

Slimhinnevaktsiner i utvikling

Sammendrag

Den levende poliovaksinen som gis oralt, representerer den første slimhinnevaktsinen i allmenn bruk. Senere er det utviklet liknende vaksiner mot tyfoidefeber, kolera og rotavirusinfeksjon, og en nasal vaksine mot influensa er nylig registrert i USA. Den eneste ikke-levende slimhinnevaktsinen på markedet i dag er en oral koleravaksine som består av inaktiverte *Vibrio cholerae* og B-subenheten av koleratoksin. Flere forskningsgrupper arbeider imidlertid med å utvikle andre slimhinnevaktsiner basert på inaktiverte mikrober eller deler av dem.

Ved Folkehelseinstituttet er det gjort forsøk med dyr som tyder på at ikke-levende nasale vaksiner kan gi opphav til beskyttende immunitet og at de kan kombineres med tilsvarende vaksiner til injeksjon. Kliniske forsøk med nasale vaksiner bestående av betapropiolaktolinaktiverte influensapartikler viste at det kunne oppnås konsentrasjoner av antistoff i serum som regnes som beskyttende mot influensa. Det ble også dannet IgA-antistoff i nesesekret spesifikt rettet mot influensa, noe som kan tenkes å hemme utbredelse av sykdommen. Ved å optimalisere immuniseringsregimene slik at den immunologiske hukommelsen blir utnyttet bedre, og eventuelt legge til adjuvans i formuleringene, er det sannsynlig at ikke-levende slimhinnevaktsiner kan bli et realistisk alternativ til flere vaksiner som nå gis ved injeksjon.

Engelsk sammendrag finnes i artikkelen på www.tidsskriftet.no

Oppgitte interessekonflikter:
Se til slutt i artikkelen

Hilde Bakke
hilde.bakke@fhi.no
Bjørn Haneberg
Nasjonalt folkehelseinstitutt
Divisjon for smittevern
Postboks 4404 Nydalen
0403 Oslo

De som opplevde 1950-årene og tiden før det, husker med gru angsten for å få poliomylitt. Alle kjente noen som var rammet, og flere av disse ble merket for livet. Håpet kom i 1956 med den første poliovaksinen, en inaktivert vaksine som måtte gis ved injeksjon. Men det var først da den såkalte levende vaksinen kom på markedet ti år senere – den som ble gitt som dråper rett i munnen – at det ble mulig å vaksinere store deler av verdens befolkning. I dag er poliomylitt sjelden og regnes som utryddet i Europa og på det amerikanske kontinentet (1).

Hensikten med å gi poliovaksinen oralt, direkte på slimhinnene, var at det svekkede virus i vaksinen skulle nå tarmen hvor det, som andre enterovirus, har sitt naturlige habitat. Denne smitten skulle så gjøre den vaksinerte immun mot det nært beslektede «ville» viruset ved å aktivere det slimhinne-assosierte immunapparatet (fig 1). Det viste

seg imidlertid at også vaksineviruset en sjelden gang kunne være årsak til alvorlig sykdom, og at det lett ble overført fra den vaksinerte til et ikke-vaksinert familiemedlem, som så kunne bli syk (2). Dette førte til at man i mange land gikk tilbake til den inaktiverte poliovaksinen som må injiseres. Men hvis det er tale om å nå ut til store befolkningsgrupper, spesielt i områder hvor polio ennå forekommer, blir den orale vaksinen fortsatt foretrukket.

Andre levende slimhinnevaktsiner

Det samme prinsippet med å gi en levende, men svekket mikrober peroralt, som slimhinnevaktsiner, kan også benyttes for å forebygge andre sykdommer, blant annet tyfoidefeber og rotavirusinfeksjon (3). Til tross for at disse vaksinerne er både effektive og enkle å administrere, har det store gjennombruddet latt vente på seg. Vaksinen mot tyfoidefeber har for eksempel ikke fortrenget bruken av tilsvarende vaksiner som består av inaktiverte salmonellakomponenter og som må injiseres. Produksjonen av slike levende vaksiner er også komplisert. De må lagres kjølig, og prisen blir derfor høy – noe som gjør dem mindre anvendelige i den fattige del av verden (4). Dessuten har det vært knyttet en viss skepsis til slike vaksiner, spesielt siden den første perorale vaksinen mot rotavirusinfeksjon ble trukket fra markedet etter bare få måneders



Slimhinnevaktsiner er enkle å administrere. Vaksiner gitt som nesedråper er et godt eksempel. Vaksinanden kan selv ta vaksinen under tilsyn

bruk på grunn av mistanke om at den kunne forårsake invaginasjon hos barn. Beskyttelsen mot sykdom i de mest utsatte deler av verden har ikke alltid vært så god som de første forsøkene kunne gi håp om (4, 5).

