

DE L'EMPIRISME AU RATIONNEL

**L'EXEMPLE DU VACCIN
CONTRE
LA TOXOPLASMOSE**

Pr Daniel Bout

**UMR Université-INRA
Immunologie Parasitaire et Vaccinologie
Université de Tours**

JUSTIFICATION DE LA VACCINATION

(Rapport AFSSA, décembre 2005)

Gravité potentielle chez Homme

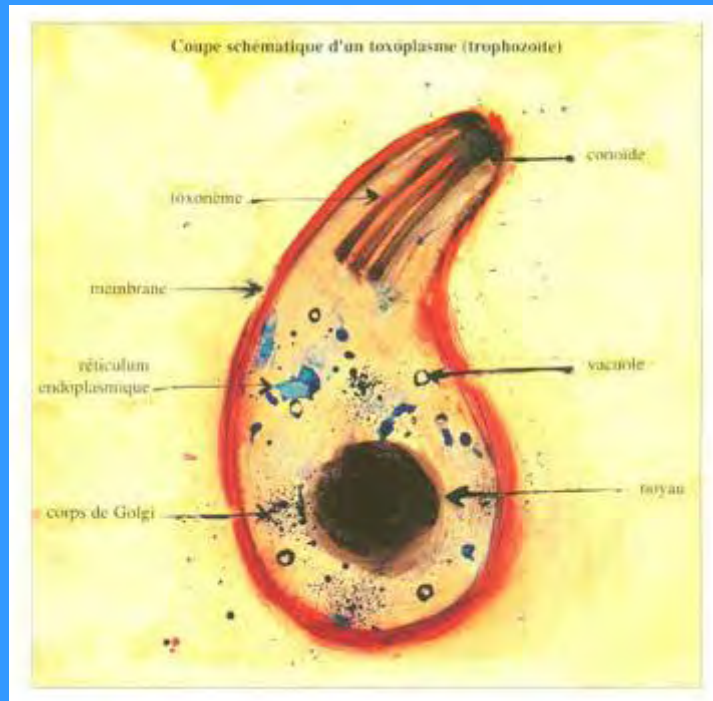
Impact économique chez Animal (filère ovine)

Contamination humaine par Animal (chat, ovins...)

TOXOPLASMA GONDII

Hôte définitif : Chat

Hôtes intermédiaires :
Homme, Ovins, Porc...



(longueur 6-8 μm , largeur 2-3 μm)

Trois formes infectieuses

Tachyzoïtes

Bradyzoïtes (kystes tissulaires)

Sporozoïtes (oocystes)

Modes d'infection

Voie orale

Voie transplacentaire

PREUVE DU CONCEPT DE LA VACCINATION CONTRE LA TOXOPLASMOSE

**Une 1^{ère} infection par le toxoplasme
protège
contre une 2^{ème} infection**

LES VACCINS VIVANTS ATTENUES

LES VACCINS VIVANTS ATTENUES

Approche empirique

S 48 Souche dite « incomplète »

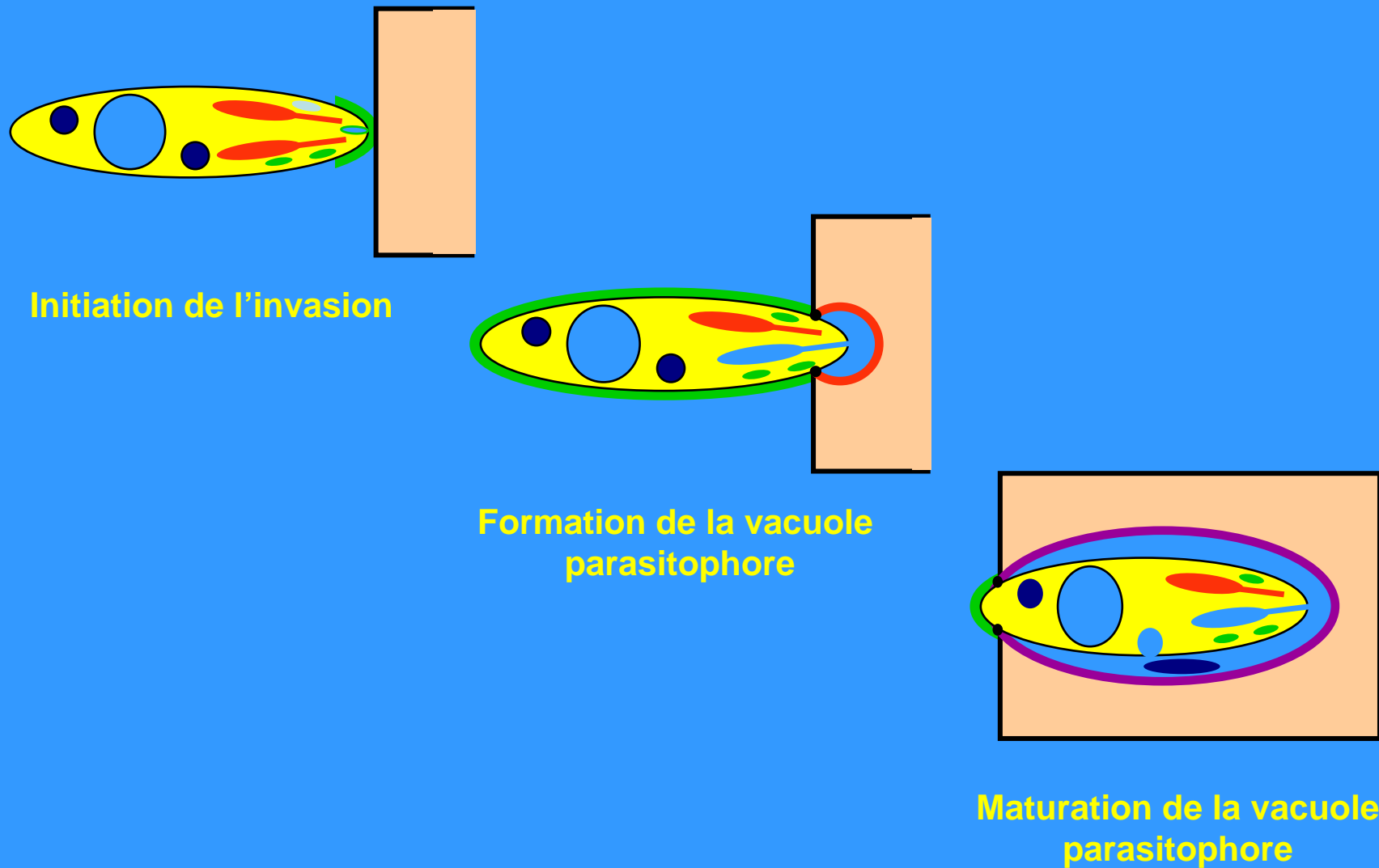
LES VACCINS VIVANTS ATTENUES

Approche rationnelle

Toxo KO Invalidé pour gènes de virulence

Toxo KO MIC 1-3 : approche rationnelle

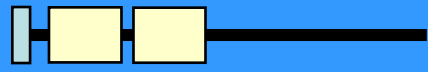
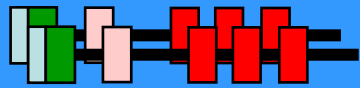
Micronèmes, réservoirs intracellulaires d'adhésines



