

LA VACCINATION DANS LA LUTTE CONTRE LES INFECTIONS : DES VACCINS TRADITIONNELS AUX NANOVACCINS

CONTROLLING INFECTIOUS DISEASES WITH VACCINATION: FROM TRADITIONAL VACCINES TO NANOVACCINES

Clément Martin et Denis Archambault¹ 

Manuscrit initial reçu le 5 juillet 2024, manuscrit révisé reçu le 6 septembre 2024, accepté le 9 septembre 2024

RÉSUMÉ

La vaccination est une méthode de choix pour la prévention des infections chez l'homme et les animaux. Les méthodes de vaccination n'ont jamais cessé d'évoluer dans le temps de sorte qu'il existe aujourd'hui plusieurs types de vaccination. L'utilisation de nanoparticules comme plateforme de livraison du matériel vaccinal suscite un intérêt croissant, notamment grâce à leur grande versatilité et, pour certaines, leur activité adjuvante intrinsèque. Néanmoins, les défis que peuvent imposer certains pathogènes demeurent toujours importants. C'est le cas du virus de l'influenza de type A auquel est associée une très grande variation antigénique. Ce virus infecte l'homme certes, mais aussi bon nombre d'animaux domestiques comme les volailles, le porc, les chevaux et les chiens chaque année, conduisant à d'importantes pertes économiques. Le virus de l'influenza A aviaire inquiète particulièrement les intervenants en santé publique car il est capable d'infecter l'humain. En effet, plusieurs cas chez l'humain infecté avec le virus de l'influenza A aviaire de sous-type H5N1 ont été répertoriés depuis plusieurs années avec un taux de mortalité élevé chez les individus infectés. Cette revue fait état de diverses stratégies vaccinales qui ont été utilisées ou qui sont actuellement utilisées chez l'homme et les animaux, des nanoparticules pouvant être utilisées à des fins vaccinales et des travaux récents de vaccination réalisés contre le virus de l'influenza A aviaire de sous-type H5N1.

Mots-clés : vaccination, nanoparticules, autoassemblage, Influenza A aviaire H5N1

ABSTRACT

Vaccination is one of the most effective approaches to control the propagation of infectious diseases in humans and animals. Since its discovery, vaccination has continuously evolved, and today, multiple types of vaccines are used. Recently, the use of nanoparticles as antigen delivery platforms has gathered increasing interests owing to their high versatility and intrinsic adjuvant capacity. However, despite the diversity of vaccine technologies, the challenges that certain pathogens can impose remain substantial, and developing vaccines that provide long-lasting protection against all strains of a pathogen remains difficult. This is exemplified by the influenza virus, which infects thousands of poultry, pigs, horses, and dogs each year, causing significant economic losses worldwide. The influenza virus is particularly concerning because it can infect humans, has already caused several pandemics, and since 1997, numerous cases of human infection with the H5N1 strain have been reported with a particularly high mortality rate. This review reports different vaccine strategies that have been used, or are currently used in humans and animals, including nanoparticles that can be used for vaccination purposes. Recent works on vaccination against the avian influenza A subtype H5N1 are also discussed.

Keywords: vaccination, nanoparticles, self-assembly, avian Influenza A H5N1

1- Université du Québec à Montréal, Faculté des Sciences, Département des Sciences Biologiques, Montréal, Québec, Canada
E-mail : archambault.denis@uqam.ca



1. INTRODUCTION

En diminuant significativement le nombre de cas d'infections et des mortalités qui leur sont associées, les vaccins sont considérés comme l'un des plus grands succès tant en santé humaine qu'animale. Les premières formes de vaccination remontent au XVI^e siècle en Chine où des médecins ont découvert que l'exposition d'humains à de petites quantités de matière provenant de pustules de variole pouvait les protéger (Plotkin 2014). Une autre méthode, appelée variolisation, a été introduite en Europe au XVIII^e siècle par Lady Mary Wortley Montagu. En 1796, Edward Jenner a perfectionné cette technique en utilisant le contenu d'une pustule venant d'une main d'une femme infectée avec le virus de la vaccine (variole bovine) pour immuniser un enfant contre la variole humaine, marquant ainsi le début de la vaccination moderne. Ce n'est que quelque cent années plus tard que Louis Pasteur développa le premier vaccin contre la rage en utilisant un virus dit atténué (Plotkin 2014). Cette percée a ouvert la voie à la création de vaccins pour d'autres maladies infectieuses, notamment la diphtérie, le tétanos et la coqueluche. En 1913, le vétérinaire et biologiste Gaston Ramon introduisit le concept de toxoïde ou d'anatoxine, une protéine dépourvue de toxicité à la suite d'un traitement chimique et qui fut utilisée comme matériel vaccinal avec comme résultat une diminution significative de l'incidence de la maladie correspondante (diphtérie d'abord, tétanos ensuite) (Edelman & Tacket 1990). Dans les années 1950 et 1960, Jonas Salk et Albert Sabin ont développé respectivement des vaccins inactivé et vivant atténué contre le virus de la poliomyélite humaine, éradiquant presque complètement la maladie dans de nombreuses régions du monde (Baicus 2012). L'ensemble de ces découvertes a permis à l'homme de se protéger de mieux en mieux face à différentes maladies infectieuses. Des vaccins vétérinaires furent aussi développés chez l'animal pour le contrôle des infections, tout en exerçant un rôle essentiel dans la réduction de la transmission des maladies zoonotiques à l'homme. L'application des vaccins ne s'arrête pas qu'aux animaux d'élevage et aux animaux de compagnie, comme les chats et les chiens, mais concerne aussi les animaux de la faune sauvage.

