infection évolutive
- Antécédent d'encéphalopathie évolutive convulsivante ou non
- Antécédents de réactions allergiques importantes après une injection vaccinale

## D-Modalité de la vaccination

Les vaccins contre la coqueluche peuvent être prescrits par le médecin de famille. Une sage-femme peut prescrire une vaccination pour les femmes en consultation et les nourrissons jusqu'à leurs 8 semaines.

L'acte de vaccination peut être réalisé par un médecin, un infirmier (sur prescription médicale) ou une sage-femme en libéral, à l'hôpital ou en PMI (enfant jusqu'à 6 ans). Elle peut être réalisée dans les centres publics de vaccination où la prescription, la délivrance et la vaccination s'effectuent sur place.

Les vaccins sont délivrés en officine sous ordonnance. Ils se conservent au réfrigérateur entre + 2°C et + 8°C et ne doivent pas être congelés.

L'injection intramusculaire se réalise chez le nourrisson au niveau de la face antérolatérale de la cuisse au tiers moyen. Chez l'enfant et l'adulte, le vaccin est administré dans le muscle deltoïde.

Les vaccins contre la coqueluche sont pris en charge par l'Assurance Maladie à 65%, le reste étant généralement remboursé par les assurances complémentaires santé comme les mutuelles. Il n'y a pas d'avance de frais dans les centres de vaccination public et en PMI (23, 54).

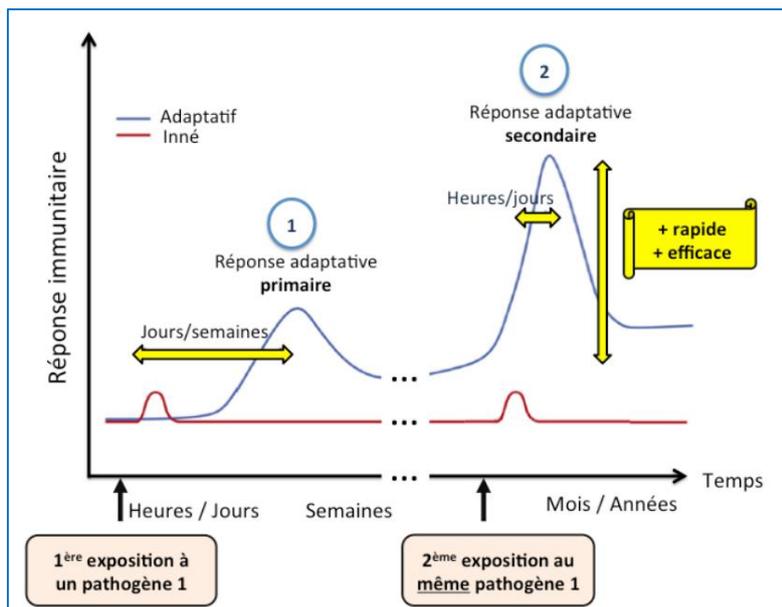
## E-Réponse immunitaire induite par les vaccins

Pour déterminer les différences d'efficacité protectrice induite par les vaccins cellulaires et les vaccins acellulaires, il existe 3 paramètres essentiels qui sont :

- La nature de la réponse immune induite,
- La durée de l'immunité protectrice,
- Le type de protection induite.

### 1- La nature de la réponse immune induite

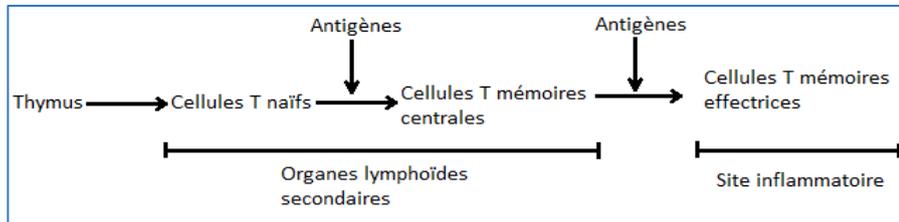
En règle générale, la vaccination est une réponse active de l'organisme à l'administration d'antigènes induisant une production de cellules lymphocytaires mémoires. La réponse immune à un vaccin peut être considérée comme une réponse protectrice rapide et forte (Figure 22). (55).



**Figure 22 : Evolution de la réponse immunitaire adaptative au cours du temps.**  
(12).

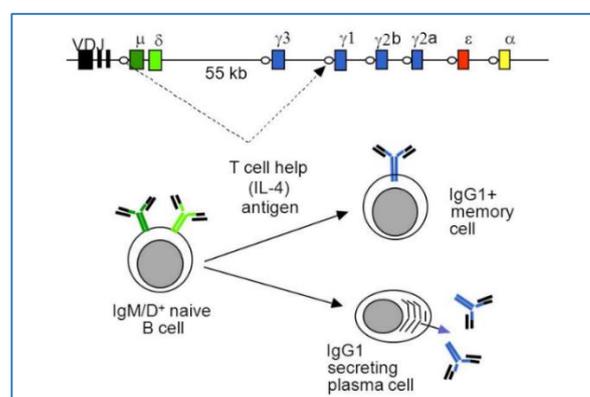
La vaccination se base sur les propriétés de mémoire du système immunitaire adaptatif et consiste à administrer à un individu sain des fragments d'un pathogène voir le pathogène en entier mort ou atténué pour le protéger contre la maladie infectieuse qu'induit ce pathogène, lors d'une rencontre ultérieure. Les antigènes du

pathogène vont activer le système immunitaire qui permettra de mettre en place une immunité dite mémoire. Cette mémoire induira une réponse immunitaire plus efficace et plus rapide lors de la prochaine rencontre avec le pathogène. Cette mémoire immunitaire permet une protection de longue durée contre les infections (Figure 23).



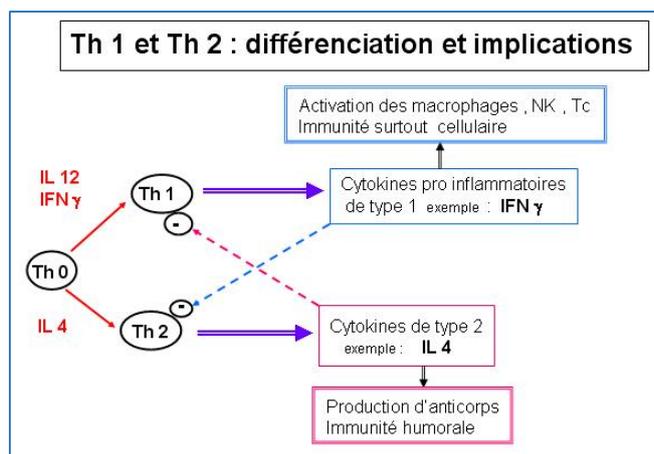
**Figure 23 : Représentation simplifié de la réaction du système immunitaire.**

La vaccination est composée de la primovaccination c'est-à-dire la 1<sup>er</sup> injection (voir plusieurs injections) qui donnera une réponse immunitaire primaire, il y aura une activation des lymphocytes T et B naïfs par les cellules présentatrices d'antigènes (CPA) et la production par les plasmocytes (lymphocytes B activés) d'immunoglobulines de type IgM qui auront une affinité faible vis-à-vis de l'antigène spécifique. Les lymphocytes B naïfs activés vont donner soit des lymphocytes B mémoire soit des plasmocytes producteurs d'anticorps dirigés contre un antigène spécifique. Les lymphocytes T naïfs eux vont donner des lymphocytes T effecteurs Th1 soit des lymphocytes T mémoires. Les lymphocytes sont la base de la mémoire immunitaire. Les rappels suivant pourront induire une réponse immunologique secondaire qui génèrera une commutation isotypique (Figure 24). On observera alors une activation des lymphocytes T et B mémoires et une production forte IgG ayant une affinité plus forte que celle des IgM. (55).



**Figure 24 : Commutation isotypique.** (<http://slideplayer.fr/slide/3125277/>)

L'infection naturelle par *B. pertussis* va induire une réponse immune systématique de type Th1 (figure 24) avec notamment la production d'interféron-gamma (INF $\gamma$ ) et d'interleukine-2 (IL-2) par les lymphocytes T CD4+ et CD8+. Les cellules Th17 auraient un rôle dans l'immunité protectrice contre la coqueluche mais ce rôle reste encore à déterminer. Les anticorps dirigés contre les antigènes de la bactérie contribuent faiblement à la protection contre la coqueluche. De façon comparable en termes de cible antigénique, le vaccin cellulaire contre *B. pertussis* va entraîner une réponse de type Th1 forte avec l'activation de l'immunité à médiation cellulaire chez l'Homme (Figure 25). Le vaccin acellulaire va quant à lui induire une réponse immune principalement de type Th2 avec la synthèse d'anticorps via l'influence de l'IL-4 et IL-5 mais également de type Th17. (55).



**Figure 25 : La différenciation de la réponse immunitaire Th0 en réponse Th1 ou Th2.** (99)

Les étapes de la réponse immunitaire lors de la vaccination :

- Lors de l'administration de la dose vaccinale, l'antigène est capté par les CPA par phagocytose de la part de cellules dendritiques et de macrophages localisées près du site d'injection. Cette première étape est immédiate et se déroule en quelques heures. (55).
- L'antigène microbien alors phagocyté sera exposé, grâce aux protéines du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) sur la membrane des cellules présentatrices qui vont migrer vers le ganglion le plus proche par les

vaisseaux lymphatiques. Les CPA vont présenter le complexe antigène-HLA aux lymphocytes T CD4+. Cette étape se fait également en quelques heures. Une communication entre les deux cellules va se faire, ce qui induit l'activation du lymphocyte T CD4+ (étape en 7 à 24 heures). Les lymphocytes T CD4+ vont activer à leur tour soit les lymphocytes T CD8+ dit « tueurs », soit les lymphocytes B que se différencient alors en plasmocytes producteurs d'anticorps. Cette étape se déroule en un à deux jours avec une production de cytokines régulatrices. (55).

- Lorsque les cellules sont activées, celles-ci vont quitter le ganglion pour migrer vers le point d'injection au bout de 3 à 5 jours.
- Les cellules mémoires, lymphocyte B et T, ainsi que les immunoglobulines produites persistent dans l'organisme au niveau des organes lymphoïdes secondaires comme les ganglions, rate et tissus associés aux muqueuses (MALT). Dans les ganglions, au niveau des follicules, les cellules mémoires sont hyper réactives et permettent une protection spécifique contre le micro-organisme pathogène. Elles ont une durée de vie très longue. Lors d'un prochain contact avec les antigènes correspondants, les cellules mémoires seront réactivées par les CPA. Les lymphocytes T et B vont alors se multiplier par mitose dans le follicule. Ceci provoque le gonflement caractéristique des ganglions. Puis les cellules activées vont migrer au site de l'infection pour lutter contre le pathogène. Cette réponse adaptative sera plus efficace, plus intense et plus rapide que l'immunité acquise par infection. Ceci permettra, lors des rappels, de maintenir un état de vigilance du système immunitaire au regard de cette réponse spécifique (12, 23, 55, 57).

## 2- La durée de l'immunité protectrice

Plusieurs études ont montré que la protection contre la coqueluche après administration du vaccin acellulaire était d'une durée beaucoup plus courte que celle générée par le vaccin cellulaire (58). Cette diminution rapide de la réponse immune protectrice joue certainement dans l'augmentation des cas de coqueluche observée notamment chez l'adolescent et le jeune adulte. La raison de cette baisse rapide de la

protection immunitaire induite par les vaccins acellulaires n'est pas encore connue. Une étude a démontré néanmoins que les lymphocytes T mémoire spécifiques de *B. pertussis* étaient détectés chez les pré-adolescents plusieurs années après leur dernier rappel vaccinal mais que l'amplitude et la qualité des réponses immunes médiées par les lymphocytes T différaient entre les enfants ayant reçu le vaccin cellulaire et celle de ceux ayant reçu le vaccin acellulaire lors de leur vaccination primaire (23, 59).

### 3- Le type de protection induite

Le premier objectif de la vaccination est de protéger l'individu contre la maladie. Néanmoins, il est important également de protéger contre l'infection et la transmission de façon à réduire la circulation des pathogènes. Ceci est d'autant plus important que chez les nourrissons, trop jeunes pour être vaccinés, les cas de coqueluche peuvent être particulièrement graves et pour lesquels les sources de contamination viennent majoritairement du cercle familial. C'est dans ce but précis qu'a été mise en place la stratégie du « cocooning », la protection du nourrisson par la vaccination de la famille proche. Cette stratégie est préconisée en France depuis 2004. Hélas en 2013, on observe que seul un couple de parent sur 4 est correctement vacciné contre *B. pertussis* (23, 60).

## F- Plan vaccinal

Les schémas vaccinaux diffèrent en fonction des pays mais commencent au plus tôt à 6 semaines de vie (23). En France, chez le nourrisson et l'enfant (jusqu'à 13 ans), la vaccination se fait à 2 mois puis 4, puis 11 mois. Ce schéma est donc composé de 3 injections dès l'âge de deux mois avec le vaccin ayant des doses concentrées en antigènes de *B. pertussis*. Ces 3 injections sont nécessaires pour une protection optimale du nourrisson (Figure 26). Un rappel sera effectué à 6 ans. Le même type de vaccin sera utilisé. Puis entre 11 et 13 ans, on utilisera un vaccin avec des doses plus faibles en antigènes (Boostrixtetra® ou le Repevax®).

Âge approprié	1 mois	2 mois	4 mois	5 mois	11 mois	12 mois	16-18 mois	6 ans	11-13 ans	14 ans	25 ans
BCG											
Diphthérie-Tétanos-Poliomyélite											
Coqueluche											
Haemophilus Influenzae de type b (HIB)											
Hépatite B											
Pneumocoque											
Méningocoque C											
Rougeole-Oreillons-Rubéole											
Papillomavirus humain (HPV)											

Figure 26 : Plan de vaccination 2017 en France. <http://vaccination-info-service.fr/>

Chez l'adulte, Il y aura un rappel à 25 ans, une dose de vaccin combiné contre la coqueluche (sauf si cas de vaccination contre la coqueluche datant de moins de 5 ans) avec des doses réduites en antigène de B. Pertussis. Si le rappel n'a pas été effectué à 25 ans, elle peut être réalisée entre 26 et 39 ans.

Des rappels éventuels dans le cadre de stratégie « cocooning » sera fortement conseillés pour les parents ayant un projet parental, au cours de la grossesse pour le conjoint et la fratrie, pour la mère à la sortie de maternité et l'entourage. Les vaccins qui seront utilisés chez l'adulte sont le Boostrixtetra® ou le Repevax®.

En milieu professionnel, la vaccination contre la coqueluche est recommandée pour :

- Le personnel soignant dans leur ensemble ainsi que dans les établissements EHPAD (établissement hébergement pour personnes âgées dépendants).
- Etudiant en filières médicales, paramédicales et pharmaceutiques, particulièrement le rappel à 25 ans.
- Le personnel médical et paramédical des maternités, dans les services de néonatalogie et de tous services recevant des nourrissons de < 6 mois.
- Le personnels des établissements de garde d'enfants d'âge préscolaire (crèche, halte-garderie).

- Le personnel des établissements et des services sociaux concourant à la protection de l'enfance.

Ces rappels apparaissent de plus en plus nécessaires pour établir une barrière efficace contre l'infection à *B. pertussis*. Une information accrue ainsi que des recommandations répétées auprès de la population peut améliorer la couverture vaccinale (12, 56, 89).

# IV- La voie nasale

## A- Introduction

La contamination de *B. pertussis* se fait par l'inhalation de microgouttelettes contaminées. Le nez est donc l'organe d'où vient la contamination mais peut être une voie de vaccination. Par ailleurs, la coqueluche étant une pathologie de l'arbre respiratoire supérieure, donc il est probable que la muqueuse nasale ait un rôle dans l'immunité contre l'infection à Bordetella (90).

## B- Anatomie du nez

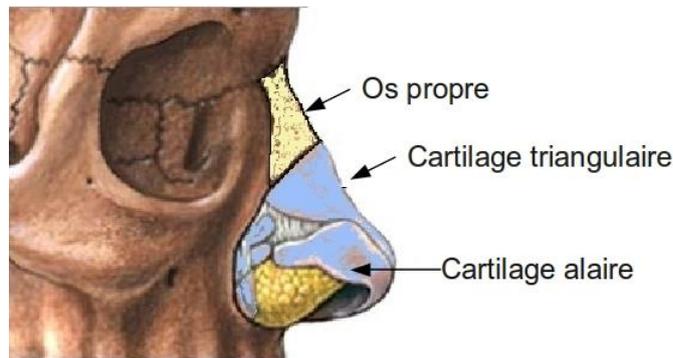
Le nez chez l'espèce humaine est la saillie médiane du visage localisé au-dessus de la lèvre supérieur et en fait le segment supérieur des voies respiratoires qui referment l'organe de l'olfaction. En laissant passer l'air, le nez permet la phonation.

### 1- Structure

Chez l'Homme, il est constitué d'un squelette fait de cartilages accolés au squelette osseux de la face. Les cartilages sont recouverts de peau et de muscle sur leurs faces externes. Ils sont tapissés de muqueuse respiratoire sur les faces internes. Les cartilages démarquent deux ouvertures, les narines, qui permettent la communication dans les cavités nasales, des cornets et des sinus avec l'extérieur.