Den levende vaksinen mot influensa som kom på markedet i USA for et par år siden og som gis som neseppray, er heller ikke blitt den suksessen som var forventet. Muligens kan dette forklares ved at de etablerte injeksjonsvaksinene mot influensa er både billige og effektive. Det har dessuten vært antydning at det svekkede virus i den nasale influensavaksinen kunne tenkes å revertere til mer patogene former. Det blir derfor anbefalt å fortsette arbeidet med å utvikle alternative, ikke-levende slimhinnevaksiner mot influensa (6).

Ikke-levende slimhinnevaksiner

Ved Folkehelseinstituttet har det inntil nylig vært arbeidet med å undersøke hvilke faktorer som var bestemmende for at ikke-levende slimhinnevaksiner skulle kunne bli effektive og praktiske i bruk (7). Forsøk fra årene etter 1940 hadde nemlig vist at det var mulig å oppnå en viss antistoffrespons i serum etter å ha gitt den tradisjonelle, inaktiverede influensavaksinen intranasalt, men ikke på langt nær det som måtte til for å utfordre injeksjonsvaksinene (8).

I en tidligere studie som ser ut til å ha gått i glemmeboken, var imidlertid resultatene av intranasal vaksinerings mer oppløftende; barn som hadde fått bare én subkutan injeksjon med difterivaksine, og som deretter ble revaksinert intranasalt, hadde like god effekt på antitoksinnivået i serum som etter revaksinering subkutan (9). Dette til tross for at det ikke ble gitt større doser intranasalt enn subkutan og at den nasale vaksinen heller ikke inneholdt tradisjonell adjuvans, mens den subkutane vaksinen var absorbert til $Al(OH)_3$. Hvis man i dag skulle forsøke å forklare denne gode effekten av nasal vaksine mot difteri, måtte det være at den hadde beholdt noe av difteritoksinets egenskaper som muligens kunne ha virket som et slimhinneadjuvans på linje med andre bakterielle toksiner, som forklart nedenfor, og som kunne ha bidratt til at vaksinen klarte å trenge igjennom den barrieren som slimhinnene representerer.