Historiquement, les vaccins étaient composés d'agents pathogènes entiers atténués ou inactivés. Les vaccins inactivés grâce à l'utilisation de méthodes physiques et chimiques sont sûrs mais n'induisent qu'une réponse immunitaire modérée et de durée relativement courte. Ce type de vaccin n'induit qu'une réponse immunitaire humorale via des anticorps produits par les lymphocytes B et spécifiques d'un pathogène donné ; il nécessite généralement l'utilisation d'un adjuvant afin de produire une réponse satisfaisante. En revanche, les vaccins vivants et atténués, produits généralement par une série de passages cellulaires pour sélectionner des variants ayant une virulence plus faible que le pathogène de départ et qui miment ainsi une infection naturelle, induisent une réponse immunitaire robuste, à la fois humorale et cellulaire (via l'activation des lymphocytes T) et de longue durée; cependant ils comportent un risque de réversion vers la forme virulente du microorganisme. Néanmoins ils restent des vaccins efficaces, qui ont joué un rôle majeur dans le contrôle et l'éradication de certaines maladies, comme ce fut le cas avec le vaccin "Plowright" qui a permis, de fait, l'éradication de la peste bovine (Mariner et al., 2012). Les vaccins contre la rougeole et contre le virus de la fièvre jaune (souche 17D) sont de bons exemples de vaccins vivants atténués utilisés encore aujourd'hui chez l'homme.

La vaccination traditionnelle a donc des limites et il existe encore de nombreuses pathologies pour lesquelles aucun vaccin n'est disponible. Ainsi, le développement de vaccins dits de nouvelle génération s'avère indispensable afin de protéger au mieux les populations humaines et animales face aux maladies infectieuses. Dans cet article nous reviendrons rapidement sur les technologies vaccinales utilisées chez l'homme et les animaux et nous décrirons certains travaux dont les résultats obtenus laissent entrevoir les vaccins prometteurs que sont les nanovaccins.

2. LES TYPES DE VACCINS AUTRES QUE LES VACCINS TRADITIONNELS

2.1. Vaccins sous-unités

Les vaccins sous-unités contiennent uniquement des parties de l'agent pathogène telles que des protéines de surface ou encore des toxines élaborées par cet agent, au lieu de l'organisme entier. Ces vaccins sont plus sûrs que les vaccins vivants atténués ou inactivés car ils ne contiennent pas de matériel génétique infectieux. Cependant, tout comme les vaccins inactivés, ils n'induisent qu'une réponse humorale (anticorps) et nécessitent l'ajout d'un adjuvant dans la préparation vaccinale. Les protéines immunogéniques peuvent être obtenues par des techniques de fractionnement à partir du pathogène entier ou, encore mieux, peuvent être produites sous forme de protéines recombinantes à partir de divers systèmes d'expression tels que des bactéries (*Escherichia coli*), des levures ou des cellules d'insectes et de mammifères. Le vaccin OspA qui prévient la transmission de *Borrelia burgdorferi* (maladie de Lyme) lors d'une morsure de tique chez les chiens est un exemple de vaccin recombinant utilisé chez les animaux (Mebatsion 2021; Wormser 2022).

2.2. Vaccins à base de vecteurs viraux

Les vaccins à base de vecteurs viraux utilisent un autre virus modifié génétiquement afin de transporter et exprimer des gènes codant pour des antigènes de l'agent pathogène ciblé. Ces vaccins déclenchent une forte réponse immunitaire humorale et cellulaire, similaire à celle des vaccins vivants atténués et n'offrent aucun risque de causer la maladie. Les vaccins à vecteur viral



sont en développement pour des maladies telles que le syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA) ou le paludisme mais aucun n'a été accepté jusqu'à aujourd'hui pour une utilisation chez l'homme. Plusieurs vecteurs viraux ont été approuvés pour une utilisation en médecine vétérinaire, notamment ceux basés sur des adénovirus humains, des poxvirus (comme ceux de la variole du canari, de la variole aviaire et de la vaccine) et le virus de la fièvre jaune atténué. Ces vecteurs sont utilisés pour cibler et combattre des agents pathogènes tels que le virus de la rage ainsi que les virus de l'influenza aviaire et équin. (Draper & Heeney 2010). La famille des *Herpesviridae* comprend aussi plusieurs virus utilisés en tant que vecteur viral chez les animaux pour lutter contre différentes maladies comme celles associées au virus de la rage, l'influenza A ou bien le virus de la peste porcine (Kamel & El-Sayed 2019). Comme les adénovecteurs, leur principale caractéristique réside en outre dans leur capacité à intégrer une grande quantité d'ADN étranger (Kamel & El-Sayed 2019).

Des vaccins à base de vecteurs viraux sont aussi utilisés chez les animaux de la faune sauvage, notamment le vaccin RABORAL V-RG® administré par voie orale et contenu dans des appâts pour prévenir la rage (Maki *et al.* 2017). Ce vaccin utilise le virus de la vaccine (un poxvirus) comme vecteur afin d'exprimer le gène d'une glycoprotéine du virus de la rage. Ce vaccin a été fortement utilisé avec quelque 250 millions de doses distribuées dans le monde (Mebatsion 2021). Un autre vaccin contre la rage, ONRAB®, fait appel, quant à lui, à un adénovirus vivant humain et est utilisé, notamment au Canada et aux États-Unis, pour le relargage aérien d'appâts afin de vacciner les animaux de la faune sauvage comme les renards, ours et rats-laveurs (Sobey *et al.*, 2019).

