

Vaccins contre les schistosomoses

D. Boulanger

I Problématique

Justification théorique

Quelle que soit sa cible, un vaccin sollicite des mécanismes effecteurs différents de ceux suscités par la chimiothérapie, permettant ainsi d'envisager une complémentarité synergique. En outre, il fait intervenir la mémoire du système immunitaire, rendant possible la mise en place d'un contrôle à long terme.

Justification pratique

La stratégie actuelle de contrôle des schistosomoses repose principalement sur l'utilisation en traitement de masse du praziquantel (PZQ). Ses effets secondaires sont fréquemment signalés – 59 % lors d'une enquête récente au Niger (BOHARI, 1999) – mais généralement considérés comme bénins. En revanche, plusieurs cas de flambée bilharzienne post-traitement ont été signalés, notamment dans le cas de foyers mixtes, comme à Diagambal au Sénégal (ERNOULD *et al.*, 1999). L'actuelle accélération du développement des aménagements hydro-agricoles, sites particulièrement propices aux fortes transmissions, complique, en outre, la conduite du traitement médical qu'il devient nécessaire d'assurer de façon répétée. Enfin, bien que le sujet

soit discuté par ailleurs au cours de cet atelier (voir la communication de Mariama Sène), il faut d'ores et déjà envisager la possibilité de développement de résistance au praziquantel, comme suggéré récemment en Égypte (ISMAIL *et al.*, 1999) et au Brésil (CUNHA et NOEL, 1998).

Schistosomes animales

Il n'est pas inintéressant de considérer également le cas des schistosomes à tropisme zoophile. Non seulement elles représentent un frein important au développement des ressources animales mais aussi certaines espèces constituent un danger pour la santé humaine par leur capacité à infester l'homme soit seules (*Schistosoma japonicum*) soit par le biais d'hybrides (*S. mattheei*). Bien que particulièrement difficile à évaluer, l'impact économique de *S. bovis*, par exemple, est très probablement sous-estimé comme l'a montré l'enquête par questionnaire réalisée au Soudan par MAC CAULEY *et al.* (1983). D'après les indications des 155 fermiers interrogés, la bilharziose serait responsable des trois quarts de la mortalité constatée chez les jeunes bovins, ce qui représenterait 7,1 % du cheptel. Le développement des vaccins vétérinaires étant souvent plus rapide que celui de leurs homologues humains (MOREAU *et al.*, 1989), les schistosomes zoophiles représentent, de surcroît, un excellent modèle d'étude préparatoire (BOULANGER *et al.*, 1994).

■ État des lieux

Circonstances

Certaines des caractéristiques biologiques des schistosomes les rendent propices au développement d'un vaccin. D'une part, en tant qu'helminthes, ils ne se multiplient pas de façon végétative chez leur hôte définitif, d'autre part, leur pouvoir pathogène est, la plupart du temps, modéré n'engendrant de risque vital que chez un petit nombre d'individus. Limiter la charge parasitaire à un niveau compatible avec un

état de santé assurant au patient un confort de vie minimal apparaît donc comme un objectif réaliste et accessible.

Sur le plan immunologique, leur présence dans le courant sanguin les rend d'accès facile aux mécanismes effecteurs mais, en contrepartie, 150 millions d'années de co-évolution ont permis au parasite de développer des mécanismes d'échappement particulièrement sophistiqués (CAPRON et DESSEINT, 1985).

Objectifs théoriques

Au regard des circonstances précédemment évoquées, auxquelles il convient de rajouter la focalité de la transmission, il n'est pas illusoire d'afficher l'éradication comme objectif final affiché. En pratique, il est habituellement admis qu'un vaccin capable de limiter la pathologie aux formes bénignes et de contrôler la transmission – voire de l'interrompre – serait d'une utilité incontestable.

Cibles théoriques

Quatre cibles potentielles peuvent être identifiées.

Larve infestante

La larve en migration, notamment aux premières étapes du cycle, est le stade classiquement décrit comme étant le plus vulnérable aux attaques du système immunitaire (BUTTERWORTH *et al.*, 1977). La détruire réduirait la charge vermineuse et la ponte et donc, à la fois, la pathologie et la transmission. Il faut cependant tenir compte des possibles effets secondaires dus à la lyse des larves selon la nature du site d'attrition (MCLAREN, 1989). C'est, toutefois, la meilleure stratégie apparente contre *S. mansoni*, espèce pour laquelle la charge quantitative est le principal déterminant de la pathologie.