Slimhinneadjuvans

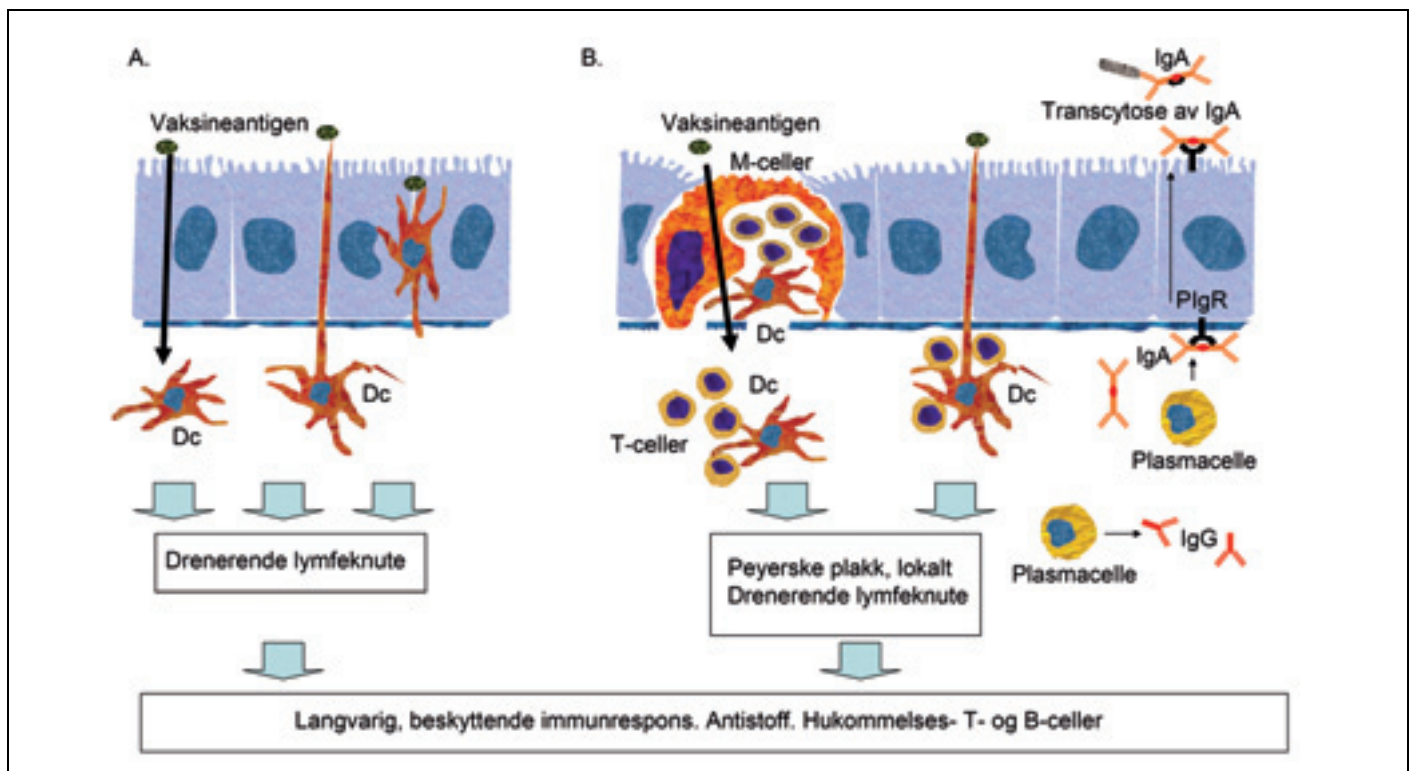
Normalt vil kroppen tåle å bli utsatt for store molekylar som presenteres på slimhinnene i form av fødemidler eller inhalerte stoffer. Det utvikles som regel redusert immunreaksjon eller immunologisk toleranse etter gjentatt inntak av slike komponenter med antigene egenskaper (10). I dyreforsøk er det

Hovedbudskap

- Flere levende slimhinnevaksiner er utviklet
- Én ikke-levende oral vaksine – mot kolera – er i salg
- Flere ikke-levende slimhinnevaksiner kan være på markedet i løpet av få år

imidlertid vist at enkelte toksiner som utskilles fra *V. cholerae* og *Escherichia coli*, kan bryte denne toleransen og virke som adjuvans, slik at det blir utviklet immunitet mot proteiner som gis direkte på slimhinner (11). Grunnlaget for denne virkningen er ikke helt klarlagt, men kan delvis forklares ved at de aktiverer og setter slimhinnen i en tilstand av alarmberedskap (3). På denne måten kan virkningen av et antigen bli forsterket ved å gis samtidig med adjuvans, men uten at antigenet nødvendigvis er koblet til adjuvans.

Det har vist seg at verken kolera- eller *E. coli*-toksinene er egnet til bruk i mennesker, men ikke-toksiske derivater av dem kan ha sin immunologiske effekt i behold, noe som er utnyttet i den svenskutviklede vaksi-



Figur 1 Opptak av vaksineantigener gjennom slimhinner. a) I mange slimhinner finnes dendrittiske celler (Dc) med lange utløpere (dendritter). Utløperne kan strekke seg gjennom epitelet, såkalt snorklende dendrittiske celler, og ta opp antigener på overflaten, bryte dem ned til peptidfragmenter og så presentere disse på HLA-klasse 2-molekyler til T-celler. Dersom dendrittiske celler aktiveres av vaksinen eller adjuvans, vil de vandre til lymfeknuter og sette i gang T-celleresponser der. Det er også mulig at antigener kan tas opp av epitelceller. b) I tarm finnes M-celler som kan frakte antigener over epitelaget til underliggende vev, der T- og B-celleresponser igangsettes i spesialisert lymfoid vev (Peyerske plakk). Dendrittiske celler finnes også her og kan ta med vaksineantigener til drenerende lymfeknuter. B-celler vil utvikles til IgG- eller IgA-produserende plasmaceller. IgA kan transporteres til overflaten ved reseptormediert transcytose og der binde patogener slik at de ikke trenger inn i vevet. Immunologisk hukommelse etter vaksinerings er resultat av langlivede T- og B-celler. Illustrasjon Ludvig A. Munthe

