



## Pr Monique Capron

Docteur en pharmacie  
Présidente du conseil  
d'administration de l'Inserm  
Directeur de l'unité Inserm 547  
à l'Institut Pasteur de Lille  
Professeur d'immunologie  
à l'université de Lille-2

# Stratégies vaccinales contre les grands fléaux des pays en développement

## L'exemple de la bilharziose

*Nous reproduisons ci-dessous le texte de la conférence donnée par Monique Capron lors de la XVII<sup>e</sup> Journée de l'Ordre qui s'est tenue à Paris le 4 novembre 2004.*

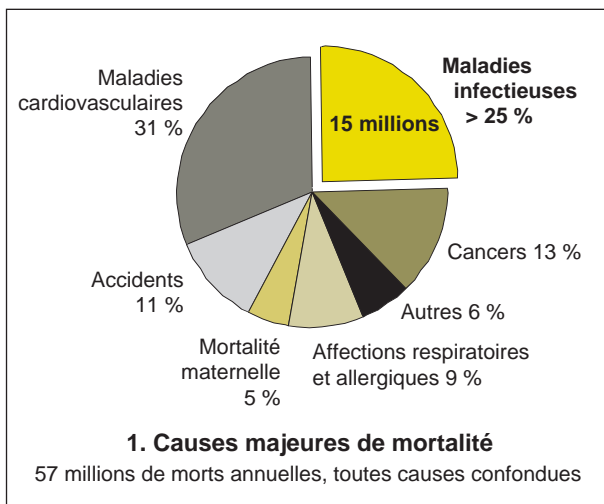
**M**onsieur le président, chers collègues, chers amis, Mesdames, Messieurs.

Avant toute chose, je voudrais remercier le président Jean Parrot et le professeur Claude Dreux de leur aimable invitation qui me permet de partager avec vous aujourd'hui quelques réflexions sur les problèmes de santé dans les pays en développement.

Plus d'un siècle après l'introduction du concept de vaccination, et plus de soixante ans après celui de l'antibiothérapie,

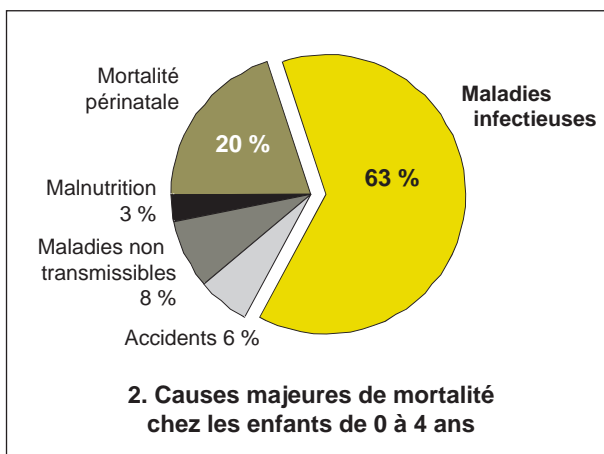
les maladies infectieuses constituent encore un des obstacles majeurs aux progrès et à la survie de l'Humanité. Les maladies infectieuses restent une des principales causes de mortalité à l'échelon mondial, soit environ 15 millions des 57 millions de morts annuels, c'est-à-dire plus d'un quart des causes de mortalité dans le monde, sans compter les causes infectieuses de certains cancers ou de maladies cardiovasculaires.

Cette proportion augmente encore dans les pays à faibles revenus. En Asie du Sud-Est et surtout dans le continent africain le pourcentage passe à 45 % des causes de mortalité.



Source : OMS

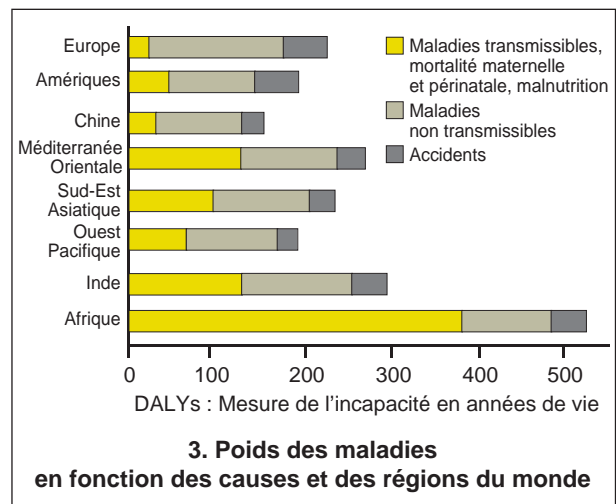
Si l'on regarde maintenant ce qui se passe chez les enfants, et en particulier chez les enfants de 0 à 4 ans dans le monde entier, le pourcentage de mortalité lié aux maladies infectieuses atteint 63 %. Ces chiffres, à eux seuls, résument l'importance du problème posé par les maladies infectieuses encore aujourd'hui, à l'aube du XXI<sup>e</sup> siècle.



Source : OMS

## Des maladies qui tuent et qui pèsent sur l'activité

Lorsque l'on regarde la situation chez les enfants, en particulier en dessous de 5 ans, on s'aperçoit que chaque année 5 millions d'enfants meurent d'infections respiratoires aiguës, de maladies diarrhéiques, de paludisme et aussi de rougeole. Comme vous l'imaginez bien, les maladies responsables de cette mortalité ne sont pas réparties de manière homogène dans tous les pays du monde. Si les maladies transmissibles ne représentent qu'une faible proportion de la mortalité dans les pays industrialisés, où elles touchent surtout les minorités défavorisées, c'est bien sûr dans les pays à faible revenu et singulièrement sur le continent africain que l'incidence de la mortalité liée aux maladies transmissibles, de la mortalité maternelle et infantile et de la malnutrition est la plus importante.



D'après J. Sachs

Le diagramme 3 exprime le poids des maladies sur les populations du monde par l'indice « DALY », c'est-à-dire la mesure de l'incapacité en années de vie, selon l'OMS. (DALY : disability-adjusted life years = années de vie corrigées du facteur invalidité = « AVCI »). Cela fait apparaître l'importance dramatique des maladies transmissibles sur le continent africain.

## Quelles maladies infectieuses ? Quelles sont les causes ?

Si l'on réfléchit à ce qui s'est passé lors des trente dernières années, on s'aperçoit qu'il existe toujours des maladies bien connues mais encore non contrôlées. Je pense, par exemple, à la grippe, ou à la rougeole qui n'est toujours pas éradiquée dans les pays africains. De plus, lors de ces trente dernières années, on a vu resurgir des maladies que l'on croyait disparues : il s'agit de maladies réémergentes, comme la peste, une épidémie de peste ayant été récemment déclarée, ou le choléra, puisqu'une épidémie de choléra est survenue également au Sénégal. Parmi les autres maladies réémergentes, on peut citer la tuberculose multirésistante et, bien sûr, le paludisme, en particulier le paludisme résistant à toute chimiothérapie.

Voilà pour les quelques exemples de maladies réémergentes, que l'on aurait pu croire disparues, cependant que de nouvelles maladies, donc des maladies émergentes, ont fait leur apparition. Tout le monde connaît le SARS, ou le variant de la maladie de Creutzfeldt-Jakob, mais j'ai voulu aujourd'hui prendre quelques exemples parmi les maladies émergentes qui touchent le continent africain comme les fièvres hémorragiques mortelles, de Marburg ou d'Ebola, les hépatites, en particulier l'hépatite C et, bien sûr, le sida.

Quelles sont les causes de cette résurgence ou de cette émergence de maladies infectieuses ? Bien sûr ces causes sont multiples, et diffèrent entre les maladies réémergentes et les maladies émergentes. Elles font intervenir différents facteurs qui dans la plupart des cas sont imbriqués. Parmi ces différents facteurs se trouvent des facteurs biologiques, liés aux agents pathogènes qui peuvent muter et devenir résistants à la chimiothérapie. D'autres facteurs induisant une susceptibilité accrue aux infections, en particulier avec

l'âge, peuvent être liés à l'augmentation de l'espérance de vie, conduisant à l'apparition de maladies nouvelles, dépendant de facteurs démographiques mais aussi de facteurs biologiques. On a remarqué récemment que l'érosion des télomères avec l'âge induisait en fait une perte de mémoire immunologique et une plus grande susceptibilité aux infections. Donc un lien existe entre les facteurs sociaux et les facteurs biologiques, sans oublier, bien sûr, le tourisme et le développement des voyages internationaux, touristiques ou commerciaux.

#### Causes de l'émergence des maladies infectieuses

- Adaptation et mutation des agents pathogènes
- Susceptibilité aux infections
- Changements climatiques
- Modification écosystèmes
- Démographie et comportement humain
- Tourisme et commerce internationaux
- Développement économique (déforestation, barrages...)
- Technologie et industrie
- Échec des mesures de Santé publique
- Pauvreté et inégalité sociale
- Guerres et famines
- Manque de volonté politique

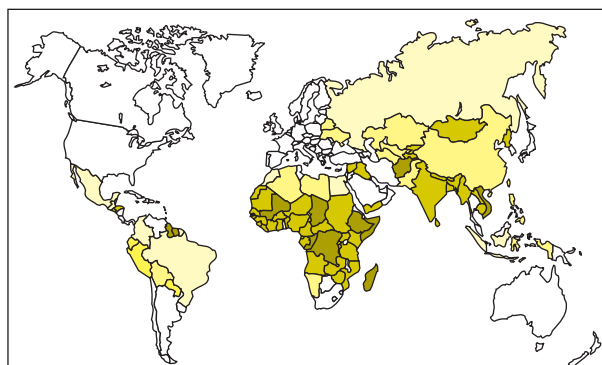
D'après Nature, juillet 2004

Outre ces facteurs biologiques et sociaux, peut également être incriminé le développement économique, par exemple les grands programmes d'irrigation et la construction des barrages, qui ont entraîné le développement de certaines de ces maladies. C'est le cas de la bilharziose, et d'autres maladies liées à l'eau où le vecteur est, par exemple, un moustique. Tous les développements industriels peuvent être incriminés, mais c'est surtout l'échec des mesures de santé publique, les guerres et, dans la plupart des cas, un réel manque de volonté politique pour prendre en compte ces problèmes de santé publique et en particulier ceux qui touchent les maladies infectieuses.