2.3. Vaccins à ADN et à ARN

Les vaccins à base d'ADN et d'ARN constituent une approche innovante qui consiste à introduire directement des acides nucléiques dans les cellules d'un hôte immunisé pour produire des antigènes et déclencher une réponse immunitaire humorale et cellulaire. Les vaccins à ADN font référence à des plasmides nus contenant en outre un promoteur eucaryote fort comme par exemple celui dérivant du cytomégalovirus humain de type 5 (CMV5), des oligodésoxynucléotides CpG servant d'agent immunostimulant et le gène exprimant le matériel vaccinal d'intérêt (Liu 2003). Des vaccins à ADN ont notamment été développés chez les animaux comme le West Nile Innovator®, un vaccin utilisé chez les chevaux contre le virus du Nil occidental, l'Apex-IHN® ADN contre le virus de la nécrose hématopoïétique infectieuse du saumon et un vaccin contre le mélanome canin (Dory & Jestin 2021).

Les vaccins à base d'ARN messager (ARNm), quant à eux, ont été récemment développés et utilisés avec succès, notamment par les entreprises Moderna et BioNTech pour la vaccination contre la COVID-19 chez l'homme. Cette technologie fait appel à des modifications nucléotidiques de l'ARNm pour en augmenter la stabilité et optimiser sa traduction. Ce type de vaccin fait aussi appel à une structure lipidique entourant la molécule d'ARN elle-même, formant ainsi une nanoparticule lipidique, afin de protéger l'ARNm des ribonucléases et de favoriser son internalisation dans la cellule où elle sera traduite ensuite en protéine (Couvreur 2022). Néanmoins, la recherche en médecine vétérinaire et le développement de tels vaccins, notamment chez le poulet et le porc, avait débuté bien avant la pandémie de COVID-19 comme en fait foi la communication publiée en 2021 par Dory et Jestin (Dory & Jestin 2021). Malgré leur efficacité, les vaccins à base d'ARNm développés jusqu'à aujourd'hui nécessitent des environnements de stockage froids, pouvant limiter leur distribution mondiale.

2.4. Les nanoparticules à des fins de vaccination

Des structures synthétiques ou biologiques appelées nanoparticules (NPs) et dont la taille est de l'ordre du nanomètre ont émergé, ces dernières années, comme étant des plateformes prometteuses pour livrer du matériel vaccinal sous-unitaire. Diverses NPs telles que des polymères, des complexes polysaccharidiques et des liposomes, ont été évaluées comme véhicules de livraison (Al-Halifa *et al.*, 2019). Ainsi, en contrôlant leur taille, leur forme, leur solubilité et leur surface, les NPs peuvent être développées pour générer des nanovaccins contenant des antigènes encapsulés ou se situant à leur surface (Al-Halifa *et al.* 2019 ; Zottig *et al.* 2019). De plus, ces nanovaccins à base de NPs sont stables physiquement, protégés de la dégradation protéolytique (Lopes *et al.* 2016) et facilement endocytés par les cellules présentatrices d'antigènes (CPA) (Noad *et Roy* 2003). Les NPs à la base de ces vaccins induisent un effet de dépôt local à la suite de leur administration intramusculaire et peuvent présenter, pour certaines, des activités immunostimulantes appréciables (Zhu *et al.* 2014), via l'activation des récepteurs de reconnaissance de forme (PRR pour "Pathogen recognition receptor") comme les récepteurs "toll-like" (TLRs) et/ou des mécanismes facilitant la présentation d'antigènes aux CPA (Zhu *et al.* 2014).

Des NPs composées de protéines qui peuvent s'auto-assembler en structures biocompatibles bien organisées et présentant plusieurs unités répétitives d'un antigène donné à leur surface ont attiré l'attention des chercheurs en vaccinologie. Le meilleur exemple est sans aucun doute les particules pseudo-virales (VLP pour "Virus-like particles") (Noad *et Roy* 2003). Les VLPs sont des structures qui imitent l'organisation et la conformation de virus natifs sans contenir de matériel génétique infectieux. Ils sont produits en exprimant des protéines virales capables de s'auto-encapsider dans des systèmes d'expression cellulaire. Les vaccins à



base de VLP sont sûrs et peu onéreux à produire. Les VLPs, bien qu'ils agissent comme véhicule de livraison efficace d'antigènes, n'ont pas d'activité adjuvante intrinsèque, nécessitant ainsi l'ajout d'un adjuvant dans la formulation vaccinale. De plus, les VLPs ne peuvent être administrées que par les voies systémiques, par exemple la voie intramusculaire. Chez l'homme, les vaccins Engerix® et Recombivax HB® contre le virus de l'hépatite B, de même que le Cervarix® et le Gardasil® contre le virus du papillome humain, sont disponibles commercialement (Qian *et al.* 2020). Dans le domaine vétérinaire, bien que plusieurs vaccins candidats soient en cours d'étude, seul le vaccin Porcilis PCV® est autorisé et disponible pour contrer le circovirus porcin de type 2 (PCV2) (Crisci *et al.* 2012).

D'autres exemples de NPs incluent les nanostructures à base de la protéine capsidale du virus de la mosaïque de la papaye (Denis *et al.* 2007) appelées "nanotubes", ou de la nucléoprotéine N du virus respiratoire syncytial humain pour former des "nanorings" (Hervé *et al.* 2014). Bien qu'efficaces pour induire une réponse immunitaire spécifique contre l'antigène d'intérêt, ces NPs nécessitent aussi l'ajout d'un adjuvant, quel que soit le site d'administration utilisé. Par conséquent, il y a un besoin urgent d'identifier d'autres technologies pour augmenter l'immunogénicité de ces types de nanovaccins basés sur des peptides dotés de capacité d'auto-assemblage et/ou pour induire une réponse immunitaire systémique et/ou locale au niveau des muqueuses.