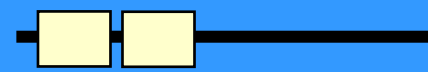
ADHESINES : MIC3

MIC1

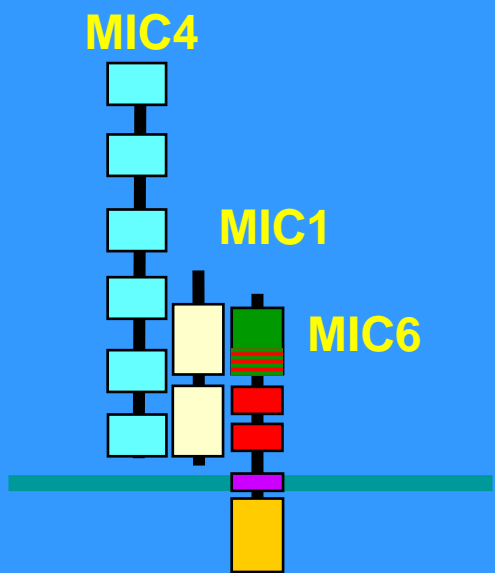
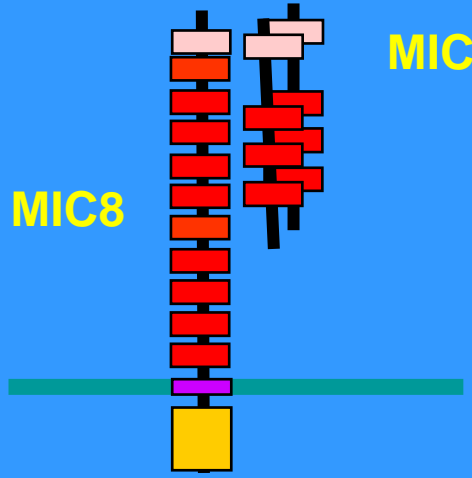
RE-Golgi



Micronèmes



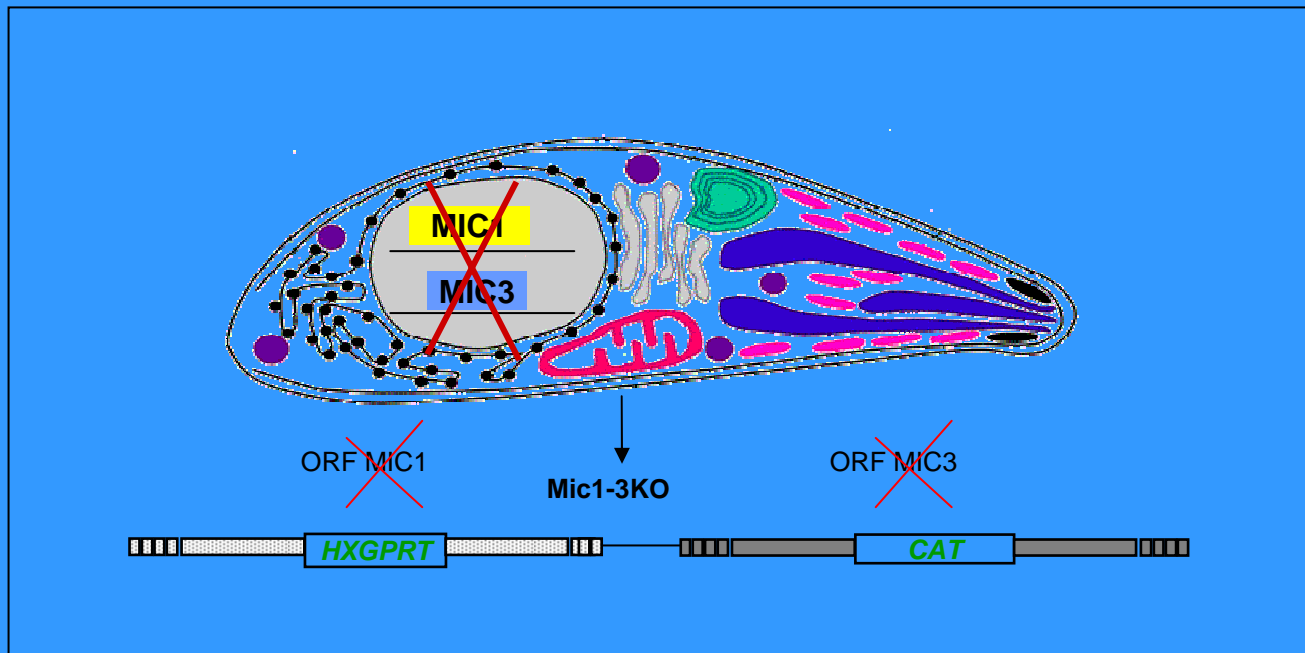
Complexes membranaires



- Seq Sig
- Propeptide
- Lectine
- EGF
- TSP
- Apple
- Domaine transmembranaire
- Domaine cytoplasmique

Toxo KO : construction

Cérède O, Dubremetz JF, Soete M, Vial H, Bout D, Lebrun M.
Synergistic role of micronemal proteins in *Toxoplasma gondii* virulence;
J. Exp. Med., 2005, 210:453-63



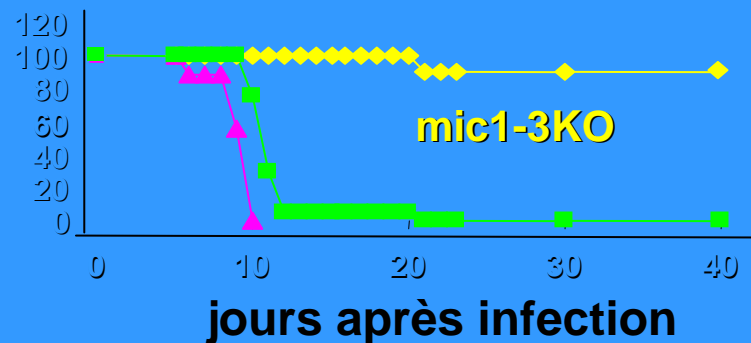
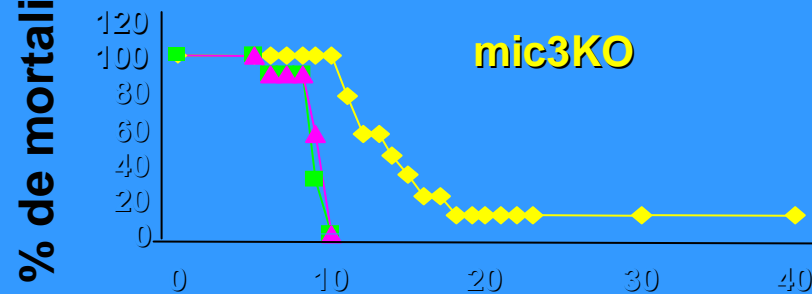
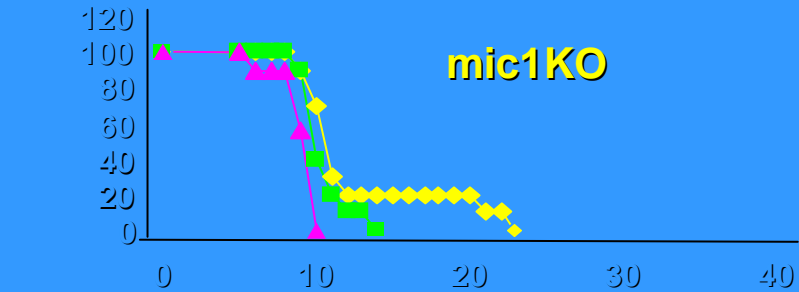
Toxo KO : diminution de la virulence

