
Vaccins antiparasitaires

Il n'existe actuellement aucun vaccin efficace dans le domaine de la parasitologie humaine. Cette situation s'explique en premier lieu par la difficulté d'atteindre un parasite au sein de son hôte. Elle est due d'autre part à l'hésitation des industries pharmaceutiques à investir dans des projets de coûts très élevés en recherche et développement par rapport aux retombées économiques prévisibles. Le paludisme et la schistosomiase (bilharziose) sont les infections parasitaires majoritairement pénalisantes pour la santé publique de nombreux pays en développement. Dans les deux cas certaines données théoriques et pratiques indiquent qu'une prévention vaccinale tout au moins partielle devrait être possible, mais aucun essai n'a encore été concluant. En effet, outre l'identification du ou des antigènes vaccinaux, l'élaboration d'un vaccin destiné aux régions tropicales endémiques doit intégrer les conditions particulières rencontrées sur le terrain.

Paludisme

Le paludisme reste sans conteste l'une des causes majeures de morbidité et de mortalité dans les pays tropicaux. Un rapport récent de l'OMS fait état de 300 à 500 millions de cas par an et de 1,5 millions de morts, dont 90 % interviennent chez des enfants de moins de cinq ans. Les femmes enceintes aussi sont particulièrement susceptibles. On estime que 90 pays sont menacés soit 40 % de la population mondiale. Par ailleurs, le paludisme pose un problème croissant pour les voyageurs ayant circulé en zone d'endémie (Legros et coll., 1998).

Le développement d'un vaccin antipaludéen efficace représenterait un apport décisif à la liste des divers outils susceptibles de contrôler le paludisme. La culture *in vitro* de *Plasmodium falciparum*, responsable de la majorité des infections et des décès, a été réalisée avec succès il y a plus de vingt ans, suscitant beaucoup d'espairs, mais les nombreuses tentatives de mise au point d'un vaccin n'ont pas été couronnées de succès.

Cibles vaccinales

La principale difficulté dans le choix de cibles vaccinales potentielles est la complexité du cycle parasitaire au sein de l'hôte. Les différents stades du cycle ont chacun des caractéristiques antigéniques propres, ce qui implique que les réponses immunitaires induites doivent être adaptées à chacun des stades et

exercer leur action dans des limites étroites de temps. Actuellement, trois des formes adoptées par le parasite au cours de son développement chez l'homme sont ciblées dans la recherche de vaccins : le stade sporozoïde ou préérythrocyte qui est la forme injectée dans la circulation sanguine de l'hôte durant le repas de l'anophèle femelle, le stade érythrocytaire qui précède le stade hépatique où le parasite n'est plus accessible, et le stade gamétoocyte qui est la forme sexuée prélevée par le moustique lors du repas sanguin. A chacun de ces stades correspondent des limitations et il est envisagé d'associer les trois voies d'attaque dans une même préparation vaccinale.

Les sporozoïdes envahissent le tissu hépatique dans l'heure qui suit leur inoculation. A ce stade dit préérythrocytaire, un vaccin efficace devrait prévenir l'invasion des hépatocytes, et éviter le développement et/ou la libération des mérozoïdes. La courte durée de cette étape contrarie l'efficacité des défenses immunitaires préétablies et interdit aux antigènes parasitaires de susciter un effet de rappel. Néanmoins des résultats cliniques récents, bien que réalisés à très petite échelle, indiquent qu'il est possible de contrer le développement du parasite à ce stade par l'induction d'une réponse humorale (Nusensweig et Zavala, 1997 ; Stoute et coll. 1997, 1998).

Un vaccin prévenant le stade érythrocytaire asexué permettrait de réduire fortement la morbidité et la mortalité car il réduirait drastiquement la charge parasitaire (Pye et coll., 1997). A ce stade, l'érythrocyte infecté avant sa rupture ou le mérozoïde lui-même relarguent un certain nombre de médiateurs qui aggravent grandement l'état pathologique de l'hôte et pourraient être retenus également comme cibles vaccinales. Le vaccin devrait induire des anticorps neutralisant ces produits pour inhiber la cyto-adhérence des érythrocytes infectés et éviter leur implantation dans les tissus cérébraux par exemple (Kain et coll., 1993 ; Jakobsen et coll., 1993).

