



**TLEMCEM**

Numéro d'ordre : \_\_\_\_\_

**UNIVERSITE DE TLEMCEM – ABOU-BEKR BELKAÏD**

**FACULTE SNV-STU - DEPARTMENT DE BIOLOGIE**

**LABORATOIRE DE BIOLOGIE MOLECULAIRE APPLIQUEE ET IMMUNOLOGY -  
BIOMOLIM**

**MEMOIRE**

**Présenté pour obtention du grade**

**Master en Sciences Biologiques**

**Spécialité Immunologie**

Par :

**MOUZOUNA Kawther**

**Soutenu le 25 Juin 2023**

**Thème :**

**Effet adjuvant de la bromélaïne sur le burst oxydatif des cellules mononuclées du  
sang périphérique traitées par le BCG**

————— ***Sous la direction du Professeur Mourad ARIBI*** —————

**Jury**

<b>Pr. Ismate SMAHI</b>	Prof.	Université de Tlemcen, Algérie	President
<b>Pr. Mourad ARIBI</b>	Prof.	Université de Tlemcen, Algérie	Directeur de thèse
<b>Dr. Maroua MILIANI</b>	MCB	Université de Tlemcen, Algérie	Examinatrice
<b>Dr. Wafa NOUARI</b>	MCB	Université de Tlemcen, Algérie	Examinatrice

25 Juin, 2023

## Remerciements

Après avoir rendu grâce à Dieu le tout puissant et miséricordieux,

Je tiens à remercier le directeur de laboratoire Monsieur le Professeur Mourad ARIBI d'avoir accepté de m'encadrer et de m'avoir ouvert la porte de son laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée et d'immunologie (BIOMOLIM).

Je tiens à remercier les membres du jury, d'avoir accepté de juger ce travail, malgré leurs obligations professionnelles.

Je remercie aussi tous les membres du laboratoire de BIOMOLIM. Un merci bien particulier est adressé également aux doctorantes Soumeya BENAMAR, Houria BENARRADJ, DAHOU Sara et Souad ZOUDJI et Madame MESSALI Rabiaa, pour ses remarques, ses directives. Je tiens à lui exprimer mes sincères remerciements pour son suivi et ses orientations inconditionnelle pendant des mois.

Je désire aussi d'exprimer ma reconnaissance envers les collègues de ma promotion de master immunologie un par un pour pendant 2 années de Master et spécialement Lamis, Zineb et Rahma.

## Dédicaces

Je dédie ce mémoire

À l'ancre de ma vie, « BaBa'ty » qui a été le bras plus réconfortant que ceux d'une autre personne.

À ma Mère,

J'ai toujours été en paix à cause de la façon dont tu m'as traité.

À mon cher frère,

Qui m'a soutenu et encouragé durant toute ma vie.

À mon âme sœur « Siya »,

Merci de me prêter ton épaule quand j'en ai besoin et me donner la petite pousse dont j'ai besoin pour continuer d'avancer.

À mon oncle « Mohammed »,

Mon premier partisan dans mon étude dans ma grande famille.

À toutes mes amies : Imène, Douaa ,Chaima, Souhyr, sans exception je présente mes sincères remerciements et mon respect, je suis fière d'avoir des personnes comme vous dans ma vie.

## Table des matières

<b>LISTE DES FIGURES .....</b>	<b>VIII</b>
<b>LISTE DES TABLEAUX .....</b>	<b>IX</b>
<b>LISTE DES ABREVIATIONS .....</b>	<b>X</b>
<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>1</b>
<b>I.1. VACCINOLOGIE .....</b>	<b>2</b>
<b>I.2.HISTORIQUES SUR LA VACCINATION.....</b>	<b>3</b>
I.2.1. LA RECHERCHE ET DEVELOPPEMENT POUR LA REALISATION DES VACCINS .....	3
I.2.2. DES RAPPELLES IMMUNOLOGIQUES.....	4
<i>I.2.2.1. Définition de la vaccination .....</i>	<i>5</i>
<i>I.2.2.2. Définition de la sérothérapie.....</i>	<i>5</i>
I.2.3. VACCIN ET SYSTEME IMMUNITAIRE .....	5
I.2.4 CARACTERISTIQUE DE LA PROTECTION INDUITE PAR VACCIN .....	6
<b>I.3. L'ADJUVANT .....</b>	<b>6</b>
I.3.1. MECANISME D'ADJUVANTICITE.....	7
I.3.2. INTERET ET CHOIX.....	7
I.3.3. LES DIFFERENTS TYPES D'ADJUVANTS.....	8
<b>I.4. BCG.....</b>	<b>8</b>
I.4.1. LES CONNAISSANCES ANTERIEURES A LA DECOUVERTE DE BCG.....	8
I.4.2. DEFINITION.....	9
I.4.3. SUR LA FABRICATION DE BCG.....	9
<i>I.4.3.1. Adjuvants utilisés dans les vaccins contre la tuberculose.....</i>	<i>10</i>
I.4.4. COMMENT AGIT LE BCG ?.....	11
<i>I.4.4.1. BCG et Monocytes.....</i>	<i>12</i>
I.4.5. LE REVERS DU VACCIN BCG .....	12
I.4.6. LE CARACTERE EFFECTIF DE LA BCG .....	13
<b>I.5. LA BROMELAÏNE.....</b>	<b>13</b>
I.5.1. DEFINITION DE LA BROMELAÏNE .....	13
I.5.2. CARACTERISTIQUE BIOCHIMIQUE .....	13
I.5.3. LES ATOUTS DE LA BROMELAÏNE .....	14
I.5.4. L'UTILITE DE LA BROMELAÏNE.....	14
<b>I.6. BURST OXYDATIF .....</b>	<b>15</b>
I.6.1. DEFINITION.....	15
I.6.2. MPO .....	15
I.6.3. HOCL.....	15
I.6.4. H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	16
I.6.5. MPO-H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> -SYSTEME DE CHLORURE .....	16
I.6.6. LES MONOCYTES .....	17
<b>I.7. PROBLEMATIQUE ET OBJECTIFS.....</b>	<b>19</b>
I.7.1. PROBLEMATIQUE .....	19
I.7.2. OBJECTIFS .....	19
I.7.3. BUT.....	19
<b>II. MATERIEL ET METHODES.....</b>	<b>19</b>
II.2. RECUPERATION DU SANG .....	<b>ERREUR ! SIGNET NON DEFINI.</b>
II.3. ISOLEMENT DE PBMC .....	<b>ERREUR ! SIGNET NON DEFINI.</b>

II.4. CULTURE CELLULAIRE .....	ERREUR ! SIGNET NON DEFINI.
APRES 24H, .....	ERREUR ! SIGNET NON DEFINI.
II.5. DETERMINATION DES METHODES MIS EN ŒUVRE.....	ERREUR ! SIGNET NON DEFINI.
II.5.1. Dosage de HOCl.....	Erreur ! Signet non défini.
II.5.2. Dosage de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	Erreur ! Signet non défini.
II.5.3. Dosage des Protéines Totales.....	Erreur ! Signet non défini.
II.4.4. Dosages d'activité MPO .....	Erreur ! Signet non défini.
II.6. ANALYSE STATISTIQUE DES RESULTATS.....	ERREUR ! SIGNET NON DEFINI.
III. RESULTATS ET INTERPRETATIONS .....	24
III.1. Détermination d'effet adjuvant de la bromélaïne au BCG sur HOCl .....	Erreur ! Signet non défini.
III.2. Détermination d'effet adjuvant de la bromélaïne au BCG sur H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	Erreur ! Signet non défini.
III.3. Détermination d'effet adjuvant de la bromélaïne au BCG sur MPO.....	Erreur ! Signet non défini.
IV. DISCUSSION .....	ERREUR ! SIGNET NON DEFINI.
V. CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES .....	25

## RESUME

Des observations récentes montrent que la bromélaïne pouvant avoir un exceptionnel effet adjuvant sur des préparations vaccinales. Sachant que les adjuvants pourraient remanier les défenses antimicrobiennes cellulaires en accentuant les effets du vaccin sur les cellules immunitaires, nous avons examiné l'effet de la bromélaïne sur le burst oxydatif des cellules mononuclées du sang périphérique traitées par le BCG.

Les PBMCs ont été isolées à partir du sang périphérique de donneurs sains. L'effet de la broméline sur le burst oxydatif a été déterminé par la mesure de la production d'acide hypochloreux (HOCl) et le taux de peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), ainsi que l'activité enzymatique de la myéloperoxydase (MPO) des PBMCs traitées ou non par BCG.

La bromélaïne pourrait induire une meilleure défense immunitaire antibactérienne médié par le burst oxydative des PBMCs traitées par le BCG, tout en augmentant le taux de HOCL, un puissant antimicrobien, et en maintenant l'activité MPO cellulaire.

**Mots clés :** Bromélaïne, BCG, PBMCs, burst oxydatif, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, HOCL, MPO, vaccin.

## **Abstract**

Recent observations show that bromelain can have an exceptional adjuvant effect in vaccine preparations. Since adjuvants may alter cellular antimicrobial defense by enhancing effects of the vaccine on immune cells, we have investigated the effect of bromelain on oxidative burst of peripheral blood mononuclear cells treated with BCG.

PBMCs were isolated from peripheral blood of healthy donors. The effect of bromelaine on oxidative burst was determined by measuring the production of hypochlorous acid (HOCl) and the level of hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), as well as the enzymatic activity of Myeloperoxidase (MPO) of the PBMCs treated or not with BCG.

Bromelain could induce a better antibacterial immune defense mediated by the oxidative burst on BCG-treated PBMCs, while increasing the level of HOCL, a powerful antimicrobial, and maintaining cellular MPO activity.

**Keywords:** Bromelain, BCG, PBMCs, oxidative burst, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, HOCL, MPO, vaccine.

## ملخص

تظهر الملاحظات الأخيرة أن البروميلين يمكن أن يكون له تأثير مساعد استثنائي في تحضيرات اللقاح. نظرًا لأن المواد المساعدة قد تغير الدفاع الخلوي المضاد للميكروبات من خلال تعزيز تأثيرات اللقاح على الخلايا المناعية ، فقد بحثنا في تأثير البروميلين على الاندفاع التأكسدي للخلايا أحادية النواة في الدم المحيطية المعالجة بـ BCG.

تم عزل PBMCs من الدم المحيطي للمتبرعين الأصحاء. تم تحديد تأثير البروميلين على الانفجار التأكسدي عن طريق قياس إنتاج حمض هيبوكلوروس (HOCl) ومستوى بيروكسيد الهيدروجين ( $H_2O_2$ ) ، بالإضافة إلى النشاط الأنزيمي لمايلوبيروكسيداز (MPO) لمركبات PBMCs المعالجة أم لا باستخدام BCG.

يمكن أن يحفز البروميلين دفاعًا مناعيًا أفضل مضادًا للبكتيريا بواسطة الانفجار التأكسدي على PBMCs المعالج بـ BCG ، مع زيادة مستوى HOCl ، وهو مضاد قوي للميكروبات ، والحفاظ على نشاط MPO الخلوي.