Ver adulte

Selon le principe multidécennaire de l'immunité concomitante (SMITHERS et TERRY, 1969), le schistosome adulte est réputé invol-

néral, concept d'ailleurs de plus en plus discuté (AGNEW *et al.*, 1993). Il est cependant possible de réduire sa fécondité (MURRELL *et al.*, 1979), ce qui aboutirait à une minoration de la pathologie et de la transmission dans tous les modèles, sans modification de la charge vermineuse. C'est la meilleure stratégie contre *S. haematobium*, espèce pour laquelle la fécondité focale des couples détermine, pour une large part, les conséquences cliniques de la parasitose.

Œuf

Altérer la physiologie du miracidium contenu dans l'œuf permettrait de diminuer, d'une part, ses capacités d'éclosion et l'infectivité des miracidiums éclos – d'où la transmission – mais également, la pathologie en modulant la réponse granulomateuse autour des œufs enchâssés dans les tissus. Même si l'œuf pondu n'est pas une cible propice en raison de son accessibilité parfois réduite, il est tout à fait possible de l'atteindre en modifiant qualitativement les capacités reproductives des adultes (XU *et al.*, 1991).

Granulome

Il a été envisagé d'influer directement sur la réponse immune de l'hôte suscitée par l'œuf au sein du granulome par le biais, notamment, de modulateurs cytokiniques. Cette stratégie demeure néanmoins dangereuse et spéculative tant il se révèle difficile d'orienter avec précision les mécanismes de défense dans le sens de la protection anti-schistosomes sans altérer gravement le fonctionnement global du système immunitaire.

Pris dans leur ensemble, des mécanismes différemment ciblés peuvent aboutir au même résultat espéré, à savoir le contrôle de la pathologie et de la transmission. Ils sont résumés sur la figure 1.

Stratégies théoriques

Ayant défini les objectifs théoriques et identifié les cibles potentielles du vaccin, il faut désormais vérifier leur adéquation avec le terrain. Face à une situation d'endémie installée, quelle attitude adopter ?

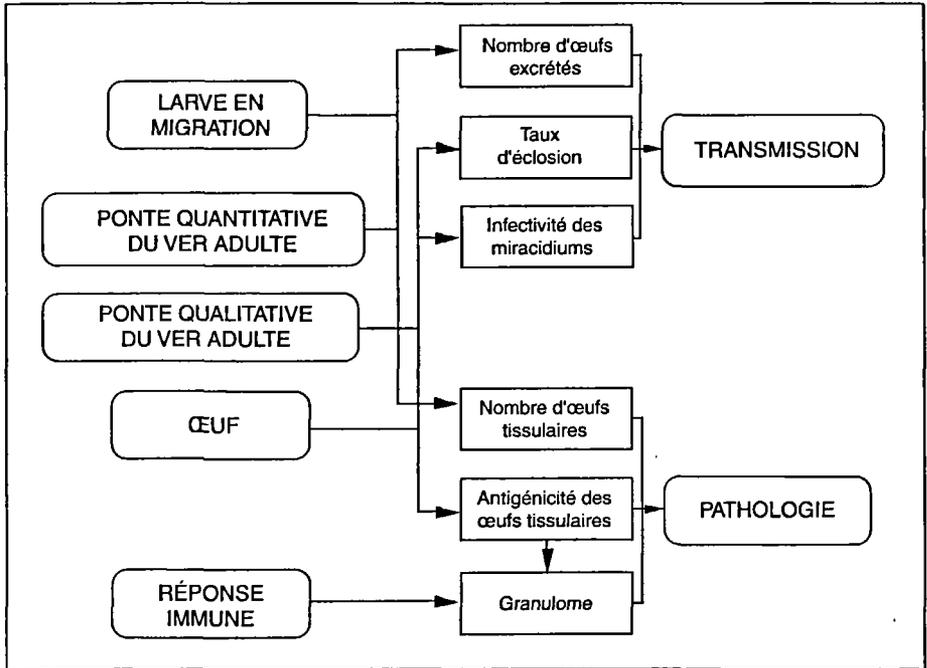


Figure 1

Cibles parasitaires potentielles susceptibles d'être atteintes par un mécanisme effecteur déclenché par un vaccin anti-schistosomes.

