

# Leishmaniose et immunité

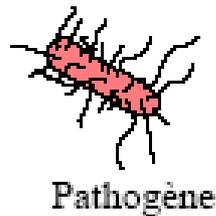
**Pr. Ag Mélika Ben Ahmed**



**Laboratoire LTCII – Institut Pasteur de Tunis**

# Mise en place des mécanismes effecteurs

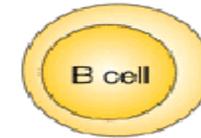
Récepteurs spécifiques



Effraction des barrières naturelles

LB

LT



Immunité innée

Mise en place de la défense

Immunité adaptative

1

Notion de danger et d'urgence

Réponse immédiate

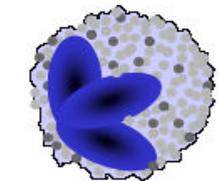
=  
Réponse non spécifique  
(réaction inflammatoire)

Effecteurs primaires (vasculaires)

- Plaquettes
- Protéines de l'inflammation
- Complément

Effecteurs cellulaires

- Polynucléaires Neutrophiles
- Macrophages / Cellules dendritiques



Polynucléaire Neutrophile



Macrophage

2

Réponse adaptée

Réponse spécifique

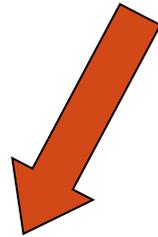
Besoin de temps pour être efficace

=  
latence

Immunité acquise

+

# La réponse immune adaptative

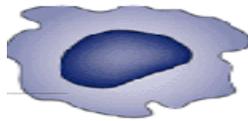


LT CD4

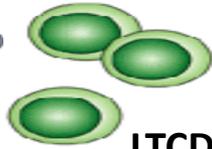


Réponses cellulaires

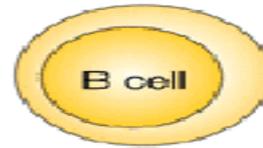
Réponses humorales



macrophage



LTCD8 cytotoxiques



B cell



▪ Bactéries/ protozoaires  
intra-cellulaires



- Virus
- Tumeurs

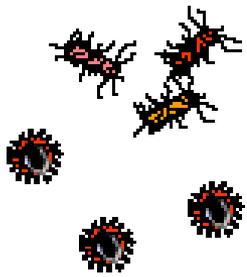


Anticorps



Microorganismes  
extra-cellulaires

## Site de pénétration



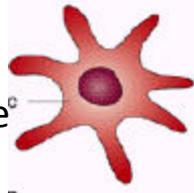
Pathogènes

Peau et muqueuse

Signaux de danger =  
PAMPS



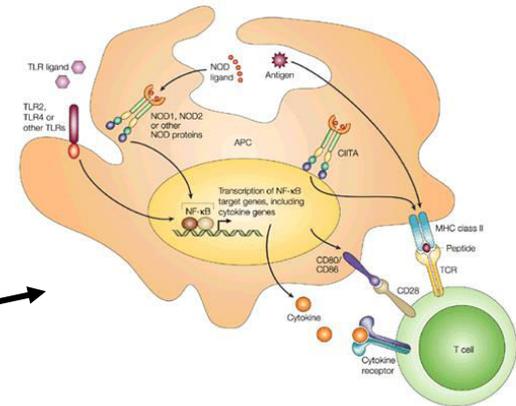
Cellule  
dendritique



elles achèvent leur maturation  
molécules de costimulation++  
acquièrent la capacité de migrer .

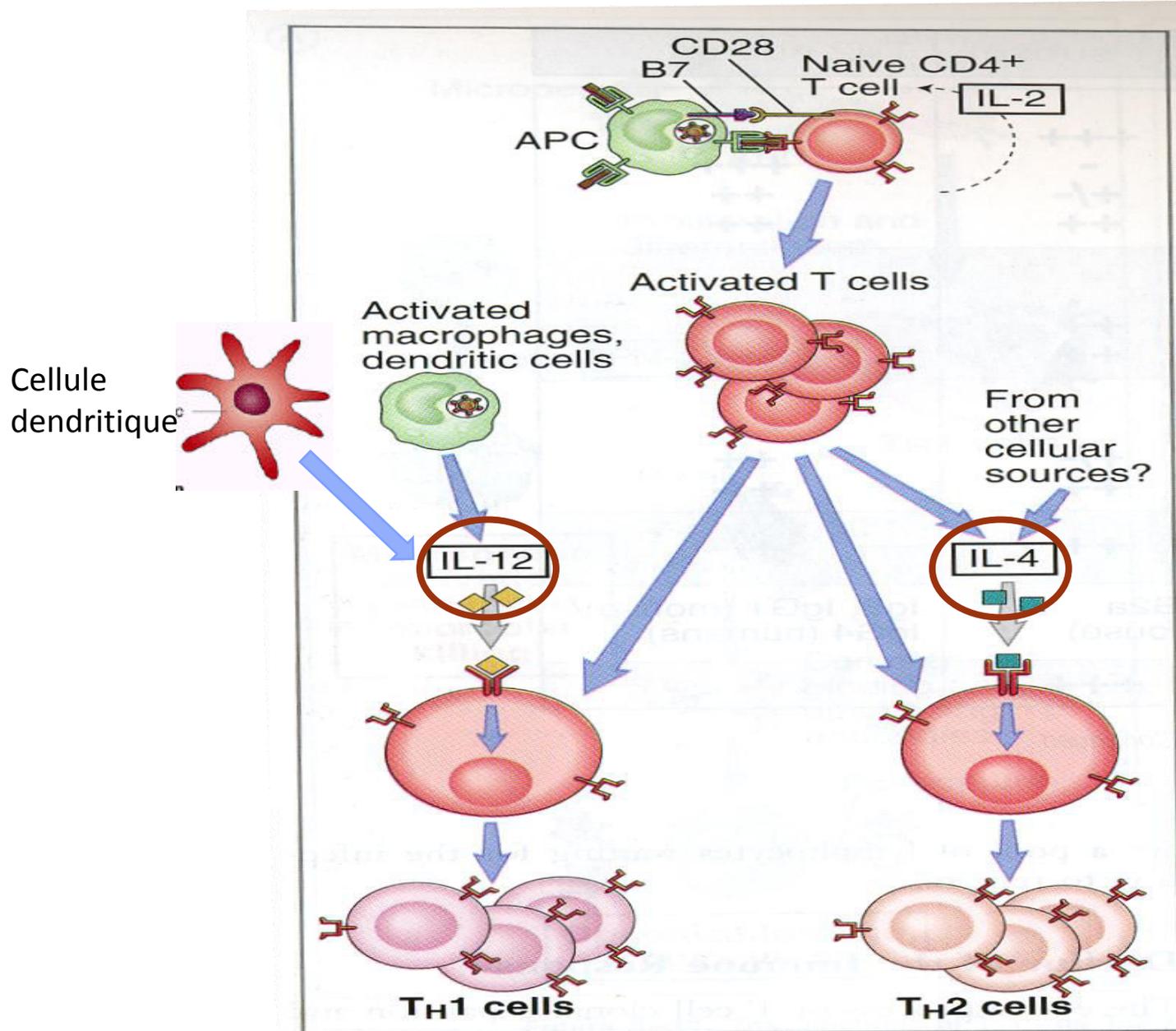
## Site d'induction de la réponse immune