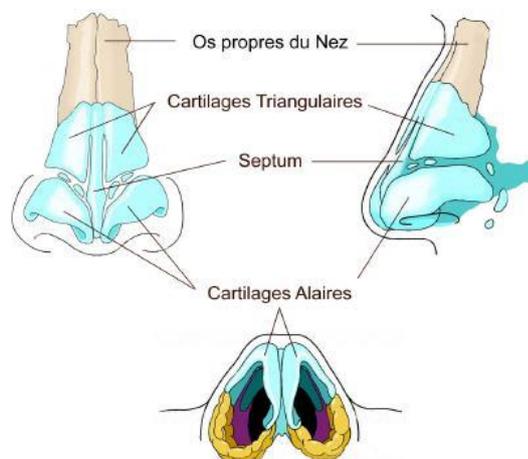
#### *a- Les cartilages :*

Le nez comprend cinq cartilages principaux (Figure 27 et 28). L'espace entre les cartilages est rempli par des petits cartilages et du tissu fibreux. Le cartilage septal ou septum, lame qui sépare verticalement les deux narines. Les lames latérales, dit cartilages triangulaires, forment la paroi supérieure de chaque narine. Les cartilages alaires, forment la paroi antérolatérale des narines. Ce sont des lames concaves. (92)



**Figure 27 : Schéma des cartilages du nez.**

[http://www.dominiquegarcia.fr/pages/Anatomie\\_du\\_nez\\_et\\_des\\_sinus-2636903.html](http://www.dominiquegarcia.fr/pages/Anatomie_du_nez_et_des_sinus-2636903.html)



**Figure 28 : Schéma anatomique des cartilages du nez (en bleu clair)**

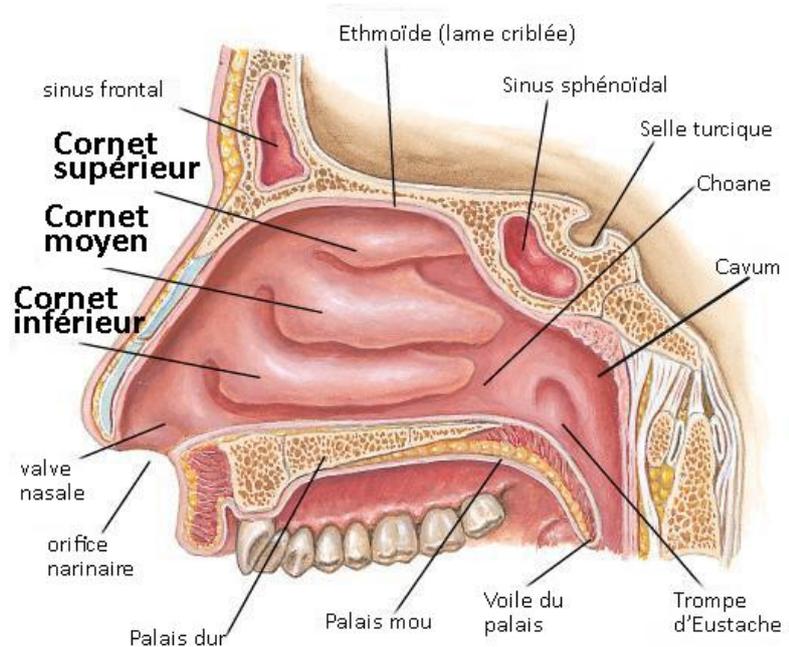
<http://chirurgiemaxillofaciale-albi.com/plastique/rhinoplastie/index.html>

### *b- Les cornets :*

A l'intérieur de chaque fosse nasale se trouvent les cornets tapissés de muqueuse. Ce sont des formations osseuses, enroulées sur elles-mêmes, en forme de cornet, recouvertes par une muqueuse érectile qui gonfle alternativement d'un côté puis d'un autre toutes les 3 à 5 heures, c'est le cycle nasal. En général les deux fosses nasales ne sont pas libres de la même manière à un instant t mais change de côté en fonction du temps. On peut constater que seuls 70 - 80 % de la population adulte présente cette modification cyclique. Ce cycle est retrouvé au niveau de la muqueuse des cavités sinusiennes maxillaires et ethmoïdales. (92)

En cas de rhume, allergie, ce système peut être dérégulé, les 2 fosses nasales seront bouchées en même temps entraînant une obstruction du nez et des écoulements. (93).

Les cornets de chaque côté appelées cornet supérieur, moyen et inférieur séparés entre eux par des espaces désignés comme méats (figure 29).



**Figure 29 : Coupe schématique de la face où l'on observe les différents cornets.**

<http://www.institut-nez.fr/syndrome-du-nez-vide-c25.html>

On observe ainsi :

- Le méat inférieur situé sous les cornets inférieurs, il est là pour recevoir le canal lacrymal et drainer les larmes.
- Le méat moyen, situé entre le cornet inférieur et moyen. C'est le lieu de drainage de tous les sinus antérieurs de la face, le sinus maxillaire, sinus frontale et une partie du sinus ethmoïdale.
- Le méat supérieur situé entre le cornet moyen et le cornet supérieur, qui draine les sinus postérieurs, la partie postérieure du sinus ethmoïdale et le sinus sphénoïdal.

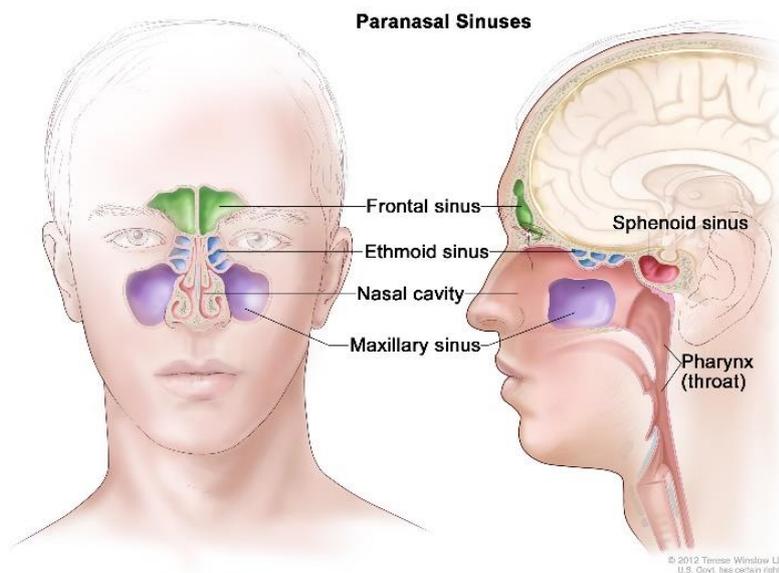
La grande majorité de l'air passe dans le cornet inférieur et le cornet moyen. Le planché nasal et le toit sont les régions les moins ventilées. A l'expiration, la répartition

de l'air sera plus homogène, avec une bonne distribution au niveau de la muqueuse olfactive. (92).

### *c- Les sinus :*

Ce sont des cavités aériennes creusées dans le massif facial, tapissés de la muqueuse respiratoire et reliés aux fosses nasales par un orifice de drainage qui s'abouche au niveau des méats. (92).

On distingue les sinus antérieurs, qui abouchent au méat moyen. Ils sont, de haut vers le bas, les sinus frontaux, ethmoïdaux (partie antérieure) et maxillaires. Les sinus postérieurs, d'avant en arrière, comprennent les sinus ethmoïdaux (partie postérieure) et les sinus sphénoïdaux (figure 30).



**Figure 30 : Représentation schématique des sinus frontaux (vert), ethmoïdaux (bleu), maxillaires (violet) et sphénoïdaux (rouge).**

<https://www.cancer.gov/types/head-and-neck/patient/paranasal-sinus-treatment-pdq>

### *d- Les voies de communication avec le nez :*

Le nez communique avec les sinus, les voies respiratoires et les voies lacrymales. Avec l'extérieur il communique par les narines avec les rhino-pharynx par l'intermédiaire des choanes, et avec les canaux lacrymaux, qui évacuent l'excédent de

liquide lacrymal vers le nez. Enfin, il communique avec les sinus, situés dans les os crâniens, et qui forment une poche d'air.

Le nez communique aussi avec l'oreille moyenne à travers la trompe d'Eustache, pour équilibrer les pressions d'air. (94).

#### *e- La muqueuse :*

La muqueuse qui tapisse l'ensemble de cette infrastructure ostéo-cartilagineux est hétérogène. C'est un épithélium non vascularisé reposant sur une lame basale qui sépare les cellules épithéliales du tissu conjonctif sous-jacent (figure 31).

Elle contient des cellules ciliées, cellules à mucus et cellules de soutien sur la lame basale. La muqueuse nasale comprend la muqueuse respiratoire et olfactive. Les cellules qui la composent sont liées par des jonctions serrées et par des jonctions adhérentes, qui assurent la cohésion entre les cellules.

Elle a un rôle de protection vis-à-vis du milieu extérieur grâce à cette cohésion, au mucus sécrété, une fonction de mouvement avec les cils et la réception de messages sensoriels par l'intermédiaire des cellules olfactives. (95).



**Figure 31 : Coupe de la muqueuse respiratoire.**

<http://www.lycee-sainte-cecile.com/sites/resources/files/Biologie-Physiopathologie/diaporama%20respiration%20chapitre%201.pdf>

La muqueuse nasale, qui contient des cellules olfactives, est progressivement remplacée par la muqueuse respiratoire d'épaisseur variable, riche en glande et plexus vasculaires lorsque l'on s'avance dans l'arbre respiratoire.

## C-Rôles et fonctions

Ce sont 20 000 litres d'air qui traversent le nez chaque jour. Le nez et les sinus ont 3 fonctions principales :

- Conditionnement de l'air.
- Fonction de défense
- Odorat avec les cellules olfactives.

### 1- Conditionnement de l'air

- La filtration et l'épuration de l'air :

Les mouvements du courant tourbillonnaires favorisent le contact avec la muqueuse nasale et permet l'épuration de l'air inspiré. Les particules en suspension sont alors filtrées en adhérant au mucus sécrété et qui tapisse la surface de l'épithélium. Le mouvement muco-ciliaire se charge de l'évacuation du mucus rempli de polluants et de micro-organismes.

- Humidification de l'air:

Le mucus est composé à 95% d'eau. Le transfert de l'eau du mucus à l'air inspiré, ce fait grâce aux mécanismes de convection et de diffusion.

- Réchauffement de l'air:

Ce sont les plexus vasculaires, traversés par le sang à température de 37°C qui vont réchauffer les fosses nasales et donc l'air inspiré. Ce système peut fonctionner et s'adapter à des conditions extrêmes (de -10°C à 40°C, à haute altitude, effort extrême).

Le système vasculaire particulier fonctionne comme un radiateur qui va réchauffer l'air inspiré, tandis que les glandes du chorion maintiennent une

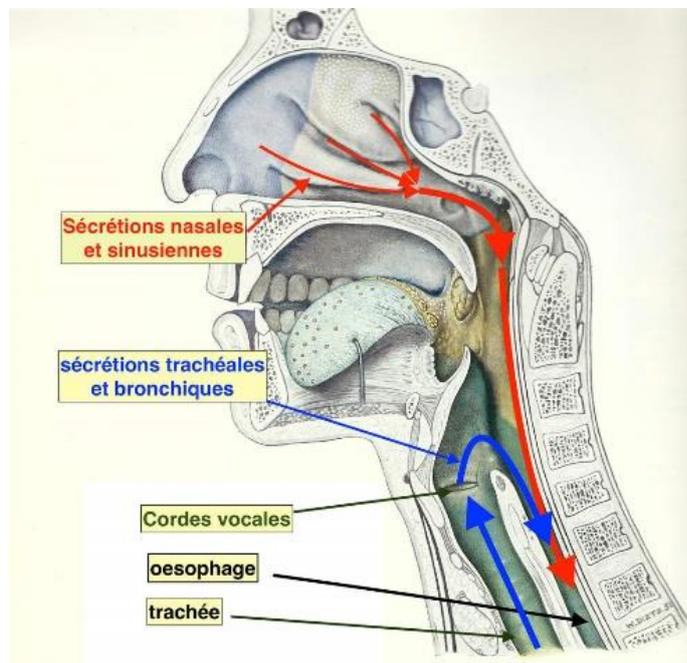
humidification et une filtration par les cils et le mucus avant l'entrée dans les voies respiratoires. (96).

## 2- Fonction de défense

Le nez a la capacité de maîtriser les agressions aéroportées, empêchant la propagation à l'oreille moyenne et aux bronches ainsi que leur diffusion dans l'organisme. Il possède plusieurs systèmes :

- La barrière épithéliale
- Système immunitaire nasal
- Le système muco-ciliaire

Le mucus recouvre l'épithélium, ce qui permet de la maintenir humide. C'est un gel visco-élastique contenant de nombreux éléments immunocompétent. Les cils des cellules auront un mouvement constant et synchrone, ceci permet de faire descendre le mucus contaminé dans le pharynx pour être dégluti dans le système digestif (figure 32). (95).



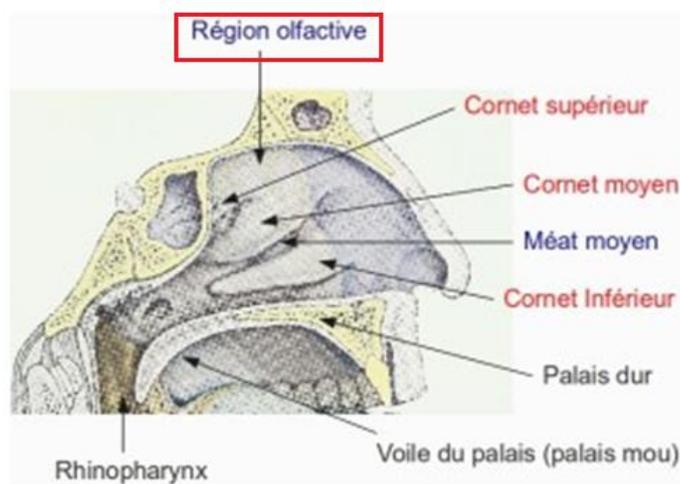
**Figure 32 : Coupe de la sphère ORL.** Les sécrétions nasales et sinusiennes vont descendre pour être dégluties dans l'œsophage.

[http://www.dominiquegarcia.fr/pages/Anatomie\\_du\\_nez\\_et\\_des\\_sinus-2636903.html](http://www.dominiquegarcia.fr/pages/Anatomie_du_nez_et_des_sinus-2636903.html)

### 3- L'olfaction

La muqueuse nasale est le siège des cellules sensorielles de l'odorat, qui participent dans 90% de la perception du goût des aliments. C'est la rétro-olfaction, le passage des molécules odorantes par le rhinopharynx jusqu'aux cavités nasales.

La muqueuse olfactive tapisse l'intérieur des cavités mais ne mesure que 5 cm<sup>2</sup>, nommé « tache olfactive » ou « tache jaune » du faite de sa couleur jaune (figure 33). Elle se situe au niveau de l'ethmoïde et les cellules de l'olfaction traversent la lame criblée. Elle est composée de 3 types cellulaires : neurones olfactifs qui reçoivent l'information et qui le transmette au bulbe olfactif, cellules de soutiens et les cellules souches qui renouvellent la muqueuse tous les 3 semaines. (95).



**Figure 33 : Coupe schématique de la face où l'on observe la zone olfactive.**

[http://www.dominiquegarcia.fr/pages/Anatomie\\_du\\_nez\\_et\\_des\\_sinus-2636903.html](http://www.dominiquegarcia.fr/pages/Anatomie_du_nez_et_des_sinus-2636903.html)

Les cils des neurones baignent dans le mucus. Celui-ci renferme des protéines de liaison des odorants (*odorant binding proteins*, OBP) qui se lient au récepteur olfactifs pour capter les molécules odorantes et générer le signal nerveux, information qui sera ensuite traiter par le cerveau. (95).

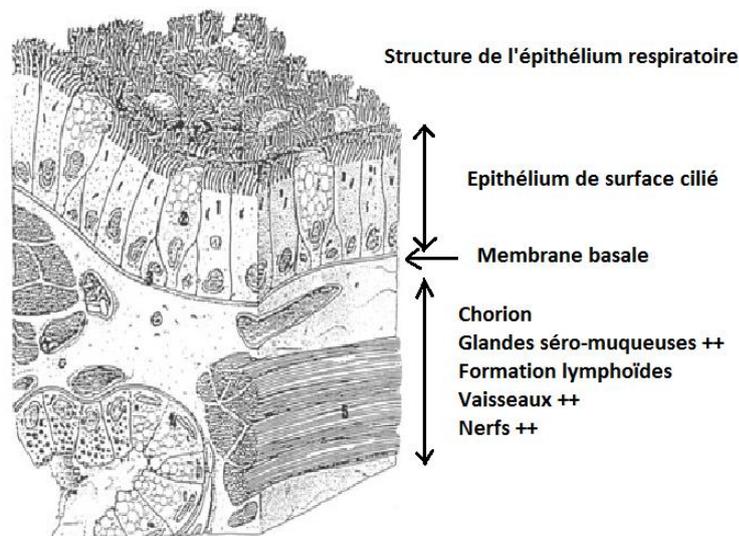
### D-Histologie nasale

La structure de la muqueuse respiratoire qui tapisse le nez et les sinus comprend un épithélium pseudo-stratifié cilié à cellules à mucus. (97).

Il est constitué de 4 types de cellules :

- Cellules ciliées
- Cellules à microvillosités
- Cellules caliciformes ou à mucus
- Cellules basales

Cet épithélium de surface va s'invaginer dans le chorion, ou lamina propria, sous-jacent pour donner naissance à l'épithélium glandulaire. Il se compose de glandes tubulo-acineuses simples ou de type séreux ou séro-muqueux.



**Figure 34 : Coupe histologique de l'épithélium respiratoire.**

<http://slideplayer.fr/slide/4931329/> page 6

C'est un épithélium de surface composé d'une assise unistratifiée de cellules prismatiques ciliées qui possèdent environ 200 cils de 5 à 10  $\mu\text{m}$  de long (figure 34). On observe aussi dans ce même épithélium des cellules caliciformes, des cellules mélaniques, des lymphocytes. On peut observer à la surface des ostium des glandes tubulo-acineuses. (92).

Il contient aussi des glandes séro-muqueuses tubulo-acineuse ramifiées. Ce revêtement doit rester humide. La muqueuse est très vascularisée, présentant des plexus. Des nerfs adrénergiques pourront avoir une action vasoconstricteurs sur ce système vasculaire, qui est sensible à diverses substances vaso-actives et aux médiateurs de l'anaphylaxie. On trouvera aussi des nerfs cholinergiques qui seront vasodilatateurs et sécréteurs. (96).

Le chorion se situe en dessous de l'épithélium de surface, relié par la membrane basale. Il est composé de 3 parties :

- Le réseau superficiel qui comprend du fibrocollagène lâche, renfermant un riche réseau vasculaire capillaire et nerveux ;
- Le réseau moyen est surtout marqué au niveau du cornet inférieur. Il comprend des artérioles perpendiculaires au plan muqueux qui s'anastomosent avec les réseaux capillaires profonds et superficiels ;
- Le réseau fibrocollagénique profond, dense, qui adhère au périoste et qui comprend un réseau artérioveineux anastomosé en nappe. (92).

Il comporte également un tissu interstitiel où circulent des éléments cellulaires immunologiques séparés en deux groupes :

- Cellules résidentes (fibroblastes, macrophages, cellules dendritiques mastocytes)
- Cellules mobiles : cellules de l'inflammation non spécifique et spécifique (polynucléaire, lymphocytes).