**الكلمات المفتاحية:** بروميلين ، BCG ، PBMCs ، انفجار مؤكسد ،  $H_2O_2$  ، HOCl ، MPO ، لقاح.

## Liste des figures

FIGURE 1.1. DIFFERENTS TYPES DE VACCINS (CANOÛ ET LAUNAY 2019) .....	2
FIGURE 1.2. EXPERIENCE D'EDWARD JENNER DE LA VARIOLISATION SUR L'ENFANT JAMES PHIPPS DE 8 ANS (1796) .....	3
FIGURE 1.3. EXPERIENCE DE PASTEUR A L'ORIGINE DU VACCIN DU CHOLERA DES POULES 1880 (SALIOU ET GIRARD 2005A).....	4
FIGURE 1.4. COMPARAISON VACCINATION VS SEROTHERAPIE.....	5
FIGURE 1.5. L'ATTENUATION DE LA VIRULENCE DE MYCOBACTERIUM BOVIS (ENRIQUEZ ET AL. 2021). .....	10
FIGURE 1.6. REPOSE IMMUNITAIRE INDUITE PAR LA VACCINATION AU BCG (JUNLI, LINGJUN, ET CHUAN 2016). .....	12
FIGURE 1.7. REPRESENTATION SCHEMATIQUE DE LA PRODUCTION DE HOCL .....	18
FIGURE 1.8. OBSERVATION MICROSCOPIQUE ELECTRONIQUE D'UN MONOCYTE DU SANG PERIPHERIQUE (DU LEXIQUE DU DICTIONNAIRE 2022).....	18
FIGURE 2.1. SCHEMA RECAPITULATIF DE LA PARTIE ET MATERIELS METHODES.....	<b>ERREUR ! SIGNET NON DEFINI.</b>
FIGURE 2.2. ISOLEMENT DE PBMC. ....	<b>ERREUR ! SIGNET NON DEFINI.</b>
FIGURE 2.3. CENTRIFUGEUSE DE LABORATOIRE. ....	<b>ERREUR ! SIGNET NON DEFINI.</b>
FIGURE 2.4. DISTRIBUTION DES GROUPES DANS LA PLAQUE DE 24 PUIITS. ....	<b>ERREUR ! SIGNET NON DEFINI.</b>
FIGURE 2.5. SPECTROPHOTOMETRE BIOBROP.....	<b>ERREUR ! SIGNET NON DEFINI.</b>
FIGURE 3.2.1. EFFET DE LA BROMELAÏNE ET DU BCG COMBINES OU NON SUR LA PRODUCTION DE HOCL DANS PBMC. ....	<b>ERREUR ! SIGNET NON DEFINI.</b>
FIGURE 3.2.2. EFFET BROMELAÏNE ET BCG COMBINES OU NON SUR TAUX DE H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> DANS PBMC.....	<b>ERREUR ! SIGNET NON DEFINI.</b>
FIGURE 3.2.3. CINETIQUE ENZYMATIQUE MPO DANS 5 GROUPES EN FONCTION DU TEMPS... <b>ERREUR ! SIGNET NON DEFINI.</b>	

**Liste des tableaux**

TABLEAU 2.1.ORIGINE ET PROPRIETES DES PRINCIPAUX ADJUVANTS(VERMOUT S.1 ET AL 2003) .....	8
TABLEAU 2.2.ADJUVANTS UTILISES DANS LES VACCINS RECENTS CONTRE LA TUBERCULOSE (ENRIQUEZ ET AL. 2021).....	10

## Liste des abréviations

### A

AC : Anticorps

Ag : Antigène

AND : L'acide désoxyribonucléique

APC : Professional antigen presenting cells

ARNm : L'acide ribonucléique messenger

ASIE : Syndrome auto-immune/inflammatoire induit par les adjuvants

### B

BCG : Bacille Calmette et Guérin

BCR : B cell Receptor

BIOMOLIM : laboratoire d'immunologie et biologie moléculaire

BK : Bacille de Koch

### C

CMH : Complexe majeur d'histocompatibilité

CTL : Les lymphocytes T cytotoxiques

### D

DC : cellule dendritique

### F

FBM : fruit Bromelain

### H

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> : peroxyde d'hydrogène

HObR : l'acide hypobromeux

HOCl : l'acide hypochloreux

### I

IFN- $\alpha$ : Interféron alpha

IFN- $\gamma$ : Interféron gamma

Ig : Immunoglobulines

IL : Interleukine

IL-1 $\beta$  : Interleukine-1 bêta

IL-6: Interleukine-6

## **L**

LPS : lipopolysaccharides

## **M**

M. bovis: Mycobacterium bovis

MPL: Lipide monophosphoryle

MPO: La myeloperoxidase

MTB: Mycobacterium tuberculosis

## **N**

Na Br : bromure de sodium

NF- $\kappa$ B : facteur nucléaire  $\kappa$ B

NK: Cell Natural killer

NO : d'oxyde nitrique

## **P**

PAMPs: Pathogen Associated Molecular Patterns

PBMC : les cellules mononucléaires du sang périphérique

PBS: phosphate buffered saline

PRR: Pattern Recognition Receptor

PRS : Une solution tamponnée de rouge de phénol PRS

## **R**

ROS : les espèces réactives de l'oxygène

RPMI: Roswell Park Memorial Institute

## **S**

SBM: Bromelain Stem

SEM : erreur standard de la moyenne

SOD : la superoxyde dismutase

## **T**

TB : tuberculose

TBET : test d'exclusion par le bleu Trypan

TCR: T cell Receptor

TLR : Toll-like Receptor

TNF- $\alpha$  : facteur de nécrose tumorale alpha

**V**

VIH : Virus de l'immunodéficience humaine

## Introduction

*Mycobacterium tuberculosis (Mtb)*, l'agent causal de la tuberculose, demeure l'une des principales menaces pour la santé publique, entraînant ainsi environ 1,5 million de décès chaque année dans le monde. De plus, la tuberculose est une maladie hétérogène qui se manifeste dans différents modèles ayant des mécanismes de pathogénèse distincts (Kumar 2021). Les options cliniques pour contrôler la tuberculose comprennent les médicaments chimiothérapeutiques et le vaccin prophylactique *Mycobacterium bovis Calmette-Guérin* (BCG). Toutefois, en dépit des options de traitement disponible et malgré la vaste couverture de l'introduction du vaccin BCG dans les régions endémiques, la tuberculose continue d'être un problème de santé publique mondial.

En 1921, le vaccin du BCG a été introduit pour la première fois, il y a plus de 100 ans (Gagneux-Brunon et Botelho-Nevers 2022). C'est le seul vaccin homologué malgré des années de recherche intensive, mais il reste à une efficacité variable, par conséquent, l'efficacité controversée du BCG débouche sur l'amélioration du vaccin BCG lui-même et devient un objectif principal qui a orienté les efforts de recherche. Cependant, les enjeux réglementaires et les questions de sûreté persistent, d'autant plus, même les adjuvants approuvés peuvent avoir des effets néfastes post-vaccinal qui sont regroupées comme un nouveau syndrome appelé ASIE (Syndrome auto-immune/inflammatoire induit par les adjuvants)(Moreno-Mendieta et al. 2019).

En tant que candidats alternatifs plus sûrs comme adjuvant, la bromélaïne, présente une capacité à stimuler et moduler la réponse immunitaire avec une très faible toxicité, (Agrawal et al. 2022), de ce fait, notre étude explore l'utilisation de la bromélaïne en tant qu'adjuvant du BCG sur le burst oxydative des cellules mononuclées du sang périphérique en se basant sur ses effets biologiques sur le système immunitaire entant que protéine antiinflammatoire immunostimulatrice et antimicrobienne.

## I.1. Vaccinologie

La vaccinologie est la science et l'ingénierie de la conception de vaccins, qui est un médicament dont la source est une substance biologique, le plus souvent, un virus ou une bactérie, qu'ils soient entiers, vivants atténués ou qu'il s'agisse de fragments (sous-unités protéiques) de ces agents pathogènes, ou même de l'ARNm, selon la Figure 1.1 (Guerriaud 2021) destinés à la prévention notamment des maladies infectieuses (Hilleman 1998), elle est désormais visible dans des contextes variés, qui a commencé à prendre son envol durant la dernière décennie du XXe siècle, s'est régulièrement accrue depuis la première citation de 1971 par Jonas Salk et Charles Mérieux (Tuells 2012). Le terme « vaccinologie » est apparu pour la première fois dans la documentation publiée dans la revue « Science » signée par Jonas Salk en 1977. Et en 1995, Charles Mérieux a rappelé dans un éditorial de la « Revue du Praticien » le concept de la vaccinologie et prendre la suivante définition : La vaccinologie a certes pour but d'améliorer les vaccins disponibles, d'optimiser leur utilisation pratique (rythme idéal des administrations, associations possibles, contre-indications) et de développer de nouveaux vaccins en fonction des progrès de l'immunologie, de la biologie moléculaire et des biotechnologies. Mais elle doit aller au-delà, compte tenu des objectifs visés qui sont la protection de toute la population mondiale et le contrôle des maladies, pouvant aller jusqu'à l'éradication pour certaines, en mettant au point des stratégies vaccinales tenant compte de l'épidémiologie des maladies et de leur impact sur la santé des populations (Saliou et Girard 2005).

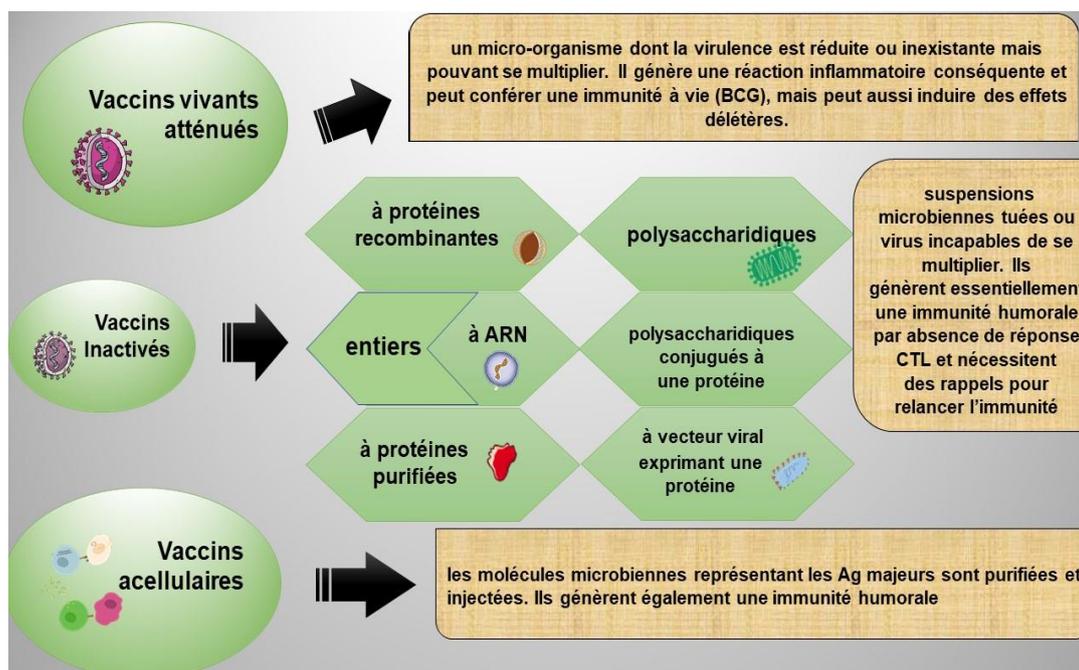


Figure 1.2. Différents types de vaccins (Canouï et Launay 2019).

## I.2. Historiques sur la vaccination

### I.2.1. La recherche et développement pour la réalisation des vaccins

Les êtres humains ont bénéficié des vaccins pendant plus de deux siècles et l'histoire des vaccins et de la vaccination présente d'importantes continuités. La variole et la variolisation ont joué un rôle important dans les origines et les antécédents de la vaccination. En 1796, 1<sup>re</sup> vaccination contre la variole présentée dans la *Figure 1.3* (Plotkin 2005) et en 1798, Edward Jenner a publié un article sur l'inoculation du vaccin des bovins afin de protéger les êtres humains de la variole : c'est ainsi que le terme vaccination a vu le jour.