→ Test de virulence *in vivo*



injection IP de 20 tachyzoïtes
Souris OF1

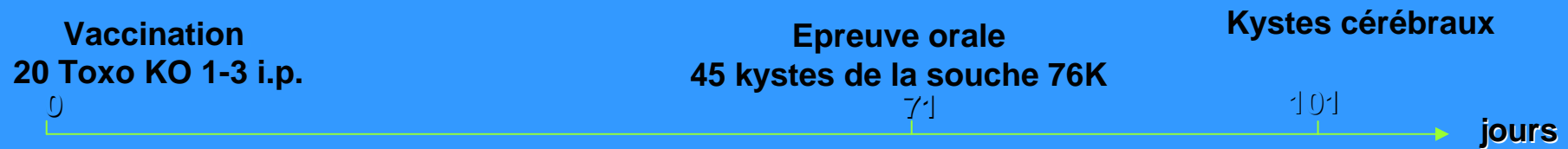
- ◆— KO
- KO Compl.
- ▲— HX



**simples invalidés :
retard de mortalité**

**mic1-3KO :
absence de mortalité**

Toxo KO : Vaccin efficace contre la toxoplasmose chronique murine



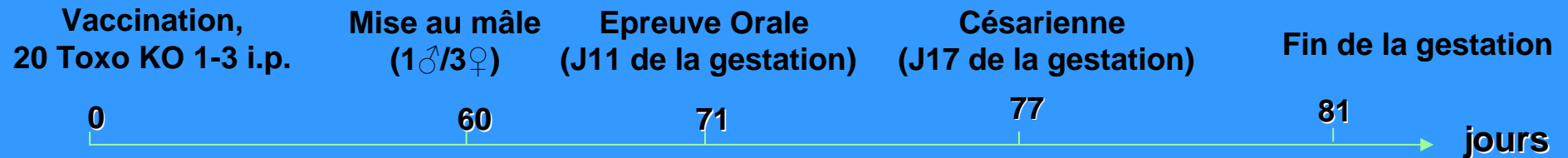
→ Réponses immunes

Forte réponse humorale
Réponse cellulaire Th1

→ Protection

Réduction du nombre de kystes
cérébraux > 95%

Toxo KO : Vaccin efficace contre la toxoplasmose congénitale murine



→ Diminution de la transmission materno-foetale

	non vaccinées	vaccinées
% fœtus positifs	33,3 %	4.6 %

→ Mortalité des souriceaux : non vaccinées

40 % vaccinées 0 %

→ Gain de poids normal (= témoins non infectés)

→ Kystes cérébraux (1 mois après la naissance)

Réduction du nombre de kystes
cérébraux > 91%

Toxo KO : Vaccin efficace contre la toxoplasmose congénitale ovine

→ Protocole expérimental

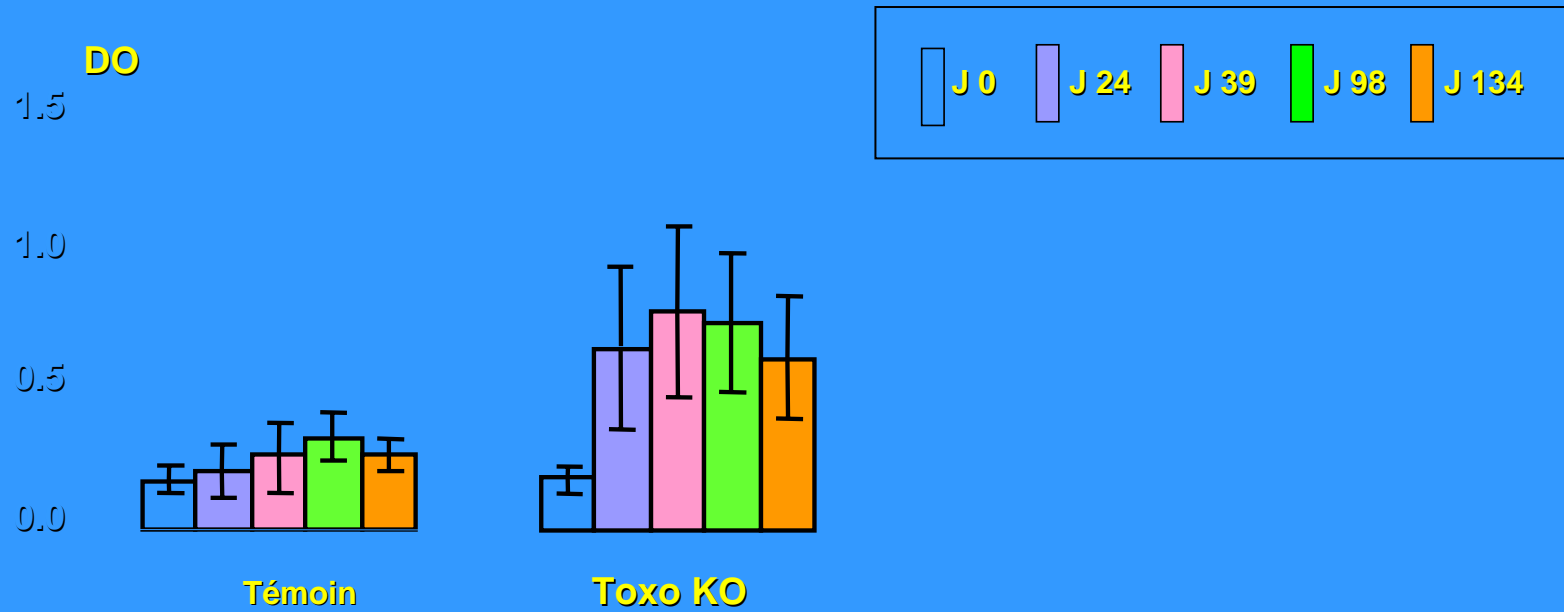
- 12 brebis pré-Alpes séronégatives témoins
- 12 brebis pré-Alpes séronégatives vaccinées par voie sous-cutanée avec 10^5 Toxo KO 1-3



- Mise à la reproduction
- Infection per os à mi-gestation (400 oocystes PRU)
- Observation des avortements



→ Réponse immunitaire



→ Protection

Protection

		Avortements précoces (10-15 jours post infection)	Avortements tardifs	
Non vaccinées	10	6	4	0%
Vaccinées	10	0	1	90%