Mode préventif

Historique dès qu'il s'agit de vaccination, une conduite préventive se révèle toutefois peu adaptée au cas des schistosomes. Les jeunes enfants sont en effet très précocement sensibilisés aux antigènes bilharziens par l'intermédiaire du lait maternel (SANTORO *et al.*, 1977). Seules quelques communautés spécifiques, tels les populations migrantes en provenance de zones indemnes s'installant dans des foyers préétablis, correspondraient à une utilisation purement préventive du vaccin. La création actuelle de nouveaux sites de transmission par aménagements hydro-agricoles, comme celui ayant abouti à la flambée épidémique de Richard-Toll (KONGS *et al.*, 1996), doit cependant laisser ouverte la possibilité d'une telle utilisation à condition de pouvoir prévoir les néo-infestations. Quant aux touristes, une chimiothérapie ponctuelle leur sera toujours conseillée.

Mode curatif

Considérer la vaccination comme une alternative immunothérapeutique à la chimiothérapie n'est pas, dans l'absolu, irrecevable. Le vérifier posera quelques problèmes éthiques et ne repose actuellement sur aucun argument solide.

Mode synergique

Depuis plus de dix ans (BRINDLEY et SHER, 1987), on sait que le praziquantel nécessite un système immunitaire en état de fonctionner pour exercer pleinement son activité curative. L'idée d'une association à visée synergique est donc tout à fait pertinente. Le rôle du praziquantel serait alors de favoriser l'exposition d'épitopes habituellement non exprimés à la surface du parasite et de faciliter ainsi l'attaque immune. La séquence logique consisterait donc à vacciner avant de traiter afin de permettre au système immunitaire de monter une réponse spécifique avant intervention de la chimiothérapie (FALLON et DOENHOFF, 1995).

La séquence inverse est cependant tout aussi justifiable. La quasi remise à zéro de l'état de sensibilisation spécifique du système immunitaire faisant suite à l'administration du praziquantel permet, en effet, de considérer une immunisation effectuée post-traitement comme une primo-vaccination destinée à prévenir la réapparition des lésions induites par les réinfestations. Des arguments récents obtenus dans un modèle expérimental primate vont dans ce sens (BOULANGER, en préparation).

Historique du développement

L'idée même d'un vaccin, au sens large, anti-bilharzioses est très ancienne et fait suite à la démonstration d'une résistance acquise chez l'animal d'expérience dans les années soixante (SMITHERS et TERRY, 1967). Ont d'abord été explorées les stratégies utilisant le parasite vivant.

Infestations abortives ou croisées

Certaines espèces de schistosomes sont incapables d'accomplir leur cycle migratoire complet chez un hôte non approprié. Dans ce cas, on ne trouve pas de population adulte établie et fertile, donc pas de pathologie associée aux œufs. La première idée stratégique a été d'utiliser cette situation pour déclencher chez l'hôte une réponse protectrice hétérologue sans conséquence lésionnelle. Elle peut aboutir dans certains cas, comme chez le babouin primo-infesté par *S. bovis* qui devient résistant à un challenge par *S. mansoni* (TAYLOR, 1975), alors que *S. bovis* ne parvient pas à maturation dans cette espèce.

De même, de très nombreux exemples de protections croisées entre schistosomes et d'autres espèces de parasites, notamment de trématodes, témoignent de l'existence d'antigènes communs interspécifiques. Des résultats positifs ont été obtenus, dans ce contexte, par utilisation d'antigènes provenant de *Fasciola* (HILLYER *et al.*, 1988).

Larves atténuées

Mention particulière doit être faite pour une stratégie qui a connu un développement conséquent depuis 25 ans. Il s'agit de l'administration de larves infestantes ayant subi un traitement (agents chimiques, rayonnements X ou gamma) les rendant incapables de parvenir à maturité complète.

Ce type de vaccin avait déjà été utilisé avec succès dans le cadre de la bronchite vermineuse bovine (*Dictyocaulus viviparus*), responsable d'une pathologie pulmonaire sévère chez le jeune bovin (JARRETT *et al.*, 1960). Ce fut, à l'époque, le premier vaccin anti-parasitaire moderne. Longtemps commercialisé (Dictol®), il ne l'est plus, du moins en France.