Ganglions périphériques



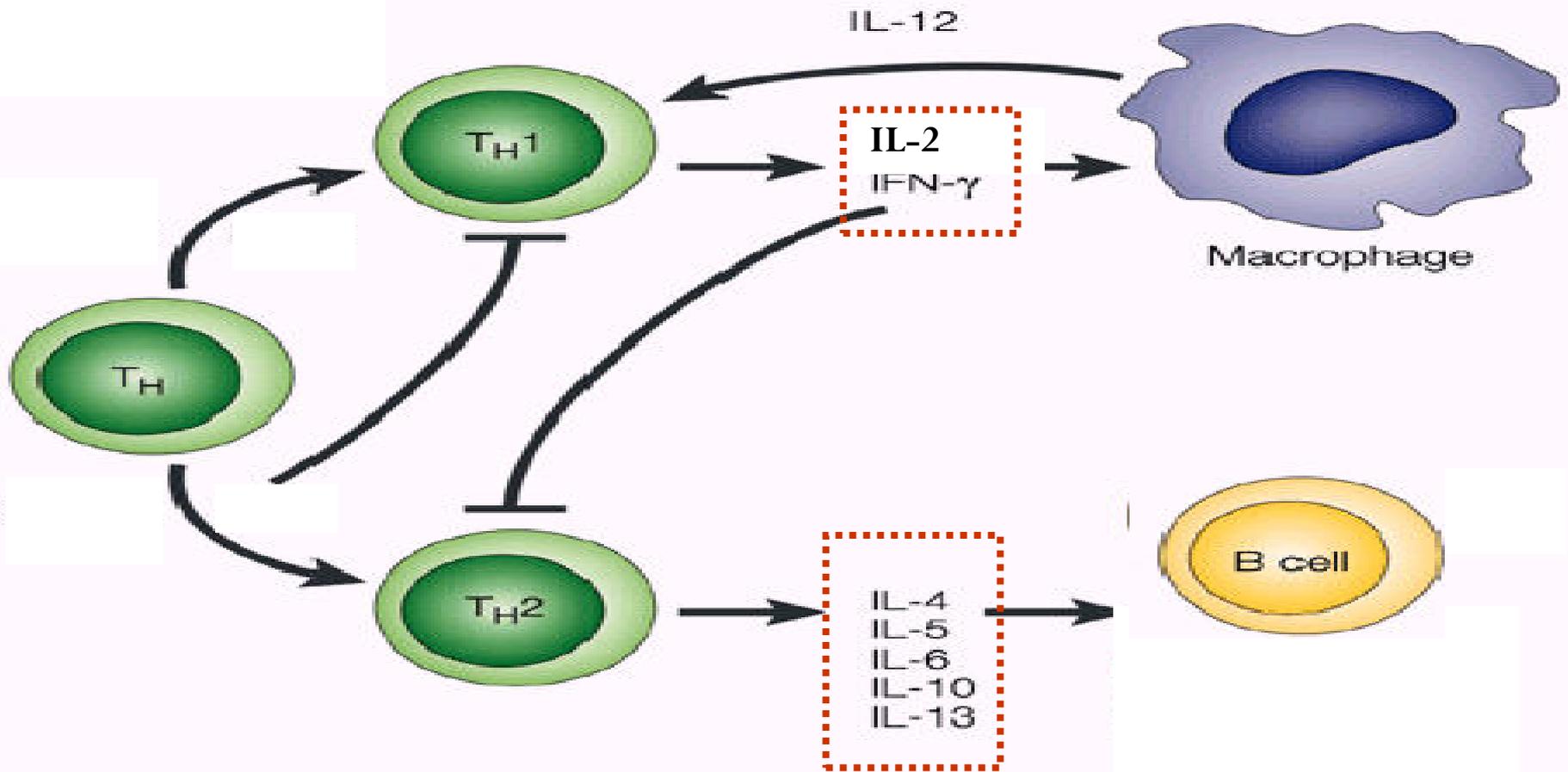
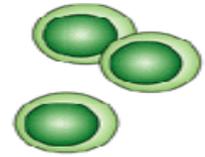
en exprimant des  
et du CMH et

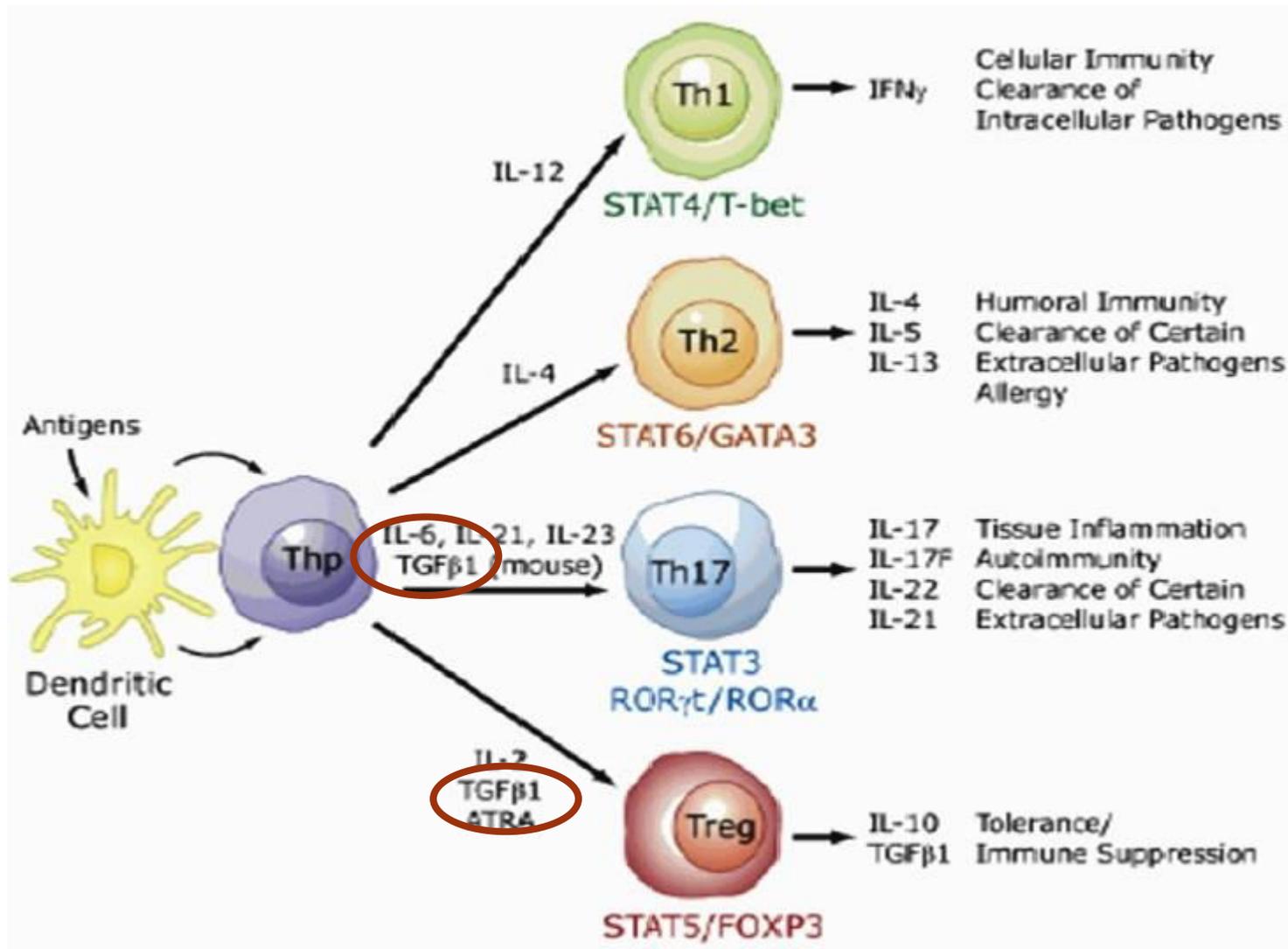
# Dichotomie fonctionnelle



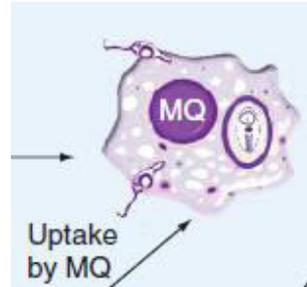
# INTERACTION TH1/TH2

LT CD8+

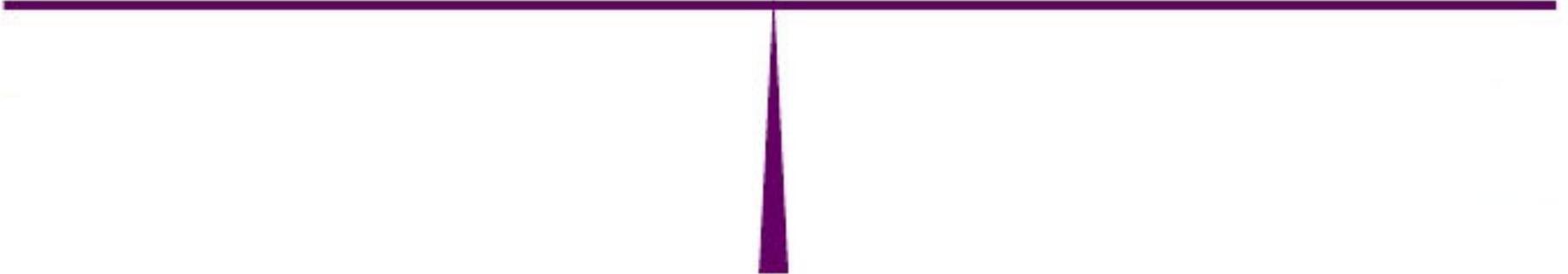




Mécanismes  
d'échappement



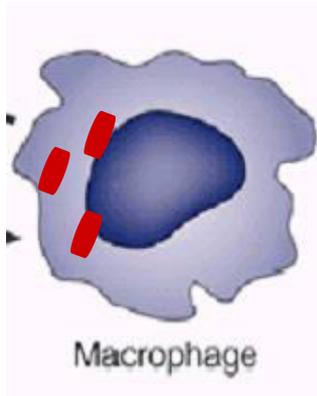
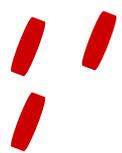
Réponse immunitaire  
adéquate