Poids (kg) à la naissance

Non vaccinées	<1.5
Vaccinées	>3



Toxo KO : conclusions

Avantages

- Génétiquement défini
- Efficace

Inconvénients

- A utiliser chez sujets à système immunitaire fonctionnel
- Stabilité de durée limitée

C'est un « vaccin d'étape »

LES VACCINS MOLECULAIRES

LES VACCINS MOLECULAIRES

Approche rationnelle, d'emblée

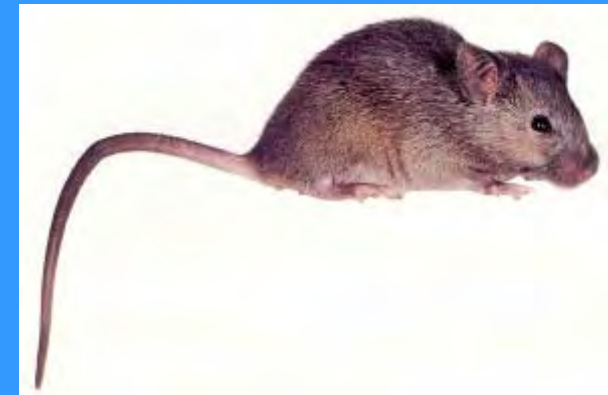
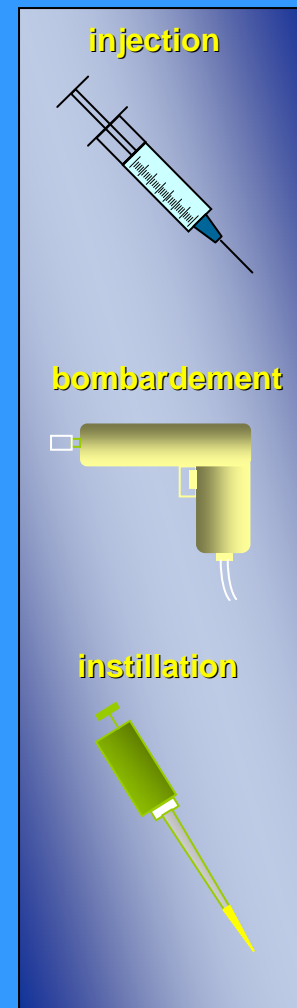
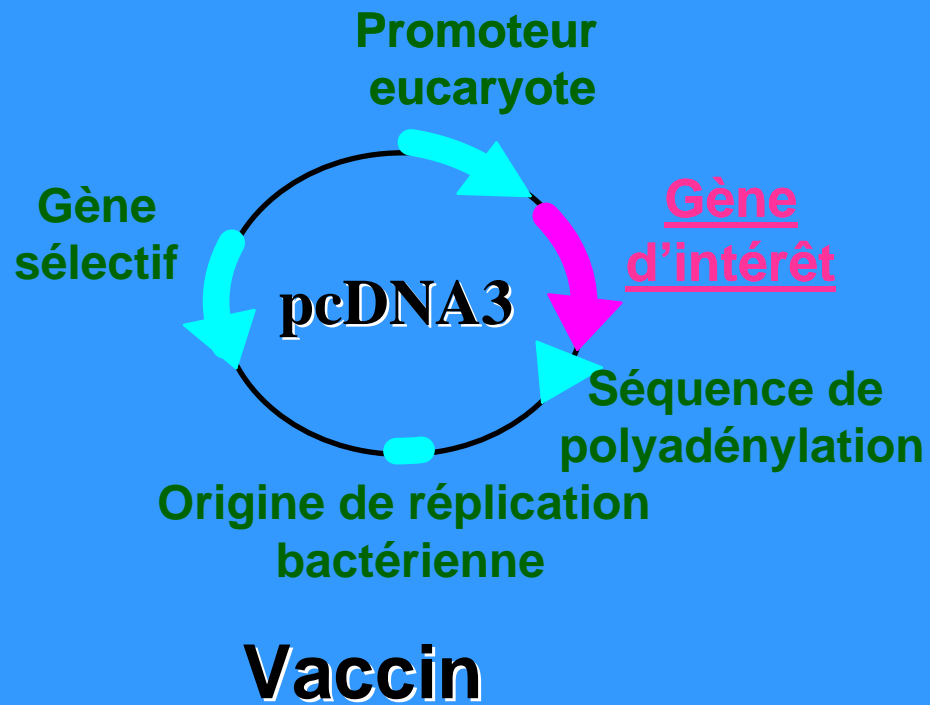
- Ag moléculairement définis
- Ag cibles de la R.I.

Ce sont les vaccins de demain

(ne présentent pas les inconvénients des vaccins vivants)

VACCINATION PAR ADN

Principe:



Hôte à vacciner

VACCINATION par ADN

**Production des antigènes
avec une configuration
de protéines natives**

**Forte induction de réponse
immunitaire**

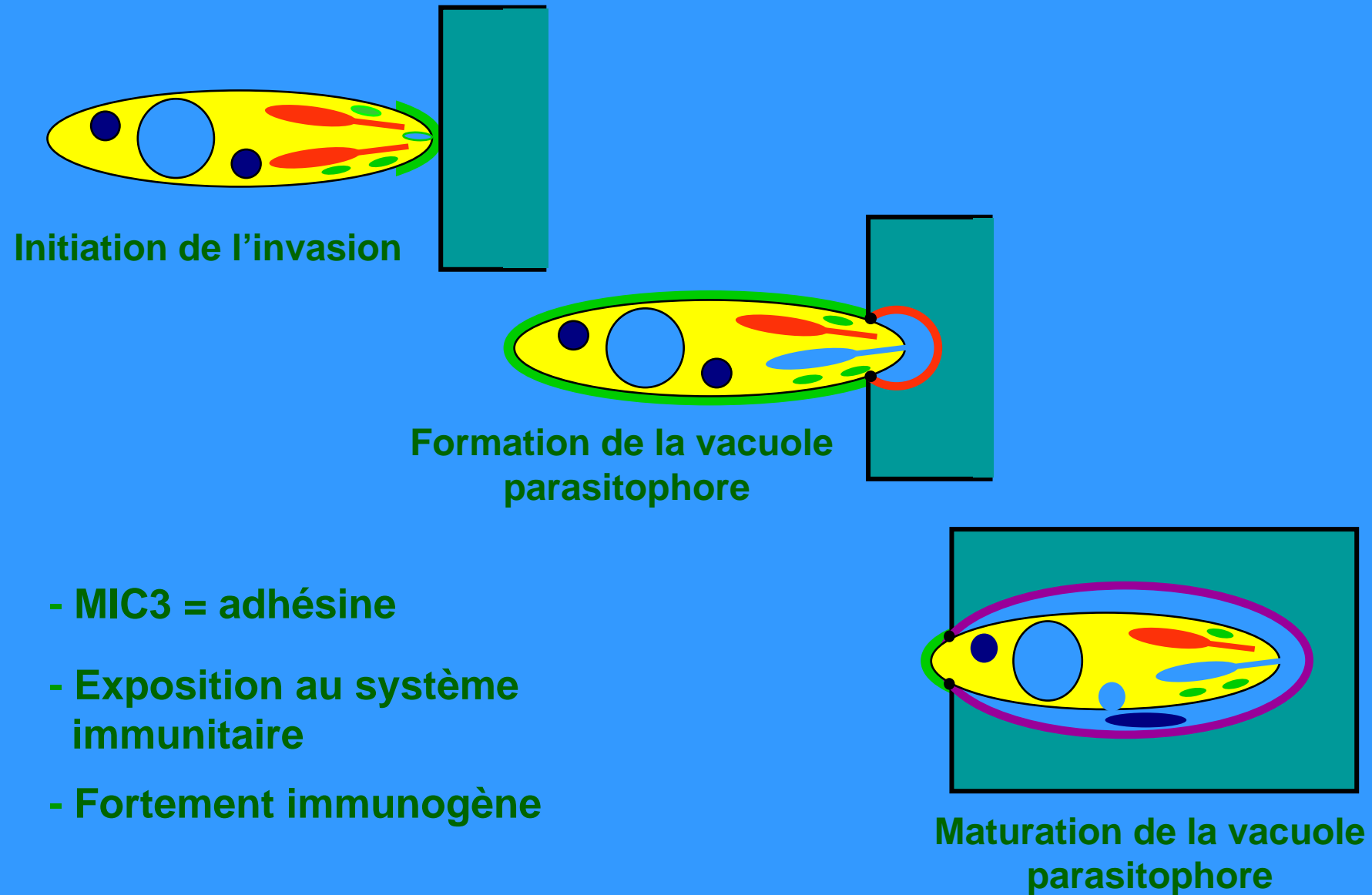
Avantages

**Absence de
réversion**

Coût réduit

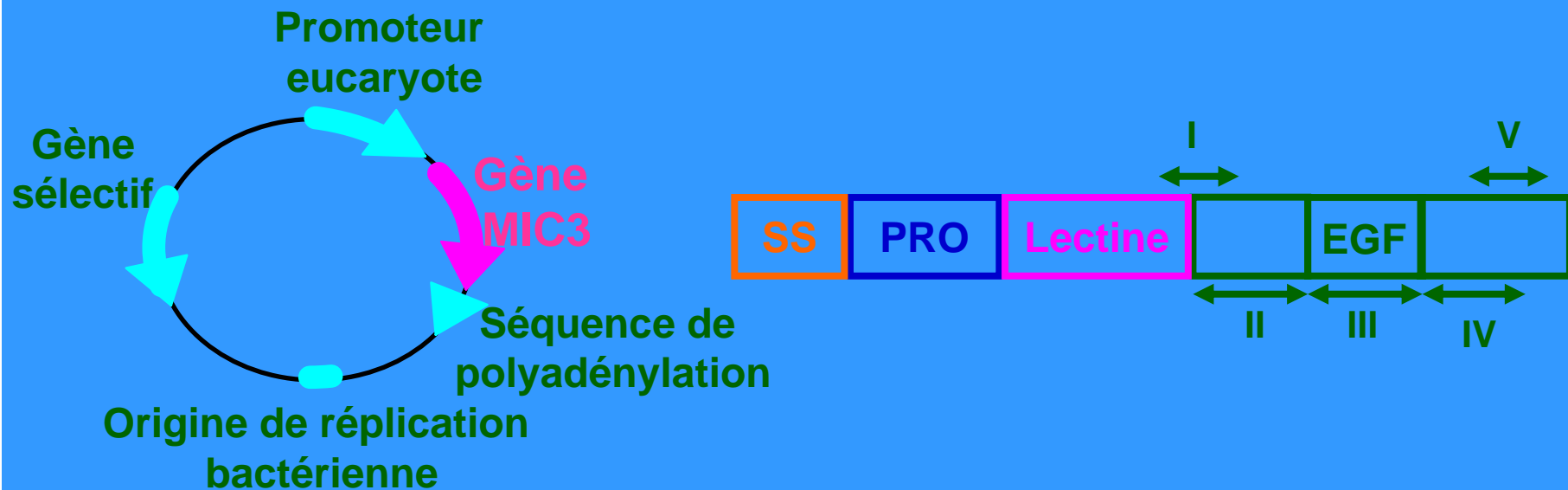
**Mise en œuvre
facile**

VACCINATION par ADN MIC3



- MIC3 = adhésine
- Exposition au système immunitaire
- Fortement immunogène

Construction plasmidique codant pour MIC3 immature



**pcDNA3-MIC3 immature
(pMIC3i)**