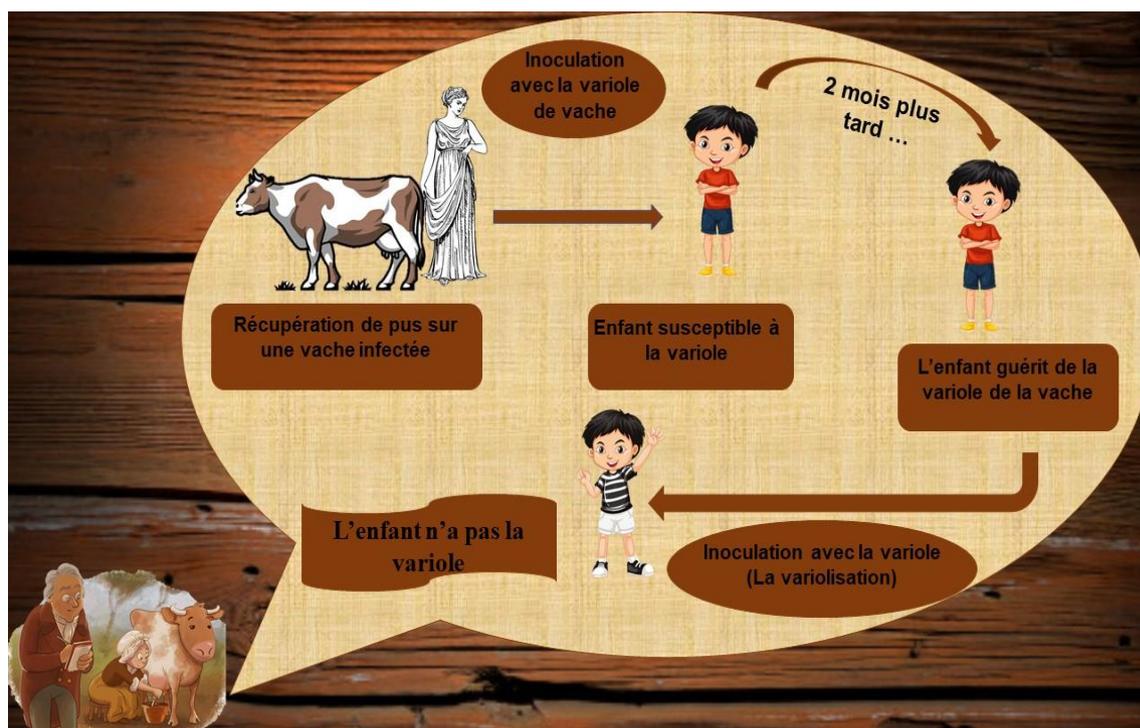


Figure 1.4. Expérience d'Edward Jenner de la variolisation sur l'enfant James phipps de 8 ans (1796). Modifier à partir (Plotkin 2005)

Dans les années 1860–1870, grâce aux travaux de Louis Pasteur et de Robert Koch, la théorie germinale des maladies infectieuses fut établie : toute maladie infectieuse est attribuée par un microbe et à chaque maladie correspond à un micro-organisme particulier qui doit être visible au microscope et cultivable sur un milieu nutritif approprié (Sarlangue 2022).

Certaines des cultures des germes ou bactéries sont réalisées un développement notable d'un certain nombre des vaccins bactériens reposant sur la simple formulation de pasteur « isoler, atténuer, vacciner » *Figure 1.5*. (de Veer et Meeusen 2011). Dans un premier temps, les professionnels de la santé publique auraient de la difficulté à ne pas donner la priorité à la vaccination (Stern et Markel 2005).

La vaccination jennérienne a été pratiquée jusqu'aux les découvertes de Louis Pasteur dans les années 1880 qui ont permis de rationaliser la vaccination et d'initier son remarquable essor (Krifi, s. d.) et dont il a établi scientifiquement le principe général de la vaccination en l'honneur de Jenner. En 1881, il énonce comme étant : « des virus affaiblis ayant le caractère de ne jamais tuer, de donner une maladie bénigne qui préserve de la maladie mortelle » (Sarlangue 2022).

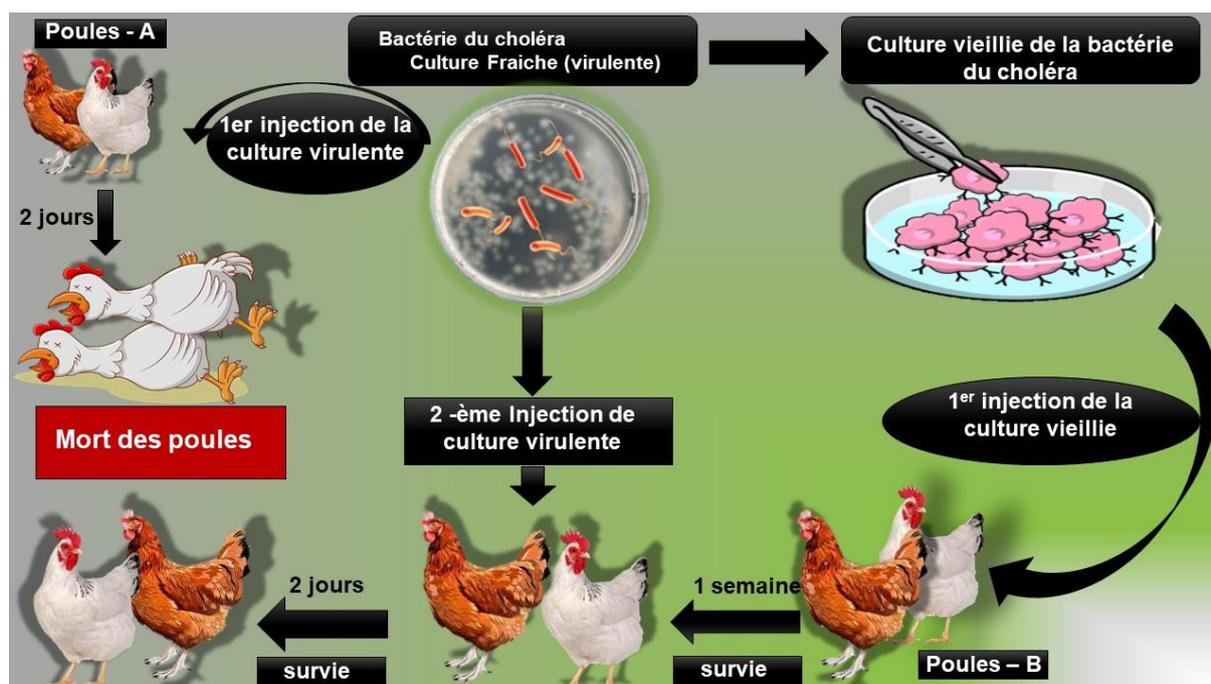


Figure 1.6. Expérience de Pasteur à l'origine du vaccin du choléra des poules 1880 (Saliou et Girard 2005)

Un siècle après Edward Jenner, Louis Pasteur a réussi à préparer le premier vaccin humain avec une virulence réduite contre la rage et le 6 juillet 1885, ce Premier vaccin antirabique humain administré à un enfant, Joseph Meister (Saliou et Girard 2005).

### I.2.2. Des Rappelles immunologiques

L'immunité active fait référence au processus par lequel l'organisme est exposé à un antigène (un agent pathogène immunogène qui pouvait être vivant/atténué, tué/inactivé, toxoïde ou d'origine sous unitaire) afin de produire une réponse immunitaire adaptative : la réponse prend des jours/semaines à se développer mais peut durer longtemps, voire toute la vie. Elle est habituellement considérée comme naturelle ou acquise (Baxter 2007).

L'immunisation passive est basée sur l'administration d'anticorps IgG préformés, généralement à des individus très récemment exposés, sont des donneurs convalescents ou des anticorps préparés commercialement, elle offre une protection immédiate, mais de courte durée, L'immunité passive est généralement classée comme naturelle ou acquise (Baxter 2014).

L'immunité active et passive présentent des points de différences qui sont résumés dans la Figure 1.7.

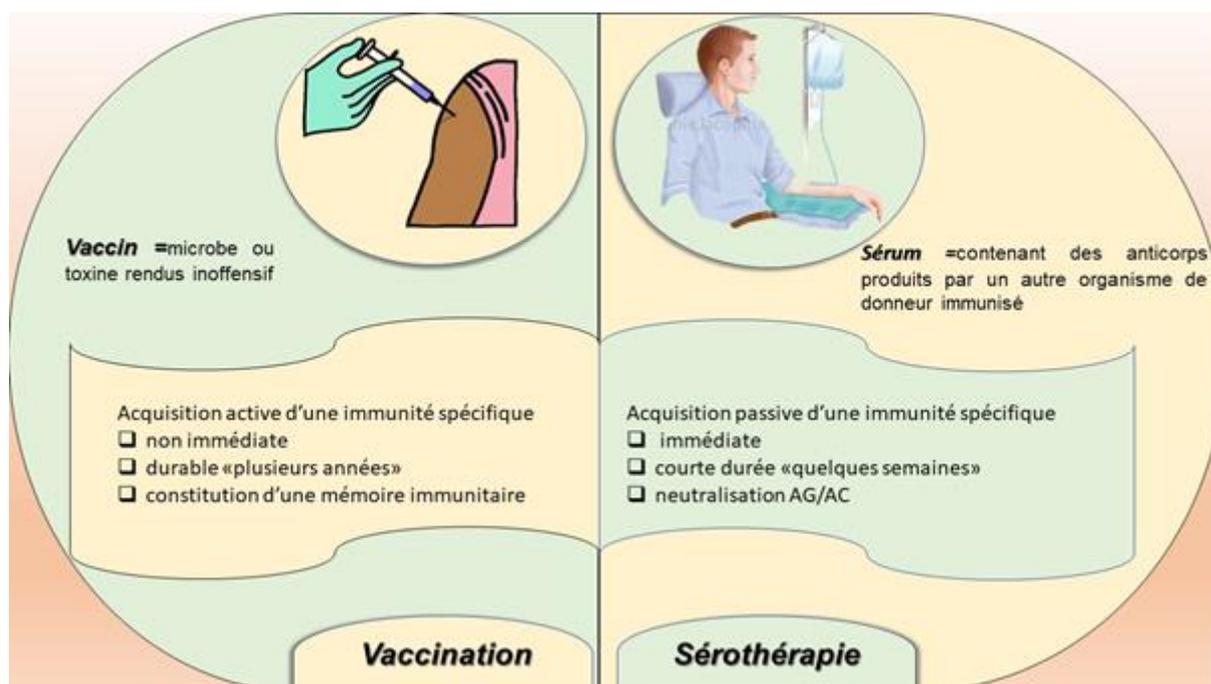


Figure 1.8. Comparaison vaccination vs sérothérapie

### I.2.2.1. Définition de la vaccination

Le mot vaccin vient de « la vaccine » est d'ailleurs dérivée du latin Vacca, qui signifie « vache ». La vaccination est considérée comme l'une des mesures de santé publique les plus efficaces pour prévenir les maladies infectieuses. Elle a permis d'éradiquer certaines maladies telles que la variole et a contribué à réduire considérablement le nombre des cas d'autres infections telles que la poliomyélite ou encore le tétanos(Canouï et Launay 2019).

L'idée de base est de provoquer des réponses immunitaires cellulaires qui répriment l'infection, même lorsque l'hôte n'a pas été en mesure d'augmenter ces réponses naturellement (Plotkin 2005).

### I.2.2.2. Définition de la sérothérapie

Nom de l'administration du sérum traité, souvent du cheval, qui est longtemps resté la principale source des sérums utilisés pour les traitements des maladies provoquées par une toxine bactérienne : thérapeutiques antidiphthériques, antitétaniques, anti-botuliques. Le sérum d'origine animale a été abandonné. Il est remplacé par les immunoglobulines humaines purifiées. Celles-ci peuvent être polyvalentes ou spécifiques. Autrefois, elle est utilisée comme moyen de renforcer l'immunité passive (Bloomsbury Publishing 2005).

### I.2.3. Vaccin et système immunitaire

Le développement de vaccins efficaces fait face à des défis de plus en plus importants liés à des pathogènes compliqués (par exemple paludisme, tuberculose, VIH, etc.) et/ou à des sujets présentant des conditions qui compromettent l'induction ou la persistance d'une réponse immunitaire protectrice. Une meilleure compréhension de l'immunité innée et adaptative et de leur interaction étroite au niveau moléculaire donne un aperçu de la possibilité de stimuler

## Revue de la littérature

---

sélectivement les voies immunologiques pour obtenir la réponse immunitaire souhaitée (Leroux-Roels 2010).

L'identification des signatures moléculaires (par exemple, les modèles d'expression génique induits par la vaccination), qui sont rapidement induits dans le sang après la vaccination, corrélerent avec et prédisent le développement ultérieur de réponses immunitaires protectrices, représentent une stratégie pour déterminer de manière prospective l'efficacité du vaccin (Pulendran, Li, et Nakaya 2010).

### I.2.4 Caractéristique de la protection induite par vaccin

Suite à l'évolution spectaculaire du volet immunologique, les scientifiques ont développé des vaccins assurant une protection qui se manifeste en grande partie par la production des anticorps et l'induction de la mémoire immunitaire. En général, les vaccins visent à prévenir les manifestations cliniques de l'infection. Par contre, certains vaccins, en plus de prévenir la maladie, peuvent aussi protéger contre une infection ou une colonisation asymptomatique, réduisant ainsi l'acquisition d'un agent pathogène et donc sa transmission ultérieure, et établissant une immunité collective. En effet, certains vaccins peuvent également causer des changements dans la réactivité aux infections futures par différents pathogènes, ce qui est connue comme des effets non-spécifiques, en favorisant des modifications à long terme de l'état d'activation du système immunitaire inné (Pollard et Bijker 2021).

