

## THESIS / THÈSE

### MASTER EN SCIENCES PHARMACEUTIQUES

L'administration de vaccins par la voie pulmonaire sous forme de poudre sèche, une alternative réaliste à l'injection intramusculaire ?

Dumont, Valentin

*Award date:*  
2022

*Awarding institution:*  
Universite de Namur  
Université Catholique de Louvain

[Link to publication](#)

#### General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal ?

#### Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Faculté de Médecine

Département de Pharmacie

**L'administration de vaccins par la voie  
pulmonaire sous forme de poudre sèche,  
une alternative réaliste à l'injection  
intramusculaire ?**

**Auteur : Valentin DUMONT**

**Promoteurs: Bernard Cahay, Anna Lechanteur**

**Année académique 2021-2022**

**Intitulé du master et de la finalité : Master en Sciences**

**Pharmaceutiques à finalité spécialisée**



## ATTESTATION DE NON-PLAGIAT

Je soussigné

Valentin Dumont

déclare être pleinement conscient que le plagiat de documents ou d'une partie d'un document, publiés sous toute forme de support, y compris internet, constitue une violation des droits d'auteur ainsi qu'une fraude caractérisée. En conséquence, je m'engage à citer toutes les sources que j'ai utilisées pour écrire ce rapport ou mémoire intitulé :

L'administration de vaccins par la voie pulmonaire sous forme de poudre sèche, une alternative réaliste à l'injection intramusculaire ?

Je suis conscient que le fait de ne pas citer une source ou de ne pas la citer clairement et complètement est constitutif de plagiat, que le plagiat est considéré comme une faute grave au sein de l'Université et qu'il peut être sévèrement sanctionné.

Fait à La Roche-en-Ardenne le 05/08/2022

Signature de l'Etudiant,







## Remerciements

Pour leur dévouement, leur réactivité et le temps qu'ils m'ont consacré, j'aimerais remercier mes promoteurs : Docteur Lechanteur et Monsieur Cahay. Je vous remercie pour vos conseils et le temps que vous avez pris pour m'accorder ces relectures qui m'ont permis de réaliser ce travail.

J'aimerais aussi remercier Docteur Siriez pour sa relecture et ses conseils qui m'ont permis de mener à bien la rédaction de ce mémoire. Je veux vous remercier aussi pour toutes ces années en tant qu'assistant. Merci pour votre dévouement et votre implication.

Je voudrais remercier mon collègue, Baptiste Florkin. Ton soutien m'a donné du courage dans les moments les plus difficiles.

Je voudrais terminer par remercier mes parents pour leur soutien sans faille.

## Table des matières

Table des figures .....	8
Liste des abréviations .....	9
1 Introduction.....	10
2 La vaccination par voie pulmonaire .....	11
2.1 Structure des poumons .....	12
2.2 Immunité pulmonaire.....	12
2.3 Les obstacles de la voie pulmonaire .....	13
3 Les poudres pour inhalation.....	15
3.1 L'importance granulométrique .....	15
3.2 Dispositifs pour l'administration pulmonaire .....	16
3.2.1 Les nébuliseurs .....	17
3.2.2 Les inhalateurs pressurisés à valve doseuse (MDI).....	18
3.2.3 Les inhalateurs à poudre sèche (DPI) .....	18
3.2.4 Récapitulatif .....	19
3.3 Avantages de l'utilisation de poudres pour inhalation et des DPI.....	20
3.4 Processus de fabrication d'une poudre .....	21
3.4.1 Lyophilisation.....	21
3.4.2 Séchage par pulvérisation ou atomisation.....	22
3.4.3 La lyophilisation par pulvérisation (SFD).....	24
3.4.4 Séchage par des fluides supercritiques .....	25
3.4.5 Récapitulatif .....	26
3.5 Excipients pour les poudres à inhalation.....	27
3.6 Adjuvants .....	29
4 L'intérêt d'un vaccin thermostable .....	33
5 Efficacité de la vaccination pulmonaire par des poudres à inhaler .....	34
6 Discussion.....	37
7 Conclusion .....	40
8 Approche méthodologie .....	41
9 Bibliographie .....	42



## Table des figures

Figure : 1 structure des poumons chez l'adulte .....	12
Figure 2 : Mécanisme de protection immunitaire au niveau des surfaces muqueuses .	13
Figure 3 : Génération du système pulmonaire, dépôt dépendant de la taille ainsi que de la clairance .....	15
Figure 4 : Principe de fonctionnement du système de nébulisation pneumatique .....	17
Figure 5 : Principe de fonctionnement du système de nébulisation ultrasonique.....	17
Figure 6 : schéma d'un inhalateur pressurisé à valve doseuse.....	18
Figure 7 : Dispositif à Solvent™ .....	19
Figure 8 : Dispositif Puffhaler™ .....	19
Figure 9 : Vue d'ensemble du processus de séchage par pulvérisation.....	23
Figure 10 : Analyse comparative des réponses IgG sérique spécifiques de l'antigène de la sous-unité de la grippe A/Panama chez des souris .....	34
Tableau 1: Récapitulatif des avantages et des inconvénients des différents dispositifs pour une administration pulmonaire.....	20
Tableau 2 : Récapitulatif des avantages et des inconvénients des différents processus de fabrication d'une poudre.....	27

## Liste des abréviations

Abréviations	Significations
COVID-19	Maladie à coronavirus 2019 (« Coronavirus disease 2019 » en anglais)
OMS	Organisation mondiale de la santé
VVP	Vaccination par la voie pulmonaire
MALT	Tissu lymphoïde associé aux muqueuses (« Mucosa-associated lymphoid tissue » en anglais)
BALT	Tissu lymphoïde associé aux bronches (« Bronchus-associated lymphoid tissue » en anglais)
CPA	Cellule présentatrice d'antigène
CD	Cellule dendritique
IgA	Immunoglobuline de type A
BPCO	Bronchopneumopathie chronique obstructive
MDI	Inhalateur doseur (« Metered dose inhaler » en anglais)
DPI	Inhalateur à poudre sèche (« Dry powder inhaler » en anglais)
IgG	Immunoglobuline de type G
SFD	Lyophilisation par pulvérisation (« Spray freeze drying » en anglais)
SCF	Fluide supercritique (« Supercritical fluid » en anglais)
HSA	Albumine sérique humaine
PAMP	Motif moléculaire associés aux pathogènes (« Pathogen-associated molecular patterns » en anglais)
PRR	Récepteur de reconnaissance aux pathogènes (« Pattern Recognition receptor » en anglais)
CMH	Complexe majeur d'histocompatibilité
CMV	Cytomégalo virus
VHB	Virus de l'hépatite B
TDM	Tétradécyl- $\beta$ -maltoside
LDH	Lactate déshydrogénase
ALP	Phosphatase alcaline
GLA	Glucopyranosyl lipide A
MPLA	Monophosphoryl lipide A
VP	Voie pulmonaire
Th1	Lymphocyte T helper de type 1
Th2	Lymphocyte T helper de type 2
DL 50	Dose létale médiane
TMC	N-triméthyl chitosane
IgE	Immunoglobuline de type E

# 1 Introduction

Comme l'a mis en lumière la pandémie de la COVID-19, la vaccination représente une stratégie thérapeutique cruciale dans le monde. Le premier vaccin a été élaboré en 1796 par Edward Jenner pour lutter contre la variole, une maladie infectieuse qui conduisait au décès d'une personne sur trois l'ayant contractée. Plus de deux siècles plus tard, les diverses campagnes de vaccinations internationales ont permis de l'éradiquer et de réduire drastiquement la prévalence ainsi que l'incidence de centaines d'autres maladies infectieuses, démontrant ainsi les enjeux que représente la vaccination. (Canouï & Launay, 2019).

Les vaccins permettent tous les ans de préserver la vie de trois à cinq millions d'individus dans le monde d'après l'Organisation mondiale de la Santé (OMS). La vaccination « consiste à protéger un individu contre une maladie en stimulant son système immunitaire » (*Vaccins et vaccination*, s. d.). Elle met en œuvre des cellules immunitaires mémoires, afin qu'elles puissent identifier rapidement l'agent infectieux s'il venait à contaminer ultérieurement l'individu vacciné. La vaccination est bénéfique en réduisant les complications liées aux maladies conduisant à des arrêts de travail récurrents, à une hospitalisation voire à un handicap, ce qui a un intérêt économique. Elle est également fondamentale d'un point de vue collectif en freinant les contaminations et donc les épidémies (Canouï & Launay, 2019).

Les vaccins disposant actuellement d'une autorisation de mise sur le marché sont injectés la plupart du temps en intramusculaire, alors même que les infections virales et bactériennes se produisent le plus souvent au sein des surfaces muqueuses telles que les voies respiratoires supérieures et inférieures, le tractus gastro-intestinal ou encore dans l'appareil reproducteur. Ainsi, bien que la vaccination par injection intramusculaire constitue actuellement la voie d'administration de référence des vaccins, elle doit néanmoins faire face à certaines contraintes et à des limites.

La vaccination par injection requière l'utilisation de consommables comme des seringues ou bien une solution de reconstitution stérile. En outre, cet acte médical exige l'intervention de professionnels de la santé formés pour effectuer les injections dans des conditions optimales de sécurité. Les vaccins injectables sont le plus souvent formulés sous forme de solutions, de suspensions ou en poudres lyophilisées devant être reconstituées au moment de l'utilisation. Ils requièrent une conservation à basse température (-5°C, -20°C, voire -70°C) pour garantir leur stabilité. Le maintien de la stabilité des vaccins liquides constitue ainsi un défi majeur qui nécessite le respect de la chaîne du froid pour le stockage et le transport (Lu & Hickey, 2007). Ceci peut constituer un obstacle dans les pays non industrialisés qui n'ont

pas assez de personnels soignants formés ou ayant une chaîne logistique limitée. De plus, lors des vaccinations par la voie intramusculaire, un risque de piqure accidentelle, pouvant mener à une contamination croisée, ne peut être négligé. Une élimination contrôlée des déchets est nécessaire afin d'éviter ce risque de contamination croisée. En outre, une phobie face aux piqûres et une douleur ressentie au point d'injection peut mettre à mal la compliance (Tonnis et al., 2012).

En plus de ces inconvénients, la limite principale de la vaccination par voie parentérale est qu'elle déclenche principalement une réponse immunitaire systémique, ne ciblant pas spécifiquement les régions infectées par les agents pathogènes comme la muqueuse gastrique, pulmonaire ou encore génitale. Ces vaccins n'induisent pas ou peu d'immunité locale au niveau des muqueuses, qui constituent pourtant les points d'entrée. Il en résulte que les symptômes sont diminués mais l'infection a toujours lieu (Lavelle & Ward, 2022).

Toutes ces contraintes ont conduit les chercheurs à imaginer et concevoir de nouvelles voies d'administration pour les vaccins, dans l'objectif d'améliorer l'efficacité thérapeutique et d'obtenir une protection plus importante face à de nombreuses pathologies. Au fil des années, différents modes de délivrance ne nécessitant pas d'aiguille ont ainsi été explorés (Audouy et al., 2011). Parmi ceux-ci, l'inhalation de vaccins apparaît comme un mode d'administration intéressant, en particulier pour les vaccins élaborés contre les micro-organismes aéroportés causant des infections pulmonaires.

Dans ce contexte, il semble intéressant d'analyser les particularités de l'utilisation de poudre pour la vaccination par voie pulmonaire (VVP) et de déterminer quelles sont les différentes techniques, actuelles et futures, pour la mettre en place. Ainsi, la question de recherche qui se pose est : « Aujourd'hui où en est-on dans l'administration pulmonaire d'antigènes sous forme de poudre dans le cadre de la vaccination. Pourrait-on voir un jour un vaccin en poudre inhalable ? ». Ce mémoire vise ainsi à analyser les différentes techniques de délivrance des vaccins en poudre par voie pulmonaire ainsi que leur efficacité et la plus-value qu'ils pourraient apporter en comparaison à un mode d'administration par la voie intramusculaire traditionnelle.

## 2 La vaccination par voie pulmonaire

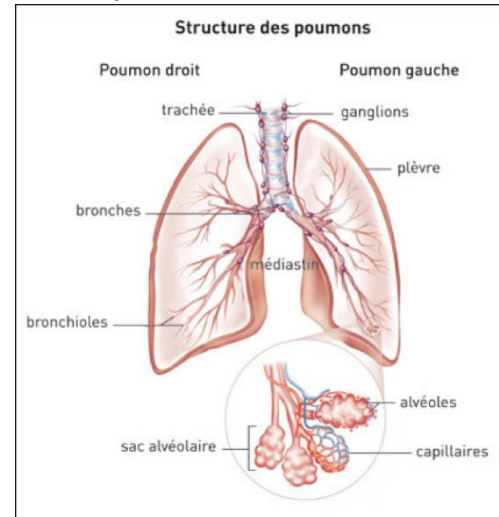
La voie pulmonaire est utilisée depuis plus de deux mille ans pour exercer un effet local sur les pathologies touchant la sphère pulmonaire. L'élucidation de sa structure ainsi que son

fonctionnement devrait permettre de constituer de façon rationnelle des dispositifs ainsi que des formulations utilisant la voie pulmonaire pour un usage local ou pour un effet systémique.

## 2.1 Structure des poumons

Les voies respiratoires supérieures sont constituées par le nez, les fosses nasales, la cavité buccale, le pharynx et le larynx. Les voies respiratoires inférieures sont quant à elles constituées par la trachée, les bronches primaire et secondaire, les bronchioles et finalement les alvéoles (Figure 1). Au plus on se retrouve bas dans l'arbre bronchique, au plus le diamètre se réduit. Comme ordre de grandeur, le diamètre moyen de la trachée est de 22 mm à 15 mm, alors que le diamètre des alvéoles est de 0,3 mm (Benlahouès, 2013).

Figure : 1 structure des poumons chez l'adulte (Lyon, s. d.)



Les bronchioles et les alvéoles constituent la partie respiratoire. Elle peut atteindre une surface de 100 m<sup>2</sup>. Sa vascularisation est très élevée et l'épaisseur de la paroi est fine, particulièrement au niveau des alvéoles, afin de faciliter les échanges entre l'air ambiant et le sang. Aussi, le sang sortant du poumon va directement au cœur, permettant ainsi au principe actif absorbé au niveau pulmonaire d'être directement distribué dans l'organisme en évitant un effet de premier passage hépatique.