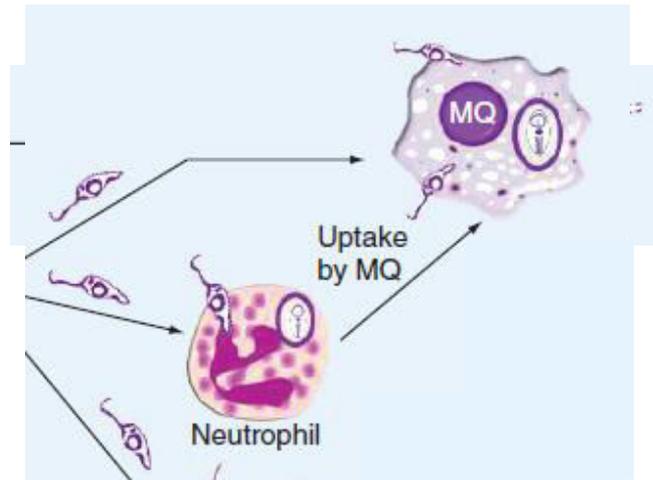
# Site de pénétration

muqueuse

*Leishmania*

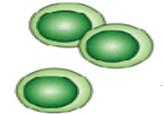


Macrophage



Uptake by MQ

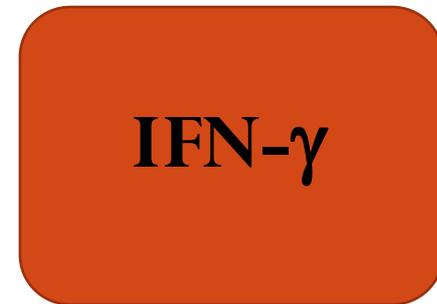
Neutrophil



CD4 Th1



**Persistence**



Inhiber la fusion phagosome/endosome

Inhiber les enzymes lytiques

Inhiber la production de NO

Production IL-10 et TGF-β

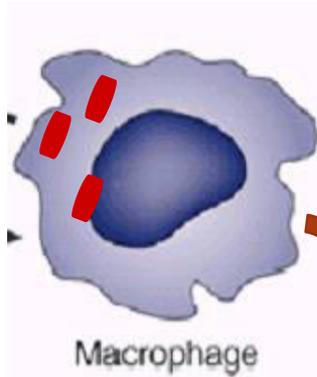
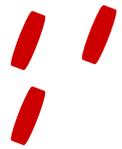
# Site de pénétration

# Site d'induction de la réponse immune

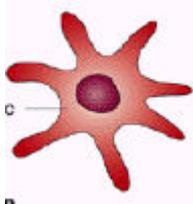
muqueuse

Ganglions périphériques

*Leishmania*



Macrophage

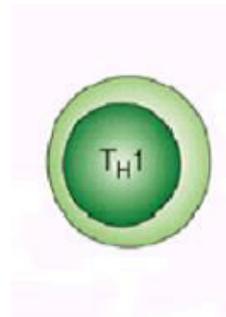
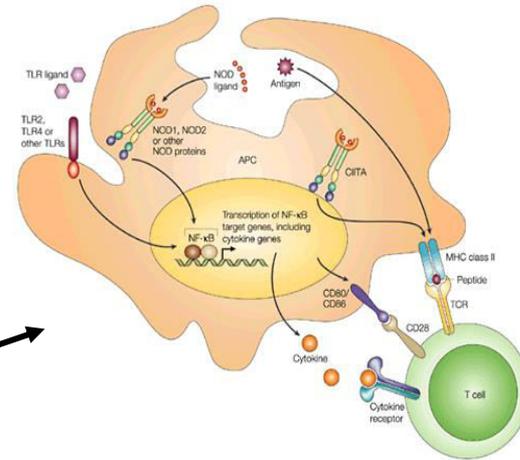


Cellule dendritique

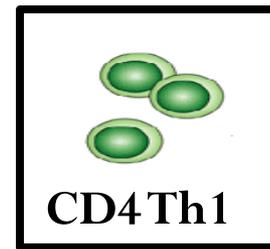
IFN- $\gamma$

IL-12

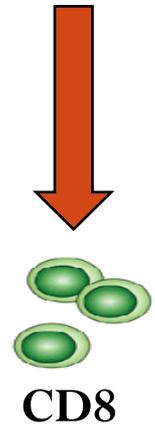
- $\nearrow$  Bactéricidie ( $\nearrow$  NO, superoxyde, etc.)
- $\nearrow$  Molécules d'adhésion
- $\nearrow$  TNF et IL-1



TH1

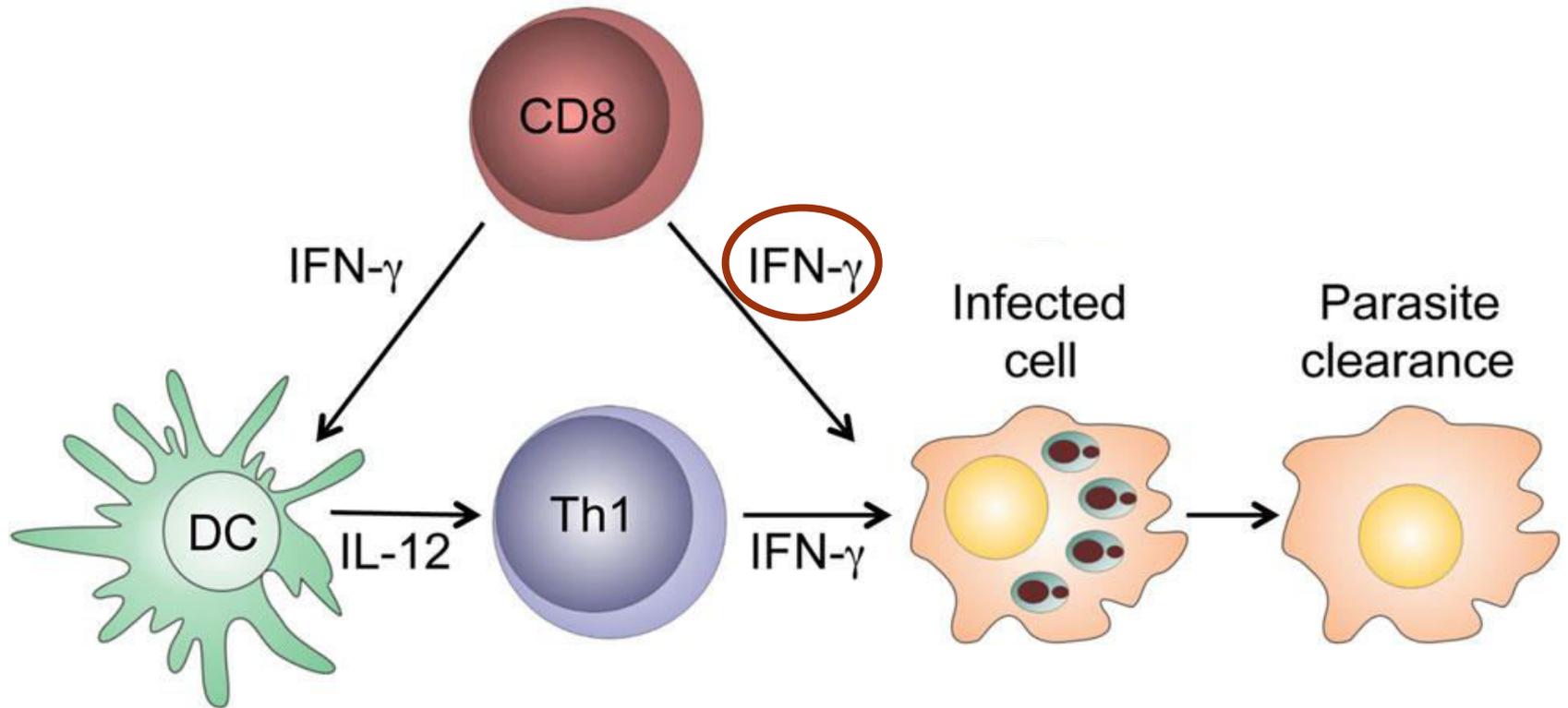


CD4 Th1



CD8

# ROLE DU LYMPHOCYTE CD8

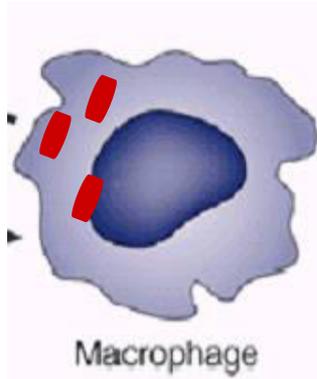
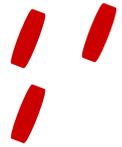


# Site de pénétration

# Site d'induction de la réponse immune

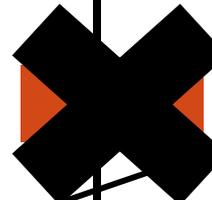
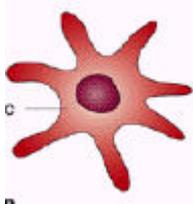
muqueuse