Le dernier stade cible est le stade sexué. Ce stade commence lorsque les mérozoïdes, aploïdes au sein de l'érythrocyte, se différencient en gamétoocytes mâles et femelles. Un vaccin dirigé contre ce stade ne préviendrait pas la maladie à titre individuel, mais réduirait considérablement la transmission du paludisme en limitant la contamination du moustique par le parasite (Duffy et Kaslow, 1997).

Les recherches actuelles s'orientent vers la conception d'un vaccin multivalent contenant des antigènes protecteurs spécifiques des différents stades et capable d'induire une réponse immunitaire qui intéresse à la fois les compartiments humoral et cellulaire (Wang et coll., 1996).

Vaccins en cours de développement

Depuis ces quinze dernières années, la majorité des recherches d'un vaccin antipaludéen se sont focalisées sur l'administration en formulations traditionnelles de structures antigéniques naturelles ou obtenues par synthèse peptidique.

Il est difficile de faire une liste exhaustive des antigènes disponibles. Plus de 16 essais cliniques allant de la phase I à la phase III sont en cours actuellement ou ont eu lieu depuis 1995 (Engers et coll., 1998). L'exemple majeur est le vaccin peptidique multivalent, le SPf66 dirigé à la fois vers le stade préérythrocytaire et le stade sexué de *P. falciparum*. Développé tout d'abord en Colombie, ce vaccin a conféré une protection partielle chez le singe puis chez l'homme (Patarroyo et coll., 1987). Néanmoins, les études ultérieures, effectuées en Gambie et en Thaïlande (Nosten et coll., 1996) n'ont pas confirmé l'efficacité de ce vaccin. Il faut cependant préciser que cette préparation synthétique n'a pu bénéficier que du seul adjuvant utilisable actuellement chez l'homme, l'« alum » (sel d'aluminium), qui privilégie la seule réponse humorale.

Indépendamment de la valeur de l'antigène lui-même, il n'est plus contesté aujourd'hui que seule une réponse immunitaire humorale et cellulaire peut être capable de contrer le développement de la maladie. Ce principe est actuellement exploité dans la recherche d'un vaccin multistade induisant une réponse immune composite. Il est évident que le nombre de candidats antigènes disponibles contre le paludisme est légion (de 4 à 7 par stade) et que le facteur limitant vers une application efficace se révèle aujourd'hui la stratégie vaccinale elle-même. Le courant s'oriente aujourd'hui dans deux directions : l'utilisation de nouvelles formes adjuvantes administrables chez l'homme et le développement de technologies de vaccination innovantes telles les préparations d'ADN (Doolan et Hoffman, 1997 ; Engers et Godal, 1998). L'application d'une telle vaccination reste encore hypothétique mais son concept intègre toutes les composantes qui devraient permettre le succès d'un vaccin contre le paludisme.

Schistosomiase

Deuxième endémie parasitaire mondiale après le paludisme, la schistosomiase (ou bilharziose) affecte 300 millions de sujets, et 800 millions sont exposés au risque d'infection. Il est estimé que 10 % des malades souffrent de formes graves et 200 000 personnes en meurent chaque année. Les schistosomiasés continuent donc de représenter à la fin du XX^e siècle un problème de santé publique majeur dans 74 pays en développement. En dépit de progrès certains réalisés dans le domaine de la chimiothérapie et l'existence de molécules actives comme le praziquantel, l'extension de l'endémie connaît actuellement un développement considérable, notamment en Afrique de l'Ouest. Il est clairement établi que le traitement des populations n'affecte pas la réinfection et le niveau initial de prévalence est à nouveau atteint 8 à 12 mois après un traitement de masse. De plus, des observations récentes ont révélé l'existence probable de souches de parasites peu sensibles à la chimiothérapie.

