



Thèse

2004

Open Access

This version of the publication is provided by the author(s) and made available in accordance with the copyright holder(s).

Vaccination contre la grippe par voie intranasale : une étude de tolérance à l'Hôpital cantonal de Fribourg

Jordan, Fabrice

How to cite

JORDAN, Fabrice. Vaccination contre la grippe par voie intranasale : une étude de tolérance à l'Hôpital cantonal de Fribourg. Doctoral Thesis, 2004. doi: 10.13097/archive-ouverte/unige:264

This publication URL: <https://archive-ouverte.unige.ch/unige:264>

Publication DOI: [10.13097/archive-ouverte/unige:264](https://doi.org/10.13097/archive-ouverte/unige:264)

UNIVERSITE DE GENEVE

FACULTE DE MEDECINE
Section de médecine clinique
Département de Médecine interne

Thèse préparée sous la direction du Prof. Claude Regamey

**Vaccination contre la grippe par voie intranasale :
une étude de tolérance à l'hôpital cantonal de Fribourg**

Thèse
Présentée à la faculté de Médecine
De l'université de Genève
Pour obtenir le grade de Docteur en médecine

Par

Fabrice JORDAN

De

Lussy (FR)

Thèse n° 10388

Genève

2004



UNIVERSITÉ DE GENÈVE

FACULTÉ DE MÉDECINE

DOCTORAT EN MEDECINE

Thèse de :
Monsieur Fabrice JORDAN
originaire de Lussy (FR)

Intitulée :

VACCINATION CONTRE LA GRIPPE PAR VOIE INTRANASALE : UNE ETUDE DE TOLERANCE A L'HOPITAL CANTONAL DE FRIBOURG

La Faculté de médecine, sur le préavis de Monsieur Claude REGAMEY, professeur associé au Département de médecine interne, autorise l'impression de la présente thèse, sans prétendre par là émettre d'opinion sur les propositions qui y sont énoncées.

Genève, le 30 août 2004

Thèse n° 10388

Jean-Louis CARPENTIER
Doyen

N.B. - La thèse doit porter la déclaration précédente et remplir les conditions énumérées dans les "Informations relatives à la présentation des thèses de doctorat à l'Université de Genève".

1. Table des matières

1.	<i>Table des matières</i>	3
2.	<i>Résumé</i>	4
3.	<i>Introduction</i>	5
4.	<i>Structure et composition du Nasalflu®</i>	9
5.	<i>Matériel et méthodes</i>	11
6.	<i>Résultats</i>	16
6.1.	Nombre et type des effets secondaires	16
6.1.1.	Au niveau systémique	16
6.1.1.1.	Effets secondaires systémiques après la 1 ^{ère} dose (n=520)	16
6.1.1.2.	Effets secondaires systémiques après la 2 ^{ème} dose (n=514)	16
6.1.1.3.	Sujets ayant eu au moins un effet secondaire systémique	17
6.1.2.	Au niveau local	20
6.1.2.1.	Effets secondaires locaux après la 1 ^{ère} dose (n=520)	20
6.1.2.2.	Effets secondaires locaux après 2 ^{ème} dose (n=514)	20
6.2.	Intensité et Durée des effets secondaires	25
6.2.1.	Au niveau systémique	25
6.2.1.1.	Après la 1 ^{ère} dose	25
6.2.1.2.	Après la 2 ^{ème} dose	26
6.2.2.	Au niveau local	28
6.2.2.1.	Après la 1 ^{ère} dose	28
6.2.2.2.	Après la 2 ^{ème} dose	30
7.	<i>Discussion</i>	33
8.	<i>Conclusions</i>	39
9.	<i>Références</i>	40

2. Résumé

Nous avons réalisé une étude de tolérance prospective d'un nouveau vaccin virosomique intranasal contre la grippe dans le canton de Fribourg, portant sur 520 personnes en bonne santé. 60% des sujets ont présenté des effets secondaires locaux et 30% des effets secondaires systémiques. Les femmes ont eu plus d'effets secondaires locaux que les hommes, et les sujets de moins de 38 ans plus que les sujets plus âgés. Malgré le nombre d'effets secondaires élevé, leur sévérité et leur durée ont été jugés assez mineurs et 82% des sujets sont prêts à se faire revacciner. Nous avons eu un effet secondaire sérieux sous forme de paralysie faciale périphérique transitoire. Le vaccin a été retiré du marché suite à un nombre trop important des ces paralysies. Cependant, le concept devrait continuer à être exploré, car il pourrait augmenter l'acceptation du vaccin et induire une immunité plus physiologique, en stimulant les IgA locales.

3.Introduction

La grippe à influenza est une maladie connue depuis l'antiquité, toujours très présente aujourd'hui et causant de nombreux décès. En effet, même si dans le langage populaire toute infection des voies respiratoires est une « grippe », la vraie grippe, causée par les virus de la famille influenza, évolue de façon plus brutale et peut-être à l'origine de complication graves, voire létales (p. ex : pneumonies).

Les virus influenza font partie de la famille des orthomyxovirus, qui comprend trois sous-types : A, B et C. Des trois, seuls A et B causent des maladies humaines significatives. Les orthomyxovirus sont des virus enveloppés et possédant un génome à RNA segmenté. Ce génome segmenté leur procure une instabilité génétique facilitant le développement de nouvelles souches par un réarrangement génétique, responsable des épidémies (mutation : drift) ou pandémies (réarrangement : shift).

Ces virus ont une structure pléomorphique, sphérique ou tubulaire et un diamètre oscillant entre 80 et 120 nm. Ils sont constitués d'une enveloppe lipidique contenant deux glycoprotéines : l'hémagglutinine (HA) et la neuraminidase (NA) et tapissée sur sa face interne par une matrice. Le virion est constitué d'un génome de huit segments de nucléocapside hélicoïdaux, contenant chacun un negative-sense RNA associé à une nucléoprotéine et à une transcriptase.

D'un point de vue clinique, l'influenza entraîne tout d'abord une infection des voies aériennes supérieures, en prenant pour cible les cellules épithéliales ciliées et sécrétant du mucus. C'est la NA qui clive l'acide sialique du mucus, permettant l'accès aux tissus sous-jacents. Ceci entraîne une perte du système de défense primaire. De plus, le virus promeut l'adhésion bactérienne à l'épithélium atteint, entraînant la possibilité de surinfections. Le spectre clinique va du rapide développement de fièvre, malaise, myalgies, maux de gorge et toux non productive, jusqu'à des pneumonies virales primaires ou bactériennes secondaires, passant par des myosites avec atteinte cardiaque, et des symptômes neurologiques tels que Guillain Barré, encéphalopathies et syndrome de Reye.

Chaque année, dans notre pays, entre 100000 et 300000 consultations médicales, entre 1000 et 5000 hospitalisations et pas moins de 400 à 1000 décès sont dus à l'épidémie de grippe hivernale (<http://bag.admin.ch>). Ces décès concernent surtout des personnes de plus de 65 ans, des patients déjà atteints de maladies cardio-pulmonaires et des enfants en

bas âge. Chez les jeunes adultes, une part importante de l'incapacité de travail est à mettre au compte de la grippe.

Les épidémies annuelles et le danger constant de pandémie constituent un problème de santé publique partout dans le monde (10). Rien qu'aux Etats-Unis, en 1990, les coûts liés à l'influenza étaient estimés à 3 à 5 milliards de dollars par année (4) et une projection réalisée en 1999 estimait les coûts d'une pandémie à 70 à 166 milliards de dollars(10). Pour ces raisons, les recherches visant à diminuer l'impact du virus sont très actives.

Parmi les méthodes pouvant contribuer à contrôler l'influenza, on peut citer la prévention de la transmission du virus par les personnes infectées, le contrôle du cheminement du virus et l'emploi optimal de la vaccination et du traitement médicamenteux.

En 1997, une étude réalisée à l'Hôpital Cantonal de Fribourg (2) concernant la vaccination contre la grippe en milieu hospitalier et par les médecins praticiens de la région avait montré un taux de couverture de la population à risque insuffisant. En effet, sur les 249 patients qui avaient une indication à la vaccination selon les recommandations 1996 de l'OFSP, seuls 8% (n=20) avaient été vaccinés à l'hôpital. Parmi les 229 patients non vaccinés à l'hôpital, 77 reçurent l'injection en ambulatoire (33%). Au total, seuls 38% des patients qui avaient une indication à la vaccination furent finalement vaccinés.

Concernant les causes de non vaccination, le refus du patient intervient dans 33% à 70% des cas selon les études (3, 18). Les raisons les plus souvent avancées par les patients refusant la vaccination sont : la peur des effets secondaires, une mauvaise expérience préalable, le sentiment de ne pas en avoir besoin à cause d'un bon état de santé habituel (19) et le sentiment que le vaccin n'est pas efficace (19, 20). L'oubli du médecin de proposer le vaccin intervient dans 20% (cabinet) à 75 % (hôpital) des cas (2).

Parmi les gens se faisant vacciner, les raisons les plus souvent données pour l'acceptation du vaccin sont : prévenir l'infection (62%) et la recommandation du médecin (40%) (19).

De ce fait, le développement de vaccins plus efficaces et mieux tolérés est souhaitable, puisque cela influencerait non seulement les causes principales de non vaccination chez le patient, mais aussi la prescription médicale, paramètre important pour l'acceptation.

Jusqu'en automne 2000, il existait 3 types de vaccins influenza : un vaccin à virus fragmenté (type Fluarix®), un vaccin à sous unités (type Influvac®), composé d'antigènes influenza purifiés, dont l'hémagglutinine (prédominant) et la neuraminidase. Les deux sont recommandés pour les individus de tout âge. Le troisième est un vaccin à virus

entier inactivé par la formaline, considéré comme étant le plus réactogène et recommandé par de nombreux pays seulement pour les adultes et les grands enfants.

Bien que ces vaccins soient efficaces, ils souffrent de plusieurs limitations. Par exemple, l'immunisation des enfants en bas âge requiert deux doses de vaccins séparés de 1-2 mois. Malgré cela, ils n'entraînent pas de réponse immune à long terme. La même observation peut être faite pour la vaccination des personnes âgées, chez lesquelles une seule dose est recommandée. Enfin, bien que ces vaccins soient en général bien tolérés, certaines réactions modérées à sévères (allergies aux protéines de l'œuf, milieu dans lequel sont cultivés ces vaccins) rendent impossible toute nouvelle vaccination du même type.

