



**HAL**  
open science

# Vaccination contre la bilharziose : réalités et perspectives

Élise Combet

► **To cite this version:**

Élise Combet. Vaccination contre la bilharziose : réalités et perspectives. Sciences pharmaceutiques. 1999. dumas-01281058

**HAL Id: dumas-01281058**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01281058>**

Submitted on 1 Mar 2016

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

## AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il n'a pas été réévalué depuis la date de soutenance.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact au SID de Grenoble : **thesebum@ujf-grenoble.fr**

## LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

<http://www.cfcopies.com/juridique/droit-auteur>

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>



*1<sup>er</sup> exemplaire*

**UNIVERSITE JOSEPH FOURIER  
FACULTE DE PHARMACIE DE GRENOBLE**

*7029*

ANNEE : 1999

# **Vaccination contre la bilharziose : Réalités et perspectives**

**THESE  
PRESENTEE POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT EN  
PHARMACIE**

**DIPLOME D'ETAT**

**COMBET Elise**

Née le 12 Juin 1973 à Chambéry

THESE SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE : 06 Juillet 1999 à 9 heures  
DEVANT LE JURY COMPOSE DE :

Président de thèse : Madame le professeur GRILLOT

Directeur de thèse : Madame PINEL

Pharmacien d'officine : Madame BOUVET

# REMERCIEMENTS

Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance à mon directeur de thèse, Madame PINEL, qui a proposé le sujet et a suivi l'avancement des travaux.

Je sais gré à Madame le professeur GRILLOT d'avoir accepté d'être présidente de thèse.

Je tiens également à exprimer mes plus sincères remerciements à Madame BOUVET, pharmacien d'officine, pour avoir bien voulu juger ce travail.

Mes plus vifs remerciements vont à nouveau à Madame BOUVET pour avoir complété ma formation et m'avoir fait profiter de sa large expérience.

Je ne sais comment exprimer ma profonde reconnaissance à Olivier pour son aide inestimable ainsi que pour son appui moral.

Je tiens à remercier mes parents, ma sœur Isabelle, ainsi que mes amies Sophie M., Sophie D. et Annabelle pour leur soutien moral.





# SOMMAIRE

<b>Introduction</b>	<b>7</b>
---------------------	----------

<b>La bilharziose</b>	<b>8</b>
-----------------------	----------

<b>1. - Bilharziose intestinale</b>	<b>10</b>
<b>1.1. - <i>Schistosoma mansoni</i></b>	<b>10</b>
1.1.1. - Morphologie	10
1.1.2. - Cycle évolutif et symptômes	11
1.1.2.1. - Le cycle	11
1.1.2.2. - Les complications	13
<b>1.2. - <i>Schistosoma japonicum</i></b>	<b>16</b>
<b>2. - Bilharziose urinaire : <i>Schistosoma haematobium</i></b>	<b>17</b>
<b>3. - Traitement</b>	<b>20</b>
3.1. - <i>Bilharziose intestinale</i>	20
3.2. - <i>Bilharziose urinaire</i>	21
<b>4. - Autres espèces</b>	<b>21</b>
<b>5. - Prophylaxie</b>	<b>22</b>
<b>6. - Evaluation des traitements et perspectives</b>	<b>22</b>
<b>7. - Conclusion</b>	<b>24</b>

<b>Immunité et vaccination</b>	<b>27</b>
--------------------------------	-----------

<b>1. - Rappel sur l'immunité et les cellules impliquées dans l'immunité</b>	<b>27</b>
1.1. - <i>Définition de l'immunité</i>	27
1.2. - <i>Les cellules impliquées dans l'immunité</i>	27
Les lymphocytes B	28
Les lymphocytes T	28
Les cellules NK (natural killer)	29
Les cellules nulles	29
Le CMH ou complexe majeur d'histocompatibilité (Roitt-1990)	30
Les macrophages	30
<b>2. - Mécanismes plus spécifiques mis en jeu lors d'une infection par des parasites</b>	<b>31</b>
2.1. - <i>L'immunité cellulaire</i>	32
2.2. - <i>L'immunité humorale</i>	33
<b>3. - La vaccination</b>	<b>34</b>
3.1. - <i>Définition</i>	34
3.2. - <i>Le vaccin</i>	35
3.3. - <i>La vaccination</i>	35
3.3.1. - La vaccination par microorganismes tués	36
3.3.2. - La vaccination par microorganismes vivants atténués	36
a. - <i>Méthodes classiques d'atténuation</i>	37
b. - <i>Atténuation utilisant les techniques de recombinaison de l'ADN</i>	37
c. - <i>Vecteurs viraux</i>	38

d. - Les risques de l'utilisation des vaccins atténués	38
3.3.3. - Vaccination par antigènes protecteurs isolés	39
a. - Utilisation de molécules purifiées	39
b. - Obtention d'Ag par clonage	40
c. - Utilisation de peptides de synthèse simulant des Ac	40
d. - Utilisation des idiotypes pour la fabrication de vaccin	40
3.3.4. - Les adjuvants	41
a. - Effets de dépôt	42
b. - Activation des macrophages	42
3.3.5. - Nouvelles techniques d'inoculation des Ag	43
<b>4. - Difficultés rencontrées avec les parasites lors de la mise au point de vaccins</b>	<b>43</b>
4.1. - La séquestration anatomique	43
4.2. - La variation antigénique	44
4.3. - La résistance aux mécanismes effecteurs	44
4.4. - La modification des Ag de surface	45
4.5. - L'altération des défenses de l'hôte	45
<b>5. - Conclusion</b>	<b>46</b>

## Protection vaccinale : résultats et perspectives 48

<b>1. - Vaccins vivants atténués</b>	<b>49</b>
1.1. - Essais sur l'utilisation de cercaires atténuées par l'action des ultra-violets	49
1.2. - Essais sur le rôle de l'oxyde nitrique (NO) et des cytokines TH1 (Wynn et Oswald - 1994)	49
1.2.1. - Rôle et fonctions du NO (Cox - 1997)	49
1.2.2. - Etudes	50
1.2.3. - Résultats	51
1.3. - Essais réalisés pour démontrer le rôle de l'IFN $\gamma$ (Cox - 1997)	51
1.4. - Etude des effets de cercaires irradiées chez les singes	52
1.4.1. - Expériences	52
1.4.2. - Résultats	52
<b>2. - Vaccins à base de protéines naturelles ou recombinantes</b>	<b>54</b>
2.1. - Sm28GST (Pancre et Gras-Masse - 1996)	54
2.1.1. - Résultats expérimentaux	54
2.1.2. - Conclusions	55
2.2. - s TPI (Reynolds et Dahl - 1994)	56
2.3. - Sm14 (Tendler et Brito - 1996)	56
2.3.1. - Expérience	56
2.3.2. - Résultats	57
2.3.3. - Conclusion	57
2.4. - La paramyosine comme cible pour l'immunité protectrice : Sm97	57
2.4.1. - Expérience	58
2.4.2. - Résultats	58
2.4.3. - Conclusion	59
2.5. - Sm90 (Hawn et Strand - 1994)	59
2.6. - La myosine	60
2.7. - Autres antigènes candidats : le complexe "9B" (Ben-Yedidia et Arnon - 1997)	60
2.8. - Glycéraldéhyde 3 phosphate déhydrogénase	60
2.9. - Sm22 (Dunne et Hagan - 1995)	61
2.10. - 62kDA (Ben-Yedidia et Arnon - 1997)	61
2.11. - Sm23 (Ben-Yedidia et Arnon - 1997)	61
2.12. - Conclusion	62
<b>3. - Vaccins à base de peptides</b>	<b>62</b>
3.1. - Peptides dérivés de Sm28GST (Pancre et Gras-Masse - 1996)	63
3.1.1. - Le peptide	63

3.1.2. - Résultats	63
3.1.3. - Perspective	63
<b>3.2. - Peptide antigène multiple (MAP): sTPI et Sm29GST (Ferru et Georges – 1997)</b>	<b>63</b>
3.2.1. - Etudes	64
3.2.2. - Résultats	64
3.2.3. - Conclusions	65
<b>3.3. - MAP : sTPI et Sm23 (Harn et Reynolds – 1995)</b>	<b>65</b>
3.3.1. - Etudes	65
3.3.2. - Conclusion	66
<b>4. - Utilisation d'adjuvants</b>	<b>66</b>
<b>4.1. - Un vaccin muqueux contre la bilharziose : Sm 28 kDA glutathion S transferase. Vecteurs : le liposome (Ivanoff et Phillips – 1996)</b>	<b>67</b>
4.1.1. - Expérience	68
a. - Préparation de la formule SmGST / liposome	68
b. - Immunisation des souris avec le complexe Sm28GST / liposome	69
c. - Les essais de protection	69
4.1.2. - Résultats	70
4.1.3. - Conclusion	70
<b>4.2. - Vecteur : Bordetella pertussis (Renaud-Mongenien et Mielcarek – 1996)</b>	<b>71</b>
4.2.1. - Etudes	71
4.2.2. - Résultats	72
<b>4.3. - Vaccin utilisant la salmonelle comme porteur (Anjam Khan et Villarreal-Ramos – 1994)</b>	<b>72</b>
4.3.1. - Etude	73
4.3.2. - Résultats	73
4.3.3. - Conclusion	73
<b>4.4. - Vaccination par différentes voies avec le BCG (Bacillus Calmette Gerin) (Williams et Caspar – 1995)</b>	<b>74</b>
4.4.1. - Données expérimentales	74
4.4.2. - Résultats	74
4.4.3. - Conclusion	75
<b>4.5. - IL-12 et paramyosine</b>	<b>75</b>
<b>5. - Vaccins avec des Ac-anti-idiotypes (Shoenfeld et Amital – 1994)</b>	<b>75</b>
5.1. - Les Ac anti-idiotypes comme vaccin potentiel contre les agents infectieux	76
5.2. - Les vaccins anti-idiotypes en parasitologie	76
<b>6. - Vaccins à ADN (Kalinna – 1997)</b>	<b>76</b>
6.1. - La distribution des vaccins à ADN	78
6.2. - Applications aux infections parasitaires	80
6.3. - Perspective pour le futur	81
<b>7. - Conclusion</b>	<b>82</b>
 <b>Conclusion générale</b>	 <b>84</b>
 <b>Bibliographie</b>	 <b>86</b>

## **Introduction**

Les maladies parasitaires représentent à l'échelle mondiale un problème préoccupant de santé publique et d'entrave au développement des pays du tiers monde.

L'approche vaccinale des maladies parasitaires a mis beaucoup de temps à prendre corps pour de multiples raisons. D'une part, les connaissances en immunologie parasitaire ont été pendant longtemps en retard et d'autre part la multiplication de certains parasites *in vitro* est difficile à appréhender (Cela est dû au fait de la complexité des cycles parasitaires, de la difficulté d'obtenir des modèles animaux transposables à l'homme et de l'extrême variabilité antigénique des parasites).

La bilharziose ou schistosomiase est une des maladies parasitaires les plus répandues. Elle est endémique dans 75 pays tropicaux et atteint au moins 200 millions d'individus par an. Elle est responsable d'environ 80 000 décès chaque année.

Il n'existe, à l'heure actuelle, aucun moyen chimioprophylactique et la chimiothérapie disponible ne prévient pas la réinfestation.

La résistance à la chimiothérapie implique d'autres recherches de lutte contre cette parasitose.

Le développement d'un vaccin efficace contre cette affection présente donc un intérêt primordial.

Dans un premier temps, nous allons rappeler les caractéristiques des schistosomes, de la maladie et des traitements médicamenteux disponibles actuellement.

Puis, après avoir traité les bases de l'immunologie anti parasitaire, nous aborderons les résultats des études vaccinales et les perspectives.

Actuellement, les anticorps anti-idiotypiques et les vaccins à ADN constituent les principaux espoirs.

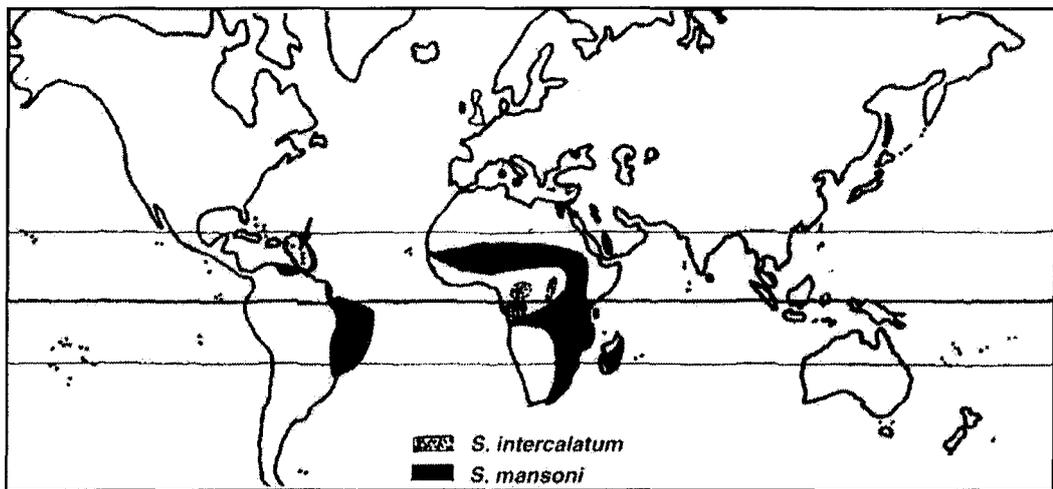
# La bilharziose

Les schistosomes appartiennent à l'embranchement des plathelminthes, et à la classe des trématodes.

Il existe quatre espèces principales parasites de l'homme :

\* *Schistosoma mansoni* : responsable de la bilharziose intestinale. Cette parasitose atteint l'Afrique tropicale, l'Amérique centrale et l'Amérique du sud.

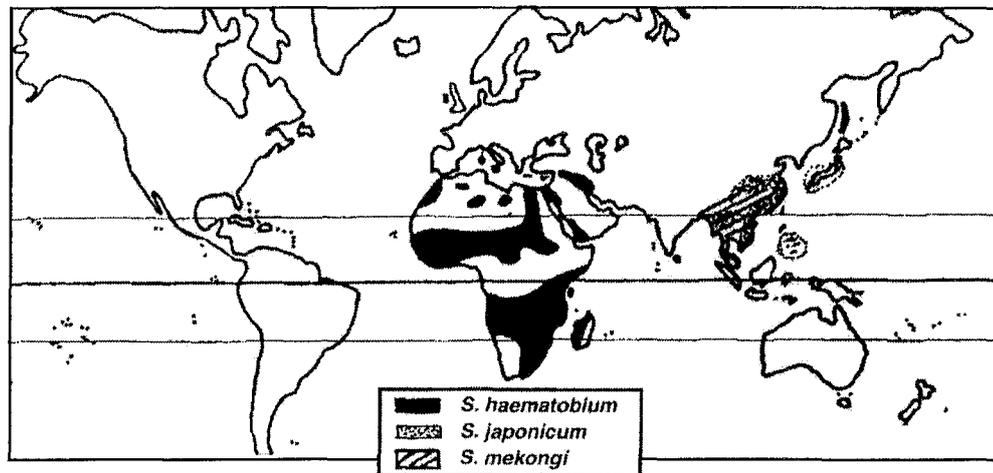
\* *Schistosoma haematobium* : responsable de la bilharziose uro-génitale qui atteint l'Afrique et l'Asie occidentale.



(D'après Deblock, *Helminthiases intestinales, hépatiques et urinaires*)

\* *Schistosoma japonicum* : responsable de la bilharziose artério-veineuse qui atteint l'Asie orientale.

\* *Schistosoma intercalatum* : responsable de la bilharziose intestinale en centre Afrique .



(D'après Deblock, *Helminthiases intestinales, hépatiques et urinaires*)

La schistosomose ou bilharziose : a été décrite au 19 siècle par Théodor **BILHARZ** en Egypte. Elle est due à l'absence d'hygiène fécale conjuguée à l'utilisation d'eaux usagées pour les besoins domestiques.

La création de points d'eau, les travaux d'irrigation favorisent l'apparition de nouveaux foyers de la maladie et augmentent les risques d'infestation.

Le rappel du cycle de vie du schistosome est nécessaire afin de comprendre les mesures prophylactiques ainsi que les recherches thérapeutiques contre la bilharziose (**Deblock, Duriez-1995**).

# 1. - Bilharziose intestinale

## 1.1. - Schistosoma mansoni

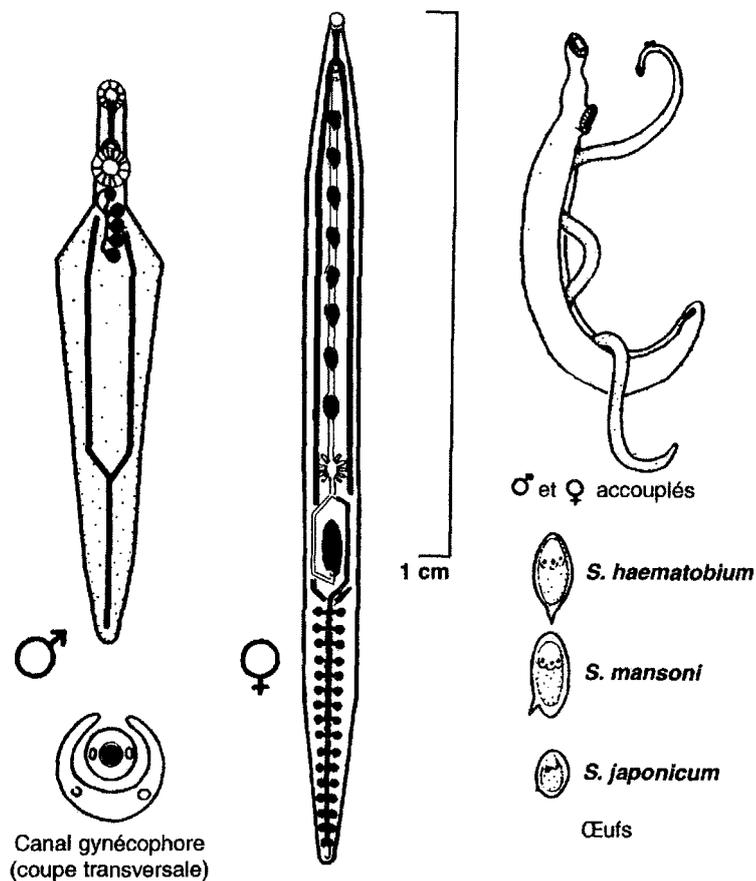
La prévalence mondiale de la maladie est d'environ 60 millions d'individus parasités. L'endémie est stable. Il existe des poussées endémiques qui se produisent avec l'arrivée de sujets sains en région d'endémie ou de porteurs de parasites dans des zones encore indemnes mais pourvues de l'hôte intermédiaire.

Le ver adulte peut vivre en moyenne 5 à 10 ans.

### 1.1.1. - Morphologie

Le ver adulte est fin et allongé, avec des ventouses antérieures et des téguments rugueux et incolores. Le tube digestif est incomplet.

Les sexes sont séparés :



(D'après Deblock, *Helminthiases intestinales, hépatiques et urinaires*)

\* le mâle est foliacé et replié en deux de façon longitudinale pour constituer une gouttière (ou canal gynécophore) susceptible d'accueillir la femelle . Sa taille est de 12 mm de long × 0.5 mm de large.

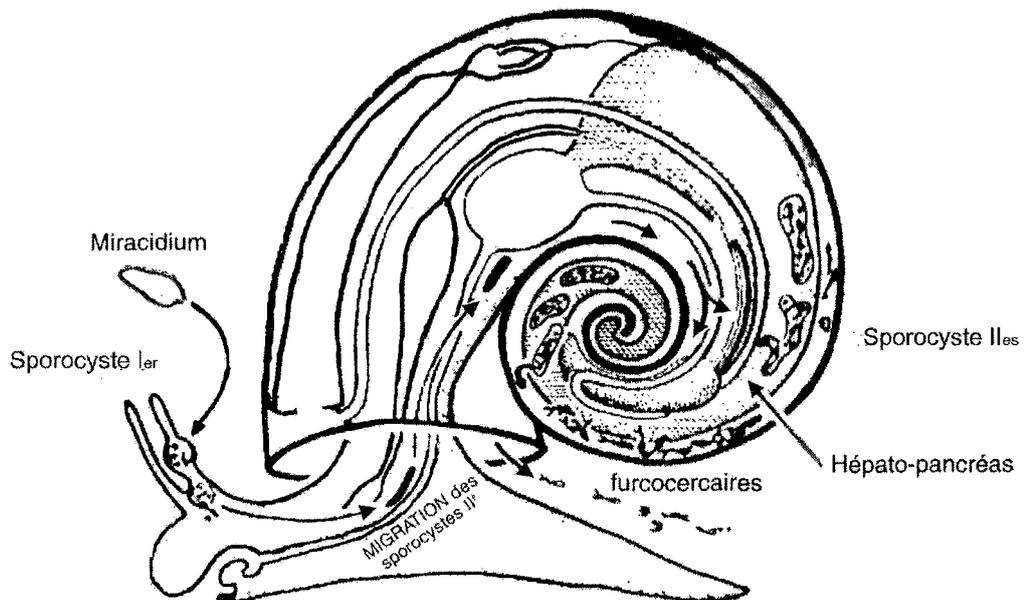
\* la femelle est entièrement cylindrique, filiforme, et mesure 15 mm de long × 0.2 mm de large.

### 1.1.2. - Cycle évolutif et symptômes

#### 1.1.2.1. - Le cycle

L'œuf de schistosome va éclore dans de l'eau douce suffisamment oxygénée et chaude, et libérer un embryon cilié ou miracidium. Cet embryon a une survie éphémère de 24 heures s'il ne trouve pas son hôte intermédiaire .