Après ces considérations générales, il est évident pour chacun de nous que le problème des maladies infectieuses est vraiment considérable et que, même s'il touche de manière disproportionnée les pays industrialisés et les pays en développement, chacun d'entre nous doit se sentir concerné. Le problème du sida, par exemple, ne pourra être résolu qu'à l'échelon mondial. Donc nous devons tous nous sentir concernés, même si ces maladies infectieuses touchent en priorité des continents qui peuvent paraître lointains.

### Quels moyens de lutte contre ces grands fléaux ?

Une première réflexion, évidente, est que les grands fléaux qui touchent les pays en développement sont liés à la pauvreté. La juxtaposition de ces cartes (4 et 5) est très intéressante parce qu'elle montre qu'à part les régions septentrionales comme la Mongolie, où les conditions climatiques ne permettent pas, en tout cas pour le moment, le développement du vecteur du paludisme, il y a une superposition géographique très étroite entre la charge mondiale de pauvreté et la charge de l'infection palustre ; et je vous dirai même tout à l'heure que le paludisme est à la fois une cause et une conséquence de la pauvreté.



4. Charge mondiale de pauvreté



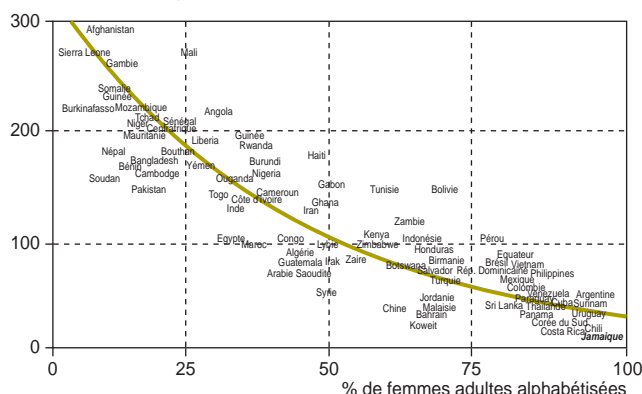
5. Charge mondiale d'infection palustre

Source : OMS 2003

Donc un premier moyen serait, bien sûr, la lutte contre la pauvreté et l'augmentation du niveau de vie. Chacun réalise que ce but ne peut pas, évidemment, être atteint à court terme.

Un autre moyen serait de développer l'éducation et, en particulier, l'éducation des mamans, et je citerai l'initiative qui a été prise par les académies des sciences de 22 pays. Dans cette étude extrêmement intéressante, on s'aperçoit que le pourcentage de mortalité des enfants en dessous de cinq ans est inversement proportionnel au degré d'alphabétisation des femmes adultes, c'est-à-dire que plus les femmes sont alphabétisées moins les enfants sont en péril. Donc il s'agit

% de décès avant l'âge de 5 ans



6. Alphabétisation des femmes et mortalité infantile

Source : Académie des Sciences

d'un moyen qui apparaît simple, mais là non plus pas accessible à très court terme, et qui est l'éducation des mamans dans ces pays.

Parmi les autres possibilités d'amélioration de cette situation, il y a bien sûr l'utilisation des outils existants. Alors, avant de vous parler des outils thérapeutiques et surtout vaccinaux, je voudrais vous parler d'outils existants très simples, par exemple les préservatifs pour la prévention de la transmission du sida et aussi les moustiquaires qui sont un très bon moyen de prévention contre les piqûres de moustiques. L'utilisation des moustiquaires est extrêmement importante à condition bien sûr que ces moyens de lutte soient acceptés par les populations. Cette notion d'acceptabilité est très importante. Ces moustiquaires sont très efficaces, à condition d'être en bon état, d'être placées correctement et surtout à condition d'être imprégnées d'insecticides et cette imprégnation nécessite un renouvellement permanent. Vous imaginez bien que cela augmente le coût et que même le coût des moustiquaires est supérieur à ce que les populations les plus pauvres peuvent mettre en œuvre pour se protéger contre le paludisme. Bien évidemment il faut penser à d'autres outils.

## Les outils thérapeutiques

Dans cette assemblée vous les connaissez bien, et je ne vais pas dresser la liste de toutes les thérapeutiques potentiellement utiles pour lutter contre ces maladies.

Il existe des thérapeutiques à la fois dérivant de la pharmacopée chimique et de la pharmacopée traditionnelle qui peuvent être utiles. Mais chacun sait que ces thérapeutiques sont efficaces pour lutter contre la morbidité mais, dans la plupart des cas, ne protègent jamais contre la réinfection. De plus, leur utilisation, en particulier à grande échelle, a induit des mécanismes de résistance des agents pathogènes contre ces thérapeutiques. Enfin, le coût de ces thérapeutiques est souvent prohibitif. Chacun ici est conscient du coût des trithérapies antisida, par exemple, rendant ces thérapeutiques inaccessibles aux populations qui en ont le plus besoin.

Donc, en dehors des outils existants qu'il faut bien sûr améliorer et parmi les nouveaux outils thérapeutiques que je n'aborderai pas aujourd'hui, il y a bien sûr un effort en faveur de la recherche de nouveaux médicaments ou de nouvelles associations de médicaments. Je pense, par exemple, aux dérivés de l'artémisinine pour le traitement du paludisme.

Bien évidemment, et c'est le sujet que j'ai choisi de traiter aujourd'hui, le seul vrai moyen efficace de prévention à l'échelon mondial, ce sont bien sûr les stratégies vaccinales.



## Quelles stratégies vaccinales ?

Il existe des vaccins, vous les connaissez, mais vous allez découvrir que finalement les vaccins existants ne sont pas aussi efficaces que vous le croyez. Donc il faut améliorer les vaccins existants et surtout rechercher de nouveaux vaccins contre les grands fléaux de ces pays en voie de développement. Mais il faut être conscient que ces efforts, qu'ils soient à long terme ou à court terme, n'aboutiront à rien sans une volonté politique extrêmement importante des pays en développement. Le succès de notre quête pour lutter contre les maladies infectieuses ne sera possible que s'il existe une coordination entre les efforts internationaux et les efforts nationaux. Il y a une réelle nécessité d'autosuffisance, dans le domaine de la production des médicaments, de la production des vaccins éventuels, et d'une inclusion dans les programmes de santé publique des pays eux-mêmes.

Pour illustrer mon propos, j'ai choisi l'exemple de la bilharziose. La bilharziose, bien évidemment, parce que c'est la maladie sur laquelle nous avons travaillé dans notre laboratoire de l'Institut Pasteur de Lille.

J'ai pensé utile, en fait, de comparer les approches que nous avons entreprises et les succès que nous avons obtenus vis-à-vis de cette maladie, par rapport aux trois autres grands fléaux qui touchent le continent africain : le sida, la tuberculose et le paludisme.

Pourquoi ces trois maladies ? Parce qu'elles ont concentré les principaux efforts de recherche internationaux et donc ont été les seules, et en particulier récemment, à bénéficier des financements, qu'ils soient européens (Commission européenne) ou qu'ils soient internationaux (OMS ou Fondation Gates, par exemple). Ces maladies peuvent être appelées des maladies « politiquement correctes ». Pourquoi ces efforts de recherche ? Parce que ces maladies ont été considérées comme prioritaires. En raison évidemment du nombre de patients atteints : 300 millions de patients atteints de malaria, 10 millions atteints de tuberculose, 6 millions atteints de sida. Mais vous comprendrez aussi que c'est parce que ces maladies touchent des pays développés à travers les voyageurs ou les militaires qui se déplacent dans les pays en développement et c'est probablement une des raisons pour lesquelles ces maladies ont été considérées comme prioritaires. Le problème c'est que la focalisation sur ces trois maladies a abouti à l'exclusion des autres maladies qui touchent pourtant un très grand nombre de patients, comme les trypanosomiasés, la leishmaniose ou la bilharziose, par exemple, considérées maintenant comme des maladies « négligées », ce qui conduit à des millions de patients oubliés.

Avant de vous parler de ces trois premières maladies je voulais aborder brièvement des défis scientifiques à relever dans le domaine des stratégies vaccinales.

## L'ère des génomes

Quelles sont les étapes à franchir entre la découverte des gènes et les vaccins ? Il faut tout d'abord acquérir une meilleure connaissance des agents pathogènes et de leur viru-



lence. C'est simple apparemment, mais il faut aussi disposer des modèles de culture. Par exemple, le virus de l'hépatite C ne se cultive pas *in vitro*, il est donc beaucoup plus difficile de connaître ses propriétés biologiques. Bien sûr sont également indispensables une meilleure connaissance de la réponse immunitaire, de la mémoire immunologique, la définition des modèles animaux idéaux pour passer aux essais précliniques avant les essais cliniques. Les nombreux pharmaciens dans la salle savent que les procédés d'immunisation sont, encore au XXI<sup>e</sup> siècle, relativement empiriques. Quant à l'utilisation des adjuvants, très peu de recherches les ont concernés et pour le moment il n'y a toujours pas d'adjuvants miracles. Enfin il faut considérer l'importance de la vectorologie, ou la recherche de nouveaux vecteurs de vaccination, vivants ou non vivants, et là encore il s'agit d'un domaine de recherche pas toujours très coordonné, et pas toujours très bien considéré par ailleurs. On voit peu d'articles concernant les stratégies de vectorisation dans les grands journaux scientifiques.