Les mécanismes par lesquels les cercaires ou les schistosomules irradiés se révèlent protecteurs sont désormais bien connus, du moins chez les rongeurs. Ils font intervenir une forte composante cellulaire s'exprimant notamment au niveau pulmonaire (WILSON, 1998). La mise en application chez l'homme de cette stratégie se heurte cependant à deux obstacles majeurs : d'une part, les contraintes logistiques inhérentes à la production à grande échelle d'un vaccin constitué de larves vivantes, d'autre part, la difficulté de caractère éthique d'ad-

ministrer à un être humain des organismes vivants modifiés par rayonnements ionisants.

Vaccins définis

L'idée d'un vaccin concrètement à usage humain date des années quatre-vingt : elle repose, d'une part, sur l'hypothèse argumentée de l'existence d'une immunité à la réinfestation chez l'homme (BUTTERWORTH *et al.*, 1987) et, d'autre part, sur le développement de nouvelles technologies permettant d'envisager la production industrielle, à moindre coût, de vaccins définis (sous-unités), plus acceptables sur le plan éthique. Laissant de côté les extraits parasitaires bruts (type antigène total de ver adulte) qui ont démontré leur inefficacité, nous nous attarderons sur les trois grandes catégories d'antigènes définis :

- les antigènes purifiés à partir d'extraits parasitaires bruts. Nécessitant d'importantes quantités de matériel parasite et de lourdes techniques de séparation moléculaire, leur coût reste prohibitif ;
- les molécules obtenues par recombinaison génétique suite au clonage d'un gène unique du parasite. Elles représentent une stratégie de choix pour un usage humain car leur standardisation est possible pour un prix de revient relativement acceptable ;
- les peptides synthétiques sélectionnés sur des critères à la fois immunologiques (accessibilité épitopique) et physicochimiques (hydrophilicité-mobilité) par le biais d'algorithmes prédictifs (AURIAULT, 1991). Ils offrent, en théorie, les meilleures garanties d'efficacité mais leur production est onéreuse et leur purification ardue.

Candidats actuels

En cette année 2000, quatre candidats vaccinaux ont entamé le cycle préparatoire devant aboutir aux essais cliniques. Leurs principales caractéristiques sont résumées sur le tableau 1.

Leur état d'avancement ainsi que leur calendrier de développement – tels qu'ils sont annoncés en décembre 1999 – sont indiqués sur le tableau 2.

À noter que les deux candidats américains – les deux seuls antigènes (sur six) ayant été retenus par l'OMS après un processus de sélection

	Sm97	MAP4	Sh28GST	Sm12
Espèce	<i>mansoni</i>	<i>mansoni</i>	<i>haematobium</i>	<i>mansoni/Fasciola</i>
Nature	paramyosine	Enzyme	Enzyme	Binding Protein
Forme	recombinante ?	peptide	recombinante	recombinante
Équipe	Bethesda USA	Harvard USA	Pasteur Lille France	Oswaldo Cruz Brésil
Référence	Pearce 1988	Reynolds 1994	Boulanger 1999	Tendler 1996
Support	Usaid/OMS	Usaid/OMS	Union européenne	?

Tableau 1
Caractéristiques générales
des quatre candidats vaccinaux les plus avancés.

Candidat	GLP	Toxicologie	Phase I	Phase II
Sh28GST	1997	1997	1998	2000
Sm97	en cours	2000	2001	2002
MAP4	en cours	2000	2001	2002
Sm12	?	?	?	?

Tableau 2
Calendrier prévisionnel du développement vaccinal
des quatre candidats les plus avancés
(GLP : good laboratory product).

décrit par ailleurs (BERGQUIST et COLLEY, 1998) – font face à des difficultés de production de lots standardisés. La paramyosine (Sm97 de Bethesda) n'est plus actuellement disponible sous forme recombinante. Le MAP4, peptide synthétique d'Harvard, pose également de sérieux problèmes de purification. Quant à la Sm12 d'Oswaldo Cruz, son avenir semble plutôt s'orienter vers le développement d'un vaccin à visée vétérinaire. Le candidat le plus avancé est donc la Sh28GST (Bilhvax) de l'Institut Pasteur de Lille (Promoteur : professeur André Capron). Son développement devant être assuré en Afrique de l'Ouest (Sénégal et Niger), elle mérite un développement particulier dans le cadre de cet atelier.