### I.3. L'Adjuvant

Après des années de lents progrès, la vaccination a connu une lumière de progression de la mise en valeur de nouveaux vaccins à adjuvant qui ont été approuvés pour un usage humain dans la pratique clinique et ont montré un excellent rendement sur le plan de la prévention des maladies infectieuses. Lorsque le vaccin traditionnel n'a pas réussi à produire une réponse immunitaire efficace, la formulation de l'adjuvant fait partie d'un vaccin conçu pour renforcer la réponse du système immunitaire. En fonction du type des maladies, les adjuvants subissent des élaborations différentes (Shi et *al.* 2019). Ces adjuvants sont caractérisés par une vaste diversité et différents composants et son choix est plus particulièrement motivé par l'utilisation de composants plus purs (Del Giudice et *al.*, 2018)

Le terme « adjuvant » dérive du latin *adjuvare* qui signifie aider, assister (VERMOUT S.1 et *al.*, 2003) désigne toute substance capable d'augmenter l'intensité de la réponse après co-administration avec un antigène.

La meilleure compréhension du mécanisme de « l'immunogénicité » et de « l'adjuvantité » a incité la recherche de nouvelles conceptions de vaccins basés sur de nouvelles technologies, telles que l'ADN nu ou les vaccins à vecteur vivant et les nouvelles approches adjuvantes.

Les adjuvants peuvent être utilisés pour augmenter l'ampleur et affecter le type de la réponse immunitaire spécifique à l'antigène et la combinaison de l'antigène avec plus d'un adjuvant, l'approche dite du système adjuvant s'est avérée permettre le développement de vaccins avec la capacité à générer des réponses immunitaires efficaces adaptées à la fois au pathogène et à la population-cible (Leroux-Roels 2010).

### **I.3.1. Mécanisme d'adjuvantité**

Les adjuvants peuvent exercer leurs effets immunostimulants en fonction de cinq activités immunofonctionnelles :

- Translocation des antigènes vers les ganglions lymphatiques où ils peuvent être reconnus par les lymphocytes T.
- Meilleure réaction locale au lieu d'injection.
- Protection antigénique permettant des expositions prolongées.
- Déclenchement d'une libération de cytokine inflammatoire.
- Interaction avec le Pattern Recognition Receptor (PRR), notamment le Toll-like Receptor (TLR) (Guimarães et al. 2015).

### **I.3.2. Intérêt et choix**

Le défi pour la science des adjuvants est d'apprendre à induire de manière sélective le type approprié de réponse immunitaire aux antigènes protecteurs afin d'obtenir une protection optimale contre chaque type d'infection (Hunter 2002).

Un adjuvant efficace devrait non seulement améliorer la réaction immunitaire, mais aussi orienter cette réponse en fonction de la pathogenèse propre à chaque infection, chacun de ces adjuvants se caractérise d'abord par sa capacité d'activer sélectivement les lymphocytes T auxiliaires (CD4+) de type Th2 ou Th1 qui correspondent aux deux voies majeures qui peuvent être empruntées par la réponse immunitaire : humorale et cellulaire (Grun et Maurer 1989).

Le signal 0 correspond à la formation de complexe antigène avec le couple récepteur (TCR/CMH ou BCR).

Signal 2 « non spécifique » Les composants microbiens des adjuvants activent les APC (Professional antigen presenting cells) pour produire des cytokines pro-inflammatoires et pour réguler positivement les molécules essentielles à la présentation de l'AG.

Signal 1 « spécifique à l'antigène » Ces molécules incluent le principal CMH classe II et B7-1/2. Ces événements immunitaires innés permettent une présentation plus efficace au système immunitaire adaptatif, entraînant une activation accrue et une expansion clonale des cellules T (O'Hagan et Valiante 2003).

### I.3.3. Les différents types d'adjuvants

Tableau 2.1. Origine et propriétés des principaux adjuvants (VERMOUT S.1 et al 2003).

<i>Adjuvants</i>	<i>Origine</i>	<i>Effets sur la réponse immunitaire</i>
<b>Alum</b>	Minérale	<i>Stimulation de la réponse en anticorps (Th2)</i>
<b>Adjuvant incomplet de Freund et Adjuvants huileux</b>	Émulsions eau dans huile (huiles minérale ou végétales + agents de surface)	<i>Importante production d'anticorps : fortement inflammatoires</i>
<b>Adjuvant incomplet de Freund</b>	Émulsions eau dans huile + mycobactéries entières inactivées	<i>Réponse mixte humorale et cellulaire</i>
<b>Syntex Adjuvant formulation et formulation apparentée</b>	Émulsion huile dans eau à base de squalène et de copolymères synthétiques	<i>Stimulation de la réponse en anticorps</i>
<b>Monophosphoryl lipide A</b>	Composant bactérien dérivé du lipopolysaccharide	<i>Stimulation préférentielle de la réponse de type Th1</i>
<b>Muramyl dipéptide et dérivés</b>	Composant de paroi des mycobactéries	<i>Stimulation préférentielle de la réponse en anticorps</i>
<b>Oligonucléotides CpG</b>	Motifs moléculaires propres aux génomes procaryotes	<i>Induction de réponse de type Th1</i>
<b>Cytokines</b>	Protéines généralement utilisées sous forme recombinante	<i>Action directe et spécifique, mais dépendant la dose et de l'espèce cible</i>
<b>Saponines et immuno stimulating CoComplexes</b>	Agents amphipathiques d'origine végétale, permettant la formation de structure vésiculaire	<i>Production d'anticorps et stimulation des lymphocytes T cytotoxiques</i>
<b>Imidazoquinolones</b>	Composés synthétiques de faible masse moléculaire	<i>Induction de réponse de type Th1 et stimulation de LTc</i>
<b>Amines lipophiles</b>	Agents de surface amphipatiques	<i>Induction de réponse de type hypersensibilité retardée</i>
<b>Toxine bactériennes</b>	Sous forme entière, inactivée, sous-unitaire ou mutée	<i>Favorisation des réponses de type Th2, production d'IgA sécrétoires</i>
<b>polysaccharides</b>	diverses	<i>Stimulation de l'immunité au niveau des muqueuses</i>

## I.4. BCG

### I.4.1. Les connaissances antérieures à la découverte de BCG

En 1882, le fameux scientifique Robert Koch a réussi à isoler le bacille tuberculeux. Au moyen de la coloration bleu méthylène recommandé par Paul Ehrlich, il a identifié, isolé, cultivé, le bacille dans du sérum animal. Enfin, il reproduisit la maladie en inoculant le bacille à des animaux de laboratoire (Gradmann 2001).

## Revue de la littérature

---

Robert Koch a présenté ce résultat extraordinaire à la Société de physiologie à Berlin le 24 mars 1882, marquant une étape significative dans le combat contre la tuberculose (Bartolozzi 2015).

Lors des décennies qui ont suivi cette découverte, les tests cutanés à la tuberculine de Pirquet et de Mantoux, le vaccin Albert Calmette et Camille Guérin (BCG), la Streptomycine de Selman Waksman et d'autres médicaments antituberculeux ont été élaborés (Barberis et al. 2017).

Le vaccin antituberculeux a été développé en 1908 par Calmette et Guérin d'où le nom de BCG (Bacille de Calmette et Guérin). Cette découverte est motivée par deux vaccins. En 1902, le « Bovo vaccin » de Behring obtenu par des bacilles tuberculeux humains atténués 6 ans et demi puis desséchés sous vide (Montpellier s. d.).

Il s'agissait du premier vaccin à avoir une action protectrice même à court terme contre la tuberculose. Le bacille était cependant instable et risque de contamination de l'homme par les animaux vaccinés et puis Koch a mis au point le « Tauruman » qui avait une autre méthode d'atténuation. résultats pas meilleurs que le précédent (MARTINI, BESOZZI, et BARBERIS 2018).

### I.4.2. Définition

Le vaccin a été développé par Calmette et Guérin sous la forme vaccinale vivante atténuée de *Mycobacterium bovis* sert à prévenir la tuberculose et d'autres infections mycobactériennes Il a été administré pour la première fois en 1921. Il s'agit du seul vaccin antituberculeux (Okafor, Rewane, et Momodu 2022).

### I.4.3. Sur la Fabrication de BCG

Depuis 1908, ils ont procédé à l'isolement de souches virulentes. De *M. Bovis* d'une vache atteinte de mammite tuberculeuse dans un milieu de pomme de terre glyciné, Ensuite, ils ont tenté de placer la bile de bœuf au milieu pour éliminer la tendance du MTB à s'agglutiner et ils ont été étonnés de constater que cette sous-culture réduisait la virulence de l'organisme chez les cobayes et les veaux (Li et al. 2022).

Cette découverte accidentelle les a amenés à commencer à étudier ce bacille de la tuberculose atténué destiné à être utilisé dans les vaccins contre la tuberculose, Après 39 passages sur pomme de terre biliee glycinée, la souche ne tue plus les animaux.

En 1921, Après 13 ans et 230 passages *selon la "Figure 1.9."*, la souche ne redevint jamais virulente et elle apporte une résistance à l'infection BK (bacille de Koch) virulente. À la suggestion de Guérin, ils l'ont nommé Bacille Bilie Calmette-Guerin ; plus tard, ils ont omis "Bilie" et c'est ainsi que le BCG est né.

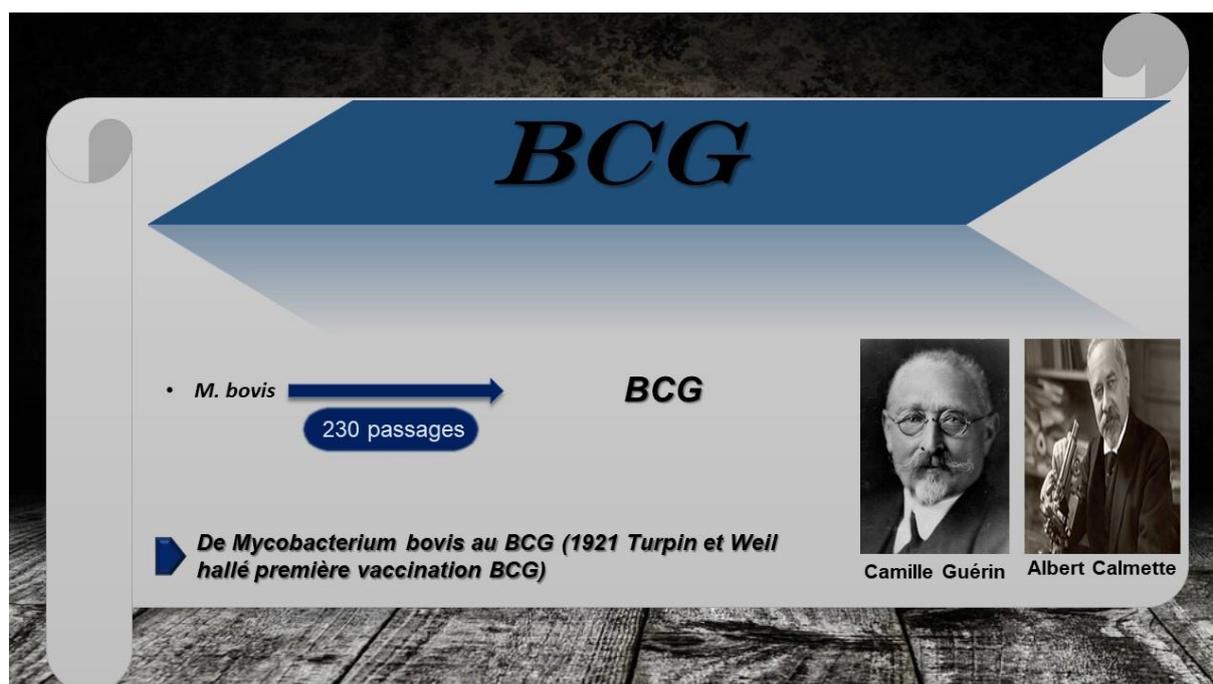


Figure 1.10. L'atténuation de la virulence de *Mycobacterium bovis* (Enriquez et al. 2021).