C'est pour ces mêmes raisons que la muqueuse des voies respiratoires est l'une des cibles les plus adéquates pour l'absorption de produits biopharmaceutiques (Bourbon, 2005).

## 2.2 Immunité pulmonaire

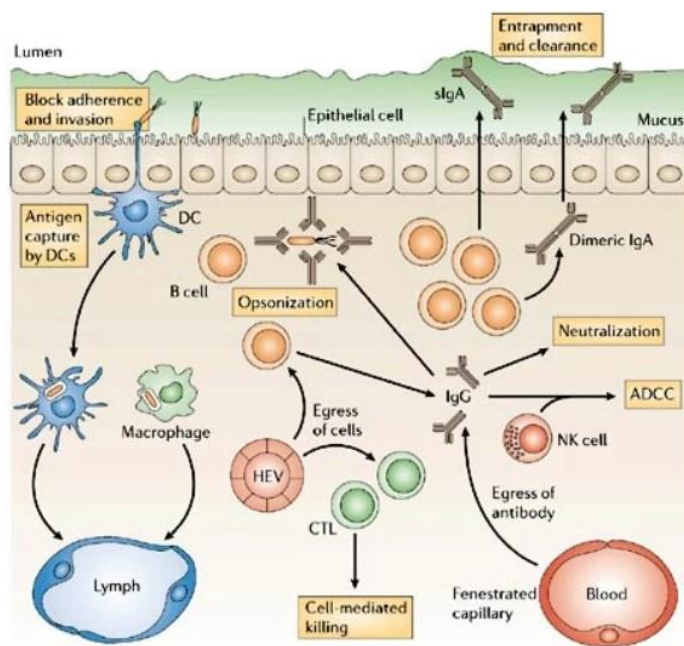
Chaque jour, un adulte humain inspire environ 11 000 litres d'air. Quotidiennement, une multitude de microorganismes et des contaminants se retrouvent en contact avec la muqueuse pulmonaire. Les tissus lymphoïdes associés aux muqueuses (MALT), vont être chargés de surveiller ces éléments étrangers. Au niveau des bronches ces systèmes portent le nom de BALT pour tissus lymphoïdes associés aux bronches. Le BALT constitue le site inducteur qui va être chargé de reconnaître l'antigène et d'activer les cellules immunitaires. Il abrite une variété de cellules présentatrices d'antigènes (CPA) comme des cellules dendritiques (CD).

Il y a d'autres CPA comme les macrophages que l'on retrouve au niveau alvéolaire. Ils réalisent la phagocytose non-spécifique et peuvent migrer vers le ganglion lymphatique pour

stimuler les lymphocytes T. Mais ce n'est pas leur fonction principale. En effet, ils vont plutôt avoir pour rôle d'éliminer les éléments étrangers par phagocytose et de tuer certains microorganismes après capture et fusion avec un lysosome.

Après reconnaissance au site inducteur, il va y avoir une réponse immunitaire du site effecteur suite à une maturation et une migration de la CPA au niveau du ganglion (Masjedi et al., 2022). Une réaction immunitaire à médiation cellulaire va être initiée. Ainsi la réponse des lymphocytes T permet d'atteindre les pathogènes intracellulaires (Förster et al., 2008).

Figure 2 : Mécanisme de protection immunitaire au niveau des surfaces muqueuses (Neutra & Kozlowski, 2006)



La réaction immunitaire humorale au niveau des muqueuses permet la sécrétion d'anticorps (Figure 2). En particulier des immunoglobulines de types A (IgA). Ces IgA vont piéger les microorganismes dans le mucus empêchant, de cette façon, ces derniers d'entrer en contact avec l'épithélium évitant donc une infection (Neutra & Kozlowski, 2006). Grâce à l'action de l'ascenseur mucociliaire, le complexe antigène-anticorps va être éliminé par la motilité des cils (Corthesy, 2013).

### 2.3 Les obstacles de la voie pulmonaire

Si la voie pulmonaire apparaît comme une voie intéressante pour générer une réponse immunitaire au niveau des muqueuses et systémique, elle reste tout de même complexe à utiliser. Les poumons ont pour habitude d'éliminer rapidement les corps étrangers. On peut classer les obstacles à franchir en 3 catégories, la barrière mécanique, la barrière chimique et la barrière immunologique.

La partie supérieure du système respiratoire est composée d'un angle quasiment droit se situant entre la cavité buccale et le larynx. Ce changement brut de direction va provoquer une impaction des particules ayant un diamètre aérodynamique trop important, soit supérieur à 5 µm. En effet, les particules ayant une densité et une granulométrie trop importante ne vont

pas pouvoir modifier suffisamment leur trajectoire à cause de leur inertie et vont s'impacter contre la paroi du larynx. Une vitesse trop rapide va aussi augmenter le phénomène d'impaction. La résultante de ce phénomène d'impaction est donc une diminution de la quantité en principe actif arrivant au lieu d'intérêt. Plus loin dans l'arbre bronchique, il y a d'autres segmentations. A chaque croisement, des particules vont s'impacter au niveau de la paroi des voies respiratoires. En outre, certaines pathologies pulmonaires peuvent réduire le diamètre des voies respiratoires, compliquant le passage du principe actif.

Les voies respiratoires sont recouvertes d'un mucus majoritairement composé d'eau ainsi que de protéines, de lipides et de sels (Desseyn et al., 2015). Celui-ci va piéger les particules inhalées. Suite à l'action de cils vibratoires, présents au niveau de l'épithélium du larynx et s'étendant jusqu'aux bronches terminales, le mucus va remonter jusqu'au larynx où il sera soit expectoré, soit digéré au niveau de l'estomac. Ce système est nommé escalator mucociliaire, il a donc pour rôle d'évacuer les corps étrangers inhalés. Paradoxalement, c'est dans ce mucus que l'antigène devra se dissoudre pour ensuite être absorbé. Le mucus a donc un double rôle, il favorise l'élimination de l'antigène mais en même temps, pour que l'antigène soit absorbé, il doit se dissoudre dans celui-ci. Ces différents mécanismes vont constituer la barrière mécanique.

Ce mucus est entre-autre composé d'enzymes protéolytiques, comme les endopeptidases et de surfactant. Ces endopeptidases sont chargées d'hydrolyser les peptides se trouvant dans le mucus, les rendant ainsi inactifs constituant ainsi la barrière chimique (Newman, 2017).

Finalement le principe actif présent au niveau des alvéoles pulmonaires peut être phagocyté par les macrophages alvéolaires, ce qui constitue la barrière immunologique. Il est à noter qu'au niveau des alvéoles, il n'y a pas de cellules ciliées, la clairance est plus lente et dépend majoritairement des macrophages (Khan et al., 2013).

Pour une administration par voie pulmonaire, un vaccin doit remplir 3 critères.

- La taille des particules doit être comprise entre  $1\mu\text{m}$  et  $5\mu\text{m}$  afin d'assurer un dépôt optimal.
- Les caractéristiques de la poudre doivent être compatibles avec le type de dispositif employé.
- Le vaccin doit être résistant aux contraintes appliquées par les processus de fabrications de la poudre et son utilisation (Audouy et al., 2011).

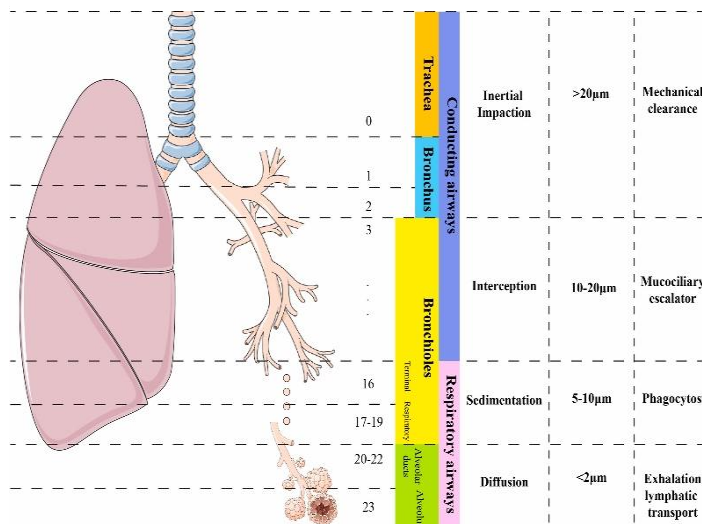
### 3 Les poudres pour inhalation

#### 3.1 L'importance granulométrique

La faisabilité de la VVP a déjà été prouvée dès les années 60 et 70 par des pionniers qui ont démontré que l'inhalation de vaccins dirigés contre les virus responsables de la grippe et de la rougeole assurait une protection adéquate. (Waldman et al., 1969 ; Haigh & Howell, 1973).

Comme vu ci-dessus, la taille de la particule est d'une importance majeure afin d'éviter une perte par impaction dans les voies respiratoires supérieures. Les particules sont déposées dans le poumon suivant 3 mécanismes, l'impaction, la sédimentation et la diffusion. Ces mécanismes dépendent fortement du diamètre aérodynamique (Figure 3).

Figure 3 : Génération du système pulmonaire, dépôt dépendant de la taille ainsi que de la clairance (Masjedi et al., 2022)



L'impaction, qui a été décrite précédemment, concerne les particules ayant une taille d'environ 10 µm. Une stratégie pour réduire le phénomène d'impaction serait l'inhalation à faible débit (Yang et al., 2014). La sédimentation concerne les particules ayant une taille 5 à 10 µm. La gravité ainsi que la résistance de l'air vont diminuer la flottabilité de la particule, la poussant ainsi à s'écraser contre la paroi (Kleinstreuer et al.,

2008). La sédimentation est augmentée par l'arrêt respiratoire, ce qui favorise le dépôt du principe actif au niveau pulmonaire. Le dernier phénomène de déposition est la diffusion, il concerne les particules de petites tailles, avoisinant 1 µm ou de taille inférieure. Les particules ultrafines subissant un phénomène de diffusion vont suivre des mouvements browniens et vont se déposer sur la paroi pulmonaire de façon aléatoire. Les petites particules ne se déposant pas vont être exhalées. La taille moyenne des particules inhalées va déterminer la région pulmonaire de dépôt et donc le devenir du principe actif (Masjedi et al., 2022; Mobley & Hochhaus, 2001). Pour qu'une poudre ait une déposition pulmonaire efficace et donc que la réponse immunitaire soit optimale, celle-ci doit avoir une granulométrie se situant entre 1 à 5 µm. En effet les particules de plus de 5 µm vont majoritairement subir le phénomène d'impaction et peu de sédimentation, risquant, de ce fait, d'avoir un dépôt important au niveau buccal, provoquant



une diminution de la dose pénétrant au niveau pulmonaire et donc un risque de diminution de l'efficacité. Les particules de tailles inférieures à 1  $\mu\text{m}$  vont quant à elles être exhalées lors de l'expiration et donc ne vont pas avoir d'effet thérapeutique (Heida et al., 2021).

L'importance du lieu de dépôt entre les voies aériennes supérieures et les voies aériennes inférieures n'a pas clairement été établie. À priori, si le principe actif ne pénètre pas suffisamment profondément dans l'arbre bronchique, les structures immunitaires comme les BALT ne vont pas pouvoir capter l'antigène. En conséquence, la production en IgA sera moindre et donc la réponse immunitaire contre le pathogène sera de moindre amplitude.

Cependant, Tomar et al., ont comparé la réaction immunitaire provoquée par le dépôt d'antigènes contre la grippe et l'hépatite B au niveau des voies respiratoires supérieures et inférieures. Le résultat obtenu est étonnant. Le lieu de déposition des antigènes ciblant la grippe n'a pas significativement influencé la production d'anticorps. Tandis que, pour l'antigène Hbs aucun anticorps n'a été produit lorsque l'antigène était uniquement présent au niveau des voies respiratoires supérieures. Lorsque l'antigène Hbs est administré au niveau des voies respiratoires inférieures, un taux d'anticorps sérique est mesurable. L'hypothèse dégagée de cette étude est que pour les pathogènes aéroportés, le lieu de déposition n'a pas d'importance alors qu'il est important pour les autres pathogènes (Tomar et al., 2019).

Pour augmenter la réponse immunitaire locale et systémique, l'antigène doit être sous forme particulaire afin que les cellules dendritiques puissent effectuer la phagocytose et de cette façon activer les lymphocytes. De plus, la taille de la particule est décisive pour l'absorption de celle-ci par les CD ainsi que l'induction de la réponse immunologique (Moreno-Mendieta et al., 2022; Rietscher et al., 2016).

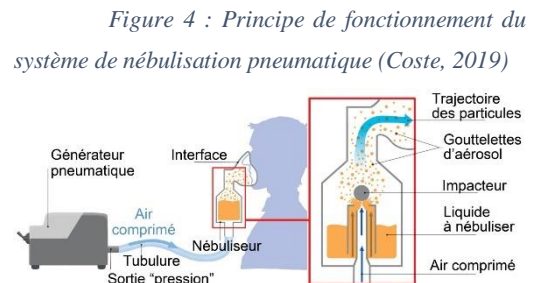
### 3.2 Dispositifs pour l'administration pulmonaire

Le premier appareil permettant de délivrer une poudre sèche a été breveté à Londres en 1864 pour administrer des médicaments aux patients atteints d'asthme ou de bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO). Depuis, de nombreux progrès ont été accomplis et ont facilité la mise au point de plusieurs dispositifs pour l'administration de produits thérapeutiques tels que les nébuliseurs, les inhalateurs doseurs (MDI) et les inhalateurs à poudre sèche (DPI) (Sanders, 2007).

### 3.2.1 Les nébuliseurs

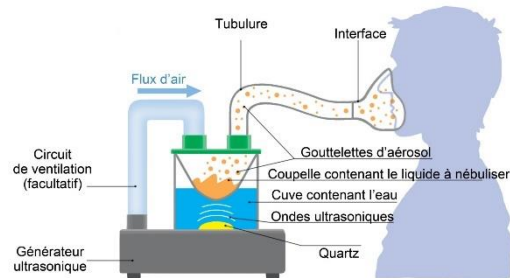
Ce sont des dispositifs permettant d'administrer l'antigène sous forme liquide. Il existe deux types de nébuliseurs, les nébuliseurs pneumatiques ou les nébuliseurs à ultrasons. Ils sont tous les deux composés d'une cuve dans laquelle on dispose la solution, d'un générateur, d'un circuit patient et d'un embout buccal ou facial.