2.4.1 Des peptides synthétiques dotés de capacité d'auto-assemblage

L'utilisation de peptides synthétiques comme plateformes vaccinales est intéressante en raison de nombreuses propriétés. Leur production synthétique augmente le niveau de sécurité en limitant la contamination biologique. Des méthodes telles que la synthèse en phase solide de peptides (SPPS pour "Solid-phase peptide synthesis") facilite la production avec des rendements élevés et une reproductibilité d'un lot à l'autre. Les produits obtenus ont des conditions de stockage simples qui ne nécessitent généralement pas de chaîne du froid. De plus ces vaccins offrent une flexibilité dans leur conception et peuvent être combinés pour créer des vaccins multivalents capables de cibler plusieurs antigènes d'un même pathogène ou de pathogènes différents (Skwarczynski & Toth 2016).

Des études ont rapporté qu'une séquence peptidique de dix acides aminés appelée I10 peut être utilisée comme nanoplateforme vaccinale. Cette séquence dérive de la protéine "Islet amyloid polypeptide", appelée aussi amyline, et est capable de s'auto-assembler en nanofilaments ou en "nanorods", présentant à leur surface des épitopes vaccinaux particuliers (Al-Halifa *et al.* 2019; Zottig *et al.* 2021). Bricha et collaborateurs (2023) ont exploité les nanofilaments à base d'I10 présentant à leur surface l'antigène M2e dérivant de la protéine à proton M2 du virus de l'influenza A et l'un ou l'autre des agonistes de TLRs suivants, soit l'imiquimod, un agoniste de TLR7, ou le CpG, un agoniste du TLR9. Les auteurs ont démontré que ces nanofilaments étaient facilement internalisés par les CPA et conservaient l'activité immunostimulante exercée via l'activation des TLRs. De plus, ces nanostructures induisaient une réponse robuste humorale et cellulaire, spécifique du M2e, et protégeaient complètement les souris immunisées contre une inoculation létale du virus influenza A H1N1 (Bricha *et al.* 2023). Même si de bons résultats furent obtenus, ces types de nanovaccins synthétiques sont limités dans la taille des antigènes pouvant y être greffés (on parle ici d'épitopes linéaires composés de quelques dizaines d'acides aminés tout au plus) et par le coût onéreux associé à leur production.

2.4.2 Des nanoparticules à base de CsgA

Une nano-plateforme basée sur l'utilisation d'une protéine d'origine bactérienne, la protéine "Curli specific gene A" (CsgA) impliquée dans la formation de biofilms d'*Escherichia coli*, permet d'envisager son utilisation à des fins vaccinales. La protéine CsgA, composée de cinq répétitions imparfaites appelées R1 à R5, présente une capacité intrinsèque de pouvoir s'auto-assembler en filaments riches en feuillets β croisés (Chapman *et al.* 2002 ; Romling *et al.* 1998). Ces nanofilaments exercent une activité immunostimulante robuste via l'activation des TLR1/TLR2 et de l'inflammasome NLRP3 (Rapsinski *et al.* 2015; Zhong *et al.* 2014). Rappelons que les TLRs sont des récepteurs de l'immunité innée qui détectent les motifs moléculaires associés aux agents pathogènes et dont l'activation permet de moduler la réponse immunitaire via la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires comme l'interleukine 1 bêta (IL-1 β). L'inflammasome NLRP3, quant à lui, est un complexe multiprotéique formé à partir du récepteur NLRP3 (un senseur cytosolique de stress) et qui est impliqué dans la réponse immunitaire innée en activant la pro-caspase-1, conduisant à la production des cytokines pro-inflammatoires IL-1 β et interleukine 18 (Sutterwala *et al.* 2014). En plus d'activer les éléments de la réponse immunitaire innée, le CsgA a montré une grande capacité d'auto-assemblage après lui avoir conjugué des protéines de poids moléculaire élevé (Zhong *et al.* 2014). Ceci démontre, au contraire des peptides synthétiques décrits plus haut, que des antigènes de haut poids moléculaire peuvent être conjugués au CsgA sans nuire à sa capacité d'auto-assemblage pour former des filaments en feuillets β croisés.

En utilisant un système d'expression procaryote, Lamontagne *et al.* (2023) ont pu fonctionnaliser la protéine CsgA et une protéine dérivée, soit une protéine CsgA composée uniquement des motifs R4 et R5 (R4R5), en leur fusionnant, à leur extrémité N-terminale, trois répétitions de l'épitope M2e du virus influenza A décrit ci-haut, tout en conservant leur capacité d'auto-assemblage. Les auteurs ont pu démontrer que ces nanofilaments, administrés par voie intramusculaire chez des souris (à raison de trois doses à deux semaines d'intervalle, une dose correspondant à une quantité équimolaire de 18 μ g de M2e pour chaque construction, soit 50 μ g de 3M2e-CsgA et 30 μ g de 3M2e-R4R5), et sans ajouter un adjuvant dans la préparation vaccinale, augmentaient



la réponse en anticorps anti-M2e et la réponse cellulaire via l'activation des TLR1/TLR2, conduisant à une protection complète contre une infection létale par un virus influenza A H1N1 (Lamontagne *et al.* 2023).

Dans une étude complémentaire, St-Louis *et al.* (2024), en utilisant le modèle murin du virus influenza A H1N1 décrit ci-haut, ont déterminé que l'administration intranasale des nanofilaments 3M2e-R4R5 chez des souris (à raison de deux doses à deux semaines d'intervalle, 20 µg par dose) permettait l'induction de réponses immunitaires humorale et/ou cellulaire non seulement systémiques, comparables à celles obtenues lors de l'immunisation intramusculaire rapportée par Lamontagne *et al.* (2023), mais aussi locales au niveau des voies respiratoires supérieure et inférieure, résultant en une protection de quelque 90 % des souris lors d'une infection létale par le virus de l'influenza A H1N1.