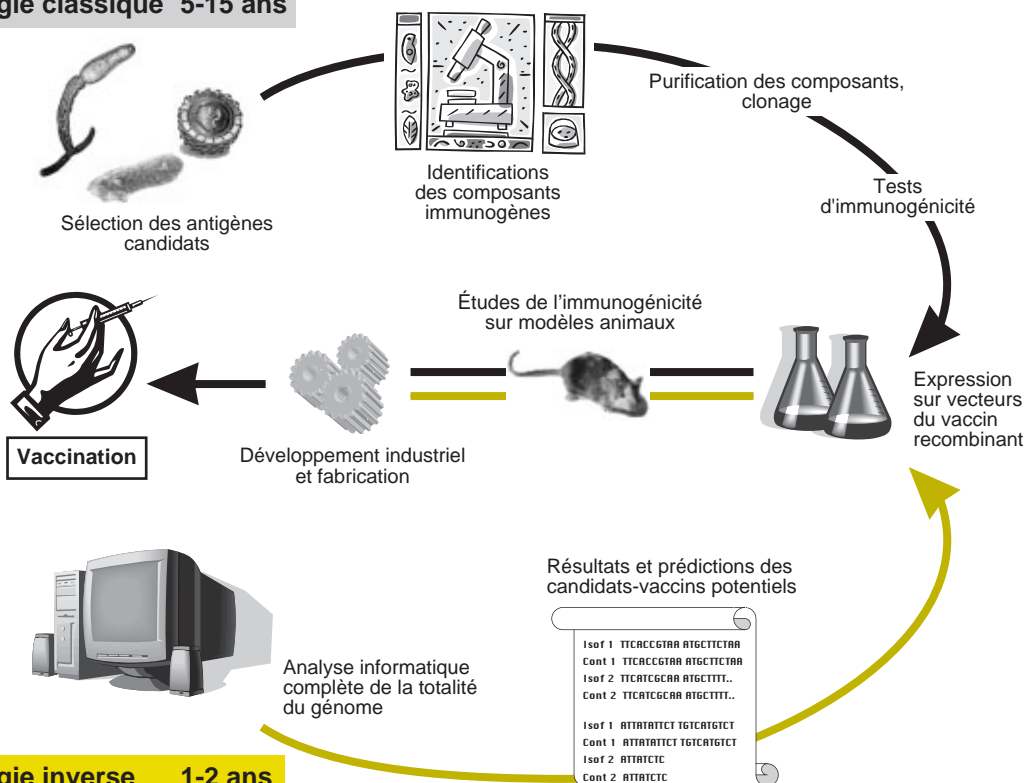
A ces défis scientifiques, il faut évidemment ajouter la mise en œuvre des connaissances récentes qui découlent de la révolution de l'ère des génomes. Il faut savoir que la vaccination «classique», que vous connaissez, correspond à des étapes assez longues, basées sur des approches de biochimie, d'immunologie, visant, à partir des agents pathogènes eux-mêmes, qu'il s'agisse d'un parasite, d'un virus ou d'une bactérie, à identifier les antigènes cibles, à tester leur immunogénicité dans divers modèles animaux précliniques; tout cela conduisant dans le meilleur des cas aux premiers essais

cliniques. Cette méthodologie nécessite un délai de temps très long, entre cinq et quinze ans. On peut désormais espérer que les découvertes et les connaissances des génomes des agents pathogènes vont permettre de sauter des étapes puisque finalement, au lieu de partir de l'agent pathogène, on va partir de son génome et, par des études d'informatique en particulier, on va rechercher des antigènes par prédiction conformationnelle, pour identifier des candidats vaccins potentiels. Ces approches de vaccinologie inverse, ou encore de *reverse vaccinology*, comme disent les Anglais, vont permettre de gagner beaucoup de temps.

**Alors où en est-on ?** Un article paru récemment dans *Nature Medicine* montre que les vaccins actuellement utilisés sont soit des vaccins tués, soit des vaccins vivants atténués comme le BCG, soit des vaccins sous-unitaires comme le vaccin contre l'hépatite B. En 2020, on peut espérer d'après l'auteur, que les vaccins classiques seront en partie supplantés par les stratégies vaccinales nouvelles faisant intervenir des sous-unités obtenues par vaccinologie *reverse*, des vaccins ADN, des vaccins utilisables par voie muqueuse, par exemple. Tout cela n'est qu'un espoir, en fait on ne sait pas exactement combien de vaccins vont pouvoir être appliqués à l'homme avec ces nouvelles stratégies. On peut simplement remarquer que depuis le premier vaccin recombinant, le vaccin contre l'hépatite B, il y a vingt-deux ans, peu de nouveaux vaccins recombinants ont été mis sur le marché. On peut donc penser que ces nouvelles approches mettront du temps à aboutir à des vaccins utilisables chez l'homme.

7

## La vaccinologie classique 5-15 ans



La connaissance des génomes devrait permettre d'utiliser des approches de génomique fonctionnelle pour connaître la fonction de ces gènes, pour analyser le transcriptome d'agents pathogènes comme celui du paludisme, *Plasmodium falciparum* par exemple. Ainsi, nous avons participé à une étude en collaboration dans le domaine du paludisme, grâce à l'Institut Pasteur et à sa plateforme sur les puces à *Plasmodium* (on appelle puces<sup>(1)</sup> les *microarrays*), ouverte à toute la communauté des paludologues, pour étudier les fonctions de ces gènes du parasite *Plasmodium falciparum*. Par exemple, on a pu identifier différents antigènes de *Plasmodium* distincts selon les différents stades du parasite à l'intérieur du globule rouge. Par ces approches, on peut étudier les gènes de l'agent pathogène, et on peut étudier également les gènes de la réponse immunitaire. Ainsi, nous avons pu montrer que les gènes exprimés par les cellules dendritiques en réponse au parasite *Schistosoma mansoni* étaient différents selon le stade du parasite. Grâce à ces études du transcriptome, on peut maintenant mieux appréhender la connaissance des gènes et de leurs fonctions.

Mais même si tous ces défis scientifiques étaient surmontés, il subsisterait malheureusement de nombreux problèmes. Toutes ces étapes de recherche vers de nouveaux vaccins, en particulier les essais précliniques, les contrôles, les productions en lot GMP, toutes ces étapes sont très longues, très coûteuses. Malheureusement, et je saisis cette occasion de passer le message, l'industrie pharmaceutique est assez frileuse et a toujours marqué assez peu d'intérêt pour les vaccins et encore moins pour ceux concernant des pays en développement et des populations non solvables. Pourtant il est très important pour nous chercheurs, de pouvoir s'appuyer sur une industrie pharmaceutique tout à fait volontaire. S'il n'y a pas de R & D et s'il n'y a pas d'industrie pharmaceutique, tous les efforts des chercheurs dans cette quête contre les maladies infectieuses seront vains.

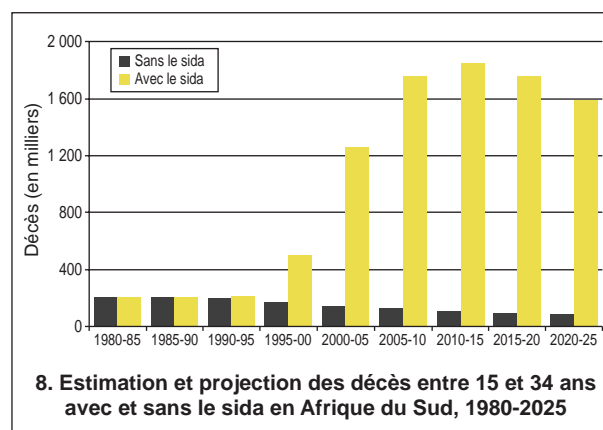
Deuxième réflexion, valable aussi, et même surtout, pour les pays développés, il subsiste une réticence vis-à-vis de la vaccination, qui n'est pas nouvelle. Du temps de Louis Pasteur, existait déjà une résistance à la vaccination. On pouvait imaginer que c'était le début et que l'on manquait de recul. Cette réticence existe toujours et je citerai comme exemple le cas de la vaccination contre l'hépatite B et le risque toujours controversé de pathologie auto-immune. Donc une résistance globale subsiste vis-à-vis des approches vaccinales. Enfin, et c'est tout aussi important, même si nous avons un bon vaccin très efficace, produit par l'industrie pharmaceutique, à prix coûtant, l'accès aux vaccins pour les pays en développement, c'est-à-dire les populations qui en ont besoin, sera toujours difficile. L'accès aux vaccins, la chaîne du froid, et, j'y reviens toujours, la nécessité d'une volonté politique visant à inclure

ces programmes de vaccination dans les programmes de santé publique des différents pays, sont des prérequis indispensables à toute stratégie vaccinale efficace.

## Des vaccins en développement

### Contre le sida

L'infection par le virus VIH concerne 5 millions de nouveaux cas par année, 3 millions de morts par an, 15 000 personnes supplémentaires par jour qui se contaminent. L'histogramme 8 illustre la situation dramatique en Afrique du Sud. On note la projection de la mortalité, en millions de morts, entre les années 1995-2000 et les années 2015 ou 2020 sans le sida, sur les histogrammes en noir, ou avec le sida, sur les histogrammes en jaune, si aucune mesure n'est prise. Vous voyez l'aspect dramatique de cette courbe. Bien sûr la communauté internationale s'est émue, l'ONU Sida ainsi que de nombreuses organisations internationales. Ils ont donc développé différents plans de lutte, basés à la fois sur les approches thérapeutiques et sur la recherche de vaccins.



8. Estimation et projection des décès entre 15 et 34 ans avec et sans le sida en Afrique du Sud, 1980-2025

Source : Nations unies, 2002

Alors est-il réaliste d'être optimiste ? On ne serait pas chercheur si on n'était pas optimiste. Le problème du sida est très difficile. Sur le plan immunologique d'abord : il faut associer une réponse humorale avec la présence d'anticorps qui neutralisent les particules virales libres, mais il faut aussi combiner, si on veut un vaccin efficace, une production de lymphocytes T cytotoxiques, visant à détruire les cellules infectées par le virus, donc une immunité à médiation cellulaire cette fois.

Ce n'est pas courant de devoir trouver un vaccin qui soit à la fois basé sur une réponse humorale et sur une réponse cellulaire. En général c'est l'un ou l'autre, et cela constitue donc une première difficulté. La deuxième difficulté que vous connaissez c'est que bien sûr il existe de très nombreux sous-types du VIH et que donc il n'y aura pas de vaccin universel puisque le virus est multiple. Mais néanmoins les chercheurs sont optimistes, parce qu'on connaît maintenant vraiment mieux la réponse immunitaire, donc on pourra la maîtriser ; parce que des candidats vaccins ont induit des pourcentages de protection très intéressants dans des modèles animaux, chez les primates non humains et,

1. Puce à ADN :

microsystème d'analyse génomique qui permet l'identification de fragments nucléotidiques de séquence inconnue par appariement complémentaire avec des séquences nucléotidiques dont la séquence est connue, localisées très précisément au sein d'un microréseau disposé sur un support solide.