#### I.4.3.1. Adjuvants utilisés dans les vaccins contre la tuberculose

➤ Un exemple démonstratif :

Les résultats de l'essai clinique de phase IIB du vaccin avec adjuvant sous-unitaire M72/AS01 E ont prouvé leur protection. De 49,7 % contre MTB (M72 est une protéine de fusion recombinante constituée des antigènes Mtb32A et Mtb39A et AS01 E est un adjuvant qui combine le MPL avec le QS-21 (une fraction de saponine purifiée) (Enriquez et al. 2021).

Tableau 2.2. Adjuvants utilisés dans les vaccins récents contre la tuberculose (Enriquez et al. 2021).

Adjuvant/Vaccin	Antigène	Cible adjuvante	Réponse immunitaire
IC31	H56, H1	TLR-9, endocytose	Th1
AS01E	M72	TLR-4, perturbation lysosomale	LB, Th1, Th2, NK, CTL, DC
GLA-SE	ID93	TLR-4	Th1
BCG	Cellule entière		Immunité innée entraînée, Th1
MVA85A	Ag85A		Th1
CAF01	H1	Mincle	Th1, Th17
Advax-CpG	CysVac2	TLR-9	Th17
Lipokel		TLR-2	DC

#### I.4.4. Comment agit le BCG ?

La vaccination par le BCG modifie le profil immunitaire et favorise les réponses immunitaires polarisées TH 1 spécifiques à Mtb.

Après l'inoculation du BCG au site d'injection intradermique, il y'aura le recrutement des neutrophiles résidents, les macrophages et les cellules dendritiques (CD) qui vont interagir avec le bacille via les récepteurs de reconnaissance de formes (PRR) du type TLR2 et TLR4 présents sur la membrane de surface cellulaire avec des modèles moléculaires associés aux agents pathogènes (PAMPs) notamment le peptidoglycane, l'arabinogalactane et les acides mycoliques localisés au niveau de la paroi cellulaire de la bactérie, les protéines exprimées par les mycobactéries peuvent agir comme agonistes du TLR stimulant la maturation des macrophages et des DC et la sécrétion des cytokines pro inflammatoires telles que le facteur de nécrose tumorale alpha (TNF- $\alpha$ ), l'interleukine 1-bêta (IL-1 $\beta$ ) et l'IL-6 (Covián et al. 2019). Les cellules de l'immunité innée entraînée modifient leurs métabolismes, passant de la phosphorylation oxydative à la glycolyse aérobie, puis les CPA migrent vers les ganglions lymphatiques locaux portant l'antigène/le BCG vivant et ultérieurement activent les lymphocytes T CD4+ spécifiques de l'antigène en existence des cytokines polarisantes du type 1 telle que l'IL-12 et l'IL-18, ainsi, il stimule la sécrétion de l'IFN $\gamma$  qui représentent une réponse immunitaire canonique à la vaccination par le BCG et par la suite lymphocyte T active les lymphocytes B qui vont se différencier en plasmocytes et secrète des anticorps spécifiques (Dockrell et Smith 2017).

Les CD qui ont rencontré les antigènes, ont la capacité de présenter de façon croisée l'antigène et les lymphocytes T CD8 + spécifiques au MTB atténué et secrète de l'IFN- $\gamma$ , de l'IL-2 et de TNF- $\alpha$  et aussi il peut y avoir également une activation des cellules T $\gamma\delta$  non conventionnelles, qui agissent en tant que pont entre l'immunité innée et adaptative contre Mtb et elles sont considérées comme une source importante d'IFN- $\gamma$  et peuvent aussi intervenir au développement des lymphocytes T CD4 + mémoire (Kumar 2021).



## Revue de la littérature

---

Sa fréquence est variable selon la souche bactérienne, la dose administrée, la méthode d'immunisation et l'âge.

Des complications graves à type d'ostéite et d'infection généralisées à BCG sont rares et peuvent survenir chez les enfants immunodéprimés (LUCA et MIHAESCU 2013).

Le faible rendement du BCG dans les pays en développement, où les taux de tuberculose sont bien plus élevés, est très décourageant. On considère que les raisons pour lesquelles le BCG est peu efficace chez les personnes immunocompétentes sont les suivantes : les différences de souche dans le BCG, la prévalence des mycobactéries environnementales, la génétique de l'hôte, les facteurs nutritionnels et la présence de co-infections par les helminthes, etc (Parkash 2014).

### I.4.6. Le caractère effectif de la BCG

Le BCG permet, lorsqu'il est correctement pratiqué, de protéger des nouveau-nés et des enfants d'âge préscolaire de manière efficace contre toutes formes de la tuberculose infantile et spécialement contre les formes graves et parfois mortelles de la maladie, essentiellement la méningite et la miliaire tuberculeuses avec un effet protecteur qui varie de 60 à 90 % (Abouda et *al.* 2015), alors que sa prévention des formes adultes particulièrement la tuberculose pulmonaire est très discuté (Gernez-Rieux et Gervois 1973).

Plusieurs études s'interrogent sur son efficacité, d'autres disent qu'elle est efficace à 80 % (Milstien et Gibson 1990). Les résultats étonnants des essais ont permis de réaliser une série d'études observationnelles. Du point de vue immunologique, on sait que le BCG produit une immunité des cellules T auxiliaires du type 1 (Th1) pour protéger l'hôte contre l'infection par *M.tuberculosis* et aussi en fonction du milieu de l'antigène et des cytokines, le BCG peut aussi induire une réaction immunitaire Th2, donc il a un aspect d'agir comme un immunomodulateur (Parkash 2014).

## I.5. La bromélaïne

### I.5.1. Définition de la bromélaïne

La bromélaïne est l'une des principales enzymes protéolytiques sulfhydryle présentes dans les plants d'ananas (*Ananas comosus*). Elle est connue chimiquement depuis 1876, (Varilla et *al.* 2021). La bromélaïne est un mélange complexe de protéases extraites du fruit ou de la tige de l'ananas selon le site d'extraction de tige (SBM ; Bromelain Stem) ou de fruit (FBM ; fruit Bromelain). *Ananas comosus* est l'un des fruits tropicaux comestibles les plus populaires et un membre de la famille des broméliacées. La bromélaïne a des propriétés curatives attrayantes, Cet élément chimique de l'ananas présente l'activité biologique la plus étendue et la plus complexe de tous les produits chimiques connus isolés de cette plante. Elle a des caractéristiques anti-inflammatoires, cardioprotectrices, immunomodulatrices, antioxydantes et anticancéreuses (Hikisz et Bernasinska-Slomczewska 2021).

### I.5.2. Caractéristique biochimique

La composition de l'extrait de bromélaïne en pourcentage : 80 % de bromélaïne de tige (SBM), 10 % de bromélaïne de fruit (FBM), 5 % d'ananaïne et d'autres ingrédients. Presque seulement SBM est utilisée dans les industries pharmaceutiques, médicales et alimentaires. Le poids moléculaire varie de 26 à 37 kDa de SBM et pour FBM, poids moléculaire est de 24,5 à 32 kDa (Zhou et *al.* 2021). Des différences de fonctionnement entre SBM et FBM sont également évidentes en ce qui concerne la disproportion du pH optimal et de la température

## Revue de la littérature

---

ambiante, des études ont démontré que pour le SBM, le pH approprié se situe entre 6 et 7, et a une structure secondaire stable et présente une activité dans l'intervalle de pH de 7 à 10, son activité étant irréversiblement perdue au-dessus de pH10 (Varilla et al. 2021a) et la température optimale est de 50 à 60°C et pour le FBM, l'intervalle de pH optimal est de 3 à 8 et la meilleure température est comprise entre 37 et 70°C (s. S. Gautam et al. 2010).

En dernier lieu, la bromélaïne serait stable sur une longue période si elle était entreposée à -20°C. La plupart des fonctions biochimiques de la bromélaïne ne sont pas attribuables à un composant protéolytique particulier, en revanche, il est probable que plusieurs facteurs contribuent aux effets positifs de la bromélaïne. À la différence de la plupart des enzymes, présente un très large éventail d'activités efficaces dans des conditions acides et alcalines qui lui permettent de demeurer actif dans divers milieux biologiques (Reema et Bhattacharyya 2009).

### I.5.3. Les atouts de La bromélaïne

La bromélaïne est élément non toxique de valeur thérapeutique, classé en tant qu'une enzyme protéolytique. Il est à noter que l'extrait de la bromélaïne, de plus de plusieurs endopeptidases thiol inclut également d'autres constituants comme les phosphatases, la glucosidase, les cellulases, les peroxydases, les glycoprotéines, les glucides, plusieurs inhibiteurs de protéase et le  $\text{Ca}^{2+}$  (Hatano, Takahashi, et Tanokura 2018). L'absorption corporelle tout en conservant une activité biologique suffisamment élevée et même son caractère d'une biodisponibilité élevée dans une étude in vitro. En outre, les chercheurs ont constaté que la bromélaïne conserve sa fonction protéolytique plasmatique. Par un test récent a montré qu'après 4 h, environ 30 % de la bromélaïne restaient stable dans le suc gastrique artificiel et qu'après le même temps, environ 20 % de la bromélaïne restaient également stables dans le sang artificiel (Varilla et al. 2021b).

Dans tous les cas, la bromélaïne s'est révélée avoir un effet antibactérien puissant, entraînant une inhibition de la croissance bactérienne. Plusieurs travaux rapportent le mécanisme d'action exacte de la bromélaïne sur plusieurs bactéries particulièrement lors d'infections buccales et digestives par *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis* (Anjos et al. 2018). Elle agit comme une enzyme protéolytique en induisant la décomposition enzymatique de protéines dans la membrane de surface et fragilise la paroi cellulaire, ce qui conduit à une fuite cellulaire, un gonflement, et une dégradation de la membrane bactérienne et endommage la cellule (Liliany et al. 2018).

### I.5.4. L'utilité de la bromélaïne

La bromélaïne est utilisée comme adjuvant dans différents travaux pour la stimulation des réponses immunitaires pendant le traitement des affections chroniques inflammatoires, malignes et maladies auto-immunes, les infections bactériennes et modulation des cytokines et de l'immunité. Ses propriétés biologiques incluent des effets antimicrobiens, antithrombotiques, anticancéreux et anti-inflammatoires. (Rathnavelu et al. 2016). Elle pourrait induire une amélioration dans la production d'oxyde nitrique (NO) (molécule anti-inflammatoire dans des conditions physiologiques normales.), l'IL-6 et de  $\text{TNF}\alpha$  Médiées par l'IFN- $\gamma$  par les macrophages et aussi renforcer la réaction immunitaire innée (Ramli, Aznan, et Illias 2017).

## Revue de la littérature

---

La bromélaïne possède la capacité à moduler la réponse immunitaire notamment la stimulation des lymphocytes T (Salas et al. 2008), la phagocytose, participant ainsi dans le processus inflammatoire, provoquant la sécrétion d'interleukine (IL)-1 $\beta$ , IL-6 et facteur de nécrose tumorale  $\alpha$ (TNF $\alpha$ ) par les cellules mononucléaires du sang périphérique (PBMC) (Varilla et al. 2021c). Cependant, plusieurs études ont montré que la bromélaïne pourrait réduire la sécrétion des cytokines pro inflammatoires, y compris l'IL-1 $\beta$ , l'IL-6 et TNF- $\alpha$  par les macrophages en exerçant un profil anti-inflammatoire (Insuan et al. 2021).

Le processus d'apoptose est essentiel pour maintenir le développement et l'homéostasie de systèmes biologiques complexes et dans des études Il a été démontré que la bromélaïne favorise la mort cellulaire apoptotique et présente certaines propriétés anticancéreuses : inhibe la translocation du facteur nucléaire  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) par l'arrêt de G<sub>2</sub>/M jusqu'à l'apoptose des cellules tumorales (Rathnavelu et al. 2016).

### I.6. Burst oxydatif

#### I.6.1. Définition

Le burst oxydatif est une défense clé de la cellule hôte contre les agents pathogènes (Aussel et al. 2011) est caractérisé par une consommation cellulaire rapide d'oxygène entraînant une production abondante d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), principalement chez les neutrophiles et les monocytes (Hampton, Jeffries, et Venables 2020). Il est particulièrement généré par le complexe NADPH oxydase cellulaire. Une fois que la NADPH oxydase est activée, elle produit du superoxyde (SOD) et du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Iles et Forman 2002).