Cibles vaccinales

Schistosoma mansoni et *Schistosoma haematobium* sont respectivement responsables des bilharzioses intestinale et urinaire. Les deux espèces traversent trois stades lors de leur passage chez l'homme : larves appelées cercaires, vers adultes mâles ou femelles et œufs.

Les cercaires pénètrent la peau lors du contact avec des eaux douces contaminées, puis les parasites sous forme de vers se positionnent dans la circulation sanguine soit au niveau des veines mésentériques et de la veine porte (*S. mansoni*), soit au niveau du plexus vésical (*S. haematobium*). Chaque couple de *S. mansoni* peut pondre 200-300 œufs par jour, et de *S. haematobium* 400-600 œufs. Une partie de ces œufs se retrouve emprisonnée dans la microcirculation des tissus environnants où ils induisent la formation de granulomes. Dans l'infection à *S. mansoni* les manifestations pathologiques graves sont une hépatomégalie et une splénomégalie avec formation de circulation collatérale, d'ascite et de varices œsophagiennes à forte probabilité hémorragique. Dans l'infection à *S. haematobium* il y a formation de lésions vésicales hémorragiques au niveau des reins et des canaux uro-génitaux avec risque de cancérisation. Lors de cas extrêmes, des granulomes peuvent être retrouvés dans les poumons, les organes génitaux, et même le cerveau.

Le stade cercaire représente une cible vaccinale, mais la mise en place d'une immunité efficace au niveau cutané serait alors indispensable. L'établissement de cette immunité spécifique est actuellement l'une des applications de la vaccination génique expérimentale antischistosome (Dupré et coll., 1997). Il ne semble pas raisonnable de tenter d'immuniser contre les vers car ils mettent en œuvre de nombreux mécanismes d'échappement à une réponse immune (Riveau et Capron, 1997). En revanche l'extrême fertilité du parasite incite à prendre l'œuf pour cible. En effet, c'est la répétition des expositions à l'infection et l'accumulation anormale des œufs dans les tissus de l'hôte définitif qui engendrent la morbidité et la mortalité liées aux bilharzioses.

Stratégies vaccinales envisagées

Les individus vivant en zones endémiques sont touchés dès le plus jeune âge interdisant pour le moment le succès d'une prévention vaccinale. Les travaux s'orientent donc vers un vaccin thérapeutique qui permette de limiter le nombre et la fécondité des vers arrivant à maturité et de diminuer la viabilité des œufs émis. Cette stratégie vaccinale repose sur trois principes :

- administration à des populations déjà touchées par l'infection et ciblage du vaccin thérapeutique sur des structures choisies du parasite ;
- choix d'un protocole d'immunisation induisant une réponse immunitaire susceptible d'éviter l'apparition des formes pathologiques dans les cas d'infection chronique et de diminuer la pathologie dans les formes graves ;
- association à la chimiothérapie habituelle, les deux composantes thérapeutiques agissant synergiquement.

Vaccins potentiels

Les premières étapes de l'élaboration d'un vaccin ont permis d'identifier les mécanismes effecteurs de l'immunité responsables de la protection contre l'infection ou la réinfection par *S. mansoni* (Capron et coll., 1987 ; Capron et Capron 1990). Le rôle essentiel des anticorps IgE et IgA vis-à-vis de molécules définies, démontré *in vitro* et *in vivo* dans les modèles animaux, a été confirmé dans une série de travaux immuno-épidémiologiques sur les populations humaines, en Zambie, au Kenya, au Zimbabwe, au Brésil et plus récemment au Sénégal et au Niger. L'antigène cible de cette réponse effectrice est une enzyme de 28 kDa, la glutathion S-transférase, appelée 28 GST (Balloul et coll., 1987), qui a été obtenue par clonage moléculaire.