*Leishmania*

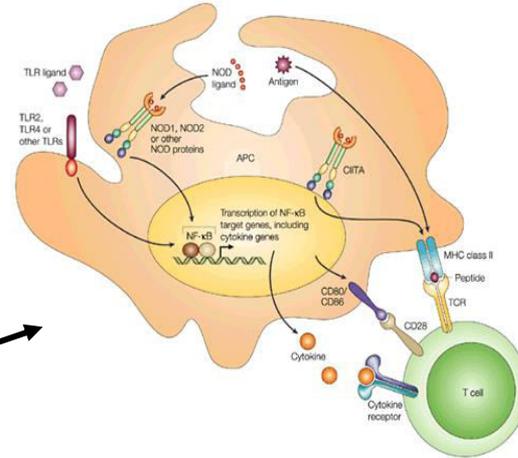


Macrophage

Cellule dendritique



Ganglions périphériques

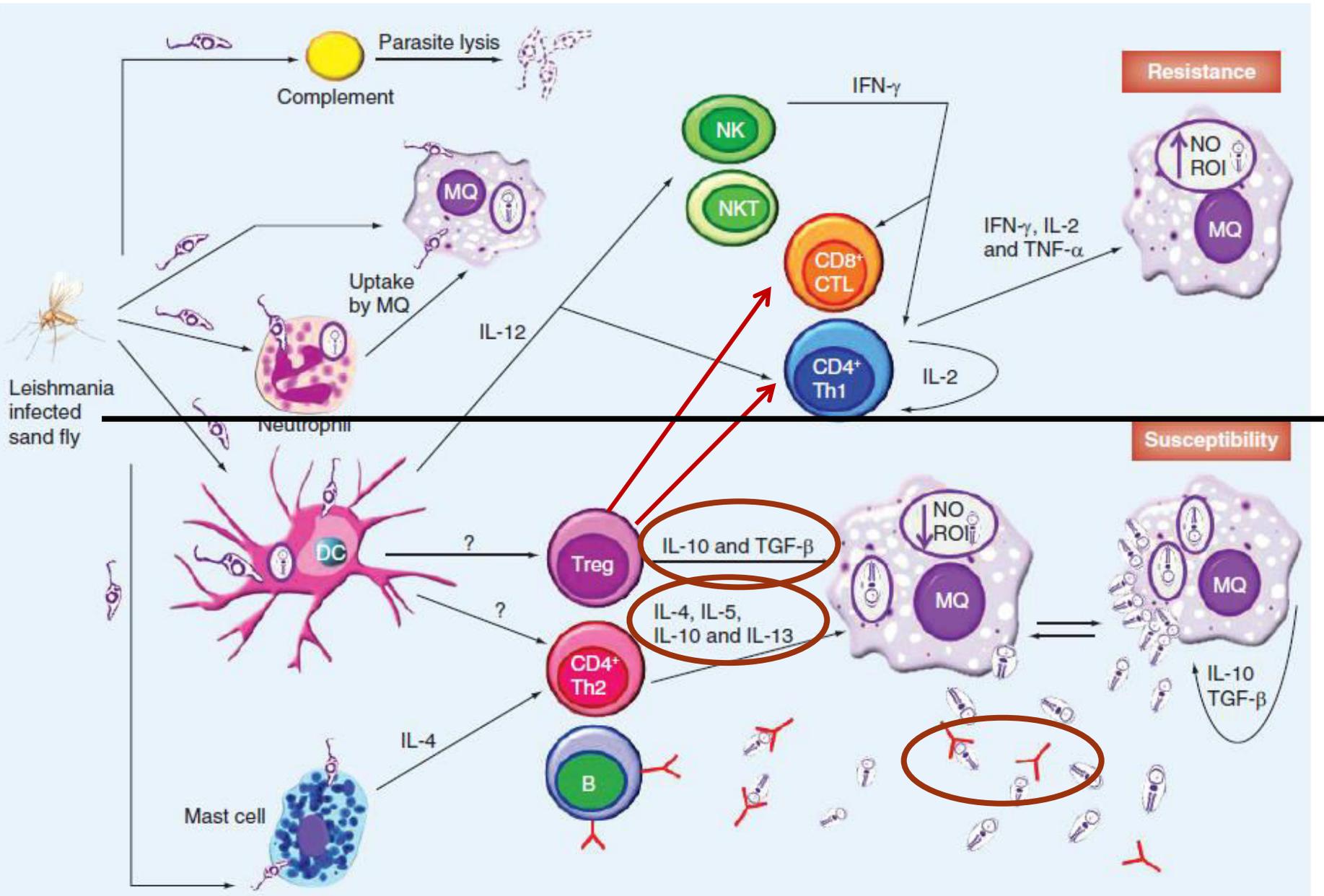


Inhiber la signalisation de la CD (*L. donovani*)

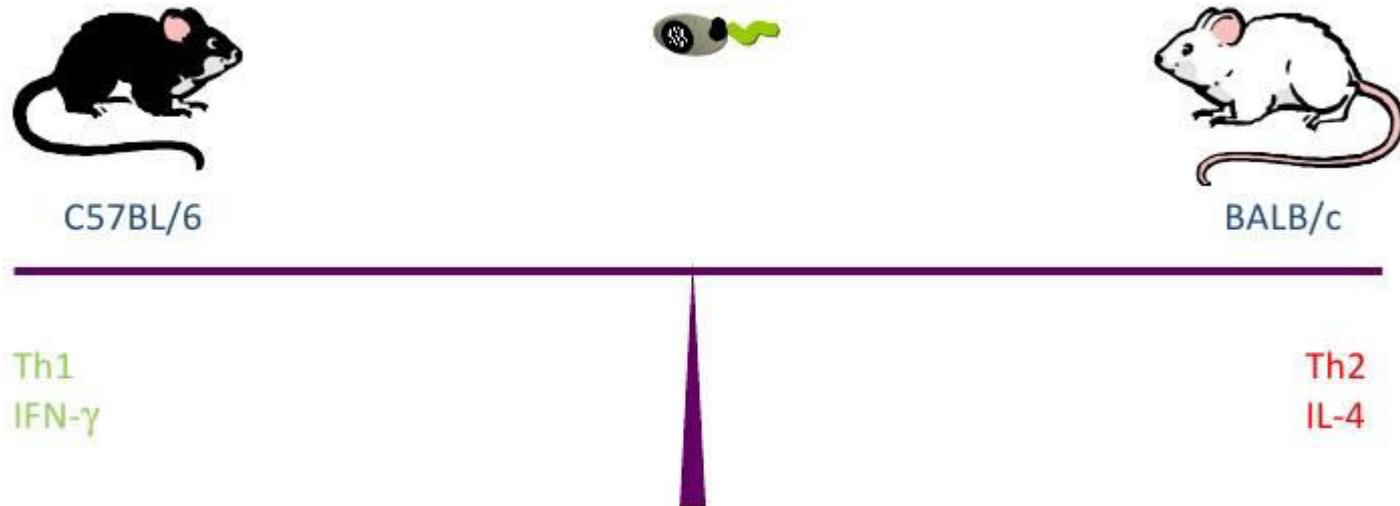
Inhiber la sécrétion d'IL-12 (*L. mexicana* ou *amazonensis*)

Inhiber la maturation

↗ ↗ des Th2, des LB et des Tregs



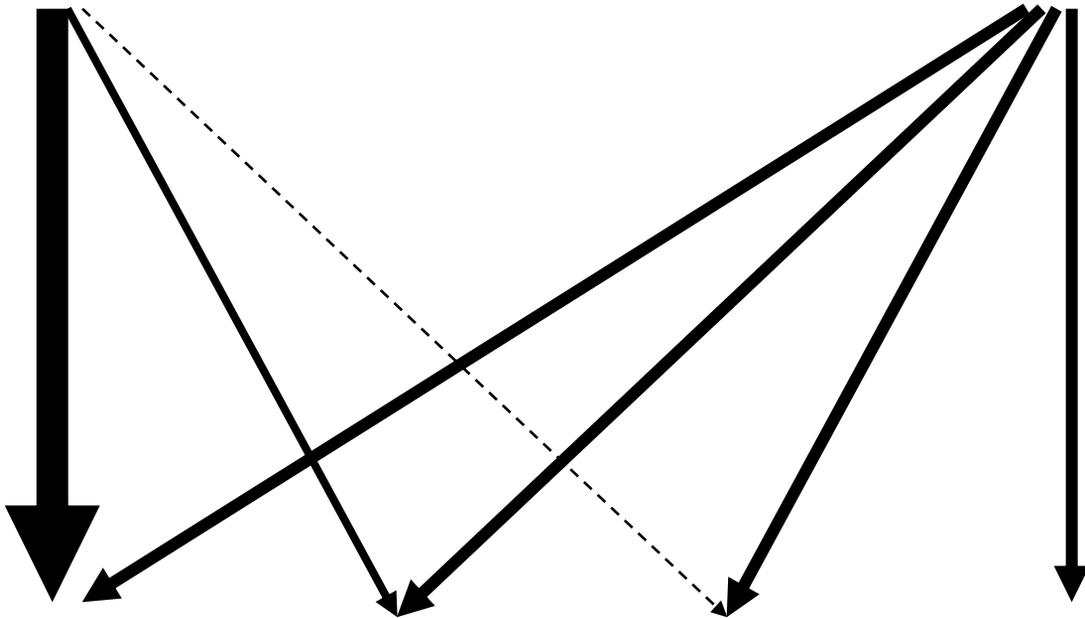
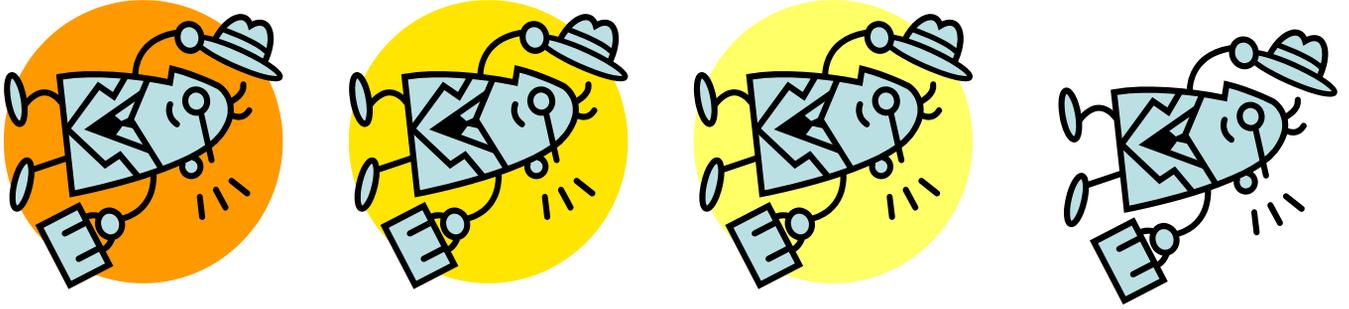
## Paradigme Th1/Th2 chez la souris