#### I.6.2. MPO

La myéloperoxydase (MPO) est une protéine homodimérique d'une masse de 146 kDa, composé de deux monomères identiques et fonctionnellement indépendants de 73 kDa reliés par une seule liaison disulfurique au résidu de cystéine 153. Représentant environ 5 % de masse sèche des granules azurophiles du neutrophile et 1% chez les monocytes. Cette enzyme pro-inflammatoire catalyse la formation d'acide hypochloreux (HOCl) à partir du peroxyde d'hydrogène, générant ainsi d'autres molécules hautement réactives telles que les radicaux tyrosyl. (Gjin 2019).

La MPO exerce une forte activité antimicrobienne, et son abondance dans le plasma et dans les liquides biologiques et dans les tissus indiquent une importante activation des cellules polymorphonucléaires (Schultz et Kaminker 1962).

#### I.6.3. HOCl

L'acide hypochloreux constituant les espèces réactives de l'oxygène (ROS). Celles-ci sont responsables du stress oxydant et permettent la destruction du pathogène. Alors que l'HOCl est un puissant agent antimicrobien (Poret et al. 2017) *in vitro* et un oxydant qui réagit avec presque toutes les classes de molécules organiques, y compris les acides aminés libres ou des résidus d'acides aminés dans la structure des protéines, de la taurine, les nucléosides, les nucléotides, les sucres aminés dans les acides nucléiques, les glucosaminoglycanes, les phospholipides contenant des amines, le cholestérol et les lipides insaturés avec des

## Revue de la littérature

---

conséquences cellulaires considérables. HOCl agit avec des antioxydants tels que l'ascorbate et l'urate, altérant potentiellement la défense antioxydante.

### I.6.4. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

Le peroxyde d'hydrogène est le produit de la dismutation du superoxyde et il est généré dans le phagosome. Cependant, l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, similaire au superoxyde, réagit relativement faiblement avec la plupart des biomolécules, de sorte que les niveaux supposés se produire dans le phagosome sont inférieurs au H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> requis pour tuer les bactéries *in vitro* (Winterbourn 2008).

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> est connu comme un métabolite redox de l'oxygène dans le métabolisme aérobie des cellules et des tissus, qui intervient dans la détection, la signalisation et la régulation redox. En tant que molécule messagère, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> diffuse à travers les cellules et les tissus pour initier des effets cellulaires immédiats, tels que la prolifération et le recrutement de cellules immunitaires (Sies 2017).

### I.6.5. MPO-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-système de chlorure

La myéloperoxydase (MPO), libérée à partir des granules cytoplasmiques de neutrophiles et de monocytes par un procédé de dégranulation, réagit avec le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> formé par le burst oxydatif pour former un complexe capable d'oxydation d'une grande variété de substances. Il s'agit notamment du chlorure, qui est initialement oxydé en acide hypochloreux, avec la formation subséquente de chlore et de chloramine. Ces produits du MPO-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-chlorure sont de puissants oxydants qui peuvent avoir des effets biologiques profonds. MPO est synthétisée et stockée principalement dans les granules azurophiles de neutrophiles et lysosomes de monocytes, bien qu'ils soient moins nombreux que dans les neutrophiles.

Cette peroxydase est normalement perdue lorsque les monocytes deviennent des macrophages (Klebanoff 1999). Un rôle pour MPO en tant que composant antimicrobien a été proposé en 1967, en effet, le MPO s'est avéré hautement bactéricide lorsqu'il est combiné avec H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et des halogénures (Poret et al. 2017).

Lorsque les cellules phagocytaires (neutrophiles, macrophages, éosinophiles, etc.) sont exposées à certains stimuli, elles modifient considérablement leur consommation d'oxygène.

Les phagocytes répondent à cette stimulation par le burst oxydatif, et bien d'autres mécanismes encore, sinon la totalité, de l'oxygène supplémentaire consommé est convertie aux espèces réactives de l'oxygène (Thomas 2017). Ce système oxydase transporte électrons du NADPH du côté cytoplasmique de la membrane à l'oxygène dans le liquide extracellulaire et intra-phagosomal pour former l'anion superoxyde (Furtmüller et al. 2000).

Les canaux H<sup>+</sup> associés à la NADPH oxydase entraînent l'efflux d'ions H<sup>+</sup>. L'anion superoxyde est Lorsque deux molécules interagissent, une réaction de dismutation dans laquelle l'une est oxydée et l'autre réduite produit de l'oxygène et de l'hydrogène et forme de l'oxygène et du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Ce phénomène peut se produire spontanément, notamment à pH acide, ou catalysé par la superoxyde dismutase (SOD). Le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> résultant est un oxydant cytotoxique, mais lorsqu'il réagit avec le MPO et les chlorures, sa toxicité nettement augmente.

il est généralement admis que le produit initial de l'oxydation du chlorure par MPO et H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> est l'acide hypochloreux (HOCl) (Klebanoff et Coombs 1992). Le système MPO-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> est un

## Revue de la littérature

système antimicrobien puissant efficace contre une variété de micro-organismes. D'autre part, la formation du HOCl par  $\text{H}_2\text{O}_2$  permet de cibler avec plus de précision l'attaque oxydative par ROS contre le pathogène.

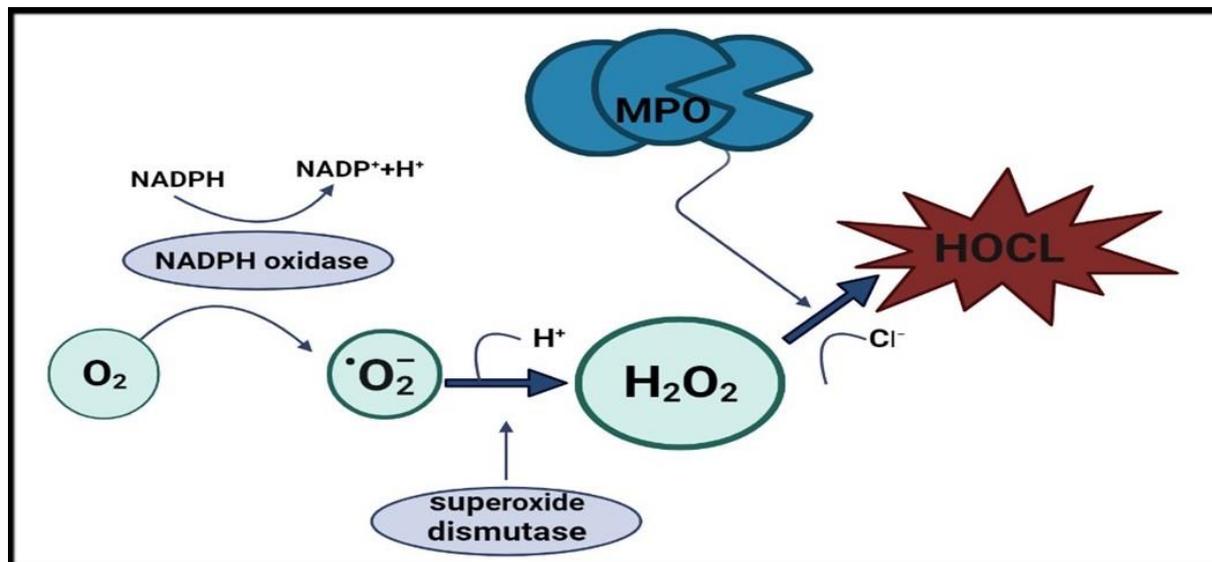


Figure 1.12. Représentation schématique de la production de HOCl.  $\text{H}_2\text{O}_2$  : peroxyde d'hydrogène, HOCl : L'acide hypochloreux MPO : myéloperoxydase.  $\text{O}_2^-$  : superoxyde. (Guo et al. 2020)

### I.6.6. Les monocytes

Les monocytes sont des cellules de l'immunité innée et fonctionnent pour réguler l'homéostasie cellulaire par leurs différenciations en populations de macrophages et de cellules dendritiques, ils représentent à peu près 5% des cellules nucléées circulantes dans le sang d'un adulte normale (Espinoza et Emmady 2022). Ils ont un diamètre de 12 et 20  $\mu\text{m}$ , Les monocytes sont généralement facilement identifiables dans le sang périphérique par leur taille relativement importante et leurs noyaux bilobés alambiqués, souvent décrits comme ayant la forme d'un rein (Prinyakupt et Pluempitiwiriwawej 2015).

En réponse à ces stimuli, les monocytes migrent de la moelle osseuse vers le système sanguin et s'infiltrent dans les tissus dans les 12 à 24 heures (Issekutz et Issekutz 1993).

Les monocytes font partie intégrante du système immunitaire inné. Ils jouent un rôle à la fois dans les processus inflammatoires et anti-inflammatoires qui ont lieu lors d'une réponse immunitaire. Ils sont également recrutés sur les sites d'infection et assurent la médiation de l'activité antimicrobienne contre les virus, les bactéries, les champignons et les protozoaires (Ponath et Kaina 2017). En tant que première ligne de défense, les monocytes phagocytent les agents pathogènes et les substances étrangères, libèrent des cytokines et génèrent des espèces réactives de l'oxygène (ROS) dans un phénomène appelé «le burst oxydatif».

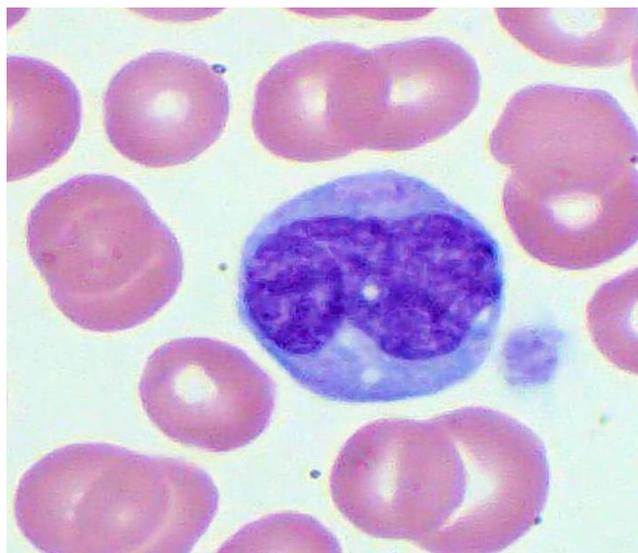


Figure 1.8. Observation microscopique électronique d'un monocyte du sang périphérique (r L. Perlemuter, et G. Perlemuter 2018)

## **I.7. Problématique et Objectifs**

### **I.7.1. Problématique**

Le BCG est la forme vaccinale vivante atténuée de *Mycobacterium bovis*, C'est le vaccin le plus largement utilisé dans le monde et il réduit le risque de tuberculose (TB) et d'autres infections mycobactériennes. Cependant, bien qu'il ait été démontré que le BCG stimule la réponse immunitaire, il ne peut toujours pas prévenir l'infection et la transmission de la tuberculose. En l'absence d'autres vaccins homologués, il est nécessaire d'améliorer l'efficacité du BCG lui-même. En outre des différents adjuvants déjà utilisés dans le BCG, La bromélaïne, qualifiée comme un adjuvant, est un extrait d'ananas, s'est avérée avoir des effets biologiques efficaces et elle est le plus couramment utilisée comme agent anti-inflammatoire. De plus, les scientifiques aient également découvert son potentiel anticancéreux et antimicrobien, ainsi, ses effets positifs sur le système immunitaire ont été rapportées mais, ses mécanismes comme adjuvants pour le vaccin BCG n'ont pas été précédemment explorés. De ce fait, une stratégie de vaccination par le BCG utilisant la bromélaïne comme adjuvant en se basant sur ses propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires doivent être envisagées. Dans le même contexte, nous avons étudié l'effet de la bromélaïne comme adjuvant du BCG sur le burst oxydatif des cellules mononuclées du sang périphérique.

### **I.7.2. Objectifs**

Détermination de l'effet ex vivo de la bromélaïne sur la production de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, et celle de l'HOCl et la cinétique MPO, des PBMCs traitées par BCG.

### **I.7.3. But**

Montrer que l'action adjuvante de la bromélaïne au BCG pourrait moduler le burst oxydative des PBMCs.