La 28 GST est devenue le principal candidat vaccin, reconnu par la CEE et l'OMS. Les expériences de vaccination réalisées dans divers modèles animaux (rongeurs, primates) ont permis d'obtenir une protection partielle contre l'infection (réduction de 40 % à 70 % de la masse parasitaire), une inhibition très marquée (jusqu'à 80 %) de la fécondité des vers femelles et une diminution de la viabilité des œufs (Boulanger et coll., 1991 ; Xu et coll., 1991). L'inhibition de la fécondité est en étroite relation avec l'inhibition de l'activité enzymatique de la GST du parasite par les anticorps spécifiques induits (Xu et coll., 1991 et 1993). Il est raisonnable de penser que les anticorps sériques de type IgA spécifiques de ces régions sont particulièrement efficaces chez l'homme comme dans les modèles animaux (Grezel et coll., 1993 ; Grzych et coll., 1993).

Ces observations ont conduit à utiliser une stratégie analogue pour s'attaquer aux diverses espèces des schistosomes *S. mansoni*, *S. haematobium*, et *S. japonicum* (Trottein et coll., 1992). Dans ces différents modèles, la vaccination par les 28 GSTs a permis d'obtenir une forte inhibition de ponte et de viabilité des œufs pouvant atteindre 75 % à 85 % chez les primates (Boulanger et coll., 1995). Le modèle *S. haematobium* est particulièrement intéressant. Tout d'abord parce que les critères d'évaluation de l'évolution pathologique de la bilharziose urinaire sont basés sur des méthodes simples et non invasives, ainsi les effets d'une réponse immunitaire efficace sont plus rapidement identifiables que dans la bilharziose intestinale. Ensuite parce qu'il est connu que les domaines cruciaux pour l'activité enzymatique de la famille de protéines 28 GST sont hautement conservés. Il a d'ailleurs pu être montré dans les expériences précédentes que la fécondité de plusieurs schistosomes humains hétérologues y compris *S. mansoni* était inhibée après immunisation par le seul antigène de *S. haematobium* (Sh28GST). Cette voie de recherche pourrait permettre la mise au point d'un vaccin bivalent.

Stratégies vaccinales envisageables

La population cible pour une vaccination systématique contre les deux schistosomiasés devrait être les enfants atteints par la maladie. En effet l'enfant

entre 6 et 15 ans représente l'individu le plus exposé à l'infection ainsi que le moins apte à générer une immunité protectrice naturelle. La vaccination devrait induire le développement rapide d'une immunité capable de stériliser le parasite protégeant ainsi l'individu contre les pathologies liées aux réinfections multiples. Des observations récentes confirment le bien-fondé potentiel d'une association chimiothérapie et vaccination thérapeutique. Une synergie évidente d'actions entre le praziquantel et l'immunisation avec les 28 GST a été démontrée car une réduction de la viabilité de la population vermineuse a été accompagnée d'une abolition quasi totale de la production d'œufs. La drogue agit directement sur le vers adulte en dérégulant l'influx calcique, produisant un remaniement de la structure du tégument parasitaire. Ce remaniement favorise l'expression à la surface des vers de certaines protéines comme les 28 GSTs favorisant l'action des anticorps induits par la vaccination.

Cette approche, associant chimiothérapie et vaccinothérapie, représente un pas majeur dans l'élaboration de nouveaux outils curatifs contre les parasitoses en général et contre la bilharziose en particulier. La possibilité de combattre en tout premier lieu la forme parasitaire responsable des effets pathogènes plutôt que l'agent infectieux lui-même permet d'envisager des retombées bénéfiques rapides en termes de santé publique.

De nouvelles stratégies de vaccination impliquant voies muqueuse ou systémique et qui présentent de nombreux avantages opérationnels pour le terrain sont en cours de développement ou d'évaluation clinique (Riveau et Capron, 1997).