SS – PRO – MIC3

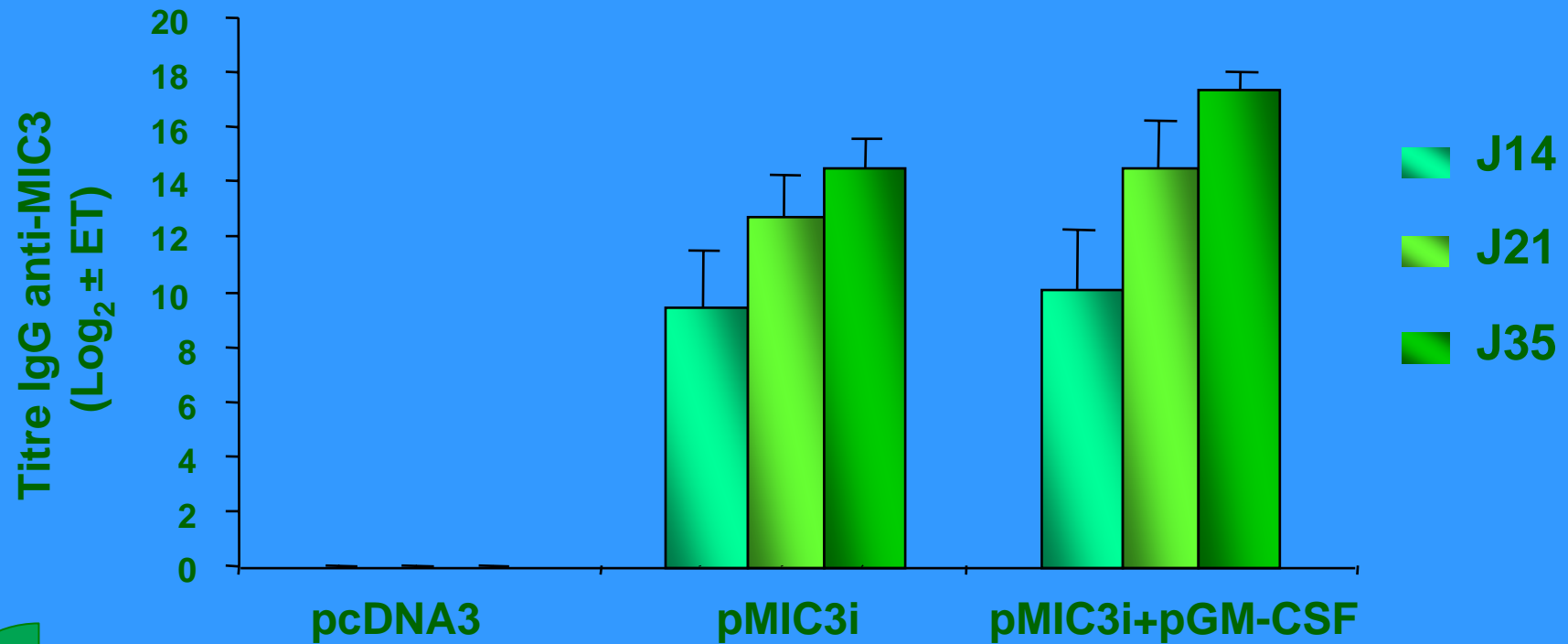
**VACCINATION
avec pMIC3, pGM-CSF**

Souris CBA/J

contre la toxoplasmose chronique

Réponse humorale sérique

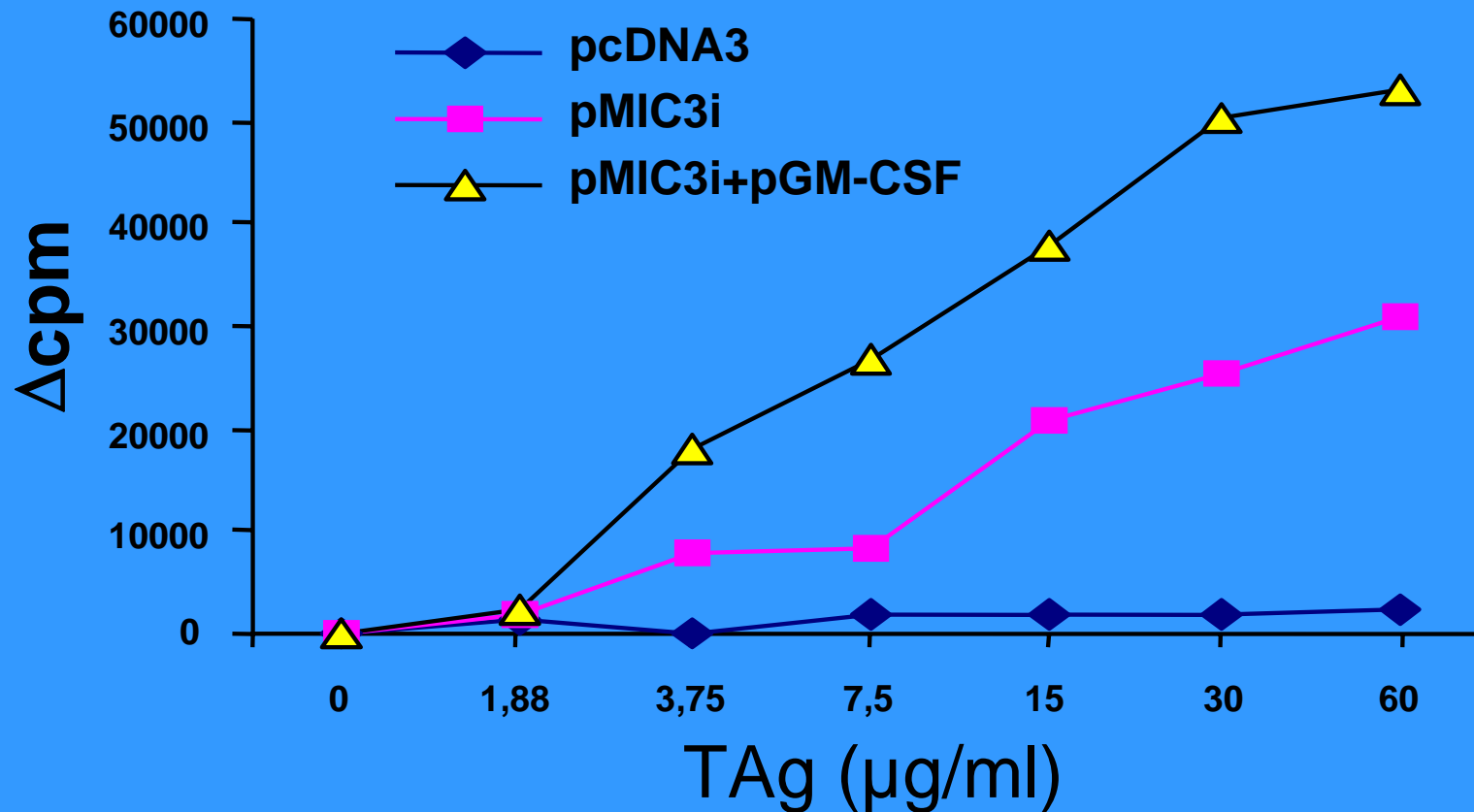
➤ Analyse des IgG sériques anti-MIC3 à J14, J21 et J35 par ELISA



Une forte réponse humorale spécifique

Réponse cellulaire (1)

 Prolifération lymphocytaire splénique, à J45



Une prolifération spécifique et significative

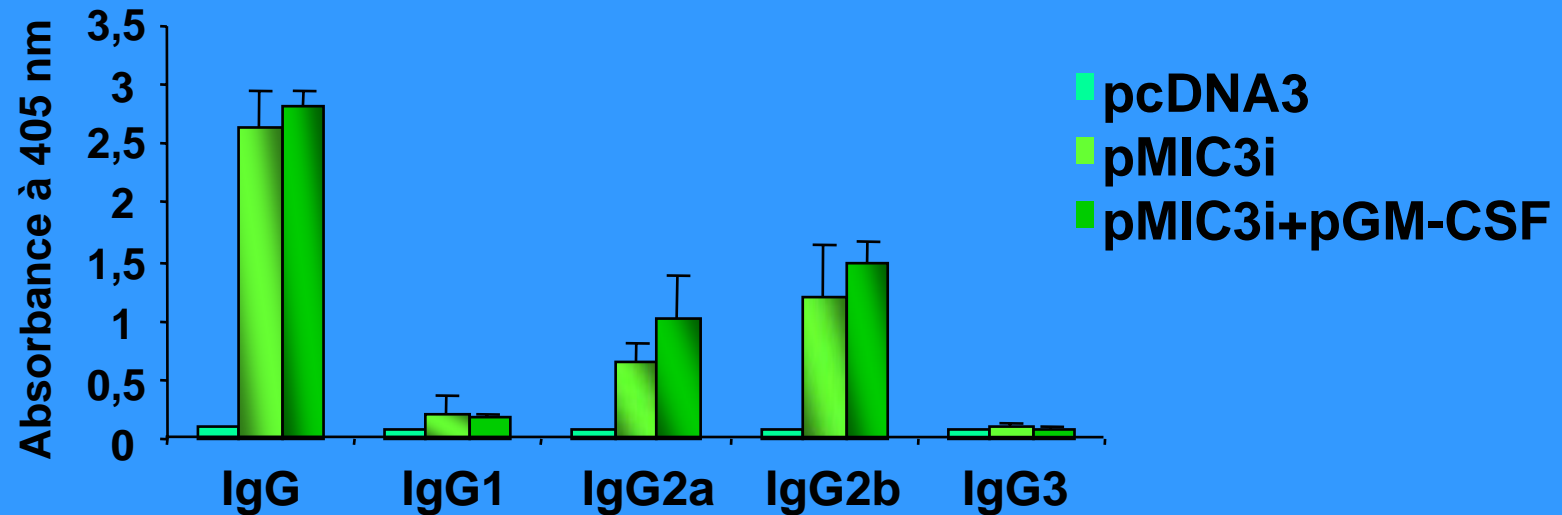
Réponse cellulaire (2)