En Octobre 2000, un nouveau vaccin influenza administré sous forme de spray intranasal a été commercialisé en Suisse. Ce vaccin nous a semblé intéressant pour plusieurs raisons, évoquées plus haut : il est simple à réaliser, ne nécessite pas de geste invasif et semble induire une immunité au moins égale aux vaccins existants, avec l'avantage théorique de pénétrer à l'intérieur du corps par la même voie que le virus. De ce fait, il induit une immunité locale sous forme d'IgA, qu'on ne retrouve pas avec les vaccins classiques (17).

En effet, dans les études préalables concernant l'efficacité de ce vaccin, une substantielle augmentation des IgA spécifiques contre le virus influenza a été mise en évidence dans la salive (augmentation de plus de 4 fois) et dans des lavages du nez. Ceci n'est pas vrai pour les vaccins intramusculaires (11). L'élévation des IgG, par contre, a été identique dans les groupes vaccinés avec le vaccin intranasal ou intramusculaire.

Le nouveau mode d'administration par le nez représente un progrès technologique important et prometteur dans le domaine du développement de nouveaux vaccins. L'application d'un vaccin sur les muqueuses devrait d'une part aboutir à un meilleur effet protecteur grâce à l'immunité de la muqueuse induite localement, et d'autre part, mettre fin à certains problèmes logistiques liés à l'administration parentérale des vaccins. L'extension de la technologie aux vaccins universellement recommandés tels que celui contre la rougeole, pourrait représenter un grand pas dans le domaine de la prévention des maladies infectieuses.

Nous avons réalisé à Fribourg une étude sur la tolérance et les effets secondaires du nouveau vaccin influenza intranasal (Nasalflu® Berna Biotech), portant sur 520 sujets en bonne santé, issus principalement du milieu hospitalier, dans le cadre d'une étude multicentrique conduite en Suisse entre septembre et décembre 2000.

En 2003, soit trois ans après notre étude, un vaccin vivant, atténué, administré par voie intranasale a été commercialisé aux USA (FluMist®). C'est le seul vaccin avec lequel nous pourrions comparer nos effets secondaires locaux.

4. Structure et composition du Nasalflu®

Le Nasalflu® est un vaccin virosomique à sous-unités additionné d'un adjuvant HLT (Heat-labile toxine d'E. Coli).

Le virosome est composé d'un liposome, c'est-à-dire d'une sphère de phospholipides non immunogènes, qui facilite et prolonge la libération de substances actives à l'intérieur du corps. A cette structure sont incorporés des antigènes purifiés spécifiques du virus (sous-unités) comme l'hémagglutinine et la neuraminidase.

L'hémagglutinine (HA) permet au virus de se lier à des récepteurs spécifiques sur la surface cellulaire, ce qui entraîne une fusion endosomale du virion avec la membrane cellulaire. L'HA est ancrée dans la membrane virale par son segment hydrophobe. C'est ce même segment qui permet à l'antigène purifié de s'ancrer dans le liposome. Ceci permet au virosome d'imiter le virus dans sa rencontre avec le système immunitaire ou les cellules liant l'HA. La rapidité de fusion ainsi que la dépendance de la fusion au pH sont les mêmes pour le virosome que pour le virus (17).

La neuraminidase (NA) est une exoglycosidase qui hydrolyse l'acide sialique de n'importe quelle glycoconjugaison, y compris les glycoprotéines du virion lui-même. Elle favorise la libération du virus des cellules infectées. Une diminution de son activité conduit à une réduction de l'infectivité du virus. La NA est également ancrée dans le virus et le virosome par sa partie hydrophobe.

Afin d'accroître l'immunogénicité, un adjuvant est également introduit (E. coli Heat Labile Toxine [HLT]).

La HLT et la toxine du choléra (CT) sont très proches dans leur structure chimique et dans leur mécanisme d'action en tant qu'entérotoxines. Les deux sont de puissants immunogènes du muqueuses et induisent une forte réponse immune systémique et locale sous forme d'IgG et IgA quand elles sont appliquées au niveau oral ou nasal. Il a été démontré que l'adjonction d'une de ces toxines à un antigène inerte conduit à une forte réponse immune contre cet antigène. Les raisons exactes de ce mécanisme ne sont pas encore entièrement connues (21-23).

Bien que ces deux toxines se ressemblent, HLT est moins toxique chez les humains, chez les animaux et in vitro. De plus, CT tend à induire des anticorps de type IgE, raison pour laquelle on préfère généralement HLT comme adjuvant pour les muqueuses (23).

L'usage de telles toxines dans les vaccins oraux fait problème en raison de leur entérotoxicité. En application nasale, les risques sont en principe moindres car le dosage est beaucoup moins élevé et une grande partie de l'adjuvant se lie à la muqueuse nasale et n'atteint donc pas le tractus digestif. De plus, HLT est rapidement inactivé par l'acidité gastrique (23).

5. Matériel et méthodes

Il s'agit d'une étude prospective ouverte. Nous avons recruté 520 personnes en bonne santé de plus de 18 ans. Les volontaires étaient issus principalement du milieu hospitalier. L'étude a été conduite entre septembre et décembre 2000 et faisait partie d'une étude multi-centrique plus large, incluant 7 centres en Suisse.

Critères d'exclusion	Contre-indications à l'immunisation Maladie aiguë avec fièvre Histoire d'atopie sévère Vaccination influenza 2000-2001 préalable Immunodéficience connue Grossesse, allaitement
----------------------	--

Nous avons utilisé le vaccin Nasalflu® Berna Biotech, spray nasal (voir annexes) dont la composition était :

7.5µg A/New Caledonia/20/99-like (H1N1) 7.5µg A/Moscow/10/99-like (H3N2) 7.5µg B/Beijing/184/93 like Couplé au Virosome Adjuvant : 2µg E.coli toxine labile à la chaleur (HLT) PBS (phosphate buffered-saline) ad 200µl
--

Après avoir signé un formulaire de consentement éclairé, chaque participant a reçu 1 dose dans chaque narine au Jour 1 et au Jour 8. Les participants recevaient ensuite un agenda (voir pages 11 et 12) où ils devaient noter le nombre d'effets secondaires locaux et systémiques et en évaluer l'intensité sur une échelle allant de 0 à 3, selon le protocole suivant: 0 = aucun symptôme, 1 = léger = symptômes présents mais sans incidence sur le déroulement normal de la journée, 2 = modéré = symptômes interférant

avec le déroulement normal de la journée, 3 = important = symptômes rendant impossible le déroulement normal de la journée.

La durée des effets secondaires était également mentionnée.

Les effets secondaires évalués au niveau local étaient :

- sensation gênante au niveau du nez
- éternuements
- douleurs nasales
- obstruction nasale
- écoulement nasal

Au niveau systémique :

- état fébrile à > 38 degrés
- frissons
- inconfort/malaise
- diarrhées

Les sujets pouvaient également noter des effets secondaires non listés dans deux colonnes nommées « autres ». S'ils prenaient une médication pour l'un ou l'autre des effets secondaires, les probants étaient invités à les mentionner dans une colonne ad hoc.

L'agenda distribué à la première consultation était récolté lors de la deuxième consultation (J7 +/-1) et un nouvel agenda était distribué après avoir procédé à la deuxième dose de la vaccination. Le deuxième agenda était récolté 50 jours plus tard (+/- 7). La température corporelle était mesurée lors des deux premières consultations.

Lors de chaque récolte de questionnaire, les résultats étaient discutés avec le patient et l'investigateur devait évaluer la probabilité que l'effet secondaire en question soit dû au vaccin, sur une échelle de 1 (pas de relation) à 3 (probable). Pour cette raison, et afin de ne pas influencer le patient, l'investigateur n'avait pas le droit d'être vacciné avec ce vaccin.

Au cas où un sujet signalait des symptômes de grippe durant cette période de 50 jours, un frottis du nez et de la gorge était réalisé à la recherche du virus influenza.

Les probants ont reçu une indemnisation de 50 FS pour l'ensemble des 3 consultations.

La méthode statistique utilisée pour comparer les groupes hommes/femmes et plus ou moins 38 ans a été le test de Chi carré avec correction de Yates (CI = 95%).

Le protocole a été présenté au Comité Intercantonal d'Ethique Jura Fribourg Neuchâtel et a été approuvé le 14.9.2000.

Probanden-Nr.: [] [] [] [] [] [] [] []

Initialen: [] [] [] [] [] []

Zentrums-Nr.: [] [] [] [] [] []

REACTIONS SYSTEMIQUES (à remplir par le participant)

Appréciation*

0 = aucune Aucun symptôme

1 = légère Symptômes présents, mais sans incidence sur le déroulement normal de la journée

2 = modérée Symptômes interférant avec le déroulement normal de la journée

3 = importante Symptômes rendant impossible le déroulement normal de la journée

Jour de l'étude	Date jj/mm/aa	Etat fébrile (température >38.0°C)	Frissons 0/1/2/3*	Inconfort/ malaise 0/1/2/3*	Diarrhées 0/1/2/3*	Autres 0/1/2/3*	Autres 0/1/2/3*
Jour 8	[] [] [] [] [] [] [] []	°C					
Jour 9	[] [] [] [] [] [] [] []	°C					
Jour 10	[] [] [] [] [] [] [] []	°C					
Jour 11	[] [] [] [] [] [] [] []	°C					

MEDICAMENTS POUR LE TRAITEMENT DES EFFETS INDESIRABLES (A REMPLIR PAR LE PARTICIPANT)

Médicament (nom commercial):						
Date de début						
Date de fin						

ADVERSE EVENT EVALUATION (To be filled in by investigator)

Relationship to vaccine ^s	[]	[]	[]	[]	[]	[]
Outcome of AE ^s	[]	[]	[]	[]	[]	[]
Serious adverse event? If YES, please notify to SSVI	☐ Yes ☐ No	☐ Yes ☐ No	☐ Yes ☐ No	☐ Yes ☐ No	☐ Yes ☐ No	☐ Yes ☐ No

^sRelationship to vaccine: 0=not related/1=remote/2=possible/3=probable
For definitions see page opposite to page 6^sOutcome of AE: 1=recovered/2=alive with sequelae/3=still open/4=died

Date (DD/MM/YY) [] [] [] [] [] [] [] []

Investigator's signature

Probanden-Nr.: [] [] [] [] [] [] [] [] [] []

Initialen: [] [] [] [] [] [] [] [] [] []

Zentrums-Nr.: [] [] [] [] [] [] [] [] [] []

REACTIONS LOCALES (à remplir par le participant)

Appréciation*

0 = aucune Aucun symptôme

1 = légère Symptômes présents, mais sans incidence sur le déroulement normal de la journée

2 = modérée Symptômes interférant avec le déroulement normal de la journée

3 = importante Symptômes rendant impossible le déroulement normal de la journée

Jour de l'étude	Date jj/mm/aa	Sensation gênante niveau du nez 0/1/2/3*	Eternuements 0/1/2/3*	Douleurs nasales 0/1/2/3*	Obstruction nasale 0/1/2/3*	Ecoulement nasal 0/1/2/3*
Jour 8	[] [] [] [] [] [] [] [] [] []					
Jour 9	[] [] [] [] [] [] [] [] [] []					
Jour 10	[] [] [] [] [] [] [] [] [] []					
Jour 11	[] [] [] [] [] [] [] [] [] []					

MÉDICAMENTS POUR LE TRAITEMENT DES EFFETS INDESIRABLES (A REMPLIR PAR LE PARTICIPANT)

Médicament (nom commercial):

Date de début

Date de fin

ADVERSE EVENT EVALUATION (To be filled in by investigator)

Relationship to vaccine[§]☐☐☐☐☐Outcome of AE[§]☐☐☐☐☐

Serious adverse event?