Le générateur du nébuliseur pneumatique va produire un jet d'air qui va traverser la cuve permettant de former de fines gouttelettes par effet de venturi. Les gouttelettes de taille trop importante vont s'impacter contre un impacteur. Le liquide sera vaporisé en fines gouttelettes (Figure 4). Cela permet de générer des particules de petite taille pénétrant mieux les voies respiratoires. De plus, ils sont compatibles avec tous les médicaments. Cependant, ils ont pour désavantages d'être encombrants, dépendant d'un apport en énergie, bruyants et ne peuvent être utilisés s'il est nécessaire de nébuliser des grands volumes de solution (Coste, 2019).



Dans le dispositif à ultrason, une plaque de quartz se trouvant dans la cuve est soumise à une fréquence de l'ordre du mégahertz, permettant ainsi de générer des ultrasons. Ceux-ci se propagent dans le liquide et vont permettre la vaporisation de la surface par effet de cavitation (Figure 5). Les gouttelettes ainsi formées vont être délivrées par l'inspiration du patient ou grâce à l'action d'un circuit de ventilation. Le dispositif est silencieux et compatible avec l'utilisation de grands volumes de liquide. Cependant, le nébuliseur à ultrasons provoque une augmentation de la température de la solution à nébuliser. Il faut donc éviter d'utiliser un principe actif thermosensible (Coste, 2019).

Figure 5 : Principe de fonctionnement du système de nébulisation ultrasonique (Coste, 2019)

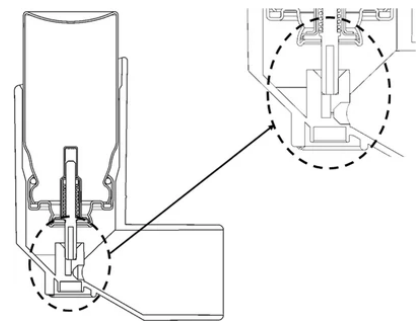


Les nébuliseurs permettent de s'affranchir du besoin de coordination ou de coopération du patient. Cependant, les inconvénients sont la longue durée d'utilisation. La taille du dispositif rendant celui-ci encombrant et difficilement portable. À cause de la force de cisaillement lors de la nébulisation de la solution, les molécules complexes peuvent être dégradées. Même si ces molécules dégradées peuvent être immunogènes, la reproductibilité de la dose de vaccin est remise en cause (Lu & Hickey, 2007b). Finalement, les formes liquides des vaccins sont souvent moins stables car ils sont sujets à la dégradation (Tonnis et al., 2012).

### 3.2.2 Les inhalateurs pressurisés à valve doseuse (MDI)

Les MDI permettent eux aussi d'administrer des solutions. Le réservoir contient un gaz propulseur liquide sous pression et le principe actif. À l'aide d'une valve doseuse, la solution est nébulisée suite à l'action d'une pression sur la cartouche (Figure 6). Les MDI sont plus petits que les nébuliseurs et ils sont portables. Il est nécessaire d'avoir une bonne synchronisation entre le déclenchement et l'inspiration ce qui peut être un obstacle à l'utilisation de ces dispositifs. Par rapport aux nébuliseurs, ces appareils sont compacts, facilement transportables et rapides à utiliser (Stein et al., 2014). Cependant, pour administrer un principe actif chez un nourrisson, il sera nécessaire d'utiliser une chambre d'inhalation. De plus, de par la forme liquide qui est utilisée, il faudra, comme pour les nébuliseurs, veiller à la conservation de l'antigène sous forme liquide (Saleem et al., 2017). Il y a très peu d'études de vaccins délivrés avec ce genre de dispositif (Tonnis et al., 2013).

Figure 6 : schéma d'un inhalateur pressurisé à valve doseuse (Stein et al ; 2014)



### 3.2.3 Les inhalateurs à poudre sèche (DPI)

Les DPI permettent l'aérosolisation d'une poudre. Les DPI sont des appareils passifs. Pour que la poudre soit correctement administrée, il est nécessaire que le patient ait une inspiration suffisante. Ce type de dispositif ne convient pas pour tous les âges ou pour tous types de patients (Saleem et al., 2017). Les vaccins sous formes de poudre sèche ont l'avantage d'être plus stables et moins susceptibles à la dégradation. Cela facilite donc la logistique car le besoin de respecter la chaîne du froid est moindre, le vaccin peut être exposé à des températures plus élevées et sur une durée plus longue (Kunda et al., 2013).

Comparées aux solutions pour nébulisation, les poudres administrées par DPI ont une meilleure granulométrie. Cela permet à celle-ci d'avoir une pénétration plus profonde dans le poumon. Une étude comparative entre un DPI et un nébuliseur, a montré que le taux d'anticorps IgA et IgG était plus élevé avec le DPI (Tonnis et al., 2012).

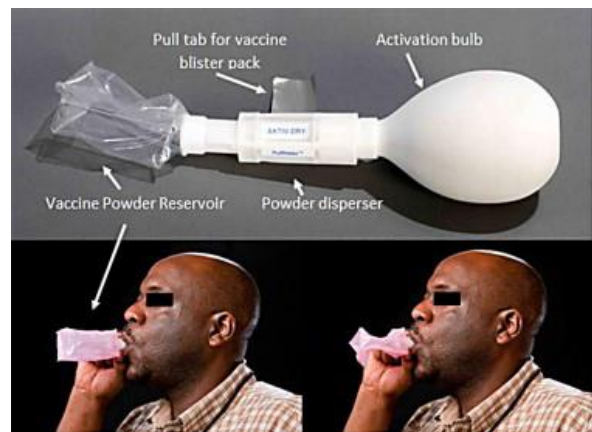
Le Solovent<sup>TM</sup> et le Puffhaler<sup>TM</sup> sont deux dispositifs qui ont été utilisés lors d'une étude clinique de phase 1. Le Solovent<sup>TM</sup> (Figure 7), est équipé d'une seringue, d'un réservoir contenant la poudre, d'une chambre en carton et d'un embout. La poudre contenue dans le réservoir sera dispersée dans la chambre en carton par suite d'une pression sur le piston de la seringue. L'inspiration du patient permettra à la poudre d'être dispersée au niveau pulmonaire.

Figure 7 : Dispositif à Solovent<sup>TM</sup> (Agarkhedkar et al., 2014)



Puffhaler<sup>TM</sup>, comme le montre la figure ci-contre (Figure 8), est constitué d'un réservoir, d'un adaptateur, d'un masque, d'un disperseur de poudre, d'une soupape d'éclatement et d'une ampoule souple. Pour administrer une dose au patient, il faut tirer sur la partie en aluminium afin de décoller le blister contenant la poudre. Ensuite, il faut presser l'ampoule souple afin d'éjecter et de disperser la poudre dans le réservoir. Finalement, quand le réservoir est rempli, il faut le décrocher du système et inhaler la poudre qu'il contient. Pour les enfants, il est possible d'ajouter un masque au réservoir. Ces deux dispositifs ont l'avantage d'avoir une utilisation et une structure simple, facilitant leur utilisation et leur fabrication (Agarkhedkar et al., 2014).

Figure 8 : Dispositif Puffhaler<sup>TM</sup> (Agarkhedkar et al., 2014)



### 3.2.4 Récapitulatif

Dispositifs :	Avantages :	Inconvénients :
Nébuliseur	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Particules de fines tailles</li> <li>- Ne nécessite pas de coordination et de coopération</li> </ul> Pneumatique : <ul style="list-style-type: none"> <li>- Compatible avec tous les principes actifs</li> </ul> Ultrasons : <ul style="list-style-type: none"> <li>- Silencieux</li> <li>- Compatible avec les grands volumes de solutions</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Encombrant</li> <li>- Dépendant d'apport en énergie</li> <li>- Longue durée utilisation</li> <li>- Principe actif sous forme liquide</li> <li>- Contrainte de cisaillement lors de la nébulisation</li> </ul> Pneumatique : <ul style="list-style-type: none"> <li>- Bruyant</li> </ul> Ultrasons : <ul style="list-style-type: none"> <li>- Incompatible avec principes actifs thermosensibles</li> </ul>

MDI	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Autonome</li> <li>- Prêt à emploi</li> <li>- Petite taille</li> <li>- Rapide à administrer</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Nécessite une bonne synchronisation</li> <li>- Principe actif sous forme liquide</li> </ul>
DPI	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Autonome</li> <li>- Prêts à emploi</li> <li>- Petite taille</li> <li>- Rapide à administrer</li> <li>- Ne nécessite pas de synchronisation</li> <li>- Principe actif solide</li> <li>- Meilleure granulométrie</li> <li>- Usage unique</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Inspiration suffisante</li> </ul>

Tableau 1: Récapitulatif des avantages et des inconvénients des différents dispositifs pour une administration pulmonaire

### 3.3 Avantages de l'utilisation de poudres pour inhalation et des DPI

L'utilisation d'une forme solide permet de s'affranchir de certaines contraintes rencontrées avec les vaccins classiques liquides. En effet, ceux-ci sont souvent peu stables et requièrent une conservation à des températures basses nécessitant des congélateurs ou réfrigérateurs performants. De par cet aspect, leur transport et leur distribution peuvent être complexes. L'utilisation d'une poudre stable à température ambiante contourne l'exigence de la conservation à basse température, simplifiant grandement la logistique de l'utilisation de ce genre de vaccins. La distribution dans les pays au climat chaud devient plus aisée et les coûts liés aux transports et au stockage sont diminués. Les poudres sont généralement moins volumineuses à transporter, ce qui facilite d'autant plus sa distribution (Heida et al., 2021). Si le vaccin est sous forme de poudre pour reconstitution, il est nécessaire d'avoir la solution tampon stérile correspondante et la reconstitution doit se faire par du personnel formé. Contrairement aux DPI, la nébulisation à l'aide d'un nébuliseur peut dégrader l'antigène à cause des contraintes de cisaillement, remettant ainsi en cause la reproductibilité de la dose. Ces avantages justifient la préférence de l'utilisation de poudres pour inhalation (Audouy et al., 2011).

En outre, l'utilisation d'un DPI, jetable ou non, permettrait à certaines régions du monde où le matériel stérile, comme l'eau, les aiguilles ou les seringues, n'est pas toujours disponible, de diminuer le risque de contamination croisée. Le fonctionnement autonome, ne nécessitant donc aucune source d'énergie, d'un DPI permet de faciliter d'autant plus la logistique complexe derrière l'utilisation d'injectables (de Boer & Hagedoorn, 2015).

Finalement, une auto administration est possible, réduisant ainsi le besoin en personnel médical qualifié pour administrer le vaccin (Marasini & Kaminskis, 2019).

### 3.4 Processus de fabrication d'une poudre

Pour obtenir une poudre, différents moyens sont possibles comme la lyophilisation ou le séchage par atomisation. La déshydratation de l'échantillon est l'objectif commun recherché par les différentes techniques de fabrication d'une poudre à partir d'une forme liquide (Walters et al., 2014). Chaque antigène a ses spécificités et ses sensibilités. Il est donc nécessaire d'évaluer l'impact de chacune des méthodes de pulvérisation sur l'antigène afin de déterminer laquelle sera la plus adéquate (Preston & Randolph, 2021).

#### 3.4.1 Lyophilisation

La lyophilisation est un procédé couramment utilisé dans l'industrie pharmaceutique (Walters et al., 2014). Ce procédé se déroule en 3 étapes. Une étape de congélation, l'eau va passer de l'état liquide à l'état solide. Ensuite vient le séchage primaire. L'eau solide, suite à une diminution de la pression, va sublimer. Il y aura passage de l'état solide à l'état gazeux. Finalement, un séchage secondaire va éliminer l'eau résiduelle par désorption. Ce processus permet d'obtenir une humidité résiduelle faible tout en évitant d'utiliser des températures trop hautes qui pourraient dégrader les structures chimiques sensibles à une augmentation de température.

Cependant, si c'est un processus couramment utilisé, il n'est pas sans contrainte. Ces contraintes pouvant dégrader l'antigène sont la dénaturation par le froid, une augmentation des interfaces dues à la formation de cristaux de glace, une cryoconcentration qui est en fait une augmentation de la concentration en soluté pouvant considérablement modifier les forces ioniques et le pH, une séparation de phase et une perte de liaisons hydrogène stabilisatrices. Par exemple, lors de la congélation d'un tampon contenant un sel, celui-ci peut se concentrer dans certaines zones emprisonnées par la glace et provoquer une variation de pH. Ce changement de pH, par des processus de désamination ou de dépliement, peut induire un changement dans la conformation de l'antigène, diminuant son activité. Une stratégie pour diminuer le temps sous forme cryoconcentrée est de refroidir l'échantillon à vitesse moyenne. Cela va permettre la formation d'un solide uniforme, limitant ainsi la cryoconcentration. L'ajout de cryoprotecteurs comme le fructose ou le tréhalose, permet d'atténuer ces contraintes (Date et al., 2010; Preston & Randolph, 2021)

Afin de mieux conserver la poudre, l'ajout de tréhalose ou de saccharose la stabilise en remplaçant les liaisons hydrogènes qui étaient formées entre la structure et l'eau. La diminution de mobilité membranaire va augmenter la stabilité de la poudre obtenue.

Néanmoins, le processus de lyophilisation ne permet pas toujours de produire des poudres ayant les caractéristiques granulométriques suffisantes pour pouvoir être inhalées. En effet, les poudres obtenues peuvent avoir un diamètre aérodynamique trop important, même après broyage (Audouy et al., 2011). Il en résulte que ce processus de fabrication est moins utilisé pour la production de vaccins sous forme de poudre inhalable.