Bilhvax

Historique

L'antigène Sh28GST désigne un membre de la famille enzymatique des glutathion *S*-transférases (GST), cloné à partir du cDNA de *S. haematobium* (Sh) et d'un poids moléculaire de 28 000 Daltons. Son obtention sous forme recombinante remonte à 1992 (TROTTEIN *et al.*, 1992). Elle est la dernière des 28GST à avoir démontré expérimentalement des capacités protectrices face à une infestation d'épreuve homologue (BOULANGER *et al.*, 1999), après la Sm28GST clonée à partir de *S. mansoni* (BOULANGER *et al.*, 1991) et la Sb28GST clonée à partir de *S. bovis* (BOULANGER *et al.*, 1994). Administrée préventivement au singe patas, elle permet de réduire l'excrétion des œufs de près de 80 % tout en minorant la pathologie vésicale constatée après 8 mois d'infestation. Son mécanisme d'action supposé s'appuie sur une inhibition anticorps-dépendante de l'activité enzymatique GST. Elle s'est, de plus, révélée immunogène tant avant qu'après traitement au praziquantel chez le patas chroniquement infesté (BOULANGER, en préparation). Son développement s'oriente désormais vers la mise au point de vaccins de deuxième génération, que ce soit par changement de formulation (liposomes, microsphères, voie muqueuse) ou par exploration d'autres formes d'expression (vaccin ADN, BCG).

État d'avancement

Ayant démontré ses capacités expérimentales, la molécule a subi, en 1997, la batterie de tests toxicologiques nécessaires à sa production sous forme GMP (Good Manufacturing Product). Les essais cliniques de phase Ia (adultes caucasiens sains) et Ib (enfants africains sains), axés sur l'aspect toxicologique, se sont déroulés avec succès, respectivement à Lille et à Saint-Louis du Sénégal. Les phases IIa et IIb (adultes africains infestés, en association avec le praziquantel) ont commencé en avril 2000 au Sénégal. Elles seront suivies, avant la fin de l'année, par les phases IIc et IId (enfants africains infectés, en association avec le praziquantel) menées par le Cermes de Niamey

au Niger. L'ensemble des phases II, essentiellement focalisées sur la vérification d'absence d'effets secondaires, permettront de vérifier, pour la première fois, l'immunogénicité de la molécule chez l'enfant en état d'infestation chronique, groupe considéré comme devant bénéficier de façon privilégiée du futur vaccin.

I Perspectives

Si les deux molécules candidates américaines parviennent à résoudre leurs problèmes de production, elles bénéficieront très probablement d'un fort soutien de la part de l'Usaid, mais aussi d'éventuels développeurs nord-américains.

Bilhvax est, à l'heure actuelle, à la recherche d'un partenaire industriel susceptible de participer au développement des phases III destinées à vérifier le pouvoir protecteur réel de la molécule en conditions d'endémie humaine constituée.

Quel que soit le candidat, un certain nombre de questions restent posées.

- Comment le vaccin s'insérera-t-il dans les campagnes actuelles de lutte contre les bilharzioses (chimiothérapie, contrôle du vecteur, éducation sanitaire) ?
- Pourrait-il être inclus dans le Programme élargi de vaccination (PEV) ?
- Quel financement pour le lancement des programmes de vaccination ?

Toutes ces questions prospectives, ainsi que de nombreuses autres, font l'objet de discussions au sein d'un réseau créé à l'initiative de l'Union européenne (International Research and Technology Development (RTD) programmes – DG XII) sous le nom de SVN (Schistosomiasis Vaccine Network). Son coordinateur en est le Dr Gilles Riveau (gilles.riveau@pasteur-lille.fr) et son secrétaire le Dr Jan de Bont (Jan.De-Bont@pasteur-lille.fr). Son organisation, ses objectifs ainsi que les comptes rendus de ses différentes réunions sont consultables sur le site Internet : <http://www.pasteur-lille.fr/svn/>. Trois réunions ont déjà été tenues :

- Gand, Belgique (mai 1999) : identification et standardisation des critères d'évaluation sur le terrain de l'efficacité d'un vaccin ;
- Rio de Janeiro, Brésil (décembre 1999) : contribution des enquêtes immuno-épidémiologiques au développement de vaccins contre les schistosomoses ;
- Nakuru, Kenya (mai 2000) : évaluation et contrôle de la transmission des schistosomes ;

Une quatrième est prévue en novembre 2000 à Saint-Louis (Sénégal) pour faire le bilan des essais vaccinaux et discuter des premiers résultats.