If YES, please notify to SSVI

☐ Yes☐ No☐ Yes☐ No☐ Yes☐ No☐ Yes☐ No☐ Yes☐ No[§]Relationship to vaccine: 0=not related/1=remote/2=possible/3=probable

For definitions see page opposite to page 6

[§]Outcome of AE: 1=recovered/2=alive with sequelae/3=still open/4=died

Date (DD/MM/YY)

[] [] [] [] [] [] [] [] [] []

Investigator's signature

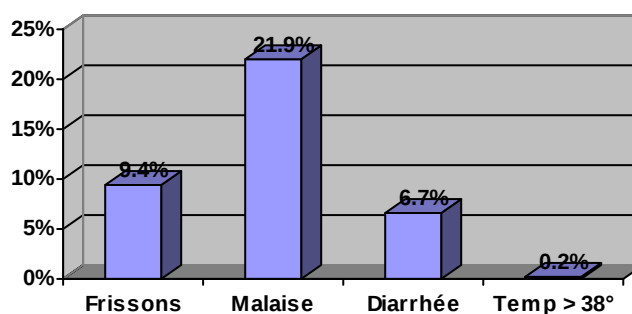
6. Résultats

Nous avons enrôlé 520 sujets. La moyenne d'âge a été de 38 ans (min 18, max 82), avec 1/3 d'hommes et 2/3 de femmes. Chez les hommes (n=165), la moyenne d'âge était de 41 ans, chez les femmes (n=355) de 37 ans.

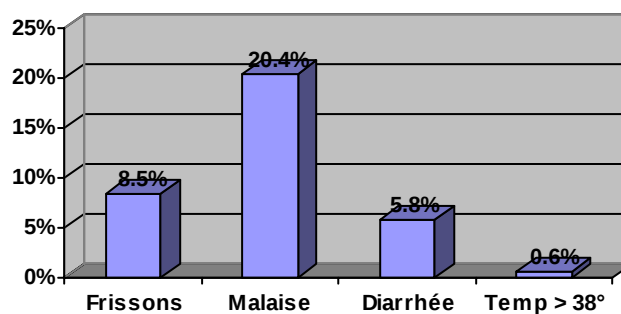
6.1. Nombre et type des effets secondaires

6.1.1. Au niveau systémique

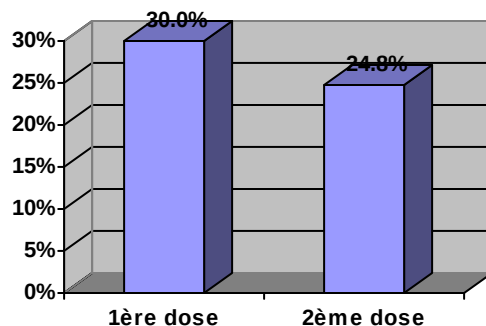
6.1.1.1. Effets secondaires systémiques après la 1^{ère} dose (n=520)



6.1.1.2. Effets secondaires systémiques après la 2^{ème} dose (n=514)



6.1.1.3. Sujets ayant eu au moins un effet secondaire systémique



6.1.1.4. Effets secondaires systémiques après la 1ère dose par sexe

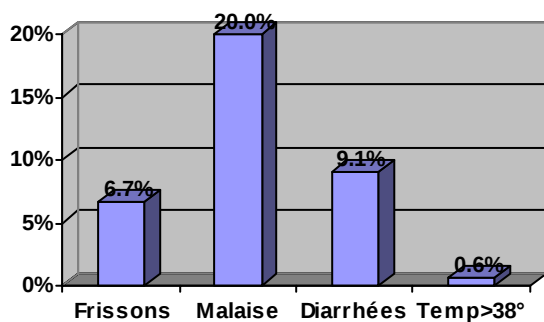


Figure 1 Hommes (n=165)

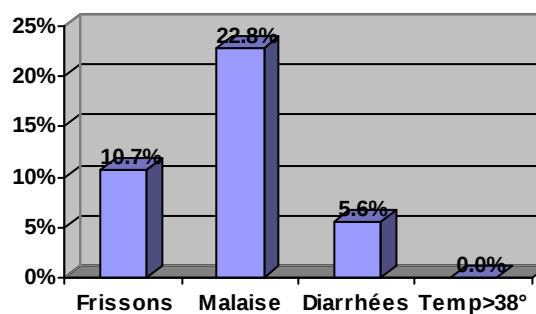


Figure 2 Femmes (n= 355)

6.1.1.5. Effets secondaires systémiques après la 2ème dose par sexe

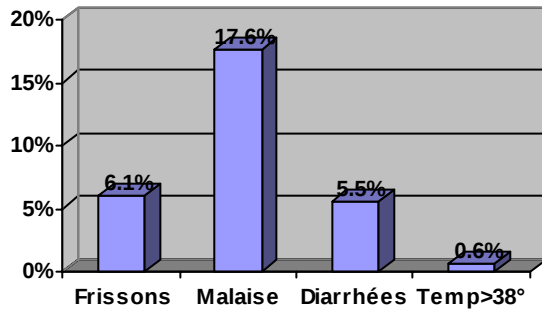


Figure 3 Hommes (n=163)

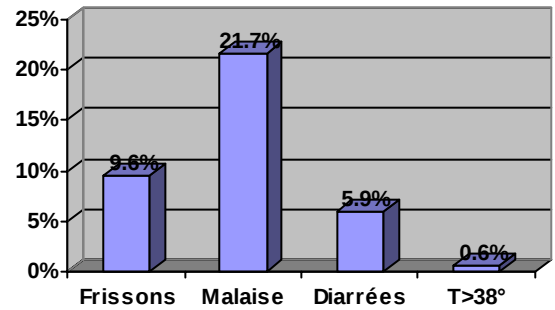


Figure 4 Femmes (n=351)

Le total des vaccinés ayant eu au moins un effet secondaire systémique après la 1^{ère} dose a été de 31.3% pour les femmes contre 27.3% pour les hommes ($p=0.41$). Lors de la seconde vaccination cette proportion a été respectivement de 27% pour les femmes contre 20% pour les hommes ($p=0.08$).

6.1.1.6. Effets secondaires systémiques après 1^{ère} dose par tranche d'âge

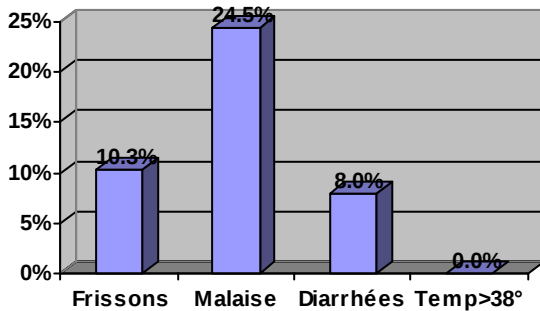


Figure 5 < 38 ans (n=261)

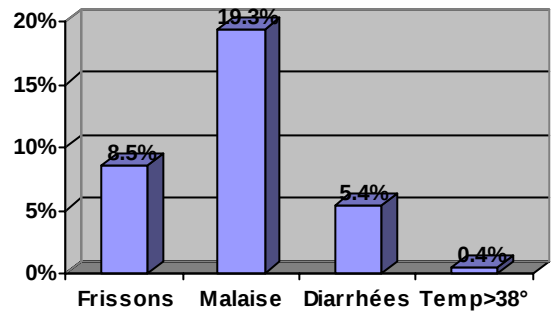


Figure 6 > 38ans (n=259)

Le total des vaccinés ayant eu au moins un effet secondaire systémique après la 1^{ère} dose a été de 33% pour les < de 38 ans et de 27% pour les > de 38 ans (p=0.16).

6.1.1.7. Effets secondaires systémiques après 2^{ème} dose par tranche d'âge

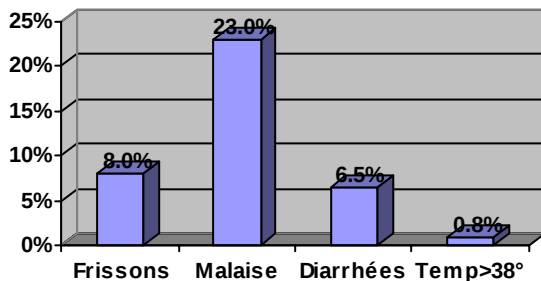


Figure 7 < 38 ans

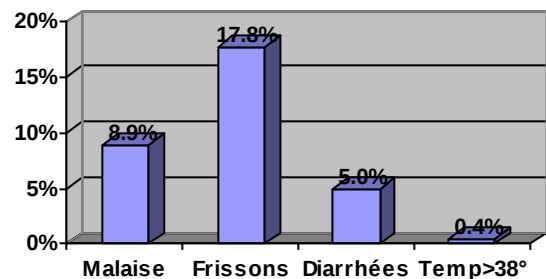


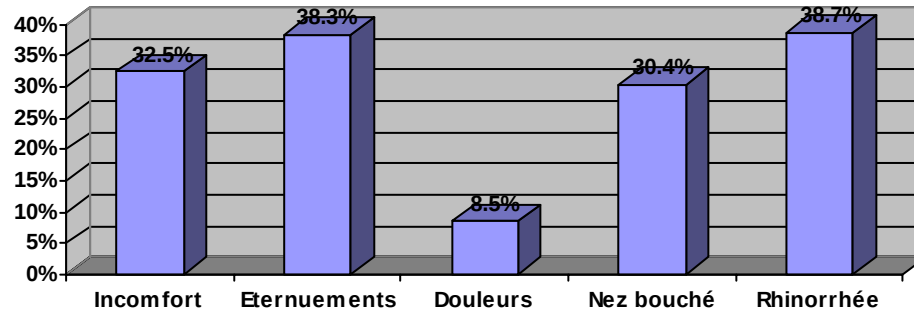
Figure 11 > 38ans

Le total des vaccinés ayant eu au moins un effet secondaire systémique après la seconde dose a été de 27.6% pour les < de 38 ans contre 22% pour les > de 38 ans (p=0.18).