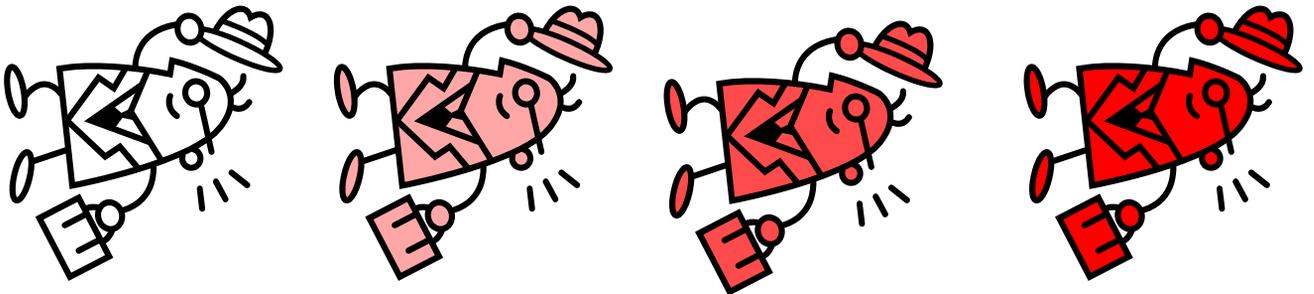
**MAIS**

**Profil mixte chez l'Homme**

Increasing immunity

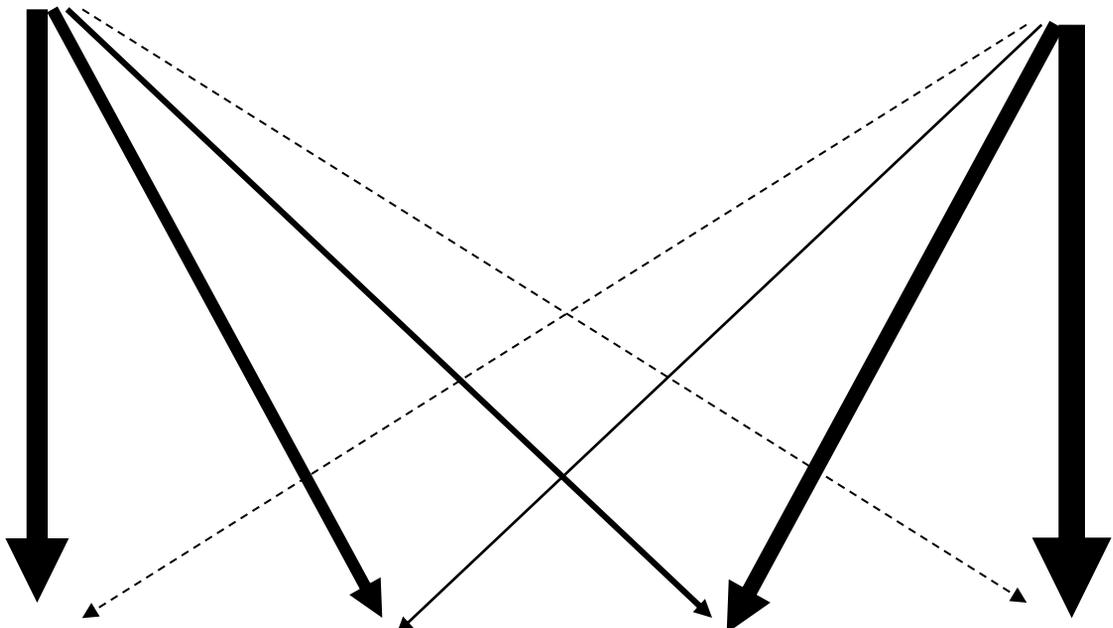
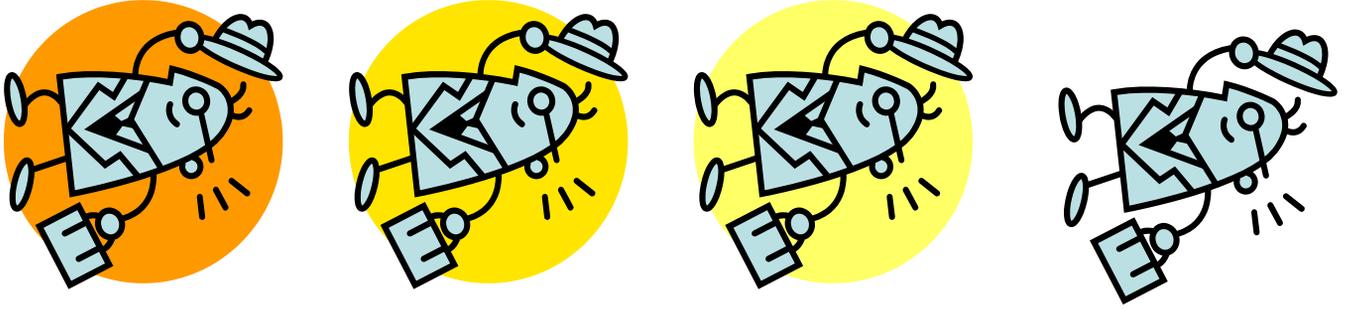


Low force of infection

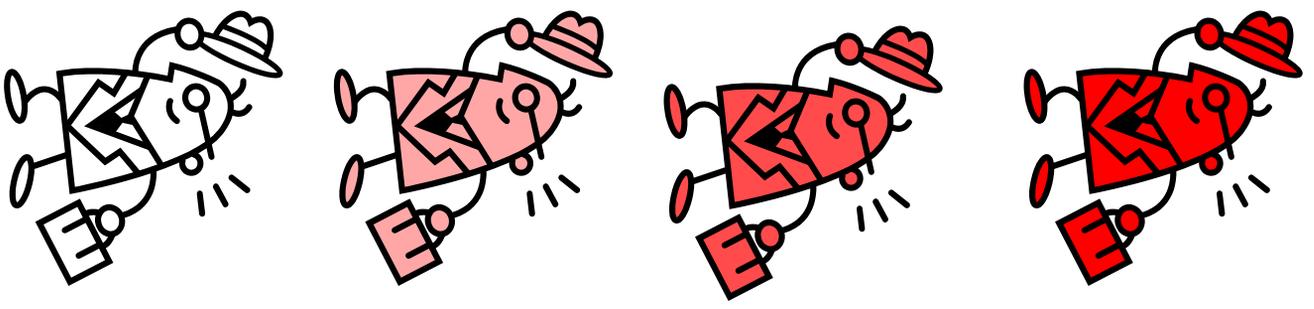


Increasing severity

Increasing immunity



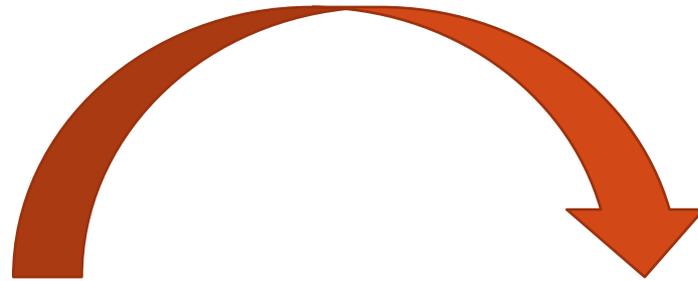
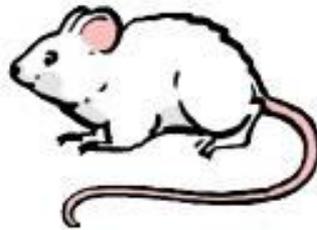
High force of infection



Increasing severity

# Approches vaccinales

Immunité cellulaire



## LmPD1: *L major* disulfide isomérase

- Excrétée/sécrétée
- Différentiellement exprimée dans les souches virulentes
- Induit une réponse Th1 chez la souris



CLINICAL AND VACCINE IMMUNOLOGY, Nov. 2009, p. 1529–1537  
1556-6811/09/\$12.00 doi:10.1128/CVI.00153-09  
Copyright © 2009, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