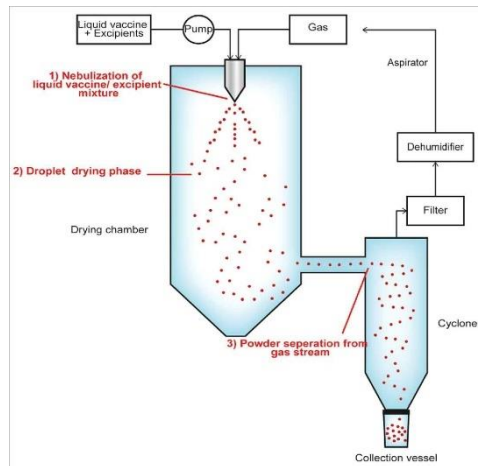
#### 3.4.2 Séchage par pulvérisation ou atomisation

Le séchage par pulvérisation constitue la technique alternative à la lyophilisation la plus aboutie. Lors du séchage par pulvérisation, 3 étapes peuvent être distinguées, l'atomisation, le séchage des particules et la collecte de ces dernières (Figure 9). Ces étapes se déroulent en continu contrairement à la lyophilisation où les étapes sont segmentées (Kanojia et al., 2017). La solution sera en premier lieu atomisée. Cela va aboutir à la formation d'un spray par apport d'énergie pour rompre les liaisons entre le liquide afin de créer une nouvelle surface liquide-air. La taille des gouttelettes à la sortie de la buse va conditionner la taille des particules finales ainsi que leur densité. Le choix de la buse de l'atomiseur est donc un critère capital pour la formulation des poudres pour inhalation, étant donné que la pénétration dans l'arbre bronchique dépend essentiellement de la granulométrie de la particule inhalée. De plus, la taille de la particule et l'humidité résiduelle peuvent influencer la cohésion de la poudre, modifiant de cette façon la facilité d'administration de la poudre.

La conversion des gouttelettes en particules solides se fait en appliquant un gaz chaud sur le spray obtenu après atomisation. De cette façon les liquides pourront s'évaporer. La teneur en eau de la gouttelette va diminuer au long de ce séchage. La matière en solution dans la gouttelette va s'agglutiner à la surface, formant une croûte solide avec un cœur liquide. Ensuite le liquide devra s'évaporer à travers de cette couche solide. La vitesse de formation des gouttelettes dépend de leur taille, de leur humidité, de la vitesse relative avec le gaz, de la température et de des propriétés du gaz. Le taux d'évaporation est fonction du transfert de chaleur et de la masse du système et va avoir un impact sur les caractéristiques des particules (Kanojia et al., 2017; Preston & Randolph, 2021).

Le solide est séparé du gaz grâce au passage à travers un cyclone ou un filtre. Le cyclone est couramment utilisé. La séparation s'effectue grâce à la différence de densité entre le solide

Figure 9 : Vue d'ensemble du processus de séchage par pulvérisation (Kanojia et al., 2017)



et le gaz. Plus une particule est volumineuse et dense, plus il sera facile de la séparer du gaz. L'utilisation d'un filtre permet de récolter des particules de faible taille ne pouvant être récoltées à l'aide d'un cyclone. Le mélange gaz/particules va passer à travers le filtre et les particules solides vont être retenues par impaction sur le filtre. Si les particules sont retenues trop longtemps sur le filtre, les particules pourraient être exposées de façon prolongées avec une température élevée pouvant dénaturer l'antigène. De plus, si le séchage ne s'effectue pas correctement, des particules humides pourraient

s'agglomérer sur le filtre. Cela pourrait humidifier une fraction de poudre déjà séchée et provoquerait une contre pression importante risquant de modifier les paramètres de séchage.

La quantité de masse de poudre produite par unité de temps varie en fonction de l'équipement utilisé. Cette méthode permet de contrôler la taille particulaire, la cristallinité, la teneur en eau résiduelle, la densité apparente et la morphologie (Walters et al., 2014). L'avantage est qu'il n'y a pas de congélation ou de vide forcé pouvant induire une dégradation de l'antigène. Cependant, ce procédé n'est pas sans désavantages. Premièrement, le taux d'humidité résiduelle après traitement est de 7% à 8% alors que pour les vaccins vivants atténués une teneur de 1% à 2% est souhaitée. Il est donc parfois nécessaire d'avoir recours à un deuxième séchage.

Deuxièmement, lors de l'étape d'atomisation, l'antigène est soumis à un stress de cisaillement et est exposé à une interface air/liquide, risquant ainsi de le dégrader. Le choix de la buse va aussi avoir une influence majeure sur les contraintes de cisaillement qui vont être appliquées sur l'antigène. Certains paramètres comme la pression d'atomisation, le débit d'alimentation, la viscosité de la solution ou l'utilisation de stabilisants peuvent être modulés pour diminuer cette contrainte de cisaillement. Les protéines hydrophobes ont tendance à l'agglutiner au niveau de l'interface air/liquide car la tension de surface entre la protéine hydrophobe et l'air est moindre que la tension de surface entre la protéine hydrophobe et l'eau. Une réduction de l'activité de l'antigène peut être observée suite à cette agglutination au niveau de l'interface air/liquide suite à une dénaturation de ceux-ci. Un tensioactif comme un polysorbate peut être utilisé dans le but de diminuer la tension de surface.



Troisièmement, une contrainte thermique due à l'utilisation de gaz chaud, peut dégrader l'antigène (Preston & Randolph, 2021). Cependant, ce type de dénaturation n'est pas souvent observé car, si la température du gaz est élevée, la température des gouttelettes excède rarement les 40°C. La modulation de la température d'entrée, du débit d'alimentation et du débit d'air de séchage permet de diminuer la contrainte thermique pouvant affecter les particules.

Quatrièmement, une dénaturation de la structure protéique peut être observée à cause du stress lié à la déshydratation. En outre, la dénaturation des protéines dépend de la teneur en eau. Au plus la teneur en eau augmente, au plus la température de dénaturation est basse. A l'inverse, au plus la teneur en eau est faible, au plus la température de dénaturation est élevée. Les protéines sèches obtenues sont donc plus stables (Walters et al., 2014).

Finalement, cette méthode ne permet pas d'obtenir une poudre stérile et nécessite donc des manipulations supplémentaires pour faire une stérilisation terminale. Cette stérilisation terminale, si elle est effectuée par chauffage, peut dégrader le produit final. Une stérilisation par irradiation est possible mais nécessite l'ajout d'excipients et risque aussi de dégrader l'antigène. (Preston & Randolph, 2021).

La possibilité d'avoir une production de poudre en continu, le temps de cycle plus court permettant d'augmenter la production de lots par unité de temps, la possibilité de produire de grandes quantités de poudre, le traitement à pression atmosphérique, la possibilité de moduler la taille, la morphologie, la densité et la composition de la surface des particules constituent les principaux avantages du séchage par pulvérisation par rapport à la lyophilisation (Walters et al., 2014).

Cette technique a été utilisée par Saluja et al. pour produire une poudre sèche à partir d'un vaccin sous-unitaire contre la grippe. Le débit de la pompe était de 5ml/min, le débit d'air d'atomisation était de 800l/h, la température d'entrée était de 130°C et la température de sortie de 70°C. La majorité de la poudre produite avait une taille aérodynamique inférieure à 5 µm. Le produit du séchage par atomisation était stable pendant 3 ans. La réaction immunitaire provoquée par la poudre sèche était supérieure à celle provoquée par le liquide nébulisé (Saluja et al., 2010).

### 3.4.3 La lyophilisation par pulvérisation (SFD)

Cette technique est un mixte des deux précédentes et consiste à atomiser le liquide, le congeler rapidement pour finir avec un séchage primaire et secondaire. Dans cette technique, le liquide est directement atomisé dans un milieu à basse température. Les gouttelettes formées

vont se solidifier et former des petites particules de glace. Ces petites particules vont ensuite être récoltées et disposées dans un lyophilisateur pour subir un séchage primaire et secondaire.

L'avantage de cette méthode est de pouvoir traiter des antigènes sensibles à la chaleur et de diminuer le temps de séchage en augmentant la surface spécifique. Des particules plus poreuses et plus grosses que le séchage par pulvérisation ont pu être obtenues. Cette augmentation de la surface spécifique permet d'avoir un mouillage et une dissolution plus rapide des particules peu solubles.

Cependant, du au mixage de la technique de lyophilisation et de pulvérisation, les inconvénients liés à l'atomisation, à savoir un stress lié au cisaillement et à l'interface liquide/air, s'ajoutent en plus aux inconvénients liés à la lyophilisation (Walters et al., 2014).

Tomar, Biel et al ; ont immunisé par inhalation des poulets contre le virus H5N. L'antigène a été pompé au travers de la buse à un débit de 5ml/min. Le débit d'air d'atomisation était de 600L/h. Les particules formées sont ensuite congelées à -35 °C à une pression de 0.220 mbar. La température a été augmentée jusqu'à 4 °C en 32h. Ensuite en 12h, la température a été augmentée jusqu'à 20 °C et la pression a été abaissée à 0.05 mbar. L'humidité relative de la poudre obtenue était inférieure à 1 %. La taille moyenne des particules aérodynamiques était inférieure à 3,7 µm. La majorité des particules avaient une taille inférieure à 5 µm. (Tomar, Biel, et al., 2018).

#### 3.4.4 Séchage par des fluides supercritiques

Le séchage par nébulisation assisté par un fluide supercritique (SCF), souvent du CO<sub>2</sub>, est une technique ressemblant au séchage par atomisation. La solution est pulvérisée et le gaz est remplacé par le SCF. Le passage du SCF va emporter l'eau. Cette élimination d'eau va provoquer une précipitation des protéines qui seront extraites et récoltées.

Une autre technique consiste à mélanger le SCF à l'échantillon avant de l'atomiser. Le SCF va jouer le rôle d'antisolvant et va permettre la précipitation des protéines qui pourront être ensuite récoltées. Le SCF peut aussi être utilisé pour aider l'aérosolisation, en qualité d'agent dispersant. En effet lorsque le mélange SCF/échantillon est pulvérisé, l'expansion du SCF va générer de fines gouttelettes qui seront séchées par le passage du gaz de séchage. La température du gaz de séchage peut être diminué par rapport à la température utilisée dans le procédé classique de séchage par pulvérisation, offrant ainsi la possibilité de sécher des solutions thermosensibles.

L'utilisation de fluides supercritiques permet d'effectuer un séchage à des températures modérées, ce qui évite le risque de dénaturation thermique. Il n'est pas nécessaire de congeler

l'échantillon, évitant ainsi la plupart des désavantages de la lyophilisation. La stérilisation de la poudre est possible lors de l'utilisation de cette méthode. La non-toxicité de la méthode, son faible coût en matière premières, sa sécurité d'emploi en font une alternative intéressante. Mais, un fluide supercritique doit être contenu dans un milieu sous haute pression. Cette haute pression pourrait avoir un effet néfaste sur la structure des protéines. De plus, la dissolution du CO<sub>2</sub> peut modifier le pH, risquant ainsi de dénaturer les structures protéiques. Le nombre d'études sur la stabilité des structures protéiques est limité, rendant cette technique peu mature mais intéressante.

Amidi et al ; ont préparé une poudre contenant de l'anatoxine diphtérique par la technique des fluides supercritiques. La solution aqueuse d'antigène a été pulvérisée par du CO<sub>2</sub> supercritique et de l'éthanol. À une température de 38 °C et une pression de 100 bar, l'éthanol est miscible dans le CO<sub>2</sub> supercritique, donnant de cette façon une seule phase supercritique. Les particules obtenues étaient sphériques et lisses. Les analyses par diffraction ont montré que 90% des particules avaient une taille comprise entre 1 µm et 8 µm. La méthode de Karl et Fischer a été utilisée pour déterminer la teneur en eau. Celle-ci était de 2,3 %, ce qui était suffisamment faible pour éviter la formation d'agglomérats et l'effondrement des particules (Amidi et al., 2007).

D'autres techniques existent pour obtenir une poudre comme le séchage par convection, le séchage sous vide, le séchage par micro-ondes ainsi que de multiples combinaisons entre ces différentes techniques. Mais elles ne seront pas abordées dans ce mémoire.

### 3.4.5 Récapitulatif

Méthodes	Avantages	Inconvénients
Lyophilisation	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Humidité résiduelle faible</li> <li>- Compatible avec les principes actifs sensibles à la chaleur</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Dénaturation par le froid</li> <li>- Dénaturation par dépression</li> <li>- Augmentation des interfaces</li> <li>- Cryoconcentration</li> <li>- Séparation de phase</li> <li>- Taille particulaire parfois trop importante</li> <li>- Perte des liaisons H stabilisatrices</li> </ul>
Séchage par pulvérisation	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Production en continue</li> <li>- Taille, densité, morphologie modulable</li> <li>- Pas de congélation</li> <li>- Pas de dépression</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Humidité résiduelle parfois trop élevée</li> <li>- Contrainte de cisaillement</li> <li>- Exposition à un interface air/liquide</li> <li>- Exposition à des gaz chauds</li> <li>- Perte des liaisons H stabilisatrices</li> </ul>

Lyophilisation par pulvérisation	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Compatible avec les principes actifs sensibles à la chaleur</li> <li>- Temps de séchage diminué</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Dénaturation par le froid</li> <li>- Dénaturation par dépression</li> <li>- Augmentation des interfaces</li> <li>- Cryoconcentration</li> <li>- Séparation de phase</li> <li>- Perte des liaisons H stabilisantes</li> <li>- Taille particulaire parfois trop importante</li> <li>- Contrainte de cisaillement</li> <li>- Exposition à l'interface air/liquide</li> <li>- Perte des liaisons H stabilisatrices</li> </ul>
Séchage par des fluides supercritiques	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Compatible avec les principes actifs sensibles à la chaleur</li> <li>- Pas de congélation</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Dénaturation par haute pression</li> <li>- Modification du pH</li> <li>- Perte des liaisons H stabilisatrices</li> </ul>

Tableau 2 : Récapitulatif des avantages et des inconvénients des différents processus de fabrication d'une poudre

### 3.5 Excipients pour les poudres à inhalation

Les excipients peuvent être utilisés pour réduire le stress lors des processus de fabrication. Ils peuvent aussi aider à améliorer la stabilité du produit formé pour le stockage sur le long terme. Les antigènes protéiques, peptidiques ou autres, utilisés pour la vaccination ont une structure complexe. La conservation de la structure initiale de l'antigène est cruciale pour le maintien de l'efficacité. L'utilisation d'un seul excipient n'est généralement pas suffisante pour stabiliser l'antigène, il est souvent nécessaire d'avoir recours à des combinaisons d'excipients car les obstacles à la stabilité à la formulation sont multiples. Le choix de l'excipient se fait après étude des mécanismes responsables de la dégradation de l'antigène et l'utilisation de modèles prédictifs.