L'effet secondaire systémique qui est apparu le plus souvent sous la rubrique « autre » a été des céphalées, mais dans une proportion de moins de 2%. Les myalgies venaient en deuxième position avec moins de 1%.

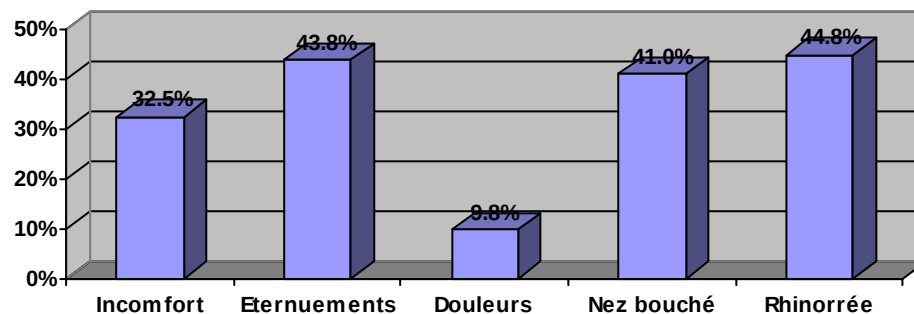
6.1.2. Au niveau local

6.1.2.1. Effets secondaires locaux après la 1^{ère} dose (n=520)



Le pourcentage des vaccinés ayant eu au moins un effet secondaire local lors de la première dose a été de 66%.

6.1.2.2. Effets secondaires locaux après 2^{ème} dose (n=514)



Le pourcentage des vaccinés ayant eu au moins un effet secondaire local lors de la seconde dose a été de 63.7%.

6.1.2.3. Effets secondaires locaux après 1^{ère} dose par sexe

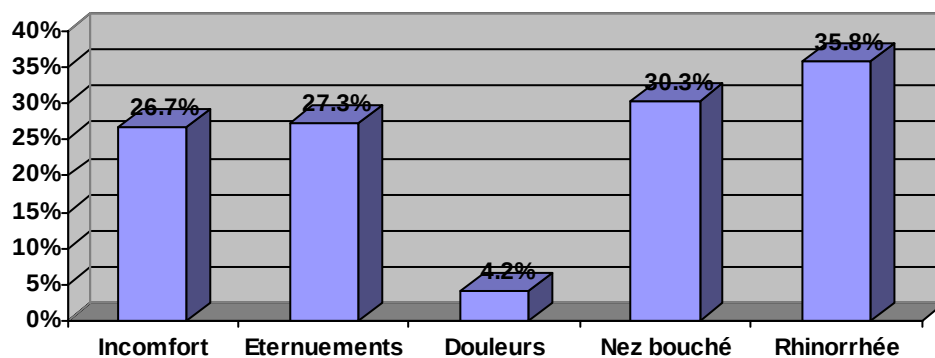


Figure 8 Hommes (n=165)

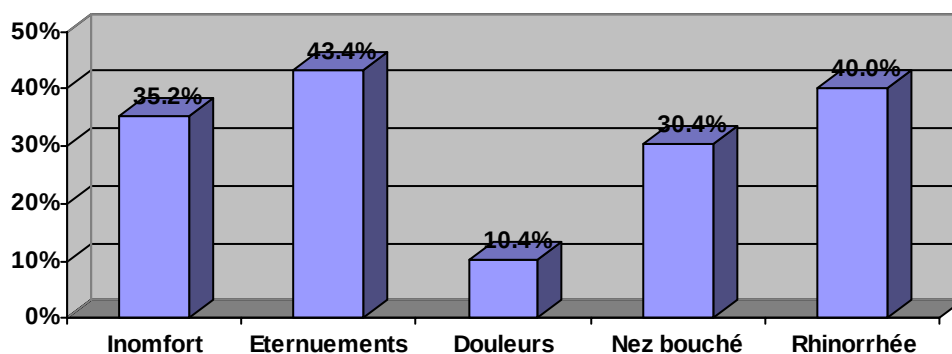


Figure 9 Femmes (n=355)

Le total des femmes ayant eu au moins un effets secondaire local après la 1^{ère} dose a été de 68.5% contre 60.6% pour les hommes ($p=0.08$)

6.1.2.4. Effets secondaires locaux 2^{ème} dose par sexe

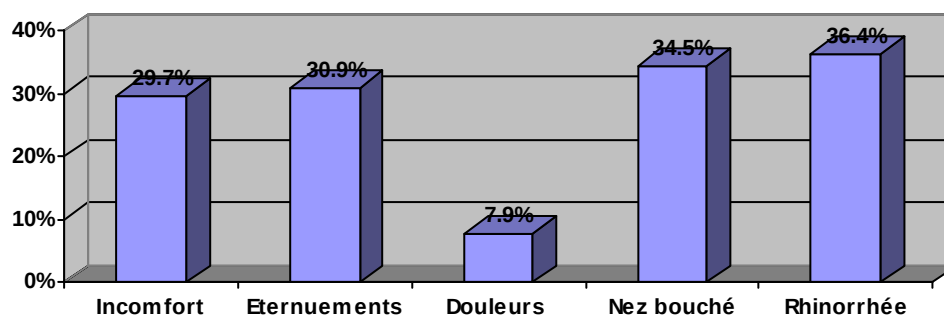


Figure 10 Hommes (n=163)

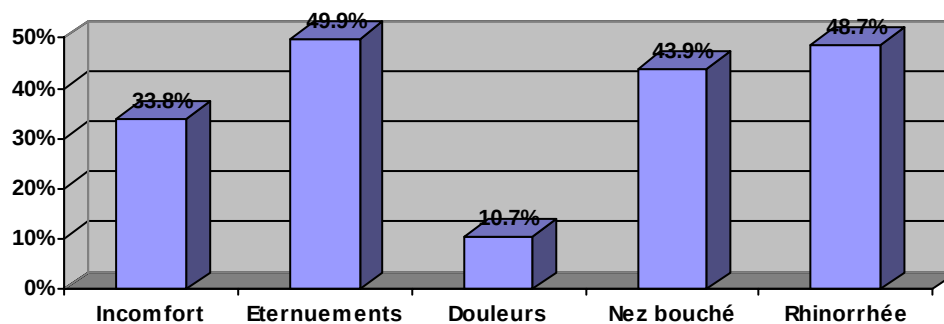


Figure 11 Femmes (n=351)

Le total des vaccinés ayant eu au moins un effet secondaire local lors de la 2^{ème} dose a été de 69.3% pour les femmes contre 51.5% pour les hommes ($p<0.001$)

6.1.2.5. Effets secondaires locaux après 1^{ère} dose par tranche d'âge

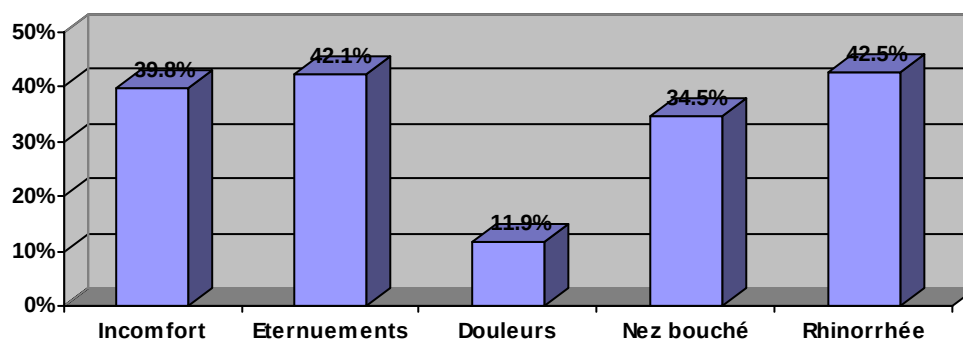


Figure 12 < 38 ans (n=261)

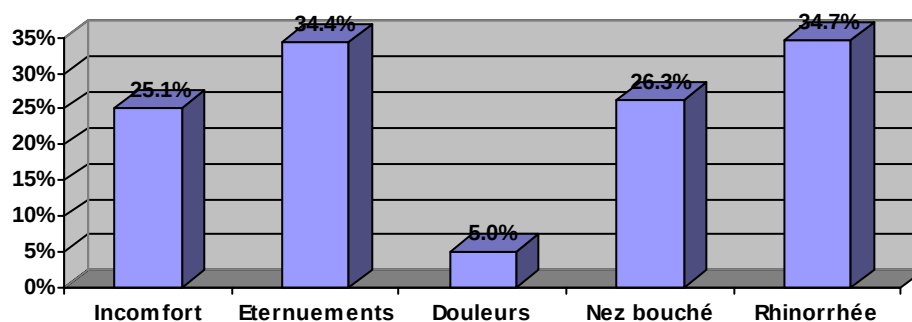


Figure 17 > 38 ans (n=259)

Le pourcentage des < 38 ans ayant eu au moins un effet secondaire local après la 1^{ère} dose a été de 69.3% et de 62.5% chez les > 38 ans ($p=0.10$).