2.4.3 Les nanoparticules dans la lutte contre le virus influenza A aviaire, sous-type H5N1

2.4.3.1 Les virus influenza de type A

Les virus influenza de type A (VIA) appartiennent à la famille des *Orthomyxoviridae* et présentent un génome composé de huit segments d'ARN de polarité négative codant pour des protéines impliquées dans la réplication et la structure de ces virus. Les VIA sont divisés en plusieurs sous-types sur la base des séquences en acides aminés de l'hémagglutinine (HA) et de la neuraminidase (NA), deux protéines structurales situées à la surface du virion. La protéine HA est fortement immunogénique et induit la production d'anticorps neutralisants chez un hôte infecté. Cependant, la partie globulaire de cette protéine, appelée HA1, est soumise à une forte variation antigénique due à des mécanismes de dérive antigénique ("*antigenic drift*") ou de réassortiment génétique ("*antigenic shift*"), représentant ainsi un enjeu de premier ordre pour le développement d'un vaccin universel contre les infections à VIA (Jang et Seong, 2019). À l'inverse, la partie tige de la protéine HA, appelée HA2, est fortement conservée et est la source d'anticorps neutralisants à large spectre. Tel que mentionné auparavant dans le présent article, le domaine N-terminal de la protéine 2 de la matrice (M2), appelé épitope M2e, est aussi très conservé entre les différentes souches de VIA (Mezhenskaya *et al.* 2019). Les vaccins basés sur M2e induisent des réponses immunitaires en anticorps et cellulaires spécifiques de cet épitope (Schotsaert *et al.*, 2016). Les anticorps générés induisent une protection significative, due à des mécanismes de cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps (ADCC pour "*Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity*") et/ou dépendante du complément (Jegelehner *et al.* 2004 ; Simhadri *et al.* 2015) au niveau des cellules infectées de l'hôte qui, contrairement à la situation qui prévaut au niveau du virion, expriment fortement la protéine M2 à leur surface. Toutefois, le faible degré d'immunogénicité de l'épitope M2e requiert l'utilisation d'un système adéquat de livraison de cet antigène et d'un adjuvant approprié pour s'en servir comme matériel vaccinal (Tsybalova *et al.* 2018).

Les VIA ont comme réservoir les oiseaux sauvages aquatiques et infectent une diversité d'espèces animales, dont les oiseaux domestiques tels le poulet et le canard et les mammifères comme le porc et l'homme. Les VIA aviaires sont classés en virus faiblement pathogènes (LPAI pour "*low pathogenic avian influenza*") ou fortement pathogènes (HPAI pour "*high pathogenic avian influenza*") sur la base de leur effets pathobiologiques chez les gallinacés (Pantin-Jackwood & Swayne 2009). Chez le poulet, les infections associées aux virus LPAI sont habituellement asymptomatiques ou causent des signes cliniques légers, alors que les virus HPAI envahissent plusieurs organes résultant en une maladie systémique avec des taux élevés de mortalité (de l'ordre de 90 à 100 %) (Pantin-Jackwood & Swayne 2009). Les virus HPAI, sous-type H5, sont des dérivés de la lignée Gs/Gd qui a émergé à l'échelle mondiale en plusieurs clades, sous-clades et virus réassortants (virus H5Nx), qui causent actuellement des pertes incalculables dans l'industrie aviaire dans bon nombre de pays. De plus, le virus H5N1 est de plus en plus rapporté chez les mammifères marins tels le phoque et le morse, mais, encore plus inquiétant, chez les animaux domestiques comme les chiens et, plus récemment en avril 2024, chez les vaches et les chats aux États-Unis d'Amérique. Cela suggère que les virus influenza aviaires H5N1 (et possiblement d'autres virus HPAI) semblent s'adapter de plus en plus aux mammifères et qu'ils représentent probablement l'une des plus grandes menaces jamais vues chez l'homme depuis la grippe espagnole en 1918, à cause de leurs potentiels zoonotique et pandémique (Caliendo *et al.* 2022). Quoiqu'il en soit, plusieurs vaccins ont été développés pour contrer ou, à tout le moins, contrôler les VIA chez les animaux domestiques (Tableau 1).

Tableau 1 : Principaux vaccins contre le virus influenza de type A chez les animaux domestiques

Nom	Type	Animaux	Valence	Source
Flu Avert® I.N.	Atténué	Chevaux	Monovalent	Myers et Wilson 2006
ProteqFlu® Te	Vecteur viral	Chevaux	Bivalent	Dilai <i>et al.</i> 2018
Nobivac® Canine Flu H3N8	Inactivé	Chiens	Monovalent	Na <i>et al.</i> 2016
FluSure® XP	Inactivé	Porcs	Quadivalent	Bullard <i>et al.</i> 2021
Ingelvac® Provenza®	Atténué	Porcs	Bivalent	Kaiser <i>et al.</i> 2019
Zoetis Poultry® AI H5N1	Inactivé	Volailles	Monovalent	Maartens <i>et al.</i> 2023
Poulvac® FluFend H5	Inactivé	Volailles	Monovalent	Meeusen <i>et al.</i> 2007
Vectormune® AI	Vecteur viral	Volailles	Monovalent	Gardin <i>et al.</i> 2016
Nobilis® Influenza H5N2	Inactivé	Volailles	Monovalent	Oh <i>et al.</i> 2005