Essais cliniques des candidats vaccins

Une entente entre divers organismes internationaux a permis d'organiser un plan d'action unique en son genre pour la recherche de vaccins contre les schistosomiasés. En effet, l'USAID (United States agency for international development)/NIH (National institute of health) en Egypte se consacre au développement de formulations vaccinales anti-*mansoni*, la CEE apporte son aide au développement d'un vaccin anti-*heamatobium* et l'OMS engage une action en Asie contre *japonicum*, la coordination du réseau étant assurée par l'OMS (Michell, 1989). En ce qui concerne *S. haematobium* des essais cliniques de phase I, utilisant la 28 GST comme antigène, sont en cours et seront suivis de phases II effectuées dès 1999 au Sénégal et au Niger (Capron, 1998). Les sujets seront des enfants infectés qui recevront simultanément une chimiothérapie antihelminthique. En Chine, l'OMS renforce son soutien au développement de la 28 GST de *japonicum* et des essais cliniques sont programmés avant 2000. En Egypte, la collaboration américano-égyptienne favorise aujourd'hui plusieurs antigènes potentiels incluant la paramyosine (Pearce et coll., 1988) ainsi qu'un térapeptide appelé MAP4 dérivé de la triose-phosphate isomérase de *mansoni* (Reynolds et coll., 1994).

En conclusion, la prise de conscience du problème de santé publique représenté par les maladies parasitaires a dépassé le stade du constat, et une politique d'actions prises en charge par les structures internationales se met en place. Malgré les nombreuses difficultés restant à surmonter, tous les plans de lutte contre les parasitoses placent dorénavant le vaccin parmi les moyens à promouvoir. Pour s'intégrer dans les traitements de masse, ces vaccins antiparasitaires devront idéalement être peu coûteux, ne pas nécessiter une chaîne de froid stricte et s'administrer sans utilisation d'aiguille et en prise unique. C'est pourquoi la mise en pratique de nouvelles méthodologies vaccinales sera, paradoxalement mais vraisemblablement, inaugurée par ces vaccins, considérés de seconde nécessité par les pays occidentaux.

Gilles Riveau

Directeur de Recherches au CNRS
INSERM unité 167, Institut Pasteur, Lille

BIBLIOGRAPHIE

- BALLOUL JM, SONDERMEYER P, DREYER D, CAPRON M, GRZYCH JM et coll. Molecular cloning of a protective antigen of schistosomes. *Nature* 1987, **326** : 149-153
- BOULANGER D, REID GD, STURROCK RE, WOLOWCZUK I, BALLOUL JM et coll. Immunization of mice and baboons with the recombinant Sm28GST affects both worm viability and fecundity after experimental infection with *Schistosoma mansoni*. *Parasite Immunol* 1991, **13** : 473-490
- BOULANGER D, WARTER A, TROTTEIN F, MAUNY F, BREMOND P et coll. Vaccination of patas monkeys experimentally infected with *Schistosoma haematobium* using a recombinant glutathione S-transferase cloned from *S. mansoni*. *Parasite Immunol* 1995, **17** : 361-369
- CAPRON A, DESSAINT JP, CAPRON M, OUMA JH, BUTTERWORTH AE. Immunity to schistosomes : progress toward vaccine. *Science* 1987, **238** : 1065-1072
- CAPRON M, CAPRON A. Immunoglobulin E and effector cells in schistosomiasis. *Science* 1990, **264** : 1876-1877
- CAPRON A. Schistosomiasis : Forty years' war on the worm. *Parasitol Today* 1998, **14** : 379-384
- DOOLAN DL, HOFFMAN SL. Multigene vaccination against malaria : a multistage, multi-immune response approach. *Parasitol Today* 1997, **13** : 171-178
- DUFFY PE, KASLOW DC. A novel malaria protein, Pfs28, and Pfs25 are genetically linked and synergistic as falciparum malaria transmission-blocking vaccines. *Infect Immun* 1997, **65** : 1109-1113
- DUPRE L, POULAIN-GODEFROY O, BAN E, IVANOFF N, MEKRANFAR M et coll. Intradermal immunization of rats with plasmid DNA encoding *Schistosoma mansoni* 28 kDa glutathione S-transferase. *Parasite Immunol* 1997, **19** : 505-513

ENGERS HD, GODAL T. Malaria vaccine development : current status. *Parasitol Today* 1998, **14** : 56-64

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

GRZYCH JM, GREZEL D, XU CB, NEYRINCK JL, CAPRON M et coll. IgA antibodies to a protective antigen in human *Schistosomiasis mansoni*. *J Immunol* 1993, **150** : 527-535