Tabell 1 Antall deltakere (n) med serum-HAI-titer ≥ 40 i prosent av totalt antall vaksinerte (N), før og etter to og fire doser med inaktivert influensa helvirusvaksine mot A/New Caledonia/20/99 (H1N1), gitt enten som nesenspray med spesialinnretning (OptiMist), som konvensjonell nesenspray, som nesedråper eller som munnspray

Administrasjonsmåte	Før vaksine		Etter to doser		Etter fire doser	
	n/N	%	n/N	%	n/N	%
Nesenspray (OptiMist)	6/19	32	17/19	89	19/19	100
Nesenspray (konvensjonell)	6/19	32	15/19	79	15/16	94
Nesedråper	5/18	28	17/18	94	15/15	100
Munnspray	5/17	29	13/17	76	13/15	87

nen mot kolera bestående av hele, inaktiverede V cholerae pluss B-subenheten av koleratoksin som slimhinneadjuvans (10). Denne vaksinen, som gis peroralt sammen med bikarbonat for å hindre nedbrytning i ventrikelen, har erstattet en lite effektiv injiserbar koleravaksine og er i dag den eneste ikkelevende slimhinnevaksinen på markedet. Til alt overmål virker den mot vanlig turistdiaré forårsaket av tarmpatogene E coli, om enn bare i noen få uker.

Immunglobulin A

De første forsøkene med ikke-levende slimhinnevaksiner på 1900-tallet hadde til hensikt å unngå ulemper av gjentatte injeksjoner, både lokale og generelle reaksjoner (9). Først senere ble immunapparatet kartlagt. Man erkjente da slimhinnes evne til å skape en immunologisk barriere ved sekresjon av robuste IgA-molekyler til slimhinnes overflate (fig 1) og at dette kunne ha betydning for senere vaksineutvikling (12). Selv om B-celler som er aktivert av vaksineantigener i ett slimhinneområde, kan nå sirkulasjonen og slå seg ned i slimhinner fjernt fra opprinnelsesstedet og gi opphav til IgA-produkerende plasmaceller, har norske forskere nylig funnet holdpunkter i mennesker for at denne «homingen» av B-celler fra ett område er begrenset til visse organer (13). Dessuten diskuteres det fortsatt hvilken betydning sekresjonen av IgA-antistoffer kan ha, sammenliknet med IgG-antistoffer, som også lekker fra serum ut til slimhinnes overflate (3, 12).

Resultater av dyreforsøk her ved instituttet tyder på at lokalt produserte IgA-antistoffer som forekommer i marginale konsentrasjoner, kan ha effekter som skiller seg fra tilsvarende IgG-antistoffer i serum (14). Undersøkelsen viste at IgA i sekreter fra øvre luftveier hemmet lokal replikasjon av influensavirus etter nasal smitte, mens IgG i serum så mest ut til å ha betydning for dyrets evne til å motstå klinisk sykdom. Det kan derfor tenkes at ikke-levende slimhinnevaksiner vil kunne hindre spredningen av virus i befolkningen i større grad enn det som kan oppnås med tilsvarende injeksjonsvaksiner.

Egne undersøkelser bekrefter tidligere observasjoner i forsøksdyr som har vist at slimhinnevaksiner kan brukes som et sup-

plement til injiserbare vaksiner, idet immunresponsen i serum etter en injeksjonsvaksine ble forsterket av en tilsvarende nasal vaksine og vice versa (15). Det var overraskende å oppdage at injeksjonene, som selv ikke førte til økt sekresjon av IgA, kunne sensibilisere slimhinnene til økt IgA-produksjon ved senere revaksinerings intranasalt.