2.4.3.2 Le développement d'un vaccin contre le virus influenza A, sous-type H5N1

Sur la base des connaissances de la biologie moléculaire des VIA et de la problématique des HPAI qui prévaut dans le monde depuis quelques années déjà, notre équipe s'est mise à l'œuvre pour développer une formulation vaccinale qui pourrait lutter contre l'infection due au virus H5N1 chez le poulet. À cette fin, des NPs basées sur des "nanorings" (protéine N du virus syncytial respiratoire humain) et des nanofilaments (protéine CsgA) décrits ci-haut et contenant trois répétitions de la séquence M2e, soit N-3M2e (le 3M2e étant situé à l'extrémité C-terminale de la protéine N) et 3M2e-CsgA, respectivement, furent produites à partir d'un système d'expression chez des bactéries et utilisées comme nanovaccins, de concert avec une protéine HA1 recombinante produite *in vitro* chez des cellules d'insecte (Calzas *et al.* 2024). Tous les poulets vaccinés trois fois à deux semaines d'intervalle par voie intramusculaire avec la combinaison protéine HA1 (15 µg), l'un ou l'autre des nanovaccins ("nanorings" ou nanofilaments; 50 µg) et l'adjuvant Emulsigen®, puis infectés expérimentalement 14 jours suivant la dernière dose de rappel avec un virus HPAI H5N1 de la lignée eurasiennne (phylogénétiquement très hétérologue par rapport à la souche virale H5N1 de la lignée nord-américaine de laquelle dérivait la protéine HA1), ont survécu à l'infection. Qui plus est, ces poulets n'ont aucunement excrété le virus à la suite de l'analyse d'écouvillons prélevés au niveau des régions oro-pharyngée et cloacale. Ils n'ont pas non plus montré de lésions macroscopiques et microscopiques (histopathologie) au niveau de leurs organes, notamment le cerveau, le cœur et le poumon, ni d'antigènes viraux (analyse immunocytochimique) dans les cellules de ces tissus. Cependant, les oiseaux vaccinés avec seulement l'un ou l'autre des nanovaccins (sans la protéine HA1 mais avec l'adjuvant) sont tous morts dans les quelque 30 à 36 heures suivant l'infection, comme l'ont été les poulets témoins qui avaient été inoculés avec une solution saline tamponnée (PBS, pH 7,3). Un délai dans la mortalité chez les poulets immunisés seulement avec la protéine HA1 fut observé, avec un taux de mortalité de 60 % répertorié au jour 21 suivant l'infection, tout en continuant, pour certains poulets, d'excréter du virus, contaminant ainsi le milieu environnant. Ainsi, sur la base de ces résultats, la formulation vaccinale combinatoire développée (qui reste toutefois à être optimisée en regard notamment de l'utilisation ou pas d'un adjuvant, du nombre de doses administrées et même de la voie d'administration) pourrait être considérée comme un vaccin dit universel pour contrer n'importe quel variant du virus H5N1 (H5Nx). Qui plus est, ce type de formulation pourrait être mis à contribution pour combattre d'autres virus HPAI (par exemple H7N9), pour autant que la protéine HA1 soit spécifique du HPAI donné. D'autres expériences avec d'autres sous-types de HPAI aviaires sont nécessaires pour confirmer cette hypothèse. Finalement, pareille formulation vaccinale utilisée ici chez le poulet pourrait s'avérer limitative pour d'autres espèces pouvant être infectées par le virus H5N1, comme le canard et les mammifères, à cause des systèmes immunitaires qui leur sont propres. En bout de ligne, des expériences seront donc nécessaires pour chacune de ces espèces afin de valider ou pas la stratégie vaccinale développée.

3. CONCLUSION

Grâce à différentes avancées technologiques, plusieurs infections ont été contrôlées dans le passé grâce à la vaccination. Ces avancées ont permis de mettre en avant de nouvelles manières de délivrer le matériel antigénique d'intérêt comme, récemment, la technologie des ARNm dans la lutte contre le virus de la COVID-19. Les nanovaccins constituent aussi un outil technologique puissant et ont un avenir prometteur en vaccinologie. Le développement et l'utilisation de ces véhicules de livraison en combinaison avec un antigène recombinant ont notamment permis une protection complète de poulets, sans excrétion virale, contre une infection expérimentale à l'influenza aviaire de type A H5N1 tel que décrit plus haut. Cependant, il reste encore beaucoup à faire pour lutter contre certaines maladies qui continuent à faire des ravages dans le monde, tant chez l'homme que chez les animaux.

La recherche pour développer de nouveaux adjuvants, même si ce thème ne fut pas couvert dans cette présente publication, est aussi de mise. Il est généralement admis par la communauté scientifique que des combinaisons d'adjuvants seront nécessaires pour induire des réponses immunitaires spécifiques optimales en fonction des micro-organismes en jeu. Le développement de nouveaux adjuvants ciblant les muqueuses est aussi d'une grande importance pour contrôler les organismes infectieux dont le tropisme, respiratoire notamment, a été démontré. Néanmoins, l'acceptation de la mise sur le marché de nouveaux adjuvants est habituellement un processus long et complexe, que ce soit en raison d'aspects relatifs à la recherche fondamentale (mécanismes d'action) ou à la recherche clinique. La percée récente de l'utilisation d'une nano-plateforme vaccinale dans un modèle d'influenza A H1N1 chez la souris, sans l'ajout d'un quelconque adjuvant et administrée via la voie intranasale, laisse entrevoir la faisabilité de contrôler les microorganismes au site même de leur entrée chez l'hôte (St-Louis *et al.*, 2024). Neutraliser un tel type de micro-organisme au site de son entrée permet d'envisager ainsi d'éliminer toute transmission d'un individu à l'autre, notamment pour les infections respiratoires comme la grippe et la COVID-19.

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier le Professeur Steve Bourgault, Université du Québec à Montréal, pour la lecture de cette publication et ses commentaires judicieux. Nous remercions également les organismes subventionnaires qui ont permis la réalisation des études réalisées par l'équipe du Professeur Denis Archambault, notamment les Instituts de recherche en Santé du Canada (IRSC), le Conseil de recherches en sciences naturelles et en génie du Canada (CRSNG) et le Centre de recherches pour le développement international (CRDI), de concert avec la Fondation Bill & Melinda Gates. Clément Martin est candidat à la Maîtrise ès Sciences (M. Sc.) dans le programme de biochimie de l'Université du Québec à Montréal sous la co-direction des Professeurs Denis Archambault, DMV, PhD, MBA et Steve Bourgault, PhD.