Les polysaccharides comme le tréhalose, le saccharose, le lactose ou l'inuline sont souvent rencontrés en tant qu'agents stabilisants. Le mécanisme d'action proposé pour expliquer cette augmentation de la stabilité est double. Premièrement, les sucres réduiraient le mouvement des particules. Ils ont la capacité de vitrifier le milieu dans une matrice vitreuse rigide et amorphe, permettant ainsi de diminuer les réactions interparticulaires. Deuxièmement, l'eau forme beaucoup de pont H avec les protéines en solution. L'ajout de sucre permet de générer des nouvelles liaisons H avec les protéines, remplaçant ainsi leur interaction avec l'eau. Ces sucres peuvent aussi être utilisés comme cryoprotecteurs dans le processus de

lyophilisation. L'étude de Anhorn et al. a démontré que l'utilisation de ces excipients a permis de stabiliser des nanoparticules durant la lyophilisation. Le choix entre les différents polysaccharides dépend du type de particule à stabiliser. En effet, le mannitol permet de donner au lyophilisat un aspect élégant mais a provoqué une augmentation du diamètre des particules pour les nanoparticules chargées de doxorubicine. Le saccharose et le tréhalose ont quant à eux permis de stabiliser des nanoparticules non modifiées, pegylées de façon supérieure au mannitol (Anhorn et al., 2008).

L'utilisation de tensioactif, une molécule amphiphile, réduit la tension superficielle au niveau de l'interface air/liquide de la gouttelette. Ils vont permettre de diminuer la formation d'agrégats à la surface de la gouttelette. Pluronic F68 est un tensioactif qui a été utilisé dans la formulation d'un vaccin contre la rougeole et la grippe. Néanmoins, le tensioactif peut former un revêtement sur les particules finales provoquant une cohésion élevée entre celles-ci, il faut donc l'utiliser avec prudence.

Des cations bivalents peuvent être utilisés pour stabiliser l'antigène par interaction ionique entre l'antigène et les ions. Le mécanisme d'action n'est pas clairement élucidé, cependant, cette interaction peut stabiliser et conserver la conformation de l'antigène mais peut aussi empêcher l'eau d'infiltrer l'antigène. Par exemple, Chen et al., ont utilisé du  $MgCl_2$  pour stabiliser la conformation du poliovirus. Le mécanisme d'action proposé est une réduction de l'infiltration d'eau au travers de la capsid (Chen et al., 1997). Ohtake et al ; ont utilisé du calcium et du zinc pour stabiliser un vaccin contre la rougeole produit par séchage par atomisation. Les résultats ont montré que l'ajout d'un seul cation bivalent a permis de diminuer les pertes d'activité liées au processus de production de la poudre. Cependant, la stabilité au stockage après une semaine n'était pas améliorée. L'ajout de deux cations bivalents, le chlorure de calcium et le chlorure de zinc, a permis de réduire la perte d'activité liée au processus de production et d'augmenter de façon conséquente la stabilité au stockage après une semaine. (Ohtake et al., 2010).

Des protéines telles que l'albumine sérique humaine (HSA) et les polymères peuvent stabiliser les antigènes lors de l'étape de séchage par encombrement stérique. Lors du séchage, la migration de l'antigène est ralentie grâce aux protéines et à leur grande taille. De ce fait, l'agglutination de l'antigène à la surface de la gouttelette est moindre. En outre, lorsque la poudre est formée, les antigènes sont un peu plus centrés dans la particule, les protégeant ainsi de l'humidité ambiante lors du stockage. Finalement, les protéines peuvent aussi s'agglutiner autour de l'antigène, réduisant la tension de surface en ayant un effet similaire aux tensioactifs.

Si la dégradation est causée par une variation de pH, l'ajout d'un tampon correspondant aux gammes de pH devra être utilisé. Les polyols (par exemple le mannitol) sont des agents de charge cristallins et donnent à la poudre un aspect élégant. Afin d'augmenter le temps de conservation, des agents antioxydants comme des acides aminés partiellement oxydés (par exemple la méthionine) et des agents chélatants (par exemple l'EDTA) peuvent être ajoutés à la poudre (Preston & Randolph, 2021).

### 3.6 Adjuvants

Pour obtenir une réponse immunitaire efficace, il est souvent nécessaire d'administrer un adjuvant avec l'antigène. Certains antigènes ont un signal de danger qui sera reconnu par les cellules présentatrices d'antigène et permettra d'aboutir à une réponse immunitaire efficace. C'est le cas des vaccins vivants atténués ou des vaccins inactivés. Cependant, les vaccins protéiques sont dépourvus de cette activité inhérente. Il est donc nécessaire d'ajouter une substance capable d'induire une réponse immunitaire suffisante. Les adjuvants peuvent être classés dans deux catégories, les immunostimulants et les véhicules.

Les adjuvants immunostimulants vont directement agir sur le système immunitaire. Par exemple, par interaction avec les récepteurs reconnaissant les motifs moléculaires associés aux pathogènes (PAMP), présents sur les cellules CPA. Ces récepteurs sont les récepteurs de reconnaissance aux pathogènes (PRR). De ce fait, la CPA activée va migrer vers le ganglion lymphatique et permettre la présentation de l'antigène aux lymphocytes T et B naïfs. L'activation B et T peut aussi se faire dans les tissus lymphoïdes associés aux bronches.

Les véhicules vont plutôt présenter l'antigène en ciblant les CPA et vont le protéger d'une éventuelle dégradation prématurée. Il est important de noter que beaucoup d'adjuvants peuvent faire partie à la fois des deux catégories (Reed et al., 2009; Sou et al., 2011).

L'ISCOMATRIX™ est un adjuvant ayant des propriétés de véhicule et immunostimulantes. En effet, il est composé de saponine de Quillaia, de cholestérol et des phospholipides formant une structure en forme de cage. Cet adjuvant va avoir plusieurs effets :

- Il facilite la livraison de l'antigène aux CPA et permet un transport rapide de ce dernier vers le cytosol. Grâce à cela, il va être exposé au niveau du CMH de classe I
- Il induit la maturation des CD.
- Il va induire la libération de chimiokines et de cytokines permettant le recrutement de cellules immunitaires.

- Il va former des dépôts d'antigène et va donc augmenter son temps de persistance (Maraskovsky et al., 2009).

Le bénéfice qu'apporte l'utilisation de l'adjuvant ISCOMATRIX™ dans la vaccination par la voie pulmonaire par rapport à la vaccination sous cutanée a été démontré par Wee et son équipe. Dans l'étude, ils ont comparé la réponse en anticorps entre l'administration d'un vaccin antigrippal par voie sous-cutanée sans adjuvants à une administration pulmonaire de l'antigène contenant l'adjuvant chez les moutons. De façon surprenante, 0.04 µg d'antigène administré par voie pulmonaire provoque une réponse équivalente que 15 µg administré en sous cutané. De plus chez les moutons vaccinés par voie pulmonaire, le taux d'anticorps au niveau pulmonaire était plus élevé. Ensuite, ils ont évalué la réponse immunologique à faible dose d'antigène et en diminuant les concentrations en adjuvant. Le titre en anticorps dépendait de la concentration de l'adjuvant (Wee et al., 2008).

Une autre étude menée par Vujanic et son équipe a permis de démontrer l'intérêt de l'utilisation de l'ISCOMATRIX™. Ils ont réalisé deux expériences, la formulation sous cutanée et la formulation pulmonaire contenaient tous deux l'adjuvant. Dans la première, ils ont vacciné deux groupes de moutons avec l'antigène gB du cytomégalo virus (CMV) en sous-cutané ou par voie pulmonaire. La vaccination en sous cutané a permis de produire des anticorps au niveau systémique de type IgG et IgA. Des anticorps de type IgG ont aussi été détectés au niveau pulmonaire. La voie pulmonaire a, quant à elle, permis de générer des anticorps de type IgG et IgA au niveau systémique mais aussi au niveau pulmonaire.

Dans la deuxième expérience, l'antigène était un fragment de catalase. La voie sous-cutanée et la voie pulmonaire ont été comparées. Le taux d'anticorps IgG et IgA au niveau systémique produits par la voie pulmonaire était cette fois-ci plus faible que le taux d'anticorps produits par l'administration sous-cutanée. Cependant, un taux d'anticorps IgG et IgA élevé a été détecté au niveau pulmonaire uniquement chez les animaux vaccinés par voie pulmonaire.

L'utilisation de cet adjuvant permet à la fois d'induire une immunité systémique, mais aussi au niveau des muqueuses (Vujanic et al., 2010).

Les antigènes de haut poids moléculaires comme celui utilisé contre l'hépatite B (VHB) sont difficilement absorbés par voie pulmonaire, ils sont en partie phagocytés par les macrophages. Les macrophages ne sont pas de bons CPA. De ce fait, les composés favorisant l'absorption de l'antigène pourront considérablement augmenter la réponse immunitaire en augmentant l'interaction entre celui-ci et le réseau de cellules dendritiques.

Thomas et al ; ont étudié la réponse immunitaire d'un vaccin contre le virus de l'hépatite B associé à du tétradécyl- $\beta$ -maltoside (TDM). Le TDM fait partie de la classe des alkylglycosides, ce sont des tensioactifs non ioniques. Il existe cependant peu de données sur la sécurité d'emploi de cet adjuvant. L'étude a donc aussi analysé la sécurité d'utilisation.

Lors de l'administration concomitante de TDM et d'antigène, la réponse en anticorps était quatre fois supérieure à la réponse obtenue sans TDM par voie pulmonaire. Le TDM aurait pour effet d'augmenter la perméabilité des cellules épithéliales, permettant à l'antigène de se présenter aux CPA dans la circulation systémique et de ce fait, produire une réponse robuste.

Afin de déterminer si l'administration de TDM a provoqué des lésions pulmonaires, Thomas et al ; ont pesé le poids du poumon humide et réalisé un lavage bronchoalvéolaire des rats vaccinés. En cas de lésion, le poids du poumon augmente car il y a une accumulation de liquide extracellulaire. Une augmentation du poids a été observé lors de la première installation. Ensuite, une diminution a été observée. Il est nécessaire de réaliser une étude approfondie de l'effet de l'utilisation de TDM sur le poids pulmonaire afin d'évaluer la sécurité du vaccin. Le taux de lactate déshydrogénase (LDH), une enzyme indiquant une lyse cellulaire, a augmenté de façon significative lors de la première utilisation d'une formulation contenant du TDM par rapport à l'utilisation de la solution saline. Le même résultat est observé pour la phosphatase alcaline (ALP), une enzyme témoignant de dommages tissulaires. Néanmoins, lors d'une deuxième administration, le taux de ces enzymes était diminué.

L'utilisation de TDM comme adjuvant vaccinal par voie pulmonaire pourrait constituer une alternative sûre et efficace à l'injection. Il est tout de même nécessaire d'effectuer une étude approfondie sur les marqueurs de dommages cellulaires et les changements histologiques afin d'avoir des données fiables sur la sécurité d'emploi (Thomas et al., 2008).

Le Glucopyranosyl Lipide A (GLA), est un dérivé synthétique du Monophosphoryl Lipide A (MPLA). Le GLA est une molécule amphiphile agoniste du récepteur TLR4, lui conférant une activité immunostimulante. La nature amphiphile du GLA permet son utilisation comme agent de revêtement améliorant l'écoulement de la poudre. Le rôle du GLA est donc double, il est utilisé comme excipient lubrifiant et comme adjuvant immunostimulant.

Rossi et al; ont comparé les propriétés d'écoulement du mélange antigène/GLA à celles du mélange antigène/stéarate de magnésium à l'aide de la mesure de l'angle de repos. Les propriétés d'écoulement étaient supérieures pour le mélange contenant du GLA que pour le mélange contenant du stéarate de magnésium.



Ensuite, ils ont comparé la réponse immunitaire de l'utilisation de cet adjuvant avec un antigène dirigé contre le papillomavirus humain sous forme de poudre pour voie pulmonaire à une injection sous cutanée. Les deux formulations renfermaient l'adjuvant GLA. Le dosage des anticorps a montré que les souris immunisées par l'antigène sous forme de poudre à inhaler contenant l'adjuvant avaient un titre en anticorps constant et plus élevé que l'injectable. Dans le test de neutralisation du pseudovirus HPV16, 5 échantillons sur 5 étaient positifs pour la voie pulmonaire. Le taux en anticorps produits par la réaction immunologique était donc suffisant pour empêcher le virus de pénétrer dans les cellules, pour tous les 5 échantillons. Le vaccin injecté en sous cutané a, quant à lui, montré une capacité de neutralisation faible, 1 seul échantillon sur 5 était positif. Cette étude montre que le vaccin sous forme de poudre sèche contenant du GLA administré par voie pulmonaire semble supérieur que le vaccin liquide injecté en sous cutané (Rossi et al., 2021).

Tomar et son équipe ont conduit une étude utilisant l'adjuvant Advax<sup>TM</sup>, utilisé par voie pulmonaire (VP) avec un vaccin antigrippal. L'adjuvant est composé d'un polysaccharide de l'inuline cristallisé sous la forme d'un polymorphe delta (Honda-Okubo et al., 2012). La comparaison du taux d'IgG et d'IgA entre les souris immunisées avec l'adjuvant ou sans l'adjuvant par VP montre que les souris immunisées avec l'adjuvant ont un taux en anticorps systémique et pulmonaire supérieur aux souris vaccinées sans adjuvant. Les souris immunisées par voie intramusculaires ont quant à elle un taux d'IgA et IgG pulmonaire faible. Elles ont cependant un taux élevé d'IgG systémique. L'utilisation de l'adjuvant Advax a donc entraîné une réponse humorale muqueuse plus élevée que la formulation sans adjuvant et l'utilisation de la voie pulmonaire a permis d'obtenir une réponse plus importante.

Dans la suite de l'étude, les chercheurs ont mesuré la différence de types cellulaires produits par l'exposition de la forme liquide pulmonaire contenant l'adjuvant par rapport à la forme sans adjuvant. Les résultats montrent que l'immunisation pulmonaire avec l'Advax augmente le nombre de cellules B mémoire au niveau pulmonaire ainsi que le nombre de cellules T CD4+. L'utilisation de l'Advax permet de générer une réponse équilibrée Th1/Th2 ce qui facilite la neutralisation et la clairance du virus.