Synonyme(s) : biopuce n. f., puce ADN n. f.

En anglais : DNA chip, DNA microarray, microarray.

(Grand Dictionnaire Terminologique)

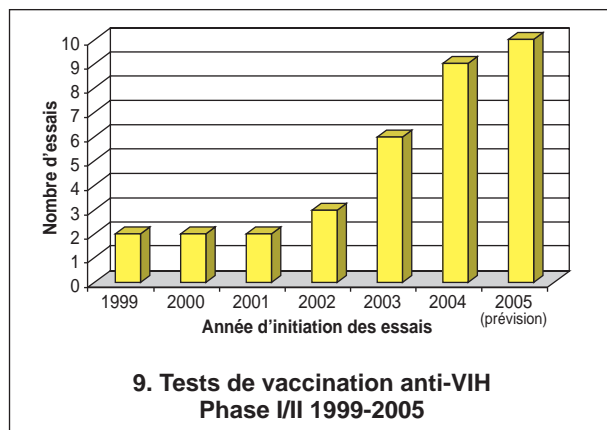
troisièmement, parce que la communauté internationale s'est investie et qu'il y a de plus en plus de candidats vaccins, de recherches et d'essais cliniques et en particulier d'essais cliniques coordonnés.

#### Le vaccin, seul outil de prévention

- Primaire
- Individuelle
- Stratégies de masse

Source : M. Kazatchkine, ANRS

Quels sont les progrès obtenus en 2000-2004 et quelles sont les raisons d'être optimiste dans la quête de ce vaccin contre le sida ? On a connu des avancées dans les technologies vaccinales, pour la production de ces lymphocytes cytotoxiques et des anticorps neutralisants. Beaucoup d'études se sont consacrées également aux méthodes d'immunisation par voie muqueuse, puisque c'est une voie d'immunisation qui devrait être plus efficace que la voie systémique. On connaît mieux les réponses immunes, dans les modèles animaux, et on dispose de nouveaux outils, comme par exemple des virus chimères entre le virus humain et le virus de singe qui permet d'utiliser les singes comme modèles d'étude et enfin, je vous le disais à l'instant, une réelle prise de conscience et une coordination des essais cliniques multicentriques. Ce n'est pas mon propos de vous les détailler mais je crois qu'il est important de vous délivrer le message : on assiste à une augmentation très importante des essais cliniques, sur tous les continents, et plusieurs candidats vaccinaux ont été testés, 25 candidats en phase 1, et 2 seulement en phase 3.



Source : HIV Vaccine - Trials Network

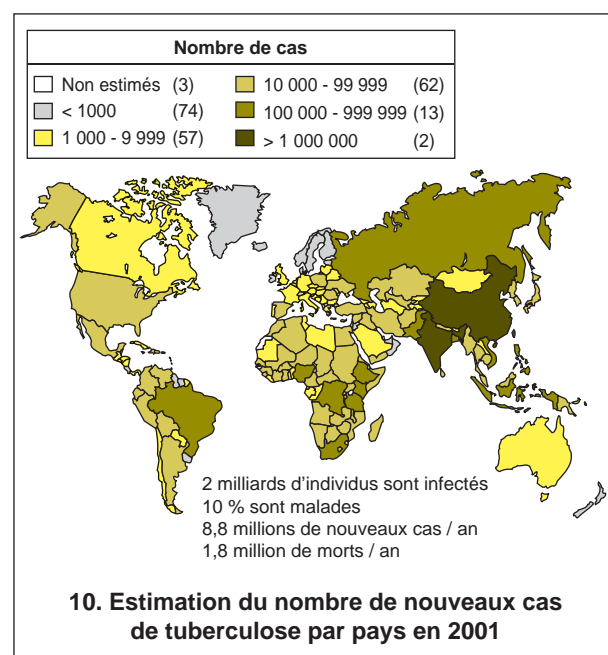
**Quels sont les candidats vaccins contre le VIH ?** Cette année 2004, 22 candidats vaccins différents sont en essais cliniques, 7 vaccins ADN nu, 8 vaccins basés sur la vectorisation virale, des vaccins sous-unitaires et des peptides, et aussi 4 combinaisons *prime boost*. Les combinaisons *prime boost* consistent à immuniser avec un antigène lors d'une première injection, le plus souvent un vaccin ADN, ensuite on pratique une injection de rappel (« boost ») avec un autre antigène, le plus souvent protéique. Il semblerait que cette stratégie de *prime boost* soit très efficace pour stimuler la réponse immunitaire. Quand on pense vaccin on pense

d'abord aux **vaccins préventifs**, surtout dans le cas des infections bactériennes. Dans les infections chroniques il serait très intéressant et très important de disposer de **vaccins thérapeutiques** qui seraient capables de contrôler l'infection chez des sujets déjà infectés. Une étude de l'ANRS est en cours : d'une part un groupe contrôle de sujets infectés qui suivent un traitement antirétroviral actif, et d'autre part un groupe vacciné qui reçoit différentes injections d'un candidat vaccin et qui reçoit aussi un stimulant de la réponse immunitaire. Tous ces patients sont suivis et on espère que leur charge virale diminuera. Donc voilà un exemple à retenir de possibilité de vaccination thérapeutique chez des sujets déjà infectés.

Dernier message dans le cadre du sida : il est clair que la collaboration internationale est indispensable mais ne suffira pas. Dans les pays concernés, il faut absolument une meilleure structuration des systèmes de santé, et quand je dis systèmes de santé, nous nous éloignons de l'épidémiologie virale et de l'infrastructure scientifique pour passer aux réflexions éthiques et à la volonté des communautés qui auront la possibilité d'utiliser ces vaccins. C'est extrêmement important.

## Contre la tuberculose

Je suis sûre que vous pensez que la tuberculose était un ancien fléau complètement enrayé. Et bien non, comme vous le voyez : 8,8 millions de nouveaux cas de tuberculose par an, avec une mortalité extrêmement importante. Alors pourquoi ? Deux raisons. La première : l'apparition de résistance aux antituberculeux. La deuxième raison : la co-infection avec le VIH. C'est donc cette co-infection avec le VIH qui a réveillé les cas de tuberculose. Vous voyez ici le nombre de cas nouveaux par pays en 2001 : aucun continent n'est épargné. Deux milliards d'individus sont infectés par le bacille tuberculeux. J'allais dire heureusement seulement 10 % sont malades, mais 10 % de 2 milliards c'est quand même beaucoup. Donc une



#### 10. Estimation du nombre de nouveaux cas de tuberculose par pays en 2001

D'après Lancet, 2003

projection, en l'absence de stratégies à l'échelon mondial et en particulier sur le continent africain puisqu'il y a une forte prévalence de VIH, mais aussi dans l'ex-URSS, la projection du nombre de cas de tuberculose va être explosive en 2010 si rien n'est fait. Là encore la communauté internationale s'est investie et différents programmes ont été mis en route, en particulier basés sur l'amélioration des traitements et l'amélioration des vaccins existants.

### Et le BCG alors ?

Pourquoi l'amélioration des vaccins existants alors qu'il existe un BCG qui a fait ses preuves ? Effectivement le BCG existe, le BCG présente beaucoup d'avantages mais on s'est aperçu récemment que ce BCG avait aussi beaucoup d'inconvénients. Ses avantages sont le coût modeste, la facilité d'administration : une seule injection. Il s'agit du vaccin qui a été le plus administré au monde, plusieurs milliards d'enfants ont été vaccinés par le BCG avec très peu d'effets secondaires, donc c'est vraiment un vaccin très sûr qui s'est révélé efficace en particulier sur la tuberculose de l'enfant et qui protège en effet très bien contre la méningite tuberculeuse. Mais il y a aussi plusieurs inconvénients. Dans les vaccinations de masse, on s'est rendu compte que le BCG ne protégeait pas de la même manière contre toutes les souches de *Mycobacterium tuberculosis* et que dans certains continents les bacilles étaient résistants. De plus le BCG nécessite une présentation de l'antigène par le complexe majeur d'histocompatibilité, alors que le patrimoine génétique des individus diffère d'un continent à l'autre et que l'efficacité du BCG est très différente en fonction de ce patrimoine génétique. Enfin, en particulier dans certains pays en développement, l'exposition des patients aux mycobactéries environnementales limite l'efficacité du BCG. Finalement il s'est avéré que le BCG n'était pas aussi efficace qu'on le pensait pour protéger contre la tuberculose de l'adulte, notamment la tuberculose pulmonaire, parce qu'il y avait une réactivation du bacille tuberculeux. Il faut donc chercher un nouveau BCG ou une nouvelle stratégie de vaccination contre la tuberculose, avec des vaccins qui seront plus efficaces en prévention, et surtout des vaccins pour empêcher la réactivation à l'âge adulte.

Les nouvelles approches vaccinales contre la tuberculose correspondent à des recherches qui sont effectuées dans de nombreux pays, aux États-Unis et en Europe.

Deux stratégies sont mises en œuvre. La première vise à améliorer le BCG existant, qui serait «supplémenté» avec d'autres gènes, codant pour d'autres antigènes, afin d'obtenir un BCG modifié plus efficace. La deuxième stratégie part de l'agent pathogène lui-même, *Mycobacterium tuberculosis*, et vise à atténuer sa virulence. Par délétion génique, on enlèverait les gènes de virulence pour obtenir un vaccin atténué, ou on chercherait à produire des vaccins sous-unitaires, à utiliser soit sous forme protéique en présence d'adjuvants, soit introduits dans un vecteur viral. Malheureusement, selon l'OMS, même si toutes les recherches de nouvelles stratégies vaccinales étaient efficaces, ce nouveau vaccin contre la tuberculose ne serait pas applicable chez l'homme avant 2008-2010. C'est dire le temps qu'il faut pour améliorer un vaccin déjà connu...