RÉFÉRENCES

- Al-Halifa S, Gauthier L, Arpin D, Bourgault S, Archambault D. Nanoparticle-based vaccines against respiratory viruses. *Front Immunol.* 2019; 10: 22.
- Baicus A. History of polio vaccination. *World J Virol.* 2012; 1(4): 108.
- Bricha S, Côté-Cyr M, Tremblay T, Nguyen PT, St-Louis P, Giguère D *et al.* Synthetic multicomponent nanovaccines based on the molecular co-assembly of β -peptides protect against influenza A virus. *ACS Infect Dis.* 2023; 9(6): 1232-44.
- Bullard BL, Corder BN, De Beauchamp J, Rubrum A, Korber B, Webby RJ *et al.* Epigraph hemagglutinin vaccine induces broad cross-reactive immunity against swine H3 influenza virus. *Nat Commun.* 2021; 12(1): 1203.
- Caliendo V, Lewis N, Pohlmann A, Baillie S, Banyard A, Beer M *et al.* Transatlantic spread of highly pathogenic avian influenza H5N1 by wild birds from Europe to North America in 2021. *Sci Rep.* 2022; 12(1): 11729.
- Calzas C, Tamiru Y, Alkie L, Suderman M, Khatri V, Berhane Y *et al.* M2e nanovaccines supplemented with recombinant hemagglutinin protect chickens against heterologous HPAI H5N1 challenge. *NPJ Vaccines.* 2024; 9: 161.
- Chapman MR, Robinson LS, Pinkner JS, Roth R, Heuser J, Hammar M *et al.* Role of *Escherichia coli* curli operons in directing amyloid fiber formation. *Science.* 2002; 295(5556): 851-5.
- Couvreur P. Délivrance de l'ARN à l'aide de nanoparticules lipidiques. *Bull Acad Nation Med (Paris).* 2022; 206(9):1208-13.
- Crisci E, Bárcena J, Montoya M. Virus-like particles: the new frontier of vaccines for animal viral infections. *Vet Immunol Immunopathol.* 2012; 148(3-4): 211-25.
- Denis J, Majeau N, Acosta-Ramirez E, Savard C, Bedard M-C, Simard S *et al.* Immunogenicity of papaya mosaic virus-like particles fused to a hepatitis C virus epitope: evidence for the critical function of multimerization. *Virology.* 2007; 363(1): 59-68.
- Dilai M, Piro M, El Harrak M, Fougerolle S, Dehhaoui M, Dikrallah A *et al.* Impact of mixed equine influenza vaccination on correlate of protection in horses. *Vaccines.* 2018; 6(4):71.
- Dory D, Jestin A. Vaccins à ADN et à ARN: des technologies également utilisées en vaccinologie vétérinaire. *Bull Acad Vet France.* 2021; 174. p.113 116.10.3406/BAVF.2021.70927. Anses-03484048.
- Draper SJ, Heeney JL. Viruses as vaccine vectors for infectious diseases and cancer. *Nat Rev Microbiol.* 2010; 8(1): 62-73.
- Edelman R, Tacket CO. Adjuvants. *Int Rev Immunol.* 1990; 7(1):51-66.
- Gardin Y, Palya V, Dorsey KM, El-Attrache J, Bonfante F, Wit SD *et al.* Experimental and field results regarding immunity induced by a recombinant turkey herpesvirus H5 vector vaccine against H5N1 and other H5 highly pathogenic avian influenza virus challenges. *Avian Dis.* 2016; 60(1): 232-7.
- Hervé P-L, Raliou M, Bourdieu C, Dubuquoy C, Petit-Camurdan A, Bertho N *et al.* A novel subnucleocapsid nanoplat-form for mucosal vaccination against influenza virus that targets the ectodomain of matrix protein 2. *J Virol.* 2014; 88(1): 325-38.
- Jang YH, Seong BL. The quest for a truly universal influenza vaccine. *Front Cell Infect Microbiol.* 2019; 9: 344.
- Jegerlehner A, Schmitz N, Storni T, Bachmann MF. Influenza A vaccine based on the extracellular domain of M2: weak protection mediated via antibody-dependent NK cell activity. *J Immunol.* 2004; 172(9): 5598-605.
- Kaiser TJ, Smiley RA, Fergen B, Eichmeyer M, Genzow M. Influenza A virus shedding reduction observed at 12 weeks post-vaccination when newborn pigs are administered live-attenuated influenza virus vaccine. *Influenza Other Respir Viruses.* 2019; 13(3): 274-8.
- Kamel M, El-Sayed A. Utilization of herpesviridae as recombinant viral vectors in vaccine development against animal pathogens. *Virus Res.* 2019; 270: 197648.
- Lamontagne F, Arpin D, Côté-Cyr M, Khatri V, St-Louis P, Gauthier L *et al.* Engineered Curli Nanofilaments as a Self-Adjuvanted Antigen Delivery Platform. *Adv Health Mat.* 2023; 12(21): 2300224.
- Liu MA. DNA vaccines: a review. *J Inter Med.* 2003; 253(4): 402-10.
- Lopes AM, Apolinário AC, Valenzuela-Oses JK, Costa J, Pessoa A, Barbosa L. Nanostructures for protein drug delivery. *Biomater Sci.* 2016; 4(2): 205-18.
- Maartens LH, Frizzo da Silva L, Dawson S, Love N, Erasmus BJ. The efficacy of an inactivated avian influenza H5N1 vaccine against an African strain of HPAI H5N8 (clade 2.3. 4.4 B). *Avian Pathol.* 2023; 52(3): 176-84.
- Maki J, Guiot A-L, Aubert M, Brochier B, Cliquet F, Hanlon CA *et al.* Oral vaccination of wildlife using a vaccinia-rabies-glycoprotein recombinant virus vaccine (RABORAL V-RG®): a global review. *Vet Res.* 2017; 48: 1-26.
- Mariner JC, House JA, Mebus CA, Sollod AE, Chibeu D, Jones BA, *et al.* Rinderpest eradication: appropriate technology and social innovations. *Science.* 2012; 337(6100): 1309-12.
- Mebatsion, T. Introduction to Veterinary Vaccines. In: *Viral Vectors in Veterinary Vaccine Development.* Vanniasinkam, T, Tikoo SK, Samal SK, editors. Springer, Cham; 2021. pp 3-12.
- Meeusen EN, Walker J, Peters A, Pastoret P-P, Jungersen G. Current status of veterinary vaccines. *Clin Microbiol Rev.* 2007; 20(3): 489-510.
- Mezhenkaya D, Isakova-Sivak I, Rudenko L. M2e-based universal influenza vaccines: a historical overview and new approaches to development. *J Biomed Sci.* 2019; 26(1): 76.
- Myers C, Wilson WD. Equine influenza virus. *Clin Tech Equine Pract.* 2006; 5(3):187-96.
- Na W, Yeom M, Yuk H, Moon H, Kang B, Song D. Influenza virus vaccine for neglected hosts: horses and dogs. *Clin Exp Vaccine Res.* 2016; 5(2): 117-24.
- Noad R, Roy P. Virus-like particles as immunogens. *Trends Microbiol.* 2003; 11(9): 438-44.
- Oh S, Martelli P, Hock OhSoon HO, Luz S, Furley C, Chiek ErJwee CE *et al.* Field study on the use of inactivated H5N2 vaccine in avian species. *Vet Rec.* 2005; 157(10): 299-300.
- Pantin-Jackwood MJ, Swayne D. Pathogenesis and pathobiology of avian influenza virus infection in birds. *Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics).* 2009; 28(1): 113-36.