Plus spécifiquement à chaque zone de la partie supérieure de l'arbre respiratoire est associé un épithélium (96) :

### 1- Le vestibule nasal

Il est recouvert d'un épithélium malpighien kératinisé, riche en glandes sébacées et en poils (vibrisses) qui captent les plus grosses particules qui sont respirées.

### 2- Les fosses nasales

La cavité nasale est revêtue d'un épithélium respiratoire pseudo-stratifié à cellules prismatiques ciliées, qui contient des cellules caliciformes à mucus soutenu par un tissu conjonctif, le chorion lié par la membrane basale.

### 3- Les sinus

Ces cavités possèdent une muqueuse de type respiratoire, moins riche en glandes que la muqueuse des fosses. Les cils vibratiles déplacent le mucus vers l'ouverture des sinus qui seront dégluties.

## E- Les systèmes de défenses locales

Le nez a la capacité de contenir les agressions aéroportées, empêchant ainsi leur propagation à l'oreille moyenne et aux bronches, ainsi que leur diffusion dans l'organisme. Trois lignes de défense contribuent pour assurer cette fonction. Une défense physico-mécano-chimique, un système immunitaire innée et une réponse immunitaire adaptative. (98).

### 1- La 1<sup>ère</sup> ligne de défense : l'inflammation

L'inflammation est une réaction physiologique de défense et d'adaptation de l'organisme à l'environnement. Les substances sécrétées participent continuellement à la régulation de la défense et sont constamment sollicités en raison de la situation de première ligne de la muqueuse nasale (98).

L'inflammation sera associée à une obstruction nasale due à :

- Un œdème inflammatoire de la muqueuse : rapidement après une agression ou une exposition à un allergène, les mastocytes et les basophiles libèrent des médiateurs de l'inflammation (histamine, leucotriènes, prostaglandines) dans la muqueuse, ce qui va augmenter la perméabilité vasculaire et la vasodilatation de la muqueuse nasale causera un œdème et une congestion nasale.
- La congestion vasculaire : généralement lors de la réaction allergique en phase tardive, d'autres médiateurs prolongent et majorent l'intensité de la congestion. L'IL-5 est l'une des cytokines dont le taux tissulaire est corrélé au degré d'obstruction nasale. Cette action de l'IL-5 sera majorée par la libération plus tardive de cytokines régulatrices.
- L'hypersécrétion de mucus : la congestion tissulaire et la vasodilatation des vaisseaux de la muqueuse nasale favorisent l'augmentation des sécrétions intra-luminales.

Tous ces mécanismes vont avoir pour conséquence une diminution du diamètre des cavités nasales ce qui donnera une majoration de la résistance à l'écoulement, et donc une sensation de nez bouché.

## 2- La 2<sup>ème</sup> ligne de défense : la muqueuse respiratoire

Cette défense est composée de 3 systèmes complémentaires qui sont la barrière épithéliale, la flore commensale et le système muco-ciliaire. (98).

### *a- La barrière épithéliale :*

La cohésion cellulaire épithéliale, grâce aux jonctions serrées, permet une continuité morphologique et une barrière mécanique ainsi qu'une perméabilité aux échanges au travers d'espaces intercellulaires. (99).

### *b- La flore commensale :*

Elle varie selon la localisation dans la cavité nasale et varie probablement avec l'âge. On y trouve essentiellement *Staphylococcus epidermidis*, des corynébactéries, *Staphylococcus aureus*. Des bactéries anaérobies sont retrouvées dans le méat moyen. Ces bactéries jouent un rôle dans l'équilibre écologique de la cavité nasale et évite la colonisation de bactéries pathogènes (*Haemophilus*, *pneumocoque*). Il peut exister des porteurs sains de ces pathogènes. (98).

### *c- Le système muco-ciliaire :*

Il comprend le mucus sécrété par les cellules caliciformes à mucus et les cils des cellules ciliés. Le mucus forme une couche de 50 à 80 µm d'épaisseur qui recouvre l'ensemble de la surface de l'épithélium. C'est un gel visco-élastique qui peut être plus ou moins épais. Il contient de l'eau en grande quantité (95%), retenu par les mucines. Le mucus est riche aussi en sels minéraux (sodium, potassium, chlore, calcium) et des éléments organique (enzymes lytiques, inhibiteurs enzymatiques, lactoferrine, acides aminés, IgA sécrétoires et protéines plasmatiques). Il contient également des facteurs anti-microbiens ou défensines (98).

Le mucus présente des qualités d'adhérence, d'élasticité et de cohésion due à sa teneur en mucines. Il va grâce à ça, retenir les particules solides qui vont se déposer et être transportées par le battement ciliaire vers le pharynx pour y être dégluti.

Les cils des cellules ciliées de l'épithélium battent de manière constante et synchrone. Ils battent tous dans la même direction, avec la même fréquence. Chaque cycle comprend deux phases, l'une dite « active » et l'autre dite de « repos ». Lors de la phase active le cil va se déployer, atteindre sa longueur maximale, va accrocher le mucus et le propulser. Pendant la deuxième phase dite de repos, le cil reprend sa forme initiale avant le prochain battement. Des facteurs peuvent influencer ce système de transport muco-ciliaire comme l'hygrométrie, la température et/ou le tabac. (98).

### 3- La 3<sup>ème</sup> ligne de défense: système immunitaire annexé à la muqueuse nasale

#### *a- Présentation :*

La muqueuse nasosinusienne fait partie de l'ensemble des muqueuses respiratoires. Ce système est constitué de tissu lymphoïde diffus étroitement lié à l'épithélium et à la sous muqueuse. Le système immunitaire associé aux muqueuses comprend environ 80% des cellules immunitaires de l'organisme et forme le plus grand système lymphoïde chez les mammifères. (91).

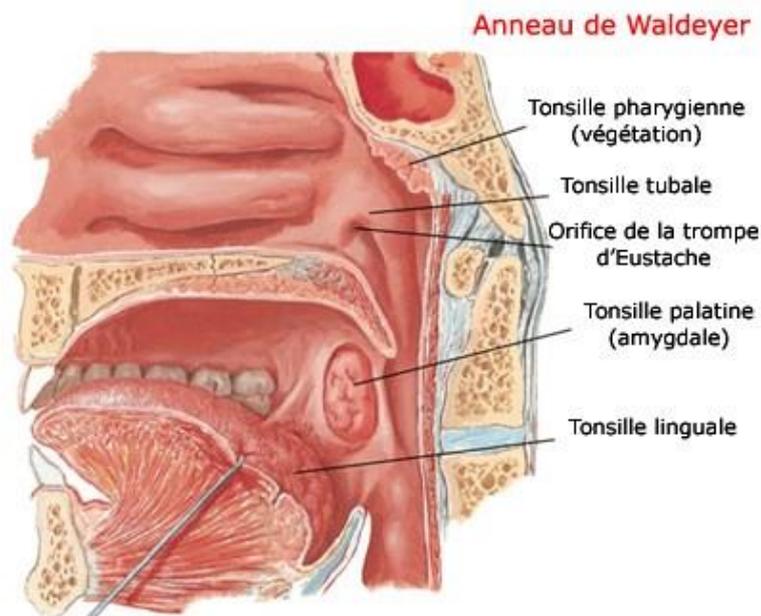
Il a 3 grandes fonctions :

- Protection des muqueuses contre la colonisation et l'invasion par des pathogènes microbiens.
- Protection contre l'internalisation de bactéries commensales ou d'antigènes dégradés qui sont dérivés de l'alimentation ou de l'environnement.
- Blocage du développement de réactions inflammatoires non désirées contre certains antigènes qui franchissent la barrière épithéliales.

### *b- Le système MALT :*

Le tissu lymphoïde associé à la muqueuse respiratoire (RALT) fait partie du tissu lymphoïde associé aux muqueuses (MALT). Le RALT comprend le tissu lymphoïde associé à la muqueuse nasale (NALT) et celui associé à la muqueuse bronchique (BALT). (90).

Pour la sphère ORL, le MALT inclue plusieurs structures anatomiques bien identifiables. On mettra en évidence le cercle ou anneau de Waldeyer qui regroupe plusieurs amygdales dont les amygdales palatines, linguales, les végétations adénoïdes et le tissu lymphoïde tapissant la trompe d'Eustache (Figure 35).



**Figure 35 : Anneau de Waldeyer.**

<https://blogglophys.wordpress.com/category/tonsilles/>

Les sites effecteurs muqueux sont constitués par l'épithélium de revêtement où se concentrent les lymphocytes T intra épithéliaux et les IgA sécrétoires. Les immunoglobulines de type IgM ou IgG d'origine muqueuse ou sérique contribuent également à la défense immunitaire de la muqueuse de l'arbre bronchique. Les IgE sont retrouvées lors de réaction allergique. Le chorion, quant à lui, constitue un site effecteur diffus où s'accumulent les cellules effectrices (les cellules NK, macrophages, lymphocytes T et B). Dans le tissu lymphoïde diffus, on retrouve les cellules présentatrices d'antigènes, dont les cellules dendritiques, cellules sentinelles du système immunitaire, prêtes à capturer les pathogènes. (91).

### *c- La mise en place d'une réponse immunitaire :*

L'antigène est capté par le mucus et passe la muqueuse. Il est phagocyté par les macrophages et les cellules présentatrices d'antigène et sera présenté aux lymphocytes T CD4<sup>+</sup> grâce aux molécules de classe II du système majeur d'histocompatibilité (CMH II). Ce complexe va activer une réaction en chaîne qui va permettre une différenciation fonctionnelle du lymphocyte activé avec une augmentation de la sécrétion d'interleukines et l'activation de la synthèse d'anticorps.

Certaines cellules présentatrices d'antigène, en particulier les cellules dendritiques, peuvent capturer directement les antigènes dans la lumière de la muqueuse grâce à l'extension de leurs dendrites entre les cellules épithéliales. Certains antigènes peuvent également être présentés directement par les cellules épithéliales aux lymphocytes T intra-épithéliaux avoisinants.

La nature des antigènes, leur concentration et leur biodisponibilité, le type de cellules présentatrices d'antigènes impliqués et le microenvironnement sont autant de paramètres qui vont influencer sur les réponses immunitaires induites. Ainsi, la présentation antigénique, par les cellules dendritiques muqueuses, de la plus part des molécules étrangères non pathogènes conduit à un phénomène d'immunosuppression ou tolérance.

Les lymphocytes T et B activés vont migrés dans la circulation sanguine via la lymphe efférente et se disséminer sélectivement dans les tissus effecteurs muqueux pour se différencier en cellules effectrices actives (cellules cytotoxiques, plasmocytes sécréteurs d'immunoglobulines, cellules régulatrices). Par ailleurs, une partie des lymphocytes activés au niveau des sites inducteurs se convertissent en cellules mémoires et circulent entre les différents sites inducteurs. (98).

### *d- Les lymphocytes T muqueux cytotoxiques :*

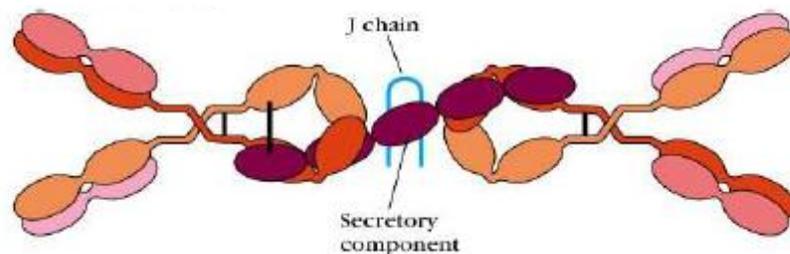
Les lymphocytes T muqueux cytotoxiques sont des cellules effectrices majeures dans la défense immunitaire contre les infections par certains pathogènes (virus et parasites intracellulaires). Ainsi, après une immunisation nasale avec des antigènes en présence d'adjuvants immunostimulants, la réponse des lymphocytes T muqueux cytotoxiques s'exprime localement. Ils vont soit créer des pores dans la membrane de

la cellule cible permettant l'entrée du liquide extracellulaire qui fera éclater la cellule, soit en libérant des molécules qui provoqueront une mort active de la cellule cible. (98).

### e- Les IgA :

La défense immunitaire humorale spécifique des surfaces des muqueuses est contrôlée principalement par les immunoglobulines IgA sécrétoires, cette production d'immunoglobulines étant thymo-dépendante. Certaines cytokines dont TGF- $\beta$  et IL-10 produites par différentes cellules du tissu muqueux (cellules épithéliales, fibroblastes et cellules de l'immunité innée) participent, avec les lymphocytes T, à la commutation isotypique et à la différenciation de lymphocytes B en plasmocytes sécréteurs d'IgA.

Les IgA sécrétoires représentent le composant humoral majeur et caractéristique des MALT. Ces IgA sont les plus polymorphes et les plus glycosylées des immunoglobulines. Les IgA sécrétoires sont synthétisées localement par les plasmocytes de la lamina propria des muqueuses (Figure 36).



**Figure 36 : Représentation d'une immunoglobuline A sécrétoire.**

[http://allergo.lyon.inserm.fr/M1\\_2009-2010/07-Immunoglobulines\\_M1\\_2009.pdf](http://allergo.lyon.inserm.fr/M1_2009-2010/07-Immunoglobulines_M1_2009.pdf)

Les IgA représentent 10 à 15 % des immunoglobulines circulantes dont 40 % sont intravasculaires. Elles sont retrouvées dans les sécrétions exocrines au niveau bronchique, digestif (salive), génito-urinaire, dans les larmes et le lait (colostrum). Il existe deux sous-classes d'IgA, les IgA monomériques essentiellement pour les IgA sériques (90% IgA1 et 10% IgA2) et les IgA dimériques pour les IgA sécrétoires. Les

IgA sécrétoires ont une demi-vie de 6 jours. Leurs structures est composé de deux chaines lourdes alpha et de deux chaines légères.

La production quotidienne de ses immunoglobulines est de 3 à 4 grammes, et elle peut être doublée chez la femme allaitante au niveau des glandes mammaires. La valeur de référence est de 0,7 à 4 g/L. Les hommes ont des concentrations en IgA de 2 à 30 % supérieur à celle retrouvées chez les femmes.

Les IgA sont transportées dans les sécrétions des muqueuses et sont résistantes à la dégradation par les protéases grâce à la pièce sécrétoire. Outre leur action spécifique de formation de complexes immuns, les IgA ont comme effet d'inhiber certaines des propriétés comme l'adhérence bactérienne, l'absorption de macromolécules et d'inhiber les effets inflammatoires des autres sous-classes d'immunoglobulines. Elles permettent la neutralisation des virus et des toxines bactériennes et la stimulation des mécanismes de défense non spécifique. (101).

# V- Développement d'un vaccin vivant atténué par voie nasale contre la coqueluche

## A- Introduction

La coqueluche est la première maladie infectieuse dont l'incidence est croissante dans les pays où la couverture vaccinale est importante. L'efficacité sub-optimale des vaccins actuels ainsi que le changement et l'adaptation des souches de *Bordetella* sont les éléments essentiels dans la résurgence de la coqueluche. De ce fait, le développement d'une nouvelle génération de vaccins contre *B. pertussis* s'inscrit comme objectif important dans le monde de la recherche biomédicale.

Un argument supplémentaire est apporté par l'augmentation de l'incidence des infections pulmonaires à *B. parapertussis*, depuis ces dernières décennies. En effet les vaccins actuellement sur le marché ne protègent pas contre cette espèce de *Bordetella*. Ces infections à *B. parapertussis* chez les enfants, en particulier chez les immunisés, provoquent une toux moins importante que *B. pertussis* mais la fréquence semble tout à fait sous-estimée. (102).

La vaccination anticoquelucheuse à grande échelle effectuée au cours des années 1950 à 1960 a permis une réduction importante de l'incidence de la morbidité et de la mortalité dans les pays industrialisés. Depuis 1980, environ 80 % des nourrissons ont été vaccinés contre la coqueluche dans le monde.

Malgré une couverture vaccinale mondiale proche de 85% grâce au programme élargi de vaccination de l'OMS, on observe la limite de ce programme puisqu'environ 17,6 millions de cas d'infection à *B. pertussis* sont déclarés tous les ans, accompagnés de plus de 300 000 décès (114). De ce fait, la coqueluche est considérée comme l'une des maladies infectieuses les plus mal contrôlées (103).

A l'heure actuelle, la vaccination contre la coqueluche s'effectue au plus tôt à partir de 2 mois et ne peut donc pas apporter une protection pour les très jeunes nourrissons, sujets les plus à risque de complication.

Toutes ces observations convergent vers l'idée globale de posséder un vaccin apportant une protection supérieure à ce que nous avons actuellement, et possédant les qualités galéniques lui permettant d'être facilement applicable aux nourrissons de moins de 6 mois.

Ainsi plusieurs unités de recherche de différents états européens se sont regroupées autour d'un projet européen appelé CHILD-INNOVAC, coordonné par l'Inserm et piloté par Dr Camille Loch, directeur du Centre d'Infection et d'Immunité de Lille (CIIL- Unité mixte Inserm – CNRS – Institut Pasteur de Lille – Université de Lille Nord de France) ([www.CIIL.fr](http://www.CIIL.fr)). CHILD-INNOVAC est un projet dont l'objectif principal est de mettre au point un vaccin induisant une protection efficace en imitant une véritable infection en passant par la voie aérienne.

Comparée au vaccin entier et encore plus au vaccin acellulaire, l'infection naturelle à *B. pertussis* induit une réponse immunitaire même chez les nouveau-nés. Ceci indique que la meilleure façon d'induire le plus tôt possible une protection serait l'infection tout en évitant les pathologies associées. Une souche génétiquement atténuée de *B. pertussis* a été recherchée durant une décennie dans le but d'être utilisée comme vecteur vaccinal par voie nasale, les modifications apportées devant mimer l'infection naturelle sans induire la maladie. (104, 105).

Ainsi, ce projet européen a voulu évaluer l'efficacité et l'innocuité d'un nouveau concept de vaccin par voie nasale contre la coqueluche en utilisant une souche atténuée, mais également évaluer la vaccination contre le virus respiratoire syncytial, deux infections qui touchent principalement les enfants de moins de 6 mois.

L'immunisation par voie nasale induit préférentiellement des réponses anticorps dans la muqueuse du tractus respiratoire et dans les sécrétions régionales (nasale et salivaire). De plus, l'immunisation par voie nasale peut induire des réponses anticorps dans la muqueuse cervico-vaginale, une observation intéressante particulièrement le développement de vaccins contre les maladies sexuellement transmissibles.

