

14

Vers de nouveaux vaccins contre *Mycobacterium tuberculosis*

En France, l'utilisation de traitements antibiotiques a fait chuter l'incidence de la tuberculose d'un facteur 10 (environ 100 000 cas en 1939 avec une mortalité de 50 %, environ 9 000 cas en 1994). Des chiffres équivalents ont été observés dans tous les pays industrialisés. Cependant, un tiers de la population mondiale est aujourd'hui infectée et donc à risque de tuberculose. Dans les pays en développement, l'incidence n'a pratiquement pas varié, elle est même en augmentation depuis une dizaine d'années (Kochi, 1991). C'est dans ces pays que l'on dénombre la grande majorité des tuberculeux (95 %) et des sujets atteints de SIDA. Chez une personne infectée par le VIH, le risque de développer une tuberculose après infection est de 10 % par an au lieu de 10 % au cours de la vie pour les personnes immunocompétentes. Les pays en développement ont un accès limité aux traitements antituberculeux, ce qui a pour conséquence une augmentation des tuberculoses chroniques résistantes aux antibiotiques qui peuvent être transmises dans toutes les régions du monde suivant les migrations de populations ou les voyages individuels. A titre d'exemple, la souche multirésistante appelée W et responsable d'une épidémie qui a causé la mort de 150 personnes aux États-Unis, a été retrouvée à Paris, véhiculée par un malade venu de New York (Bifani et coll., 1996). Seul un vaccin efficace pourra donc éliminer la tuberculose. Le bacille de Calmette et Guérin, vaccin vivant atténué aujourd'hui disponible, n'a qu'une efficacité limitée.

Actuellement, plusieurs voies de recherche sont poursuivies. Elles bénéficient de l'effort mené au cours des dix dernières années pour mettre au point les outils génétiques permettant d'isoler et de transférer du matériel génétique (gènes et groupes de gènes), ainsi que la possibilité de l'inactiver. Les progrès technologiques permettent également le décryptage complet des génomes par séquençage systématique. C'est ce qui est en cours pour le génome du bacille de la tuberculose. La connaissance de ce génome et la disponibilité de technolo-

gies génétiques pour isoler, transférer ou inactiver des gènes devrait permettre de construire de nouveaux vaccins.

Aucune variation antigénique n'a été décrite pour les bacilles de la tuberculose. Cette situation encourage la recherche d'antigènes protecteurs et de nouvelles souches atténuées à potentiel vaccinal.

Approche « vaccins vivants »

Des expériences de complémentation génétique menées sur le génome des souches virulentes de bacilles de la tuberculose et sur celui des souches vaccinales devrait permettre d'isoler des molécules possédant un effet protecteur, non produites par les souches vaccinales de BCG. Les gènes responsables de la synthèse de ces composés pourraient alors être introduits dans le génome du BCG.

L'analyse de différentes régions génétiques du bacille tuberculeux a fait apparaître des séquences responsables de la synthèse de composés essentiels. (Young et coll., 1992 ; Thèse de Wolfgang, 1995). Des séquences ressemblant à des gènes de virulence d'autres microorganismes ont aussi été identifiées. Ces régions peuvent être inactivées soit par introduction de mutations au hasard suivi d'un repérage de leur localisation, soit par mutagenèse dirigée à l'aide d'échanges alléliques. Dans ce dernier cas, on construit in vitro un gène inactif que l'on introduit dans le génome à la place du gène fonctionnel, créant ainsi une mutation à la demande. Ces expériences sont depuis peu réalisables (Reyrat et coll., 1995). En inactivant ainsi différents gènes importants pour la survie du bacille de la tuberculose chez son hôte, on devrait pouvoir construire de nouvelles souches dépourvues de virulence et qui pourraient avoir gardé un pouvoir protecteur. Il est cependant probable qu'un certain nombre de gènes de virulence ne pourront pas être détectés par similarités de séquences avec d'autres gènes connus. Une autre approche sera donc entreprise pour inactiver ces gènes dans le but de construire des souches atténuées ; il s'agira d'utiliser des éléments génétiques mobiles capables de s'insérer au hasard dans le génome. La conséquence d'une telle insertion à l'intérieur d'un gène est son inactivation. Le principe de ces expériences est schématisé sur la figure 14.1. Des collections de mutants de *Mycobacterium tuberculosis* obtenus ainsi par insertion sont en cours de construction (Guilhot et coll., 1994). Il s'agira ensuite de caractériser les mutants ayant perdu leur virulence mais gardé la capacité à induire une protection contre une infection par une souche virulente.