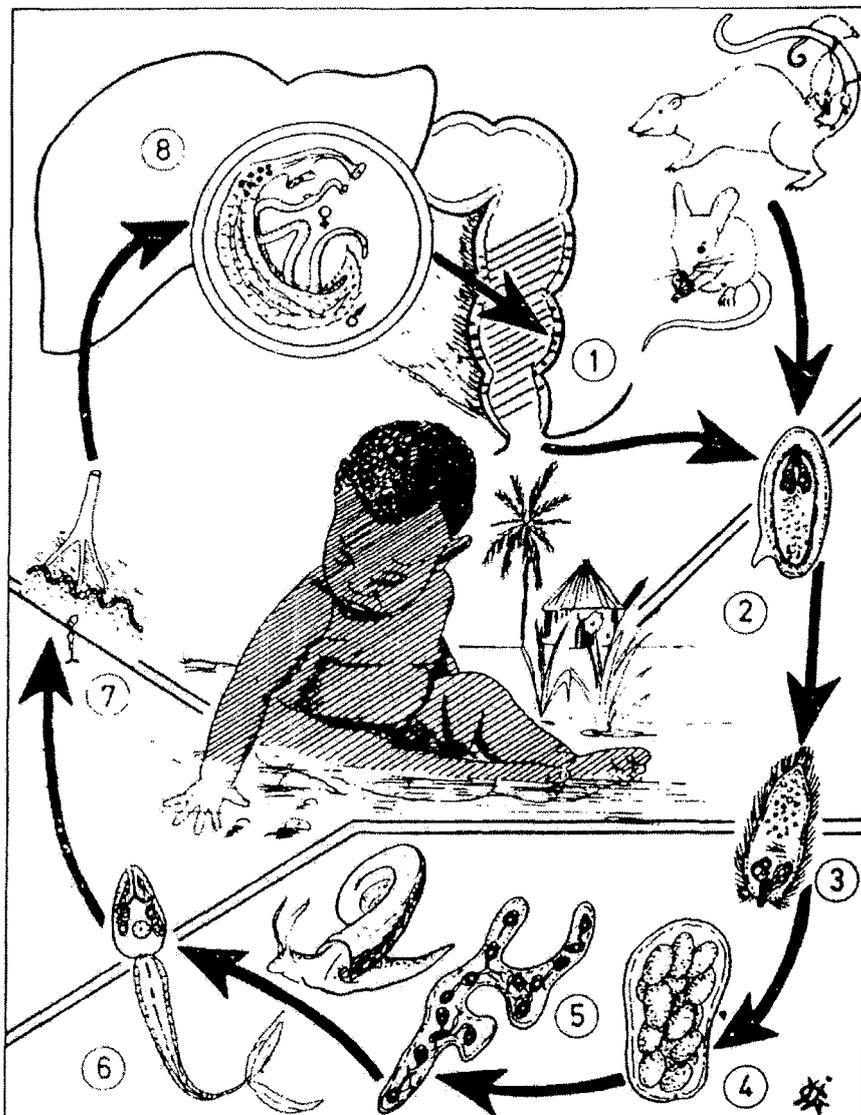
Cet hôte intermédiaire est un mollusque gastropode aquatique, le *planorbe* .



*le planorbe*

Le miracidium y pénètre activement au niveau du pied ou d'un tentacule. Pendant environ deux mois, il va y avoir deux stades sporocystes successifs. Le deuxième stade va libérer plusieurs milliers de larves mobiles ou furcocercaires.

Les furcocercaires recherchent un hôte définitif car leur survie n'est que de 48 heures. Ils vont traverser les téguments de l'hôte définitif (homme et divers rongeurs) en laissant leur queue natatoire à l'extérieur.



#### CYCLE DE SCHISTOSOMA MANSONI

1 - Les œufs embryonnés à la ponte sont éliminés dans les selles. 2 - S'ils tombent dans l'eau, les œufs éclosent et libèrent le miracidium qui pénètre chez le mollusque hôte-intermédiaire (Planorbis dans l'organisme duquel il deviendra un sporocyste. 4 - Dans le sporocyste bourgeonnent des sporocystes-fils. 5 - Les sporocystes-fils donneront eux-mêmes des cercaires. 6 - Les cercaires quittent le mollusque par effraction. 7 - Les cercaires pénètrent chez l'homme par voie transcutanée. 8 - Ils sont véhiculés jusqu'au foie où ils deviennent adulte. Les femelles gravides migrent vers les capillaires mésentériques pour pondre (D'après Golvan)(Am O'fel - Parasitologie)

→ Cette phase de pénétration se traduit par une dermatite allergique prurigineuse. Les lésions vont disparaître en quelques jours. (L'intensité de la réaction dépend du nombre de furcocercaires).

Le parasite s'appelle alors schistosomule. Il va gagner par voie sanguine et lymphatique les poumons, puis les veines du foie où il devient adulte.

→ Cette phase d'invasion dure 5 à 6 semaines et se traduit par :

- \* de la fièvre,
- \* de l'asthénie,
- \* des troubles gastro-intestinaux,
- \* une hépatosplénomégalie,
- \* de l'urticaire.

On retrouve une hyperleucocytose et une hyperéosinophilie élevées .

Les vers sont hématophages .

Les femelles adultes fécondées se déplacent et vont pondre leurs œufs (environ 300 par jour) dans les veinules de la muqueuse rectale.

Avec l'aide des enzymes et de l'éperon, l'œuf va traverser la muqueuse rectale.

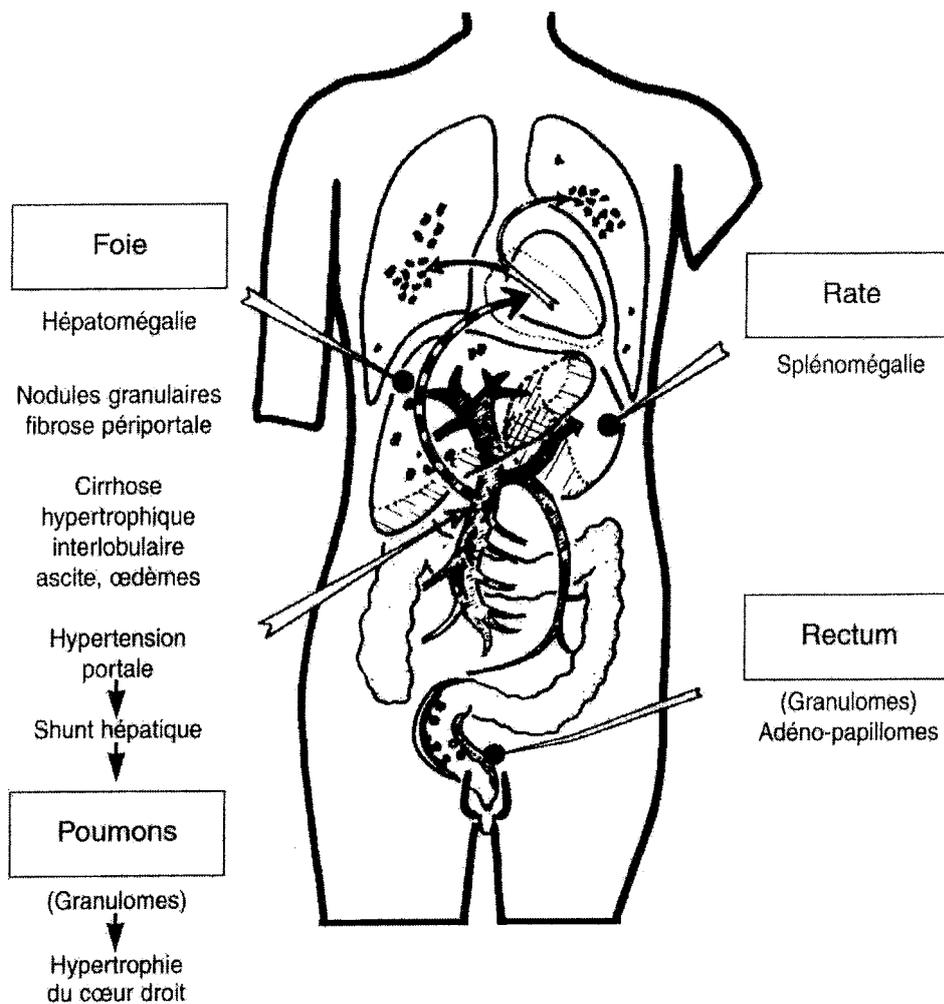
Les œufs sont éliminés par les fécès.

Les œufs présents dans les selles et les urines sont embryonnés.

→ Si l'homme est suffisamment parasité, cela se traduit par des épisodes de douleurs et diarrhées qui sont dues à l'irritation de la muqueuse rectale. Ces diarrhées sont accompagnées ou non de saignements.

#### *1.1.2.2. - Les complications*

Lorsqu'il y a passage à la chronicité, les œufs peuvent essaimer dans d'autres tissus, au niveau des ramifications du système porte, et créer des lésions inflammatoires et des nécroses tissulaires.



*Lesions dues à S. Mansoni*

*(D'après Deblock, Helminthiases intestinales, hépatiques et urinaires)*

**\* Manifestations hépatiques.**

Des œufs peuvent s'emboliser dans les veinules intrahépatiques de la veine porte dont ils obstruent la lumière. Autour des œufs se produit une réaction granulomateuse et fibreuse. Cela conduit à une sclérose ce qui entraîne la constitution d'une circulation collatérale à l'intérieur même du foie.

Les complications sont donc une cirrhose, une hypertrophie du foie et une hypertension portale.

Il se forme aussi des granulomes non spécifiques provoqués par des protéines libérées par les œufs en voie de destruction.

Ces lésions hépatiques se développent lentement (les premières manifestations cliniques de l'atteinte hépatique débutent 10 à 20 ans après la contamination). La fréquence de l'atteinte hépatique est de 1 à 10 %.

\* Manifestations au niveau de la rate.

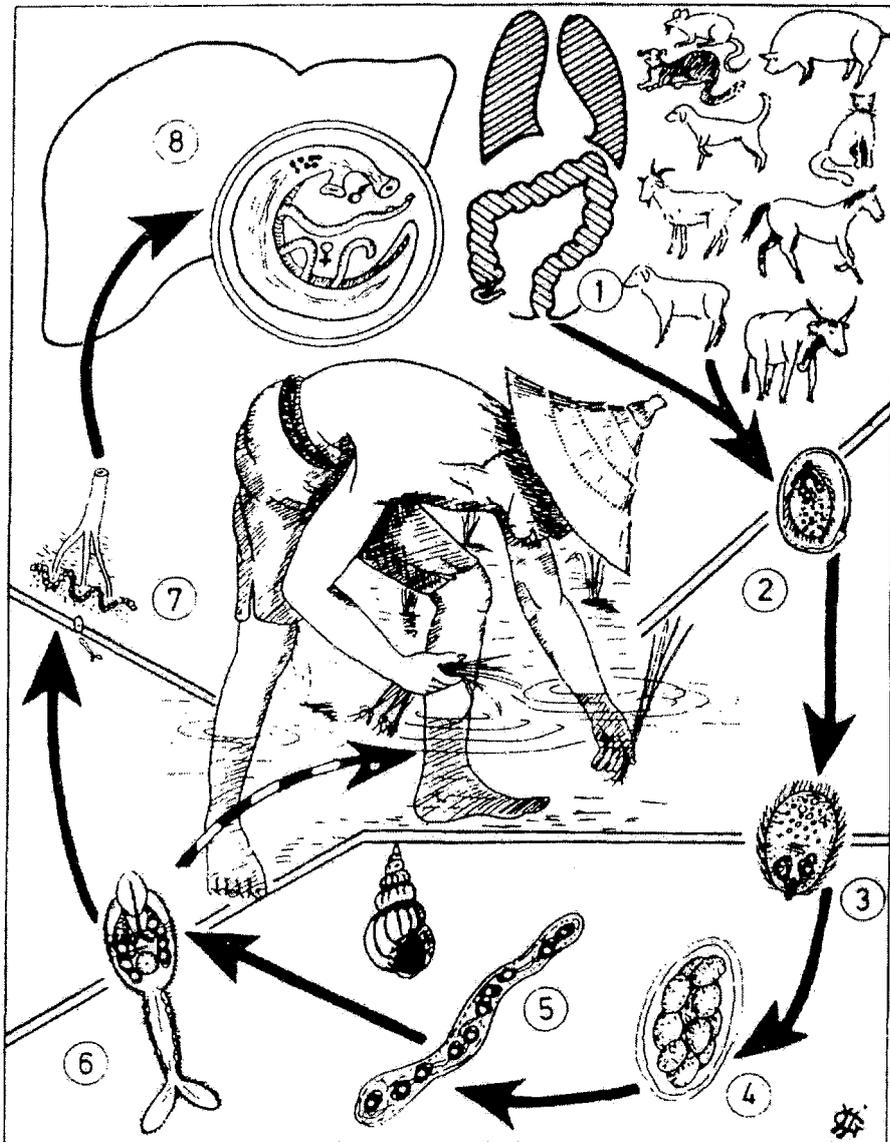
Les œufs présents au niveau de la rate, vont provoquer une splénomégalie, et des lésions granulomateuses.

\* Manifestations cardio-pulmonaires.

Au niveau des poumons, il y a formation de granulomes et une oblitération des vaisseaux. Les complications sont une hypertrophie ventriculaire droite. Ce sont des complications de la forme hépato-splénique.

## 1.2. - Schistosoma japonicum

Le parasite provoque la schistosomose la plus mal tolérée en phase initiale ou en phase d'état.



*CYCLE DE SCHISTOSOMA JAPONICUM*

1 - Les œufs embryonnés à la ponte sont éliminés dans les selles de l'homme et de nombreux mammifères sauvages et domestiques. 2 - Si les œufs embryonnés tombent dans l'eau, ils éclosent et libèrent le miracidium (3) qui pénètre chez le mollusque *Onchomelania*, dans l'organisme duquel il deviendra un sporocyste (4) dans le sporocyste bourgeonnent des sporocystes-fils (5) qui donneront eux-mêmes des cercaires (6) qui quittent le mollusque par effraction et pénètrent activement chez l'homme (7) par voie transcutanée. 8 - Les cercaires sont véhiculés jusqu'au foie où ils deviennent adultes. Ces adultes migrent vers les vers les capillaires mésentériques et les ramifications de l'artère pulmonaire (D'après Golvan)

La longévité du parasite adulte est de 20 à 25 ans. La ponte journalière est très importante (300 à 3000 œufs).

Il parasite l'homme ou l'animal. Le cycle est identique à celui de *S.mansoni* mais l'hôte intermédiaire est un mollusque du genre *Onchomelania*.

Les manifestations de la parasitose sont les mêmes que celles de l'infection par *S.mansoni*, mais l'évolution est celle :

- \* d'une cirrhose sévère avec une ascite,
- \* des hémorragies digestives et
- \* d'encéphalopathie.

L'atteinte des artères pulmonaires est fréquente.

Les atteintes nerveuses sont plus fréquentes qu'au cours de la bilharziose à *S.mansoni*.

Le pronostic est de loin le plus mauvais de ceux de toutes les bilharzioses. Toutefois les infections modérées aboutissent parfois à une sorte d'équilibre plus ou moins durable entre l'hôte et le parasite. Il n'y a pas de guérison spontanée, mais les lésions, quoiqu'irréversibles, peuvent se stabiliser et permettre la survie de l'hôte.

Les traitements actuels permettent la guérison à condition d'être appliqués tôt, avant qu'apparaissent les signes de décompensation hépatique.

## **2. - Bilharziose urinaire : Schistosoma haematobium**

La maladie due à ce parasite affecte environ 100 millions de sujets par an.

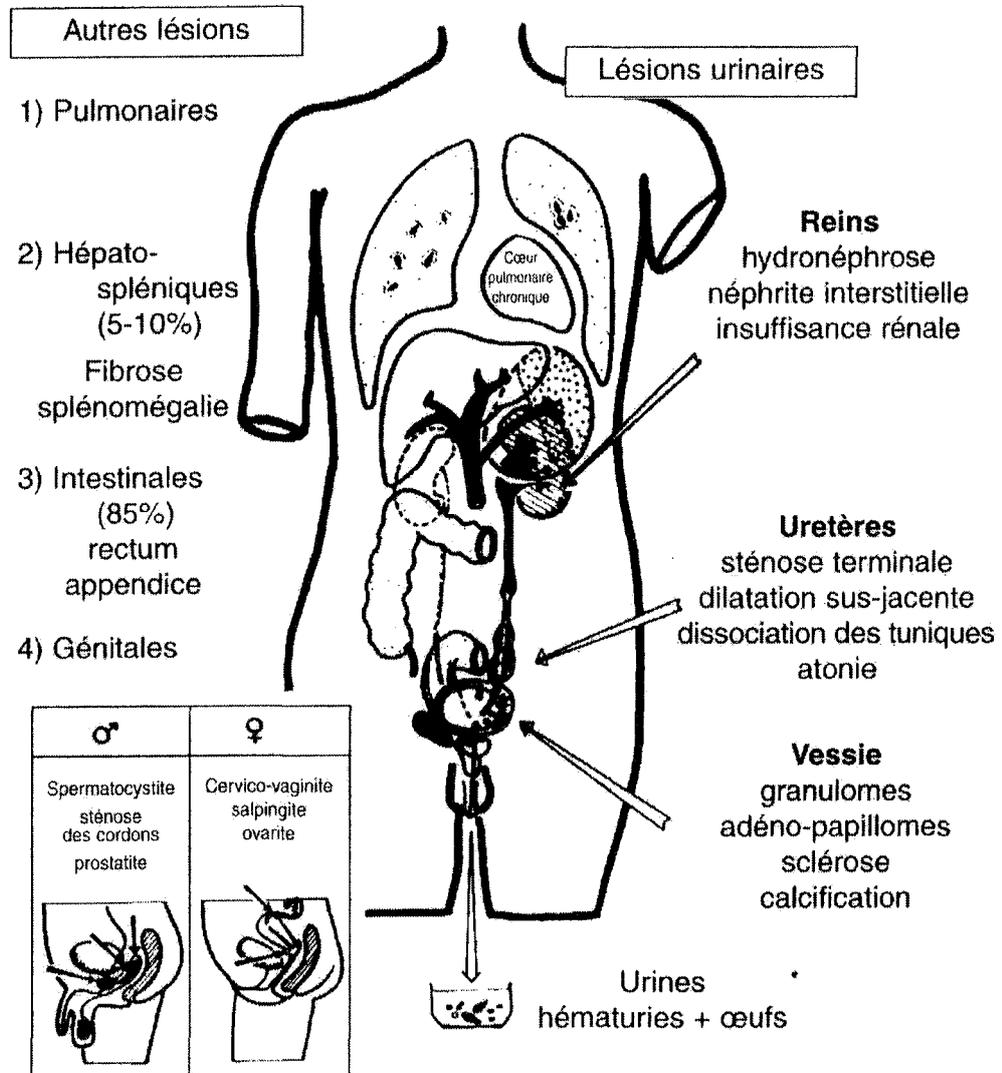
La morphologie est sensiblement identique à celle de *S.mansoni*.

- Contrairement à *S.mansoni*, l'hôte définitif est l'homme uniquement.

Ici l'hôte intermédiaire est un mollusque gastéropode du genre *bulinus*. Il est plus résistant que le planorbe (il supporte des assèchements périodiques des mares en

s'enfonçant dans la vase). La température de l'eau nécessaire pour le développement du parasite doit être élevée (32 - 33 ° C).

→ Les symptômes de la phase d'invasion et d'infestation sont inexistantes en général, sauf en cas d'infestation massive.



*Lesions dues à S. Haematobium*

*(D'après Deblock, Helminthiases intestinales, hépatiques et urinaires)*

- Manifestations vésicales

Les femelles fécondées pondent dans les veinules du plexus vésical (et parfois du rectum). L'extériorisation des œufs a lieu dans les urines.

→ Les symptômes sont dus à l'accumulation des œufs dans les parois de la vessie.  
Cela se traduit souvent par :

- \* une hématurie, souvent microscopique, insuffisante pour attirer l'attention du sujet.
- \* une cystite (douleurs sus-pubiennes, pollakiurie, brûlures à la miction),
- \* on décrit aussi des polypes vésicaux.

- Manifestations du haut appareil urinaire

Les complications graves sont représentées par la sténose des conduits urétéraux qui sont la conséquence de l'accumulation des granulomes. Cela se traduit par une lithiase urétérale, des néphrites interstitielles.

On peut aussi observer des crises de colique néphrétique.

Lorsqu'une insuffisance rénale se manifeste cliniquement, le processus est souvent trop avancé pour être réversible.

- Manifestations génitales

La migration des œufs a lieu aussi de manière importante au niveau de l'appareil génital. Les manifestations sont variables mais conduisent à long terme à la stérilité.

Les manifestations chez la femme se caractérisent par des lésions vulvo-vaginales et cervicales .

Chez l'homme, on retrouve des épидидymites, et des prostatites.

- Les complications au niveau du foie ou des poumons sont rares.

- L'impact de la bilharziose sur la nutrition humaine a été récemment étudiée (Stephenson-1993). On en conclut que le traitement des enfants infectés améliore le poids, l'appétit et le niveau d'activité.

- Une étude chez la femme enceinte souffrant de bilharziose urinaire au Ghana, montre un taux de naissance avant terme élevé. De plus, le poids de naissance de ces enfants est bas (Siegrist-1992). Cette situation peut avoir un rapport avec un état de malnutrition et d'anémie, résultant de l'infection par *S. haematobium*.