6.1.2.6. Effets secondaires locaux après la 2^{ème} dose par tranche d'âge

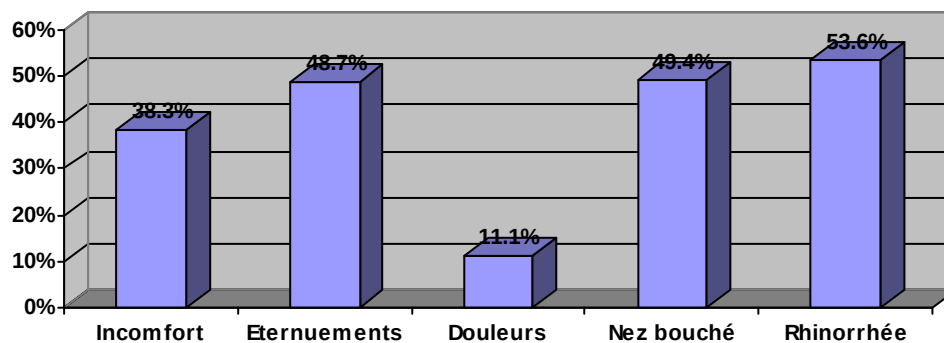


Figure 18 < 38 ans (n=258)

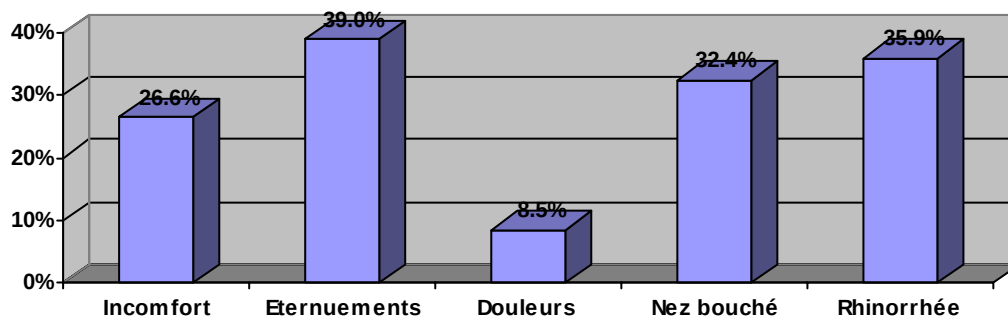


Figure 19 > 38 ans (n=256)

Le pourcentage total des vaccinés de < 38 ans ayant eu au moins un effet secondaire local après la 2^{ème} dose a été de 73.9% et de 53.3% chez les > 38 ans ($p < 0.001$).