Partikulære formuleringer

Noen av dyrene i studien som er beskrevet ovenfor (14), var immunisert intranasalt med en vaksine bestående av hele, formalinaktiverte influensavirus i saltvann uten tilsetning av adjuvans. Forut for dette var det her ved instituttet og andre steder vist at enkle formuleringer av hele, inaktiverede mikrober eller deler av dem kunne virke som slimhinnevaksiner både hos dyr og mennesker (8). I forsøksdyr var det åpenbart at slike formuleringer ikke induserte toleranse, som man kunne frykte, men immunologisk hukommelse, som ofte er en forutsetning for å oppnå tilstrekkelig immunitet ved gjentatte immuniseringer (15). Denne positive effekten av ikke-levende slimhinnevaksiner kan sannsynligvis forklares ved at mikrobenes partikkelnatur så vel som antigene egenskaper er av betydning for evnen til å skape immunitet, for eksempel ved at de imiterer tilsvarende infeksjøs partikler. Det er holdpunkter for at slike partikler på slimhinnes overflate bringes i kontakt med immunapparatet, enten ved at de transporteres gjennom såkalte M-celler, eller ved at de fanges opp av dendritiske celler beliggende i slimhinnes epitel (fig 1) (3, 12).

Resultater av forsøk med forskjellige partikulære vaksineantigener tydet på at det ikke var noe å oppnå – verken på antistoffdannelse eller beskyttelse mot infeksjon – ved å tilsette koleratoksin, som regnes å være den mest effektive slimhinneadjuvans (16, 17). Koleratoksin som i seg selv har antigene egenskaper, kunne til og med hemme induksjonen av antistoffer mot vaksineantigenet, noe som så ut til å representere en form for interaksjon eller konkurranse mellom koleratoksin og det partikulære antigenet (18). De partikulære antigenene kunne også virke som adjuvans for andre slimhinnevaksiner i partikulær form (16, 19) og som adjuvans for vaksiner bestående av løselige proteiner (18).

Nye kliniske studier

Muligheten for at enkelte partikulære komponenter kunne virke som adjuvans for en ikke-levende, eller mer korrekt ikke-replikerende, nasal vaksine mot influensa, ble testet i en klinisk studie her ved instituttet (20). Det viste seg at formalinaktiverte Bordetella pertussis brukt som adjuvans ikke hadde større effekt på immunitetsutviklingen enn den enkle formuleringen bestående av bare betapropiolaktoninaktiverte influensaviruspartikler og som ble gitt fire ganger intranasalt. Disse alene førte til systemisk immunitet på linje med det som oppnås ved injeksjon. Muligens kan dette forklares ved at den enkle vaksineformuleringen er tilstrekkelig immunogen til å utnytte den immunologiske kapasiteten der hvor vaksinen er deponert, og at det ikke oppnås ytterligere effekt ved bruk av adjuvans. Dessuten har andre forskere vist at partikler med yttermembranproteiner fra meningokokker kunne virke som adjuvans for deler av influensavirus, såkalt splittvaksine, som er mindre immunogen enn hele viruspartikler (21). Men effekten på antistoffkonsentrasjonen i serum med denne vaksinen var ikke på langt nær så god som etter intramuskulær immunisering med en tilsvarende vaksine.

Heller ikke tilsetning av en celluloseforbindelse registrert til bruk i nasale medikamenter for å øke klebrigheten til slimhinnen hadde noen positiv virkning på immuniteten mot influensaaantigenet (20). Dette er i tråd med de observasjonene som vi tidligere har gjort i dyr, og som viste at gjentatte applikasjoner i løpet av få timer ikke hadde noen forsterkende virkning på immunresponsen (22). Observasjonene taler derfor mot at det har noe for seg å forlenge applikasjonstiden på slimhinnes overflate, for eksempel ved bruk av komponenter som øker vaksineantigenets adheranse til slimhinnes overflate (3).

Andre forskningsgrupper har også kunnet påvise at enkle formuleringer av hele, ikke-replikerende influensaviruspartikler kan være immunogene i seg selv og lede til både lokal og systemisk antistoffrespons når de gis intranasalt, selv etter bare én til to immuniseringer i doser som tilsvarer dem som gis intramuskulært (23). Men for å oppnå et antistoffnivå i serum som regnes som beskyttende mot sykdom, dvs. et hemagglutinasjonshemmende (HAI) titer ≥ 40 , ser det ut til at dosen må være en god del større (24). I denne siste studien fra Folkehelseinstituttet hvor det ble brukt seks ganger større doser enn ved injeksjon, kunne det oppnås et beskyttende serumnivå hos ca. 90 % av de vaksinerte etter to intranasale immuniseringer (tab 1). En liknende andel oppnådde signifikant titerstigning uavhengig av tidligere antistoffnivå. Ved å ta hensyn til at immunologisk hukommelse og eventuell boosterreaksjon kan oppnås i serum ved å øke intervallet mellom de nasale dosene til mer enn fire uker, er det mulig at denne

effekten kan økes eller at dosen kan reduseres (22).