➤ Cytokines

Cytokines (pg/ml)

Lot	IL-2	IFN- γ (ng/ml)	IL-4	IL-10
pcDNA3	27 \pm 9	10 \pm 1.3	29 \pm 10	281 \pm 167
pMIC3i	210 \pm 45	11 \pm 0.3	32 \pm 14	332 \pm 228
pMIC3i+pGM-CSF	242 \pm 57	112 \pm 11	33 \pm 10	343 \pm 226

➤ Sous-classes d'IgG anti-MIC3

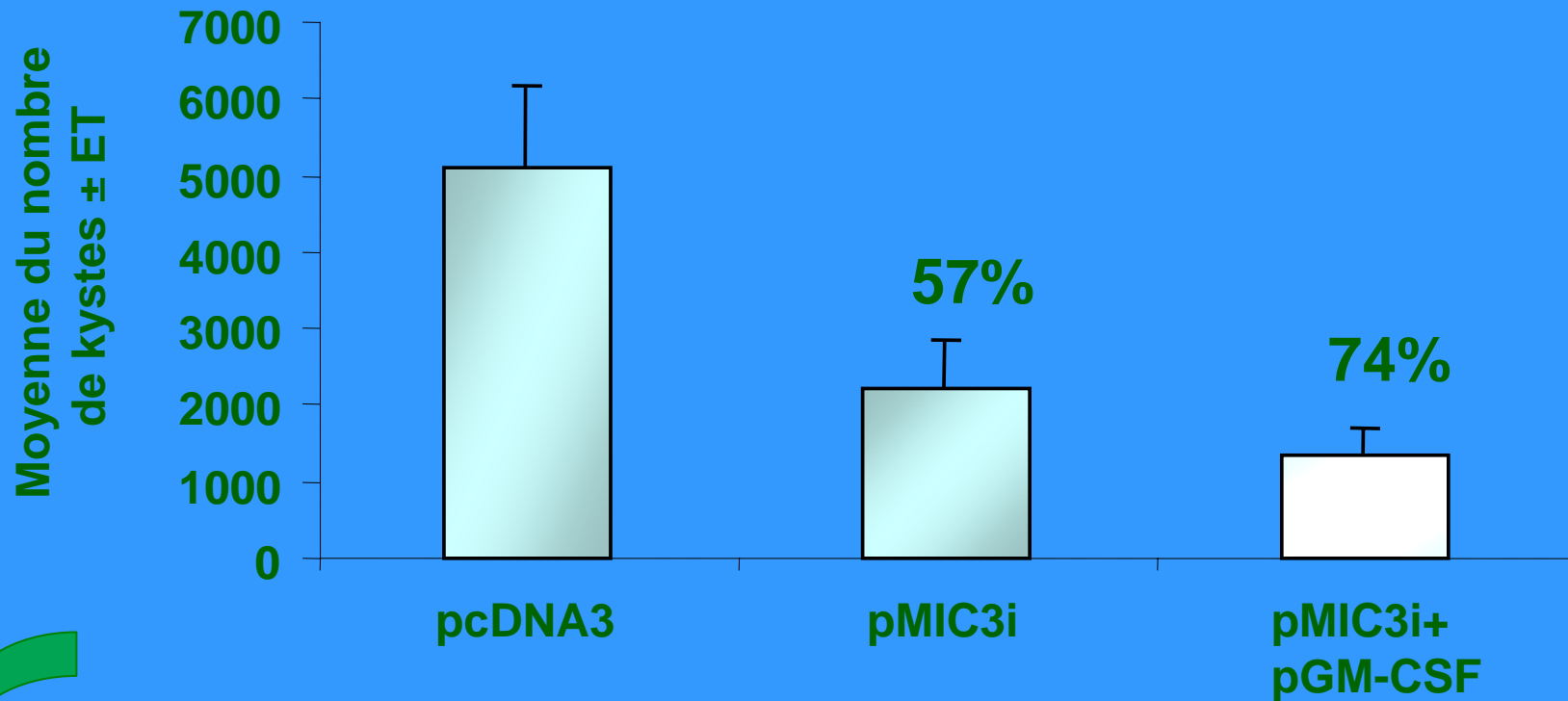


➤ Une réponse cellulaire spécifique Th1

22/11/2004

Évaluation de la protection

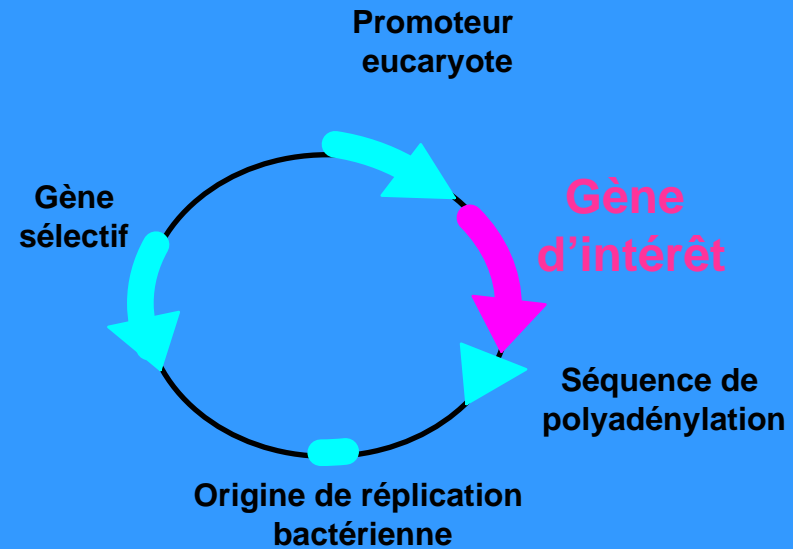
Diminution de la charge parasitaire cérébrale



Protection efficace et significative

AUTRES CONSTRUCTIONS PLASMIDIQUES

Plasmide pcDNA3



GRA4



pcDNA3-GRA4 (pGRA4)