## II. Matériel et méthodes

CONFIDENTIEL

**III. Résultats et interprétations**

CONFIDENTIEL

---

## V. Conclusions et perspectives

Les vaccins BCG peuvent éclairer les propriétés requises d'un vaccin antituberculeux. De même, l'immunogénicité et le niveau d'immunoprotection du BCG peuvent être amélioré dans une certaine mesure en augmentant leur efficacité. Dans ce contexte il serait pertinent de s'intéresser à l'utilisation d'un adjuvant. Donc, l'étude de l'effet adjuvant de la bromélaïne sur le burst oxydatif des PBMCs traitées par le BCG est envisageable. La bromélaïne pourrait induire une forte stimulation du système immunitaire et en raison de leur aspect inoffensif, sa faible toxicité est non seulement un adjuvant puissant, mais elle est également efficace pour induire une réponse antimicrobienne forte médiée par l'augmentation de la production HOCl, un antimicrobien puissant, ainsi que l'activité MPO. Ces résultats indiquent remarquablement le potentiel adjuvant de la bromélaïne au BCG sur la défense cellulaire des PBMCs par le burst oxydatif.

Il y a lieu de noter que ces résultats indiquent un potentiel d'induction d'une immunité entraînée en tant que stratégie thérapeutique et/ou prophylactique pour améliorer la fonction du système immunitaire et la résistance contre les infections par la vaccination. Cependant, la manipulation du burst oxydatif cellulaire induit par le BCG représente une cible potentielle pour augmenter son efficacité.

Les futurs chercheurs devraient créer des techniques d'extraction plus ingénieuses pour augmenter l'exploitation de la bromélaïne particulièrement dans la vaccinologie et d'autres sciences car elle a une toxicité minimale et seulement des effets indésirables modérés, de plus, des recherches devraient être faites pour mieux comprendre le mode d'action de la bromélaïne afin que les professionnels de santé puissent profiter de ses caractéristiques.

Cette étude soulève également de nouvelles questions pour les recherches futures. Un défi important pour les recherches ultérieures est d'élucider les mécanismes moléculaires précis de la bromélaïne et ses différents effets biologiques en combinaison.

## Référence

---

### Référence

- Agrawal, Paridhi, Pradnya Nikhade, Aditya Patel, Nikhil Mankar, et Shweta Sedani. 2022. « Bromelain: A Potent Phytomedicine ». *Cureus* 14 (8): e27876. <https://doi.org/10.7759/cureus.27876>.
- Angelidou, Asimena, Joann Diray-Arce, Maria-Giulia Conti, Mihai G. Netea, Bastiaan A. Blok, Mark Liu, Guzman Sanchez-Schmitz, Al Ozonoff, Simon D. van Haren, et Ofer Levy. 2021. « Human Newborn Monocytes Demonstrate Distinct BCG-Induced Primary and Trained Innate Cytokine Production and Metabolic Activation In Vitro ». *Frontiers in Immunology* 12 (juillet): 674334. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.674334>.
- Aratani, Yasuaki. 2018. « Myeloperoxidase: Its Role for Host Defense, Inflammation, and Neutrophil Function ». *Archives of Biochemistry and Biophysics* 640 (février): 47-52. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2018.01.004>.
- Aribi, Mourad. 2018. « Macrophage Bactericidal Assays ». *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)* 1784: 135-49. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7837-3\\_14](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7837-3_14).
- Aussel, Laurent, Weidong Zhao, Magali Hébrard, Aude-Agnès Guilhon, Julie P. M. Viala, Sandrine Henri, Lionel Chasson, Jean-Pierre Gorvel, Frédéric Barras, et Stéphane Méresse. 2011. « Salmonella Detoxifying Enzymes Are Sufficient to Cope with the Host Oxidative Burst ». *Molecular Microbiology* 80 (3): 628-40. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2011.07611.x>.
- Barberis, I., N.L. Bragazzi, L. Galluzzo, et M. Martini. 2017. « The history of tuberculosis: from the first historical records to the isolation of Koch's bacillus ». *Journal of Preventive Medicine and Hygiene* 58 (1): E9-12.
- Buvelot, Helene, Klara M. Posfay-Barbe, Patrick Linder, Jacques Schrenzel, et Karl-Heinz Krause. 2017. « Staphylococcus Aureus, Phagocyte NADPH Oxidase and Chronic Granulomatous Disease ». *FEMS Microbiology Reviews* 41 (2): 139-57. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuw042>.
- Canouï, E., et O. Launay. 2019. « [History and principles of vaccination] ». *Revue Des Maladies Respiratoires* 36 (1): 74-81. <https://doi.org/10.1016/j.rmr.2018.02.015>.
- Chen, Jingjing, Li Gao, Xinya Wu, Yuxin Fan, Meixiao Liu, Li Peng, Jieqin Song, Bingxue Li, Aihua Liu, et Fukai Bao. 2023. « BCG-induced trained immunity: history, mechanisms and potential applications ». *Journal of Translational Medicine* 21 (février): 106. <https://doi.org/10.1186/s12967-023-03944-8>.
- Covián, Camila, Ayleen Fernández-Fierro, Angello Retamal-Díaz, Fabián E. Díaz, Abel E. Vasquez, Margarita K. Lay, Claudia A. Riedel, Pablo A. González, Susan M. Bueno, et Alexis M. Kalergis. 2019. « BCG-Induced Cross-Protection and Development of Trained Immunity: Implication for Vaccine Design ». *Frontiers in Immunology* 10: 2806. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02806>.
- Del Giudice, Giuseppe, Rino Rappuoli, et Arnaud M. Didierlaurent. 2018. « Correlates of Adjuvanticity: A Review on Adjuvants in Licensed Vaccines ». *Seminars in Immunology* 39 (octobre): 14-21. <https://doi.org/10.1016/j.smim.2018.05.001>.
- Dockrell, Hazel M., et Steven G. Smith. 2017. « What Have We Learnt about BCG Vaccination in the Last 20 Years? ». *Frontiers in Immunology* 8. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.01134>.
- Enriquez, Ana B., Angelo Izzo, Shannon M. Miller, Erica L. Stewart, Robert N. Mahon, Daniel J. Frank, Jay T. Evans, Jyothi Rengarajan, et James A. Triccas. 2021. « Advancing Adjuvants for Mycobacterium tuberculosis Therapeutics ». *Frontiers in Immunology* 12 (octobre): 740117. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.740117>.
- Espinoza, Valerie E., et Prabhu D. Emmady. 2022. « Histology, Monocytes ». In *StatPearls [Internet]*. StatPearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557618/>.
- Furtmüller, P. G., U. Burner, W. Jantschko, G. Regelsberger, et C. Obinger. 2000. « The Reactivity of Myeloperoxidase Compound I Formed with Hypochlorous Acid ». *Redox Report: Communications in Free Radical Research* 5 (4): 173-78. <https://doi.org/10.1179/135100000101535717>.

## Référence

---

- Gagneux-Brunon, Amandine, et Elisabeth Botelho-Nevers. 2022. « Que reste-t-il du BCG 100 ans après ? » *Médecine et Maladies Infectieuses Formation* 1 (3): 116-21. <https://doi.org/10.1016/j.mmifmc.2022.04.001>.
- Gernez-Rieux, C., et M. Gervois. 1973. « Protection conférée par le BCG pendant les vingt années suivant la vaccination. » *Bulletin of the World Health Organization* 48 (2): 139-54.
- Gjin, Ndrepepa. 2019. « Myeloperoxidase - A Bridge Linking Inflammation and Oxidative Stress with Cardiovascular Disease ». *Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry* 493 (juin): 36-51. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2019.02.022>.
- Gradmann, C. 2001. « Robert Koch and the pressures of scientific research: tuberculosis and tuberculin. » *Medical History* 45 (1): 1-32.
- Grun, J. L., et P. H. Maurer. 1989. « Different T Helper Cell Subsets Elicited in Mice Utilizing Two Different Adjuvant Vehicles: The Role of Endogenous Interleukin 1 in Proliferative Responses ». *Cellular Immunology* 121 (1): 134-45. [https://doi.org/10.1016/0008-8749\(89\)90011-7](https://doi.org/10.1016/0008-8749(89)90011-7).
- Guimarães, Luísa Eça, Britain Baker, Carlo Perricone, et Yehuda Shoenfeld. 2015. « Vaccines, Adjuvants and Autoimmunity ». *Pharmacological Research* 100 (octobre): 190-209. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2015.08.003>.
- Guo, Chaorui, Inga Sileikaite, Michael J. Davies, et Clare L. Hawkins. 2020. « Myeloperoxidase Modulates Hydrogen Peroxide Mediated Cellular Damage in Murine Macrophages ». *Antioxidants* 9 (12): 1255. <https://doi.org/10.3390/antiox9121255>.
- Hale, Laura P., Paula K. Greer, et Gregory D. Sempowski. 2002. « Bromelain Treatment Alters Leukocyte Expression of Cell Surface Molecules Involved in Cellular Adhesion and Activation ». *Clinical Immunology (Orlando, Fla.)* 104 (2): 183-90. <https://doi.org/10.1006/clim.2002.5254>.
- Hampton, Leah M. Thornton, Marlo K. Sellin Jeffries, et Barney J. Venables. 2020. « A practical guide for assessing respiratory burst and phagocytic cell activity in the fathead minnow, an emerging model for immunotoxicity ». *MethodsX* 7 (juillet): 100992. <https://doi.org/10.1016/j.mex.2020.100992>.
- Harwood, D. Tim, Anthony J. Kettle, et Christine C. Winterbourn. 2006. « Production of Glutathione Sulfonamide and Dehydroglutathione from GSH by Myeloperoxidase-Derived Oxidants and Detection Using a Novel LC-MS/MS Method ». *The Biochemical Journal* 399 (1): 161-68. <https://doi.org/10.1042/BJ20060978>.
- Hatano, Ken-Ichi, Kenji Takahashi, et Masaru Tanokura. 2018. « Bromelain, a Bromelain Inhibitor from Pineapple Stem: Structural and Functional Characteristics ». *Protein and Peptide Letters* 25 (9): 838-52. <https://doi.org/10.2174/0929866525666180821115432>.
- Hikisz, Pawel, et Joanna Bernasinska-Slomczewska. 2021. « Beneficial Properties of Bromelain ». *Nutrients* 13 (12): 4313. <https://doi.org/10.3390/nu13124313>.
- Holzer, T. J., L. Kizlitis, M. Vachula, C. W. Weaver, et B. R. Andersen. 1988. « Human Phagocytic Cell Responses to Mycobacterium Leprae and Mycobacterium Bovis Bacillus Calmette-Guérin. An in Vitro Comparison of Leprosy Vaccine Components ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 141 (5): 1701-8.
- Hunter, Robert L. 2002. « Overview of Vaccine Adjuvants: Present and Future ». *Vaccine* 20 Suppl 3 (mai): S7-12. [https://doi.org/10.1016/s0264-410x\(02\)00164-0](https://doi.org/10.1016/s0264-410x(02)00164-0).
- Iles, Karen E., et Henry Jay Forman. 2002. « Macrophage Signaling and Respiratory Burst ». *Immunologic Research* 26 (1-3): 95-105. <https://doi.org/10.1385/IR:26:1-3:095>.
- Insuan, Orapin, Phornphimon Janchai, Benchaluk Thongchuai, Rujirek Chaiwongsa, Supaporn Khamchun, Somphot Saoin, Wimonrut Insuan, et al. 2021. « Anti-Inflammatory Effect of Pineapple Rhizome Bromelain through Downregulation of the NF- $\kappa$ B- and MAPKs-Signaling Pathways in Lipopolysaccharide (LPS)-Stimulated RAW264.7 Cells ». *Current Issues in Molecular Biology* 43 (1): 93-106. <https://doi.org/10.3390/cimb43010008>.