I tillegg til induksjon av antistoff i serum og sekreter førte den sistnevnte studien til en markert cellulær immunrespons målt som cytotoxiciske T-celler (24). Disse funnene tyder på at nasale vaksiner ikke bare vil kunne forhindre en infeksjon, men også bidra til å bekjempe viruset etter at smitten er etablert (3).

Nasal versus oral administrering

I dyreforsøk var det åpenbart at intranasal immunisering med pneumokokkantigen hadde større effekt enn ved å gi vaksinen peroralt eller intragastrisk, også på IgA-produksjonen i tarmen (17). For å avklare om noe av effekten av nasale vaksiner kunne bero på stimulering av lymfoid vev tilhørende Waldeyers ring og ikke bare neselimhinnen og lymfoid vev på bakre pharynx-vegg, fikk noen forsøkspersoner i den tidligere nevnte studien (24) influensavaksinen som oral spray. Disse vaksinandene ble bedt om å åpne munnen på vidt gap, og vaksinen ble forsøkt deponert på slimhinnene i den orale delen av pharynx, inkludert tonsille-regionene. Det viste seg da at en stor del av dem som fikk vaksinen på denne måten, oppnådde serum-HAI-titer ≥ 40 , men som forventet kom det ikke til noen målbar antistoffrespons i nasalsekretet. De beste resultatene lokalt på slimhinnene ble oppnådd ved bruk av en egen administrasjonsinnretning utviklet av OptiNose AS, som sikret utelukkende intranasal deponering av vaksinen med lukket gane. Likevel kan det tenkes at oral deponering av vaksiner vil ha en viss berettigelse fordi denne administrasjonsmåten gjør det mulig å benytte seg av formuleringer med slimhinneadjuvans som ikke kan brukes intranasalt, for eksempel derivater av de tidligere nevnte bakterielle toksinene (25).

Fremtidsutsikter

Fordelene ved slimhinnevaksiner er åpenbare, spesielt i forbindelse med verdensomspennende infeksjoner. Ved å utnytte potensialet for at også ikke-levende slimhinnevaksiner kan bli praktiske og økonomiske i bruk, er det sannsynlig at flere infeksjoner kan bringes under kontroll uten større risiko for individuelle eller miljømessige ulemper.

Selv om omkostningene ved å satse på utviklingen av slike vaksiner vil være relativt beskjedne sett i forhold til hva som kan oppnås for store deler av verdens befolkning, er det lite trolig at industrien finner dette økonomisk interessant. I tillegg er også offentlige institusjoner i dag nødt til å prioritere ut ifra kortsiktige økonomiske vurderinger. Drivkraften i utviklingen av nye vaksiner er sannsynligvis avhengig av angst for at den rike del av verden skal rammes av alvorlige infeksjoner.

Forfatterne takker Ludvig A. Munthe for bruk av figur 1.

Oppgitte interessekonflikter: Bjørn Haneberg har mottatt foredragshonorar fra GlaxoSmith-Kline. Hilde Bakke har ingen interessekonflikter.