Conclusion

La vaccination contre les schistosomoses humaines représente un espoir ancien que l'on peut considérer, sans optimisme excessif, comme étant en cours de concrétisation. Quel que soit le résultat des phases cliniques, il apparaît raisonnable de ne considérer un tel vaccin que comme un outil complémentaire non exclusif des actuelles mesures de contrôle déjà en application. À ce stade, de nombreuses questions demeurent cependant ouvertes notamment dans le domaine de sa mise en œuvre pratique que chacun espère assez performante pour pouvoir contribuer de manière significative au recul de l'endémie bilharzienne.

Bibliographie

- AGNEW A. M., MURARE H. M., DOENHOFF M. J., 1993 — Immune attrition of adult schistosomes. *Parasite Immunol.*, 15 : 261-271.
- AURIAULT C., WOLOWCZUK I., GRAS-MASSE H., MARGUERITE M., BOULANGER D., CAPRON A., TARTAR A., 1991 — Epitopic characterization and vaccinal potential of peptides derived from a major antigen of *Schistosoma mansoni* (Sm28GST). *Peptide Res.*, 4 : 6-11.
- BERGQUIST N. R., COLLEY D. G., 1998 — Schistosomiasis vaccines : research to development. *Parasitology Today*, 14 : 99-104.
- BOHARI Z., 1999 — *Efficacité et effets secondaires du praziquantel en traitement de masse de la schistosomiase urinaire en milieu scolaire*. Thèse doc. méd., univ. Niamey, 73 p.
- BOULANGER D., REID G. D., STURROCK R. F., WOLOWCZUK I., BALLOUL J. M., GREZEL D., OTIENO M. F., GUERRET S., GRIMAUD J.A., BUTTERWORTH A. E., CAPRON A., 1991 — Immunization of mice and baboons with the recombinant Sm28GST affects both worm viability and fecundity after experimental infection with *Schistosoma mansoni*. *Parasite Immunol.*, 13 : 473-490.
- BOULANGER D., TROTTEIN F., MAUNY F., BRÉMOND P., COURET D., PIERCE R. J., KADRI S., GODIN C., SELLIN B., LECOCQ J. P., SELLIN B., CAPRON A., 1994 — Vaccination of goats against the trematode *Schistosoma bovis* with a recombinant homologous schistosome-derived glutathione S-transferase. *Parasite Immunol.*, 16 : 399-406.
- BOULANGER D., WARTER A., SELLIN B., LINDNER V., PIERCE R. J., CHIPPAUX J.-P., CAPRON A., 1999 — Vaccine potential of a recombinant glutathione S-transferase cloned from *Schistosoma haematobium* in primates experimentally infected with an homologous challenge. *Vaccine*, 17 : 319-326.
- BRINDLEY P. J., SHER A., 1987 — The chemotherapeutic effect of praziquantel against *Schistosoma mansoni* is dependent on host antibody response. *J. Immunol.*, 139 : 215-220.
- BUTTERWORTH A. E., REMOLD H. G., HOUBA V., DAVID J. R., FRANKS D., 1977 — Antibody-dependent eosinophil-mediated damage to ⁵¹Cr-labeled schistosomula of *Schistosoma mansoni* : mediation by IgG and inhibition by antigen-antibody complexes. *J. Immunol.*, 18 : 2230-2236.
- BUTTERWORTH A. E., HAGAN P., 1987 — Immunity in human schistosomiasis. *Parasitology Today*, 3, 11-16.
- CAPRON A., DESSAINT J. P., 1985 — Effector and regulatory mechanisms in immunity to schistosomes : a heuristic view. *Ann. Rev. Immunol.*, 3 : 455-476.
- CUNHA V. M., NOEL F., 1998 — (Ca²⁺-Mg²⁺)ATPase in *Schistosoma mansoni* : evidence for heterogeneity and resistance to praziquantel. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 93 : 181-182.