6.2. Intensité et Durée des effets secondaires

6.2.1. Au niveau systémique

6.2.1.1. Après la 1^{ère} dose

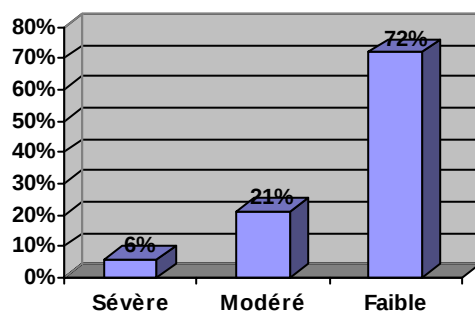


Figure 13 Intensité du malaise

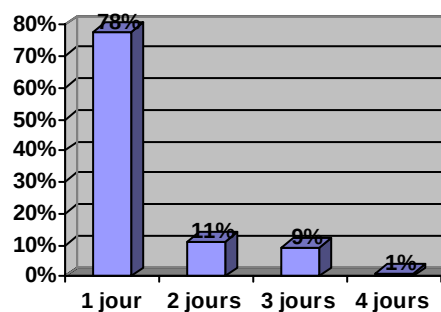


Figure 14 Durée du malaise

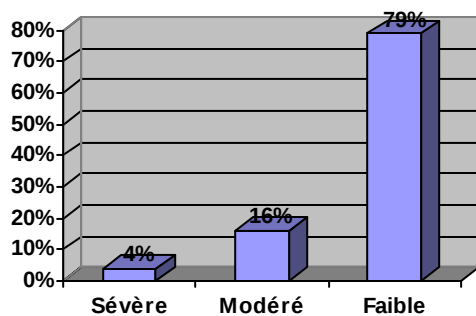


Figure 15 Intensité des Frissons

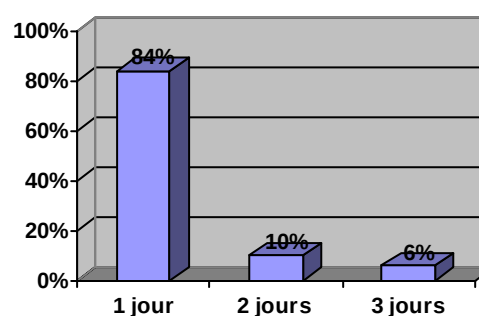


Figure 16 Durée des Frissons

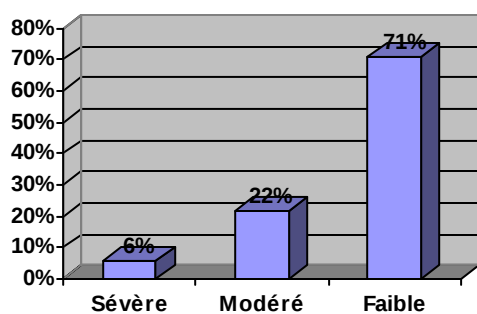


Figure 17 Intensité de la Diarrhée

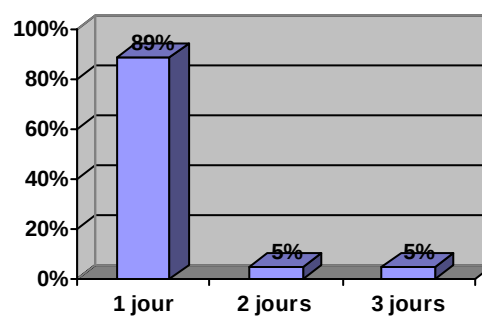


Figure 18 Durée de la Diarrhée

6.2.1.2. Après la 2^{ème} dose

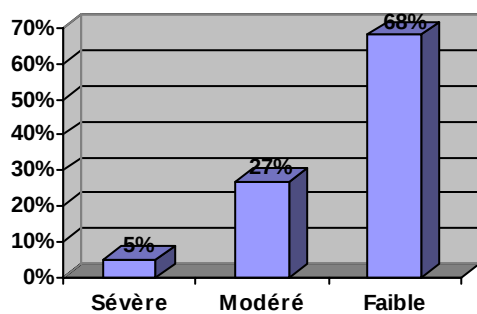


Figure 19 Intensité des Frissons

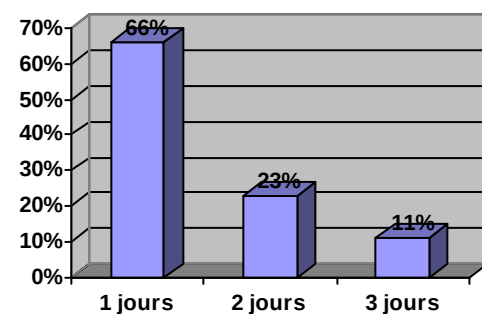


Figure 20 Durée des Frissons

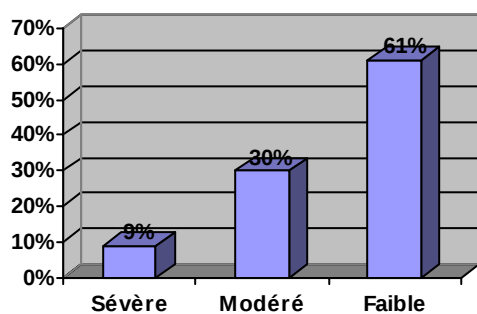


Figure 21 Intensité du Malaise

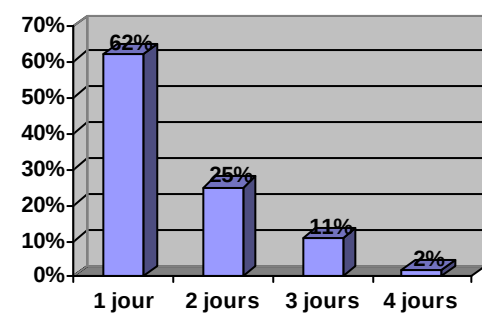


Figure 22 Durée du Malaise

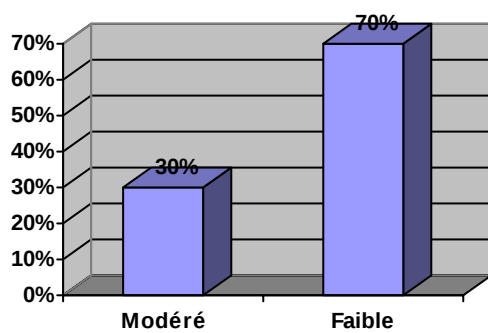


Figure 23 Intensité de la Diarrhée

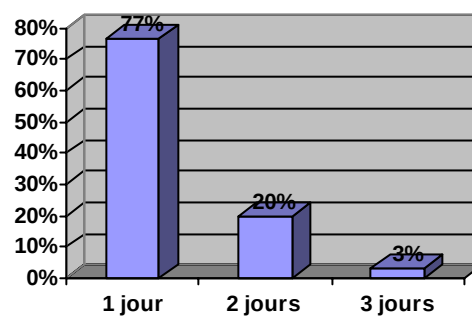


Figure 24 Durée de la Diarrhée

6.2.2. Au niveau local

6.2.2.1. Après la 1^{ère} dose

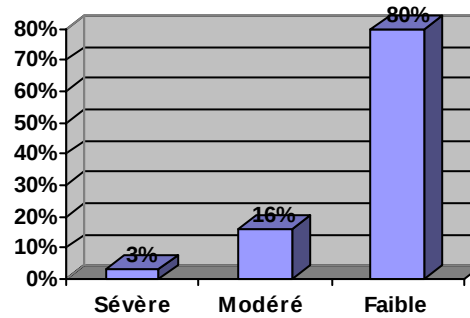


Figure 25 Intensité de l'Inconfort

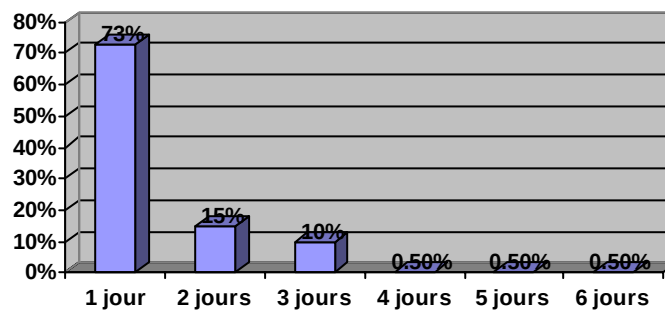


Figure 26 Durée de l'Inconfort

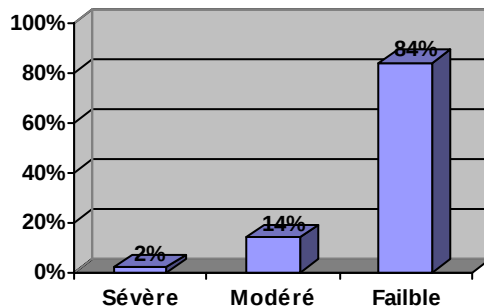


Figure 27 Intensité des Eternuements

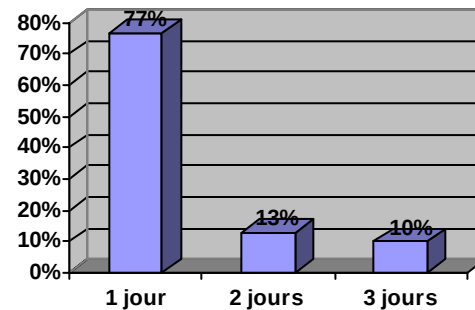


Figure 28 Durée des Eternuements

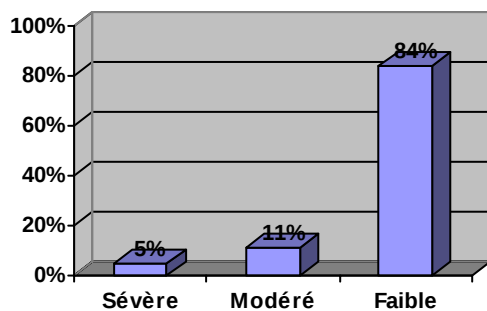


Figure 29 Intensité des Douleurs

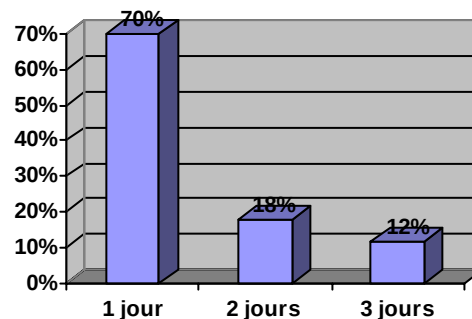


Figure 30 Durée des Douleurs

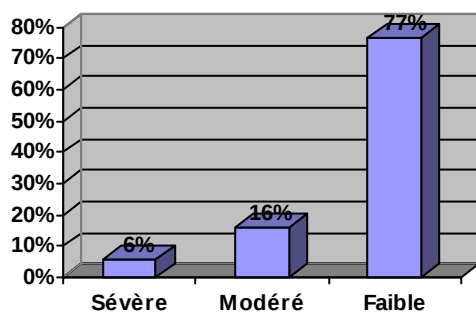


Figure 31 Intensité du Nez bouché

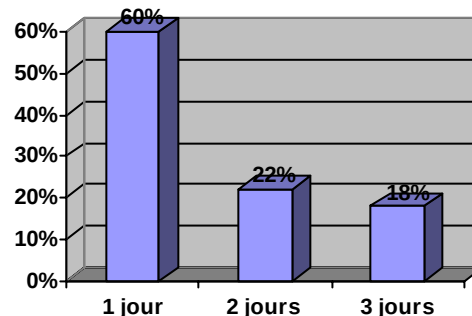


Figure 32 Durée du Nez bouché

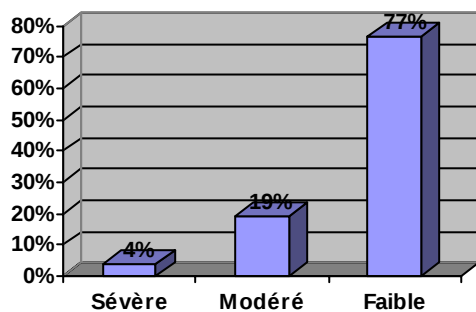


Figure 33 Intensité de la Rhinorrhée

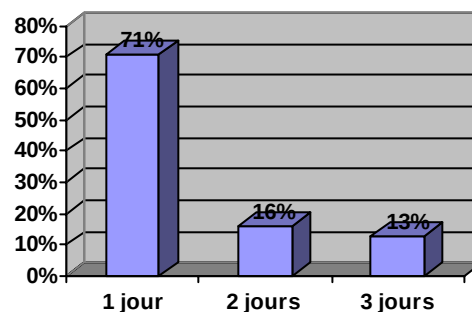


Figure 34 Durée de la Rhinorrhée

6.2.2.2. Après la 2^{ème} dose

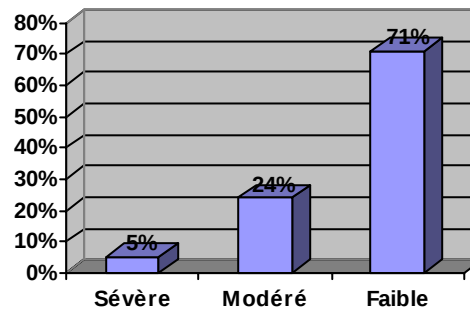


Figure 35 Intensité de l'Inconfort nasal

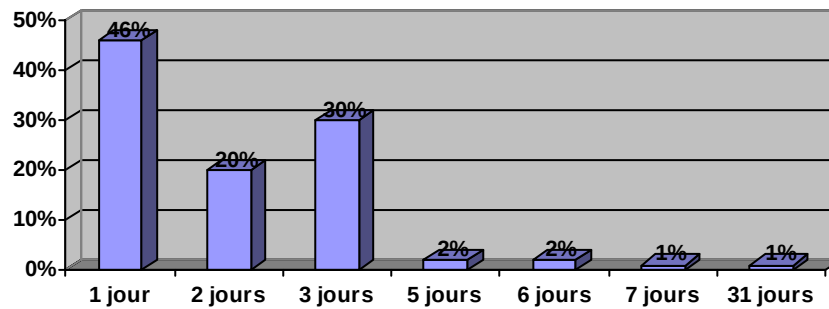


Figure 36 Durée de l'Inconfort nasal

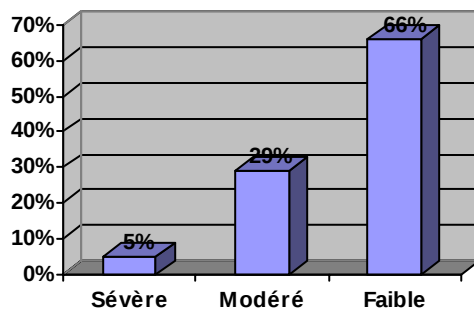


Figure 37 Intensité des Eternuements

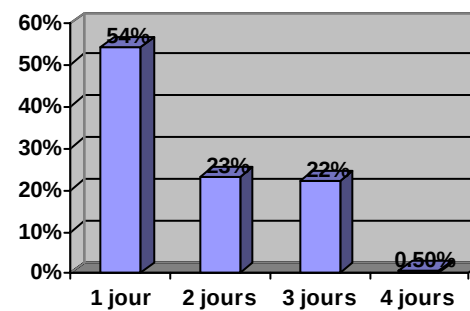


Figure 38 Durée des Eternuements

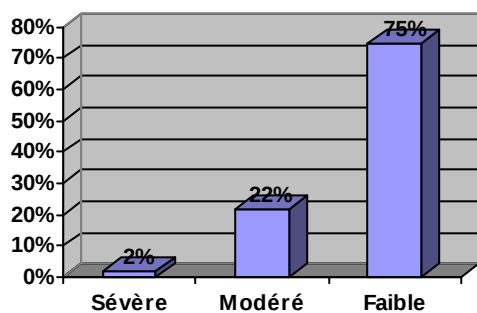


Figure 39 Intensité des Douleurs nasales

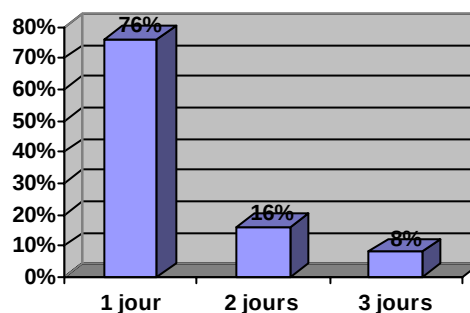


Figure 40 Durée des Douleurs nasales

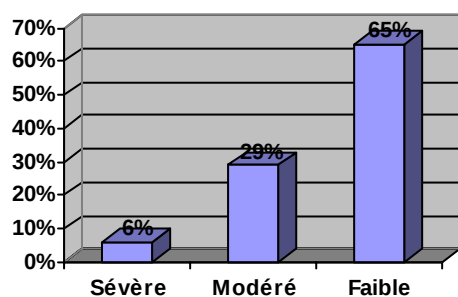


Figure 41 Intensité du Nez bouché

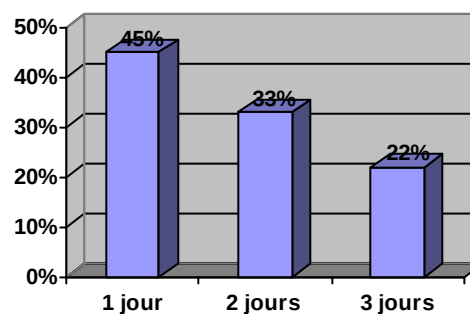


Figure 42 Durée du Nez bouché

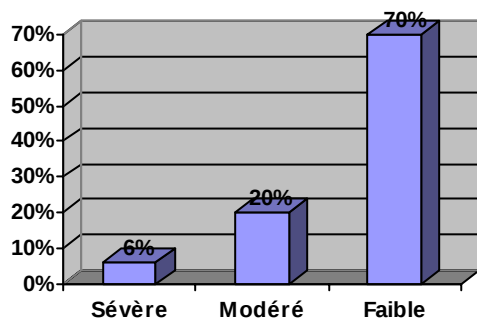


Figure 43 Intensité de la Rhinorrhée

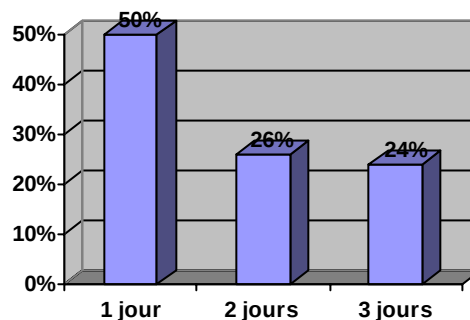


Figure 44 Durée de la Rhinorrhée

Au niveau local, les effets secondaires ont duré > 48h chez 28% des sujets après la 1^{ère} dose (35% après la seconde dose). Seuls 3,3% d'entre eux (respectivement 2.9%) ont eu des effets secondaires pendant > 4 jours.

Au niveau systémique, les effets secondaires ont duré > 48h chez 8% des sujets après la 1^{ère} dose (10% après la seconde dose). Seuls 1.3% d'entre eux (respectivement 1.2%) ont eu des effets secondaires durant > 4 jours.

Les frottis (n=4) réalisés à la recherche du virus influenza chez les sujets ayant rapporté un état grippal se sont révélés négatifs.

Il y a eu un effet secondaire sérieux : voir encadré.