### **3. - Traitement**

#### **3.1. - Bilharziose intestinale**

Les schistosomicides les plus actifs et les mieux tolérés sont :

\* *Biltricide* ® ou *praziquantel* à la posologie de trois doses orales de 30 mg / kg en un jour.

La tolérance est bonne. S'il y a échec de la première cure (cela est rare), une seconde cure sera efficace.

\* *Vancil* ® ou *oxamniquine* qui est administré sous forme d'une dose orale unique de 15 mg / kg.

Il n'est efficace que dans la bilharziose à *Schistosoma mansoni* (*S.mansoni*).

Sa tolérance est bonne, seuls quelques vertiges ont été constatés.

Ces médicaments évitent aussi l'apparition de nouvelles localisations, notamment extrahépatique.

(Le prix de revient du *Biltricide* limite son utilisation en traitement de masse).

Ils ont une efficacité de l'ordre de 90 %.

Il existe d'autres molécules comme *Ambilhar* ® ou *niridazole* qui ont marqué le début de l'ère thérapeutique dans la bilharziose.

Le traitement de l'hypertension portale, des hémorragies par rupture de varices oesophagiennes et la prévention de la rupture est le même dans la schistosomose hépatique que dans la cirrhose.

### **3.2. - Bilharziose urinaire**

Pour la bilharziose urinaire les médicaments les plus anciens sont encore utilisés comme

\* *Bilarcil* ® ou *métrifonate* à la posologie de deux doses unitaires à deux semaines d'intervalle.

\* *Ambilhar* ® ou *niridazole* en cure hebdomadaire.

Mais l'efficacité est de l'ordre de 70 %, et les effets indésirables sont importants. Aussi ils sont de plus en plus remplacés par *Biltricide* ® en dose unique (efficacité d'environ 80 % et meilleure tolérance).

Dans tous les cas l'efficacité du traitement est appréciée par la négativation des diagnostics parasitologique (détection d'œufs calcifiés ou morts) et immunologique (diminution progressive des taux d'Ac).

Ainsi une atteinte rénale, dépistée tôt, traitée médicalement et chirurgicalement au besoin, pourra être interrompue et la fonction rénale préservée.

### **4. - Autres espèces**

\* en Afrique : *S.intercalatum* et *S.mattheei*

\* en Asie : *S.mekongi* .

Ces espèces sont de moindre importance.

## **5. - Prophylaxie**

Quel que soit le schistosome, la prophylaxie est identique.

Pour réaliser la rupture de la chaîne épidémiologique, il faut dépister et traiter systématiquement les porteurs.

Il faut aussi lutter contre les mollusques (planorbe, bulin) avec l'utilisation de mollusquicides ou par la modification de leurs habitats (assèchement des mares ...). Ces techniques sont assez coûteuses et souvent inapplicables en particulier au niveau des barrages et rizières.

A côté de ces mesures, il faut faire une éducation sanitaire (promotion de l'hygiène fécale) : travaux d'assainissement, constructions de latrines, séparations des eaux usées et des eaux d'égout, traitement des eaux avant leur recyclage (mesures peu ou pas applicables en zones d'endémie).

Les mesures individuelles, pour la population locale, sont inapplicables et illusoire.

Aussi en l'absence actuelle d'un vaccin qui assurerait une protection durable, les mesures de prophylaxie individuelle ne sont réellement applicables qu'à des sujets séjournant temporairement dans les pays d'endémie et n'y exerçant pas des activités en contact avec des eaux douces naturelles.

Toutes ces mesures sont onéreuses, aussi l'OMS fonde ses espoirs sur les travaux en cours pour aboutir à une vaccination.

## **6. - Evaluation des traitements et perspectives**

Peu de changements ont eu lieu durant les vingt dernières années en ce qui concerne les outils thérapeutiques à la disposition du clinicien pour le traitement de la bilharziose.

Le praziquantel est devenu un médicament de choix dans de nombreuses zones d'endémies, grâce à son efficacité, sa facilité d'administration, ses effets indésirables tolérables et son coût.

Ainsi, le praziquantel a été administré à des millions de personnes dans les pays d'endémies, avec un risque d'émergence de résistance.

**Renganathan et Cioli en 1998** ont révélé plusieurs problèmes liés à cette utilisation.

Bien que le coût du praziquantel ait considérablement diminué avec les années, il est encore un problème important dans certains pays. Les prix varient de 60 centimes à 5 francs par comprimé.

Les effets indésirables sont peu sévères. Cependant, quelques problèmes sérieux ont été rapportés comme des réactions allergiques importantes et des diarrhées sanglantes.

Les auteurs notent aussi la possible émergence de la résistance des schistosomes au praziquantel.

Il existe différentes molécules exerçant une action potentielle sur les parasites(**Cioli - 1998**).

Par exemple, une molécule immunosuppressive, la **cyclosporine A**. On a découvert des propriétés anti-parasitaires inattendues contre les plasmodiums et les schistosomes.

Une particularité intéressante de cette molécule, semble être l'existence de propriétés prophylactiques de très longue durée (jusqu'à 100 jours). Cette action pourrait éviter de faire des administrations répétées de médicaments.

Des études sont réalisées afin de comprendre le mécanisme d'action antiparasitaire de la cyclosporine. Une action sur le système immunitaire ne serait pas impliquée dans cette fonction antiparasitaire. Ainsi, l'attention a été portée sur une famille de protéines, les cyclophilines, qui pourraient être des récepteurs intracellulaires de la cyclosporine.

Un certain nombre de cyclophilines ont été clonées et des études ont montré qu'elles possèdent une activité enzymatique. Cette activité enzymatique étant inhibée par la cyclosporine, des expériences sont en cours pour savoir si la cyclosporine exerce une activité parasiticide, ou si elle bloque temporairement et à quel niveau la biologie du parasite.

D'autres molécules sont reconnues pour avoir des propriétés antiparasitaires.

Par exemple, des **lactones sesquiterpéniques** ont été testées contre les schistosomes chez des animaux. Une bonne activité a été démontrée, spécialement contre les schistosomes immatures et les effets indésirables trouvés sont bénins.

Les composés de la série des **9-acridanone hydrazone** ont été testés sur des animaux variés, infectés par différentes espèces de schistosomes. De bons résultats ont été obtenus avec l'utilisation d'une simple dose orale, sur les stades immatures et matures, mais aucune étude incluant les humains n'a été rapportée.

Des composés de la série des **acides N-alkylaminoalkanethiosulphuriques** ont montré une activité antischistosomale, spécialement contre les vers femelles.

L'utilisation de composés qui interfèrent avec la synthèse de l'**ecdystéroïde** représente une approche intéressante dans la recherche d'une molécule antischistosomale.

## **7. - Conclusion**

Le contrôle de la bilharziose repose principalement sur le diagnostic et la chimiothérapie ciblée (**Waine et McManus-1997**).

Le diagnostic peut être établi à partir de

- \* la détection des œufs dans les fécès ou les urines,
- \* la détection sérologique des Ag circulants,
- \* ou l'utilisation d'ultrasons afin de détecter une fibrose portale, des anomalies vasculaires.

Trois molécules sont couramment utilisées dans le traitement de la bilharziose :

- \* le praziquantel est efficace contre toutes les formes de schistosomes, avec seulement des effets indésirables transitoires.
- \* l'oxamniquine est utilisé en Afrique et en Amérique du sud pour le traitement de la bilharziose intestinale.

\* le métrifonate a prouvé son efficacité dans le traitement de la bilharziose urinaire.

L'efficacité de cette chimiothérapie dans le contrôle de la bilharziose est limitée à cause des réinfections fréquentes qui suivent le traitement.

Cette stratégie de contrôle est complétée par des mesures de santé publique afin de réduire la contamination des eaux, à travers l'éducation et les infrastructures sanitaires.

Une autre stratégie est l'utilisation de mollusquicides.

Une seule molécule, le niclosamide, est utilisée dans les programmes de contrôle. Le niclosamide est employé depuis les années soixante et est encore le mollusquicide de choix (Perrett et Whitfield-1996).

Le niclosamide ne semble pas avoir une action économique défavorable sur les cultures, bien que certaines algues et plantes aquatiques aient subi des dommages. Des études, sur les animaux de laboratoire, de la toxicité du niclosamide ont montré qu'il n'existe pas d'effets toxiques cumulés lorsque le composé est administré par voie orale ou percutanée.

De plus, des études portant sur des volontaires ayant reçu des doses orales de niclosamide, ne montrent aucune réaction secondaire.

Le seul inconvénient est le prix élevé et le fait que la molécule est responsable d'un taux de mortalité important chez les poissons aux concentrations utilisées pour le contrôle des escargots. Mais depuis les dix dernières années aucune nouvelle molécule mollusquicide intéressante n'a été développée.

Malgré ces efforts, la bilharziose reste un problème majeur dans de nombreux pays.

En effet, il existe encore des projets d'expansion de l'irrigation de l'agriculture, ce qui peut amener à prévoir une augmentation des infections (Butterworth-1988). De plus, la construction de larges barrages dans les zones d'endémies est aussi une cause potentielle de l'augmentation de la transmission de la bilharziose.

Par exemple, la construction de l'énorme barrage hydro-électrique, " Three Gorges Project " sur la rivière Yangtze en Chine, qui se trouve dans une région d'endémie.

Un rapport récent de l'OMS (**WHO-1996**), montre que la migration des populations rurales vers le milieu urbain, introduit la maladie dans les villes (Brésil et Afrique). Il en est de même avec les mouvements de réfugiés (Somalie et Cambodge).

De plus, la maladie est de plus en plus contractée par les touristes, par suite de la montée du " tourisme hors piste ".

Ainsi, bien que la chimiothérapie soit utilisée comme une mesure de contrôle intermédiaire, une approche vaccinale peut être considérée comme une priorité à long terme.

Avant de développer les différents essais réalisés dans ce domaine, il faut aborder les bases de l'immunologie.

# Immunité et vaccination

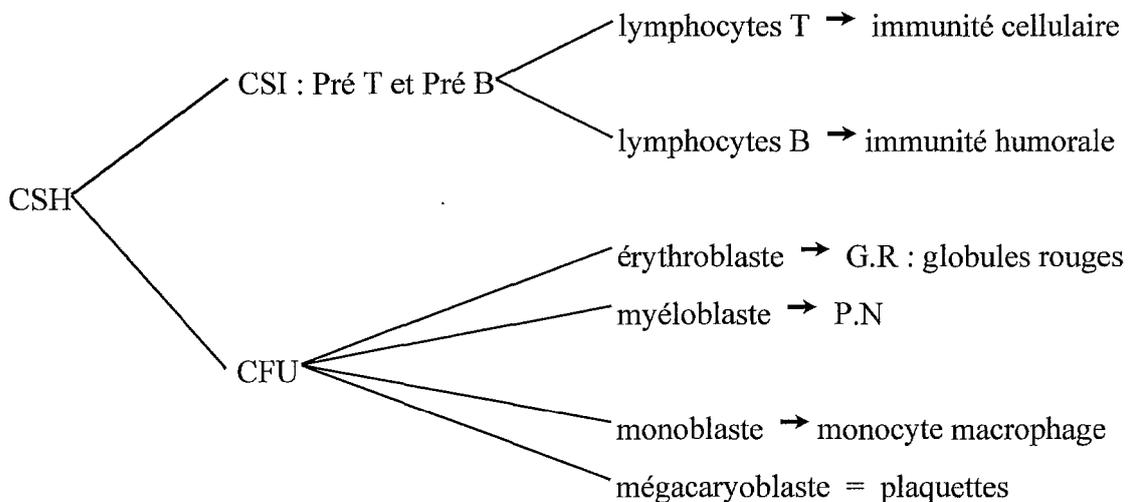
## 1. - Rappel sur l'immunité et les cellules impliquées dans l'immunité

### 1.1. - Définition de l'immunité

L'immunologie est la discipline biologique et médicale qui étudie ces processus de reconnaissance de substances antigènes (Ag) et l'ensemble des conséquences de cette reconnaissance.

Lors de la réponse immunitaire, l'organisme, par l'intermédiaire de lymphocytes, garde l'information de la première introduction des Ag extérieurs. A une nouvelle réintroduction, la réponse immunitaire est plus rapide et plus intense.

### 1.2. - Les cellules impliquées dans l'immunité



CSH = cellule souche hématopoïétique

CFU = colony forming unit

CSI = cellules souches immunitaires

## Les lymphocytes B

Ils sont produits par la moelle osseuse.

Lorsqu'ils sont engagés dans une réaction immunitaire, les lymphocytes B et T subissent des modifications métaboliques et morphologiques. Ils se transforment en lymphoblastes ou immunoblastes. A ce niveau, il y a une augmentation d'expression de certaines molécules membranaires et l'acquisition de la capacité à présenter l'antigène (Ag). Les lymphoblastes issus des cellules B se transforment en plasmocytes, cellules productrices d'anticorps (Ac).

Morphologiquement, rien ne permet de distinguer les LT des LB. Mais ils possèdent des récepteurs de surface qui leur sont propres.

Les LB possèdent des molécules de surface, définissant leurs stades de maturation.

Les LB sont caractérisés par la présence d'immunoglobulines (Ig) de surface insérées dans la membrane : essentiellement des IgM et IgD. Ces Ig constituent les récepteurs des LB, capables de reconnaître l'Ag.

Ils expriment aussi des récepteurs pour les composants du complément (C3b, C3d), la partie Fc des IgE.

## Les lymphocytes T

Ils sont produits par le thymus.

**Les lymphocytes T helpers** (TH ou lymphocytes T amplificateurs ou facilitateurs ou auxiliaires CD4+) : ils sont les coordinateurs centraux indispensables pour développer les deux types de réponse immunitaire.

\* TH 1 : ils sécrètent des interleukines (IL-2) et interférons (IFN  $\gamma$ ) et aident les LT à développer la réaction de cytotoxicité et la réaction inflammatoire.

\* TH 2 : ils sécrètent des IL-4, IL-5, IL-6, et aident les LB à développer l'immunité humorale et à sécréter des Ac.

**Les lymphocytes T cytotoxiques** : sont des lymphocytes CD8+. Ils ont pour rôle de freiner la réponse immunitaire à médiation cellulaire et de l'arrêter quand elle a atteint son but (ils agiraient de façon comparable aux lymphocytes TH avec production de médiateurs chimiques actifs dans le sens d'une suppression).

**Les lymphocytes T suppresseurs** : de nombreuses expériences suggèrent que les cellules T, tout en étant capables d'aider les cellules B, sont susceptibles de supprimer l'activité de ces cellules effectrices. Le mode d'action de ces lymphocytes T suppresseurs n'est pas certain mais ils produisent des facteurs capables de supprimer la réponse immunitaire.

**Les lymphocytes T mémoires** : lors de la première introduction des Ag extérieurs, l'organisme, par l'intermédiaire de ces lymphocytes T mémoires, garde l'information. Lors d'une autre introduction de ces mêmes Ag, la réponse est plus rapide.

#### **Les cellules NK (natural killer )**

Elles ont la propriété d'être spontanément cytotoxiques vis-à-vis des cellules étrangères qu'elles tuent par contact direct. Elles représentent donc un moyen de défense non spécifique contre un Ag et rapide en dehors de toute immunisation.

#### **Les cellules nulles**

Parmi les cellules ayant la morphologie des lymphocytes, il existe une population de cellules n'exprimant pas de marqueurs spécifiques des LT ou B. Elles sont caractérisées par la présence d'un récepteur pour le fragment Fc des IgG.

Elles ont des propriétés cytotoxiques et phagocytaires, ce qui leur confère une action pour des cibles recouvertes d'Ac. On leur donne aussi le nom de cellules K (killer).

### **Le CMH ou complexe majeur d'histocompatibilité (Roitt-1990)**

Il correspond à un regroupement de gènes polymorphes qui se situent sur le chromosome 6 et qui codent pour trois classes majeures de molécules. Les molécules dites de classe I, II, et III.

La principale fonction des molécules de classe I est de servir de marqueur du soi pour la majorité des lymphocytes CD8+ cytotoxiques. Toute cellule infectée par un virus est tuée par deux signaux : un signal spécifique de l'environnement (virus) et un signal spécifique du soi (classe I du CMH).

Le rôle des produits de classe II s'exerce à plusieurs niveaux :

- \* ils servent de marqueurs du soi dans la coopération entre cellule présentatrice de l'Ag (macrophages ...) et le lymphocyte T auxiliaire.

- \* ils interviennent aussi dans les interactions entre les LB et LT auxiliaire (ce qui conduit à la formation d'Ac), et entre deux LT auxiliaires (ce qui conduit à la production de lymphokines).

Le rôle des produits de classe III est le contrôle des étapes précoces de l'activation du complément.

### **Les macrophages**

Ils sont chargés d'éliminer les substances étrangères, débris tissulaires, par la phagocytose.

Les macrophages interviennent à deux niveaux de la réponse immunitaire :

- \* ils permettent l'initiation de la réponse immunitaire en présentant l'Ag aux lymphocytes.

- \* ils participent à la destruction de l'Ag à la phase finale de la réponse à médiation cellulaire.

Ces cellules communiquent entre elles et s'influencent par l'intermédiaire de facteurs solubles (les interférons, les interleukines, les lymphokines).

D'autres protéines solubles agissent en association dans un système complexe : le complément capable lorsqu'il est activé de tuer de nombreux microorganismes.

Les cellules	Les fonctions
Lymphocytes B	rôle dans l'immunité humorale
Lymphocytes T	rôle dans l'immunité cellulaire fonction régulatrice : LT Helper LT Suppresseur fonction effectrice : LT Cytotoxique fonction mémoire : LT Mémoire
Immunoglobulines	activité d'Ac si stimulation antigénique IgA, IgM, IgG, IgE, IgD
Cellules NK	cytotoxicité vis-à-vis des cellules étrangères
Cellules nulles ou K	cytotoxicité et phagocytose
Complexe majeur d'histocompatibilité ou CMH	classe I : marqueur du soi classe II : coopération entre macrophages et LTH ou LB et LTH ou entre deux LTH classe III
Macrophages	éliminent les substances étrangères par phagocytose

## **2. - Mécanismes plus spécifiques mis en jeu lors d'une infection par des parasites**

La plupart des parasites présentent par des cycles complexes. Ils migrent dans différentes parties du corps humain, se développent sous diverses formes dans différents organes et terminent leur cycle dans un autre site.

Ils sont de beaucoup plus grande taille que les autres agents infectieux tels les bactéries ou virus, et de ce fait sont composés de multiple Ag.

Ces Ag peuvent être différents en fonction du stade de développement.

Les infections dues à des parasites sont en général chroniques. Ce sont surtout la présence d'Ag circulants, la formation de complexes immuns, la persistance d'une stimulation antigénique qui en sont la conséquence.

La réponse primaire implique seulement un petit nombre de lymphocytes précurseurs ; elle nécessite plusieurs jours pour se mettre en place.

Les réponses secondaires sont plus rapides et neutralisent généralement l'agent infectieux avant que des signes de maladie n'apparaissent.

Les mécanismes de l'immunité sont différents selon la nature du parasite (**Revillard-1998**).

### **2.1. - L'immunité cellulaire**

Le développement *in situ* des protozoaires à développement intracellulaire (Toxoplasme, Leishmanie) est contrôlé essentiellement par les lymphocytes T, les macrophages et les cytokines.

Les lymphocytes T cytotoxiques ne semblent pas jouer un rôle défensif prédominant. En revanche, la production de lymphokines par certains lymphocytes T permet l'activation des macrophages capables de tuer des microorganismes intracellulaires, qui échappent normalement à l'action des macrophages.

L'interféron  $\gamma$  est considéré comme le principal facteur d'activation des macrophages sécrété par les cellules Th, mais il n'est pas le seul.

Dans la bilharziose humaine les principaux mécanismes effecteurs dépendent des Ac IgE et IgA, des éosinophiles et des basophiles, contrôlés par l'IL-4 et l'IL-5 (réponse Th2).

Dans de nombreuses affections parasitaires il y a formation d'un granulome, comme, par exemple, autour des œufs de schistosomes localisés dans le foie. Cette réaction est T dépendante, consécutive à l'action de l'IFN  $\gamma$  et du TNF  $\alpha$ . C'est une réaction chronique au cours de laquelle les macrophages s'accumulent et produisent des facteurs chimiotactiques stimulant les fibroblastes aboutissant à la formation d'une capsule fibreuse. Cette réponse Th1 initiée par les formes larvaires, se complète d'une réponse des lymphocytes T CD4+ de type 2 induite par les Ag des œufs. Par la production d'IL-5, celle-ci recrute de nombreux éosinophiles dans les granulomes bilharziens.

## **2.2. - L'immunité humorale**

Les Ac spécifiques, à des affinités et concentrations adéquates, assurent une protection efficace contre les parasites présents dans le sang.

Ils bloquent en outre l'invasion de cellules cibles par des parasites intracellulaires au cours de leur transport dans le sang. Par contre ils n'ont pratiquement plus d'effet lorsque le parasite a pénétré dans la cellule.

Les rôles des Ac sont très différents selon le type de maladie parasitaire et le stade de l'infection.

Les Ac peuvent directement léser le parasite en présence de complément (exemple le trypanosome).

Ils peuvent bloquer la fixation du parasite aux cellules hôtes (exemple le toxoplasme).

Ils peuvent stimuler la phagocytose : les Ac IgG opsonisent et provoquent l'ingestion des toxoplasmes dans les vésicules de phagocytoses qui fusionnent avec les lysosomes pour détruire le parasite.

Les Ac peuvent aussi déclencher des réactions d'ADCC qui mettent en jeu les éosinophiles, les neutrophiles, les plaquettes et les macrophages (exemple les schistosomes, les filaires).