## Contre la malaria

Dans le cas de la malaria, on passe vraiment à l'échelle supérieure au niveau du nombre de patients, du nombre de cas nouveaux et de la mortalité. La mortalité touche en particulier les enfants. La malaria est vraiment un problème dramatique sur le plan mondial et singulièrement sur le continent africain. 40 % de la population mondiale est exposée, 90 % pour le continent africain. Chaque seconde, entre 15 et 20 personnes sont nouvellement infectées. Un mort toutes les 12 secondes. Ce sont des chiffres qui frappent. Le paludisme c'est à la fois la conséquence de la pauvreté, mais aussi la cause de la pauvreté. Des économistes ont mesuré que, en Afrique subsaharienne, le paludisme réduisait de 1 % par an la croissance économique. Depuis 1998, l'OMS a lancé un grand programme international que l'on appelle *Roll back malaria*, c'est-à-dire «faire reculer la malaria», basé sur l'amélioration des thérapeutiques, l'accès des populations aux thérapeutiques, l'association traitement/moustiquaire imprégnée, qui est très efficace, et bien sûr les équipes de recherche se sont investies encore plus activement qu'avant pour la recherche d'un vaccin.

Alors pourquoi la malaria augmente-t-elle de manière proportionnelle tous les ans ? Et bien parce que l'agent du paludisme devient de plus en plus résistant aux anti-malariques qui ont été utilisés, que ce soit en Amérique du Sud et dans le Sud-est asiatique ou que ce soit en Afrique et cette carte montre en fait l'extension de la résistance à la chloroquine qui a commencé essentiellement en Afrique de l'Est et qui s'étend et touche maintenant tout le continent africain jusqu'à l'Afrique occidentale.



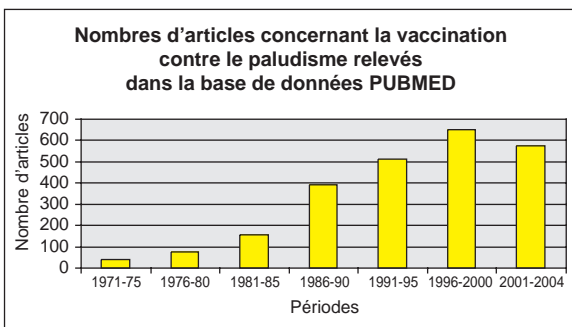
**11. Intensification de la résistance aux anti-malariques en Afrique (1980-2003)**

Source : OMS

### Quid du vaccin ?

Quid du vaccin contre le paludisme ? Beaucoup d'équipes s'y sont intéressées. Un de mes collègues a calculé qu'en 34 ans, sur la base de données bibliographiques, 2 400 articles concernant le vaccin contre le paludisme ont été publiés. On ne peut pas dire que les chercheurs ne se sont pas motivés. Il y a eu vraiment beaucoup de recherches. Mais malheureusement, jusqu'à ces dernières semaines, il n'y avait, aucune perspective à court terme d'avoir un vaccin opérationnel. L'agent du





- 2401 articles scientifiques publiés en 34 ans
- Aucune perspective à court terme d'avoir un vaccin opérationnel

## 12. La vaccination, une longue histoire semée d'échecs

Source : Daniel Dive

paludisme, le *Plasmodium*, est vraiment un parasite assez diabolique. Vous vous souvenez, M. Weissenbach vous l'a sûrement dit l'année dernière, le génome humain, c'est à peu près 30 000 gènes. L'agent du paludisme, le *Plasmodium falciparum*, comporte 5 000 gènes... C'est beaucoup pour un si petit parasite ! C'est une machinerie complexe qui permet à ce parasite de s'adapter à plusieurs hôtes, un hôte moustique, l'anophèle, chez lequel il développe sa phase sexuée, ce moustique est donc « l'hôte définitif ». Après piqure par le moustique infecté, le parasite développe son cycle asexué chez l'homme qui est donc « l'hôte intermédiaire ».

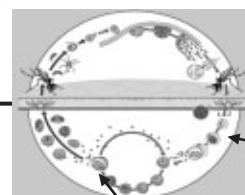
Il y a plusieurs étapes de développement. Les sporozoïtes vont d'abord se diriger vers le foie, ils se développent dans les hépatocytes, les hépatocytes infectés vont libérer des mérozoïtes, les mérozoïtes vont venir infecter les globules rouges. Puis s'ajoute un cycle interne : les mérozoïtes éclatent et peuvent aller infecter d'autres globules rouges et ainsi de suite ; on n'a même plus besoin du moustique, il y a autoreproduction du parasite au niveau des globules rouges. Ces globules rouges, et c'est la vraie cause de la pathologie du paludisme, vont adhérer aux cellules endothéliales, en particulier dans le cerveau. Il en résulte le neuropaludisme, la malaria cérébrale, mortelle chez les enfants, surtout les moins de cinq ans. Les globules rouges parasités peuvent aussi envahir le placenta et causer le paludisme placentaire chez les femmes enceintes. Et le cycle infernal reprend quand un moustique pique...

### Les stratégies vaccinales

Il y a trois stades importants sur lesquels on peut bâtir une stratégie vaccinale. Premier stade : empêcher l'invasion des hépatocytes par l'agent du paludisme et empêcher la destruction des hépatocytes infectés. Deuxième étape : empêcher l'infection des hématies par le *Plasmodium*. Troisième stade : arrêter le cycle, chez le moustique, lors du développement sexué. Ces trois stratégies vaccinales ont été testées, elles présentent des avantages respectifs différents.

**Première stratégie**, bloquer l'invasion. Après piqure du moustique, les sporozoïtes arrivent au foie. Agir à la première étape correspond à faire un vaccin anti-infection, pour empêcher l'infection des hépatocytes. C'est un vaccin extrêmement important, en particulier pour protéger les voya-

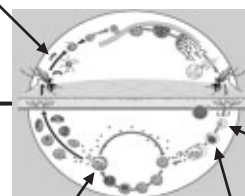
Chez le moustique  
(hôte définitif)  
Phase sexuée



Chez l'homme  
(hôte intermédiaire)  
Phase asexuée

## 13. Le cycle biologique de *Plasmodium*, agent du paludisme

Inhibition du cycle sporogonique et blocage de la transmission



Inhibition de l'invasion des hépatocytes

Inhibition de l'invasion des hématies

Destruction des hépatocytes infectés

## 14. A quels stades du cycle parasitaire un vaccin peut-il être efficace ?

Source : Daniel Dive

geurs non immuns, les militaires, qui se déplacent en zone d'endémie. Parce qu'ils visent à protéger les voyageurs, de nombreux vaccins basés sur cette stratégie ont été testés et en particulier celui dont vous avez entendu parler dernièrement, le RTS,S dont les premiers résultats très importants, viennent d'être publiés. Il s'agit d'un vaccin très original constitué d'une protéine du sporozoïte, la protéine RTS, produite par génie génétique en levure, en fusion avec une protéine de l'antigène S du virus de l'hépatite B qui est très immunogène. Ce vaccin a été testé d'abord chez des adultes en Gambie où il a donné une protection intéressante mais transitoire. Il vient d'être testé, c'est ce qui a été publié il y a deux semaines, chez une cohorte de plus de 2 000 enfants de 1 à 4 ans où une réduction d'environ 58 % des formes sévères a été observée. Ce résultat n'est pas encore suffisant puisque le parasite se réplique chez son hôte définitif, il faudrait aboutir à 80 % ou 100 % ; mais 58 % c'est très encourageant. D'autres essais sont actuellement en cours.

**Deuxième stratégie**, attaquer au stade sanguin. On essaie d'empêcher l'infection des globules rouges par le parasite puisque c'est le stade sanguin qui est responsable des formes graves, comme le neuropaludisme ou le paludisme placentaire. Le but c'est donc d'empêcher la maladie, la population cible est essentiellement les enfants et les

femmes enceintes dans les zones à forte transmission et il y a plusieurs candidats vaccins à stratégie anti-maladie.

**Troisième stratégie vaccinale**, arrêter le cycle de reproduction sexuée de *Plasmodium* au niveau du moustique. On développe alors ce qu'on appelle un vaccin anti-transmission. Son principe est de bloquer le cycle sexué, donc il arrête la transmission, c'est son but, et il est essentiel à long terme pour éradiquer l'infection dans une zone donnée. C'est pour cela qu'on l'appelle vaccin « altruiste » : il ne protège pas les sujets individuellement mais la population. Il est applicable en combinaison avec les autres vaccins et là encore différents essais sont en cours d'évaluation.

Les candidats vaccins contre le paludisme sont assez avancés dans leurs essais cliniques (v. tableau ci-dessous).

#### Vaccins anti-malariques en phase d'essais cliniques

Phase	Description	Nombre de candidats vaccins
Ia	Sécurité et immunogénicité	25
Ila	Efficacité des vaccinations expérimentales	6
Ib	Sécurité et immunogénicité dans les zones d'endémie	8
IIb	Efficacité dans les zones d'endémie	2

La vaccination anti-malarique se heurte à plusieurs problèmes importants.

1) La faible immunogénicité des antigènes du *Plasmodium*, qui a conduit à la mise en œuvre de stratégies comme :

- l'association avec un antigène très immunogène comme une protéine de surface du virus de l'hépatite B (RTS,S) ;
- l'utilisation d'adjuvants plus puissants ;
- la re-stimulation, le « prime boost », par un autre antigène vaccinant, après la vaccination avec l'ADN.

2) Les antigènes sont spécifiques de chaque stade de développement du *Plasmodium*, c'est pourquoi des vaccins multistades sont développés :

- NYVAC-pf7 : virus de la vaccine atténué, transformé avec plusieurs gènes de *Plasmodium falciparum* ;
- CSP et LSA1, MSP1, AMA1, SERA, Pfs25 ;
- MuStDO : vaccin à ADN codant pour 15 antigènes de *Plasmodium*, 5 protéines du stade hépatique et 10 protéines du stade sanguin.