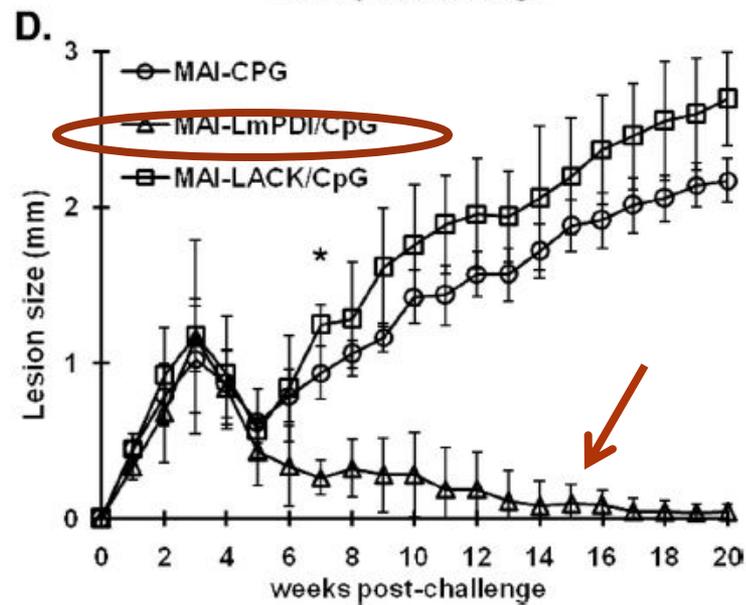
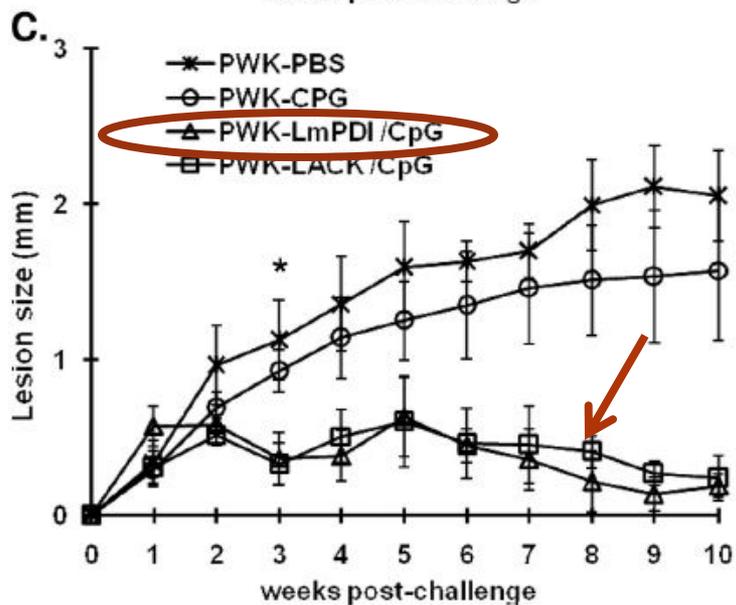
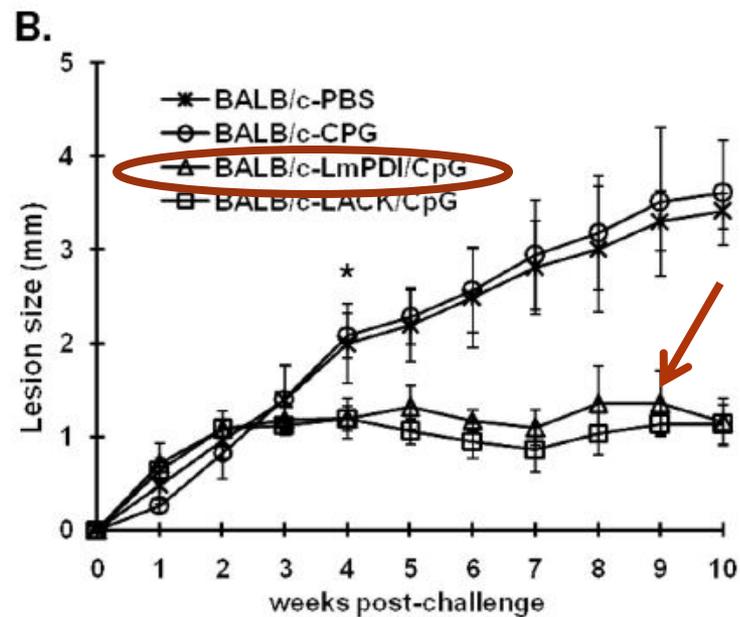
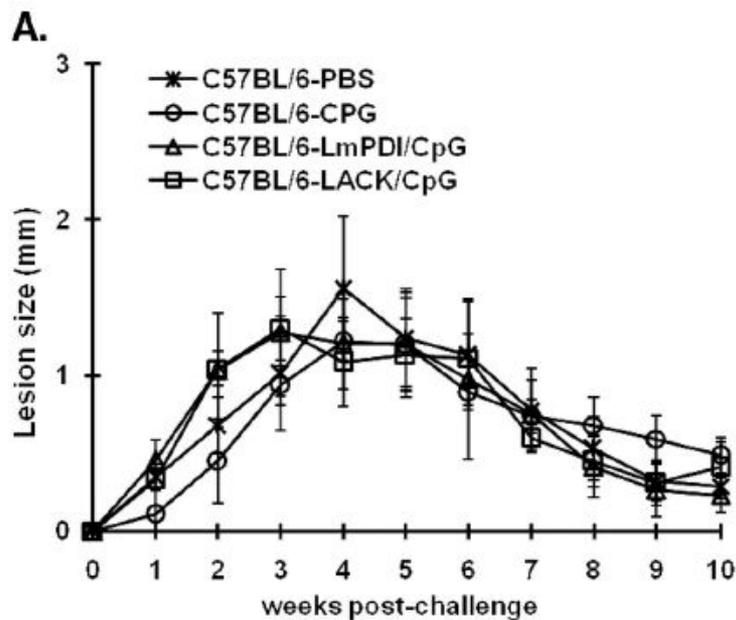
Vol. 16, No. 11

### Comparative Evaluation of Two Vaccine Candidates against Experimental Leishmaniasis Due to *Leishmania major* Infection in Four Inbred Mouse Strains<sup>▽</sup>

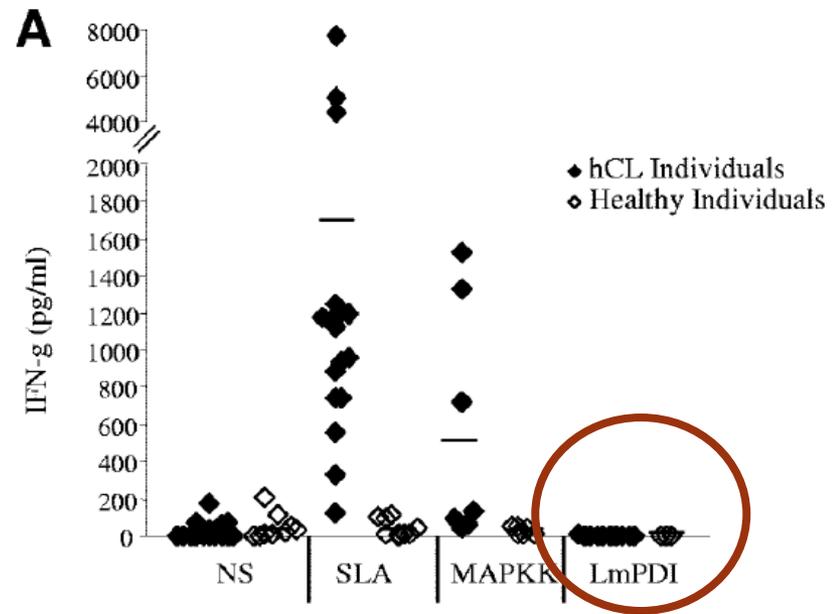
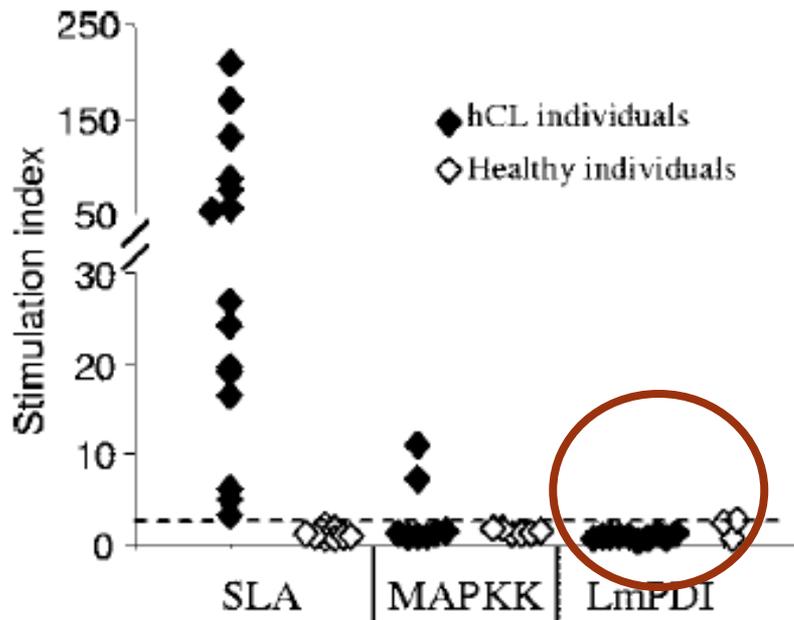
Fouad Benhnini,<sup>1,2</sup> Mehdi Chenik,<sup>1</sup> Dhafer Laouini,<sup>1</sup> Hechmi Louzir,<sup>1</sup>  
Pierre André Cazenave,<sup>2</sup> and Koussay Dellagi<sup>1\*</sup>