Les vaccins muqueux préventifs doivent être conçus pour cibler le système immunitaire local. Le vaccin idéal doit : préserver les antigènes vaccinaux des dégradations enzymatiques ou chimiques et limiter leur élimination ou leur dilution excessive ; cibler les cellules susceptibles de capturer l'antigène, cellules épithéliales

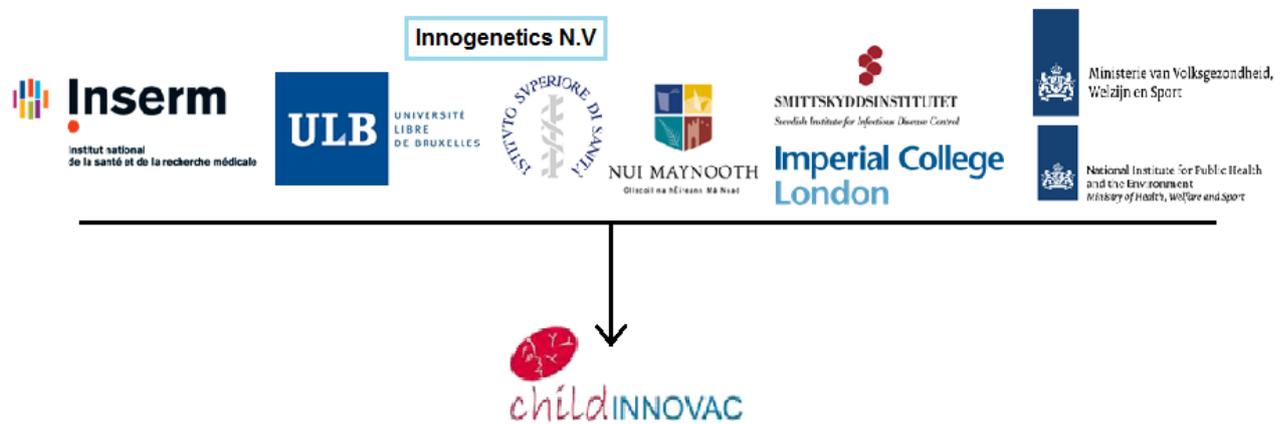
ou cellules dendritiques ; stimuler de façon appropriée l'immunité innée et spécifique afin d'induire une immunité spécifique adaptée.

L'enjeu de la vaccination muqueuse est d'induire une barrière immunitaire muqueuse adaptée au pathogènes, constituée d'IgA sécrétoires neutralisant et/ou de lymphocytes T auxiliaires et cytotoxiques, et induire une mémoire immunologique. Les anticorps vont bloquer la colonisation de l'épithélium muqueux par les bactéries non invasives, ou empêcher l'attachement de toxines microbiennes sur les cellules épithéliales. De leur côté, les lymphocytes T cytotoxiques pourront éliminer les cellules infectées et empêcher la multiplication microbienne.

## B- Le projet CHILD-INNOVAC

### 1- Organisation

Le consortium de CHILD-INNOVAC réunit 10 partenaires au total, dont 2 entreprises privées et 8 laboratoires de recherche publique. Ces partenaires scientifiques proviennent de 7 Etats membres de l'Union européenne (Figure 37) (106).



**Figure 37 : Les différents partenaires européens qui composent le projet CHILD-INNOVAC**

Ces partenaires sont :

- **Institut National de la Santé et de la recherche médicale (INSERM)**, France (Coordinateur)
- **Inserm-Transfert (IT)**, France
- **Université Libre de Bruxelles (ULB)**, Belgique

- **Istituto Superiore di Sanità**, (Institut Supérieur de la Santé) (ISS), Italie
- **National University of Ireland**, Maynooth (NUIM), Irlande
- **Imperial College London** (ICL), Royaume-Unis
- **Swedish Institute for Infectious Disease Control** (SMI), Suède
- **National Institute for Public Health and the Environment** (RIVM) Pays-Bas
- **Innogenetics N.V** (INNX), Belgique
- **Ministerie Van Volksgezondheid Welzijn en Sport** (Ministère de la Santé, du bien-être et du Sport) (VWS-NVI) Pays – Bas

## 2- Les objectifs du projet CHILD-INNOVAC

Les principaux objectifs du projet sont :

- Obtenir le plus d'informations possibles sur la souche *B. pertussis* génétiquement modifiée BPZE1, grâce aux études précliniques d'efficacité et de sécurité.
- Améliorer les connaissances sur les réponses des cellules T et B à l'infection et à la vaccination contre la coqueluche.
- Evaluer l'effet de la vaccination avec BPZE1 sur les infections respiratoires similaires,
- Préparer des lots cliniques de BPZE1.
- Effectuer un essai de sécurité de phase I en double aveugle, contrôlé par placebo chez les volontaires adultes, comme 1<sup>er</sup> étape du développement clinique.

L'un des principaux objectifs du développement actuel de vaccins muqueux est l'induction de fortes réactions systémiques protectrices utilisant un vecteur vivant atténuée pour présenter des antigènes aux tissus lymphoïdes associés aux muqueuses. (105).

## 3- Les activités de recherche du projet CHILD-INNOVAC

Elles ont porté sur (105) :

- La construction d'une souche dit BPZE1 de *B. pertussis*, souche recombinante atténuée vivante induisant une réponse immunitaire protectrices et leur évaluation dans le modèle souris.
- L'évaluation de la sécurité de BPZE1 dans le modèle souris et de la stabilité génétique et biologique de BPZE1.
- Analyse des réponses immunitaires humaines induites in vitro par BPZE1 en utilisant les cellules dendritiques.
- Préparation de lots cliniques de la souche vaccin BPZE1 dans les conditions Bonnes pratique de fabrication (GMP).
- Evaluation de la sécurité et évaluation de l'immunogénicité des lots cliniques de *B. pertussis* BPZE1 chez l'homme adulte.
- Caractérisation des réponses immunitaires chez les enfants, soit naturellement infecté par *B. pertussis*, soit vacciné avec un vaccin à cellules entières ou acellulaire, en mettant particulièrement l'accent sur la mémoire et la normalisation des tests de la mémoire des cellules B et T.
- Evaluer la sécurité de la souche BPZE1 par voie nasale et la bonne réponse immunitaire induite chez des volontaires adultes.

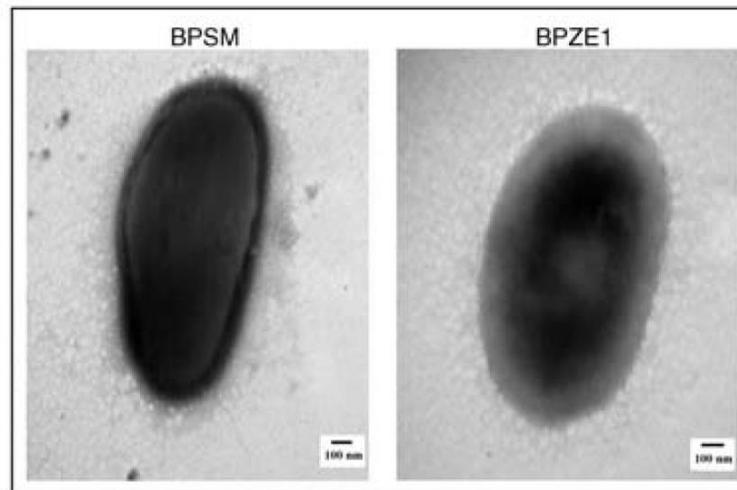
#### 4- La souche utilisée lors de l'essai clinique

Grâce à la connaissance pointue des mécanismes de virulence de *B. pertussis*, la conception d'une souche recombinante a été possible. (107). Pour construire la souche vaccinale, les chercheurs se sont focalisés sur 3 gènes codant des facteurs de virulences :

- Toxine dermonécrotique : le gène *Dnt* codant a été supprimé et la toxine ne sera plus produite par la bactérie.
- Toxine trachéale : le gène *ampG* a été remplacé par celui d'*Escherichia coli* ce qui a pour conséquence de réduire l'expression de toxine la toxine trachéale.
- Toxine pertussique deux mutations indépendantes ont été introduite dans le gène permettant de produire encore la protéine mais sans propriétés toxiques.

Tout en préservant ses propriétés immunogènes, la souche atténuée doit garder certaines capacités comme son aptitude à coloniser la muqueuse.

Les modifications génétiques ont modifiées la synthèse de la paroi de la bactérie. Le taux de croissance de BPZE1 ne semble pas avoir été modifié par rapport à la souche parentale BPSM, ni la taille ni la forme de la bactérie (Figure 38). La capacité de colonisation et de persistance de BPZE1 chez la souris restent identiques à celle de la souche BPSM. (108).



**Figure 38 : Photographie de la souche parentale BPSM (à gauche) et de la souche BPZE1 (à droite) par microscope électronique, 24 heures après culture dans un milieu liquide** (108).

#### Stabilité génétique et biologique de BPZE1 :

La stabilité biologique a été étudiée pour BPZE1 à différentes concentrations de tampons à base de solution saline. Les suspensions ont été ensuite stockées à – 80 °C, - 20 °C, + 4 °C, à température ambiante, + 37°C. La viabilité a été évaluée au fil du temps. Bien que les suspensions BPZE1 semble stables à – 80°C, la viabilité bactérienne a été rapidement réduite à température ambiante et à + 37°C. Néanmoins, cette viabilité à température ambiante était suffisante pour envisager le développement du produit. (102, 109).

### 5- Niveau de biosécurité

L'utilisation de bactéries vivantes atténuées comme vaccins pose le problème de biosécurité. En effet, ce type de vaccin relève des directives pour l'utilisation de

microorganismes génétiquement modifiés sensibles pouvant être diffusés dans l'environnement. Les dangers et risques environnementaux doivent être alors identifiés ainsi que la pathogénicité chez les sujets immuno-déficients tels que les patients infectés par le VIH. Mais du fait de l'absence de pathologie pouvant assurer la bactériémie systémique, l'administration par voie nasale de BPZE1 ne devrait pas poser ce problème. Si cependant, des soucis de sécurité imprévisibles pourraient se produire, la souche pourra être éradiquée par administration d'antibiotique de la famille des macrolides, comme l'érythromycine efficace contre la souche BPZE1 et la majorité des isolats de *B. pertussis*.

La seconde préoccupation est que comme pour tout vaccin vivant, le potentiel de libération de la souche vaccinale dans l'environnement. Cependant, la survie de *B. pertussis* est très limitée dans l'environnement. De ce fait l'on peut considérer qu'il n'y a pas de risque de contamination non contrôlée.

Ces profils de sécurité et de stabilité génétique ont permis de déclasser la souche du niveau 2 de sécurité au niveau 1 dans plusieurs pays, ce profil étant nécessaire pour répondre aux conditions préalables de son développement clinique.

## C- Phase préclinique

### 1- Objectifs des essais précliniques

Les objectifs étaient de :

- Recueillir les données précliniques sur la sécurité, l'immunogénicité et l'efficacité protectrice d'après l'administration de BPZE1 par voie nasale dans les modèles souris.
- Evaluer l'immunité protectrice induite chez les souris adultes, infantiles et néonatales et étude des mécanismes de protection induits par BPZE1
- Evaluer la longévité de la protection induite par BPZE1 chez la souris
- Effectuer les analyses *in vitro* des réponses immunitaires sur des cellules humaines à BPZE1
- Déterminer la stabilité génétique et biologique de BPZE1.

## 2- Expérimentations précliniques

Bien que, le seul réservoir naturel de *B. pertussis* soit l'Homme, la souris peut être infectée mais avec des inocula bactériens plus important. Ainsi le modèle de la souris à été utilisé lors de l'essai préclinique. L'étude a utilisé bien entendu la voie nasale pour la vaccination et le sang, la rate et les poumons murins pour les analyses. (102).

### *Les modalités :*

Lors de l'expérience, 3 types de souris femelles ont été utilisés pour la vaccination avec une seule dose nasale de BPZE1 :

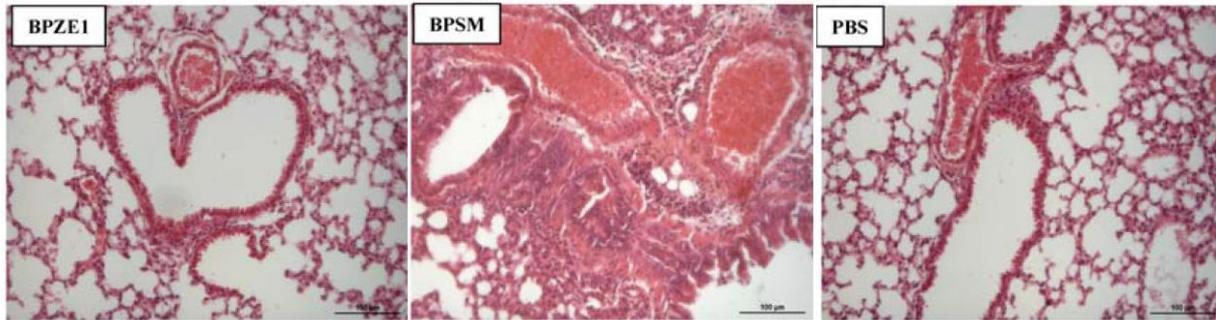
- Souris adulte de 6 à 8 semaines
- Souris de 3 semaines
- Souris nouveau-nées d'une semaine

La dose reçue par les souriceaux était de  $10^6$  UFC (unités formant des colonies) de BPZE1, leur poids a été suivi sur une période de 2 semaines. Chez les souris de 3 semaines, aucun symptôme clinique n'a été observé et le gain de poids correspondait à celui observé chez les souris non-immunisées.

## 3- Analyse des expériences effectuées

### *a- Analyse histologique :*

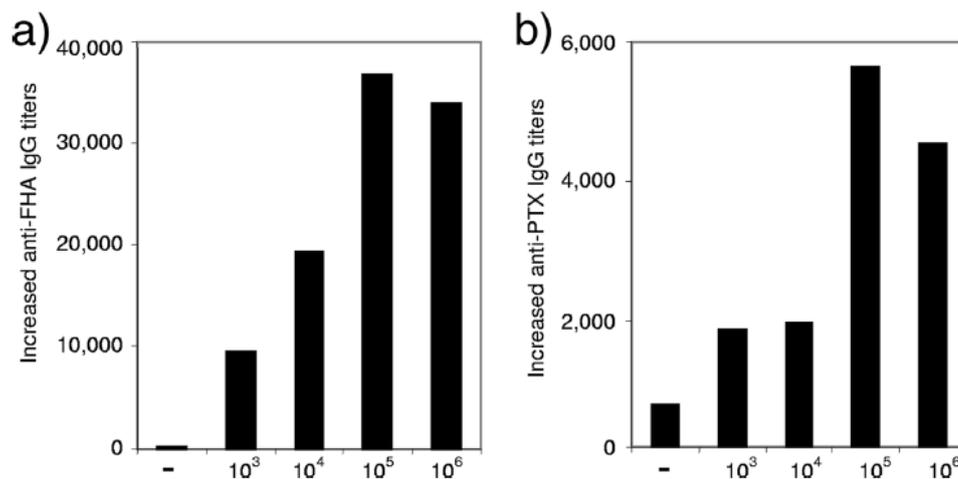
L'analyse histologique des poumons des souris 5 jours après la vaccination par BPZE1, a révélé une infiltration cellulaire quasi nulle comparable à celle observée après une administration unique de PBS (= solution saline stérile tamponnée au phosphate, solvant). Par contre, l'infection par une souche *B. pertussis* virulente (BPSM) induit un infiltrat péri-broncho-vasculaire et un recrutement de cellules inflammatoires dans les tissus de l'arbre bronchique des souris (Figure 39).



**Figure 39 : Analyse histologique des poumons des souris adultes ayant reçu une dose de BPZE1, BPSM et le témoin PBS, une semaine après d'administration.** Coupe de poumons de souris fixées au formaldéhyde, colorées à l'éosine et à l'hématoxyline. (102)

### *b- Production d'anticorps spécifiques :*

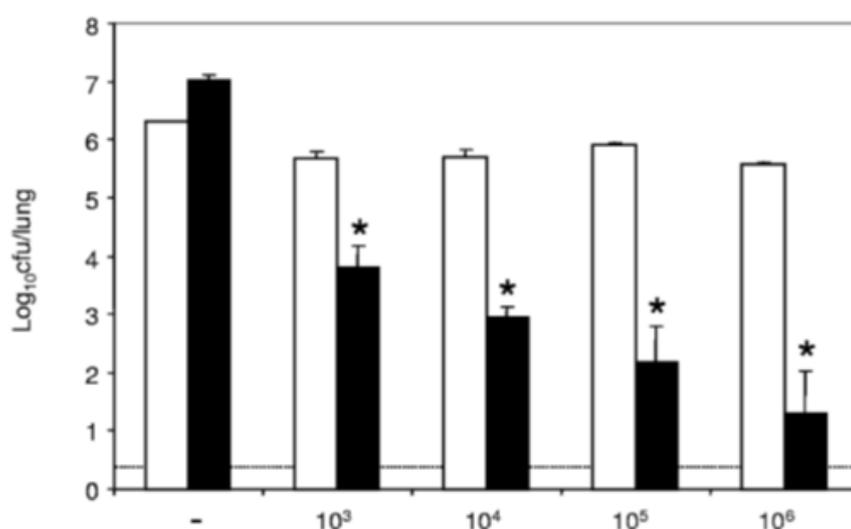
L'administration d'une seule dose vaccinale permet une réponse immunitaire chez la souris avec la synthèse d'anticorps IgG, dirigés contre les antigènes de la souche BPZE1 génétiquement modifiée, après dosage ELISA. On remarque que jusqu'à la dose  $10^5$  UFC le taux d'anticorps sériques contre la toxine pertussique PTX et la hémagglutinine filamenteuse FHA augmente proportionnellement puis redescend à la dose de  $10^6$  UFC (Figure 40).



**Figure 40 : Mesure de la réponse immunitaire par le dosage des immunoglobulines contre les antigènes, toxine pertussique et hémagglutinine filamenteuse, en fonction des doses vaccinales.** Titre moyen entre le jour 0 et le jour 7. FHA : hémagglutinine filamenteuse et PTX : toxine pertussique. (102)

### c- La protection induite par l'administration de BPZE1 :

L'évaluation de l'efficacité vaccinale de BPZE1 à différentes doses d'inocula par voie nasale chez la souris a été réalisée. Les souris ayant reçu les doses vaccinales ont montré une forte immunisation contre *B. pertussis* même à la dose vaccinale de  $10^4$  UFC. Le groupe ayant reçu la dose de  $10^6$  UFC à entrainer une diminution d'environ 1 000 000 fois le nombre de bactérie par rapport aux souris non vaccinées alors qu'avec la dose de  $10^3$  UFC, la réduction était de 1 000 fois (figure 41).