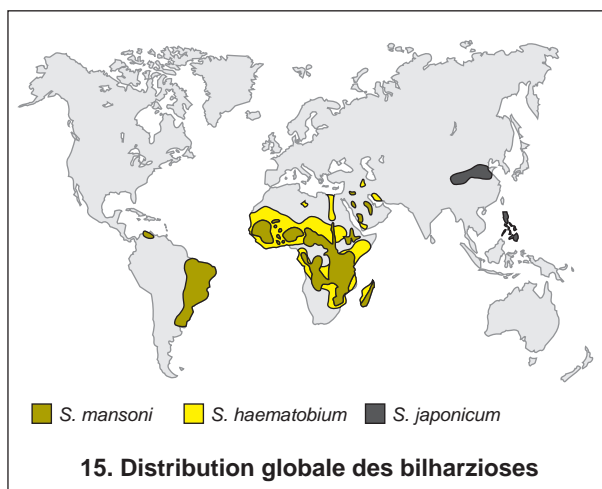
Dernier problème : il a été remarqué que l'infection par le VIH exacerbe la malaria, en particulier chez les femmes enceintes. De plus, et c'est assez général, l'immunodéficience causée par l'infection va diminuer l'efficacité vaccinale. Mais surtout l'infection par le *Plasmodium* exacerbe la charge virale et augmente la réplication du VIH. Donc vous voyez que le problème des co-infections vient encore dramatiser le tableau, et que l'éradication de la malaria n'est pas pour demain.



## L'exemple de la bilharziose

La bilharziose, comme d'autres maladies parasitaires, les trypanosomias, la leishmaniose, ou des infections bactériennes, comme la shigellose, est une maladie « négligée ». Maladie négligée, bien sûr pas par les scientifiques, loin de là. La communauté scientifique s'est beaucoup intéressée à ces infections parasitaires et des concepts immunologiques importants sont apparus au cours de ces études, comme par exemple, la variation antigénique dans les trypanosomias, le concept Th1-Th2 dans la leishmaniose, ou, cher à André Capron, le langage moléculaire chez les parasites pour la bilharziose.

Si la communauté scientifique s'est toujours intéressée à ces maladies, qui donc les a négligées ? Les instances internationales essentiellement. Ces maladies ne sévissent que dans les pays en développement et les vaccins contre ces maladies n'intéressent que très peu les pays industrialisés et donc l'industrie pharmaceutique. Comment peut-on rester indifférent devant la bilharziose qui touche 200 millions de personnes, 74 pays, avec plus de 500 000 morts par an ? Pour plusieurs raisons, j'en ai cité quelques-unes assez générales, mais aussi parce que c'est une maladie dont l'incidence sur la morbidité et sur le DALY (les années de vie corrigées du facteur invalidité) a probablement été sous-estimée.



D'après OMS, 2000

André Capron, un des pionniers de l'immunologie parasitaire, a refusé de négliger cette maladie et, depuis plus de trente ans, toute son équipe s'est attelée à la recherche des moyens de contrôler de cette maladie.

C'est cette histoire que je vais vous conter. On sait maintenant que l'infection par ces parasites, les schistosomes, conduit à la bilharziose appelée aussi schistosomiase, qui a des retentissements physiques mais aussi intellectuels chez les personnes infectées. Le pourcentage de mortalité est moins dramatique que pour le paludisme ou pour le sida, mais cette maladie a des conséquences très importantes sur la morbidité et sur le développement économique des pays.

Il existe plusieurs types de bilharziose :

- la bilharziose intestinale à *Schistosoma mansoni*, essentiellement en Afrique et en Amérique latine, notamment au Brésil, ou à *Schistosoma japonicum* en Asie, surtout en Chine et aux Philippines ;
- la bilharziose urinaire, due à *Schistosoma haematobium* en Afrique.

Le responsable, c'est *Schistosoma mansoni*, un petit ver trématode, qui ressemble beaucoup plus sur cette image de microscopie électronique à balayage à un dinosaure qu'à un petit ver d'un centimètre. Quel est le cycle de ce parasite ? En zone d'endémie, les personnes qui effectuent des travaux d'irrigation et les femmes qui vaquent à leurs tâches ménagères se font infecter par les cercaires, larves infestantes qui pénètrent par voie cutanée. Celles-ci se développent alors en schistosomules dans la peau, puis dans les poumons, ensuite elles se différencient en vers adultes sexués qui s'installent dans le foie. Ces vers peuvent y vivre pendant 25 ans en état d'accouplement permanent. Le résultat c'est une très grande fertilité des vers femelles qui pondent des millions et des millions d'œufs pendant tout ce temps. Ces œufs peuvent être soit éliminés, dans les selles, pour la forme intestinale, ou dans les urines, pour la forme urinaire. Dès l'élimination des œufs dans l'eau douce, l'embryon va être libéré, il va nager et rencontrer son hôte intermédiaire, le mollusque *Biomphalaria glabrata*. Il va s'y développer par un phénomène de polyembryonie extraordinaire, puisqu'un seul *miracidium* peut donner 500 000 cercaires infestantes. Donc, là encore, un phénomène très important en biologie. Et le cycle est bouclé.



16. *Schistosoma mansoni*

Photo : André Capron (DR)

La pathologie, se manifestant essentiellement par des diarrhées dans la forme intestinale, ou des hématuries dans la forme urinaire, est liée au fait que tous les œufs ne sont pas éliminés et qu'une partie des œufs est piégée dans les tissus. Ils vont induire une réaction inflammatoire dans le foie sous forme de granulomes hépatiques. Ils peuvent également induire des lésions dans la muqueuse intestinale ou rectale pour la forme intestinale, ou dans la muqueuse vésicale pour la forme urinaire. Les œufs sont responsables de la pathologie et de la transmission.



17. Schistosomes mâle et femelle

Photo : André Capron (DR)

Voici le couple infernal de schistosomes : le mâle dans lequel s'est logée la femelle qui pond des millions d'œufs.

## Les limites de la chimiothérapie

Des approches chimiothérapeutiques existent, et c'est une autre raison pour laquelle la prévention contre cette maladie a été aussi négligée : on pensait avoir un très bon médicament. Il existe une série de médicaments, dont celui qui est le plus utilisé, le Praziquantel. Et donc très peu de recherches ont été consacrées sur le plan de la chimiothérapie, puisque nous pensions avoir à notre disposition le médicament idéal et, en particulier pour vous et moi, si nous avions la malchance de nous baigner dans ces eaux infectées, nous pourrions bénéficier de ce traitement.

Malheureusement, et cela concerne surtout les zones d'endémie, le traitement n'empêche pas la réinfection. Donc les sujets qui vivent en permanence en contact avec l'eau infectée ne sont pas protégés par le Praziquantel. Deuxièmement, et vous allez le voir dans un instant, cette chimiothérapie est totalement inefficace dans les formes sévères et dans les formes irréversibles. Et troisièmement, et ça, c'est une notion récente qui est venue noircir encore le tableau, c'est que ce médicament commence à induire des résistances. On a trouvé des souches de parasites résistantes au Sénégal, on en a trouvé en Égypte. Donc pour toutes ces raisons la chimiothérapie n'est pas la panacée.

### Limites de la chimiothérapie

- N'empêche pas la réinfection
- Inefficace dans les formes sévères
- Diminution de l'efficacité du PZQ
  - ➔ Apparition de souches de parasites résistants

Pour les populations vivant en zone d'endémie, comme par exemple au nord du Sénégal, il s'avère que souvent plus de 90 % des sujets des villages n'ont pas accès à l'eau potable et donc leur seule source d'eau ce sont les canaux contaminés. Alors on observe des formes graves, comme la forme hépatosplénique irréversible, mortelle, contre laquelle le traitement est totalement inefficace.

## Alors quels moyens de lutte ?

Grâce aux modèles mathématiques, on a pu calculer que la pathologie sévère était liée au nombre d'œufs dans les tissus et c'est l'un des buts de la vaccination de réduire la pathologie. La situation est ici très différente de l'infection par *Plasmodium falciparum* : alors que l'agent du paludisme se réplique dans son hôte, le schistosome adulte ne se réplique pas dans son hôte définitif, donc il n'y a pas absolue nécessité d'induire une immunité stérilisante, c'est-à-dire une immunité protectrice à 100 %. C'est une grande différence par rapport au paludisme. On peut résumer les critères du vaccin idéal contre la bilharziose : bien sûr une diminution du nombre de parasites avec un effet anti-infection, une réduction très importante du nombre d'œufs et donc un effet anti-maladie, et par la réduction du nombre et de la viabilité des œufs un effet anti-transmission. Un vaccin idéal contre la bilharziose devrait combiner ces trois effets pour être totalement efficace.

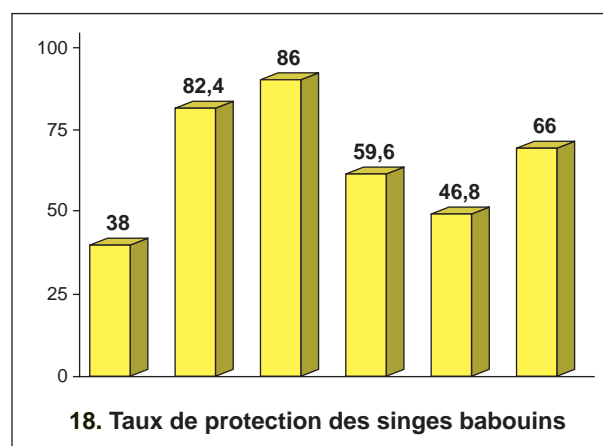
**Les candidats vaccins.** Vers les années 1995, l'OMS a pris en charge une étude comparative de six différents candidats vaccins. Chacun présentant des caractéristiques différentes, les uns n'ayant pas pu être produits par génie génétique ; les autres, sous forme peptidique, mais présentant des réactivités croisées très importantes avec les protéines de l'hôte ; d'autres encore n'ayant qu'un effet anti-infection. Parmi eux, la 28 GST, un nom de code que je vais vous déchiffrer, possédait de nombreux avantages : il pouvait être produit par génie génétique sous forme recombinante, donc en production de masse, et il combinait un effet anti-infection et anti-maladie. En 1995, les six candidats vaccins étaient à égalité. Neuf ans après, un seul a passé avec succès les différentes phases d'essais cliniques : il s'agit de la 28 GST, le candidat vaccin que nous avons développé à Lille, dans l'unité Inserm à l'Institut Pasteur dans l'équipe d'André Capron.

## Le mécanisme immunologique déclenché par la 28 GST

Par la vaccination nous cherchons à reproduire et à anticiper la réponse immunitaire. En zone d'endémie, à partir de la puberté les sujets acquièrent une immunité à la réinfection. Les enfants sont très contaminés, donc le nombre d'œufs dans les selles est très important et puis, spontanément, par contact répété avec le parasite, les sujets adultes deviennent immuns à la réinfection. Il nous a fallu comprendre les mécanismes responsables de cette immunité à la réinfection en vue de les reproduire ou de les stimuler par vaccination.