Six patients (1%) ont décidé d'arrêter l'étude après la 1^{ère} dose du vaccin en raison de la sévérité des symptômes, cinq pour des symptômes locaux et un pour une diarrhée importante.

Enfin, 82% des patients ont déclaré lors de la troisième visite de contrôle être prêt à se refaire vacciner par spray nasal.

Effet secondaire sérieux

Nous avons déclaré un effet secondaire sérieux : il s'agit d'une paralysie faciale périphérique, dont l'apparition a été constatée 2 mois et demi après la seconde dose. Le sujet a été vacciné le 6 octobre et le 13 octobre. A l'évaluation finale du 20 novembre, aucun effet secondaire dû au vaccin n'est mis en évidence. Le 28 décembre, le sujet présente des paresthésies de la joue G et développe une paralysie faciale périphérique G avec anesthésie dès le 29.12. Les tests de laboratoire du 30.12 recherchant l'étiologie de cette paralysie se sont révélés négatifs (HSV, HIV, Borréliose, VDRL). Aucune imagerie n'a été réalisée. Un traitement de prednisone a été prescrit durant 5 jours (60 mg/j). Cette paralysie a régressé progressivement sur une durée d'environ un mois. Deux ans plus tard, il persiste toujours quelques séquelles sous forme de légère fonte musculaire de la paupière G avec clonus occasionnel, sans répercussion sur la vie quotidienne et l'aptitude au travail.

7. Discussion

Nous avons vacciné 520 personnes dont 450 appartenant au personnel de l'hôpital, incluant des retraités. Ceci représente une proportion importante par rapport aux autres années : sur la saison 2002-2003, par exemple, 186 personnes ont été vaccinées. Le succès de la campagne de la saison 2000-2001 est à mettre sur le compte de plusieurs facteurs : l'aspect « nouveau » du vaccin, le fait que le spray nasal a dû sembler une solution attrayante pour de nombreuses personnes du fait de l'absence de piqûre, la campagne « vigoureuse » qui a fait passer un médecin pour un exposé d'environ 10 minutes dans chaque unité de l'hôpital et enfin l'indemnisation de 50 FS.

La proportion hommes/femmes a été dans notre étude d'environ 1/3 hommes pour 2/3 de femmes, ce qui est représentatif de la répartition des sexes à l'Hôpital cantonal de Fribourg. La moyenne d'âge était de 38 ans et les personnes les plus âgées (max 82 ans) comptaient parmi le personnel retraité de l'hôpital.

Concernant l'analyse du nombre, du type ainsi que de la durée et de l'intensité des effets secondaires locaux, nous ne pouvons comparer nos données qu'avec un seul vaccin influenza intranasal, apparu sur le marché américain en 2003 (FluMist®, vaccin vivant, atténué). Il faut noter cependant que la littérature que nous avons pu trouver concernant le FluMist® ne permet pas d'être très précis concernant la différenciation des effets secondaires locaux (28,29).

Concernant les effets secondaires systémiques, nous comparons nos données avec ceux de toute la littérature existante pertinente, y compris le FluMist®.

Concernant les effets secondaires systémiques, le « malaise » est l'effet secondaire le plus souvent rapporté, aussi bien par les hommes que par les femmes, dans une proportion d'environ 20%. Dans la littérature concernant les vaccins parentéraux le malaise est cité dans 6 et 18% des cas (6,7,8). Pour le FluMist® ce chiffre s'élève à 25%. Les céphalées, qui arrivent en seconde position dans la littérature n'ont été que marginales dans notre étude, sans doute parce qu'il n'y avait pas de position précise pour cette plainte. En comparaison, les gens ayant reçu du FluMist® ont décrit des céphalées dans 16-44% des cas.

La diarrhée a été signalée dans environ 6% des cas, phénomène qui n'a jamais été signalé avec cette ampleur dans la littérature, où cette plainte n'apparaît en général même pas. Ceci est possiblement à mettre sur le compte de l'adjuvant utilisé avec ce vaccin (HLT), qui est une entérotoxine, et dont les doses demandent peut-être encore à être ajustées. Cet effet secondaire a été suffisamment important chez un des vaccinés pour qu'il décide d'abandonner l'étude.

Nous avons obtenu moins de 1% d'état fébrile, ce qui est conforme aux chiffres de la littérature (6,7)

Les femmes, avec 31.3% d'effets secondaires systémiques lors de la première dose contre 27.3% pour les hommes (27% contre 20% lors de la deuxième dose) ont été plus nombreuses à rapporter des effets secondaires. Cette différence n'a pas atteint des valeurs statistiquement significatives lorsque tous les effets secondaires sont regroupés.

Pour les effets secondaires locaux, cependant, cette différence a atteint des valeurs hautement significatives lors de la 2^{ème} dose ($p < 0.001$).

Ce phénomène a déjà été décrit dans la littérature (6,8). Une étude a montré des chiffres de 50% plus élevés chez les femmes que chez les hommes (6). Aucune explication convaincante à ce phénomène n'a été proposée, bien que des raisons hormonales soient souvent évoquées.

Nous trouvons également le même phénomène si l'on sépare les groupes selon l'âge, c'est-à-dire plus ou moins de 38 ans, moyenne d'âge de notre étude. Les plus jeunes décrivent plus d'effets secondaires systémiques : 33% versus 27% lors de la première dose et 27% versus 22% lors de la 2^{ème} dose (différence non significative).

Pour les effets secondaires locaux, cette différence atteint des valeurs statistiquement significatives lors de la deuxième dose: 73.9% pour les moins de 38 ans versus 53.3% pour les plus âgés ($p < 0.001$). Ce phénomène a aussi déjà été relevé dans la littérature (7,8), bien que les raisons n'en soient pas claires : seuil de rapport des symptômes plus bas, système immunitaire plus « réactif » sont évoquées.

La proportion de vaccinés ayant eu au moins un effet secondaire systémique lors de la première dose a été de 30%, contre 25% à la deuxième dose, ce qui peut probablement être expliqué par le design de l'étude (voir plus loin).

Concernant les effets secondaires locaux, les plus importants ont été rhinorrhée, nez bouché et éternuements, touchant environ 40% des sujets, et environ 10% de sujets se sont

plaintes de douleurs nasales. Ceci peut être comparé aux données concernant le FluMist® qui ont montré une rhinorrhée ou un nez bouché dans 28-78% des cas (28,29)

Au total, 66% des sujets ont mentionné un effet secondaire local lors de la première dose et 64% lors de la deuxième dose. Nous avons à nouveau trouvé la même tendance concernant le sexe et l'âge : les femmes ont eu plus d'effets secondaires que les hommes après chaque dose et les moins de 38 ans se sont plaint plus souvent que le groupe plus âgé.

Nous pouvons constater que la proportion de vaccinés ayant signalé au moins un effet secondaire est importante avec 30% des sujets ayant présenté au moins un effet secondaire systémique et 60% un effet secondaire local, mais ces valeurs sont comparables à celles trouvées dans la littérature concernant le vaccin intramusculaire. En effet, au niveau systémique ces valeurs sont comprises entre 10% et 35% et au niveau local entre 18% et 67% (6,7,8), à l'exception d'une étude de vaccination influenza intramusculaire réalisée uniquement sur un personnel hospitalier, qui avait montré des effets secondaires supérieurs tant au niveau local (87%) qu'au niveau systémique (49%) (24).

Notre étude montre donc plutôt une fréquence d'effets secondaires dans le haut de la fourchette si l'on tient compte des études englobant toute sorte de gens bien portant, mais une fréquence comparable, voire plus basse que la seule étude connue ayant été réalisée uniquement avec un personnel hospitalier.

Cela nous semble important, car il nous a semblé, sans pouvoir étayer ce fait, que le personnel de la santé était plutôt « suspicieux » et assez critique par rapport à la vaccination. Ceci est probablement dû au fait que les professionnels de la santé savent que tout traitement avec des effets positifs est souvent associé à des effets secondaires et qu'ils sont habitués à les rechercher. Ceci dit, la comparaison de nos résultats avec cette étude doit être faite très prudemment, d'une part parce qu'il s'agissait d'un vaccin différent et d'autre part parce que la récolte des renseignements avait été réalisée 48h après l'injection, ce qui a augmenté sa sensibilité.

Parmi les sujets ayant eu un effet secondaire systémique 70 à 80% l'ont considéré comme faible après la première dose. Cette proportion a oscillé entre 60 et 70% lors de la seconde dose, qui a donc été moins bien supportée. Nous pouvons noter que seul 4 à 6% des patients ont considéré l'effet secondaire systémique comme sévère.

Nonante pour cent des sujets ont eu des effets secondaires systémiques de moins de 48h, que ce soit après la 1^{ère} ou la 2^{ème} dose.

Parmi les sujets ayant eu un effet secondaire local, 70 à 80 % les ont classifiés comme faibles après la 1^{ère} dose, alors que cette proportion a été de 60-70% après la deuxième dose. A nouveau, la deuxième dose a été subjectivement moins bien supportée.

En considérant l'incidence, la durée et l'intensité des effets secondaires, nous remarquons que malgré leur fréquence élevée, leur durée (<48h dans 90% des cas) et leur intensité (faible dans 60 à 80% des cas) n'ont pas été assez fortes pour amener les sujets à renoncer à ce type de vaccination : 82% des sujets ont déclaré lors de la troisième visite de contrôle être prêts à se refaire vacciner selon cette méthode.

Six personnes ont décidé d'arrêter l'étude, 5 pour des effets secondaires locaux et 1 pour une diarrhée massive. Il apparaît donc que même si le vaccin a été bien supporté dans la grande majorité des cas, certaines personnes ont tout de même présentés des symptômes très gênants. Dans les discussions que nous avons eu avec Berna Biotec® par la suite, un des responsables nous a appris que la firme évaluait l'éventualité d'un surdosage du composant HLT.

Nous avons eu un effet secondaire sérieux sous forme d'une paralysie faciale périphérique, 2 mois et demi après la 2^{ème} dose. Au vu de la cinétique d'apparition, des différents tests de laboratoire et de l'évolution, il s'agit soit d'une paralysie idiopathique (a frigore) soit d'une pathologie en rapport avec la vaccination, même si le lien de cause à effet ne peut pas être prouvé. En fait, dans le cadre de l'étude multicentrique conduite en Suisse, il y a eu une dizaine de cas de paralysie faciale, ce qui a motivé ensuite la réalisation d'une étude d'incidence de cas par l'Institut de médecine sociale et préventive de Zürich pour la saison 2001-2002. En effet, on ne disposait, en Suisse, d'aucun relevé prospectif et permanent permettant une comparaison avec la fréquence de base des paralysies faciales (indépendamment d'une vaccination).