SAG1



↓
QAS



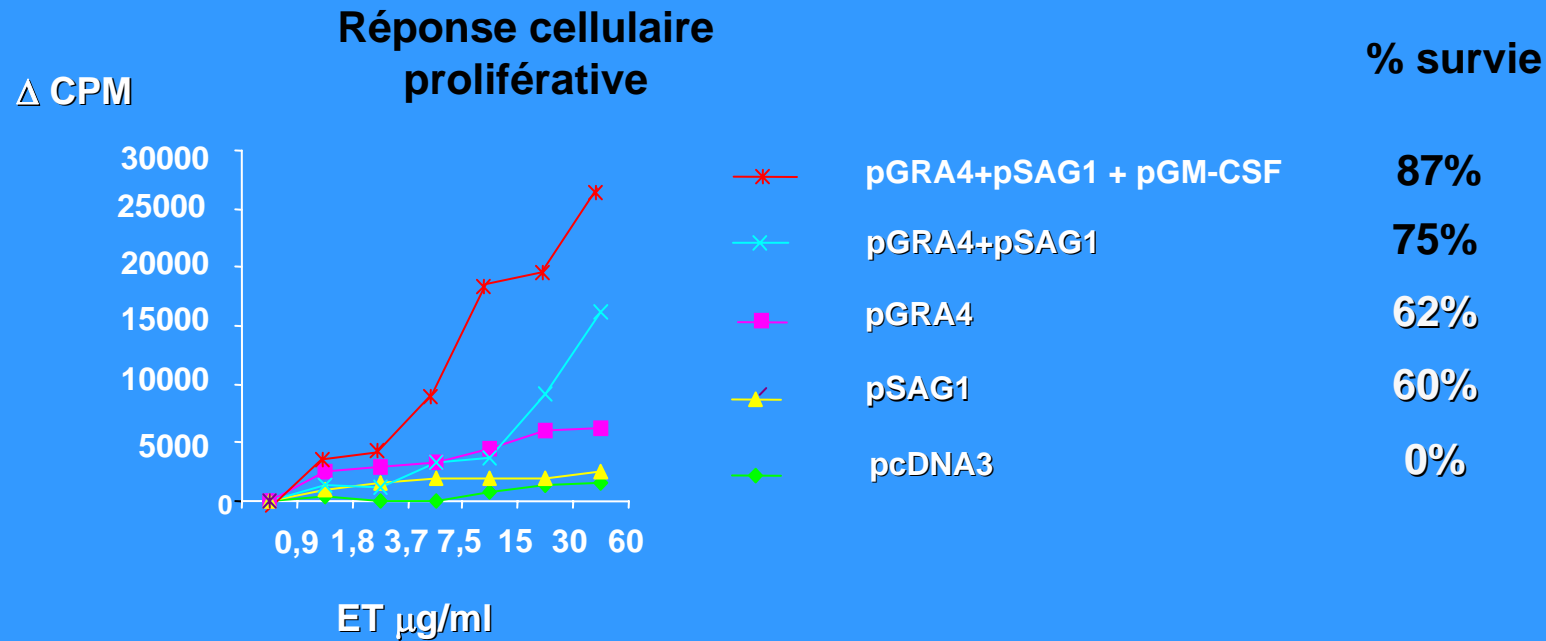
pcDNA3-SAG1mut (pSAG1)

**Vaccination
avec pGRA4, pSAG1, pGM-CSF**

C57BL/6

Contre la toxoplasmose aiguë

Réponse immune et évaluation de la protection



(Mévélec *et al.*, Vaccine, 2005)

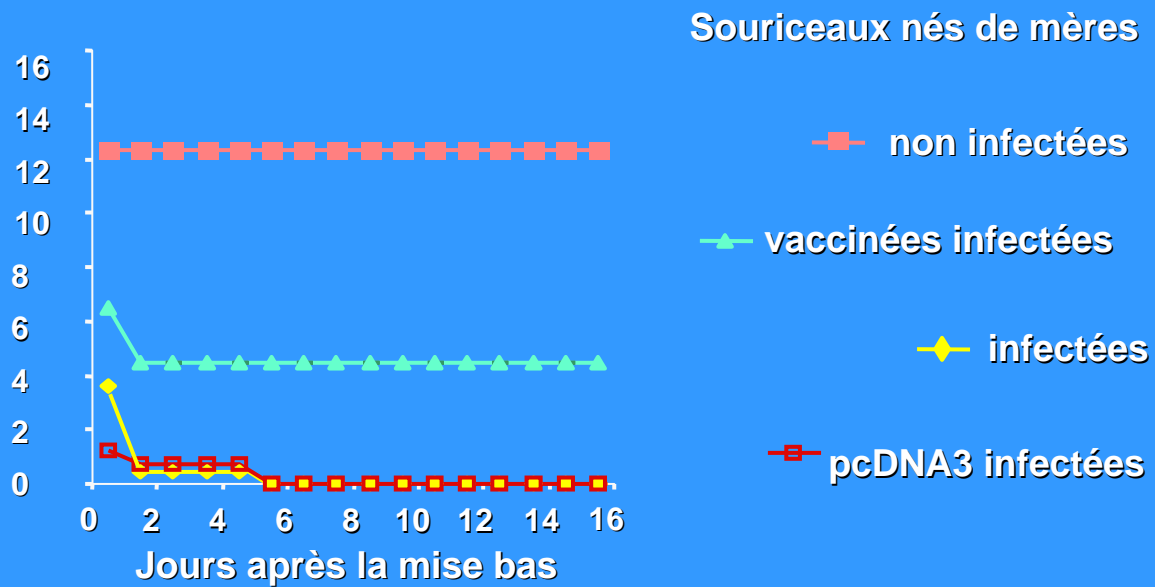
**Vaccination
avec pGRA4, pSAG1, pGM-CSF**

Souris OF1

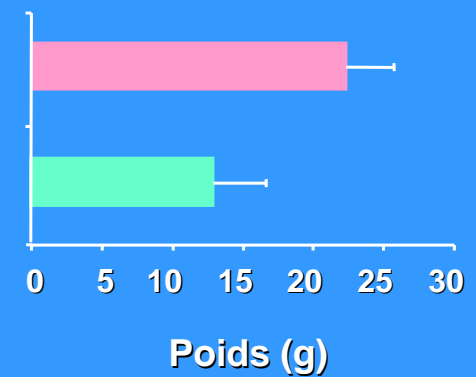
contre la toxoplasmose congénitale

Évaluation de la protection

Nb moyen de souriceaux vivants par portée



Poids des souriceaux à J 30



(Mévélec *et al.*, Vaccine, 2005)

STRATEGIES D'OPTIMISATION

GM-CSF



Vecteur bicistronique

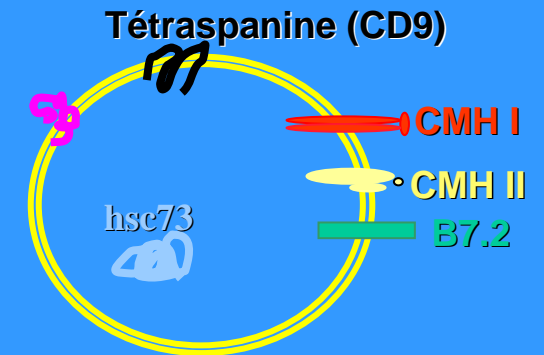
Ciblage des CPAs



Lactadhérine :

Lactadhérine

Exosome de cellule dendritique
Théry et al. 1998



« Prime boost »



ADN
puis Ag protéique

)

LES VACCINS MOLECULAIRES

- **Vaccins inertes (non vivants, non réplicatifs)**
(ne présentent pas les inconvénients des vaccins vivants)
- **Doivent encore être optimisés**

Ce sont les vaccins de demain