La classe de l'Ac joue un rôle essentiel dans son effet biologique.

Dans le cas des schistosomes, il existe une immunité particulière liée aux IgE. Elles ont la particularité de se fixer sur la cuticule. Elles vont ainsi avoir un rôle d'attraction d'autres cellules capables de les reconnaître comme les éosinophiles, les macrophages, les plaquettes. La fixation active les cellules qui sécrètent dans le milieu au contact de la surface parasitaire des enzymes protéolytiques, des ions superoxydes conduisant à la lyse de structure parasitaire et à la mort du parasite.

Des études récentes montrent que les enfants infectés par des schistosomes sont protégés vis-à-vis de la réinfection s'ils ont des taux élevés d'Ac IgE alors qu'ils sont sensibles lorsqu'ils ont des taux élevés d'Ac IgG4.

### **3. - La vaccination**

#### **3.1. - Définition**

Mille ans avant l'ère chrétienne, les Chinois savaient se protéger de la variole en utilisant les croûtes de varioleux guéris pour immuniser les sujets sains.

En 1798, Edward Jenner réalise en Angleterre la même protection en utilisant les pustules de la vaccine après avoir observé que les vachères étaient protégées de la variole. Grâce à Pasteur et à son école (1880 - 1890), la vaccination prend un aspect scientifique.

La vaccination (vacca = vache) est un terme que garde Pasteur en l'honneur de Jenner.

La stratégie de base de toute fabrication de vaccin consiste à préparer une forme inoffensive de l'agent infectieux, ou de ses toxines, qui possède encore les déterminants antigéniques capables d'induire une immunité protectrice. On peut pour cela utiliser des microorganismes morts ou vivants atténués, des composés microbiens purifiés ou des antigènes modifiés chimiquement.

### **3.2. - Le vaccin**

Il faut réunir certaines conditions pour qu'un vaccin soit efficace (**Janeway, Travers-1997**).

Pour qu'un vaccin soit utile, il doit d'abord être sûr, car les vaccins sont destinés à être administrés à de nombreuses personnes.

Le vaccin doit être capable d'induire une immunité protectrice chez une très grande proportion de ceux auxquels il est administré (Comme il est impossible de faire régulièrement des rappels dans certaines populations, un vaccin efficace doit générer une mémoire immunologique de longue durée).

Les vaccins doivent être bon marché, pour être administrés dans les pays en voie de développement.

Sécurité	Le vaccin ne doit pas causer lui-même une maladie ou la mort.
Protection	Le vaccin doit protéger contre la maladie résultant de l'exposition au pathogène vivant.
Protection durable	La protection contre cette exposition doit durer plusieurs années.
Induction d'Ac neutralisants	Certains pathogènes (ex : virus de la polio) infectent des cellules qui ne se renouvellent pas (ex : les neurones). Les Ac neutralisants sont essentiels pour prévenir l'infection de ce type de cellules.
Induction de cellules T protectrices	Certains pathogènes (surtout intracellulaires) sont mieux contrôlés par des réponses à médiation cellulaire.
En pratique	Faible coût par dose. Stabilité biologique. Facilité d'administration. Peu d'effets indésirables.

### **3.3. - La vaccination**

L'objectif de la vaccination est de fournir une immunité efficace en faisant apparaître des taux appropriés d'Ac et une population de cellules sensibilisées susceptibles de se développer rapidement lors d'un nouveau contact avec l'Ag. Le

premier contact avec l'Ag, au moment de la vaccination doit être inoffensif (Ag injecté doit être dépourvu d'effet pathogène et conserver, au moins en partie son intégrité structurale) (Roitt-1990).

### 3.3.1. - La vaccination par microorganismes tués

Pour supprimer le pouvoir pathogène des microorganismes tout en conservant leur structure antigénique, le plus simple est d'empêcher leur réplication en les tuant d'une manière appropriée.

Les vers parasites sont très difficiles à obtenir en quantité suffisante par culture pour la fabrication de ce type de vaccin. Ce problème ne se pose que très rarement avec les bactéries et les virus. Il est alors généralement possible d'avoir recours à des microorganismes inactivés dont les antigènes permettent une vaccination inoffensive.

### 3.3.2. - La vaccination par microorganismes vivants atténués

L'objectif de l'atténuation est de produire un microorganisme modifié qui imite en tout point le comportement naturel du germe, tout en ayant perdu son pouvoir pathogène.

Souvent, l'immunité conférée par des microbes tués, même associés à un adjuvant, est moins efficace que celle qui résulte de l'infection par des microorganismes vivants. Il est possible que l'hôte soit alors confronté à une dose d'Ag persistante et plus importante si le germe se réplique, et que la présence de cellules infectées, notamment dans le cas de virus bourgeonnants, soit nécessaire au développement d'une réponse T cytotoxique à mémoire.

Un autre avantage notable de l'utilisation de microorganismes vivants est que la majeure partie de la réponse immunitaire se développe principalement au site même de l'infection naturelle.

Aussi, les vaccins à virus vivants atténués sont généralement les plus puissants, car ils mobilisent tous les mécanismes effecteurs, y compris les cellules T CD 8 cytotoxiques.

(Les virus tués ne peuvent produire de protéines dans le cytosol, aussi les peptides provenant d'Ag viraux ne peuvent être présentés par les molécules du CMH de classe I et donc les cellules T CD 8 cytotoxiques ne peuvent être générées par ces vaccins).

*a. - Méthodes classiques d'atténuation*

L'objectif de l'atténuation peut être atteint en utilisant des souches qui ne sont virulentes que pour des espèces autres que l'homme. Donc comme ces souches de virus atténués ne se répliquent que faiblement dans des hôtes humains, ils induisent une immunité mais non la maladie chez un sujet vacciné. Mais, bien que les souches de virus atténués présentent de nombreuses mutations dans des gènes codant pour plusieurs de leurs protéines, il est possible qu'une nouvelle série de mutations puisse faire réapparaître une souche de virus qui est pathogène.

L'atténuation proprement dite peut être obtenue en modifiant les conditions dans lesquelles le microorganisme se développe.

L'atténuation du virus de la grippe et d'autres virus atteignant les voies respiratoires par adaptation au froid semble prometteuse : ces virus atténués se développent à la température des voies respiratoires supérieures, qui est basse (32 - 34 °C), mais sont devenus non pathogènes puisqu'ils sont incapables de se répliquer à la température des voies respiratoires inférieures (37°C).

*b. - Atténuation utilisant les techniques de recombinaison de l'ADN*

Les techniques de recombinaison génétique sont actuellement utilisées pour obtenir des souches atténuées de virus (c'est le cas du virus de la grippe). Les possibilités qu'offrent ces techniques ouvrent des champs d'investigation considérables (Janeway, Travers-1997).

Une approche nouvelle, la vaccination permissive à l'infection, repose sur l'administration parentérale d'un virus recombinant qui porte une neuraminidase normale mais une hémagglutinine anormale : l'immunité partielle ainsi conférée n'empêche pas l'infection naturelle mais la maladie ne peut se développer. Cette méthode permet d'établir une résistance efficace à la maladie lors d'un contact ultérieur avec le virus.

*c. - Vecteurs viraux*

Un stratagème infectieux consiste à utiliser comme vecteurs un virus dans lequel on clone les gènes d'un autre virus difficile à cultiver ou intrinsèquement dangereux.

Des virus à ADN de grande taille, comme le virus de la vaccine, peuvent servir de vecteur à un ou plusieurs gènes étrangers tout en conservant leur propre pouvoir infectieux pour l'animal et les cellules en culture ; les protéines codées par les gènes insérés dans le vecteur sont exprimées : elles sont glycosylées et sécrétées par les cellules infectées.

*d. - Les risques de l'utilisation des vaccins atténués*

Chacun s'accorde aujourd'hui à reconnaître les avantages des vaccins atténués notamment contre la poliomyélite, la rougeole et la rubéole. Néanmoins, certains vaccins présentent un risque de complications. Par exemple, une encéphalite peut compliquer une vaccination contre la rougeole.

En ce qui concerne les vaccins vivants, il existe toujours une possibilité d'intégration de l'acide nucléique viral dans le génome de l'hôte, ou de réversion vers une forme virulente, bien que cela soit très improbable lorsque la souche atténuée porte plusieurs mutations. L'utilisation de souches atténuées pose cependant les importants problèmes du coût et de la conservation, le respect de la chaîne du froid étant souvent difficile à réaliser, en particulier dans les pays du tiers-monde.

D'une manière générale, le risque de complication lié à la vaccination doit être comparé à la probabilité de contracter la maladie et aux risques qu'elle fait courir. Lorsque cette probabilité est minime, on préfère souvent éviter une vaccination générale et opter pour une information intensive accompagnée, si besoin est, d'une immunisation passive dans les localités environnant un foyer épidémique isolé.

### 3.3.3. - Vaccination par antigènes protecteurs isolés

Un parasite ou une bactérie contient généralement de nombreux antigènes qui ne sont pas impliqués dans la réponse protectrice ; certains d'entre eux peuvent poser un problème important quand ils suppriment la réponse aux Ag impliqués dans la protection ou provoquent une réaction d'hypersensibilité.

L'utilisation, comme vaccin, d'Ag isolés impliqués dans la protection, contourne ces problèmes (L'identification de ces Ag permet d'envisager leur production à grande échelle lorsqu'il est impossible de cultiver l'organisme en grande quantité ou trop onéreux d'isoler ses composants immunogènes).

Ces fractions antigéniques, obtenues de diverses façons, peuvent être protéiques ou polysaccharidiques.

#### *a. - Utilisation de molécules purifiées*

Certaines exotoxines, comme celles des bacilles de la diphtérie et du tétanos, sont depuis longtemps utilisées comme immunogènes. Un traitement par du formol et un chauffage prolongé permettent de les rendre atoxiques sans réduire les déterminants immunogènes majeurs. La vaccination avec l'anatoxine induit alors la formation d'Ac protecteurs qui neutralisent la toxine par encombrement stérique du site actif et facilitent son élimination par les cellules phagocytaires.

*b. - Obtention d'Ag par clonage*

Les techniques de recombinaison de l'ADN et l'utilisation d'un vecteur approprié permettent d'obtenir l'expression d'une partie ou de l'intégralité d'une chaîne polypeptidique à la demande. Il est très souvent utile d'utiliser le produit du gène seul, afin de pouvoir l'incorporer à un adjuvant.

Le clonage des gènes est un procédé économique dont le champ d'application est vaste.

L'un des inconvénients de la fabrication de vaccins synthétiques par génie génétique est qu'il est impossible de synthétiser les sucres, souvent immunogènes. Toutefois, le clonage des gènes qui codent pour les enzymes permettant la fabrication des sucres est en cours.

*c. - Utilisation de peptides de synthèse simulant des Ac*

De petites séquences peptidiques qui correspondent à certains épitopes importants d'Ag microbiens peuvent être synthétisées facilement et à bon marché, alors que les longues séquences sont trop onéreuses. Il faut que le peptide soit fixé à une molécule porteuse stimulant les lymphocytes T et incorporé à un adjuvant pour être immunogène (exemple : couplage avec le muramyl dipeptide MDP).

*d. - Utilisation des idiotypes pour la fabrication de vaccin*

La production de molécules se substituant à des épitopes peut être d'une importance considérable pour fabriquer des vaccins dirigés contre les parasites, plus particulièrement si l'on veut séparer les déterminants d'un Ag donné qui stimulent les lymphocytes T auxiliaires de ceux qui stimulent les lymphocytes suppresseurs.

L'un des problèmes est posé par les images peptidiques des déterminants : il est difficile d'activer les récepteurs des lymphocytes qui reconnaissent mieux les déterminants stériques que les déterminants linéaires de l'Ag natif.

Une solution consiste à préparer des antiidiotypes qui comportent comme les images internes du déterminant et dont la conformation peut être reconnue. Ces antiidiotypes, images internes d'Ag microbiens, n'existent qu'en nombre restreint dans le répertoire des lymphocytes B. On peut toutefois les mettre en évidence en utilisant des Ac monoclonaux, et en obtenir ainsi une quantité substantielle.

#### **3.3.4. - Les adjuvants**

Une immunisation active doit avoir des effets de longue durée, et doit être obtenue avec un nombre minimal d'injections. L'intensité de la réponse immunitaire peut être augmentée lorsque certaines substances, les adjuvants, sont injectées en même temps que l'Ag (**Roitt-1990. Janeway, Travers-1997**).

Il est avantageux d'utiliser des agents infectieux atténués car ils sont capables de se multiplier.

Mais pour les vaccins faits de peptides, de protéines et d'hydrates de carbone ils ne sont d'ordinaire que faiblement immunogènes.

Aussi dans ce type de vaccins, et dans les vaccins par microorganismes tués, on utilise un adjuvant. Cette substance, incorporée à l'Ag, ou injectée simultanément, augmente la réponse immunitaire.

Il existe un autre problème pour les vaccins peptidiques ou protéiques : c'est leur incapacité à pénétrer dans certains compartiments intracellulaires. En particulier, il est difficile d'obtenir des réponses cytotoxiques spécifiques du CMH de classe I.

Une solution à ces problèmes consiste à utiliser des complexes stimulateurs de l'immunité (ISCOMs). Ces ISCOMs sont des supports lipidiques qui agissent comme adjuvants.

Plusieurs petites molécules, comme le muramyl dipeptide extrait de la paroi de mycobactéries, ont aussi un pouvoir adjuvant (Le mécanisme d'action demeure inconnu).

Ces adjuvants peuvent avoir plusieurs mécanismes d'action.

*a. - Effets de dépôt*

L'Ag libre se disperse en général rapidement dans les tissus entourant le site d'injection. Une fonction importante de certains adjuvants est d'empêcher cette dispersion en constituant un réservoir durable d'Ag, situé soit dans un site extracellulaire, soit à l'intérieur des macrophages.

Les adjuvants de ce type le plus souvent utilisés chez l'homme sont

- \* soit des composés d'aluminium (phosphate et hydroxyde)
- \* soit l'adjuvant incomplet de Freund (dans lequel l'Ag est incorporé dans la phase aqueuse d'une émulsion d'huile de paraffine).

*b. - Activation des macrophages*

Sous l'influence des adjuvants de dépôt, les macrophages forment des granulomes qui constituent des lieux d'interaction avec les cellules synthétisant les Ac.

Le maintien, grâce au dépôt, d'une concentration significative d'Ag, en particulier à la surface des macrophages, garantit que les cellules sensibles à l'Ag se multiplient à l'intérieur du granulome, et que les cellules-filles seront stimulées ultérieurement par l'Ag.

Pratiquement tous les adjuvants stimulent les macrophages. Les macrophages activés améliorent sans doute l'immunogénicité, d'une part par une augmentation de la quantité d'Ag à leur surface et par une meilleure

présentation de l'Ag, ce qui favorise la stimulation d'une immunité, et d'autre part par sécrétion de cytokines qui stimulent la prolifération des lymphocytes.

### **3.3.5. - Nouvelles techniques d'inoculation des Ag**

On s'est récemment intéressé à l'utilisation de petites vésicules à membranes lipidiques (les liposomes) pour présenter l'Ag au système immunitaire.

Les liposomes pourraient jouer le rôle de vacuoles de stockage à l'intérieur des macrophages. Il a également été avancé l'hypothèse qu'ils fusionnent avec la membrane des macrophages, permettant ainsi la formation d'un complexe particulièrement immunogène. Les protéines ancrées dans la membrane lipidique par des liaisons hydrophobes amplifient l'immunité cellulaire.

## **4. - Difficultés rencontrées avec les parasites lors de la mise au point de vaccins**

Ces difficultés sont dues à des phénomènes d'échappement du parasite aux mécanismes immunitaires. Ces adaptations constantes permettent aux organismes d'échapper ou de résister aux défenses de son hôte.

Tous ces phénomènes aboutissent aux difficultés rencontrées lors de mise au point d'un vaccin.

Il existe différentes stratégies (Roitt-1990. Revillard-1998).

### **4.1. - La séquestration anatomique**

C'est le cas des *Leishmania*, des stades intracellulaires de *Plasmodium*, *Toxoplasma gondii*. La localisation intracellulaire évite ainsi une reconnaissance par le système immunitaire.

Les parasites vont donc se protéger contre les défenses de l'hôte par leur inaccessibilité.

La localisation intracellulaire dans des cellules incapables de se défendre ou l'enkystement dans certains sites anatomiques permettent à certains parasites

d'échapper aux effecteurs de l'hôte (par exemple le kyste hydatique, toxoplasme dans le cerveau).

#### **4.2. - La variation antigénique**

C'est un phénomène par lequel le parasite, pendant sa cohabitation avec l'hôte, acquiert sur sa surface un revêtement de protéines de l'hôte. Il échappe ainsi à la reconnaissance de l'hôte. Ce déguisement moléculaire permet de protéger le parasite de l'attaque des Ac.

Par exemple, les larves de schistosomes traversent la peau, passent dans les poumons et la circulation sanguine. Lorsqu'elles pénètrent dans le poumon, les larves sont recouvertes par les glycolipides des groupes sanguins ABO, par des molécules du CMH dérivées de l'hôte ou par la  $\beta$ -2 microglobuline. Il s'ensuit un masquage antigénique du parasite.

#### **4.3. - La résistance aux mécanismes effecteurs**

Les parasites deviennent résistants aux mécanismes effecteurs durant leur cohabitation avec l'hôte par un phénomène de variation biochimique.

Par exemple, les larves de schistosomes au stade d'invasion pulmonaire développent un tégument qui les rend résistantes aux Ac, au complément ou aux CTL. La résistance serait due à des variations biochimiques au niveau du revêtement de surface.

Des formes de trypanosomes synthétisent par variation biochimique des glycoprotéines de membrane semblables au DAF (Decay Accelerating Factor) qui inhibent l'activation du complément.

Par des variations biochimiques de leur membrane, certains parasites sont susceptibles d'inhiber la fusion du phagosome au niveau du macrophage et entrent dans le cytoplasme de la cellule avant que la fusion survienne.

D'autres encore élaborent des enzymes susceptibles de cliver les Ac et de les rendre ainsi inefficaces.

#### **4.4. - La modification des Ag de surface**

Les parasites ont développé des mécanismes pour modifier leurs Ag de surface durant leur cycle de vie chez les vertébrés. Il existe deux formes de variations antigéniques connues.

La première est un changement dans l'expression des Ag pendant les stades de maturation des parasites. Par exemple, le stade sporozoïte du *Plasmodium* (dans la circulation sanguine) est antigéniquement distinct du mérozoïte (intra-tissulaire) responsable de l'infection chronique.

La variation antigénique la plus remarquable est la variation continue des Ag de surface observée chez certains trypanosomes. Les individus infectés présentent des vagues de parasitisme dans le sang et chaque vague correspond à un seul Ag du parasite. Pendant ce temps, l'hôte produit des Ac contre cet Ag, alors qu'un organisme antigéniquement différent est répliqué.

Une des conséquences de cette variabilité antigénique est l'impossibilité de vaccination.

#### **4.5. - L'altération des défenses de l'hôte**

Les parasites altèrent les défenses de l'hôte par différents mécanismes.

Par exemple, à la surface des schistosomes, des récepteurs Fc existent pour les IgG. Lors de cette liaison, le parasite est susceptible de libérer des enzymes protéolytiques qui entraînent la libération de peptides. Ceux-ci inhibent de nombreuses fonctions macrophagiques.

Ces peptides peuvent détruire directement les cellules ou les tissus lymphoïdes. Certains libèrent des facteurs cytotoxiques pour les lymphocytes.

Les Ag parasitaires solubles, libérés en grande quantité, sont capables de réduire l'efficacité de la réponse immunitaire par un processus de leurre antigénique.

Ainsi, les schistosomes libèrent un facteur de faible poids moléculaire qui inhibe la prolifération lymphocytaire.

## **5. - Conclusion**

Les parasites ont développé de nombreux stratagèmes afin d'échapper à la réponse immunitaire de leur hôte, ce qui explique leur persistance sur une longue période. Cette longue présence conduit aussi à une immunopathologie causée par une infection chronique qui stimule continuellement le système immunitaire, et échappe ainsi à son contrôle.

Le modèle des événements qui se produisent lors d'une infection parasitaire est complexe (Cox-1997). La mise en évidence du contrôle de la réponse immunitaire par les cellules T helper a été la première grande découverte pour la compréhension de ces réactions.

En 1986 Mosmann et Coffman, ont fait la deuxième importante découverte : il existe deux sous unités de cellules T helper CD4, les Th1 et Th2.

Les cellules Th1 produisent :

l'IL-2, les lymphotoxines et l'IFN $\gamma$ ,

alors que les cellules Th2 produisent :

l'IL-4, l'IL-5 et l'IL-10.

Les cellules Th1 sont responsables de l'activation :

des cellules T CD8+ cytotoxiques, des cellules NK et des macrophages,

pendant que les cellules Th2 sont responsables :

de l'activation des éosinophiles et

de l'induction des cellules B qui vont produire les Ac.

La troisième découverte significative est qu'il existe un degré considérable de réaction croisée entre les cellules Th1 et Th2, par exemple :

l'IFN $\gamma$  produit par Th1 inhibe la production des Ac.

les IL-4 et IL-10 inhibent l'activité de l'IFN $\gamma$ .

## **Protection vaccinale : résultats et perspectives**

Selon l'OMS, actuellement, environ 80% des enfants dans le monde vont être immunisés par vaccination contre la plupart des maladies infantiles causées par les bactéries et les virus.