Litteratur

- Smith J, Leke R, Adams A et al. Certification of polio eradication: process and lessons learned. *Bull World Health Organ* 2004; 82: 24–30.
- Haneberg B, Ørstavik I. Poliomyelitis associated with oral poliovaccine. Report on two cases. *Acta Paediatr Scand* 1972; 61: 105–8.
- Neutra MR, Kozlovski PA. Mucosal vaccines: the promise and the challenge. *Nat Rev Immunol* 2006; 6: 148–8.
- von Seidlein L. The need for another typhoid fever vaccine (editorial). *J Infect Dis* 2005; 192: 357–9.
- Glass RI, Parashar UD. The promise of new rotavirus vaccines (editorial). *N Engl J Med* 2006; 354: 75–7.
- Beyer WEP, Palache AM, de Jong JC et al. Cold-adapted live influenza vaccine versus inactivated vaccine: systemic vaccine reactions, local and systemic antibody response, and vaccine efficacy. A meta-analysis. *Vaccine* 2002; 20: 1340–53.
- Bakke H. Strategies for making non-replicating mucosal vaccines suitable for use in humans. Doktoravhandling. Oslo: Det matematisk-naturvitenskapelige fakultet, Universitetet i Oslo, 2005.
- Haneberg B, Holst J. Can nonliving nasal vaccines be made to work? *Expert Rev Vaccines* 2002; 1: 227–32.
- Jensen C. Active immunization against diphtheria by the combined subcutaneous and intranasal method. *Proc Royal Soc Med* 1937; 30: 1117–48.
- Holmgren J, Czerkinski C. Mucosal immunity and vaccines. *Nat Med* 2005; 11: S45–53.
- Ogra PL. Mucosal immunoprophylaxis: an introductory overview. I: Kiyono H, Ogra PL, McGhee JR, red. *Mucosal vaccines*. San Diego: Academic Press, 1996: 3–14.
- Brandtzaeg P. Role of secretory antibodies in the defence against infections. *Int J Med Microbiol* 2003; 293: 1–13.
- Johansen F-E, Bækkevold ES, Carlsen HS et al. Regional induction of adhesion molecules and chemokine receptors explains disparate homing of human B cells to systemic and mucosal effector sites: dispersion from tonsils. *Blood* 2005; 106: 593–600.
- Bizanov G, Janakova L, Knapstad SE et al. Immunoglobulin A-antibodies in upper airway secretions may inhibit intranasal influenza virus replication in mice but not protect against clinical illness. *Scand J Immunol* 2005; 61: 503–10.
- Bakke H, Lie K, Haugen IL et al. Meningococcal outer membrane vesicle vaccine given intranasally can induce immunological memory and booster responses without evidence of tolerance. *Infect Immun* 2001; 69: 5010–5.
- Berstad AKH, Andersen SR, Dalseg R et al. Inactivated meningococci and pertussis bacteria are immunogenic and act as mucosal adjuvants for nasal inactivated influenza virus vaccine. *Vaccine* 2000; 18: 1910–9.
- Hvalbye BKR, Aaberge IS, Løvik M et al. Intranasal immunisation with heat-inactivated *Streptococcus pneumoniae* protects against systemic pneumococcal infection. *Infect Immun* 1999; 67: 4320–5.
- Haugan A, Dao PXT, Glende N et al. Bordetella pertussis can act as adjuvant as well as inhibitor of immune responses to non-replicating nasal vaccines. *Vaccine* 2003; 22: 7–14.
- Dalseg R, Holst J, Tangen T et al. Outer membrane vesicles from group B meningococci can act as mucosal adjuvant for influenza virus antigens. I: Brown F, Norrby E, Burton D et al, red. *Vaccines 96: Molecular approaches to the control of infectious diseases*. Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1996: 177–82.
- Samdal HH, Bakke H, Oftung F et al. A non-living nasal influenza vaccine can induce major humoral and cellular immune responses in humans without the need for adjuvants. *Human Vaccines* 2005; 1: 85–90.
- Treanor J, Nolan C, O'Brien D et al. Intranasal administration of a proteasome-influenza vaccine is well-tolerated and induces serum and nasal secretions influenza antibodies in healthy human subjects. *Vaccine* 2006; 24: 254–62.
- Bakke H, Setek TN, Huynh PN et al. Immunisation schedules for non-replicating nasal vaccines can be made simple by allowing time for development of immunological memory. *Vaccine* 2004; 22: 2278–84.
- Greenbaum E, Engelhard D, Levy R et al. Mucosal (SIgA) and serum (IgG) immunologic responses in young adults following intranasal administration of one or two doses of inactivated, trivalent influenza vaccine. *Vaccine* 2004; 22: 2566–77.
- Bakke H, Samdal HH, Holst J et al. Oral spray immunization may be an alternative to intranasal vaccine delivery to induce systemic antibodies but not nasal mucosal or cellular immunity. *Scand J Immunol* 2006; 63: 223–31.
- van Ginkel FW, Jackson RJ, Yuki Y et al. Cutting edge: the mucosal adjuvant cholera toxin redirects vaccine proteins into olfactory tissues. *J Immunol* 2000; 165: 4778–82.

Manuskriptet ble mottatt 22.5. 2006 og godkjent 20.9. 2006. Medisinsk redaktør Petter Gjersvik.