*Laboratoire d'Immuno-Pathologie, Vaccinologie et Génétique Moléculaire, WHO Collaborative Center for Research and Training in Leishmaniasis, and Laboratoire International Associé Ingénierie Biomoléculaire, Centre National de Recherche Scientifique (CNRS), and Institut Pasteur de Tunis, 13 Place Pasteur, BP 74, 1002 Tunis-Belvédère, Tunisia,<sup>1</sup> and Unité d'Immunophysiopathologie Infectieuse, CNRS URA 1961 and Université Pierre et Marie Curie, Institut Pasteur, 75724 Paris Cedex 15, France<sup>2</sup>*

Received 4 April 2009/Returned for modification 29 June 2009/Accepted 27 August 2009



# Pas de réponse cellulaire contre LmPDI chez les sujets immuns



Lakhal-Naouar et al, 2009

# Développement vaccinal chez l'homme

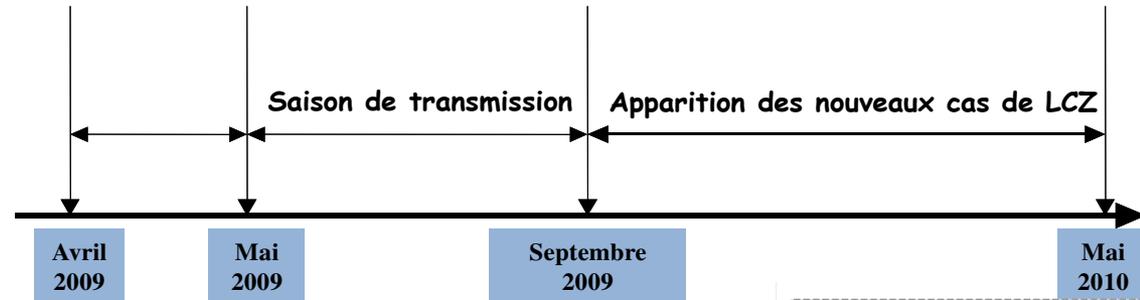
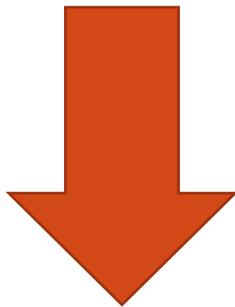
- Le développement d'une **lésion active** ou **l'infection asymptomatique** confère une **résistance** à une réinfection ultérieure. Cependant, cette protection **n'est pas absolue** et est surtout **limitée dans le temps**.
- **La résistance** est liée à une **réponse cellulaire CD4 de type Th1** mais pas seulement
- La **lésion** est la conséquence de la **multiplication du parasite** et de la **réponse immune cellulaire (cas du CD8 cytotoxique)**
- Un **fort inoculum de parasites** nécessite plus **d'effecteurs immunitaires** pour contrôler l'infection. La **lésion** subséquente sera inévitablement plus sévère.

# Développement vaccinal chez l'homme

- Définir les mécanismes immunologiques de résistance chez l'homme

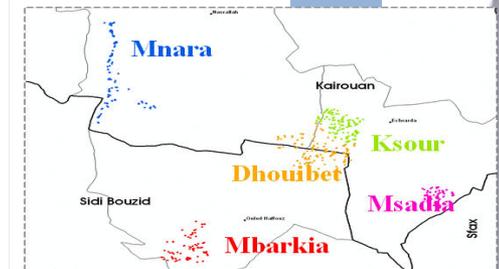
- 1- Examen clinique
- 2- Prélèvement sanguin
- 3- Premier Test à la leishmanine

Deuxième test à la leishmanine

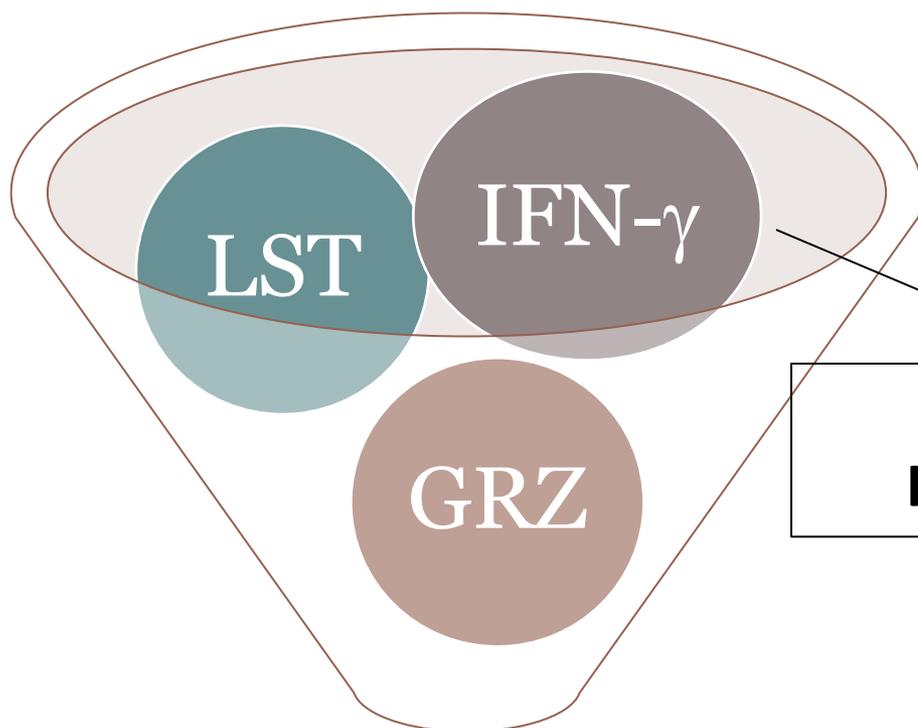


- Étude de cohortes de sujets vivants en zone d'endémie

- en particulier les sujets naturellement (asymptomatiques ou ayant développés des lésions)



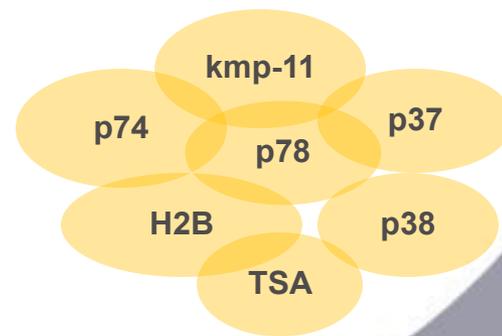
immunisés



**Lymphocytes**  
**IFN-γ/TNF-α/IL-2**

Darrah PA et al, 2007

Candidats vaccins

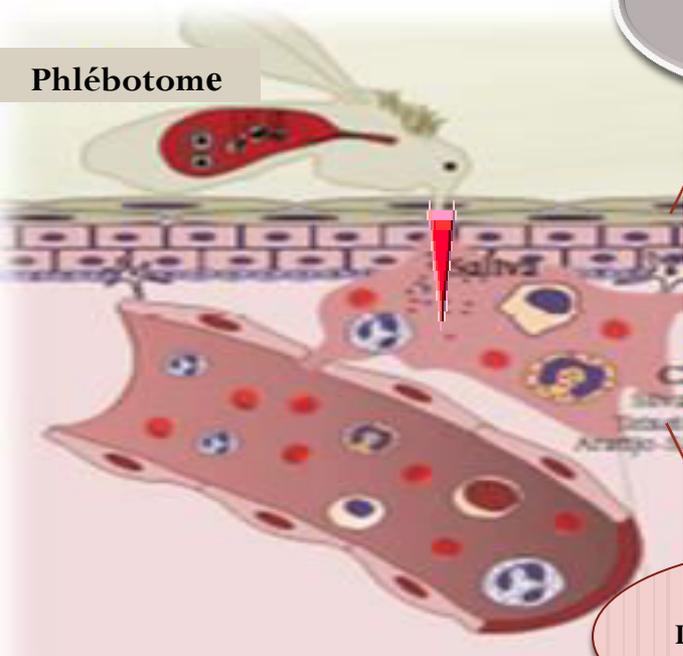


## Leishmaniose

### *Objectif*

Formulation d'un vaccin  
anti-leishmaniose composé  
de 3 ou 4 antigènes  
parasitaires et de 1 à 2  
composants salivaires