Dans notre laboratoire, nous avons démontré dans un premier temps que la réponse immune protectrice dans la schistosomiase, contrairement à celle retrouvée dans la tuberculose, était de type Th2 avec production d'anticorps, et en particulier d'anticorps IgE ou IgA.

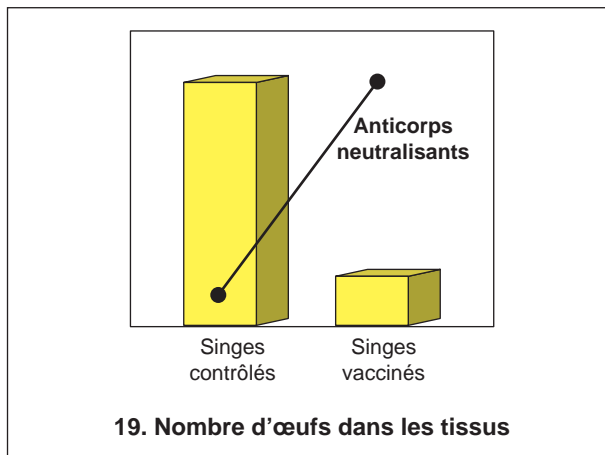
Nous avons aussi démontré la fonction de ces anticorps, participant à des mécanismes effecteurs capables de détruire les larves de parasites. Ces études nous ont permis de découvrir différents antigènes, donc candidats vaccins potentiels, à la surface de ce parasite et en particulier l'un d'entre eux que nous considérons maintenant comme le talon d'Achille du schistosome. Nous avons pu aboutir à l'identification et à la purification d'un antigène commun à tous les stades du parasite, que l'on a appelé la P28 parce que c'est une protéine de 28 kilodaltons. Le clonage et le séquençage de cette protéine devaient nous permettre de découvrir qu'elle avait une fonction très importante de glutathion S transférase qui nous a permis de la purifier à l'homogénéité, de produire le premier cristal d'une protéine parasitaire et de démontrer et de disséquer sa structure tridimensionnelle avec le site de fixation du glutathion, que ce soit pour *Schistosoma mansoni* ou pour la GST de *Schistosoma haematobium*. Cette protéine n'a plus de secret pour nous, nous la connaissons sous toutes les coutures, et elle nous est apparue comme un bon candidat vaccin : d'abord elle est exprimée à tous les stades du parasite, c'est un premier avantage considérable, et deuxièmement, elle représente le talon d'Achille du parasite : en effet, la fonction d'une enzyme GST étant de détoxifier et de protéger contre les radicaux libres, la GST du parasite exerce un rôle important dans la biologie du parasite. Si on empêche la GST du parasite de fonctionner, on détruit les systèmes de défense du parasite.



Plus récemment, les chercheurs du laboratoire ont montré que, outre son activité de GST, cette protéine avait une activité de Prostaglandine D synthase (PGDS) et qu'elle intervenait dans la fertilité des vers femelles. Or la fertilité des vers femelles est un élément déterminant dans la pathologie. Ce candidat vaccin idéal a bien sûr été testé et nous avons vacciné toute une série d'animaux de laboratoire, d'abord des rats, avec la protéine recombinante : une très bonne protection est obtenue, avec une diminution d'envi-



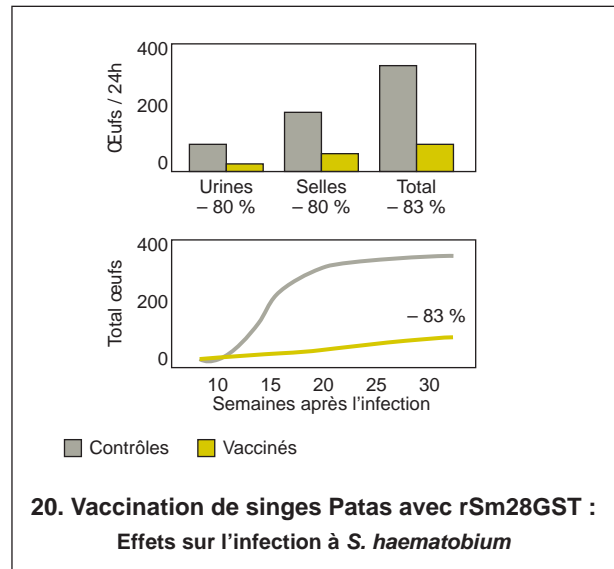
ron 60 % du nombre de vers, donc un rôle immunogène protecteur significatif au niveau du nombre de vers adultes chez ces rats. Nous avons aussi pratiqué des expériences chez des primates non humains, d'abord à Lille, puis en Afrique. Tous les singes que nous avons vaccinés se sont retrouvés protégés. On a observé entre 40 et 86 % de réduction de la population parasitaire. Après cette démonstration d'un effet protecteur chez les rongeurs, et chez les primates non humains, nous devions découvrir à la suite des expériences réalisées sur les singes que la vaccination avait aussi un effet sur la pathologie puisque la taille du granulome chez les singes vaccinés est réduite par rapport aux singes contrôle.



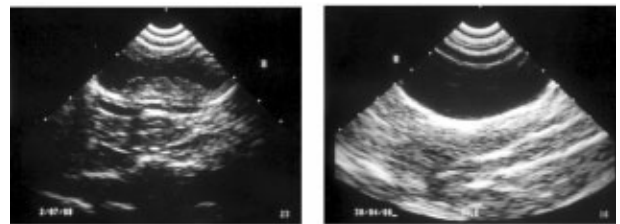
Cette stratégie vaccinale apparaissait donc très prometteuse, combinant une réduction de la population parasitaire et un effet sur le nombre d'œufs et sur la pathologie, cependant qu'une très bonne réponse anticorps, touchant le site enzymatique de la molécule, et donc capable de neutraliser l'activité enzymatique de la molécule, représentait un très bon marqueur de l'immunité à rechercher chez les singes ou les éventuels sujets vaccinés.

## Un vaccin efficace pour des agents pathogènes différents

Est-ce qu'avec un seul vaccin nous allons pouvoir vacciner contre les différentes espèces de schistosomes ? Vu le coût, et le temps passé pour un seul vaccin, la réponse à cette question était évidemment capitale. L'expérience a permis d'y répondre positivement (v. figure 20). Des singes ont été immunisés avec la protéine P28 GST de *Schistosoma mansoni* et infectés par *Schistosoma haematobium* : l'effet sur la réduction des œufs est tout aussi important de manière hétérologue puisque nous observons 83 % de réduction du nombre d'œufs chez les singes vaccinés. Un deuxième paramètre très important était aussi à envisager : un effet durable dans le temps. Une expérience a été réalisée au Niger, chez les singes de savane, et la protection est toujours retrouvée plus de trente semaines après l'infection. Un autre avantage a été retiré des expériences réalisées chez les singes.



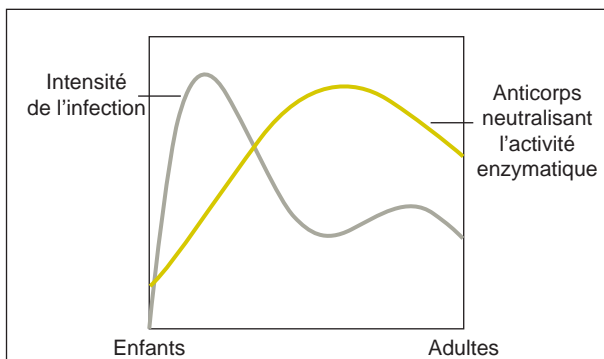
Pour évaluer l'efficacité d'une vaccination, il faut disposer de paramètres facilement mesurables et applicables sur le terrain. On a pu ainsi démontrer, chez les singes, que l'échographie vésicale était applicable pour mesurer la pathologie avant ou après vaccination, et cette approche pourra être utilisée chez les sujets vaccinés grâce à des échographes portables.



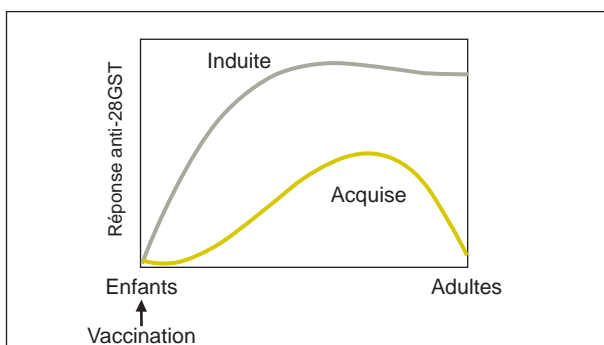
Source : André Capron

## Les essais chez l'homme

La conclusion de ces étapes précliniques dans les modèles animaux est que la molécule 28 GST, candidat vaccin, réunissait tous les paramètres à la fois : réduction partielle, mais significative, du nombre de vers (effet anti-infection), réduction du nombre d'œufs (effet anti-pathologie) et potentiellement, effet anti-transmission. Donc tous ces avantages nous ont permis d'envisager de passer le plus rapidement possible aux essais cliniques, les premiers d'une protéine de schistosome jamais pratiqués chez l'homme. Mais encore fallait-il vérifier que les anticorps détectés chez les sujets immuns à la réinfection étaient capables de reconnaître la 28 GST. Il y a bien une reconnaissance par les sujets humains de cette protéine au cours de l'infection, comme cela est représenté figures 21 et 22. Non seulement les anticorps sont présents, mais ils sont fonctionnels, puisque l'intensité d'infection diminue chez les adultes, cependant que les anticorps augmentent : ce sont bien des anticorps neutralisant l'activité enzymatique et là encore c'est un marqueur sérique aisément mesurable.



21. Réponse immunitaire à 28GST selon l'âge



22. But de la vaccination par 28GST

Source : André Capron

Un des buts de cette stratégie vaccinale est d'anticiper ce qui se passe chez l'adulte. Chez l'adulte, se met en place progressivement une réponse immunitaire suffisante pour le protéger, mais trop tard pour les enfants qui auront développé des formes graves. Donc le but de la vaccination est d'anticiper tout simplement cette immunité protectrice acquise. Autrement dit, la cible de cette stratégie vaccinale contre cette maladie, ce sont les enfants de 4 à 5 ans, avant le développement des formes graves de la maladie.