L'efficacité de la protection a été appréciée par l'exposition des souris immunisées avec une seule dose de vaccin, avec ou sans adjuvant, à une charge virale importante, 8 fois supérieure à la DL50. Les souris immunisées avec la forme sans adjuvant n'étaient pas protégées contre le virus. Les souris ayant reçu le vaccin par VP avec l'adjuvant ont été entièrement protégées et n'ont développé aucun symptôme (Tomar, Patil, et al., 2018).

Si, comme les études décrites ci-dessus le démontrent, les adjuvants permettent de générer une réponse immunitaire de plus grande ampleur avec parfois une diminution de la quantité en antigène. Aucun adjuvant muqueux n'est autorisé pour une utilisation pulmonaire chez l'humain (Marasini & Kaminskas, 2019). C'est donc un domaine prometteur mais qui requière des études supplémentaires concernant le mécanisme d'action, la stabilité lors des processus d'obtention d'une poudre et la sécurité d'emploi.

#### 4 L'intérêt d'un vaccin thermostable

Les poudres sèches pour inhalation ont l'avantage d'être stables à une température supérieure comparé à celle des injectables liquides. Cet avantage est illustré et apprécié par le cas du vaccin MenAfriVac<sup>®</sup>, un vaccin thermostable développé pour lutter contre la méningite.

La méningite à *Neisseria Meningitidis* provoque une morbidité et une mortalité importante dans le monde et particulièrement en Afrique Subsaharienne (Rouphael & Stephens, 2012). Afin de tenter de diminuer la mortalité de cette pathologie, un vaccin contre le sérotype A a été développé. Le vaccin MenAfriVac<sup>®</sup> contient un antigène polysaccharidique du groupe A conjugué à l'anatoxine tétanique. Depuis son utilisation en Afrique dans la ceinture de la méningite, une zone traversant le continent d'est en ouest où la pathologie est fortement présente, l'incidence de la maladie a considérablement diminué. Les cas de méningite à méningocoque du groupe A ont complètement disparu des pays ayant instauré des programmes de vaccination intensifs (Viviani, 2022).

Un des facteurs de réussite de ces campagnes de vaccination est la possibilité de manipuler le vaccin à température ambiante. En effet, le maintien de la chaîne du froid lors de la distribution et du stockage, particulièrement dans les zones reculées où les installations permettant le maintien de la chaîne du froid sont rares est le facteur limitant principal des campagnes de vaccination de masse. Pour beaucoup de vaccins actuellement utilisés, la température de stockage à tous les points de la chaîne d'approvisionnement ne doit pas s'écarter de 2°C à 8°C. La température moyenne annuelle au Bénin est de 27,9°C, alors qu'en Belgique elle est de 10,2°C (*Atlas climatique*, s. d.; *Climat et températures au Bénin*, s. d.). Cet écart de température nécessite une logistique et une organisation colossale afin de ne pas s'écarter des valeurs de conservation optimales. La vaccination de masse, avec de telles conditions logistiques, est donc plus difficile dans ces pays au climat chaud et peu industrialisé.

Mais, après exposition du vaccin MenAfriVac<sup>®</sup> à des températures élevées, aucune perte d'efficacité n'a été constatée et la sécurité d'emploi n'a pas été remise en cause. Le vaccin est

stable et peut être conservé pendant maximum 4 jours à des températures inférieures ou égale à 40°C. L'utilisation d'un vaccin à température ambiante, même pendant quelques jours, a permis son administration dans les régions reculées et donc de couvrir une plus grande partie de la population. De ce fait, une immunité collective a pu être générée, enrailant les épidémies de méningite (Dadari & Zgibor, s. d.; Viviani, 2022).

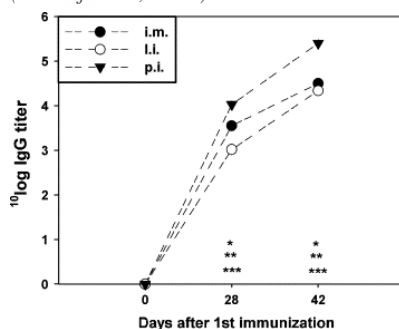
De plus, l'utilisation d'un vaccin à température ambiante a permis de réduire les coûts liés à la vaccination. En effet, Lydon et al. ont comparé le coût de la vaccination nécessitant le respect de la chaîne du froid et le coût en utilisant un vaccin stable à température ambiante pendant quelques jours. L'étude estime qu'une économie sur le coût de la vaccination d'environ 50% pourrait être réalisée. Même si cette étude comporte des limites, elle démontre que l'utilisation de vaccins thermostables présente un gain économique important. En effet, l'équipement représente 43% du coût d'un vaccin, les ressources humaines 37% (Lydon et al., 2013).

Les avantages de l'utilisation d'un vaccin thermostable sont nombreux et motivent le développement et la recherche dans ce domaine innovant.

## 5 Efficacité de la vaccination pulmonaire par des poudres à inhaler

Dans l'objectif de démontrer que la voie pulmonaire apporte une plus-value au niveau de l'efficacité par rapport à la voie classique, différentes études précliniques ont été menées. Les essais précliniques sont fondamentaux pour tester les candidats vaccins sur des modèles animaux, le plus fréquemment sur des modèles murins, avant leur administration chez l'homme.

Figure 10 : Analyse comparative des réponses IgG sérique spécifiques de l'antigène de la sous-unité de la grippe A/Panama chez des souris (Amorij et al., 2007)



Amorij et son équipe ont administré à des souris un vaccin sous unitaire contre la grippe. 3 formulations ont été étudiées, la voie pulmonaire avec l'antigène sous forme de poudre, la voie pulmonaire avec l'antigène en solution et la voie intramusculaire classique. Aucun adjuvant n'a été associé à ces différentes formes. Les souris ont reçu 3 doses. Après la deuxième dose, un taux en IgG élevé est constaté. De plus, comme décrit sur la figure ci-dessous (Figure 10), le taux en anticorps IgG de la poudre par voie pulmonaire après le deuxième dose (p.i.) atteint quasiment le taux en anticorps que l'on va retrouver après la troisième dose en intramusculaire (i.m.). La production en IgG

sériques après une administration pulmonaire de l'antigène sous forme liquide et légèrement inférieure au taux sérique d'anticorps produits par injection intramusculaire. La poudre inhalée a provoqué une réponse en IgG sérique plus importante que la forme liquide pulmonaire ou la forme intramusculaire. En outre, la forme solide a aussi permis la production d'anticorps de type IgA au niveau systémique alors que pour la forme liquide pulmonaire et intramusculaire, cette production est non significative.

Au niveau des muqueuses, les taux en anticorps IgG et IgA ont été mesurés dans les sécrétions pulmonaires. Des IgG ont été trouvées dans les 3 groupes de souris. Néanmoins, c'est chez les souris immunisées par la poudre pulmonaire que le taux d'immunoglobulines de type G était le plus élevé. De plus, dans ce groupe de souris, un taux en IgA élevé a été détecté alors que dans les deux autres groupes, il était quasiment nul.

Finalement, l'étude analyse la réponse immunitaire à médiation cellulaire. Il en résulte que les souris vaccinées par intramusculaires présentent plutôt une réponse de type T-helper 2 (Th2). Les souris vaccinées avec la forme liquide ont une réponse faible mais équilibrée entre Th1 et Th2. Les souris vaccinées par la poudre ont quant à elle une forte réponse de type Th1. Dans cette étude il est donc démontré que l'administration pulmonaire d'une poudre induit une forte réponse immunitaire humorale et cellulaire aussi bien au niveau de la muqueuse qu'au niveau systémique (Amorij et al., 2007).

En 2011, une étude de conception relativement similaire a été menée par Audouy et son équipe. Ils ont administré un virus grippal entier inactivé sous forme de poudre obtenue par lyophilisation par atomisation et sous forme de liquide à des souris par voie pulmonaire. Ils ont comparé la réponse immunitaire à une administration classique en intramusculaire du vaccin antigrippal sous unitaire contenant des adjuvants. Les vaccins utilisés par voie pulmonaire ne contenaient pas d'adjuvant. Deux doses ont été administrées à deux semaines d'intervalle pour les souris recevant le vaccin à inhaler liquide ou solide. Pour les souris recevant une injection, aucune dose de rappel n'a été administrée.

Pour les deux vaccins à inhaler, la réponse systémique en immunoglobuline de type G était d'ampleur égale. Cependant le titre d'IgA muqueux pour les souris immunisées avec le liquide à inhaler était faible voire non détectable. A l'inverse, les souris ayant reçu la poudre présentaient un taux en immunoglobines de type A élevé.

Finalement, La mesure de la réduction de la charge virale au niveau pulmonaire après exposition au virus vivant a permis d'apprécier l'efficacité de la protection. L'étude démontre que tous les vaccins conféraient une protection efficace. Mais, une réduction plus importante

de la charge virale a été détectée chez les souris ayant été immunisées avec la poudre pour inhalation. L'administration de deux doses de vaccin entier inactivé par voie pulmonaire sans adjuvant est tout aussi efficace, voire plus efficace pour les poudres, qu'une injection intramusculaire du vaccin sous-unitaire renfermant des adjuvants. Il faut noter qu'une réaction inflammatoire a été observée pour ces deux vaccins à inhaler mais celle-ci était légère et de courte durée. (Audouy et al., 2011).

Amidi et al. ont comparé l'utilisation de dextran ou de chlorure de N-triméthyl chitosane (TMC) associé à des nanoparticules pour une administration par voie pulmonaire d'une poudre contenant de l'anatoxine diphtérique. La comparaison avec le vaccin conventionnel administré en sous-cutané chez le cobaye a été faite. L'intérêt d'utiliser du TMC est que celui-ci possède des propriétés autoadhésives et améliore l'absorption de l'antigène.

Après une seule immunisation intratrachéale, les microparticules de TMC ont pu induire une production plus élevée d'anticorps neutralisant que l'administration sous-cutanée classique. Ce qui est remarquable car pour arriver à un taux similaire d'anticorps avec la voie classique, il est souvent nécessaire d'avoir recours à des doses de rappels. Cependant pour les particules de dextran inhalée, le titre d'anticorps était faible. De nouveau, l'utilisation d'une poudre pour inhalation a permis d'induire une forte production d'anticorps au niveau systémique, production qui est supérieure à la voie d'administration classique.

Des anticorps de type IgA muqueux ont uniquement été identifiés chez les cobayes ayant été vaccinées avec les particules contenant du TMC. L'utilisation du TMC entraîne de fortes réponses immunitaires au niveau muqueux mais aussi au niveau systémique (Amidi et al., 2007).

Agarkhedkar et al ; ont réalisé un essai clinique randomisé de phase 1 sur l'immunogénicité et l'innocuité d'un vaccin antirougeoleux sous forme de poudre pour inhalation par rapport à l'injection sous cutanée. L'antigène a été séché par pulvérisation avec des fluides supercritiques. Le myo-inositol, un polysaccharide, a été utilisé comme agent stabilisant. Deux dispositifs ont été utilisés pour administrer les poudres à inhaler, le Solovent<sup>TM</sup> et le Puffhaler<sup>TM</sup>. Les anticorps dirigés contre la rougeole ont été détectés à l'aide de la méthode ELISA et cette analyse a montré que tous les patients étaient séropositifs avant l'administration des vaccins. L'immunogénicité était comparable entre les groupes ayant reçu le vaccin par voie pulmonaire et le groupe l'ayant reçu en sous-cutané. Aucun effet indésirable cliniquement

significatif n'a été rapporté. Cette étude clinique de phase 1 démontre l'innocuité et l'immunogénicité des antigènes sous forme de poudres à inhaler.

Même si ces résultats sont encourageants, il est important de spécifier que tous les patients inclus dans l'étude avaient un titre en anticorps protecteur avant la vaccination. Un essai clinique sur des sujets sans immunité préexistante doit être réalisé afin d'évaluer le potentiel d'immunogénicité du vaccin. (Agarkhedkar et al., 2014).

La compilation de ces études démontre que la voie pulmonaire présente une activité plus élevée ou égale par rapport à la voie classique. L'administration de vaccins par voie pulmonaire semble donc être prometteur.

## 6 Discussion

La logistique des vaccins actuels est le principal obstacle pour une haute couverture vaccinale. En effet, le maintien de la chaîne du froid lors du transport et du stockage des vaccins injectables, la nécessité d'utiliser matériel stérile comme l'eau pour injection, les seringues et aiguilles, la nécessité d'avoir un personnel formé et compétent empêchent l'utilisation de ces vaccins dans les pays en voie de développement. L'utilisation de poudres sèches thermostables administrables par voie pulmonaire est une voie alternative efficace et prometteuse à l'utilisation de ces vaccins liquides. De plus, l'utilisation de poudre ne nécessitant pas de reconstitution ou de manipulation avant utilisation par du personnel qualifié facilite la vaccination. S'affranchir des contraintes logistiques et l'utilisation d'une administration non invasive permettra d'améliorer la couverture vaccinale dans le monde entier. Cependant cette nouvelle technologie soulève plusieurs interrogations qui doivent être analysées.

Si l'administration de vaccins sous forme de poudre sèche chez l'adulte est relativement aisée, en utilisant un dispositif simple. Elle est moins évidente chez les patients âgés ou les enfants et les nouveau-nés. En effet, lors de l'utilisation des DPI, le patient doit être actif dans l'administration du vaccin. Celui-ci doit avoir une inspiration suffisante et contrôlée pour que les poudres puissent se disperser dans l'arbre bronchique. Dans la plupart des études cliniques, une administration intra trachéale de la poudre était utilisée. Dans l'étude de Agarkhedkar et al; deux systèmes différents de ce que l'on trouve sur le marché ont été utilisés. Bien que ces prototypes permettent la dispersion de la poudre contenue dans un blister, une inspiration forte et constante était nécessaire. L'utilisation de ces dispositifs peut être complexe chez les patients ayant une capacité inspiratoire faible. Parmi ces patients, en plus des personnes âgées et des enfants, on pourrait y retrouver les patients atteints de pathologie pulmonaire. Paradoxalement,

c'est justement dans ce type de population, plus fragile, qu'il est intéressant de cibler pour prévenir les complications d'une pathologie infectieuse à l'aide de la vaccination. Afin d'aboutir à une vaccination réellement efficace dans la prévention de pathologie, il est nécessaire d'avoir recours à de nouveaux dispositifs permettant l'administration de poudre chez la population pédiatrique, âgée et ayant des pathologies pulmonaires.