Pour les infections parasitaires, la situation est très différente. Quelques vaccins seulement sont disponibles pour un usage vétérinaire et aucun n'est actuellement utilisé chez l'homme hormis les essais effectués chez une population ciblée.

La bilharziose a été depuis vingt ans un modèle d'étude des défenses immunitaires. La perspective d'un vaccin s'inscrit dans la connaissance des mécanismes de protection et par la caractérisation et le clonage des Ag "cibles".

Les succès obtenus avec des microorganismes atténués ont encouragé les scientifiques dans le développement de vaccins basés sur le concept que le système immunitaire reconnaît des épitopes et les structures intactes d'un organisme. Dans le cas de la bilharziose se sont des fractions non dénaturées du parasite qui seront utilisées.

Le développement de ce concept a conduit à l'utilisation de sous unités, en premier dérivées d'une fraction de l'organisme puis par la suite des dérivés de synthèse. Actuellement, l'utilisation de gènes codant pour les Ag correspondant dans les vaccins à ADN ouvrent des perspectives très prometteuses.

Ainsi, le principe reste le même, c'est à dire l'identification, l'isolement et la caractérisation des Ag protecteurs et l'administration de ces Ag afin d'obtenir une réponse immunitaire protectrice. Les développements réalisés en biologie moléculaire et en biochimie ont rendu l'identification d'un Ag potentiellement protecteur plus rapide et la meilleure connaissance de la biodisponibilité des molécules sélectionnées permettent de définir les voies d'administration les plus avantageuses dans la délivrance de l'Ag.

Ainsi, nous développerons les essais réalisés avec les vaccins atténués puis les résultats obtenus avec quelques molécules sélectionnées pour leur forte antigénicité, leurs présentations galéniques, les résultats et les perspectives vaccinales.

(Cox - 1997)

## **1. - Vaccins vivants atténués**

### **1.1. - Essais sur l'utilisation de cercaires atténuées par l'action des ultraviolets**

Il a été démontré qu'il existait une immunité spécifique contre les schistosomes grâce à une exposition antérieure à des cercaires atténuées par l'action des ultraviolets.

Ces expériences ont été réalisées chez les rongeurs et le porc.

Des vaccins contre *S. japonicum* constitués de ces cercaires ont été testés avec succès chez le cochon (Shi et Jiang-1993) et le buffle (Shi et Jiang-1990) en Chine.

Mais les difficultés associées à une utilisation sans danger, aux contrôles de qualités, rendent l'utilisation à grande échelle impossible (Waine et al-1993).

### **1.2. - Essais sur le rôle de l'oxyde nitrique (NO) et des cytokines TH1 (Wynn et Oswald – 1994)**

#### **1.2.1. - Rôle et fonctions du NO (Cox – 1997)**

Le rôle du NO dans la communication de la cellule est connu depuis longtemps mais c'est seulement depuis quelques années que son rôle dans l'immunité, lors d'une infection, a été démontré. Maintenant, il ne semble pas qu'il y ait un aspect de l'immunologie contre les parasites dans lequel NO ne soit pas directement ou indirectement impliqué (Clark et Rockett-1996. James-1995).

La production de NO est régulée par une enzyme, la NO synthétase, qui se présente sous deux formes : constitutive et inductible.

La forme constitutive de la NO synthétase est présente dans un grand nombre de cellules, mais la forme inductible (iNOS) est sécrétée seulement par les macrophages activés.

Le NO produit par les macrophages activés est un composé anti-microbien puissant et est capable de tuer une multitude d'organismes : des bactéries aux helminthes.

La production de la NO synthétase est stimulée par des cytokines comme l'IFN $\gamma$  et le TNF $\alpha$ . La production est sous régulée par des cytokines comme l'IL-4 et l'IL-10.

Le NO est donc une molécule clé dans la réponse immunitaire ; sa production et son activité sont favorisées par une réponse Th1 et inhibées par une réponse Th2.

### 1.2.2. - Etudes

**Thomas et al-1994** ont montré l'action antihelminthique de l'oxyde nitrique (NO) à partir d'un modèle d'infestation expérimentale chez la souris.

Ils utilisent des souris qui sont vaccinées par des cercaires irradiées de *S. mansoni*. (Les cercaires sont atténuées avec 50 000 rad d'une irradiation  $\gamma$  provenant d'une source de césium).

A intervalles de temps donnés après l'infection, l'ARNm total du poumon est isolé pour pouvoir évaluer l'action de différentes cytokines. Des expériences *in vitro* ont montré précédemment que ces cytokines sont impliquées dans l'activation des macrophages et des cellules endothéliales produisant du NO et tuant les schistosomes.

Les souris vaccinées présentent une augmentation importante de l'ARNm de l'IFN $\gamma$  par rapport aux souris témoins infectées non vaccinées. On observe une

augmentation moins importante de deux autres cytokines activant les macrophages, TNF $\alpha$  et IL-2.

La neutralisation de l'IFN $\gamma$  réduit l'immunité des souris vaccinées.

L'expression de la NO synthétase pulmonaire est élevée chez la souris vaccinée.

La suppression de l'activité de la NO synthétase par l'inhibiteur aminoguanidine, réduit l'immunité, ce qui se traduit par une augmentation de 32 à 33% de la charge en vers.

### **1.2.3. - Résultats**

Ensemble, ces données appuient les résultats des expériences *in vitro* qui suggèrent que le NO a un rôle dans la mort des schistosomes.

### **1.3. - Essais réalisés pour démontrer le rôle de l'IFN $\gamma$ (Cox – 1997)**

Les cytokines ont un rôle important dans l'initiation de la réponse immunitaire et dans ses fonctions effectrices.

Un haut niveau de protection contre *S. mansoni* est obtenu chez la souris grâce à un vaccin à base de cercaires irradiées. L'IFN $\gamma$  est la cytokine clé dans la réponse immunitaire effectrice pulmonaire.

Les expériences ont été réalisées sur des souris. Le rôle de cette cytokine a été étudié avec une inhibition ciblée sur le gène du récepteur de l'IFN $\gamma$ . On observe un affaiblissement de la réponse immunitaire et une altération des réponses pulmonaires (**Wilson et Coulson-1996**).

Ainsi si une réponse protectrice est initiée, la production d'IFN $\gamma$  augmente la protection. Si une réponse Ac est souhaitée alors la présence de l'IL-4 et IL-10 à l'instant où la réponse immunitaire est initiée, est nécessaire.

Il en résulte un équilibre entre la présence de l'IFN $\gamma$  et la production d'Ac.

## 1.4. - Etude des effets de cercaires irradiées chez les singes

### 1.4.1. - Expériences

**Farah et Nyindo-1996** ont réalisé leurs expériences sur des babouins. Il a déjà été montré par Damian que les babouins infectés par *S. mansoni* développaient des signes cliniques similaires à ceux de la bilharziose humaine aiguë, incluant fièvre et éosinophilie.

Chez les babouins comme chez l'homme, des granulomes intestinaux apparaissent dans le colon, et la pathologie du foie conduit à une fibrose hépatique.

Des cercaires atténuées par exposition à une irradiation  $\gamma$  provenant d'une source de césium à 0.8 krad / min (au total 30 krad) sont utilisées.

Les babouins ainsi vaccinés puis infestés par *S. mansoni*, présentent moins de lésions que des babouins infestés non vaccinés. Les résultats présentés sont comparables à ceux obtenus chez la souris infestée par *S. mansoni*.

Une autre étude a été réalisée et a montré l'efficacité d'un vaccin à partir de larves de schistosomes atténuées. Le vaccin provoquant une immunité protectrice est étudié chez le singe (*Cercopithecus aethiops*), par **Yole et Reid-1996**.

Les cercaires sont atténuées par des radiations  $\gamma$  de 30 krad provenant d'une source de césium 137. Trois groupes d'animaux tests reçoivent une, trois ou cinq expositions à 5 000-9 000 cercaires atténuées.

### 1.4.2. - Résultats

Dans la première étude, on a donc montré que des cercaires irradiées de *S. mansoni* induisent un bon niveau de protection. Cependant, selon Yole et al, il

est nécessaire de soumettre l'animal à plusieurs expositions. Une seule n'induirait pas un niveau de protection suffisant.

En effet, après une simple vaccination, on n'observe aucune protection significative. Après trois vaccinations, on arrive au plus haut pic de protection (48%), et après cinq expositions, le taux de protection est un peu plus réduit (39%).

Ces 48% de protection obtenus avec trois vaccinations chez ce singe sont comparables aux résultats obtenus chez le babouin, 52%, avec un protocole expérimental similaire.

L'étude des paramètres immunologiques appuie ces découvertes : la prolifération des lymphocytes dans le sang périphérique est plus importante lorsqu'il y a trois vaccinations. Le taux d'IgG présente également un pic après trois vaccinations, avec une réduction évidente après quatre ou cinq vaccinations.

Ces données indiquent qu'il existe un plafond dans la protection. Une augmentation du nombre de vaccinations au-delà d'un certain seuil, peut être la cause d'une diminution de la protection, probablement due à des mécanismes d'immunorégulation.

D'autres constatations ont été faites.

On présume que la digestion et l'absorption des aliments et nutriments par les intestins des babouins en phase aiguë de l'infection par *S. mansoni* sont très compromises. La bilharziose intestinale chez l'homme est aussi responsable de troubles de l'absorption, cependant d'autres infections parasitaires du système digestif peuvent se produire simultanément (par exemple l'ascaridiose, amibiase). Cette situation est de plus compliquée par le fait que dans la majorité de ces régions les habitants sont dans un état de malnutrition.

## **2. - Vaccins à base de protéines naturelles ou recombinantes**

Plusieurs éléments expérimentaux indiquent que des réponses immunitaires spécifiques contre des protéines peuvent être obtenues à l'aide de fragments synthétiques ou de peptides (**Bittle et al-1982, Patarroyo et al-1987, Jardim et al-1990**).

L'efficacité protectrice contre la bilharziose sera discutée. Six protéines ont ainsi été sélectionnées pour leur activité protectrice dans le cadre des modèles animaux.

### **2.1. - Sm28GST (Pancre et Gras-Masse – 1996)**

Des progrès dans le développement d'un vaccin contre la bilharziose ont été faits à partir de la connaissance des mécanismes de protection immunitaire et par la caractérisation et le clonage des molécules cibles. Parmi ces molécules, la glutathion-S-transférase recombinante de 28 kDa (rSm28GST) de *S. mansoni*, induit une protection significative chez le hamster, la souris, le rat et le babouin (**Balloul, Grzych -1987. Boulanger, Reid -1991**).

Les glutathion-S-transférases sont une famille d'enzymes dont la principale fonction est la détoxification des composés électrophiles.

#### **2.1.1. - Résultats expérimentaux**

Il a été déjà démontré que l'immunisation avec Sm28GST était capable de réduire les dommages hépatiques (nombre d'œufs, fibrose) chez la souris infestée même après une simple injection vaccinale de rSm28GST (**Pancre, Wolowczuk -1994**).

L'hypothèse d'une action au niveau des lymphocytes T cytotoxiques ou CTL CD8+ a été envisagée.

Il a été observé que la stimulation des réponses CTL après injection de protéines solubles, correspondant aux composés pathogènes, n'a pas été un succès (**Raychaudhuri, Morrow-1993**).

Aussi la réponse immune serait essentiellement une protection liée à l'immunité humorale et non à l'immunité à médiation cellulaire. Cependant, cette molécule semblerait stimuler en partie les CTL.

La formation des granulomes induits par les œufs dans le foie est caractérisée comme une réponse d'hypersensibilité retardée favorisée par les cellules CD4+, qui est maximale 8 semaines après l'infection (Mathew, Ragheb -1990). Les granulomes sont graduellement sous régulés par les lymphocytes CD8+ (Perrin, Phillips -1988), aussi c'est seize à vingt semaines après l'infection que les granulomes récemment formés diminuent en taille.

### 2.1.2. - Conclusions

Cette approche expérimentale permet d'apprécier le rôle des cellules T CD8+, exprimant une fonction cytotoxique, dans une pathologie impliquant un parasite non intracellulaire comme *S. mansoni*.

Cette molécule de 28 kDa a été aussi étudiée chez *S. japonicum*. Il a été observé que la molécule de 28 kDa de *S. japonicum* donne beaucoup moins de protection efficace contre une infection expérimentale à *S. japonicum*.

Mais, il a été montré que la molécule de 26 kDa GST recombinante de *S. japonicum* a récemment induit des effets assez importants sur la diminution de la fécondité du parasite (diminution du nombre d'œufs) dans une infection expérimentale à *S. japonicum* (Shuxian et Guangchen-1995, Waine et McManus-1997).

Ces résultats pour *S. japonicum* sont encourageants même si les taux de protection en terme de la réduction de la charge en vers sont plus bas que ceux obtenus aux cours d'études faites avec *S. mansoni*.

## 2.2. - s TPI (Reynolds et Dahl – 1994)

Un autre vaccin antigénique est à l'étude, c'est l'utilisation de la triose phosphate isomérase.

Ce vaccin semble pouvoir protéger contre l'infection initiale, et réduire la pathologie associée aux granulomes.(**Reynolds et Harn-1992. Damian et Roberts-1984**)

La triose phosphate isomérase a été initialement décrite comme une protéine cible : on la retrouve à tous les stades du développement du parasite et elle est présente virtuellement dans tous les tissus du parasite même au niveau des téguments(**Harn et Mitsuyama-1985**).

La séquence complète est déterminée et sTPI est une protéine possédant une activité immunologique et enzymatique.

## 2.3. - Sm14 (Tendler et Brito – 1996)

### 2.3.1. - Expérience

Les composés d'une préparation antigénique protectrice ont suggéré qu'une protéine du parasite fixant des acides gras, peut être à la base d'une réaction immuno croisée entre des vers, *Fasciola hepatica* et *S. mansoni*.

La bilharziose affecte environ 200 millions d'individus dans les zones tropicales.

La fasciolose, causée par *Fasciola hepatica*, est une maladie importante des bovins et moutons en Europe, Amérique, Australie. Mais il n'existe encore aucun vaccin.

Cependant, il existe une réaction croisée dans la protection immunitaire entre *S. mansoni* et *F. hepatica*.

**Hillyer et ses collaborateurs-1984 et 1987** ont isolé une fraction de faible poids moléculaire de *F. hepatica* qui protège contre les deux infections. Un composant de cette fraction est un Ag possédant une homologie avec une protéine liant les acides gras de mammifère, la Fh15. Un Ag similaire, Sm14 est cloné à partir de *S. mansoni*.

Des études moléculaires montrent que ces deux protéines parasitaires adoptent la même structure de base tridimensionnelle.

L'antigénicité de Sm14 semble dépendre des acides aminés de la partie C terminale (**Muller-Fahrow-1991. Thornton et Edwards-1986**).

### **2.3.2. - Résultats**

Des études d'immunisation sont réalisées chez le lapin et la souris, pour les deux maladies.

Les essais de vaccins mettent en évidence que Sm14 est potentiellement immunogène, en l'absence d'adjuvant.

Les taux de protection qui sont atteints contre la bilharziose avec la vaccination par Sm14 sont aussi hauts que ceux atteints avec d'autres vaccins potentiels. Mais là encore ces taux n'excèdent pas 40% (**Balloul et Grych-1987. Wright et Henkle-1990**).

### **2.3.3. - Conclusion**

Les données suggèrent que Sm14 peut constituer la base d'un vaccin unique efficace contre *S. mansoni* et *F. hepatica*.

Un tel vaccin à double emploi est principalement destiné aux vétérinaires pour une utilisation contre une importante pathologie comme la fasciolase. Mais il peut aussi représenter un chemin attractif vers le développement préclinique d'un vaccin contre la bilharziose humaine.

## **2.4. - La paramyosine comme cible pour l'immunité protectrice : Sm97**

(**Kalinna et McManus -1997**)

La paramyosine est largement distribuée parmi les différents invertébrés. C'est une protéine microfibrillaire de 97 kDa localisée dans les muscles d'animaux variés incluant les mollusques, les crustacés, les insectes, les nématodes et les trématodes (**Ishii et Sano-1980**).

#### **2.4.1. - Expérience**

Les tests sont réalisés sur la bilharziose à *S. japonicum* et à *S. mansoni*. Contrairement aux autres bilharzioses humaines, la bilharziose due à *S. japonicum* se présente comme un parasite naturel d'un nombre important de mammifères. Le réservoir immense de parasites rend la chimiothérapie inadéquate. Donc, d'autres stratégies sont nécessaires en complément des mesures de contrôle déjà existantes. Ainsi le développement et l'application efficace d'un vaccin contre la bilharziose sont justifiés.

#### **2.4.2. - Résultats**

La participation de la paramyosine dans l'immunité protectrice contre *S. mansoni* a été pour la première fois relatée par **Pearce et James-1986**.

Des souris immunisées de façon intra dermique avec des schistosomules non vivantes ou des extraits solubles de larves ou de schistosomes adultes produisent des Ac.

##### Action de la paramyosine

On a montré que la paramyosine peut stimuler les lymphocytes T, chez les souris vaccinées, à produire des lymphokines comme l'IFN $\gamma$ , qui active les macrophages afin de tuer les schistosomules.

##### Propriétés de la paramyosine

En 1995, la séquence complète de la paramyosine de *S. japonicum* a été découverte (**Becker et Kalinna-1995**). La comparaison de cette séquence avec d'autres sous espèces d'origine géographique différente (Japon, Philippines)

révèle qu'il y a seulement un seul acide aminé échangé (Nara et Matsumoto-1994). Cela met en évidence la différence des gènes entre la paramyosine des deux sous espèces (Hooker et Yang-1995).

Un rapport récent de Ramirez et Kurtis-1996, montre le potentiel de la paramyosine comme vaccin Ag potentiel. La protéine a été purifiée biochimiquement à partir de vers adultes de *S. japonicum*.

L'expérience est réalisée sur des souris, en quatre expériences séparées de vaccination, sans adjuvants.

On est arrivé à un niveau significatif de protection (62%-86%).

Actuellement, un vaccin contenant la paramyosine est testé sur un hôte naturel, le buffle d'eau. Ces expériences sont réalisées en parallèle avec une étude pilote sur des souris de laboratoire.

#### **2.4.3. - Conclusion**

Les dix dernières années de recherche dans le développement d'un vaccin contre la bilharziose, ont été dominées par la recherche d'un Ag pour l'immunisation. La paramyosine a clairement montré être l'une des cibles majeures. La paramyosine est l'un des candidats sélectionnés par l'OMS pour le développement d'un vaccin.

#### **2.5. - Sm90 (Hawn et Strand - 1994)**

Un nouvel Ag IrV1 (irradiated vaccine), a été cloné et sa séquence semble être similaire à une molécule, la calnexine.

L'IrV1 a été caractérisé dans les différents stades de développement du schistosome. Des études d'immunoprécipitation, avec des Ac dirigés contre une portion du IrV1 recombinant, ont démontré sa présence dans les cercaires, les schistosomules et les vers adultes. Sa masse moléculaire étudiée par électrophorèse sur gel de polyacrylamide est de 90 kDa.

## **2.6. - La myosine**

Certains Ag de surface des schistosomes sont reconnus exclusivement par des échantillons de sérum provenant de souris vaccinées avec des cercaires atténuées par radiation. Ces Ag représentent des candidats pour l'immunoprophylaxie.

Un des Ag, la myosine (200 kDa), est exprimée à la surface des schistosomules et dans les téguments des vers adultes.

## **2.7. - Autres antigènes candidats : le complexe "9B" (Ben-Yedidia et Arnon – 1997)**

Un laboratoire a décrit un Ag de surface protecteur, noté 9B, qui contient deux polypeptides majeurs de 45 kDa et de 30 kDa.

C'est une protéine importante dans les cercaires et les schistosomules et assez rare chez les vers adultes. On la retrouve de façon importante durant la phase d'invasion du parasite chez l'hôte définitif : des Ac spécifiques de l'Ag 9B préviennent de la réinfection.

Une immunisation de souris avec le complexe 9B provoque une protection de 62%.

Une immunisation avec cet Ag conduit à une réduction de 42% de la charge en vers adultes chez la souris, qui a été immunisée avec l'Ag conjugué avec la BSA (albumine de sérum bovin) (Tarrab-Hazdai et Levi-Schaffer -1985. Mendlovic et Arnon -1989).

## **2.8. - Glycéraldéhyde 3 phosphate déshydrogénase**

Des réactions immunes dans la population humaine ont été utilisées pour identifier des Ag qui ont un potentiel dans les réponses protectrices.

Des IgG dirigés contre la glycéraldéhyde 3 phosphate deshydrogénase (37 kDa) ont été associés avec la résistance à l'infection chez des sujets au Brésil (Dessein et Begley -1988. Goudot-Crozel et Caillol -1989).

### **2.9. - Sm22 (Dunne et Hagan – 1995)**

Parmi les produits libérés par les schistosomules, des Ag sécrétés sont capables d'induire une forte réponse IgE cytotoxique.

Une étude au Kenya, démontre une corrélation significative entre des IgE anti-vers et le bas niveau de réinfection.

Parmi les Ag reconnus par les IgE, une molécule de 22 kDa prédomine.

Les individus avec des IgE détectables dirigées contre cette molécule sont probablement moins réinfectés, ou ont une intensité de réinfestation moins importante, que des individus non répondant avec les IgE.

Mais, seulement une minorité de personnes infestées produisent dans leur sérum des IgE contre cette molécule de 22 kDa (**Dunne et Butterworth-1992**).

### **2.10. - 62kDA (Ben-Yedidia et Arnon – 1997)**

Une autre molécule recombinante de 62 kDa, qui est une molécule retrouvée dans le schistosomule récemment transformé, est aussi utilisée pour la vaccination de souris et de babouins.