## Référence

- Issekutz, A. C., et T. B. Issekutz. 1993. « Quantitation and Kinetics of Blood Monocyte Migration to Acute Inflammatory Reactions, and IL-1 Alpha, Tumor Necrosis Factor-Alpha, and IFN-Gamma ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 151 (4): 2105-15.
- Kashyap, Rajpal S., Aliabbas A. Husain, Shweta H. Morey, Milind S. Panchbhai, Poonam S. Deshpande, Hemant J. Purohit, Girdhar M. Taori, et Hatim F. Dagainawala. 2010. « Assessment of Immune Response to Repeat Stimulation with BCG Vaccine Using in Vitro PBMC Model ». *Journal of Immune Based Therapies and Vaccines* 8 (mai): 3. <https://doi.org/10.1186/1476-8518-8-3>.
- Klebanoff, S. J. 1999. « Myeloperoxidase ». *Proceedings of the Association of American Physicians* 111 (5): 383-89. <https://doi.org/10.1111/paa.1999.111.5.383>.
- Klebanoff, S. J., et R. W. Coombs. 1992. « Viricidal Effect of Polymorphonuclear Leukocytes on Human Immunodeficiency Virus-1. Role of the Myeloperoxidase System ». *The Journal of Clinical Investigation* 89 (6): 2014-17. <https://doi.org/10.1172/JCI115810>.
- Kleinnijenhuis, Johanneke, Jessica Quintin, Frank Preijers, Leo A. B. Joosten, Cor Jacobs, Ramnik J. Xavier, Jos W. M. van der Meer, Reinout van Crevel, et Mihai G. Netea. 2014. « BCG-Induced Trained Immunity in NK Cells: Role for Non-Specific Protection to Infection ». *Clinical Immunology (Orlando, Fla.)* 155 (2): 213-19. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2014.10.005>.
- Kumar, Pawan. 2021. « A Perspective on the Success and Failure of BCG ». *Frontiers in Immunology* 12. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.778028>.
- Leroux-Roels, Geert. 2010. « Unmet Needs in Modern Vaccinology: Adjuvants to Improve the Immune Response ». *Vaccine* 28 Suppl 3 (août): C25-36. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2010.07.021>.
- Li, Junli, Jinbiao Lu, Guozhi Wang, Aihua Zhao, et Miao Xu. 2022. « Past, Present and Future of Bacillus Calmette-Guérin Vaccine Use in China ». *Vaccines* 10 (7): 1157. <https://doi.org/10.3390/vaccines10071157>.
- Liliany, Dewi, Armelia Sari Widyarman, Erni Erfan, Janti Sudiono, et Melanie S. Djamil. 2018. « Enzymatic Activity of Bromelain Isolated Pineapple (Ananas Comosus) Hump and Its Antibacterial Effect on Enterococcus Faecalis ». *Scientific Dental Journal* 2 (2): 39. <https://doi.org/10.26912/sdj.v2i2.2540>.
- LUCA, Simona, et Traian MIHAESCU. 2013. « History of BCG Vaccine ». *Mædica* 8 (1): 53-58.
- MARTINI, M., G. BESOZZI, et I. BARBERIS. 2018. « The never-ending story of the fight against tuberculosis: from Koch's bacillus to global control programs ». *Journal of Preventive Medicine and Hygiene* 59 (3): E241-47. <https://doi.org/10.15167/2421-4248/jpmh2018.59.3.1051>.
- Milstien, J. B., et J. J. Gibson. 1990. « Quality Control of BCG Vaccine by WHO: A Review of Factors That May Influence Vaccine Effectiveness and Safety ». *Bulletin of the World Health Organization* 68 (1): 93-108.
- Montpellier, Centre Hospitalier Universitaire de. s. d. « La Tuberculose ». CHU de Montpellier : Site Internet. Consulté le 29 avril 2023. <https://www.chu-montpellier.fr/fr/vaccination/histoire-des-epidemes-et-de-la-vaccination/la-tuberculose>.
- Moreno-Mendieta, Silvia, Alejandra Barrera-Rosales, Dulce Mata-Espinosa, Jorge Barrios-Payán, Sergio Sánchez, Rogelio Hernández-Pando, et Romina Rodríguez-Sanoja. 2019. « Raw Starch Microparticles as BCG Adjuvant: Their Efficacy Depends on the Virulence of the Infection Strains ». *Vaccine* 37 (38): 5731-37. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2019.04.027>.
- O'Hagan, Derek T., et Nicholas M. Valiante. 2003. « Recent Advances in the Discovery and Delivery of Vaccine Adjuvants ». *Nature Reviews. Drug Discovery* 2 (9): 727-35. <https://doi.org/10.1038/nrd1176>.
- Okafor, Chika N., Ayesan Rewane, et Ifeanyi I. Momodu. 2022. « Bacillus Calmette Guerin ». In *StatPearls [Internet]*. StatPearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK538185/>.

## Référence

---

- Parkash, Om. 2014. « How to Avoid the Impact of Environmental Mycobacteria towards the Efficacy of BCG Vaccination against Tuberculosis? » *International Journal of Mycobacteriology* 3 (1): 1-4. <https://doi.org/10.1016/j.ijmyco.2014.01.006>.
- Parmar, Kanak, Afzal Siddiqui, et Kenneth Nugent. 2021. « Bacillus Calmette-Guerin Vaccine and Nonspecific Immunity ». *The American Journal of the Medical Sciences* 361 (6): 683-89. <https://doi.org/10.1016/j.amjms.2021.03.003>.
- Payton, Sarah. 2014. « Basic Research: Therapeutic Action of BCG Mediated by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>? » *Nature Reviews. Urology* 11 (7): 364. <https://doi.org/10.1038/nrurol.2014.140>.
- Pick, E., et Y. Keisari. 1980. « A Simple Colorimetric Method for the Measurement of Hydrogen Peroxide Produced by Cells in Culture ». *Journal of Immunological Methods* 38 (1-2): 161-70. [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(80\)90340-3](https://doi.org/10.1016/0022-1759(80)90340-3).
- Plotkin, Stanley A. 2005. « Vaccines: past, present and future ». *Nature Medicine* 11 (Suppl 4): S5-11. <https://doi.org/10.1038/nm1209>.
- Pollard, Andrew J., et Else M. Bijker. 2021. « A guide to vaccinology: from basic principles to new developments ». *Nature Reviews. Immunology* 21 (2): 83-100. <https://doi.org/10.1038/s41577-020-00479-7>.
- Ponath, Viviane, et Bernd Kaina. 2017. « Death of Monocytes through Oxidative Burst of Macrophages and Neutrophils: Killing in Trans ». *PLoS One* 12 (1): e0170347. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170347>.
- Poret, Manon, Thanh Tran, Marie Villotte, et Oliver Nüsse. 2017. « La myéloperoxydase : un fin stratège face à l'infection par un pathogène ». *médecine/sciences* 33 (8-9): 741-43. <https://doi.org/10.1051/medsci/20173308018>.
- Prinyakupt, Jaroonrut, et Charnchai Pluempitiwiriawej. 2015. « Segmentation of White Blood Cells and Comparison of Cell Morphology by Linear and Naïve Bayes Classifiers ». *Biomedical Engineering Online* 14 (juin): 63. <https://doi.org/10.1186/s12938-015-0037-1>.
- Pulendran, Bali, Shuzhao Li, et Helder I. Nakaya. 2010. « Systems Vaccinology ». *Immunity* 33 (4): 516-29. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2010.10.006>.
- Pulli, Benjamin, Muhammad Ali, Reza Forghani, Stefan Schob, Kevin L. C. Hsieh, Gregory Wojtkiewicz, Jenny J. Linnoila, et John W. Chen. 2013. « Measuring Myeloperoxidase Activity in Biological Samples ». *PLoS One* 8 (7): e67976. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0067976>.
- r L. Perlemuter, et G. Perlemuter. 2018. *Guide de thérapeutique 2018*. 10e édition.
- Ramli, Aizi Nor Mazila, Tuan Norsyalieza Tuan Aznan, et Rosli Md Illias. 2017. « Bromelain: From Production to Commercialisation ». *Journal of the Science of Food and Agriculture* 97 (5): 1386-95. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8122>.
- Rathnavelu, Vidhya, Noorjahan Banu Alitheen, Subramaniam Sohila, Samikannu Kanagesan, et Rajendran Ramesh. 2016. « Potential Role of Bromelain in Clinical and Therapeutic Applications ». *Biomedical Reports* 5 (3): 283-88. <https://doi.org/10.3892/br.2016.720>.
- Reema, Bhattacharya, et Debasish Bhattacharyya. 2009. « Resistance of Bromelain to SDS Binding ». *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics* 1794 (4): 698-708. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2008.12.019>.
- Salas, Carlos E., Marco T. R. Gomes, Martha Hernandez, et Miriam T. P. Lopes. 2008. « Plant Cysteine Proteinases: Evaluation of the Pharmacological Activity ». *Phytochemistry* 69 (12): 2263-69. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2008.05.016>.
- Saliou, Pierre, et Marc Girard. 2005. « De Jenner et Pasteur à la vaccinologie ». *Thérapies* 60 (3): 201-4. <https://doi.org/10.2515/therapie:2005024>.
- Sarlangue, J. 2022. « Histoire des vaccinations, de la variole à la Covid-19 ». *Perfectionnement en Pédiatrie* 5 (1): 72-83. <https://doi.org/10.1016/j.perped.2022.01.012>.
- Schultz, Julius, et Kenneth Kaminker. 1962. « Myeloperoxidase of the Leucocyte of Normal Human Blood. I. Content and Localization ». *Archives of Biochemistry and Biophysics* 96 (3): 465-67. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(62\)90321-1](https://doi.org/10.1016/0003-9861(62)90321-1).

## Référence

---

- Sies, Helmut. 2017. « Hydrogen Peroxide as a Central Redox Signaling Molecule in Physiological Oxidative Stress: Oxidative Eustress ». *Redox Biology* 11 (avril): 613-19. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2016.12.035>.
- Stern, Alexandra Minna, et Howard Markel. 2005. « The History of Vaccines and Immunization: Familiar Patterns, New Challenges ». *Health Affairs (Project Hope)* 24 (3): 611-21. <https://doi.org/10.1377/hlthaff.24.3.611>.
- Thomas, David C. 2017. « The Phagocyte Respiratory Burst: Historical Perspectives and Recent Advances ». *Immunology Letters* 192 (décembre): 88-96. <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2017.08.016>.
- Vakhrusheva, Tatyana V., Daria V. Grigorieva, Irina V. Gorudko, Alexey V. Sokolov, Valeria A. Kostevich, Vassili N. Lazarev, Vadim B. Vasilyev, Sergey N. Cherenkevich, et Oleg M. Panasenko. 2018. « Enzymatic and Bactericidal Activity of Myeloperoxidase in Conditions of Halogenative Stress ». *Biochemistry and Cell Biology = Biochimie Et Biologie Cellulaire* 96 (5): 580-91. <https://doi.org/10.1139/bcb-2017-0292>.
- Varilla, Carolina, Massimo Marcone, Lisete Paiva, et Jose Baptista. 2021a. « Bromelain, a Group of Pineapple Proteolytic Complex Enzymes (*Ananas comosus*) and Their Possible Therapeutic and Clinical Effects. A Summary ». *Foods* 10 (10): 2249. <https://doi.org/10.3390/foods10102249>.
- . 2021b. « Bromelain, a Group of Pineapple Proteolytic Complex Enzymes (*Ananas comosus*) and Their Possible Therapeutic and Clinical Effects. A Summary ». *Foods* 10 (10): 2249. <https://doi.org/10.3390/foods10102249>.
- . 2021c. « Bromelain, a Group of Pineapple Proteolytic Complex Enzymes (*Ananas comosus*) and Their Possible Therapeutic and Clinical Effects. A Summary ». *Foods* 10 (10): 2249. <https://doi.org/10.3390/foods10102249>.
- Veer, Mike de, et Els Meeusen. 2011. « New Developments in Vaccine Research--Unveiling the Secret of Vaccine Adjuvants ». *Discovery Medicine* 12 (64): 195-204.
- VERMOUT S.1 et al. 2003. « Choix d'un adjuvant lors d'essais de vaccination ». *FORMATION CONTINUE – ARTICLE DE SYNTHÈSE*, septembre.
- Winterbourn, Christine C. 2008. « Reconciling the Chemistry and Biology of Reactive Oxygen Species ». *Nature Chemical Biology* 4 (5): 278-86. <https://doi.org/10.1038/nchembio.85>.
- Zhou, Wei, Cuizhu Ye, Lijing Geng, Guannan Chen, Xiaoyu Wang, Weijie Chen, Rina Sa, Junpeng Zhang, et Xiang Zhang. 2021. « Purification and Characterization of Bromelain from Pineapple (*Ananas Comosus* L.) Peel Waste ». *Journal of Food Science* 86 (2): 385-93. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15563>.