**Figure 41 : Charge bactérienne (*B. pertussis*) au niveau pulmonaire des souris vaccinées avec différentes concentration de BPZE1 ( $10^3$  et  $10^6$  UFC) à 3 heures (colonnes claires) et 7 jours (colonnes noires) post infection. Résultats sont exprimés en UFC moyen. (102)**

Il a été observé, que 2 mois après l'administration d'une seule dose vaccinale de  $10^6$  UFC de BPZE1, la clairance bactérienne totale a été observée une semaine après une provocation intra-nasale avec *B. pertussis*. Il y a également une réaction du système immunitaire quel que soit l'âge de la souris. Chez les souris néonatales, cette protection était significativement supérieure à celle induite par l'administration de deux doses de vaccins acellulaire coquelucheux disponible actuellement et administrées par voie intrapéritonéale à un intervalle de 3 à 4 semaines.

#### *d- Longévité de la protection induite par BPZE1 :*

Les souris adultes, de 3 semaines et néonatales ont été vaccinées par la voie nasale avec une dose unique de BPZE1, puis ont été challengées par *B. pertussis* soit à 3, 6, 9 ou 12 mois après la vaccination. Les niveaux de protection ont été comparés au fil du temps avec ceux induits par deux administrations intrapéritonéales du vaccin anti-coquelucheux acellulaire. Alors que l'immunité induite par le vaccin acellulaire a commencé à diminuer six mois après la vaccination, la protection était complète un an après la vaccination nasale de BPZE1.

#### *e- Induction d'une immunité innée :*

En plus de la longévité de la protection induite, la vitesse d'induction d'une réponse immunitaire a été mesurée. Chez la souris, les expériences ont permis de détecter une protection induite dès 3 jours après l'administration nasale, un temps insuffisant pour déclencher une réponse adaptative. Ceci implique donc qu'une protection précoce est initiée et que cela relèverait d'une immunité innée.

### 4- Conclusion des études précliniques

L'administration unique d'une dose à  $10^4$  UFC de BPZE1 induit une réponse immune de type Th1 ayant une efficacité protectrice chez la souris adulte, jeune et néonatale. En effet, même au plus faible dose vaccinale, on observe une réduction du nombre de bactéries *B. pertussis* utilisées pour le challenge, d'un facteur de 100 000. BPZE1 peut induire une protection rapide (dans les 3 jours) et durable (jusqu'à 1 an). Il a été démontré qu'après vaccination, une protection efficace contre une infection expérimentale à *B. paraptussis* était également observée.

On observe une corrélation entre la dose vaccinale et les taux anticorps induits contre la toxine pertussique et l'hémagglutinine filamenteuse. Des IgG sériques spécifiques sont retrouvés dans le sang et des IgG et IgA dans le liquide de lavement broncho-alvéolaire certainement cruciaux dans l'immunité contre la coqueluche. De

plus, l'administration va provoquer la synthèse d'interféron  $\gamma$  qui va induire une protection de type Th1, qui sera plus forte que les vaccins acellulaires.

Lors de l'administration des doses vaccinales les plus fortes, aucune pathologie pulmonaire n'a été détectée, ni d'inflammation locale. Les jeunes souris de 3 semaines vaccinées n'ont pas eu de modification de prise de poids. La souche n'a causé aucune toxicité sur les pneumocytes.

La souche BPZE1 n'exacerbe pas de pathologie des voies aériennes relevant d'une allergie, ainsi que d'inflammation due à l'administration du vaccin. De plus, la souche aura une action protectrice contre une pneumopathie induite par le virus de la grippe si elle est administrée avant l'infection chez la souris. Elle ne va pas diminuer la charge virale mais limiter la production de chimiokines, l'inflammation pulmonaire et les lésions tissulaires ainsi que l'infiltration des neutrophiles.

## 5- Sécurité de PBZE1 dans les modèles de souris

Les données de sécurité initiales indiquent que BPZE1, contrairement à la souche mère, administrées par voie nasale, n'a induit aucune inflammation dans les poumons des souris adultes, alors qu'elle est capable de coloniser les voies respiratoires presque aussi longtemps que la souche virulente. Elle n'a pas eu aussi d'impact sur l'activité respiratoire de la souris. Des observations similaires ont été analysées chez les souris infantiles.

Chez les souris néonatales, lorsque la souche virulente a été administrée, le décès s'est produit chez environ 50% des souris. En revanche, 100% de survie chez le groupe ayant reçu la souche BPZE1 étaient observés. Chez les souris avec un déficit immunitaire, la souche virulente entraîne une dissémination extra pulmonaire, les bactéries pouvant aisément être isolées dans la rate de ses souris, contrairement à la souche BPZE1 qui n'entraîne pas de dissémination extra cellulaire.

Ceci a permis d'établir, chez l'animal, la sécurité de la souche vaccinale BPZE1, même chez les souris immunodéprimées. Cet excellent profit de sécurité a permis à la souche BPZE1 de décrocher le niveau 1 en biosécurité, une condition préalable aux essais clinique chez l'Homme. La souche vaccinale a également des effets protecteurs

contre l'asthme, la perte de poids et la diminution de la mortalité par le virus respiratoire syncytial (VRS) ainsi que contre les autres espèces de *Bordetella*. Le profil de sécurité de BPZE1 a été établi et les excellents résultats ont permis l'utilisation de la souche en essai clinique chez l'Homme.

La conclusion des évaluations est que non seulement BPZE1 est sûr, mais il peut avoir une large efficacité protectrice contre une gamme d'infections respiratoires et aider à la maturation des réponses muqueuses. (102, 109).

Les effets protecteurs sont en corrélation avec la production d'IL-10 et une augmentation des cellules T-régulatrices ainsi que la production d'IL-17 (cellules CD4+ et NK). Les mécanismes semblent fonctionner à la fois dans le modèle de la souris et dans les cellules humaines *in vitro* et plusieurs dérivés recombinants de BPZE1 ont été construits, et l'un d'entre eux a montré sa capacité d'induction de fortes réponses immunitaires contre la protéine G du virus respiratoire syncytial (VRS).

La contamination de la coqueluche s'effectue par la toux. Du fait du modèle utilisé lors de l'étude préclinique, il n'y a pas eu de possibilité d'évaluer le rôle de la toux dans la dissémination avec la souche BPZE1. Néanmoins, la souche BPZE1 avec une toxine pertussique inactive et une cytotoxine trachéale réduite, ne devrait pas induire une toux chez l'Homme. Cependant, on peut imaginer qu'une toux induite avec la souche BPZE1 chez l'Homme pourra augmenter la dissémination et donc en conséquence la couverture vaccinale. Les effets de ces dangers de propagation sont classés comme négligeables et peuvent être facilement contrôlés.

## D- L'essai clinique de phase 1 (110)

### 1- Production du vaccin

Le consortium a réalisé la production selon les bonnes pratiques de laboratoire (GLP) de lots de vaccin pour les essais cliniques de phase I avec la souche BPZE1. Ce groupe a repris la même souche BPZE1 de *B. pertussis* génétiquement modifiée utilisée pour les études précliniques chez la souris. Les méthodes de fabrication d'un vaccin à usage humain ont été développées selon les bonnes pratiques de fabrication (BPF).

## 2- Le vaccin utilisé

Lors de cet essai vaccinal de phase 1, il a été utilisé une formulation liquide de trois concentrations différentes de BPZE1. Les doses utilisées sont :

- Dose faible à  $10^3$  UFC
- Dose moyenne à  $10^5$  UFC
- Dose élevée à  $10^7$  UFC

Les bactéries ont été diluées dans une solution saline tamponnée au phosphate (PBS) contenant 5% de saccharose. Les doses ont été fabriquées et randomisées par le laboratoire Innogenetics, installé à Gant en Belgique.

Le vaccin et le placebo ont été administrés à chaque sujet de façon unique, par une quantité de 0,1 ml dans chaque narine. Les doses ont été administrées dans les 2 heures après la décongélation des suspensions bactériennes. Tous les sujets ont été vaccinés entre le 9 septembre 2010 et le 20 janvier 2011.

## 3- Les modalités de l'essai

L'objectif principal de l'essai clinique était d'évaluer la sécurité et la tolérance locale au niveau des voies respiratoires d'une seule dose ascendante de la souche de *B. pertussis*, BPZE1. L'objectif secondaire était d'apprécier la capacité de colonisation des voies respiratoires par la souche, et d'estimer les réponses immunitaires sériques et lymphocytaires B et T à 5 préparations antigéniques différentes de *B. pertussis* : toxine pertussique, hémagglutinine filamenteuse, pertactine, fimbriae, et lysat cellulaire entier de *B. pertussis*.

L'essai clinique mis en place, est un essai en double aveugle et avec effets/doses croissantes de BPZE1 pour déterminer sa sécurité, sa capacité de coloniser la muqueuse et son immunogénicité suite à une administration unique par voie nasale chez des jeunes adultes sains suédois. L'essai clinique était contrôlé par l'administration d'un placebo à un certain nombre de sujets dans chacun des trois groupes de dose. Ceci a constitué le groupe placebo dans l'analyse des résultats.

L'essai clinique a été réalisé conformément au protocole, suivant les normes des bonnes pratiques cliniques (BPC) et les déclarations d'Helsinki et exigences réglementaires applicables, normes européennes, ainsi que suivant les lois et règlements applicables en Suède. L'agence des produits médicaux suédois et de conseil d'administration de Stockholm, après un examen éthique, a accordé la réalisation de l'essai clinique relatif à l'utilisation d'un micro-organisme génétiquement modifié. L'essai est enregistré auprès de ClinicalTrial.gov sous le numéro d'identification : NCT01188512.

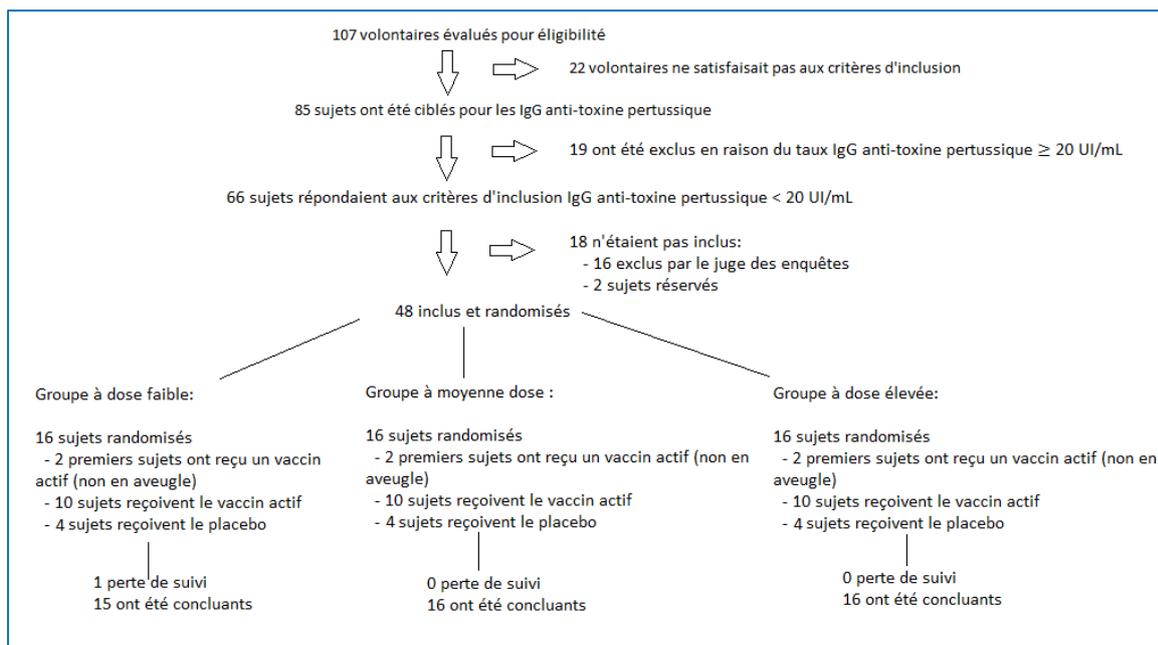
Au cours de l'essai clinique, plus de 3500 échantillons de sang, 480 échantillons de salive et 750 aspirations nasopharyngées ont été traités et environ 60 000 résultats individuels ont été produits.

#### 4- Les sujets de l'étude

Pour un total de 107 personnes, 48 adultes ont été sélectionnés. Des sujets volontaires mâles, en bonne santé, âgés entre 19 et 31 ans, et nés en Suède entre 1979 et 1991, période durant laquelle il n'y a eu aucune vaccination contre la coqueluche dans ce pays. Du fait, de la circulation de la coqueluche dans le pays, les sujets étaient considérés comme non naïfs.

Les sujets de l'étude ont reçu des informations orales et écrites en suédois avant et pendant la 1<sup>ère</sup> visite de sorte qu'ils aient raisonnablement le temps de réflexion pour envisager la participation et devaient signer un consentement éclairé avant leur inclusion dans l'essai. L'étude qui commençait à la 2<sup>ème</sup> visite, a été réalisée à l'Hôpital Universitaire Karolinska à Stockholm en Suède. La 1<sup>ère</sup> visite du premier volontaire a eu lieu le 10 août 2010 et la visite du dernier volontaire à eu lieu le 21 juin 2011.

Concernant les critères d'inclusion, un sujet était inclus dans l'étude lorsqu'il avait un sérum dont le taux d'IgG anti-toxine pertussique était inférieur à 20 UI/ml (Figure 42).



**Figure 42 : Nombre de sujets évalués pour l'éligibilité, inscrits et randomisés pour étudier le vaccin par rapport au placebo. 16 sujets par groupe (110).**

Les sujets ont été répartis en 3 bras selon la dose administrée (faible, moyenne, élevée) présentant 16 personnes par groupe. Dans chaque groupe, 4 recevaient le placebo (diluant) et 12 recevaient le vaccin. La vaccination a été effectuée avec des gouttes administrées par des seringues tuberculine, avec un volume de 0,1ml pour chaque narine. L'étude a été réalisée en double aveugle sauf pour les 2 premiers sujets qui recevaient une dose vaccinale selon les directives sécuritaires obligatoires de l'agence des produits médicaux suédois. L'âge, les données morphologiques (poids, taille) et biologiques (pression sanguine systolique et diastolique, fréquence cardiaque et respiratoire) ont été recensés et condensés avant l'essai (tableau 5).

**Tableau 5 : Données démographique de base par groupe avant le début du traitement par le vaccin.** Les résultats sont présentés en médiane et les interquartiles sont entre parenthèse. Thorstensson, *PLoS One* 9 (1). (110).

VARIABLE	PLACEBO (N=12)	FAIBLE DOSE (N=12)	MOYENNE DOSE (N=12)	HAUTE DOSE (N=12)
AGE (ANNEE)	22 (22-28)	23 (21-26)	24 (22-27)	22 (22-25)
TAILLE (CM)	187 (184-190)	182 (180-186)	182 (180-185)	182 (176-186)
POIDS (KG)	86 (78-94)	74 (64-82)	82 (74-88)	80 (74-86)
PRESSION SANGUINE SYSTOLIQUE (MMHG)	130 (128-132)	118 (114-124)	125 (118-130)	128 (125-136)
PRESSION SANGUINE DIASTOLIQUE (MMHG)	72 (69-74)	69 (66-70)	67 (64-72)	72 (68-76)
RYTHME CARDIAQUE (BATT/MIN)	62 (58-66)	59 (50-64)	64 (59-66)	60 (53-68)
RYTHME RESPIRATOIRE (RESPIRATION/MIN)	16 (13-17)	16 (16-17)	16 (14-16)	16 (15-16)
TEMPERATURE ORAL (°C)	36,6 (36,3-36,7)	36,5 (36,3-36,6)	36,6 (36,4-36,7)	36,5 (36,0-36,7)

## 5- Suivre des sujets

Chaque volontaire a remis son consentement écrit 2 à 6 semaines avant l'administration de la dose vaccinale ou du placebo. Le 1<sup>er</sup> groupe a été observé pendant au moins 7 semaines avant que le 2<sup>ème</sup> groupe ne soit vacciné. Puis le groupe

2 a été suivi pendant au minimum 9 semaines avant que le 3<sup>ème</sup> groupe soit vacciné. Ce qui permet donc, avant chaque nouvelle concentration à administrer, de réaliser des réunions de sécurité pour valider la suite de l'étude. Les volontaires ont été suivis pour les effets indésirables, leurs intensités et leur causalité avec la vaccination.

Une surveillance de 6 heures suite à l'administration de la dose était observée pour évaluer les effets indésirables immédiats. Ainsi qu'un suivi sur une plus longue période pour la surveillance des événements qui ont pu survenir au cours de la période de l'essai.

Les volontaires ont eu des rendez-vous à la clinique à différents moments après la vaccination. Ces visites ont donné lieu à des examens cliniques, collecte d'échantillons (sanguin et aspirations nasopharyngées), ainsi qu'à un questionnaire sur les événements ou effets indésirables (EI) généraux et locaux. A chaque visite, les effets indésirables ont été signalés. Si des effets indésirables graves (EIG) étaient observés, l'enquêteur devait être contacté immédiatement pour la déclaration légale. La causalité avec le vaccin devait être alors déterminée.

#### *a- Les paramètres de sécurité suivant ont été évalués chez chaque volontaire :*

- La santé générale, c'est-à-dire le bien-être général des volontaires et les symptômes ressentis par les volontaires dans les mois qui suivent la vaccination.
- Les signes vitaux qui ont été suivis comme la tension artérielle, la fréquence cardiaque, la fréquence respiratoire et la température buccale.
- Les anomalies dans la NFS (formule sanguine)
- Les effets secondaires spécifiques qui comprennent les symptômes locaux des voies respiratoires comme éternuements, nez congestionné, toux, saignement de nez, douleur ou autres symptômes au niveau de l'oreille et symptômes au niveau des yeux (rougeur, sécrétion).

Les données de sécurité ont été signalées au promoteur et au comité indépendant de surveillance des données pour prendre une décision avant l'augmentation de la

dose. Un EIG a été signalé lors de l'essai clinique. Il a été jugé par le comité indépendant de surveillance des données (DSMB) et par les investigateurs de l'étude, comme EIG non lié au vaccin.