Et nous voici embarqués dans une longue démarche de stratégie vaccinale qui a commencé par la production du vaccin en masse, en levure, en condition GMP grâce à un très bon partenariat établi avec un laboratoire belge, Eurogentec, qui nous a permis d'obtenir des lots utilisables pour les essais cliniques. Nous avons choisi, pour de nombreuses raisons, la 28 GST de *Schistosoma haematobium*, et BILHVAX, c'est le nom que nous lui avons donné (BILH pour la bilharziose, VAX pour le vaccin), correspond à la 28 GST de *Schistosoma haematobium* couplé à l'alun (hydroxyde d'aluminium), adjuvant que nous avons choisi dès les premières expériences car il était compatible avec l'usage humain. Un très long moment s'est passé pour obtenir les lots cliniques, pratiquer tous les tests réglementaires de toxicité et de mutagenèse, pour aboutir, en 1999, aux premiers essais cliniques chez des volontaires sains, à Lille, au CIC (Centre d'investigations cliniques). Comme vous le savez, le but des phases 1 est la tolérance et la sécurité (pre-

mier objectif), cependant que l'induction d'une réponse immune chez les sujets vaccinés constitue le deuxième objectif. Tous ces objectifs ont été atteints, nous n'avons eu à déplorer aucun effet secondaire, donc une très bonne tolérance ainsi qu'une très bonne immunogénicité. Tous les volontaires ont répondu à l'immunisation par cette protéine avec des titres d'anticorps extrêmement importants, jusqu'au 1/10000<sup>e</sup>, tous les volontaires répondent individuellement et nous nous sommes aperçus qu'une troisième injection, donc un rappel, était très importante pour obtenir une réponse immunitaire prolongée. Non seulement les anticorps sont détectés mais ils sont fonctionnels, ils inhibent l'activité enzymatique de la protéine. Là encore, de très forts taux sont obtenus après la troisième injection. Il est très intéressant de constater que l'immunisation par une seule protéine recombinante a induit une production d'anticorps neutralisants 50 fois supérieure à ce que l'on retrouve chez des sujets infectés, suggérant que nous avions amélioré ce que la nature faisait au cours de l'infection. Enfin, l'immunisation induit une réponse immunologique de type Th2, ce qui était précisément ce à quoi nous nous attendions d'après les modèles expérimentaux.

Très vite nous sommes passés en phase 1b, c'est-à-dire chez des sujets en zone d'endémie mais non infectés, et nous avons décidé d'utiliser exactement le même protocole que dans la phase 1a, mais adapté aux enfants cette fois, puisque c'est bien la population cible. Nous avons choisi une zone dans laquelle nous travaillons depuis une dizaine d'années déjà, la région du fleuve Sénégal. Zone frontière entre le Sénégal et la Mauritanie, cette région était destinée à devenir le grenier du Sénégal et donc un grand programme d'irrigation a été développé avec la construction de barrages sur le fleuve Sénégal. Le barrage de Manantani et surtout le barrage de Diama empêchent la remontée des eaux salées et permettent l'irrigation à grande échelle. La construction de ces barrages a eu comme conséquence, à la fois le développement de la bilharziose urinaire, qui sévissait déjà mais dont l'incidence a considérablement augmenté, allant jusqu'à plus de 90 % de sujets infectés dans certains villages, cependant que l'on détectait l'émergence de bilharziose intestinale qui n'existait pas avant 1990.

La phase 1b au Sénégal a donné les mêmes résultats que la phase 1a faite à Lille : une très bonne tolérance chez les enfants, une très bonne immunogénicité et une réponse de type Th2.

## Essais en phase 2

Les phases 2 sont toujours des phases d'évaluation de tolérance et bien sûr d'immunogénicité, mais chez des sujets infectés, en zone d'endémie. Bénéficiant d'un financement multipartenaires, et notamment de la Commission européenne, grâce à un projet de démonstration, de la région Nord-Pas-de-Calais, du ministère de la Coopération, nous avons bâti les phases 2 en tenant compte non seulement de considérations scientifiques mais aussi éthiques. Plutôt que de comparer un groupe vacciné et un groupe placebo, ce qui posait quand même quelques questions sur le plan éthique, nous avons décidé de combiner vaccination et chimiothérapie. Je vous ai parlé tout à l'heure de vaccin thérapeutique

contre le sida : tous les sujets sont traités et un groupe reçoit en plus soit le vaccin soit le placebo. Les raisons pour lesquelles nous avons pensé à combiner vaccin et chimiothérapie sont d'ordre immunologique. Effectivement, nous avons montré, lors d'expériences chez l'animal, qu'il y avait une synergie entre la chimiothérapie à dose sub-optimale et la vaccination par la 28 GST et que le traitement augmente même la réponse anti-28 GST. Nous avons démontré que le Praziquantel décape la surface du parasite qui exprime ainsi plus d'épitopes de la protéine de l'antigène cible. Mais nous avons aussi des raisons logistiques et éthiques : ce programme de vaccination s'insérait beaucoup mieux, en association avec la chimiothérapie, dans le programme national de lutte contre la bilharziose (PNLCB), au Sénégal. Souvenez-vous de ce que je vous disais sur l'acceptabilité et sur la volonté politique de santé publique. Il est toujours très difficile d'arriver dans un pays en développement avec un candidat vaccin pour lequel, de surcroît, on n'a pas encore de recul puisqu'il est le premier vaccin au monde à être testé chez l'homme... Ajouter le vaccin à un programme de chimiothérapie était beaucoup plus acceptable par les populations, et les considérations éthiques allaient dans le même sens.

Les résultats ont été extrêmement intéressants et, là encore, aucun effet secondaire n'a été observé, c'était l'objectif principal. Il nous a fallu réaliser différentes phases 2, nous ne savions pas si nous devions commencer par le traitement suivi de la vaccination, ou l'inverse. C'est ce que nous avons comparé dans la phase 2a et dans la phase 2b qui ont donné sensiblement les mêmes résultats. Que l'on commence par la vaccination suivie du traitement ou le traitement suivi du vaccin, nous détectons, à condition de réaliser une troisième injection, une très bonne réponse immunitaire et des anticorps neutralisant l'activité enzymatique.

Évidemment, ces phases 2 ne permettent pas encore de connaître l'efficacité, donc le niveau de protection induite par vaccination, ce n'est pas leur objectif. Nous sommes actuellement en train de préparer les essais cliniques de phase 2-3, qui nécessitent un plus grand nombre de sujets, et donc une organisation logistique beaucoup plus vaste, un coût bien plus élevé. Nous avons conçu ces phases 2-3 avec pour objectif principal l'obtention d'anticorps inhibant l'activité enzymatique chez plus de 50 % des sujets vaccinés et bien sûr un début de tests d'efficacité pilote puisque, à condition que l'infection survienne normalement pendant cette période (ce qui peut dépendre des conditions de transmission saisonnière, de la pluviométrie, etc.), nous rechercherons bien sûr une diminution de l'intensité d'infection, par mesure du taux d'antigènes circulants, une diminution du nombre et de la viabilité des œufs pondus et une réduction de la pathologie grâce à l'évaluation des lésions vésicales par échographie.

## ESPOIR

Beaucoup d'espoir pour terminer, espoir basé sur tous les résultats très encourageants obtenus, à la fois dans les modèles animaux et au cours des essais cliniques : un effet anti-pathologie, avec la possibilité d'utiliser ce vaccin chez des sujets déjà infectés puisqu'il est capable de diminuer le nombre d'œufs, donc la possibilité d'un vaccin thérapeutique ayant l'avantage de pouvoir être associé avec la chimiothérapie, et une meilleure intégration dans les programmes nationaux de lutte contre la bilharziose. Ces premières étapes ont pu être franchies avec succès grâce à une magnifique collaboration entre différents organismes, nationaux et internationaux, et je citerai essentiellement le programme ESPOIR, programme ESPOIR baptisé par André Capron, un jour de janvier 1990, à Saint-Louis du Sénégal et qui illustre bien ce concept de l'intégration des stratégies vaccinales dans la politique de santé publique des pays. ESPOIR, cela signifie *European Special Program for Operational and Integrated Research*. Les mots de « vaccination » ou de « bilharziose » ne figurent pas dans cet acronyme, et c'est volontaire. Il s'agit vraiment d'un programme visant à intégrer les différentes approches de lutte contre cette maladie, que ce soit la chimiothérapie, le vaccin, l'hygiène, l'accès à l'eau potable, l'éducation des enfants. C'est donc autour de la dynamique créée par ce programme, qui est un programme européen et qui a réuni la Commission européenne, la coopération française, l'Institut Pasteur de Lille, les comités d'éthique, évidemment les autorités sénégalaises, des observateurs de l'OMS, que ces essais cliniques ont pu être pratiqués.

Je vais terminer par cette image d'espoir, espoir qu'on lit dans les yeux de ces enfants qui ont participé avec tellement d'enthousiasme aux phases d'essais cliniques qu'ils ont baptisé leurs petites voitures du nom de BILHVAX. Esprit aussi que les essais cliniques qui vont être poursuivis aboutiront à des résultats importants et espoir sur le plan plus général que tous les vaccins du futur dont je vous ai parlé aujourd'hui puissent aboutir dans un futur pas trop lointain à la prévention de ces grands fléaux qui touchent les pays en développement.

Je voudrais terminer en remerciant bien évidemment André Capron qui est à l'origine de toute la stratégie vaccinale contre la bilharziose, avec toute l'équipe du Centre d'immunologie et de biologie parasitaire à l'Institut Pasteur de Lille (U167, maintenant U547 de l'Inserm) et notamment le groupe de G. Riveau, et puis les amis qui m'ont permis de présenter leurs documents, qu'il s'agisse de Michel Kazatchkine, directeur de l'ANRS, pour le sida, de Paul-Henri Lambert, du Centre de vaccinologie de l'université de Genève, pour la tuberculose, ou de Daniel Dive (U547) pour le paludisme. Merci beaucoup.