Il a été retrouvé un titre élevé d'Ac, et une résistance significative à une infection provoquée (**Soisson et Reid -1992 et 1993**).

### **2.11. - Sm23 (Ben-Yedidia et Arnon – 1997)**

Une réponse immunitaire humorale et cellulaire chez des souris vaccinées est dirigée vers la même protéine intégrale membranaire, Sm23 (**Reynolds et Shoemaker -1992**).

Sm23 pourrait devenir un vaccin potentiel car c'est une molécule de surface, cible potentielle des mécanismes effecteurs.

C'est aussi un Ag majeur reconnu par des sérums provenant d'animaux vaccinés avec des cercaires irradiées.

L'Ac monoclonal anti-Sm23 peut transférer passivement une résistance partielle à des hôtes sains.

### **2.12. - Conclusion**

Six de ces Ag sont retenus par l'OMS comme candidats potentiels.

Des expériences particulièrement significatives sont effectuées avec *S. japonicum*.

On a remarqué que ces protéines induisent une protection souvent modérée (~40%) et une réponse essentiellement humorale.

Des laboratoires ont récemment cloné et exprimé des homologues de l'Ag de 22 kDa et l'Ag de 37 kDa (glyceraldehyde-3-phosphate deshydrogénase) de *S. japonicum*.

Ces Ag font l'objet de recherches courantes en Chine et aux Philippines qui visent à corrélérer la réponse immunitaire de ces Ag avec la résistance aux infections de *S. mansoni* (Waine et Becker -1993 et 1994).

## **3. - Vaccins à base de peptides**

Une alternative aux vaccins basés sur des protéines natives entières ou recombinantes sont des vaccins basés sur des peptides.

Ces vaccins sont plus clairement définis et ont l'avantage d'être plus facilement produits (ils ne requièrent pas l'expression et la purification à partir d'un hôte étranger).

Un désavantage avec ces vaccins à base de peptides, contrairement aux protéines natives et recombinantes, est qu'ils peuvent présenter les épitopes de façon linéaire.

Peu de recherches ont été réalisées pour l'analyse de l'impact de ces vaccins. Mais une approche plus récente la construction à base de peptides multiples antigéniques (MAP) (Waine et McManus-1997).

### **3.1. - Peptides dérivés de Sm28GST (Pancre et Gras-Masse – 1996)**

#### **3.1.1. - Le peptide**

Parmi les peptides dérivés de Sm28GST, le peptide 190-211 de la partie C terminale est capable de reproduire l'effet protecteur obtenu avec la molécule entière.

Les cellules T spécifiques du peptide 190-211 sont capables de réduire les dommages hépatiques (Pancre, Wolowczuh-1994).

#### **3.1.2. - Résultats**

Il a été observé que, par opposition à rSm28GST, le peptide 190-211 n'induit pas une réponse CTL significative *in vitro*. Cependant, une activité CTL est observée après immunisation de souris avec ce peptide.

Ces résultats sont en accord avec un travail précédent dans lequel il a été démontré que les cellules amorcées par le peptide 190-211 produisent des cytokines seulement après une stimulation *in vitro* avec rSm28GST. Ainsi, le peptide 190-211 serait faiblement efficace comme inducteur d'une activité cytotoxique.

#### **3.1.3. - Perspective**

Des modifications de la structure du peptide par lipoconjugaison, rehaussent l'immunogénicité. Ce lipopeptide 190-211 conduit à une activation du CTL comparable à celle observée après immunisation avec le rSm28GST.

### **3.2. - Peptide antigène multiple (MAP): sTPI et Sm29GST (Ferru et Georges – 1997)**

Un problème demeure : les Ag peptidiques sont généralement, au mieux, seulement faiblement immunogènes quand ils sont utilisés sans couplage avec une

protéine "porteuse" (Muller et al-1982, Niman et al-1983), ou avec un vecteur (voir la quatrième partie).

Afin de contourner la nécessité de vecteurs, plusieurs alternatives ont été proposées.

Entre autres, le peptide antigène multiple (MAP) dans lequel  $2 \times n$  copies du peptide sont liées par leur groupe COOH terminal, aux groupes amino d'une matrice dendritique de résidu lysyl. Ce modèle semble intéressant.

### 3.2.1. - Etudes

Le but du travail qui a été réalisé, était de déterminer la réponse immunitaire provoquée par un MAP. Ce MAP contient trois séquences peptidiques distinctes dérivées de deux protéines différentes du parasite *S. mansoni*.

La réponse immunitaire induite après immunisation par voie sous cutanée a été évaluée chez trois variétés différentes de souris.

Les deux protéines sont : la glutathione-S-transférase (Sm28GST), et la triose phosphate isomérase (sTPI), qui sont des vaccins potentiels contre cette infection.

### 3.2.2. - Résultats

La réponse des cellules B est étudiée par la mesure de la production de divers isotypes des IgG. Cette réponse est essentiellement dirigée contre les peptides dérivés de Sm28GST, mais aussi contre la protéine Sm28GST dans sa totalité.

Par opposition, la réponse des cellules T, d'après les études de la prolifération et de l'expression de l'ARNm des cytokines, est dirigée contre l'association MAP, les peptides dérivés de sTPI et la protéine sTPI dans sa totalité.

La cytokine principale exprimée est l'IFN $\gamma$  qui est décrite comme jouant un rôle majeur dans la réduction de la pathologie. Elle active les macrophages qui

vont détruire les larves. Elle va aussi induire une diminution de la taille des granulomes et des dommages du foie.

### **3.2.3. - Conclusions**

L'incubation des cellules T provenant de souris immunisées avec seulement le Sm28GST ou son peptide dérivé, ne réussit pas à stimuler une expression significative des messagers de la cytokine (IFN $\gamma$ ).

Ainsi le fait de combiner des peptides provenant de Sm28GST et sTPI de *S. mansoni* dans une association peptidique multiple, conserve leurs propriétés immunogènes chez différentes variétés de souris.

Cette seule association induit une réponse immunitaire dirigée contre les deux Ag distincts, ce qui implique une bonne réponse Ac et un niveau élevé de production d'IFN $\gamma$ . Ainsi cette association fournit une protection contre l'infection par les schistosomes.

## **3.3. - MAP : sTPI et Sm23 (Harn et Reynolds – 1995)**

### **3.3.1. - Etudes**

Le TPI du schistosome partage 50% de séquences homologues avec l'enzyme humaine analogue tandis que 25% de la molécule est composée de séquences spécifiques aux schistosomes. Ainsi le potentiel pour générer l'auto-immunité avec cet immunogène particulier serait élevé si la molécule entière était utilisée. Mais la majorité des séquences spécifiques est groupée, ainsi il existe de longues régions avec peu ou pas d'homologie avec l'enzyme humaine.

Donc, il faut produire un vaccin basé sur un peptide synthétique pour TPI en utilisant exclusivement des régions de la molécule spécifiques du schistosome.

Un travail identique est réalisé sur la molécule Sm23.

Le but de cette étude est de produire des vaccins qui pourraient être délivrés dans les pays en voie de développement en utilisant des adjuvants qui sont simples et stables et un mode de vaccination nécessitant un minimum d'injections.

Deux adjuvants simples sont utilisés, l'hydroxyde d'aluminium et les liposomes.

### **3.3.2. - Conclusion**

En plus de ces MAP de TPi et Sm23, il existe plusieurs autres candidats qui se sont révélés être partiellement protecteurs chez les souris. Après comparaison de ces Ag avec les MAP de TPi et Sm23, seulement l'IrV a montré les mêmes niveaux élevés de protection. Bien que IrV semble nécessiter 3 ou 4 injections pour atteindre ce bon niveau d'immunité, il peut être obtenu en l'absence d'adjuvant (Amory Soisson et al-1992).

Les MAP de TPi et Sm23 nécessitent seulement 2 injections pour atteindre des niveaux de protection comparables. Mais, il n'a pas été déterminé si ces MAP protègent en l'absence d'adjuvant (l'alun).

## **4. - Utilisation d'adjuvants**

Pour des peptides qui sont petits et non immunogéniques, le couplage avec un porteur est essentiel pour les doter d'une capacité d'induire une réponse des cellules T helper.

De larges protéines qui contiennent suffisamment de groupes réactifs vont convenir comme porteurs. Les protéines de bactéries (l'anatoxine tétanique, la toxine diphtérique) sont très utilisées par conjugaison chimique avec les peptides.

Les protéines provenant de mammifères (par exemple, le BSA bovine serum albumin), se sont révélées être moins efficaces (Geerligts et Wellings-1989).

Une méthode alternative dans la présentation des peptides implique la méthode de l'ADN recombinant (voir partie 5). Un plasmide contenant le gène de la protéine porteur

est utilisé et la séquence de l'ADN des épitopes est insérée (Newton et Joys-1995. Kalyan et Lee-1994).

#### **4.1. - Un vaccin muqueux contre la bilharziose : Sm 28 kDA glutathion S transférase. Vecteurs : le liposome (Ivanoff et Phillips – 1996)**

Des variétés de modèles expérimentaux ont montré qu'une immunisation avec le glutathion S transférase provenant de *S. mansoni* pouvait induire une immunité protectrice contre le parasite. Cette immunité est liée à la production d'Ac de type Th2 contre l'Ag chez les souris et l'homme. Le vecteur utilisé pour transporter l'Ag Sm28GTS au niveau des tissus lymphoïdes associés aux intestins est le liposome (Bergquist -1995. Balloul et Sondermeyer-1987).

La 28 kDa glutathion-S-transférase (Sm28GST) est présente à toutes les étapes du cycle de vie du parasite (Taylor et Vidal-1988). Cette protéine a prouvé son efficacité vaccinale chez plusieurs modèles animaux, y compris les primates (Balloul et Grzych-1987, Boulanger et Reid-1991). Une caractéristique importante de Sm28GST est qu'une immunisation avec cette protéine diminue les effets néfastes d'une reinfestation en réduisant non seulement la charge en vers, mais aussi de façon significative la fécondité du parasite (Boulanger et Reid-1991). Ce dernier point est très intéressant si on arrive à minimiser les symptômes et la progression de la maladie.

La carte des épitopes de Sm28GST permet de distinguer 3 régions d'épitopes principaux de la protéine qui ont un rôle dans la protection. La région d'acides aminés 115-131 semble porter l'effet de réduction de la charge en vers alors que la partie C terminale (acides aminés 190-211) et avec un degré moindre la région N terminale (10-43) semblent porter la réduction de l'activité de fécondité. Les peptides C et N terminales se sont révélées être associées avec le site enzymatique de la protéine.

Des études sur la population infestée naturellement avec *S. mansoni* au Kenya ont montré une augmentation des Ac IgA qui sont spécifiques de Sm28GST et des

cellules B pour l'épitope (aa 115-131), avec l'acquisition d'une résistance à la réinfestation. Par ailleurs, les Ig A spécifiques de Sm28GST ont montré qu'ils réduisaient la fécondité des vers et la viabilité des œufs *in vitro* (Grzych et Grezel-1993).

La participation des IgA dans le mécanisme de protection a été observée chez le modèle souris : Grezel et Capron-1993, ont initié des travaux sur l'immunité muqueuse.

#### 4.1.1. - Expérience

Au cours de l'infestation expérimentale, la souris développe une réponse Th1 avant la ponte et ce profil Th1 diminue profondément sous-régulé chez une souris portant une infestation produite par les œufs. Cette sous-régulation s'accompagne d'une augmentation de la réponse Th2. Il a été aussi démontré qu'une réponse Ac IgG1 (l'isotype majeur produit pour une réponse de type Th2 chez la souris) contribue à une immunité protectrice. Au regard de l'étude sur la stratégie vaccinale, l'immunisation muqueuse peut accroître la production d'IgA sécrétoire et avantager une réponse de type Th2.

Pour développer cette approche, il a été choisi de délivrer du Sm28GST recombinant aux tissus lymphoïdes associés à l'intestin (GALT), après internalisation de l'Ag dans une structure liposome.

##### *a. - Préparation de la formule SmGST / liposome*

Le Sm28GST recombinant est exprimé dans *Escherichia coli* contenant un plasmide pTG54 et purifié par chromatographie.

Pour le liposome on veut former une vésicule multi-lamellaire (MLT). Aussi le liposome est formé d'un mélange de dimyristoylphosphatidylglycerol (DMGP) et de 1 des 3 dérivés du diacylphosphatidylcholine (PC). Ces dérivés sont définis par la longueur de la chaîne hydrocarbonée :

14 atomes de carbone : dimyristoylphosphatidylcholine ou DMPC

16 atomes de carbone : dipalmitoylphosphatidylcholine ou DPPC

18 atomes de carbone : diesteroylphosphatidylcholine ou DSPC .

Les mélanges consistent en DMPC / DMPG, DPPC / DMPG ou DSPC / DMPG .

Il est important de déterminer le degré de préservation de l'antigénicité de Sm28GST durant le processus de formation du complexe Sm28GST / liposome.

Il faut savoir si le chauffage utilisé dans la préparation du complexe entraîne une modification du caractère antigénique du Sm28GST . Les études sont réalisées par la méthode ELISA et il apparaît que le chauffage peut entraîner une diminution de la reconnaissance de l'Ag. Mais cette diminution est fonction du temps de chauffage.

*b. - Immunisation des souris avec le complexe Sm28GST / liposome*

Les expérimentations d'immunisation sont réalisées sur des souris femelles C57B1/6 âgées de 6 à 8 semaines. Le complexe SM28GST / liposome est délivré en 3 doses séparées (à 1 semaine d'intervalle), contenant 20 µg de Sm28GST dans 200 µL de solution bicarbonatée comme véhicule liquide pour l'administration. Ce véhicule est sélectionné pour protéger les liposomes dans l'estomac.

*c. - Les essais de protection*

Deux groupes de 10 souris sont immunisés oralement avec 20 µg ou 200 µg de Sm28GST dans un complexe liposome correspondant à 2 µmol de DPPC / DMPG. Un troisième groupe de 10 animaux est non immunisé et sert de témoin.

Quatre semaines après la dernière immunisation, les souris sont exposées à 100 cercaires de *S. mansoni* de façon transcutanée.

Onze semaines après, les vers et les œufs sont récupérés et comptés pour chaque souris. Le nombre d'œufs est exprimé par gramme de foie ou intestin et le chiffre obtenu pour les groupes immunisés (B) est comparé avec celui obtenu pour le groupe témoin (A).

Le pourcentage de protection est calculé par la formule :  $(A - B) / A * 100$ .

#### **4.1.2. - Résultats**

Le Sm28GST seul, donné oralement n'a pas montré d'effet immunogénique. La capacité des vecteurs liposomes, administrés oralement, à induire une réponse immunitaire systémique spécifique pour Sm28GST est testée pour les complexes DPPC / DMPG et DSPC / DMPG. Les titres des Ac spécifiques sont détectés dans le sérum.

Ces résultats montrent que seul le complexe DPPC / DMPG / Sm28GST est capable d'induire en quantité significative des IgG1 et IgG2b. Alors qu'il n'y a pas production d'IgG2a, IgG3 ou IgA détectées dans le sérum.

Selon des doses injectées de protéines couplées aux liposomes, le pourcentage de réduction de la charge en vers et œufs comparé au groupe témoin non immunisé montre une réduction significative du nombre d'œufs (53% dans le foie ou l'intestin) et de vers (52 %) pour le groupe recevant le plus fort dosage de Sm28GST dans le liposome.

#### **4.1.3. - Conclusion**

Le point important est que l'immunisation orale avec le complexe Sm28GST / liposome peut stimuler non seulement l'immunité muqueuse mais aussi systémique. Ainsi la phase aiguë de l'infection chez la souris est dominée par un profil cytokine de type TH1 et dès le début de la phase de ponte (plus la phase chronique de la pathologie) par un profil de type TH2 (caractérisé par la production spécifique d'IgG1 et IgG2b).

Ainsi, Sm28GST est un des candidats potentiels pour un vaccin contre les schistosomes avec comme vecteur le liposome. L'immunité et la protection induites par cette association mettent en évidence la faisabilité d'un vaccin sans risque.

#### **4.2. - Vecteur : Bordetella pertussis (Renaud-Mongenie et Mielcarek – 1996)**

Les vecteurs de vaccins vivants sont généralement très efficaces et provoquent habituellement une réponse immunitaire de grande ampleur et de longue durée par rapport aux vecteurs non vivants.

##### **4.2.1. - Etudes**

Dans cette étude, on explore le potentiel de *B. pertussis*, l'agent étiologique de la coqueluche, pour servir de système de délivrance vivant d'Ag pour la voie nasale.

Cette virulence est associée à des adhésines produites par ce microorganisme. L'une d'elles est l'hémagglutinine filamenteuse (FHA), l'adhésine principale qui exprime au moins trois niveaux d'activité de fixation différents. FHA est aussi un immunogène puissant capable d'induire un haut niveau d'Ac muqueux et systémiques avec une longue persistance après une infection naturelle chez l'homme ou une infection expérimentale chez la souris.

L'appareil respiratoire peut représenter un site important dans l'élimination des schistosomules, car le cycle de vie de *S. mansoni* a une étape importante dans le poumon.

Une voie alternative pour une immunisation muqueuse est l'administration de vaccins par voie intranasale. Cette voie présente plusieurs avantages par rapport à la voie orale. Elle évite à l'Ag de rencontrer l'environnement acide et protéolytique de l'estomac.

En dose unique, une administration nasale apparaît être plus efficace qu'une administration orale.

Comme l'appareil respiratoire est moins colonisé par les microorganismes commençaux par rapport à l'appareil digestif, les vecteurs de vaccins vivants peuvent rencontrer moins de compétition pour s'établir.

Pour estimer si l'administration intranasale de *B. pertussis* recombinant peut induire une réponse immunitaire muqueuse contre des Ag, la protéine Sm28GST a été choisie comme modèle d'Ag. On réalise une fusion génétique de Sm28GST à la région C terminale de la forme mature de FHA.

#### **4.2.2. - Résultats**

Il a été démontré que le Sm28GST fusionné à FHA est capable d'induire des IgA et IgG spécifiques dans le liquide de lavage bronchoalvéolaire, après une simple administration intranasale.

Une administration intranasale de Sm28GST purifié seul n'induit pas une réponse immunitaire significative.

Bien que l'utilisation de *B. pertussis* comme porteur de vaccin ne soit pas directement applicable à cause de la virulence naturelle de cet organisme, il est maintenant possible de l'atténuer génétiquement.

#### **4.3. - Vaccin utilisant la salmonelle comme porteur (Anjam Khan et Villarreal-Ramos – 1994)**

Une nouvelle génération de vaccin oral vivant contre la salmonelle semble être prometteuse comme porteur pour la délivrance d'Ag de virus, bactéries, au système immunitaire (Sadoff et Balloul-1988. Schodel et Moriarty-1992).

#### **4.3.1. - Etude**

Un vecteur a été construit afin de permettre une fusion génétique d'un Ag au moyen d'un domaine charnière du fragment C de l'anatoxine tétanique. Une fusion a été réalisée avec le gène codant pour la glutathion-S-transférase de 28 kDa de *S. mansoni*.

Le vecteur recombinant a été placé dans un vaccin vivant non virulent de *Salmonella typhimurium aroA*.

#### **4.3.2. - Résultats**

Les souris immunisées de façon intra veineuse avec une simple dose de la bactérie vivante recombinante révèle l'apparition d'Ac contre le fragment C et la glutathion S transférase.

Toutes les souris sont solidement protégées quand on leur administre une dose létale d'anatoxine tétanique ou *Salmonella typhimurium* virulente. On observe aussi l'apparition chez les souris d'Ac contre le fragment C et la glutathion S transférase après une immunisation orale.

#### **4.3.3. - Conclusion**

Ainsi un vaccin trivalent contre la typhoïde, le tétanos, et la bilharziose est faisable. La principale préoccupation est liée à l'efficacité vaccinale contre la bilharziose.

Un des avantages de l'utilisation de la salmonelle comme système de délivrance est précisément sa capacité à stimuler l'immunité cellulaire.

#### **4.4. - Vaccination par différentes voies avec le BCG (Bacillus Calmette Gerin) (Williams et Caspar – 1995)**

Il existe des évidences qui suggèrent que les modèles de sécrétion des cytokines sont déterminés très tôt après une exposition à l'Ag (Swain-1993. Vella et Pearce-1992).

La voie d'immunisation peut influencer le développement de la réponse immunitaire.

##### **4.4.1. - Données expérimentales**

Des expériences ont montré que des souris immunisées de façon *intra dermique* avec le BCG associé à des schistosomules tués ou à des Ag du parasite, sont protégées contre des réinfestations avec *S. mansoni*.

En revanche, des souris immunisées uniquement avec des Ag similaires de façon *intra veineuse* ou *intramusculaire*, ne sont pas protégées de façon significative (James 1985. James et Pierce-1988).

De plus, une immunisation par voie intra veineuse non protectrice interfère avec la possibilité d'induire une protection ultérieure par une vaccination intra dermique. Cela permet d'invoquer une inhibition des réponses.

##### **4.4.2. - Résultats**

L'induction des différentes cytokines selon les voies d'immunisation est corrélée avec le développement d'une immunité protectrice favorisée par les cellules contre *S. mansoni*.

Il a été mis en évidence que les macrophages activés jouent un rôle comme cellules effectrices dans la protection contre *S. mansoni*.

TGF $\beta$  est détecté chez les souris non protégées. L'activité des macrophages est neutralisée par des Ac anti TGF $\beta$ . La production des TGF $\beta$  est au moins partiellement responsable de la faible réaction immunitaire contre *S. mansoni* consécutive à une injection IV ou IM.