En termes de tolérance, aucune différence dans les EI n'a été détectée entre les individus ayant reçu le placebo et ceux vaccinés dans les différents groupes. Selon le suivi des 48 volontaires (36 vaccinés avec le candidat vaccin et 12 avec le placebo), les EI les plus fréquents étaient la rhinorrhée, les éternuements, la congestion nasale, le mal de tête et la fatigue. Beaucoup de volontaires ont eu un rhume pendant le suivi, ce qui pourrait expliquer la plupart de ces évènements.

### *b- Les résultats sur les effets indésirables : (annexe)*

On a pu remarquer qu'il n'y a pas eu d'augmentation de la fréquence des EI en fonction de la dose de BPZE1. Ainsi même la dose la plus élevée n'a pas induit d'effets néfastes sur les sujets. Ceci donne de bonnes perspectives pour le développement du vaccin. Les EI imputables les plus courants dans les 6 heures suivant la vaccination sont tous ordinaires et de courte durée, avec aucune différence entre le placebo et les différentes doses vaccinales. Tous les effets secondaires étaient majoritairement légers à modérés. On peut remarquer que les effets indésirables observés sont similaires à un simple rhume, toux, congestion nasale, rhinorrhée, éternuements, fatigue et céphalée même chez les sujets ayant reçu le placebo. Il n'y a pas non plus eu de différence entre les différentes doses et entre les sujet colonisés et ceux non-colonisés. Chez tous les sujets volontaires, il n'y a eu aucune anomalie dans les signes vitaux ainsi que sur la NFS durant l'essai clinique.

Hélas, seul un sujet vacciné avec la dose la plus faible est décédé 7 semaines après la vaccination. Cet EIG a été bien entendu signalé et le promoteur en a informé l'agence des produits médicaux suédois et l'EMA (l'agence européenne du médicament). Après une évaluation consciencieuse, le décès du sujet a été jugé comme indépendant de la vaccination. Les informations au sujet de ce décès n'ont pas été communiquées, selon les volontés du défunt et de sa famille.

## 6- Collecte et analyse des échantillons

### a- Cultures des aspirations nasopharyngées :

Les aspirations nasopharyngées ont été recueillies pour déterminer la colonisation de la muqueuse nasopharyngée par BPZE1 aux 4, 7, 11, 14, 28 et 45<sup>èmes</sup> jours après la vaccination (tableau 6).

**Tableau 6 : Tableau indiquant les cas de colonisation de la muqueuse, depuis le 4<sup>ème</sup> jour au 28<sup>ème</sup> jour après la vaccination. Les cultures positives sont en rouge.** (110).

Culture positive subjects						
Dose group	Subject ID	Day 4	Day 7	Day 11	Day 14	Day 28
Low	110					
Medium	228					
High	334					
High	343					
High	344					
High	345					
High	346					

Ces aspirations ont été mises en culture sur des plaques d'agar de charbon de bois (Oxoid, CM119, avec une concentration de sang de cheval de 10% et 40 mg/l de céphalexine). Chaque plaque a été observée pendant 7 jours consécutifs. La présence de BPZE1 était confirmée par la coloration de Gram et le test de catalase et d'oxidase. Ce qui correspond à une colonisation de la muqueuse par souche BPZE1. La colonisation a été majoritairement plus élevée dans le groupe ayant la plus forte dose par rapport aux deux autres groupes. La souche vaccinale a été détectée entre les jours 4 et 28 ce qui est semblable à une infection naturelle par *B. pertussis*. Ainsi le nombre de cas de colonisation de la muqueuse et sa durée apparaît proportionnel à

la dose. Mais malgré cela, la colonisation ne se fait pas à chaque inoculation de la souche.

### *b- Analyses sanguines :*

Pour évaluer l'effet de la vaccination, des échantillons de sang veineux au pli du coude ont été recueillis 2 à 6 semaines avant la vaccination puis à la 1<sup>ère</sup>, 2<sup>èmes</sup> et 4<sup>èmes</sup> semaines et enfin 5 – 6 mois après la vaccination. Pour chaque échantillon, il était recherché le taux d'immunoglobulines IgG sériques dirigées spécifiquement contre la toxine pertussique, l'hémagglutinine filamenteuse, pertactine et fimbriae par la méthode ELISA standardisée. Etaient également évalués le taux d'hémoglobine et la NFS.

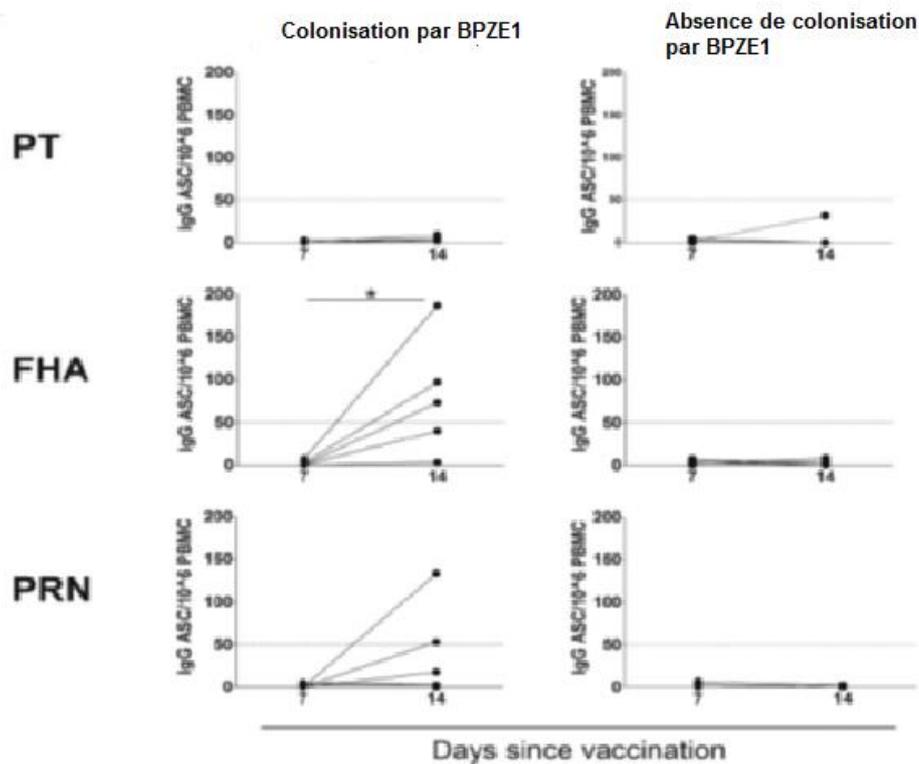
L'effet de la vaccination a été mesuré par la proportion de volontaires ayant une réponse immunitaire positive (IgG sériques) dans les différents groupes de dose vaccinale. Les anticorps sériques sont apparus 14 jours après la vaccination et sont restés à des taux élevés après un suivi de 5 – 6 mois. Des cellules plasmiques synthétisant des immunoglobulines IgG spécifiques ont été détectées le jour 7 après la vaccination, tandis que les réponses spécifiques des lymphocytes T et B ont été observées à partir du 14<sup>ème</sup> jour. Les réponses immunitaires étaient fortement corrélées à la colonisation de la muqueuse nasopharyngée.

La forte immunogénicité de la FHA a été confirmée par la réponse anti-FHA présentant des taux élevés d'isotypes IgG1, IgG2a et IgG2b.

### *Evaluation de la réponse des lymphocytes B :*

Les réponses des cellules B du système immunitaire ont été évaluées par ELISpot contre les 3 antigènes : toxine pertussique, hémagglutinine filamenteuse et pertactine. Chez les volontaires pour qui la colonisation a été effectuée, on a observé, une augmentation importante de la sécrétion d'anticorps dirigé contre l'hémagglutinine filamenteuse et la pertactine entre le 7<sup>ème</sup> et le 14<sup>ème</sup> jour après la vaccination ce qui indique une activation du système immunitaire et de la différenciation des lymphocytes

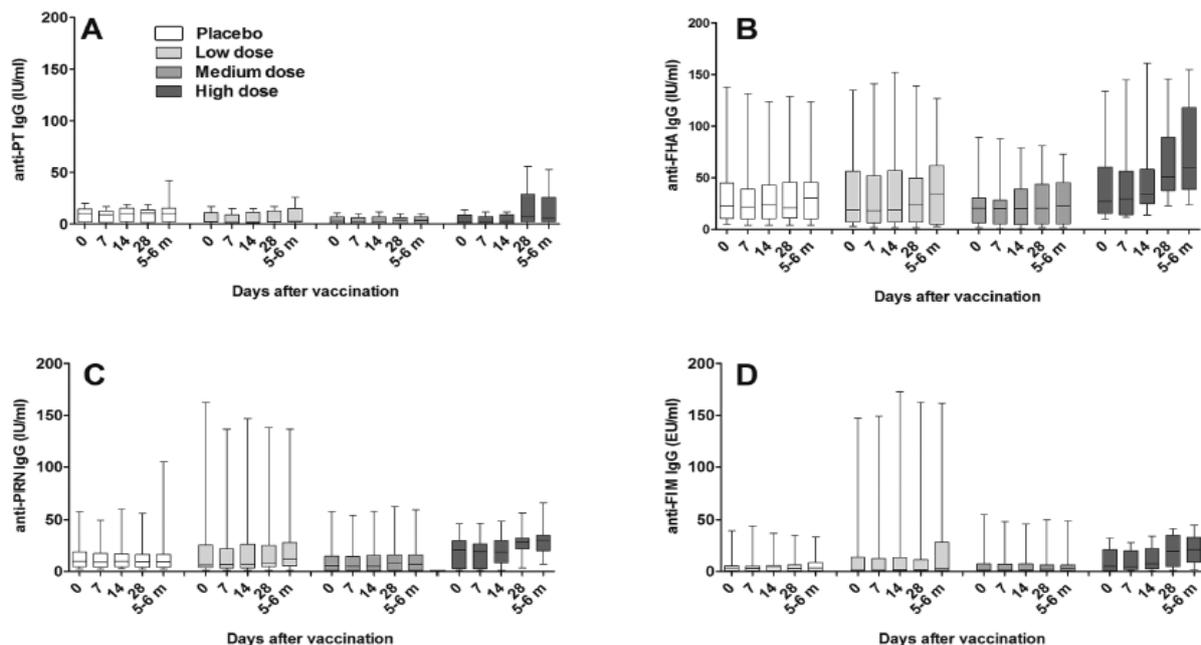
B en plasmocytes (Figure 43). Cette augmentation sera moindre pour la toxine pertussique. (111).



**Figure 43 : Réponse des cellules mononucléaires du sang périphérique (PBMC) avec la synthèse d'immunoglobuline contre toxine pertussique (PT), hémagglutinine filamenteuse (FHA) et la pertactine (PRN) après administration de la souche BPZE1, analyse à 7 et 14 jours en fonction de la colonisation. Analyse pour le groupe ayant reçu la dose moyenne (111).**

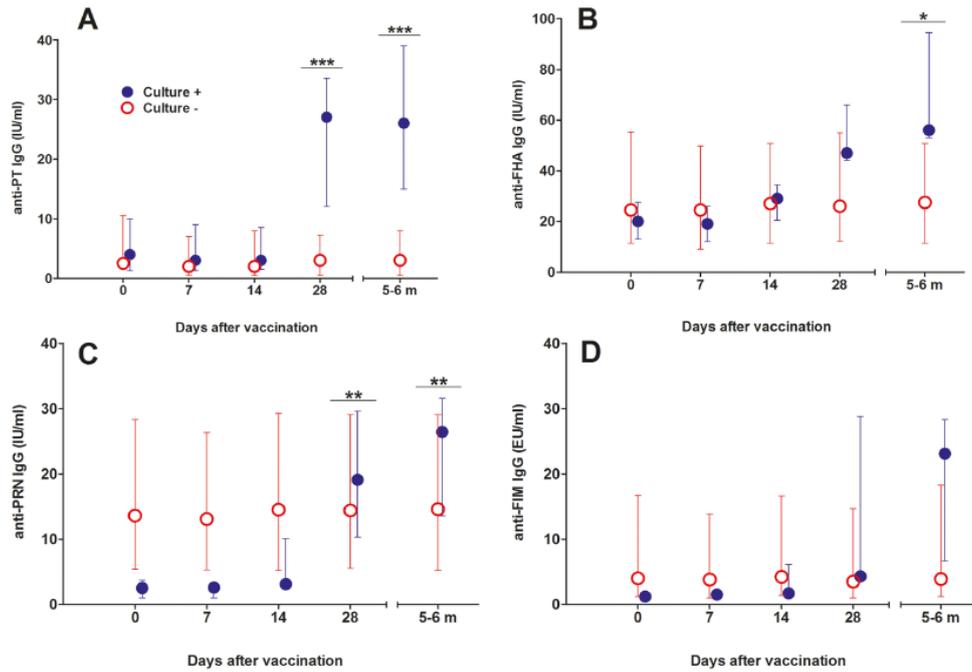
### Analyse des taux d'IgG sérique :

Les immunoglobulines dirigées contre la toxine pertussique, l'hémagglutinine filamenteuse, la pertactine et la fimbriae sont détectées entre les 14<sup>ème</sup> et 28<sup>ème</sup> jours après la vaccination et sont restées élevées pendant 6 mois (Figure 48). On observe que les taux IgG sont plus importants chez les sujets ayant reçu la dose vaccinale la plus forte.



**Figure 44 : Taux d'IgG sériques contre les antigènes (Toxine pertussique (A), hémagglutinine filamenteuse (B), pertactine (C) et Fimbriae (D)) en fonction du temps. Le dosage effectués à J0 = jour de la vaccination, J7, J14, J 28 et 5-6 mois. Les résultats sont montrés sous forme de cases (médianes et interquartiles) et les moustaches (gamme minimum-maximum). (110)**

Les résultats ont montré que le pic d'immunité se situe environ au 28<sup>ème</sup> jour. 5 à 6 mois après la vaccination, l'immunité continue à se maintenir (Figure 45). Ainsi lorsque que la muqueuse nasale est colonisée par BPZE1, les taux d'anticorps sont plus importants. Le pic des anticorps dirigé contre la fimbriae sera quant à lui plus éloigné dans le temps. En conséquence, la réaction immunitaire sera meilleure lorsqu'il y aura une colonisation de la muqueuse par la souche BPZE1. (110).



**Figure 45 : Niveaux d'IgG sériques dans le temps aux antigènes de *B. pertussis* (toxine pertussique, hémagglutinine filamenteuse, pertactine, fimbriae chez les sujets colonisés (bleu) par rapport aux sujets non colonisés (rouge). Les résultats sont présentés sous forme de médianes (cercle) et de gammes interquartiles (barres) (110).**

# VI- Conclusion

## A-Vaccination avec BPZE1

Cette étude a obtenu les premiers succès escomptés. Que ce soit la faisabilité d'utilisation d'une souche génétiquement détoxifiée, l'utilisation de la voie intranasale, la tolérance parfaite observée chez l'Homme, la possibilité de cette souche à coloniser, et la capacité à générer une réponse immune systémique contre les antigènes majeurs de *B. pertussis*, observant même avec la modification au niveau de son gène, l'immunogénicité de la toxine pertussique n'a pas été altérée. Tous ces résultats représentent un réel succès et une première mondiale. La souche BPZE1 est donc un candidat vaccin très prometteur pour palier au problème de diminution de l'immunité protectrice observée avec notamment les vaccins acellulaires actuellement sur le marché, et conférerait une immunité protectrice de longue durée contre la coqueluche.

La vaccination nasale à la naissance peut être le moyen le plus efficace d'assurer une couverture vaccinale importante. Bien que BPZE1 soit considéré comme un vaccin primaire dans la période néonatale, cette souche vaccinale peut être également considérée comme booster de la longévité de la protection. Cette longévité de la protection induite par BPZE1 peut donc avoir un fort impact sur la santé publique à long terme, en particulier dans les pays développés où les rappels de vaccinations avec les vaccins actuels sont souvent difficiles à mettre en œuvre. De plus BPZE1, induit une réponse immunitaire rapidement, impliquant que les nouveau-nés vaccinés seraient protégés peu de temps après la naissance. Enfin, la souche BPZE1 semble également protégée contre d'autres espèces de *Bordetella* telles que *B. parapertussis*, *B. bronchiseptica*, pathologies pour lesquelles aucun vaccin n'est actuellement disponible.

Ainsi la souche BPZE1 présente une aptitude extrêmement prometteuse de vecteur pour plusieurs antigènes de pathologies différentes donc une protection simultanée contre la coqueluche et d'autres infections aériennes. L'utiliser comme une plateforme biotechnologique pour présenter des antigènes hétérologues protecteurs assurera le développement des vaccins multivalents nasaux ce qui ferait d'elle un outil ayant un potentiel extrêmement large dans le contrôle d'autres infections que la coqueluche seule.

Les résultats ont donc montré un lien étroit entre colonisation et réponse immunitaire, si colonisation est effectuée, le système immunitaire va s'activer et induire une mémoire immunitaire. Ainsi, tous les volontaires n'ont pas été colonisés par la souche modifiée. Il serait important de déterminer les facteurs qui empêchent l'obtention d'une colonisation. Plusieurs éléments peuvent expliquer cela. Il se peut que la concentration de  $10^7$  UFC ne soit pas assez suffisante. Une dose plus élevée de  $10^9$  UFC de souche BPZE1 pour mimer une infection à *B. pertussis* devrait présenter une meilleure colonisation et donc une immunisation de tous les individus. Le vaccin contre *B. bronchiseptica* vétérinaire est utilisé à une concentration de  $10^8$  UFC par dose. Il est possible également qu'une immunité pré existante ait pu empêcher la colonisation. Par ailleurs, un travail technique sur la méthode de dépôt du vaccin dans les voies nasales serait peut être nécessaire. Au vu de l'excellente tolérance observée lors de l'essai, les prochaines études pourront déterminer si l'augmentation de la dose peut assurer une meilleure colonisation et surmonter l'immunité intrinsèque probablement existante. Il est à noter que lors d'un essai de vaccin par voie nasale contre la grippe, une technique d'aérosol s'est avérée bien supérieure aux gouttes nasales en termes d'immunisation.

La souche BPZE1 a induit une forte réponse immunitaire de type Th-1 chez les souris néonatales et chez les souris adultes, avec une prédominance de la production d'INF-gamma et des anticorps spécifiques majoritairement de la classe IgG2a. A ce titre, c'est que les vaccins acellulaires contre la coqueluche induisent essentiellement une réponse Th-2. Enfin, après l'amorçage d'une réponse Th1 avec BPZE1, la réponse de ce type est maintenue lors de la vaccination avec un vaccin acellulaire.