Approche « vaccins sous-unités »

Cette approche consiste à isoler à partir des bacilles tuberculeux des molécules à propriétés vaccinales, qui sont actuellement recherchées parmi les produits

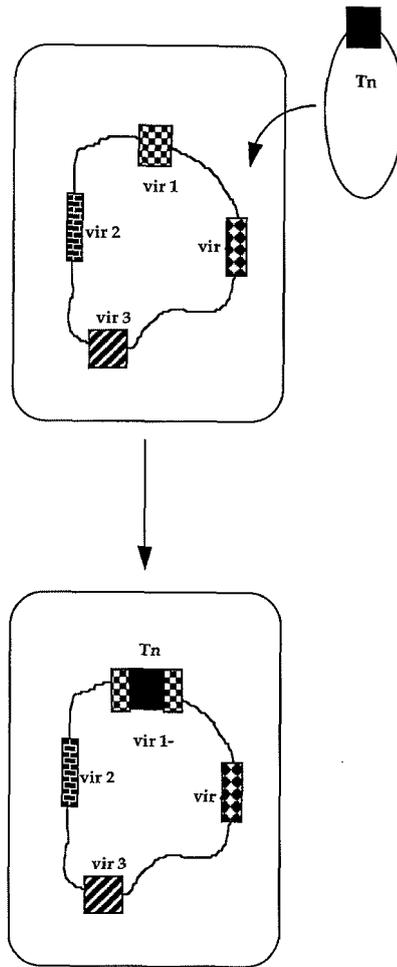


Figure 14-1 – Construction de souches de *Mycobacterium tuberculosis* atténuées : inactivation des gènes de virulence par transposition. vir : gène de virulence; Tn : transposon.

sécrétés par les bacilles. L'approche biochimique consistant à purifier des composants à partir de culture de bacilles ne permet d'avoir accès qu'à des molécules synthétisées dans ces conditions. Le fait que des filtrats de cultures de bacilles tuberculeux ont un effet protecteur chez la souris encourage cette approche (Andersen, 1994). Des méthodes génétiques permettant de caractériser des gènes codant pour des produits exportés ont été développées. Plusieurs molécules ont déjà été isolées (Lim et coll., 1995) et sont en cours de caractérisation.

Il existe des variations importantes dans les réponses immunitaires humorales et cellulaires des patients tuberculeux vis-à-vis des différents composants du

bacille tuberculeux. Cela rend difficilement envisageable une approche où un antigène unique, protecteur chez l'animal, serait utilisé pour la construction de vaccins sous-unitaires (Averill et coll., 1993). L'approche « vaccins sous-unités » nécessitera donc la combinaison de plusieurs molécules. Cette approche est encouragée par les industries produisant des vaccins, en raison du risque d'infection que comportent les vaccins vivants chez les personnes immunodéprimées.

Les vaccins vivants ont cependant des avantages certains, puisqu'ils induisent des réponses immunitaires aussi bien humorales que cellulaires. De plus, une immunité protectrice peut être induite après une seule inoculation à la naissance, comme dans le cas du BCG. Enfin, ils peuvent être administrés par voie orale, ce qui permet d'induire une immunité mucoale et de supprimer l'usage des seringues (Lagranderie et coll., 1993).

Approche « ADN nu »

Des expériences récentes ont mis en évidence que l'injection par voie intramusculaire d'un plasmide codant pour une protéine mycobactérienne (protéine de choc thermique *hsp65*, protéine Ag85 ou antigène de 36 kDa riche en proline) pouvait induire chez la souris une immunité spécifique cellulaire et humorale de longue durée, l'animal devenant par la suite immunisé contre le bacille de la tuberculose ou contre le BCG (Tascon et coll., 1996 ; Huygen et coll., 1996). Même si la technique de l'ADN nu offre de nombreux avantages par rapport aux procédés habituels de fabrication des vaccins, il demeure néanmoins un problème non résolu aujourd'hui, celui de l'intégration possible de l'ADN bactérien dans le génome des cellules de l'hôte.