#### 4.4.3. - Conclusion

L'induction de la sous régulation des cytokines peut être un facteur important limitant l'efficacité de certains protocoles de vaccination.

#### 4.5. - IL-12 et paramyosine

L'IL-12 régule les réponses TH1 / TH2 durant une immunisation avec des cercaires irradiées. Cette observation suggère que cette cytokine peut être utilisée afin d'augmenter l'induction d'une immunité contre *S. mansoni* (Thomas, Dragana Jankovic-1995).

D'autres études ont été effectuées avec la paramyosine.

Des travaux récents réalisés par Wynn et Reynolds-1996, indiquent que la cytokine IL-12, administrée comme un adjuvant avec une sous unité de vaccin comme la paramyosine, conduit à une haute efficacité dans la prévention de l'infection contre les schistosomes par une augmentation de la réponse humorale et cellulaire.

Ces observations sont confirmées en 1996 par Mountford, Anderson., où l'IL-12, puissant inducteur du développement des lymphocytes Th1, est administré à des souris comme adjuvant dans une préparation contenant des Ag solubles. Ces Ag sont dérivés de schistosomules pulmonaires (SLAP : soluble lung stage Ag preparation).

L'étude est effectuée en administrant un ou deux doses de SLAP + IL-12 chez la souris. La délivrance de deux doses de cette préparation aux souris était suffisante pour provoquer une immunité protectrice modérée mais significative contre l'infestation.

### 5. - Vaccins avec des Ac-anti-idiotypes (Shoenfeld et Amital – 1994)

Les Ac sont généralement caractérisés par les Ag auxquels ils sont liés ou par les variations isotypiques de leur régions constantes.

Une façon de classer les Ac, en augmentation, est par les régions variables de la molécule.

Les constructions antigéniques des régions variables sont appelées idiotypes. Les Ac générés par le stimulus idiotypique sont appelés anti-idiotypiques.

### **5.1. - Les Ac anti-idiotypes comme vaccin potentiel contre les agents infectieux**

Les anti-idiotypes peuvent imiter les épitopes immunogéniques qui sont vitaux. Généralement, ces épitopes échouent dans la production de réaction Ac. L'immunisation avec les anti-idiotypes de cette manière, active "les clones silencieux" qui ne sont normalement pas stimulés après inoculation contre l'Ag étranger. Ainsi un Ag qui normalement n'induit pas une réponse humorale peut provoquer une réaction neutralisante via son image reflet.

Les anti-idiotypes ne produisent pas seulement des Ac qui vont réagir avec certains Ag, mais vont aussi mettre en évidence les idiotypes immunoréactifs.

### **5.2. - Les vaccins anti-idiotypes en parasitologie**

Une immunisation avec anti-idiotype a été employée avec succès afin d'induire une cytotoxicité cellulaire dépendante des Ac contre *S. mansoni*.

En utilisant la technique de l'hybridome, un Ac monoclonal contre *S. mansoni* est généré.

Cet Ac monoclonal est dirigé contre un Ag de surface de 38 kDa qui est connu pour être un immunogène majeur.

## **6. - Vaccins à ADN (Kalinna – 1997)**

Après la première génération de vaccins où le matériel est dérivé de la forme vivante ou tuée d'un organisme entier, et la seconde génération utilisant des protéines purifiées ou

recombinantes, l'administration de l'acide nucléique est considérée comme la troisième génération de vaccin.

En science, il est inhabituel pour une simple idée innovatrice d'être acceptée aussi rapidement. Seulement trois ans après le premier rapport sur l'injection directe du gène du virus influenza A pour immuniser une souris, un produit commercial va bientôt être produit.

Les vaccins de première génération ne produisent pas seulement une réponse immunitaire humorale et cellulaire, mais ils induisent aussi une réponse CTL CD8+ importante.

Le principal désavantage de ces vaccins est la possibilité que les organismes atténués puissent revenir à une forme pathogène. Il existe aussi un risque potentiel de contamination de la préparation vaccinale par d'autres microorganismes pathogènes.

Les vaccins tués ne comportent pas ces risques, mais contrairement aux vaccins atténués, ils ne sont pas capables de générer une réponses CTL.

Les vaccins de deuxième génération induisent seulement une réponse humorale et des cellules Th CD4+. De plus, ces vaccins ont besoin d'adjuvants car l'effet de l'immunisation ne dure pas aussi longtemps que celui obtenu avec les vaccins vivants atténués ou tués.

Les vaccins atténués à partir des acides nucléiques vont apporter des réponses à ces problèmes (Ulmer et Donnelly-1993. Rhodes et Dwarki-1993. Wang et Ugen-1993).

L'induction d'une réponse CTL CD8+ est particulièrement importante, même si le mécanisme n'est pas encore compris.

Des cellules présentant l'Ag (APC) sont nécessaires pour stimuler les lymphocytes T. La transfection dans le muscle, la peau, les tissus muqueux de l'ADN de plasmide conduit à la production de protéines recombinantes, et quand ces cellules se désintègrent ou quand l'Ag est sécrété, la protéine extérieure peut se lier avec l'APC qui va conduire, par la présentation à travers les molécules de classe II du CMH, à une réponse T helper CD4+ et à la fin, à la production d'Ac.

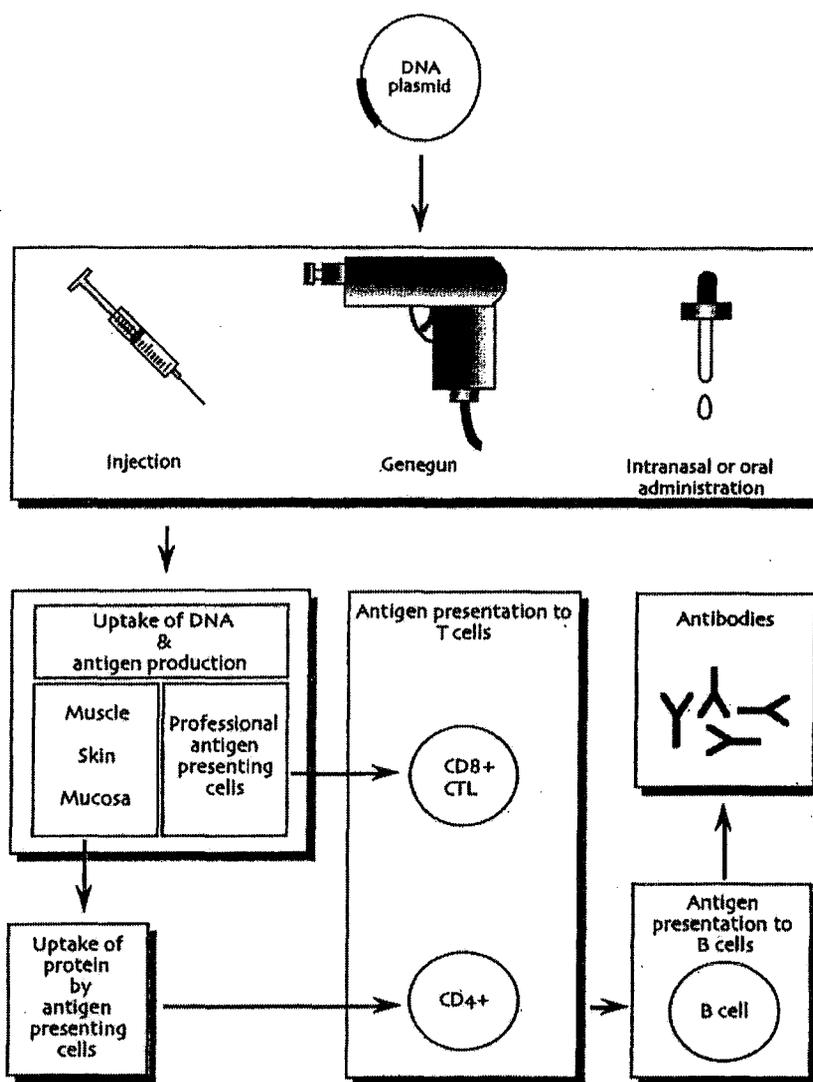
### **6.1. - La distribution des vaccins à ADN**

Les vaccins à ADN peuvent être délivrés par de nombreuses voies. Après des essais utilisant des vecteurs rétroviraux recombinants, l'encapsulation de l'ADN dans un liposome (Kaneda et Iwai-1989. Zhu et Liggitt-1993) ou une protéine porteur (Wolff et Malone-1990), deux méthodes sont principalement utilisées aujourd'hui.

La première est la simple injection de l'ADN du plasmide seul, généralement dans le muscle ou la peau (Cox et Zamb-1993). La préparation de tels vaccins implique le clonage de la molécule cible désirée dans un vecteur plasmidique qui contient un promoteur eucaryotique pour permettre au gène d'être exprimé dans la cellule eucaryotique.

De tels plasmides peuvent aussi être introduits dans du tissu de mammifères par une seconde méthode efficace : le transfert du gène par l'intermédiaire d'un bombardement de particules. L'ADN du plasmide recouvert de particules d'or est accéléré à grande vitesse pour être capable de pénétrer dans le tissu cible.

L'appareil utilisé pour cette méthode, appelé le pistolet à gènes, est maintenant commercialement disponible.



### *Le pistolet à gène*

*(D'après Kalinna DNA vaccines for parasitic infections)*

Une fois délivré à l'hôte qui doit être immunisé, cet ADN de plasmide se lie à la cellule hôte et la protéine produite par la suite *in vivo* est exposée au système immunitaire, stimulant ainsi une réponse immunitaire spécifique.

Il existe plusieurs avantages associés avec ce genre de délivrance de vaccin. La délivrance directe du matériel génétique à la cellule hôte et la production ultérieure *in vivo* de l'Ag désiré offrent la possibilité de la persistance d'une

réponse à un bas niveau sur une longue période (Wolff, Malone-1990. Cheng, Ziegelhoffer-1993).

L'Ag produit de cette manière a plus de chance de ressembler à la molécule native.

Grâce à la facilité de manipulation des constructions d'ADN, il sera possible de réaliser des vaccins contre de multiples maladies qui vont supprimer le besoin de répéter l'immunisation. Il sera aussi possible de développer des vaccins avec de multiples épitopes qui contiennent seulement les séquences nécessaires pour obtenir une réponse immunitaire.

D'autres avantages sont de nature économique et logistique. Par exemple, les coûts de production peuvent être plus bas par rapport aux vaccins classiques. Les contrôles de qualités sont plus faciles comparés aux protéines recombinantes ou aux constructions de peptides.

L'ADN est très stable à la chaleur, aussi il n'est pas nécessaire de mettre en place une chaîne de froid. Ceci est un avantage important pour la généralisation des vaccins dans les pays en voie de développement et les zones isolées.

Malgré ces nombreux avantages, un point est à considérer. Il existe une possibilité faible d'intégration de l'ADN de plasmide dans le génome de l'hôte ce qui peut conduire à des effets pathogènes, spécialement des mutations somatiques qui pourraient inactiver les gènes suppresseurs ou activer les oncogènes.

## **6.2. - Applications aux infections parasitaires**

Malgré la facilité de construction de l'ADN de plasmide pour la délivrance de vaccins, il existe relativement peu de rapports sur l'utilisation de la vaccination par les acides nucléiques pour les infections parasitaires.

La majorité des publications décrivent des travaux sur les protozoaires (paludisme, leishmaniose, toxoplasmose...) et seulement quatre publications traitent d'études sur les helminthes.

Récemment des ADNc de *S. japonicum* ont été clonés dans des vecteurs eucaryotiques (Yang et Waine-1995. Waine et Yang-1997).

Ces ADNc incluent :

- \* la paramyosine, molécule de 97 kDa,
- \* différents fragments de paramyosine,
- \* la glycéraldéhyde 3 phosphate déshydrogénase,
- \* un Ag de tégument de 22 kDa,
- \* une protéine fixant les acides gras de 14 kDa,
- \* la glutathion S transférase de 26 kDa et de 28 kDa
- \* et la calreticuline.

Seules les constructions codant pour une partie de la paramyosine ou la molécule entière, sont capables de produire des Ac spécifiques chez la souris après une injection intra musculaire (Nara, Tanabe -1997).

Cela est dû au fait que la paramyosine est l'une des protéines schistosomales les plus immunogènes .

D'autres essais sont réalisés et visent à développer des vaccins à ADN pour *S mansoni*.

Une étude a montré que la souris était protégée contre l'infection après immunisation avec une construction d'ADN codant pour une protéine Sm23. (Harn, Reynolds -1997)

Le niveau de protection, mesuré par la charge en œufs, est de 75% par rapport aux animaux témoins, avec une réponse Ac correspondant principalement à des IgG2a et IgG2b.

### **6.3. - Perspective pour le futur**

Les différentes revues démontrent que des progrès considérables ont été faits dans le développement de vaccins à ADN contre les infections parasitaires, spécialement contre les protozoaires. Ceci est dû en partie au fait que les

protozoaires sont des cibles plus faciles pour le système immunitaire comparés à des organismes plus complexes comme les schistosomes.

Mais il est relativement aisé de produire de nouvelles constructions et de les tester rapidement, ce qui facilite le développement de vaccins contre de nombreux parasites.

De plus, il est facile d'influencer le système immunitaire afin de produire une réponse correcte par la co-administration de plasmides codant pour des cytokines.

Avec notre compréhension grandissante sur le développement de l'immunité contre des parasites particuliers et sur les mécanismes importants de la résistance, les vaccins à base d'acides nucléiques vont être des outils utiles. Mais de nombreuses garanties sur l'absence de risque de telles procédures de vaccination sont encore à fournir.

## **7. - Conclusion**

La recherche et le développement de vaccins contre la bilharziose représente une priorité pour l'OMS.

Des essais sur l'homme sont actuellement en cours (phase II) au Niger et au Sénégal.

Une protection durable, peu coûteuse et efficace serait un atout pour le développement économique des régions sous développées.

Des espoirs sont liés au succès des essais de vaccinations des bétails par les Ag d'un autre plathelminthe : *F. hepatica* (Spithill et Dalton-1998).

Cette infection est la cause d'importantes pertes économiques dans le monde.

En plus de la réduction de la charge en douve, une diminution de la production d'œufs du parasite est obtenue.

Un principe suggère une autre approche dans la recherche de vaccin contre les parasites. C'est le principe de Waksman (Doenhoff-1998).

Byron Waksman pense qu'au lieu d'étudier des Ag du parasite reconnus par l'animal infesté comme un vaccin potentiellement immunogène, il faut s'intéresser aux molécules contre lesquelles peu ou pas de réponses sont dirigées.

Cette théorie est basée sur le fait que les schistosomes ou les autres parasites ont une longévité relativement grande. Ainsi, les Ag qui induisent une forte réponse immunitaire sont peu importants dans un contexte de vaccination car le parasite survivant n'est apparemment pas affecté par une telle immunité.

Un travail récent a été réalisé sur une sérine protéase majeure excrétée par la larve de schistosome durant un stade précoce de l'infestation (**Darani-1997**).

On suggère que ses propriétés immunologiques et particulièrement le manque d'immunogénicité de la forme native peuvent être exploités. Cette protéase est bien caractérisée et son activité protéolytique est considérée comme fondamentale pour la survie du parasite (Elle facilite la migration des schistosomules à travers la peau de l'hôte).

Par cette démarche originale et novatrice, d'autres protéines ou structures parasitaires peu immunogènes mais importantes pour la biologie du parasite sont en cours d'évaluation à la fois comme cible thérapeutique et comme nouveaux candidats à la vaccination.

## **Conclusion générale**

THESE SOUTENUE PAR : COMBET Elise

TITRE : Vaccination contre la bilharziose humaine : réalités et perspectives.

Malgré les recherches intensives, il n'a pas encore été possible de mettre au point des vaccins efficaces dans la prévention des parasitoses humaines. Cependant on commence à mieux appréhender les stratégies possibles et efficaces pour la vaccination anti-parasitaire.

Malgré de nombreux essais avec les Ag candidats, l'immunité induite n'est jamais complète.

Les projets de vaccins basés sur les peptides et polypeptides sont des concepts attractifs pour des vaccins car ils conduisent à l'élimination des effets toxiques liés à l'agent pathogène (ces éléments immunogènes sont parfois cachés dans l'organisme).

Tous ces résultats encouragent les essais préliminaires et le développement de systèmes de délivrance plus efficaces, aussi bien pour les peptides que l'ADN correspondant.

Des progrès importants ont été faits ces dernières années et la possibilité de développer un vaccin pour l'homme peut maintenant être considérée comme sérieuse.

Ainsi, les résultats obtenus ont encouragé l'initiative d'essais de phase I afin d'évaluer la sécurité et l'immunogénicité d'un vaccin à base de glutathion-S-transférase (BILHVAX), chez des hommes volontaires sains, et la phase II est envisagée dans les zones d'endémie.

Il semble que la première génération de vaccins à base de peptides puisse bientôt devenir une réalité, couplé au développement de nouvelles formes de vaccins à ADN et au possibilité d'association d'Ag spécifiques et nécessaires au développement du parasite in situ.

Les résultats de campagne de vaccinations chez les sujets volontaires sont attendus avec espoir. Une protection efficace et durable consécutive à la vaccination permettrait

d'enrayer la morbidité importante de cette parasitose et certainement de limiter son expansion.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER

Grenoble, le 11/08/99

LE DOYEN :

Monsieur le Professeur DEMENGE



LE PRÉSIDENT DE THESE :

Madame le Professeur GRILLOT

A handwritten signature in black ink, appearing to be "Grillot".

LE DIRECTEUR DE THESE :

Madame PINEL

A handwritten signature in black ink, appearing to be "Pinel".

## Bibliographie

ANJAM KHAN C, VILLARREAL-RAMOS B, PIERCE R et al. Construction, expression, and immunogenicity of the Schistosoma mansoni P28 glutathione S-transferase as a genetic fusion to tetanus toxin fragment C in a live aro attenuated vaccine strain of Salmonella.

*Proc Natl Acad Sci USA*, 1994, **91** : 11261-11265.

ASSIM. Introduction à l'immunologie, In : Association des enseignants d'immunologie des universités de langue française, *Immunologie générale*, 1992 : 1-3.

ASSIM. Système immunitaire et lutte anti-infectieuse, In : Association des enseignants d'immunologie des universités de langue française, *Immunologie générale*, 1992 : 275-286.

ASSIM. Réponse immunitaire humorale, In : Association des enseignants d'immunologie des universités de langue française, *Immunologie générale*, 1992 : 236-245.

ASSIM. Réponse immunitaire cellulaire, In : Association des enseignants d'immunologie des universités de langue française, *Immunologie générale*, 1992 : 215-223.

ASSOCIATION FRANCAISE DES ENSEIGNANTS DE PARASITOLOGIE. Bilharzioses, In : AFEP, Parasitologie, *mycologie*, Ann O'fel 96-97 : 117-133.

BALLOUL JM, GRZYCH JM, PIERCE R., CAPRON A. A purified 28,000 dalton protein from Schistosoma mansoni adult worms protects rats and mice against experimental schistosomiasis.

*J.Immun*, 1987, **138** : 3448-3453.

BALLOUL JM, SONDERMEYER P, DREYER D et *al.* Molecular cloning of a protective antigen of schistosomes.

*Nature*, 1987, **326** : 149-153.

BECKER M, KALINNA B, YANG W et *al.* Gene cloning and complete nucleotide sequence of philippine *Schistosoma japonicum* paramyosin.

*Acta Tropica*, 1995, **59** : 143-147.

BECKER M, KALINNA B, WAINE G, McMANUS D.

*Gene*, 1994, **148** : 321-325.

BEN-YEDIDIA T, ARNON R. Design of peptide and polypeptide vaccines.

*Curr Op Biotec*, 1997, **8** : 442-448.

BERGQUIST N. Controlling schistosomiasis by vaccination : a realistic option ?

*Parasit Today*, 1995, **11** : 191-194.

BERGQUIST N, HALL B, JAMES S. Schistosomiasis vaccine development.

*Immunologist*, 1994, **4** : 131-134.

BITTLE JL, HOUGHTEN RA, ALEXANDER H et *al.* Protection against foot-and-mouth disease by immunization with a chemically synthesized peptide predicted from the viral nucleotide sequence.

*Nature*, 1982, **298** : 30-33.

BOULANGER D, REID GDF, STURROCK RF, et *al.* Immunization of mice and baboons with the recombinant Sm28GST affects both worm viability and fecundity after experimental infections with *Schistosoma mansoni*.

*Parasite Immun*, 1991, **13** : 473-490.

BOUT D, DESLEE D, CAPRON A. Protection against schistosomiasis produced by cyclosporin A.

*Am J Trop Med Hyg*, 1984, **33** : 185-186.

BUTTERWORTH AE, VADAS MA, MARTZ E, SHER A. Cytolytic lymphocytes recognize alloantigens on schistosomula of *Schistosoma mansoni* but fail to induce damage.

*J Immunol*, 1986, **122** : 1314-21.

BUTTERWORTH AE. Control of schistosomiasis in man.

*Biol of Parasitism*, 1988 : 43-59.

CHENG L, ZIEGELHOFFER P, YANG N. In vivo promoter activity and transgene expression in mammalian somatic tissues evaluated by using particle bombardment.

*Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, **90** : 4455-9.

CHENSUE SW, WELLHAUSEN SR, BOROS DL. Modulation of granulomatous hypersensitivity. II. Participation of Ly1+ and Ly2+ T lymphocytes in the suppression of granuloma formation and lymphokine production in *Schistosoma mansoni* infected mice.

*J Immunol*, 1981, **127** : 3630-5.

CIOLI D. Chemotherapy of Schistosomiasis : an update.

*Parasitol Today*, 1998, **vol 14, n 10** : 418-421.