De plus, lors des essais précliniques, il a été observé suite à l'administration par voie nasale de la souche vivante, une réponse anticorps contre la FHA dans le tractus génital de souris femelles. Des immunoglobulines IgA et IgG anti-FHA ont pu être dosés dans les tissus génitaux (vagin et utérus) même 28 jours après la vaccination, avec des taux qui se sont maintenus 14 semaines. Ceci laisse entrevoir un développement du vaccin contre des antigènes de pathogènes sexuellement transmissibles.

L'immunisation par BPZE1 a diminué significativement l'inflammation des voies aériennes dans les tissus et le liquide de lavage broncho-pulmonaire ce qui pourra être étudié pour l'asthme. La réaction immunitaire à la souche BPZE1 induit une

protection Th1 et Th17 contre le virus respiratoire syncytial, retrouvé chez la bronchiolite, autre pathologie qui touche les très jeunes enfants.

## B- Les avantages de la vaccination par voie nasale

Le principal avantage est l'obtention d'une protection acquise par les muqueuses respiratoire. Ainsi, cette méthode de vaccination par voie nasale à un coût de production relativement faible peut représenter un avantage financier notoire pour l'OMS et l'UNICEF pour leurs campagnes de vaccination. En effet, la prise en charge des DASRI à un coût élevé et peu représenter plus de 30% des coûts de campagnes de vaccinations obligatoires dans les pays en développement. Par exemple, en 2001, au cours d'une campagne de vaccination contre la rougeole en Afrique de l'Ouest (six pays compris), 17 millions d'enfants ont été vaccinés. Cette campagne a généré 300 tonnes de déchets de matériel d'injection, déchets mal gérés et mal éliminés et qui ont pour conséquence des risques de santé publique considérables en Afrique.

Son administration est non invasive, indolore et va éviter les accidents d'exposition au sang (AES) et la transmission de maladies transmissibles par le sang du fait de l'absence d'aiguille. En effets, selon l'OMS en 2000, la mauvaise gestion des seringues contaminées ont été responsable de :

- 21 millions d'infection à HBV (soit 32 % des nouvelles infections) ;
- 2 millions d'infection à HCV (soit 40% des nouvelles infections) ;
- 260 000 infections à VIH (soit 5 % des nouvelles infections).

Ainsi avec la vaccination par voie nasale, le coût de la gestion des déchets et des conséquences des AES pourrait être réduit significativement. (112).

La voie nasale serait donc plus adaptée à la vaccination de masse et supprimerait en partie le besoin de formation de personnels pour l'administration de vaccins. Enfin cette forme d'intervention est rassurante pour le receveur, ce qui permet d'augmenter l'accès au patient. (113).

L'utilisation de vecteurs bactériens vivants adaptés aux voies respiratoires peut créer une immunité chez l'hôte vis-à-vis de ce vecteur mais également contre des antigènes hétérologues synthétisés par la bactérie vectrice. Ce vecteur n'a que peu

de risques d'inactivation dans la muqueuse nasale du fait de l'absence d'acidité et d'enzyme que l'on retrouve par la voie orale.

## C-Vaccination et pharmacien

La vaccination par voie nasale pourra faciliter la vaccination pour une meilleure couverture contre les maladies transmissibles. Elle pourra être effectuée à l'officine et ne nécessite pas de formation spécifique du pharmacien. Un vaccin à BPZE1 pourra réduire significativement le risque d'infection chez les nouveau-nés et ainsi le risque de complications et de décès.

En attendant la commercialisation de la forme nasale du vaccin, le pharmacien devra s'assurer au mieux du bon suivi du calendrier des enfants car c'est un acteur essentiel dans la prévention. Aider à la sensibiliser le public aux campagnes annuelles de promotion de la vaccination est fondamental.

Les bénéficiaires certains du cocooning devront être considérés du fait de la fragilité immunitaire du nouveau-né dans les premiers mois de sa vie. Ainsi expliquer aux couples ayant un projet d'être parents ainsi qu'à l'entourage du futur nouveau-né de l'intérêt de la vaccination, est indispensable, pour eux et pour leur futur nourrisson.

De manière plus générale, le pharmacien d'officine pourra informer sa patientelle sur les vaccinations, la sensibiliser sur l'importance d'être vacciné et donner des conseils personnalisés en fonction des sujets et des situations. Il devra vérifier le statut vaccinal et d'inciter le suivi des vaccinations.

Le pharmacien est un acteur important dans la prévention des maladies, en préconisant la vaccination comme un moyen des plus efficaces.

## VII- Bibliographie

1. Hardy A. Whooping Cough, 1993. *In* The Cambridge World History of Human Disease, K.F. Kiple. Cambridge University Press, p.1094-1096.
2. Baillou G. Traité de médecine. Genève « Tussis Quinta », 1762. Tome 1 p 178
3. Goupil J-M. A. Thèse de Doctorat en médecine, 1976, Université de Caen.
4. Pasquier E. Les Recherches de la France. 1643. Pierre Ménart Libraire, Paris.
5. Desruelles H.M.J. Traité de la coqueluche. 1827. J.B. Baillière Editeur, Paris,
6. Bordet, J., and Gengou, O., Le microbe de la coqueluche. *Ann. Inst. Pasteur*, 1906 ; 20 : 731.
7. Guiso N. Histoire de la Coqueluche. 2006 – *in* Médecine Thérapeutique – Pédiatrie. Volume 9, N°3.
8. Bordet J. Gengou O. L'endotoxine coquelucheuse. *Ann. Inst. Pasteur*, 1909 : 415.
9. Schoun A-H. La prévention de l'infection du nouveau-né par la coqueluche. 2011. Mémoire ; Université Henri-Poincaré, Nancy I.
10. Mattoo, S. and J. D. Cherry (). "Molecular pathogenesis, epidemiology, and clinical manifestations of respiratory infections due to *Bordetella pertussis* and other *Bordetella* subspecies. 2005. *Clin Microbiol Rev* 18(2): 326-382.
11. Diavatopoulos DA, Cummings CA, Schouls LM, Brinig MM, Relman DA, Mooi FR. *Bordetella pertussis*, the Causative Agent of Whooping Cough, Evolved from a Distinct, Human-Associated Lineage of *B. bronchiseptica*". 2005. *PLoS Pathog.* 1 (4): e45. doi:10.1371.
12. Schwart K Guimezanes A, Mathieu M, Sabuncu E. Vaccination. 2014. Eds Inserm.pp 24-25.
13. Renacoq : surveillance de la coqueluche à l'hôpital en 2008. Bonmarin I., Guiso N., Rosso M-L., les participants au réseau Renacoq, Lévy-Bruhl D. BEH 31-32 / 27 juillet 2010, pp. 336-338.
14. Rapport Annuel de l'InVS ; 2013.  
[http://invs.santepubliquefrance.fr/publications/rapport\\_annuel/2013/sources/index.htm](http://invs.santepubliquefrance.fr/publications/rapport_annuel/2013/sources/index.htm) .
15. Direction Générale de la Santé. Rapport du Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France – Section Maladies Transmissibles, relatif à la conduite à tenir devant un ou plusieurs cas de coqueluche – Septembre 2006 – Ministère de la Santé et des Solidarités.  
<http://www.hcsp.fr/explore.cgi/avisrapportsdomaine?clefr=36>
16. Broutin H, Viboud C, Grenfell BT, Miller MA, Rohani P. Impact of vaccination and birth rate on the epidemiology of *pertussis*: a comparative study in 64 countries. *Proc Biol Sci.* 2010. 277: 3239-3245.
17. Données annuelles de surveillance du réseau hospitalier Renacoq, 1996-2015.  
[http://invs.santepubliquefrance.fr/content/download/31035/158002/version/7/file/Tableau\\_cas\\_coqueluche\\_+1996-2015.pdf](http://invs.santepubliquefrance.fr/content/download/31035/158002/version/7/file/Tableau_cas_coqueluche_+1996-2015.pdf)

18. Institut National de Recherche et Sécurité. Fiche « «*Bordetella pertussis* - Agent de la coqueluche » – Base de données EFICATT. Décembre 2016.
19. Skoff TH, Kenyon C, Cocoros N, Liko J, Miller L, Kudish K, Baumbach J, Zansky S, Faulkner A, Martin SW. Sources of Infant *Pertussis* Infection in the United States. *Pediatrics*. 2015.136(4):635-641.
20. Guiso N. How to fight *pertussis* ? *Ther. Adv. Vaccines*. 2013. 1(2) : 59–66.
21. California Department of Public Health. *Pertussis Report* - Sept. 2011. <https://www.cdph.ca.gov/programs/immunize/Documents/PertussisReport20119.pdf>
22. Galanis, E., King, A.S., Varughese, P. and Halperin, S.A. Changing epidemiology and emerging risk groups for *pertussis*. 2006. *CMAJ*.174 : 451-452.
23. Mielcarek N. La coqueluche, une maladie plus que jamais d'actualité. Feuilles de Biologie N°332 – Septembre 2016 ; pp 21-28.
24. Tubiana S, Belchior E, Guillot S, Guiso N, Lévy-Bruhl D; Renacoq Participants. Monitoring the Impact of Vaccination on *pertussis* in Infants Using an Active Hospital-based Pediatric Surveillance Network: Results from 17 Years' Experience, 1996-2012, France. *Pediatr Infect Dis J*. 2015 Aug;34(8):814-820.
25. Institut Pasteur – Guiso N. Actualité sur la Coqueluche en 2013. <https://www.pasteur.fr/fr/centre-medical/fiches-maladies/coqueluche>
26. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Pertussis epidemic-- Washington. *Morb Mortal Wkly Rep*. 2012; 61:517-522.
27. Public Health England. Children's health and Infectious diseases : Pertussis: guidance, data and analysis. 31 July 2014. <https://www.gov.uk/government/collections/pertussis-guidance-data-and-analysis>
28. Van der Maas NA, Mooi FR, de Greeff SC, Berbers GA, Spaendonck MA, de Melker HE. *Pertussis* in the Netherlands, is the current vaccination strategy sufficient to reduce disease burden in young infants? *Vaccine*. 2013 ;31:4541-4547.
29. Zhang X, Weyrich LS, Lavine JS, Karanikas AT, Harvill ET. Lack of cross-protection against *Bordetella holmesii* after pertussis vaccination., *Emerg Infect Dis*. 2012; 18:1771-1779.
30. Hellenbrand W, Beier D, Jensen E, Littmann M, Meyer C, Oppermann H, Wirsing von König CH, Reiter S. The epidemiology of *pertussis* in Germany: past and present. *BMC Infect Dis*. 2009 ; 25;9-22.
31. Dey A, Wang H, Quinn HE, Hill R, Macartney KK. Surveillance of adverse events following immunisation in Australia annual report, 2014. *Commun Dis Intell Q Rep*. 2016; 40:E377-E390.
32. Gaayeb L, Pinçon C, Cames C, Sarr JB, Seck M, Schacht AM, Remoué F, Hermann E, Riveau G. Immune response to *Bordetella pertussis* is associated with season and undernutrition in Senegalese children. *Vaccine*. 2014; 32:3431-3437.

33. Pilly-préparation à l'ECN-item 78 Coqueluche. <http://www.test01.chirurgie-esthetique-nord.org/wp-content/uploads/2015/08/Coqueluche-pilly.pdf>
34. InVs, (S. Baron, E. Grimprel, V. Tirard), guide coqueluche, recommandation lors de cas groupés de coqueluche, 1996. <http://invs.santepubliquefrance.fr/publications/guides/renacoq/index.html>
35. Biomnis Coqueluche, 2011, précis de biopathologie analyses médicales spécialisées <http://www.biomnis.com/referentiel/liendoc/precis/COQUELUCHE.pdf>
36. Coqueluche Item 78 Dr Cécile DUBUISSON, CHR Toulouse, 2011. <http://www.medecine.ups-tlse.fr/DCEM2/MODULE7/item78/coqueluchecours.pdf>
37. Klara M. Pósfay B. Revue Médicale Suisse. Edition 2006 <https://www.revmed.ch/RMS/2006/RMS-54/31069>
38. Baron S. Medical Microbiology. 4th edition. University of Texas Medical Branch at Galveston; 1996. Chapitre 31 ; Bordetella.
39. Direction générale de la santé, rapport du conseil supérieur d'hygiène publique de France, section maladie transmissible, relatif à la conduite à tenir devant un ou plusieurs cas de Coqueluche, janvier 2004.
40. Debuissou C. Cours de la Faculté de Médecine de Toulouse - Item 78, 2011.
41. ECN Pilly – Maladies Infectieuses – UE6 n°159 – La coqueluche – 2016.
42. Actualité sur la coqueluche, mise en place de la PCR coqueluche, lettre d'information n°8, mars 2011, [http://www.bio67.fr/sites/default/files/fiche\\_8-actualites\\_sur\\_la\\_coqueluche.pdf](http://www.bio67.fr/sites/default/files/fiche_8-actualites_sur_la_coqueluche.pdf)
43. Précis de Biopathologie analyses médicales spécialisées : La coqueluche. Publications Biomnis. 2011.
44. Mesures de prévention et de contrôle des flambées de coqueluche dans les établissements de santé et les structures d'accueil collectif pour la protection des nourrissons de moins de 6 mois. Bull OFSP 2013; 13: 188–192.
45. AAP. *Pertussis* (whooping cough). In: Pickering LK BC, Kimberlin DW, Long SS, editor. Red Book: 2012 Report of the Committee on infectious diseases. 29th Edition ed. Elk Grove Village, IL: American Academy of Pediatrics; 2012. p. 553–566.
46. Info-antibio n°10, Médecine et maladies infectieuses, nov 2010. [http://www.infectiologie.com/UserFiles/File/medias/\\_documents/ATB/info-antibio-2010-novembre.pdf](http://www.infectiologie.com/UserFiles/File/medias/_documents/ATB/info-antibio-2010-novembre.pdf)
47. Altunaiji S, Kukuruzovic R, Curtis N, Massie J. Antibiotics for whooping cough (*pertussis*). Cochrane database of systematic reviews. 2007 (3): CD004404.
48. Guillot S, Descours G, Gillet Y, Etienne J, Floret D, Guiso N. Macrolide-resistant *Bordetella pertussis* infection in newborn girl, France. *Emerging infectious diseases*. 2012; 18: 966–968.
49. Ministère des affaires sociales, de la santé et des droits des femmes, Instruction N°DGS/RI1/2014/310, nov 2014. [http://social-sante.gouv.fr/IMG/pdf/14\\_310t0.pdf](http://social-sante.gouv.fr/IMG/pdf/14_310t0.pdf)

50. Inpes (Chemlal K., et Jestin C). La vaccination contre la coqueluche. 2016. <http://inpes.santepubliquefrance.fr/CFESBases/catalogue/pdf/1715.pdf>
51. Ipnès ; Les Vaccinations-11. 1999. <http://inpes.santepubliquefrance.fr/cfesbases/catalogue/pdf/vaccination2.pdf>
52. Sato Y, Nagase K. Studies on protective antigen of Bordetella pertussis: isolation of protective antigen by sucrose density gradient centrifugation and some properties of the antigen. *Jpn J Med Sci Biol.* 1965;18:173-174.
53. Griffith AH. Permanent brain damage and pertussis vaccination: is the end of the saga in sight? *Vaccine.* 1989;7 :199-210.
54. Vaccininfoservice.fr : [http://vaccination-info-service.fr/Les-maladies-et-leurs-vaccins/coqueluche?qclid=Cj0KEQjw5YfHBRDzjNnioYq3\\_swBEiQAri4pdBM\\_PoJDFtLmFolbFI1wBN2NmCYURIMERmWar7eILLKlaAIIK8P8HAQ](http://vaccination-info-service.fr/Les-maladies-et-leurs-vaccins/coqueluche?qclid=Cj0KEQjw5YfHBRDzjNnioYq3_swBEiQAri4pdBM_PoJDFtLmFolbFI1wBN2NmCYURIMERmWar7eILLKlaAIIK8P8HAQ)
55. K. Schwartz, A Guimezanes, M Mathieu, E Sabuncu. 2014, séminaire :  
Vaccination : 24 - 25
56. Haut Conseil de la santé publique AVIS relatif à la stratégie vaccinale contre la coqueluche chez l'adulte dans le cadre du cocooning et dans le cadre professionnel 20 février 2014  
[https://www.mesvaccins.net/textes/hcspa20140220\\_stratvaccoquelucheadulte.pdf](https://www.mesvaccins.net/textes/hcspa20140220_stratvaccoquelucheadulte.pdf)
57. Au cœur des organes : la mémoire immunitaire - Cours 3<sup>ème</sup>, vaccination : base immunologique et nouvelles stratégies vaccinales.  
<https://youtu.be/m5SprSTxWfQ>
58. Witt MA, Katz PH, Witt DJ. Unexpectedly limited durability of immunity following acellular pertussis vaccination in preadolescents in North American outbreak. *Clin Infect Dis* 2012 ; 54 : 1730-1735
59. Smits K, Pottier G, Smet J, Dirix V, Vermeulen F, De Shutter I, Carollo M, Loch C, Ausiello CM, Mascart F. Different T cell memory in preadolescents after whole-cell or acellular pertussis vaccination. *Vaccine* 2013 ; 32 : 111-118.
60. Cohen R, Gaudelus J, Denis F, Stahl JP, Chevallier O, Pujol P, Martinot A. Pertussis vaccination coverage among French parents of infants after 10 years of cocoon strategy. *Med Mal Infect* 2016. 46:188-193.
61. Gross, R., Keidel, K. and Schmitt, K. Resemblance and divergence: the "new" members of the genus Bordetella. *Med Microbiol Immunol* 2010. 199(3), 155-163.
62. Goodnow, R.A. Biology of Bordetella bronchiseptica. *Microbiol Rev* 1980. 44(4), 722-738.
63. Diavatopoulos, D.A., Cummings, C.A., Schouls, L.M., Brinig, M.M., Relman, D.A. and Mooi, F.R. Bordetella pertussis, the causative agent of whooping cough, evolved from a distinct, human-associated lineage of B. bronchiseptica. *PLoS Pathog.* 2005. 1(4), e45.
64. Parkhill, J., Sebahia, M., Preston, A., et al. Comparative analysis of the genome sequences of Bordetella pertussis, Bordetella parapertussis and Bordetella bronchiseptica. *Nat Genet.* 2003. 35(1), 32-40.