Sur la base de résultats intermédiaires de l'étude zurichoise le vaccin Nasalflu® a été retiré officiellement du marché suisse en juin 2002 et avait déjà été écarté de la vente pour la saison 2001/2002.

Cette étude d'analyse de cas et contrôlée est finalement parue en février 2004 (26). Tous les médecins de premier recours, ainsi que les ORL et neurologues de suisse allemande ont été contactés afin d'identifier les cas de paralysie de Bell chez les adultes entre le 1^{er} octobre 2000 et le 30 avril 2001. L'étude a montré une incidence de paralysie de Bell de 29 cas pour 100000 habitants par an. Le risque relatif dans le groupe vacciné par voie intranasal s'est élevé à 19 pour les trois mois suivant la vaccination. Le risque était le plus

élevé durant les jours 30 à 60 après le vaccination, mais était toujours très présent durant le troisième mois, ce qui correspond au cas que nous avons déclaré.

La cause et la pathogenèse de cette paralysie de Bell restent incertaines. Le résultat d'études animales a éveillé des doutes concernant l'adjuvant utilisé pour ce vaccin. En effet, la toxine HLT pourrait être un médiateur inflammatoire, bien que la recherche pré clinique sur ses caractéristiques toxicologiques ne supporte pas cette hypothèse. De même aucune toxicité neurologique de cette substance chez les humains n'a jamais été décrite (27). Des études ultérieures seront donc nécessaires.

Concernant le design de l'étude, un groupe contrôle recevant le vaccin par voie intramusculaire et un groupe placebo auraient été utiles pour pouvoir mieux différencier les effets secondaires systémiques propres du vaccin par rapport au vaccin injecté et nous auraient permis de différencier ces effets secondaires, par nature peu spécifiques, de ceux engendrés par l'effet placebo.

Un autre groupe contrôle aurait également pu être conduit l'année suivante afin de pouvoir comparer objectivement les facteurs conduisant à l'acceptation du vaccin chez les professionnels de la santé. En effet, à l'hôpital de Zürich durant la même année, la simple mise à disposition du vaccin nasal (sans campagne particulièrement marquée) n'a pas accru la couverture vaccinale. La campagne intensive menée à l'hôpital de Fribourg, ainsi que l'indemnisation financière a donc dû jouer un rôle important dans l'acceptation du vaccin cette année là. La couverture vaccinale ayant quasiment triplé dans notre hôpital l'année de l'étude, il se pose dès lors la question de savoir s'il ne serait pas cost-effective de rétribuer le personnel pour se faire vacciner !

La récolte des questionnaires aurait pu être plus homogène. En effet, le 1^{er} questionnaire a été récolté à J7, c'est-à-dire très proche du premier push nasal. Les effets secondaires ont dès lors pu être surestimés. Le deuxième questionnaire a été récolté à J50, c'est-à-dire plus d'un mois après le deuxième push nasal. Même si les sujets devaient remplir le questionnaire immédiatement, dans les jours qui suivaient la vaccination, un bon nombre d'entre eux l'ont complété juste avant de le rendre, c'est-à-dire à J50. De cette manière, seuls les effets secondaires qui ont « marqué » le sujet ont été rapportés. Ceci pourrait expliquer le nombre plus bas d'effets secondaires rapportés lors de la 2^{ème} vaccination.

Il est étonnant que très peu de personnes (n=4) aient rapportés une maladie virale ayant permis de procéder à un frottis nasal et de gorge à la recherche de l'influenza. Il est fort probable que bien plus de sujets ont présenté une symptomatologie d'atteinte virale des voies aériennes supérieures durant le temps de notre étude. La symptomatologie qui aurait dû aboutir à effectuer un frottis n'a peut-être pas été assez bien expliquée. D'autre part, la

nature des symptômes, souvent ressentie comme banale, n'a pas dû être jugée assez importante pour la rapporter. Enfin, le fait qu'ils devaient se déplacer pour venir faire le frottis a dû décourager de nombreuses personnes.

8. Conclusions

Le concept de la vaccination intranasale nous a semblé intéressant : d'une part l'induction de l'immunité semble plus physiologique avec une stimulation conduisant à une production locale d'IgA. D'autre part, ce mode d'administration pourrait être dans le futur une alternative valable à la vaccination intramusculaire et la recherche est vive dans ce sens, comme le démontre la mise sur le marché d'un autre vaccin intranasal contre la grippe introduit aux USA en 2003.

Concernant les effets secondaires systémiques, nos données montrent que nous nous trouvons dans la même moyenne que les autres types de vaccins contre la grippe. Seule la diarrhée a été un effet secondaire « original » de notre étude, à mettre probablement sur le compte de l'adjuvant utilisé (HLT).

Pour les effets secondaires locaux notre vaccin semble se trouver dans la même fourchette que celui introduit récemment aux USA, le seul avec lequel nous ayons pu comparer nos données.

Nous avons pu mettre en évidence une fréquence supérieure d'effets secondaires chez les femmes et chez les gens de moins de 38 ans. Ceci confirme les résultats d'anciennes études sur les effets secondaires de la vaccination intramusculaire contre la grippe.

Malgré une incidence d'effets secondaire relativement élevée, nous devons tenir compte de leur type, de leur durée et de leur sévérité pour comprendre que 82% des sujets ont déclaré être prêts à se revacciner.

Pour le moment, cependant, la composition du vaccin pose des problèmes avec notamment un lien prouvé avec des paralysies faciales périphériques. Ceci devrait conduire à de nouvelles recherches et à une correction de la formule employée dans les années à venir.

9. Références

- 1) S Zimmerli, K Mühlemann, La prévention de la grippe aujourd'hui, Bulletin des médecins suisses, Vol 82, No 39 (2071-2076), 2001
- 2) S Moirandat, C Chuard, C Regamey, Vaccination contre la grippe en milieu hospitalier et par les médecins praticiens à Fribourg en 1997: faits et opinions, Schweiz Med Wochenschr, 130, (349-55), 2000
- 3) N G Fiebach, C M Viscoli, Patient acceptance of influenza vaccination, Am. Journal of Med, Vol 91, (393-400), 1991
- 4) B N Doebbeling, R R Zeitler, Influenza vaccination of health care workers: evaluation of factors that are important in acceptance, Preventive Medicine 26, (58-77), 1997
- 5) G B Chapman, EJ Coups, Predictors of influenza vaccine acceptance among healthy adults, Preventive Medicine 29, (249-262), 1999
- 6) T M E Govaert, J A Knottnerus, Adverse reactions to influenza vaccine in elderly people : randomised double blind placebo controlled trial, BMJ, 307 (988-90), 1993
- 7) K L Margolis, R P Lofgren, Frequency of adverse reactions after influenza vaccination, The American Journal of Medicine, Volume 88, 1990
- 8) K L Nichol, M Drake, Side effects associated with influenza vaccination in healthy working adults, a randomized, placebo-controlled trial, Arch Intern Med/ Vol 156, 1996
- 9) C B Bridges, K Fukuda, Effectiveness and cost-benefit of influenza vaccination of healthy working adults, a randomized controlled trial, JAMA, Vol 284, No 13, 2000
- 10) S C Wood, C Schmidt, Economic evaluations of influenza vaccination in healthy working-age adults Pharmacoeconomics, Aug: 18(2), (173-183), 2000
- 11) R Glück, Review of intranasal influenza vaccine, Advanced Drug Delivery Reviews, 51, (203-211), 2001

- 12) R B Couch, Prevention and treatment of influenza, NEJM, Vol 343, No 24, 2000
- 13) UBSchaad, R Glück, Comparison of immunogenicity and safety of a virosome influenza vaccine with those of a subunit influenza vaccine in pediatric patients with cystic fibrosis, Antimicrob. Agents Chemother., Vol 44, No 5, (1163-1167), 2000
- 14) K L Nichol, M Hauge, Influenza vaccination of healthcare workers, Infect. Control Hosp. Epidemiol., 18(3), (189-194), 1997
- 15) W F Carman, DJ Stott, Effects of influenza vaccination of health-care workers on mortality of elderly people in long-term care: a randomized controlled trial, Lancet, 355(9198), (93-7), 2000
- 16) K L Nichol, M Drake, The effectiveness of vaccination against influenza in healthy working adults, NEJM, Vol 333, No 14, (889-893), 1995
- 17) R Glück, Intranasal immunization against influenza, Journal of aerosol medicine, Vol 15, No 2 (221-228), 2002
- 18) X T Costa, The evaluation of non-compliance in an anti-influenza vaccination program, Aren Primaria, Vol 8 (544-548), 1991
- 19) K L Nichol, The effectiveness and cost effectiveness of vaccination against influenza among elderly people living in the community, N Engl J Med, Vol 331, (778-784), 1994
- 20) JA Wilde, Effectiveness of influenza vaccine in health care professionals, JAMA Vol 281, (908-913), 1999
- 21) Y Hagiwara, S Tamura, Mutants of cholera toxin as an effective and safe adjuvant for nasal influenza vaccine, Vaccine, Vol 17, (2918-2926), 1999
- 22) K Matsuo, S Tamura, Induction of innate immunity by nasal influenza vaccine administered in combination with an adjuvant (cholera toxin), Vaccine, Vol 18 (2713-2722), 2000
- 23) MG Cusi, R Glück, Immunopotentiating of mucosal and systemic antibody responses in mice by intranasal immunization with HLT-combined influenza virosomal vaccine, Vaccine, Vol 18 (2838-2842), 2000

- 24) DW Scheifele, G Bjornson, J Johnston, Evaluation of adverse events after influenza vaccination in hospital personnel, CMAJ, 142(2), (127-130), 1990
- 25) S Harper, K Fukuda, Using live, Attenuated Influenza Vaccine for Prevention and Control of Influenza, CDC, MMWR, Vol 52, 2003
- 26) M Mutsch, W Zhou, Use of the inactivated intranasal influenza vaccine and the risk of Bell's Palsy in Switzerland, NEJM, 350;9, 2004
- 27) TE Linder, Bell's Palsy still a mystery?, Otol Neurol, 23, 2002
- 28) KL Nichol, PM Mendelman, Effectiveness of live, attenuated intranasal influenza virus vaccine in healthy, working adults; a randomized, controlled trial, JAMA, 281:137-144, 1999
- 29) JC King, J Treanor, Comparison of the safety, vaccine virus shedding and immunogenicity of influenza virus vaccine, trivalent, types A and B, live cold-adapted, administered to human immunodeficiency virus (HIV)-infected and non HIV-infected adults, J Infect Dis, 181,725-8, 2000