- ERNOULD J.-C., BA K.,
SELLIN B. 1999 —
Increase of intestinal schistosomiasis after praziquantel treatment in a *Schistosoma haematobium* and *Schistosoma mansoni* mixed focus. *Acta Trop.*, 73 : 143-152.
- FALLON P. G.,
DOENHOFF M. J., 1995 —
Active immunization of mice with *Schistosoma mansoni* worm membrane antigens enhances efficacy of praziquantel. *Parasite Immunol.*, 17 : 261-268.
- HILLYER G. V., GARCIA ROSA M. I.,
ALICEA H., HERNANDEZ A., 1988 —
Successful vaccination against murine *Schistosoma mansoni* infection with a purified 12kD *Fasciola hepatica* crossreactive antigen. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 38 : 103-110.
- ISMAIL M., BOTROS S., METWALLY A.,
WILLIAM S., FARGHALY A., TAO L. F.,
DAY T. A., BENNETT J. L., 1999 —
Resistance to praziquantel: direct evidence from *Schistosoma mansoni* isolated from Egyptian villagers. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 60 : 932-935.
- JARRETT W. F. H., JENNINGS F. W.,
MACINTYRE W. I. M., MULLIGAN W.,
URQUHART G. M., 1960 —
Immunological studies on *Dictyocaulus viviparus* infection. Immunity produced by the administration of irradiated larvae. *Immunology*, 3 : 145-151.
- KONGS A., VERLE P., DIENG A.,
TALLA I., ROUQUET P., 1996 —
Clinical investigation of a population recently infected with *Schistosoma mansoni* (Richard-Toll, Senegal). *Trop. Med. Int. Health*, 1 : 191-198.
- MAC CAULEY E. H., TAYEB A., MAJID A. A., 1983 —
Owner survey of schistosomiasis mortality in sudanese cattle. *Trop. Anim. Health Prod.*, 15 : 227-233.
- MCLAREN D. J., 1989 —
Will the real target of immunity to schistosomiasis please stand up? *Parasitology Today*, 5 : 279-282.
- MOREAU Y., VIDOR E., BISSUEL G.,
DUBREUIL N., 1989 —
Vaccination against canine babesiosis : an overview of field observations. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 83 : 95-96.
- MURRELL K. D., CLARK S. S.,
DEAN D. A., VANNIER W. E., 1979 —
Schistosoma mansoni : immunization of *cynomolgus* monkeys by injection of irradiated schistosomula. *Exp. Parasitol.*, 48 : 415-420.
- PEARCE E. J., JAMES S. L., HIENY S.,
LANAR D. E., SHER A. 1988 —
Induction of protective immunity against *Schistosoma mansoni* by vaccination with schistosome paramyosin (Sm97), a nonsurface parasite antigen. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 85 : 5678-5682.
- REYNOLDS S. R., DAHL C. E.,
HARN D. A., 1994 —
T and B epitope determination and analysis of multiple antigenic peptides for the *Schistosoma mansoni* experimental vaccine triose-phosphate isomerase. *J. Immunol.*, 152 : 193-200.
- SANTORO F., CARLIER Y.,
BOROJEVIC R., BOUT D., TACHON P.,
CAPRON A. 1977 —
Parasite 'M' antigen in milk from mothers infected with *Schistosoma mansoni*. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 71 : 121-123.
- SMITHERS S. R., TERRY R. J., 1967 —
Resistance to experimental infection with *Schistosoma mansoni* in rhesus monkeys induced by the transfer of adult worms. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 61, 517-533.

SMITHERS S. R., TERRY R. J., 1969 —
Immunity in schistosomiasis. *Ann.
New York Acad. Sc.*, 160 : 826-840.

TAYLOR M. G., 1975 —
« Towards the development of a live
vaccine for schistosomiasis ». In :
*Nuclear Techniques in Helminthology
Research*. International Atomic
Energy Agency, Vienna : 165-173.

TENDLER M., BRITO C.A.,
VILAR M. M., SERRA FREIRE N.,
DIOGO C. M., ALMEIDA M. S.,
DELBEM A. C., DA-SILVA J. F.,
SAVINO W., GARRATT R. C., KATZ N.,
SIMPSON A. S., 1996 —
A *Schistosoma mansoni* fatty acid-
binding protein, Sm14, is the potential
basis of a dual-purpose anti-helminth
vaccine. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*,
93 : 269-273.

TROTTEIN F., GODIN C., PIERCE R.
J. SELLIN B., TAYLOR M. G.,
GORILLOT I., SILVA M. S., LECOCQ J. P.,
CAPRON A., 1992 —
Inter-species variation of schistosome
28-kDa glutathione S-transferases.
Mol. Biochem. Parasitol., 54, 63-72.

WILSON R. A., 1998 —
Interferon gamma is a key cytokine in
lung phase immunity to schistosomes
but what is its precise role? *Braz.
J. Med. Biol. Res.*, 31 : 157-161.

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