CLARK I, ROCKETT K. Nitric oxide and parasitic disease.

*Adv In Parasitol*, 1996, **37** : 1-56.

COX F. Designer vaccines for parasitic diseases.

*In J Parasitol*, 1997, **vol 27, n 10** : 1147-1157.

COX G, ZAMB T, BABIUK L. Bovine herpesvirus 1 : immune responses in mice and cattle injected with plasmid DNA.

*J Virol*, 1993, **67** : 5664-7.

DAMIAN R, ROBERTS M, POWELL J et al. Schistosoma mansoni egg granuloma size reduction in challenged baboons after vaccination with irradiated cryopreserved schistosomula.

*Proc Natl Acad Sci USA*, 1984, **81** : 3552.

DEBLOCK S, DURIEZ T. Helminthiases intestinales, hépatiques et urinaires, In : *Le moniteur de l'internat*, Infectiologie, 1995 : 406-415.

DESSEIN A, BEGLEY M, DEMEURE C et al. Human resistance to Schistosoma mansoni is associated with IgG reactivity to a 37 kDa larval surface antigen.

*J Immunol*, 1988, **140** : 2727-2736.

DOENHOFF MJ. A vaccine for schistosomiasis : alternative approaches.

*Parasitol today*, 1998 : 105-108.

DUNNE DW, BUTTERWORTH AE, FULFORD AJC et al. Immunity after treatment of human schistosomiasis : association between IgE antibodies to adult worm antigens and resistance to reinfection.

*Eur J Immunol*, 1992, **22** : 1483-1494.

DUNNE DW, HAGAN P, ABATH F. Prospects for immunological control of schistosomiasis.

*The Lancet*, 1995, **345** : 1488-1491.

EMINI EA, LARSON V, EICHBERG J et al. Protective effect of a synthetic peptide comprising the complete PreS2 region the Hepatitis B virus surface protein.

*J Med Viro*, 1989, **28** : 7-12.

FARAH I, NYINDO M. Schistosoma mansoni induces in the kenyan baboon a novel intestinal pathology that is manifestly modulated by an irradiated cercarial vaccine.  
*J Parasitol*, 1996, **82** : 601-607.

FERRU I, GEORGES B, BOSSUS M et al. Analysis of the immune response elicited by a Multiple Antigen Peptide (MAP) composed of two distinct protective antigens derived from the parasite Schistosoma mansoni.  
*Parasite Immunol*, 1997, **19** : 1-11.

GEERLIGS HJ, WEIJER W, WELLING G, WELLING W. The influence of different adjuvants on the immune response to a synthetic peptide comprising amino acid residues 9-21 of herpes simplex virus type 1 glycoprotein D.  
*J Immunol Methods*, 1989, **124** : 95-102.

GENETET B. Réponse immunitaire humorale, In : *Immunologie*, 1993 : 180-187.

GOUDOT-CROZEL V, CAILLOL D, DJABALI M, DESSEIN A. The major parasite surface antigen associated with human resistance to schistosomiasis is a 37 kDa glyceraldehyde-3P-deshydrogenase.  
*J Exp Med*, 1989, **170** : 2065-2080.

GREZEL D, CAPRON M, GRZYCH J, FONTAINE J, LECOCQ JP, CAPRON A. Protective immunity induced in rat schistosomiasis by a single dose of the Sm28GST recombinant antigen : effector mechanisms involving Ig E and Ig A antibodies.  
*Eur J Immun.* 1993, **23** : 454-460.

GRZYCH D, GREZEL D, XU C.B, et al. Ig A antibodies to a protective antigen in human Schistosomiasis mansoni.  
*J.Immun* 1993, **150** : 527-535.

HARN D, REYNOLDS S, CHIKUNGUWO S et al. Synthetic peptide vaccines for schistosomiasis, In : *Vaccine design : the subunit and adjuvant approach*.

Plenum Press, New York, 1995 : 891-903.

HARN D, REYNOLDS S, CHIKUNGUWO S et al. Sm23 DNA vaccine for *Schistosoma mansoni*.

*Vaccine*, 1997, **15**

HARTY JT, BEVAN MJ. CD8+ T cells specific for a single nonamer epitope of *Listeria monocytogenes* are protective in vivo.

*J Exp Med*, 1992, **175** : 1531-1538.

HAWN T, STRAND M. Developmentally regulated localization and phosphorylation of SmIrV1, a *Schistosoma mansoni* antigen with similarity to calnexin.

*J Biol Chem*, 1994, **269** : 20083-20089.

HILLYER G.

*Vet Parasitol*, 1984, **14** : 263-283.

HILLYER G.

*Am J Trop Med Hyg*, 1985, **34** : 1127-1131.

HOOKER C, YANG W, BECKER M et al. *Schistosoma japonicum* : heterogeneity in paramyosin genes.

*Acta Tropica*, 1995, **59** : 131-141.

ISHII A, SANO M. Isolation and identification of paramyosin from liver fluke muscle layer.

*Com Biochem Physiol* 1980, **65** : 537-541.

IVANOFF N, NIGEL P, SCHACHT A.M, HEYDARI C,CAPRON A, RIVEAU G. Mucosal vaccination against schistosomiasis using liposome-associated Sm 28 k Da glutathion S-transferase.

*Vaccine*, 1996, **vol.14, n 12** : 1123-1131.

JAMES S. Role of nitric oxide in parasitic infections.

*Microbiol Reviews*, 1995, **59** : 533-547.

JAMES S. Induction of protective immunity against *Schistosoma mansoni* by a nonliving vaccine is dependent on the method of antigen presentation.

*J Immunol*, 1985, **134** : 1956.

JAMES S, PEARCE E. The influence of adjuvant on induction of protective immunity by a nonliving vaccine against schistosomiasis.

*J Immunol*, 1988, **140** : 2753.

JANEWAY, TRAVERS. Manipulation de la réponse immunitaire, In : *Immunobiologie*, 1997 : 515-525.

JANEWAY, TRAVERS. Défense de l'hôte contre l'infection, In : *Immunobiologie*, 1997 : 395-396.

KALINNA B. DNA vaccines for parasitic infections.

*Immunol and Cell Biol*, 1997, **75** : 370-375.

KALYAN NK, LEE S, WILHELM J et al. Immunogenicity of recombinant influenza virus haemagglutinin carrying peptides from the envelope protein of human immunodeficiency virus type 1.

*Vaccine*, 1994, **12** : 753-760.

KANEDA Y, IWAI K, UCHIDA T. Increase expression of DNA co-introduction with nuclear protein in adult rat liver.

*Science*, 1989, **243** : 375-378.

MARTINON F, GRAS-MASSE H, BOUTILLON Ch et al. Immunization of mice with lipopeptides bypasses for adjuvant. Immune response in BALB/c mice to human immunodeficiency virus envelope glycoprotein.

*J Immunol*, 1992, **149** : 3416-3422.

MATHEW RC, BOROS DL. Anti L3T4 antibody treatment suppressed hepatic granuloma formation and abrogates antigen-induced interleukin 2 production in *Schistosoma mansoni* infection.

*Infect Immun*, 1986, **54** : 820-826.

MATHEW RC, RAGHED S, BOROS DL. Recombinant IL2 therapy reverses diminished granulomatous responsiveness in anti L3T4 treated, *Schistosoma mansoni*- infected mice.

*J Immunol*, 1990, **144** : 4356-4361.

MENDLOVIC F, ARNON R, TARRAB HR, PURI J. Genetic control of immune response to a purified *Schistosoma mansoni* antigen. Establishment and characterization of specific IgA and IgE restricted T-cell clones.

*Parasite Immunol*, 1989, **11** : 683-694.

MOSMANN T, COFFMAN R. Heterogeneity of cytokine secretion patterns and functions of helper t-cells.

*Adv in Immunol*, 1989, **46** : 111-147.

MOUNTFORD A, ANDERSON S, WILSON R. Induction of Th1 cell-mediated protective immunity in *Schistosoma mansoni* by co-administration of larva and IL-12 as an adjuvant.

*J Immunol*, 1996, **156** : 4739-4745.

MULLER-FAHROW A, EGNER U, JONES T, RUDEL H, SPENER F, SAENGER W.

*Eur J Biochem*, 1991, **199** : 271-276.

NARA T, MATSUMOTO N, JANECHARUT T et al. Demonstration of the target molecule of a protective IgE antibody in secretory glands of *Schistosoma japonicum* larvae.

*Intern Immunol*, 1994, **7** : 963-971.

NARA T, TANABE K, MAHAKUNKIJCHAROEN Y et al. The B cell epitope of paramyosin recognised by a protective monoclonal IgE antibody to *Schistosoma japonicum*.

*Vaccine*, 1997, **15** : 79-84.

NEWTON SM, JOYS TM, ANDERSON SA, KENNEDY R, HOVI M, STOCKER B. Expression and immunogenicity of an 18-residue epitope of HIV1 gp 41 inserted in the flagellar protein of a *Salmonella* live vaccine.

*Res Microbiol*, 1995, **146** : 203-216.

NIMAN H, HOUGHTEN R, WALKER L et al. Generation of protein-reactive antibodies by short peptides is an event of high frequency : implications for the structural basis of immune recognition.

*Proc Nat Acad Sci USA*, 1983, **80** : 4949-4953.

PANCRE V, GRAS-MASSE H, DELANOYE A, HERNO J, CAPRON A, AURIAULT C. Induction of cytotoxic T-cell activity by the protective antigen of *Schistosoma mansoni* Sm28GST or its derived C-terminal lipopeptide.

*Scand J Immunol*, 1996, **44** : 485-492.

PANCRE V, WOLOWCZUK I, GUERRET S et al. Protective effect of rSm28GST-specific T cells in schistosomiasis : role of gamma interferon.

*Inf Immun*, 1994, **62** : 3723-3730.

PANCRE V, WOLOWCZUK I, BOSSUS M et al. Evaluation of the effect of Sm28GST-derived peptides murine heptosplenic schistosomiasis : interest of the lipopeptidic form of the C-terminal peptide.

*Mol Immunol*, 1994, **31** : 1247-1255.

PEARCE E, JAMES S, DALTON J et al. Immunochemical characterisation and purification of Sm97 a *Schistosoma mansoni* antigen monospecifically recognised by antibodies from mice protectively immunised with a nonliving vaccine.

*J Immunol*, 1986, **137** : 3593-3600.

PEARCE E, JAMES S, HIENY S, LANAR D, SHERA. Induction of protective immunity against *Schistosoma mansoni* by vaccination with schistosome paramyosin (Sm97) a nonsurface parasite antigen.

*Proc Natl Acad Sci USA*, 1988, **85** : 5678-5682.

PERRETT S, WHITFIELD PJ. Currently available molluscicides.

*Parasitol Today*, 1996, vol **12**, n **4** : 156-157.

PERRIN PJ, PHILLIPS SM. The molecular basis of granuloma formation in schistosomiasis. I. A T cell-derived suppressor effector factor.

*J Immunol*, 1988, **141** : 1714-1719.

RAMIREZ B, KURTIS J, WIEST P et al. Paramyosin : a candidate vaccine antigen against *Schistosoma japonicum*.

*Parasitol Immunol*, 1996, **18** : 49-52.

RENAULD-MONGENIE G, MIELCAREK N, CORNETTE J et al. Induction of mucosal immune responses against a heterologous antigen fused to filamentous hemagglutinin after intranasal immunization with recombinant *Bordetella pertussis*.

*Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, **93** : 7944-7949.

RENGANATHAN E, CIOLI D. An international initiative on praziquantel use.

*Parasitol Today*, 1998, vol **14**, no **10** : 390-391.

REVILLARD. Immunologie des infections parasitaires, In : Immunologie, avec la collaboration de l'ASSIM, 1998 : 261-268.

REYNOLDS S, HARN D. Comparison of irradiated-cercaria schistosome vaccine models that use 15 and 50 Kda doses : the 15 kDa does gives greater protection, smaller liver sizes, and higher gamma interferon levels after challenge.

*Infect Immun*, 1992, 90-99.

REYNOLDS S, DAHL C, HARN D. T and B epitope determination and analysis of multiple antigenic peptides for the *Schistosoma mansoni* experimental vaccine triose-phosphate isomerase.

*J Immunol*, 1994 : 152-193.

RHODES G, DWARKI V, ABAI A et al. Injection of expression vector containing viral genes induces cellular, humoral and protective immunity.

*Vaccines*, 1993, **93** : 137-40.

ROITT M. Les bases de l'immunologie, In : ROITT M., *Immunologie*, 1990 : 24-29.

ROITT M. Immunité anti-infectieuse, In : ROITT M., *Immunologie*, 1990 : 164-182.

SADOFF J, BALLOU W, BARON L et al.

*Science*, 1988, **240** : 236-238.

SHI Y, JIANG C, HAN J, LI Y, RUPPEL A. *Schistosoma japonicum* : an ultraviolet-attenuated cercarial vaccine applicable in the field for water buffaloes.

*Exp Parasitol*, 1990, **71** : 100-106.

SHI Y, JIANG C, HAN J, LI Y, RUPPEL A. Immunization of pigs against infection with *Schistosoma japonicum* using ultraviolet-attenuated cercariae.

*Parasitol*, 1993, **106** : 459-462.

SCHILD H, DERES K, WIESMULLER KH, JUND G, RAMMENSEE HG. Efficiency of peptides and lipopeptides for in vivo priming of virus-specific cytotoxic T cells.

*Eur J Immunol*, 1991, **21** : 2649-2654.

SCHODEL F, MORIARTY A, PETERSON D *et al.*

*J Virol*, 1992, **66** : 106-114.

SHOENFELD Y, AMITAL H, FERRONE S, KENNEDY R. Anti-idiotypes and their application under autoimmune, neoplastic, and infectious conditions.

*Int Arch Allerg Immunol*, 1994, **105** : 211-223.

SHUXIAN L, GUANGCHEN S, YUXIAN X, YANG W, McMANUS D. Immunization of mice with recombinant Sjc26GST induces a pronounced anti-fecundity effect after experimental infection with chinese *Schistosoma japonicum*.

*Vaccine*, 1995, **13** : 603-607.

SOISSON L *et al.* Induction of protective immunity in mice using a 62 kDa recombinant fragment of a *Schistosoma mansoni* surface antigen.

*J Immunol*, 1992, **149** : 3612-3620.

SOISSON L, REID G, FARAH I, NYINDO M, STRAND M. Protective immunity in baboons vaccinated with a recombinant antigen or radiation-attenuated cercariae of *Schistosoma mansoni* is antibody-dependent.

*J Immunol*, 1993, **151** : 4782-4789.

SPITHILL TW, DALTON JP. Progress in development of liver fluke vaccines.

*Parasitol today*, 1996, **vol 14, n 6** : 224-228.

SUBAUSTE CS, KONIARIS AH, REMINGTON JS. Murine CD8+ cytotoxic T lymphocytes lyse *Toxoplasma gondii* infected cells.

*J Immunol*, 1991, **147** : 3955-3959.

SWAIN S. IL-4 dictates T cell differentiation.

*Res Immunol*, 1993, **144** : 616.

TALLA I et al. Outbreak of intestinal schistosomiasis in the Senegal river basin.

*Ann Soc Belge Med Trop*, 1990, **70** : 173-80.

TARRAB-HAZDAI R, LEVI-SCHAFFER F, BRENNER V, HOROWITZ S, ESHHAR Z, ARNON R. Protective monoclonal antibodies against *Schistosoma mansoni* antigen isolation, characterization and suitability for active immunization.

*J Immunol*, 1985, **135** : 2272-2279.

TAYLOR JB, VIDAL A, TORPIER G et al. The glutathione transferase activity and tissue distribution of a cloned Mr28K protective antigen of *Schistosoma mansoni*.

*Embo J*, 1988, **7** : 465-472.

TENDLER M, BRITO C, VILAR M et al. A *Schistosoma mansoni* fatty acid-binding protein, Sm14, is the potential basis of a dual-purpose anti-helminth vaccine.

*Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, **93** : 269-273.

THORNTON J, EDWARDS M, TAYLOR W et al.

*Embo J*, 1986, **5** : 409-413.

ULMER J, DONELLY J, PARKER S et al. Heterologous protection against influenza by injection of DNA encoding a viral protein.

*Science*, 1993, **259** : 1745-1749.

VELLA A, PEARCE E. CD 4+ Th2 response induced by *Schistosoma mansoni* eggs develops rapidly, through an early, transient, TH0-like stage.

*J Immunol*, 1992, **148** : 2283.

WADA I, RINDRESS D, CAMERON P et al.

*J Biol Chem*, 1991, **266** : 19599-19610.

WAINE G, BECKER M, KALINNA B et al. Molecular vaccines against schistosomiasis : current status and challenges ahead.

*Asia-Pacific J Mol Biol Biotech*, 1993, **1** : 26-35.

WAINE G, BECKER M, SCOTT J, KALINNA B, YANG W, McMANUS D. Purification of a recombinant *Schistosoma japonicum* antigen homologous to the 22 kDa membrane associated antigen of *S.mansoni*, a putative vaccine candidate against schistosomiasis.

*Gene*, 1994, **142** : 259-263.

WAINE G, BECKER M, YANG W, KALINNA B, McMANUS D. Cloning, molecular characterisation, and functional activity of *Schistosoma japonicum* glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, a putative vaccine candidate for schistosomiasis.

*Infect Immun*, 1993, **61** : 4716-4723.

WAINE G, McMANUS D. Schistosomiasis vaccine development - The current picture.

*Bioessays*, 1997, vol **19**, n **5** : 435-443.

WAINE G, YANG W, SCOTT J, McMANUS D, KALINNA B. DNA-based vaccination using *Schistosoma japonicum* (Asian bloodfluke) genes.

*Vaccine*, 1997, **15**.

WANG B, UGEN K, SRIKANTAN V et al. Gene inoculation generates immune responses against human immunodeficiency virus type 1.

*Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, **90** : 4156-60.

WILLIAMS M, CASPAR P, OSWALD I et al. Vaccination routes that fail to elicit protective immunity against *Schistosoma mansoni* induce the production of TGF $\beta$ , which down-regulates macrophage antiparasitic activity.

*J Immunol*, 1995, **154** : 4693-4700.

WILSON R, COULSON P, BETTS C, DOWLING M, SMYTHIES L. Impaired immunity and altered pulmonary responses in mice with a disrupted interferon- $\gamma$  receptor gene exposed to the irradiated *Schistosoma mansoni* vaccine.

*Immunol*, 1996, **87** : 275-282.

WOLFF J, MALONE R, WILLIAMS P et al. Direct gene transfer into mouse muscle in vivo.

*Science*, 1990, **247** : 1465-1468.

WHO : WORLD HEALTH ORGANISATION. WHO fact sheet on schistosomiasis. May 1996.

WRIGHT M, HENKLE K, MITCHELL G.

*J Immunol*, 1990, **144** : 3195-3200.

WYNN T, JANKOVIC D, HIENY S, CHEEVER A, SHER A. IL-12 enhances vaccine-induced immunity to *Schistosoma mansoni* in mice and decreases T helper 2 cytokine expression, IgE production, and tissue eosinophilia.

*J Immunol*, 1995, **154** : 4701-4709.

WYNN T, OSWALD I, ELTOUM I et al. Elevated expression of Th1 cytokines and nitric oxide synthetase in the lungs of vaccinated mice after challenge infection with *Schistosoma mansoni*.

*J Immunol*, 1994 : 5200-5207.

WYNN T, REYNOLDS A, JAMES S et al. IL 12 enhances vaccine-induced immunity to schistosomes by augmenting both humoral and cell-mediated immune responses against the parasite.

*J Immunol*, 1996, **157** : 4068-4078.

YANG W, WAINE G, McMANUS D. Antibodies to *Schistosoma japonicum* (Asian bloodfuke) paramyosin induced by nucleic acid vaccination.  
*Biochem Biophys Commun*, 1995, vol **212**, n **3** : 1029-1039.

YEWDELL J, BENNICK J. Cell biology of antigen processing and presentation to MHC class I molecule-restricted T lymphocytes.  
*Adv Immunol*, 1992, **52** : 1-9.

YOLE D, REID G, WILSON R. Protection against *Schistosoma mansoni* and associated immune responses induced in the vervet monkey *Cercopithecus aethiops* by the irradiated cercaria vaccine.  
*Am J Trop Med Hyg*, 1996, **54** : 265-270.

ZHU N, LIGGITT D, LIU Y, DEBS R. Systemic gene expression after intravenous DNA delivery into adult mice.  
*Science*, 1993, **261** : 209-11.



# Serment des Apothicairez



Je jure, en présence des maîtres de la faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ; en aucun cas je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

## Résumé

Les maladies parasitaires représentent à l'échelle mondiale un problème préoccupant de santé publique et d'entrave au développement des pays du tiers monde.

L'approche vaccinale des maladies parasitaires a mis beaucoup de temps à prendre corps pour de multiples raisons. D'une part, les connaissances en immunologie parasitaire ont été longtemps en retard et d'autre part la multiplication de certains parasites *in vitro* est encore impossible.

La bilharziose ou schistosomiase est une des maladies parasitaires les plus répandues. Elle est endémique dans 75 pays tropicaux et atteint au moins 200 millions d'individus par an. Elle est responsable d'environ 80 000 décès chaque année.

Il n'existe à l'heure actuelle, aucun moyen chimioprophylactique et la chimiothérapie disponible ne prévient pas la réinfestation. La résistance à la chimiothérapie implique d'autres recherches de lutte contre cette parasitose. Le développement d'un vaccin efficace contre cette affection présente donc un intérêt primordial.

Ainsi des progrès importants ont été faits ces dernières années et la possibilité de développer un vaccin pour l'homme peut maintenant être considérée comme sérieuse.