JAKOBSEN PH, HVIID L, THEANDER TG, AFARE EA, RIDLEY RG et coll. Specific T-cell recognition of the merozoite proteins rhoptry-associated protein 1 and erythrocyte-binding antigen 1 of *Plasmodium falciparum*. *Infect Immun* 1993, **61** : 268-273

KAIN KC, ORLANDI PA, HAYNES JD, SIM KL, LANAR DE. Evidence for two-stage binding by the 175-kD erythrocyte binding antigen of *Plasmodium falciparum*. *J Exp Med* 1993, **178** : 1497-1505

MICHELL GF. Glutathione S-transferases : potential components of anti-schistosome vaccines ? *Parasitol Today* 1989, **5** : 34-37

NOSTEN F, LUXEMBURGER C, KYLE DE, BALLOU WR, WITTES J et coll. Randomised double-blind placebo-controlled trial of SPf66 malaria vaccine in children in north-western Thailand. Shoklo SPf66 Malaria Vaccine Trial Group. *Lancet* 1996, **348** : 701-707

NUSSENZWEIG RS, ZAVALA F. A malaria vaccine based on a sporozoite antigen. *N Engl J Med* 1997, **336** : 128-130

PATARROYO ME, ROMERO P, TORRES ML, CLAVIJO P, MORENO A et coll. Induction of protective immunity against experimental infection with malaria using synthetic peptides. *Nature* 1987, **328** : 629-638

PEARCE EJ, JAMES SL, HIENY S, LANAR DE, SHER A. Induction of protective immunity against *Schistosoma mansoni* by vaccination with schistosome paramyosin (Sm97), a non surface parasite antigen. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988, **85** : 5678-5682

PYE D, VANDENBERG KL, DYER SL, IRVING DO, GOSS NH et coll. Selection of an adjuvant for vaccination with the malaria antigen, MSA-2. *Vaccine* 1997, **15** : 1017-1023

REYNOLDS SR, DAHL CE, HARN DA. T and B epitope determination and analysis of multiple antigenic peptides for the *Schistosoma mansoni* experimental vaccine triosephosphate isomerase. *J Immunol* 1994, **152** : 193-200

RIVEAU G ET CAPRON A. Vaccines against schistosomiasis. In : New generation vaccines, LEVINE MM, WOODROW GC, KAPER JB and COBON GS Eds. M. Dekker Inc. New York, 1997 : 1081-1093

STOUTE JA, SLAOUI M, HEPPNER DG, MOMIN P, KESTER KE et coll. A preliminary evaluation of a recombinant circumsporozoite protein vaccine against *Plasmodium falciparum* malaria. RTS,S Malaria Vaccine Evaluation Group. *N Engl J Med* 1997, **336** : 89-91

STOUTE JA, KESTER KE, KRZYCH U, WELDE BT, HALL T et coll. Long-term efficacy and immune responses following immunization with the RTS,S malaria vaccine. *J Infect Dis* 1998, **178** : 1139-1144

TROTTEIN F, GODIN C, PIERCE RJ, SELLIN B, TAYLOR MG et coll. Interspecies variation of schistosome 28-kDa glutathione S-transferases. *Mol Biochem Parasitol* 1992, **54** : 63-72

WANG RB, CHAROENVIT Y, DALY TM, LONG CA, CORRADIN G, HOFFMAN SL. Protective efficacy against malaria of a combination sporozoite and erythrocytic stage vaccine. *Immunol Lett* 1996, **53** : 83-93

XU CB, VERWAERDE C, GRZYCH JM, FONTAINE J, CAPRON A. A monoclonal antibody blocking the *Schistosoma mansoni* 28-kDa glutathione S-transferase activity reduces female worm fecundity and egg viability. *Eur J Immunol* 1991, **21** : 1801-1807

XU CB, VERWAERDE C, GRAS-MASSE H, FONTAINE J, BOSSUS M et coll. *Schistosoma mansoni* 28-kDa glutathione S-transferase and immunity against parasite fecundity and egg viability. Role of the amino- and carboxyl-terminal domains. *J Immunol* 1993, **150** : 940-949