- Plotkin S. History of vaccination. *Proc Nat Acad Sci USA* 2014; 111(34):12283-7.
- Qian C, Liu X, Xu Q, Wang Z, Chen J, Li T *et al.* Recent progress on the versatility of virus-like particles. *Vaccines*. 2020; 8(1): 139.
- Rapsinski GJ, Wynosky-Dolfi MA, Oppong GO, Tursi SA, Wilson RP, Brodsky IE *et al.* Toll-like receptor 2 and NLRP3 cooperate to recognize a functional bacterial amyloid, curli. *Infect Immun*. 2015; 83(2): 693-701.
- Römling U, Bian Z, Hammar M, Sierralta WD, Normark S. Curli fibers are highly conserved between *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli* with respect to operon structure and regulation. *J Bacteriol*. 1998; 180(3): 722-31.
- Schotsaert M, Ysenbaert T, Smet A, Schepens B, Vanderschaeghe D, Stegalkina S *et al.* Long-lasting cross-protection against influenza A by neuraminidase and M2e-based immunization strategies. *Sci Rep*. 2016; 6(1): 24402.
- Simhadri VR, Dimitrova M, Mariano JL, Zenarruzabeitia O, Zhong W, Ozawa T *et al.* A human anti-M2 antibody mediates antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity (ADCC) and cytokine secretion by resting and cytokine-preactivated natural killer (NK) cells. *PLoS One*. 2015; 10(4): e0124677.
- Skwarczynski M, Toth I. Peptide-based synthetic vaccines. *Chem Sci*. 2016; 7(2):842-54.
- Sobey KG, Jamieson SE, Walpole AA, Rosatte RC, Donovan D, Fehlner-Gardiner C *et al.* ONRAB® oral rabies vaccine is shed from but does not persist in captive mammals. *Vaccine*. 2019; 37(31):4310-7.
- St-Louis P, Martin C, Khatri V, Bourgault S, Archambault D. Intranasal delivery of a self-adjuvanted nanovaccine composed of the curli filaments and the highly conserved M2e epitope confers protection against influenza A virus in mice. *Vaccine*. 2024; 42(9): 2144-9.
- Sutterwala FS, Haasken S, Cassel SL. Mechanism of NLRP3 inflammasome activation. *Ann NY Acad Sci*. 2014; 1319(1): 82-95.
- Tsybalova LM, Stepanova LA, Shuklina MA, Mardanova ES, Kotlyarov RY, Potapchuk MV *et al.* Combination of M2e peptide with stalk HA epitopes of influenza A virus enhances protective properties of recombinant vaccine. *PLoS One*. 2018; 13(8): e0201429.
- Wormser GP. A brief history of OspA vaccines including their impact on diagnostic testing for Lyme disease. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2022; 102(1): 115572.
- Zhong C, Gurry T, Cheng AA, Downey J, Deng Z, Stultz CM *et al.* Strong underwater adhesives made by self-assembling multi-protein nanofibres. *Nat Nanotech*. 2014; 9(10): 858-66.
- Zhu M, Wang R, Nie G. Applications of nanomaterials as vaccine adjuvants. *Human Vaccin Immunother*. 2014; 10(9):2761-74.
- Zottig X, Al-Halifa S, Côté-Cyr M, Calzas C, Le Goffic R, Chevalier C *et al.* Self-assembled peptide nanorod vaccine confers protection against influenza A virus. *Biomaterials*. 2021; 269: 120672.
- Zottig X, Al-Halifa S, Babych M, Quittot N, Archambault D, Bourgault S. Guiding the morphology of amyloid assemblies by electrostatic capping: from polymorphic twisted fibrils to uniform nanorods. *Small*. 2019; 15(33): 1901806.