L'utilisation d'adjuvants sous forme de poudre à inhaler pourrait provoquer une inflammation en induisant une réponse immunitaire trop importante. Les dommages causés par cette inflammation au niveau pulmonaire pourraient mener à un emphysème. Ce risque pourrait être majoré chez les patients fumeurs ou souffrant de pathologie pulmonaire. L'innocuité des formulations doit donc être démontrée avant de les utiliser sur tous les types de patients.

Une des craintes lors de l'injection est le choc anaphylactique. Le choc anaphylactique est en fait une réaction allergique exagérée du corps envers un des composants du vaccin. Cette réaction est immédiate et se manifeste durant les 5 à 20 premières minutes après l'administration. Les complications de ce choc peuvent entraîner le décès du patient. C'est une urgence vitale nécessitant une injection d'adrénaline afin de contrer l'hypotension, le collapsus cardiaque et la bronchoconstriction. Lors de l'administration d'un vaccin par voie pulmonaire, la réaction anaphylactique n'est pas à exclure. Il est donc logique de se demander si les symptômes pulmonaires seront exacerbés. D'autres symptômes pourraient-ils arriver ? Dans ce cas, est-ce que le protocole de prise en charge sera le même ? L'administration d'adrénaline sera-t-elle toujours préconisée ?

Dans la suite de cette réflexion il est logique de se demander si l'administration pulmonaire convient aux personnes ayant de multiples allergies, notamment aux pollens par exemple. Sont-ils plus à risque de développer des anticorps IgE contre certains composants du vaccin ?

Les injectables, qu'importe leur utilisation, doivent être strictement stériles. Etant donné que les poudres à inhaler sont administrées dans un environnement qui est continuellement en contact avec une pléthore de microorganismes, la nécessité d'administrer une poudre aussi stérile qu'un injectable peut-être remise en cause. De ce fait, les processus de fabrication et de conservation seraient simplifiés et donc moins coûteux comparé à la production et la conservation d'un injectable.

Chez les patients asthmatiques, l'administration par voie pulmonaire peut être remise en cause. En effet, ce type de patient a régulièrement recours à la corticothérapie. Les corticostéroïdes à inhaler sont utilisés dans le traitement d'entretien de l'asthme et vont provoquer une diminution de l'inflammation. En outre, ils vont aussi provoquer une

immunosuppression. Dès lors, y a-t-il un risque d'inefficacité de production d'anticorps au niveau muqueux suite à cette immunosuppression ?

Les vaccins vivants atténués ont l'avantage d'être fortement immunogènes car ils conservent les PAMP. Cependant le désavantage de l'utilisation de ce type de vaccin est le possible phénomène de réversion. Dans le cas d'un vaccin ciblant un pathogène proliférant au niveau pulmonaire, le risque de réversion est à considérer d'autant plus que le milieu correspond au milieu de prolifération du pathogène. Le risque de réversion et les conséquences de ce phénomène pourraient être plus dramatiques ?

Les quelques études présentées ci-dessus démontrent qu'une réponse immunitaire efficace peut être obtenue sans utiliser d'adjuvant. Cependant, l'utilisation d'adjuvant peut permettre de diminuer la quantité nécessaire en antigène pour produire une réponse suffisamment protectrice. De ce fait, dans le cas d'une épidémie ou d'une pandémie, où une maladie se propage rapidement, le nombre d'unités de vaccins pourrait être augmenté en utilisant la même quantité d'antigène que les unités sans adjuvant. Cet avantage, couplé à l'utilisation d'un vaccin thermostable permet d'augmenter la couverture vaccinale lors d'épidémies. Pour une pathologie progressant rapidement, il faut une grande quantité de vaccin et une administration rapide, les poudres à inhaler peuvent s'inscrire dans cette logique. Il est donc nécessaire de développer un adjuvant efficace pour améliorer l'efficacité de cette voie.



## 7 Conclusion

La vaccination par injection est la méthode la plus utilisée actuellement. Si celle-ci a permis de sauver des millions de personnes, des voies alternatives à l'administration de vaccin sont à l'étude afin de pallier aux différents désavantages liés à l'injection d'un liquide.

La grande surface des poumons, leur riche vascularisation, la fine épaisseur de la paroi alvéolaire, la présence de tissus lymphoïdes associés aux bronches, la genèse d'une réponse immunitaire au niveau des muqueuses ainsi que qu'au niveau systémique font de la voie pulmonaire une voie de choix pour l'administration d'antigènes.

Contrairement aux injectables, ces antigènes sont sous forme de poudre thermostable. Cette particularité présente comme avantage de conférer une plus grande stabilité par rapport aux liquides, facilitant de ce fait leur transport et leur stockage.

Du fait de ces caractéristiques physiologiques, immunologiques et la plus grande stabilité, la vaccination par voie pulmonaire à l'aide de poudre sèche est apparue comme une alternative intéressante à la voie classique.

Depuis une dizaine d'années, le nombre d'études sur le sujet est en constante augmentation, témoignant de l'intérêt que suscite ce nouveau genre de vaccins. De nombreuses études précliniques démontrent que la réponse immunologie est aussi efficace, et parfois meilleure comparée à l'administration en intramusculaire ou en sous-cutané.

Cependant, de nombreuses études sur l'innocuité doivent encore être menées. De plus, très peu d'études cliniques sont disponibles, l'efficacité démontrée sur les modèles animaux doit encore être prouvée chez l'homme.

Si l'administration de vaccins par la voie pulmonaire sous forme de poudre sèche à un avenir prometteur, un long chemin est encore à parcourir avant de les voir arriver sur le marché. Cependant cela pourrait être une alternative réaliste à l'injection d'un vaccin liquide.

## 8 Approche méthodologie

Pour écrire ce mémoire, une pléthore de sites de recherches scientifiques a été utilisée. Tout d'abord, l'utilisation de mots clés comme « pulmonary vaccine » sur le moteur de recherche google scholar m'a permis de situer le contexte de mon sujet. Grâce à cette vue globale, j'ai pu établir le fil conducteur de ma recherche. J'ai décidé de diviser mon mémoire en 3 parties. La première comporte l'introduction, la physiologie et l'immunologie pulmonaire. La deuxième décrit les poudres ainsi que les processus industriels de fabrication. Finalement, dans la dernière partie, j'ai essayé de compiler des études pertinentes comparant l'efficacité des poudres pour inhalation à l'injection d'un liquide.

Par la suite, des recherches ciblées ont été réalisées afin de développer les différentes parties abordées dans ce travail.

Le sujet étant innovant et relativement récent, la plupart des articles datent d'après 2010. Cependant certains articles sont plus vieux mais sont tout de même pertinents.

## 9 Bibliographie

- Agarkhedkar, S., Kulkarni, P. S., Winston, S., Sievers, R., Dhere, R. M., Gunale, B., Powell, K., Rota, P. A., & Papania, M. (2014). Safety and immunogenicity of dry powder measles vaccine administered by inhalation : A randomized controlled Phase I clinical trial. *Vaccine*, 32(50), 6791-6797. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2014.09.071>
- Amidi, M., Pellikaan, H. C., Hirschberg, H., de Boer, A. H., Crommelin, D. J. A., Hennink, W. E., Kersten, G., & Jiskoot, W. (2007). Diphtheria toxoid-containing microparticulate powder formulations for pulmonary vaccination : Preparation, characterization and evaluation in guinea pigs. *Vaccine*, 25(37), 6818-6829. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2007.05.064>
- Amorij, J.-P., Saluja, V., Petersen, A. H., Hinrichs, W. L. J., Huckriede, A., & Frijlink, H. W. (2007). Pulmonary delivery of an inulin-stabilized influenza subunit vaccine prepared by spray-freeze drying induces systemic, mucosal humoral as well as cell-mediated immune responses in BALB/c mice. *Vaccine*, 25(52), 8707-8717. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2007.10.035>
- Anhorn, M. G., Mahler, H.-C., & Langer, K. (2008). Freeze drying of human serum albumin (HSA) nanoparticles with different excipients. *International Journal of Pharmaceutics*, 363(1), 162-169. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2008.07.004>
- Atlas climatique.* (s. d.). KMI. Consulté 11 juillet 2022, à l'adresse <https://www.meteo.be/fr/climat/climat-de-la-belgique/atlas-climatique/cartes-climatiques/temperature-de-lair/moyenne/annuel>
- Audouy, S. A. L., van der Schaaf, G., Hinrichs, W. L. J., Frijlink, H. W., Wilschut, J., & Huckriede, A. (2011a). Development of a dried influenza whole inactivated virus vaccine for pulmonary immunization. *Vaccine*, 29(26), 4345-4352. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2011.04.029>
- Audouy, S. A. L., van der Schaaf, G., Hinrichs, W. L. J., Frijlink, H. W., Wilschut, J., & Huckriede, A. (2011b). Development of a dried influenza whole inactivated virus vaccine for pulmonary immunization. *Vaccine*, 29(26), 4345-4352. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2011.04.029>
- Audouy, S. A. L., van der Schaaf, G., Hinrichs, W. L. J., Frijlink, H. W., Wilschut, J., & Huckriede, A. (2011c). Development of a dried influenza whole inactivated virus

- vaccine for pulmonary immunization. *Vaccine*, 29(26), 4345-4352. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2011.04.029>
- Benlahouès, D. (2013). Anatomie et physiologie de l'appareil respiratoire. *L'Aide-Soignante*, 27(146), 10-12. <https://doi.org/10.1016/j.aidsoi.2013.02.003>
- Bourbon, J. (2005). Développement alvéolaire normal et pathologique (revue). *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique*, 45(7), 503-508. <https://doi.org/10.1016/j.allerg.2005.07.008>
- Canoui, E., & Launay, O. (2019). Histoire et principes de la vaccination. *Revue des Maladies Respiratoires*, 36(1), 74-81. <https://doi.org/10.1016/j.rmr.2018.02.015>
- Chen, C.-H., Wu, R., Roth, L. G., Guillot, S., & Crainic, R. (1997). Elucidating Mechanisms of Thermostabilization of Poliovirus by D2O and MgCl2. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 342(1), 108-116. <https://doi.org/10.1006/abbi.1997.0111>
- Climat et températures au Bénin*. (s. d.). DonnéesMondiales.com. Consulté 11 juillet 2022, à l'adresse <https://www.donneesmondiales.com/afrique/benin/climat.php>
- Corthesy, B. (2013). Multi-Faceted Functions of Secretory IgA at Mucosal Surfaces. *Frontiers in Immunology*, 4. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2013.00185>
- Coste, G. (2019). Les techniques d'aérosolthérapie par nébulisation. *Actualités Pharmaceutiques*, 58(583), 49-53. <https://doi.org/10.1016/j.actpha.2018.12.012>
- Dadari, I. K., & Zgibor, J. C. (s. d.). How the use of vaccines outside the cold chain or in controlled temperature chain contributes to improving immunization coverage in low- and middle-income countries (LMICs) : A scoping review of the literature. *Journal of Global Health*, 11, 04004. <https://doi.org/10.7189/jogh.11.04004>
- Date, P. V., Samad, A., & Devarajan, P. V. (2010). Freeze Thaw : A Simple Approach for Prediction of Optimal Cryoprotectant for Freeze Drying. *AAPS PharmSciTech*, 11(1), 304-313. <https://doi.org/10.1208/s12249-010-9382-3>
- de Boer, A. H., & Hagedoorn, P. (2015). The role of disposable inhalers in pulmonary drug delivery. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 12(1), 143-157. <https://doi.org/10.1517/17425247.2014.952626>
- Desseyn, J.-L., Gouyer, V., & Gottrand, F. (2015). Modification à façon des propriétés physiques du mucus—Preuve de concept et applications potentielles. *médecine/sciences*, 31(12), 1063-1066. <https://doi.org/10.1051/medsci/20153112005>
- Förster, R., Davalos-Misslitz, A. C., & Rot, A. (2008). CCR7 and its ligands : Balancing immunity and tolerance. *Nature Reviews Immunology*, 8(5), 362-371. <https://doi.org/10.1038/nri2297>

- Haigh, W., & Howell, R. W. (1973). The Efficacy of the A2/Aichi/68 Strain in Inhaled Influenza Immunisation Against the A/England/42/72 Variant. *Occupational Medicine*, 23(4), 125-127. <https://doi.org/10.1093/occmed/23.4.125>
- Heida, R., Hinrichs, W. L., & Frijlink, H. W. (2021). Inhaled vaccine delivery in the combat against respiratory viruses : A 2021 overview of recent developments and implications for COVID-19. *Expert Review of Vaccines*, 0(0), 1-18. <https://doi.org/10.1080/14760584.2021.1903878>
- Honda-Okubo, Y., Saade, F., & Petrovsky, N. (2012). Advax<sup>TM</sup>, a polysaccharide adjuvant derived from delta inulin, provides improved influenza vaccine protection through broad-based enhancement of adaptive immune responses. *Vaccine*, 30(36), 5373-5381. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2012.06.021>
- Kanojia, G., Have, R. ten, Soema, P. C., Frijlink, H., Amorij, J.-P., & Kersten, G. (2017). Developments in the formulation and delivery of spray dried vaccines. *Human Vaccines & Immunotherapeutics*, 13(10), 2364-2378. <https://doi.org/10.1080/21645515.2017.1356952>
- Khan, I., Elhissi, A., Shah, M., Alhnan, M. A., & Ahmed, W. (2013). 9—Liposome-based carrier systems and devices used for pulmonary drug delivery. In J. P. Davim (Éd.), *Biomaterials and Medical Tribology* (p. 395-443). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1533/9780857092205.395>
- Kleinstreuer, C., Zhang, Z., & Li, Z. (2008). Modeling airflow and particle transport/deposition in pulmonary airways. *Respiratory Physiology & Neurobiology*, 163(1), 128-138. <https://doi.org/10.1016/j.resp.2008.07.002>
- Kunda, N. K., Somavarapu, S., Gordon, S. B., Hutcheon, G. A., & Saleem, I. Y. (2013). Nanocarriers Targeting Dendritic Cells for Pulmonary Vaccine Delivery. *Pharmaceutical Research*, 30(2), 325-341. <https://doi.org/10.1007/s11095-012-0891-5>
- Lavelle, E. C., & Ward, R. W. (2022). Mucosal vaccines—Fortifying the frontiers. *Nature Reviews Immunology*, 22(4), 236-250. <https://doi.org/10.1038/s41577-021-00583-2>
- Lu, D., & Hickey, A. J. (2007a). Pulmonary vaccine delivery. *Expert Review of Vaccines*, 6(2), 213-226. <https://doi.org/10.1586/14760584.6.2.213>
- Lu, D., & Hickey, A. J. (2007b). Pulmonary vaccine delivery. *Expert Review of Vaccines*, 6(2), 213-226. <https://doi.org/10.1586/14760584.6.2.213>
- Lydon, P., Zipursky, S., Tevi-Benissan, C., Djingarey, M. H., Gbedonou, P., Youssouf, B. O., & Zaffran, M. (2013). Economic benefits of keeping vaccines at ambient temperature