65. Locht, C., Antoine, R. and Jacob-Dubuisson, F. (2001) Bordetella pertussis, molecular pathogenesis under multiple aspects. *Curr Opin Microbiol.* 2001. 4(1), 82-9.
66. Coutte L<sup>1</sup>, Locht C. Investigating pertussis toxin and its impact on vaccination. *Future Microbiol.* 2015;10(2):241-254.
67. Artur M. Galazka, Les bases immunologiques de la vaccination n°4 : La coqueluche, Programme élargie de vaccination, 1993. WHO/EPI/GEN/93.14.
68. Jeffrey M. A., Erich V. Scheller, Jeff F. Miller, and Peggy A. Cotter. "Bordetella Pertussis Pathogenesis: Current and Future Challenges." *Nature Reviews Microbiology.* 2014. 12 (4): 274–288.
69. Heiss, L.N., Flak, T.A., Lancaster, J.R., Jr., McDaniel, M.L. and Goldman, W.E. Nitric oxide mediates Bordetella pertussis tracheal cytotoxin damage to the respiratory epithelium. *Infect Agents Dis* 1993. 2(4), 173-177.
70. Lipopolysaccharides from Legionella and Rhizobium Stimulate Mouse Bone Marrow Granulocytes via Toll-like Receptor 2 | Journal of Cell Science." 2017. Accessed August 4. <http://jcs.biologists.org/content/116/2/293>.
71. Higgins, S.C., Lavelle, E.C., McCann, C., Keogh, B., McNeela, E., Byrne, P., O'Gorman, B., Jarnicki, A., McGuirk, P. and Mills, K.H. Toll-like receptor 4-mediated innate IL-10 activates antigen-specific regulatory T cells and confers resistance to Bordetella pertussis by inhibiting inflammatory pathology. *J Immunol.* 2003. 171(6), 3119-27.
72. Hodak, H., Clantin, B., Willery, E., Villeret, V., Locht, C. and Jacob-Dubuisson, F. Secretion signal of the filamentous haemagglutinin, a model two-partner secretion substrate. *Mol Microbiol.* 2006. 61(2), 368-382.
73. Ishibashi, Y., Relman, D.A. and Nishikawa, A. Invasion of human respiratory epithelial cells by Bordetella pertussis: possible role for a filamentous hemagglutinin Arg-Gly-Asp sequence and alpha5beta1 integrin. *Microb Pathog.* 2001. 30(5), 279-288.
74. Menozzi, F.D., Gantiez, C. and Locht, C. () Interaction of the Bordetella pertussis filamentous hemagglutinin with heparin. *FEMS Microbiol Lett.* 1991.62(1), 59-64.
75. Melvin J. A., Scheller E. V., Miller J. F., and Cotter P. A. *Bordetella pertussis* pathogenesis: current and future challenges., *Nature Reviews Microbiology*, 2014. 12, 274–288.
76. Inatsuka, C.S., Xu, Q., Vujkovic-Cvijin, I., Wong, S., Stibitz, S., Miller, J.F. and Cotter, P.A. Pertactin is required for Bordetella species to resist neutrophil-mediated clearance. *Infect Immun.* 2010. 78(7), 2901-2909.
77. Finn, T.M. and Stevens, L.A. (1995) Tracheal colonization factor: a Bordetella pertussis secreted virulence determinant. *Mol Microbiol.* 1995. 16(4), 625-634.
78. Gouw, Daan de, Dimitri A. Diavatopoulos, Hester J. Bootsma, Peter W. M. Hermans, and Frits R. Mooi.. "Pertussis: A Matter of Immune Modulation." *FEMS Microbiology Reviews.* 2011. 35 (3): 441–474.
79. Serra, D.O., Conover, M.S., Arnal, L., Sloan, G.P., Rodriguez, M.E., Yantorno, O.M. and Deora, R. FHA-mediated cell-substrate and cell-cell adhesions are

- critical for *Bordetella pertussis* biofilm formation on abiotic surfaces and in the mouse nose and the trachea. *PLoS One*. 2012. 6(12), e28811.
80. Higgs, R., Higgins, S.C., Ross, P.J. and Mills, K.H. Immunity to the respiratory pathogen *Bordetella pertussis*. *Mucosal Immunol*. 2012. 5(5), 485-500.
  81. Andreasen, C. and Carbonetti, N.H. Pertussis toxin inhibits early chemokine production to delay neutrophil recruitment in response to *Bordetella pertussis* respiratory tract infection in mice. *Infect Immun*. 2008. 76(11), 5139-5148.
  82. Hellwig, S.M., van Spriel, A.B., Schellekens, J.F., Mooi, F.R. and van de Winkel, J.G. Immunoglobulin A-mediated protection against *Bordetella pertussis* infection. *Infect Immun*. 2001. 69(8), 4846-48450.
  83. Granstrom, M., Olinder-Nielsen, A.M., Holmblad, P., Mark, A. and Hanngren, K. Specific immunoglobulin for treatment of whooping cough. *Lancet*. 1991. 338(8777), 1230-1233.
  84. Mills, K.H. Immunity to *Bordetella pertussis*. *Microbes Infect*. 2001. 3(8), 655-677.
  85. Mills, K.H., Barnard, A., Watkins, J. and Redhead, K. Cell-mediated immunity to *Bordetella pertussis*: role of Th1 cells in bacterial clearance in a murine respiratory infection model. *Infect Immun*. 1993. 61(2), 399-410.
  86. McGuirk, P., Johnson, P.A., Ryan, E.J. and Mills, K.H. Filamentous hemagglutinin and pertussis toxin from *Bordetella pertussis* modulate immune responses to unrelated antigens. *J. Infect Dis*. 2000. 182(4), 1286-1289.
  87. Dunne, A., Ross, P.J., Pospisilova, E., Masin, J., Meaney, A., Sutton, C.E., Iwakura, Y., Tschopp, J., Sebo, P. and Mills, K.H. Inflammasome activation by adenylate cyclase toxin directs Th17 responses and protection against *Bordetella pertussis*. *J Immunol*. 2010. 185(3), 1711-1719.
  88. Ross, P.J., Lavelle, E.C., Mills, K.H. and Boyd, A.P. Adenylate cyclase toxin from *Bordetella pertussis* synergizes with lipopolysaccharide to promote innate interleukin-10 production and enhances the induction of Th2 and regulatory T cells. *Infect Immun*. 2004. 72(3), 1568-1579.
  89. (54) Vaccininfoservice.fr : [http://vaccination-info-service.fr/Les-maladies-et-leursvaccins/coqueluche?qclid=Cj0KEQjw5YfHBRDzjNnioYq3\\_swBEiQArj4pd\\_BMPoJDFtLmFolbF1wBN2NmCYURIMERmWar7eIlLKlaAIk8P8HAQ](http://vaccination-info-service.fr/Les-maladies-et-leursvaccins/coqueluche?qclid=Cj0KEQjw5YfHBRDzjNnioYq3_swBEiQArj4pd_BMPoJDFtLmFolbF1wBN2NmCYURIMERmWar7eIlLKlaAIk8P8HAQ)
  90. Loch C., and Mielcarek N. New Pertussis Vaccination Approaches: En Route to Protect Newborns? *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 2012. 66 (2): 121–133.
  91. Kuper CF, Koornstra PJ, Hameleers DM, Biewenga J, Spit BJ, Duijvestijn AM, van Breda Vriesman PJ, Sminia T. The role of nasopharyngeal lymphoid tissue. *Immunol Today*. 1992;13(6):219-224.
  92. <http://www.medix.free.fr/cours/muqueuse-respiratoire-nasale.php>
  93. [http://www.dominiquegarcia.fr/pages/Anatomie\\_du\\_nez\\_et\\_des\\_sinus-2636903.html](http://www.dominiquegarcia.fr/pages/Anatomie_du_nez_et_des_sinus-2636903.html)
  94. [http://www.eopathologies.com/acad/h\\_cd/resp.pd](http://www.eopathologies.com/acad/h_cd/resp.pd)
  95. <http://campus.cerimes.fr/histologie-et-embryologie-medicales/poly-histologie->

[et-embryologie-medicales.pdf](#)

96. R Coujard, J Poirier, J Racadot, 1980, Précis d'histologie humaine. Appareil Respiratoire.
97. <http://campus.cerimes.fr/histologie-et-embryologie-medicales/poly-histologie-et-embryologie-medicales.pdf> page 14.
98. [http://ipubli.inserm.inist.fr/bitstream/handle/10608/6143/MS\\_2007\\_4\\_371.html#R15](http://ipubli.inserm.inist.fr/bitstream/handle/10608/6143/MS_2007_4_371.html#R15))
99. Mestecky J, Lamm ME, Strober W, *et al.* *Mucosal immunology*, 3<sup>rd</sup> ed. San Diego: Academic Press, 2005 : pp1868.
100. [http://allergo.lyon.inserm.fr/M1\\_2009-2010/07Immunoglobulines\\_M1\\_2009.pdf](http://allergo.lyon.inserm.fr/M1_2009-2010/07Immunoglobulines_M1_2009.pdf)
101. <http://www.braccini.net/document/PDF/le%20nez%20texte.pdf>
102. Mielcarek, Nathalie, Anne-Sophie Debie, Severine Mahieux, and Camille Locht. Dose Response of Attenuated Bordetella Pertussis BPZE1-Induced Protection in Mice. *Clinical and Vaccine Immunology*. 2010. 17 (3): 317–324.
103. Locht, Camille, and Nathalie Mielcarek. 2012. “New Pertussis Vaccination Approaches: En Route to Protect Newborns?” *FEMS Immunology and Medical Microbiology*. 2012. 66 (2): 121–133.
104. Mielcarek N., Cornette J., Schacht A-M., Pierce R., Capron A., Locht C., and Riveau G. Intranasal priming with recombinant *Bordetella pertussis* for the induction of a systemic immune response against a heterologous antigen. *Infect. Immun.* 1997. 65 : 544-550.
105. Mielcarek N., Riveau G., Remoué F., Capron A., and Locht C. Attenuation increases immunogenicity of live *Bordetella pertussis* vaccine for homologous and heterologous protection. *Nature Biotech.* 1998. 16 : 454-457.
106. <http://presse.inserm.fr/succes-du-projet-child-innovac-passage-a-lhomme-reussi-dun-vaccin-nasal-contre-la-coqueluche/10572/>
107. Rui L., Lim A., and Alonso S. Attenuated Bordetella Pertussis BPZE1 as a Live Vehicle for Heterologous Vaccine Antigens Delivery through the Nasal Route. *Bioengineered Bugs*, 2011. 6: 315–319.
108. Locht C, Antoine R, Raze D, Mielcarek N, Hot D, Lemoine Y, Mascart F. Bordetella pertussis from functional genomics to intranasal vaccination. *Int J Med Microbiol.* 2004. ;293(7-8):583-588.
109. Feunou P., Ismaili J., Debie AS., Huot L., Hot D., Raze D., Lemoine Y., and Locht C. “Genetic Stability of the Live Attenuated Bordetella Pertussis Vaccine Candidate BPZE1.” *Vaccine*. 2008. 26 (45): 5722–5727.
110. Thorstensson R, Trollfors B, Al-Tawil N, Jahnmatz M, Bergström J, Ljungman M, Törner A, Wehlin L, Van Broekhoven A, Bosman F, Debie AS, Mielcarek N, Locht C. A phase I clinical study of a live attenuated Bordetella pertussis vaccine-BPZE1; a single centre, double-blind, placebo-controlled, dose-escalating study of BPZE1 given intranasally to healthy adult male volunteers. *PLoS One*. 2014 Jan 8;9(1):e83449.
111. Jahnmatz M., Amu S., Ljungman M., Wehlin L., Chiodi F., Mielcarek N., Locht

- C., and Thorstensson R. "B-Cell Responses after Intranasal Vaccination with the Novel Attenuated Bordetella Pertussis Vaccine Strain BPZE1 in a Randomized Phase I Clinical Trial." *Vaccine* 2014. 32 (27): 3350–3356.
112. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs281/fr/>
113. Locht, Camille, and Nathalie Mielcarek. 2012. "New Pertussis Vaccination Approaches: En Route to Protect Newborns?" *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 66 (2): 121–33. doi:10.1111/j.1574-695X.2012.00988.x.
114. Weekly epidemiological record, 28 janvier 2005, n°4, 2005, 80, 29-40

## VIII- Annexe

**Tableau 7 : Nombre d'événements indésirables observés localement pendant la semaine 1 et 2 pour chaque groupe de dose (N=12 par groupe)** D'après Thorstensson,

Rigmor, Birger Trollfors, Nabil Al-Tawil, Maja Jahnmatz, *PloS One* 9 (1): e83449.

doi:10.1371/journal.pone.0083449.

		SEMAINE 1				SEMAINE 2			
EVENEMENT INDESIRABLE	Intensité	Placebo	Dose faible	Dose moyenne	Dose forte	Placebo	Dose faible	Dose moyenne	Dose forte
TOUX	aucun	10	8	9	11	11	9	10	12
	léger	1	3	3	1	0	2	2	0
	modéré	0	1	0	0	1	1	0	0
	élevé	1	0	0	0	0	0	0	0
	total	2	4	3	1	1	3	2	0
CONGESTION NASAL	aucun	6	7	10	7	11	8	9	10
	léger	4	4	2	5	1	3	3	2
	modéré	2	1	0	0	0	1	0	0
	élevé	0	0	0	0	0	0	0	0
	total	6	5	2	5	1	4	3	2
EPISTAXIS	aucun	12	10	12	11	12	12	12	12
	léger	0	2	0	1	0	0	0	0
	modéré	0	0	0	0	0	0	0	0
	élevé	0	0	0	0	0	0	0	0
	total	0	2	0	1	0	0	0	0
RHINORRHEE	aucun	5	8	9	6	10	7	11	10
	léger	5	4	3	4	2	4	1	2
	modéré	2	0	0	2	0	1	0	0
	élevé	0	0	0	0	0	0	0	0
	total	7	4	3	6	2	5	1	2

<b>ETERNUEMENTS</b>	aucun	6	11	7	8	9	10	9	11
	léger	6	1	5	3	3	1	3	1
	modéré	0	0	0	1	0	1	0	0
	élevé	0	0	0	0	0	0	0	0
	total	6	1	5	4	3	2	3	1
<b>DOULEUR D'OREILLE</b>	aucun	12	12	12	10	12	11	12	12
	léger	0	0	0	2	0	1	0	0
	modéré	0	0	0	0	0	0	0	0
	élevé	0	0	0	0	0	0	0	0
	total	0	0	0	2	0	1	0	0
<b>DOULEUR AUX YEUX</b>	aucun	12	12	12	11	12	12	12	12
	léger	0	0	0	1	0	0	0	0
	modéré	0	0	0	0	0	0	0	0
	élevé	0	0	0	0	0	0	0	0
	total	0	0	0	1	0	0	0	0
<b>DYSPNEE</b>	aucun	12	11	11	12	12	12	12	12
	léger	0	1	1	0	0	0	0	0
	modéré	0	0	0	0	0	0	0	0
	élevé	0	0	0	0	0	0	0	0
	total	0	1	1	0	0	0	0	0
<b>FATIGUE</b>	aucun	6	5	8	8	12	10	12	10
	léger	5	5	1	4	0	2	0	1
	modéré	0	1	3	0	0	0	0	1
	élevé	1	1	0	0	0	0	0	0
	total	6	7	4	4	0	2	0	2
<b>CEPHALEES</b>	aucun	7	9	9	7	11	10	10	10
	léger	3	2	3	4	1	2	2	2
	modéré	1	1	0	1	0	0	0	0
	élevé	1	0	0	0	0	0	0	0
	total	5	3	3	5	1	2	2	2

<b>AUTRES DOULEURS SPECIFIQUES</b>	<b>ETAT FEBRILE</b>	aucun	12	12	12	12	12	10	11	12
		léger	0	0	0	0	0	1	0	0
		modéré	0	0	0	0	0	1	1	0
		élevé	0	0	0	0	0	0	0	0
		total	0	0	0	0	0	2	1	0
		aucun	12	12	12	11	12	12	12	12
		léger	0	0	0	1	0	0	0	0
		modéré	0	0	0	0	0	0	0	0
		élevé	0	0	0	0	0	0	0	0
		total	0	0	0	1	0	0	0	0

**Nom** : RIVEAU

**Prénom** : Dalann

**Titre de la thèse** : **Un nouveau vaccin vivant atténué contre la coqueluche : de la recherche aux premiers essais cliniques**

**Mots-clés** : Coqueluche, Vaccin, Voie nasale, BPZE1, CHILD-INNOVAC

---

**Résumé** : En 2001, la coqueluche était la première cause de décès par infection bactérienne chez les moins de deux mois en France malgré une couverture vaccinale établie. Dans le monde, 40 millions de cas de coqueluche par an sont recensés et certainement sous-évalués dont 300 000 décès. L'incidence de la maladie n'a cessé d'augmenter, surtout chez les nourrissons au XXIème siècle, malgré la baisse significative lors de la mise sur le marché du premier vaccin en 1959. Ceci montre qu'il existe un « vide » de protection chez les plus jeunes enfants qui sont contaminés majoritairement par leur entourage. Après avoir décrit la bactérie *Bordetella pertussis*, son épidémiologie et son action sur le système immunitaire, cette thèse s'attache à présenter la recherche expérimentale et clinique de la vaccination nasale contre la coqueluche. Le projet européen CHILD-INNOVAC à l'Institut Pasteur de Lille, a pour but de créer une souche de coqueluche vivante atténuée, capable par voie nasale d'immuniser et de protéger l'Homme contre l'infection à *B. pertussis*. La souche BPZE1 a été testée en phase pré clinique chez la souris puis en phase clinique 1 chez l'Homme. Cette souche génétiquement modifiée possède un fort pouvoir immunogène et un profil de sécurité remarquable. Outre sa capacité de vaccin anti-coquelucheux, BPZE1 pourrait être également un remarquable vecteur pour des antigènes protecteurs contre d'autres infections pulmonaires. Par son efficacité et sa facilité d'administration, ce nouveau vaccin pourrait réduire considérablement le taux de mortalité par la coqueluche des nouveau-nés et être de plus le fer de lance d'une nouvelle génération de vaccins.

---

**Membres du jury** :

**Président** :

Docteur Emmanuel HERMMAN, Maître de conférences, Laboratoire d'Immunologie  
Faculté des sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Université de Lille II

**Assesseur** :

Docteur Christophe CARNOY, Maître de conférences, Laboratoire d'Immunologie  
Faculté des Sciences Pharmaceutique et Biologiques, Université de Lille II

**Membres extérieurs** :

Docteur Nathalie MIELCAREK, Directeur de recherche  
Institut Pasteur de Lille

Docteur Aurélie HUYGHE, Pharmacien titulaire  
Pharmacie Saint-Pierre, Steenvoorde