BIBLIOGRAPHIE

- ANDERSEN P. Effective vaccination against *Mycobacterium tuberculosis* infection with a soluble mixture of secreted mycobacterial proteins. *Infect Immun* 1994, **62** : 2536-2544.
- AVERILL LE, CAVALLO U, WALLIS RS, BOOM WH, BONA M, MINCEK M, PASCOPELLA L, JACOBS WR Jr, ELLNER JJ. Screening of a cosmid library of *Mycobacterium bovis* BCG in *Mycobacterium smegmatis* for novel T-cell stimulatory antigens. *Res Microbiol* 1993, **144** : 349-362.
- BIFANI PJ, PLIKAYTIS BB, KAPUR V, STOCKBAUER K, PAN X, LUTFEY ML, MOGHAZEH SL, EISNER W, DANIEL TM, KAPLAN MH, CRAWFORD JT, MUSSER JM, KREISWITH BN. Origins and Interstate Spread of a New York City Multidrug-Resistant *Mycobacterium tuberculosis* Clone Family. *JAMA* 1996, **6** : 452-457.

- CLEMENS JD, CHUONG JJH, FEINSTEIN AR. The BCG Controversy. A Methodological and Statistical Reappraisal. *JAMA*, 17 : 2362-2369.
- European commission cost/STD initiative. Vaccines against tuberculosis. *Vaccine* 1996, 14 : 701-716
- GUILHOT C, OTAL I, VAN ROMPAEY I, MARTIN C., GICQUEL B. Efficient transposition in *Mycobacteria* : construction of a *Mycobacterium smegmatis* insertional mutant library. *J Bacteriol* 1994, 176 : 535-539.
- HUYGEN K, CONTENT J, DENIS O, MONTGOMERY DL, YAWMAN AM, DECK RR, DEWITT CM, ORME IM, BALDWIN S, D'SOUZA C, DROWART A, LOZES E, VANDENBUSSCHE P, VAN VOOREN JP, LIU MA, ULMER JB. Immunogenicity and protective efficacy of a tuberculosis DNA vaccine. *Nat Med* 1996, 2 : 893-898
- KOCHI A. The global tuberculosis situation and the new control strategy of the World Health Organization. *Tubercle* 1991, 72 : 1-6.
- LAGRANDERIE M, MURRAY A, GICQUEL B, LECLERC C, GHEORGHIU M. Oral immunization with recombinant BCG induces cellular and humoral immune responses against the foreign antigen. *Vaccine* 1993, 11 : 1283-1290.
- LIM EM, RAUZIER J, TIMM J, TORREA G, MURRAY A., GICQUEL B., PORTNOI D. Identification of *Mycobacterium tuberculosis* DNA sequences encoding exported proteins, using *phoA* gene fusions. *J Bacteriol* 1995, 177 : 59-65.
- LOWRIE DB, TASCONE RE, COLSTON MJ, SILVA CL. Towards a DNA vaccine against tuberculosis. *Vaccine* 1994, 12 : 1537-1540
- MALIN AS. Designing a vaccine for tuberculosis. *Br Med J* 1994, 312 : 1495
- REYRAT JM, BERTHET FX, GICQUEL B. The Urease locus of *Mycobacterium tuberculosis* and its utilization for the demonstration of allelic exchange in *Mycobacterium bovis* BCG. *Proc Natl Acad Sci* 1995, 92 : 8768-8772.
- TASCONE RE, COLSTON MJ, RAGNO S, STAVROPOULOS E, GREGORY D, LOWRIE DB. Vaccination against tuberculosis by DNA injection. *Nat Med* 1996, 2 : 888-892
- Thèse de doctorat de l'Université Paris VII présentée par Wolfgang Philipp : « Organisation génomique de *Mycobacterium tuberculosis* et de *Mycobacterium bovis* BCG » le 15.12.1995.
- YOUNG DB, KAUFMANN SH, HERMANS PW, THOLE JE. Mycobacterial protein antigens : a compilation. *Molec Microbiol* 1992, 6 : 133-145.