- during mass vaccination : The case of meningitis A vaccine in Chad. *Bulletin of the World Health Organization*, 92, 86-92. <https://doi.org/10.2471/BLT.13.123471>
- Marasini, N., & Kaminskis, L. M. (2019). Subunit-based mucosal vaccine delivery systems for pulmonary delivery—Are they feasible? *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 45(6), 882-894. <https://doi.org/10.1080/03639045.2019.1583758>
- Maraskovsky, E., Schnurr, M., Wilson, N. S., Robson, N. C., Boyle, J., & Drane, D. (2009). Development of prophylactic and therapeutic vaccines using the ISCOMATRIX adjuvant. *Immunology & Cell Biology*, 87(5), 371-376. <https://doi.org/10.1038/icb.2009.21>
- Masjedi, M., Montahaei, T., Sharafi, Z., & Jalali, A. (2022). Pulmonary vaccine delivery : An emerging strategy for vaccination and immunotherapy. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 69, 103184. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2022.103184>
- Mobley, C., & Hochhaus, G. (2001). Methods used to assess pulmonary deposition and absorption of drugs. *Drug Discovery Today*, 6(7), 367-375. [https://doi.org/10.1016/S1359-6446\(01\)01691-9](https://doi.org/10.1016/S1359-6446(01)01691-9)
- Moreno-Mendieta, S., Guillén, D., Vasquez-Martínez, N., Hernández-Pando, R., Sánchez, S., & Rodríguez-Sanoja, R. (2022). Understanding the Phagocytosis of Particles : The Key for Rational Design of Vaccines and Therapeutics. *Pharmaceutical Research*. <https://doi.org/10.1007/s11095-022-03301-2>
- Neutra, M. R., & Kozlowski, P. A. (2006). Mucosal vaccines : The promise and the challenge. *Nature Reviews Immunology*, 6(2), 148-158. <https://doi.org/10.1038/nri1777>
- Newman, S. P. (2017, juillet 21). *Drug delivery to the lungs : Challenges and opportunities* (London, UK) [Review-article]. <https://doi.org/10.4155/Tde-2017-0037>; Future Science Ltd London, UK. <https://doi.org/10.4155/tde-2017-0037>
- Ohtake, S., Martin, R. A., Yee, L., Chen, D., Kristensen, D. D., Lechuga-Ballesteros, D., & Truong-Le, V. (2010). Heat-stable measles vaccine produced by spray drying. *Vaccine*, 28(5), 1275-1284. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2009.11.024>
- Preston, K. B., & Randolph, T. W. (2021). Stability of lyophilized and spray dried vaccine formulations. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 171, 50-61. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2021.01.016>
- Reed, S. G., Bertholet, S., Coler, R. N., & Friede, M. (2009). New horizons in adjuvants for vaccine development. *Trends in Immunology*, 30(1), 23-32. <https://doi.org/10.1016/j.it.2008.09.006>

- Rietscher, R., Schröder, M., Janke, J., Czaplewska, J., Gottschaldt, M., Scherließ, R., Hanefeld, A., Schubert, U. S., Schneider, M., Knolle, P. A., & Lehr, C.-M. (2016). Antigen delivery via hydrophilic PEG-b-PAGE-b-PLGA nanoparticles boosts vaccination induced T cell immunity. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, *102*, 20-31. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2016.02.014>
- Rossi, I., Spagnoli, G., Buttini, F., Sonvico, F., Stellari, F., Cavazzini, D., Chen, Q., Müller, M., Bolchi, A., Ottonello, S., & Bettini, R. (2021). A respirable HPV-L2 dry-powder vaccine with GLA as amphiphilic lubricant and immune-adjuvant. *Journal of Controlled Release*, *340*, 209-220. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2021.11.002>
- Rouphael, N. G., & Stephens, D. S. (2012). *Neisseria meningitidis*: Biology, Microbiology, and Epidemiology. In M. Christodoulides (Éd.), *Neisseria meningitidis: Advanced Methods and Protocols* (p. 1-20). Humana Press. [https://doi.org/10.1007/978-1-61779-346-2\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-61779-346-2_1)
- Saleem, I., Petkar, K., & Somavarapu, S. (2017). Chapter Nineteen - Rationale for Pulmonary Vaccine Delivery : Formulation and Device Considerations. In M. Skwarczynski & I. Toth (Éds.), *Micro and Nanotechnology in Vaccine Development* (p. 357-371). William Andrew Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-39981-4.00019-1>
- Saluja, V., Amorij, J.-P., Kapteyn, J. C., de Boer, A. H., Frijlink, H. W., & Hinrichs, W. L. J. (2010). A comparison between spray drying and spray freeze drying to produce an influenza subunit vaccine powder for inhalation. *Journal of Controlled Release*, *144*(2), 127-133. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2010.02.025>
- Sanders, M. (2007). Inhalation therapy: An historical review. *Primary Care Respiratory Journal: Journal of the General Practice Airways Group*, *16*(2), 71-81. <https://doi.org/10.3132/pcrj.2007.00017>
- Sou, T., Meeusen, E. N., de Veer, M., Morton, D. A. V., Kaminskas, L. M., & McIntosh, M. P. (2011). New developments in dry powder pulmonary vaccine delivery. *Trends in Biotechnology*, *29*(4), 191-198. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2010.12.009>
- Stein, S. W., Sheth, P., Hodson, P. D., & Myrdal, P. B. (2014). Advances in Metered Dose Inhaler Technology : Hardware Development. *AAPS PharmSciTech*, *15*(2), 326-338. <https://doi.org/10.1208/s12249-013-0062-y>
- Thomas, C., Rawat, A., Bai, S., & Ahsan, F. (2008). Feasibility study of inhaled hepatitis B vaccine formulated with tetradecylmaltoside. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, *97*(3), 1213-1223. <https://doi.org/10.1002/jps.21069>

- Tomar, J., Biel, C., de Haan, C. A. M., Rottier, P. J. M., Petrovsky, N., Frijlink, H. W., Huckriede, A., Hinrichs, W. L. J., & Peeters, B. (2018). Passive inhalation of dry powder influenza vaccine formulations completely protects chickens against H5N1 lethal viral challenge. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, *133*, 85-95. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2018.10.008>
- Tomar, J., Patil, H. P., Bracho, G., Tonnis, W. F., Frijlink, H. W., Petrovsky, N., Vanbever, R., Huckriede, A., & Hinrichs, W. L. J. (2018). Advax augments B and T cell responses upon influenza vaccination via the respiratory tract and enables complete protection of mice against lethal influenza virus challenge. *Journal of Controlled Release*, *288*, 199-211. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2018.09.006>
- Tomar, J., Tonnis, W. F., Patil, H. P., de boer, A. H., Hagedoorn, P., Vanbever, R., Frijlink, H. W., & Hinrichs, W. L. J. (2019). Pulmonary immunization : Deposition site is of minor relevance for influenza vaccination but deep lung deposition is crucial for hepatitis B vaccination. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, *9*(6), 1231-1240. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2019.05.003>
- Tonnis, W. F., Kersten, G. F., Frijlink, H. W., Hinrichs, W. L. J., de Boer, A. H., & Amorij, J.-P. (2012). Pulmonary Vaccine Delivery : A Realistic Approach? *Journal of Aerosol Medicine and Pulmonary Drug Delivery*, *25*(5), 249-260. <https://doi.org/10.1089/jamp.2011.0931>
- Tonnis, W. F., Lexmond, A. J., Frijlink, H. W., de Boer, A. H., & Hinrichs, W. L. (2013). Devices and formulations for pulmonary vaccination. *Expert Opinion on Drug Delivery*, *10*(10), 1383-1397. <https://doi.org/10.1517/17425247.2013.810622>
- Vaccins et vaccination.* (s. d.). Consulté 4 juillet 2022, à l'adresse <https://www.who.int/fr/health-topics/vaccines-and-immunization>
- Viviani, S. (2022). Efficacy and Effectiveness of the Meningococcal Conjugate Group A Vaccine MenAfriVac® in Preventing Recurrent Meningitis Epidemics in Sub-Saharan Africa. *Vaccines*, *10*(4), 617. <https://doi.org/10.3390/vaccines10040617>
- Vujanic, A., Wee, J. L. K., Snibson, K. J., Edwards, S., Pearse, M., Quinn, C., Moloney, M., Taylor, S., Scheerlinck, J.-P. Y., & Sutton, P. (2010). Combined mucosal and systemic immunity following pulmonary delivery of ISCOMATRIX™ adjuvanted recombinant antigens. *Vaccine*, *28*(14), 2593-2597. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2010.01.018>
- Waldman, R. H., Bond, J. O., Levitt, L. P., Hartwig, E. C., Prather, E. C., Baratta, R. L., Neill, J. S., & Small, P. A. (1969). An evaluation of influenza immunization. *Bulletin of the World Health Organization*, *41*(3-4-5), 543-548.



- Walters, R. H., Bhatnagar, B., Tchessalov, S., Izutsu, K.-I., Tsumoto, K., & Ohtake, S. (2014). Next Generation Drying Technologies for Pharmaceutical Applications. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, *103*(9), 2673-2695. <https://doi.org/10.1002/jps.23998>
- Wee, J. L. K., Scheerlinck, J.-P. Y., Snibson, K. J., Edwards, S., Pearse, M., Quinn, C., & Sutton, P. (2008). Pulmonary delivery of ISCOMATRIX influenza vaccine induces both systemic and mucosal immunity with antigen dose sparing. *Mucosal Immunology*, *1*(6), 489-496. <https://doi.org/10.1038/mi.2008.59>
- Yang, M. Y., Chan, J. G. Y., & Chan, H.-K. (2014). Pulmonary drug delivery by powder aerosols. *Journal of Controlled Release*, *193*, 228-240. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2014.04.055>

Les vaccins sont les outils préventifs les plus efficaces pour lutter contre les pathologies infectieuses. Les désavantages liés à la vaccination classique ont poussé les chercheurs à explorer de nouvelles voies d'administration et de nouvelles formulations. La voie pulmonaire apparaît comme intéressante de par sa nature physiologique et immunologique.

Les avancées technologiques ont permis de développer des nouveaux processus d'obtention de poudres. Le séchage par atomisation, par lyophilisation ou à l'aide des fluides supercritiques permet d'obtenir une poudre ayant une granulométrie optimale pour une déposition efficace. De nombreux composés peuvent être utilisés afin de stabiliser le principe actif lors de la production. L'utilisation d'une poudre thermostable permet de faciliter la logistique de conservation et de transport par rapport à un liquide ou une poudre pour reconstitution.

Les données démontrent que la réponse immunitaire induite après vaccination par voie pulmonaire est égale ou supérieure à une immunisation classique. La réponse générée est aussi bien systémique que muqueuse. Cette réponse au niveau des muqueuses permet la sécrétion d'anticorps de type IgA. Ces anticorps vont empêcher la pénétration des pathogènes au sein de l'organisme. De ce fait, en plus de réduire les symptômes grâce à un taux élevé d'anticorps systémique, la vaccination par voie pulmonaire limite l'entrée du pathogène et donc l'infection. Des adjuvants peuvent être utilisés pour soutenir la réponse immunitaire.

Après avoir décrit la voie pulmonaire au niveau physiologique et immunologique, les Principaux moyens d'obtention d'une poudre, les excipients et les adjuvants seront décrits. Quelques études précliniques seront compilées et démontreront l'efficacité de cette formulation et de cette voie innovante. L'objectif est de déterminer si la vaccination par voie pulmonaire à l'aide de poudre est une alternative réaliste à l'injection.

Vaccines are the most effective preventive tools against infectious pathologies. The disadvantages associated with conventional vaccination have prompted researchers to explore new routes of administration and new formulations. The pulmonary route appears to be interesting due to its physiological and immunological nature.

Technological advances have made it possible to develop new processes for obtaining powders. Drying by atomization, freeze-drying or using supercritical fluids makes it possible to obtain a powder with an optimal particle size for efficient deposition. Many compounds can be used to stabilize the active compound during production. The use of a thermostable powder facilitates the logistics of storage and transport compared to a liquid or a powder for reconstitution.

The data demonstrate that the immune response induced after pulmonary vaccination is equal to or greater than a classic immunization. The response generated is both systemic and mucosal. This mucosal response allows the secretion of IgA-type antibodies. These antibodies will prevent the penetration of pathogens into the body. Therefore, in addition to reducing symptoms thanks to a high level of systemic antibodies, pulmonary vaccination limits the entry of the pathogen and therefore the infection. Adjuvants can be used to support the immune response.

After having described the pulmonary route at the physiological and immunological level, the main means of obtaining a powder, the excipients and the adjuvants will be described. A few preclinical studies will be compiled and will demonstrate the effectiveness of this formulation and this innovative pathway. The objective is to determine whether vaccination by the pulmonary route using powder is a realistic alternative to injection.

Université de Namur | Faculté de Médecine | Département de Pharmacie

Rue de Bruxelles, 61 | 5000 Namur | Belgique

[www.unamur.be/medecine/etudes-pharmacie](http://www.unamur.be/medecine/etudes-pharmacie)