Phlébotome

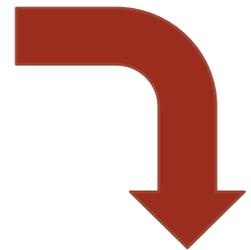


Anticoagulant  
s

Vasodilatateurs

Anti-  
inflammatoires

Immunomodulateurs



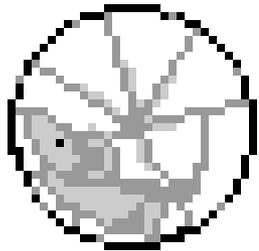
Réponse  
cellulaire

Réponse  
humorale

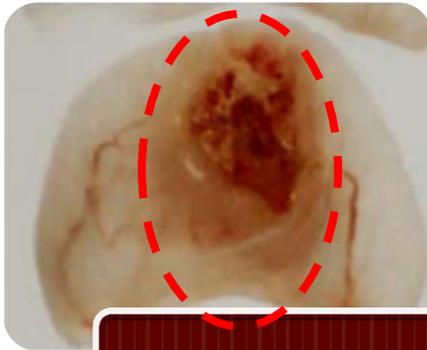
Protection



# Effacité de l'immunisation contre la salive du vecteur



BALB/c



Souris Naïve

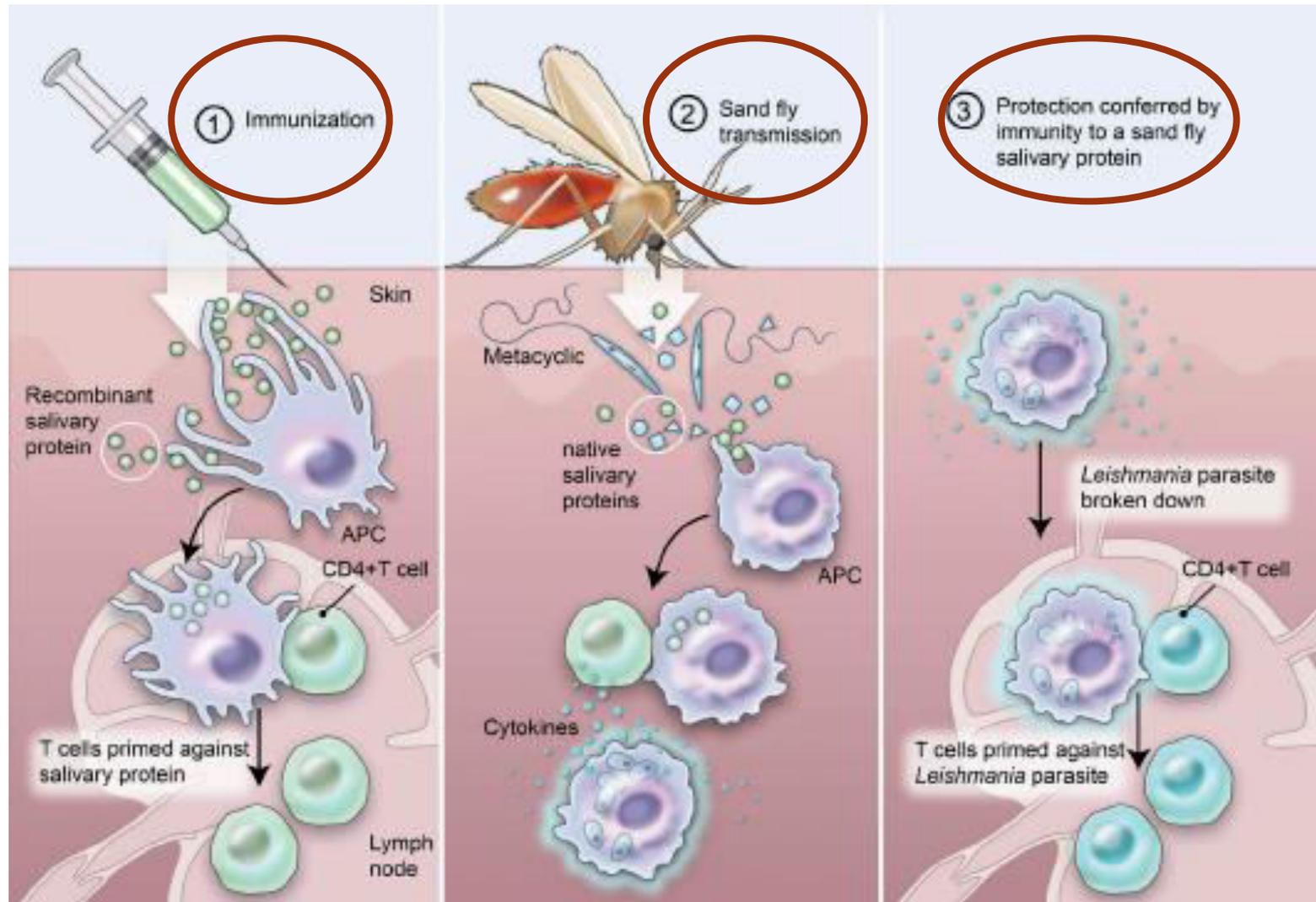


Souris pré-exposée

Réponse  
IFN- $\gamma$ /IL-12



Résistance à  
l'infection

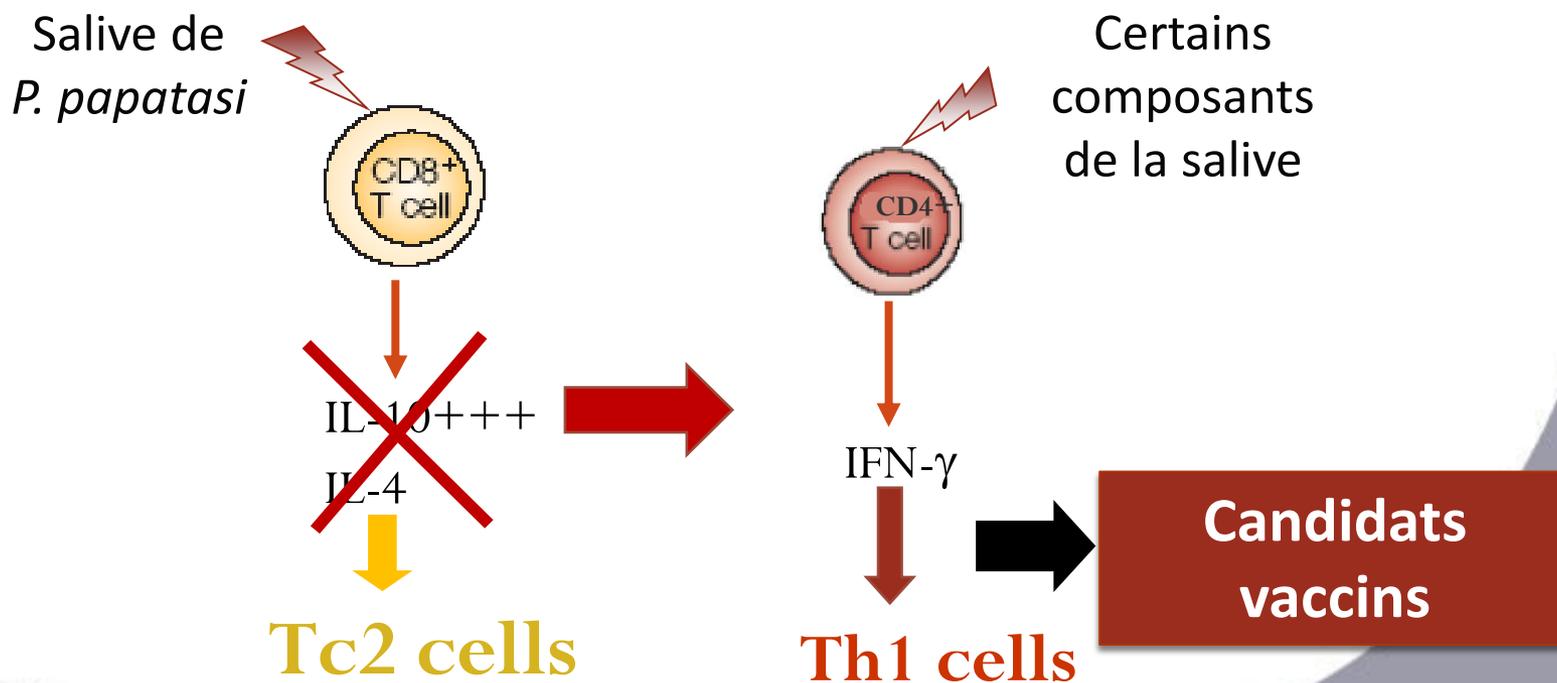


Reed SG et al, 2015

# Human Cellular Immune Response to the Saliva of *Phlebotomus papatasi* Is Mediated by IL-10-Producing CD8+ T Cells and Th1-Polarized CD4+ Lymphocytes

Maha Abdeladhim<sup>1,3</sup>, Mélika Ben Ahmed<sup>1,3</sup>, Soumaya Marzouki<sup>1</sup>, Nadia Belhadj Hmida<sup>1</sup>, Thouraya Boussoffara<sup>2</sup>, Nabil Belhaj Hamida<sup>3</sup>, Afif Ben Salah<sup>3</sup>, Hechmi Louzir<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Department of Clinical Immunology, Pasteur Institute of Tunis, Tunis, Tunisia, <sup>2</sup> LIVGM, Pasteur Institute of Tunis, Tunis, Tunisia, <sup>3</sup> Department of Medical Epidemiology, Pasteur Institute of Tunis, Tunis, Tunisia



# Updating the Salivary Gland Transcriptome of *Phlebotomus papatasi* (Tunisian Strain): The Search for Sand Fly-Secreted Immunogenic Proteins for Humans

Maha Abdeladhim<sup>1</sup>\*, Ryan C. Jochim<sup>2</sup>\*, Melika Ben Ahmed<sup>1,3</sup>, Elyes Zhioua<sup>4</sup>, Ifhem Chelbi<sup>4</sup>, Saifedine Cherni<sup>4</sup>, Hechmi Louzir<sup>1,3</sup>, José M. C. Ribeiro<sup>5</sup>, Jesus G. Valenzuela<sup>2\*</sup>

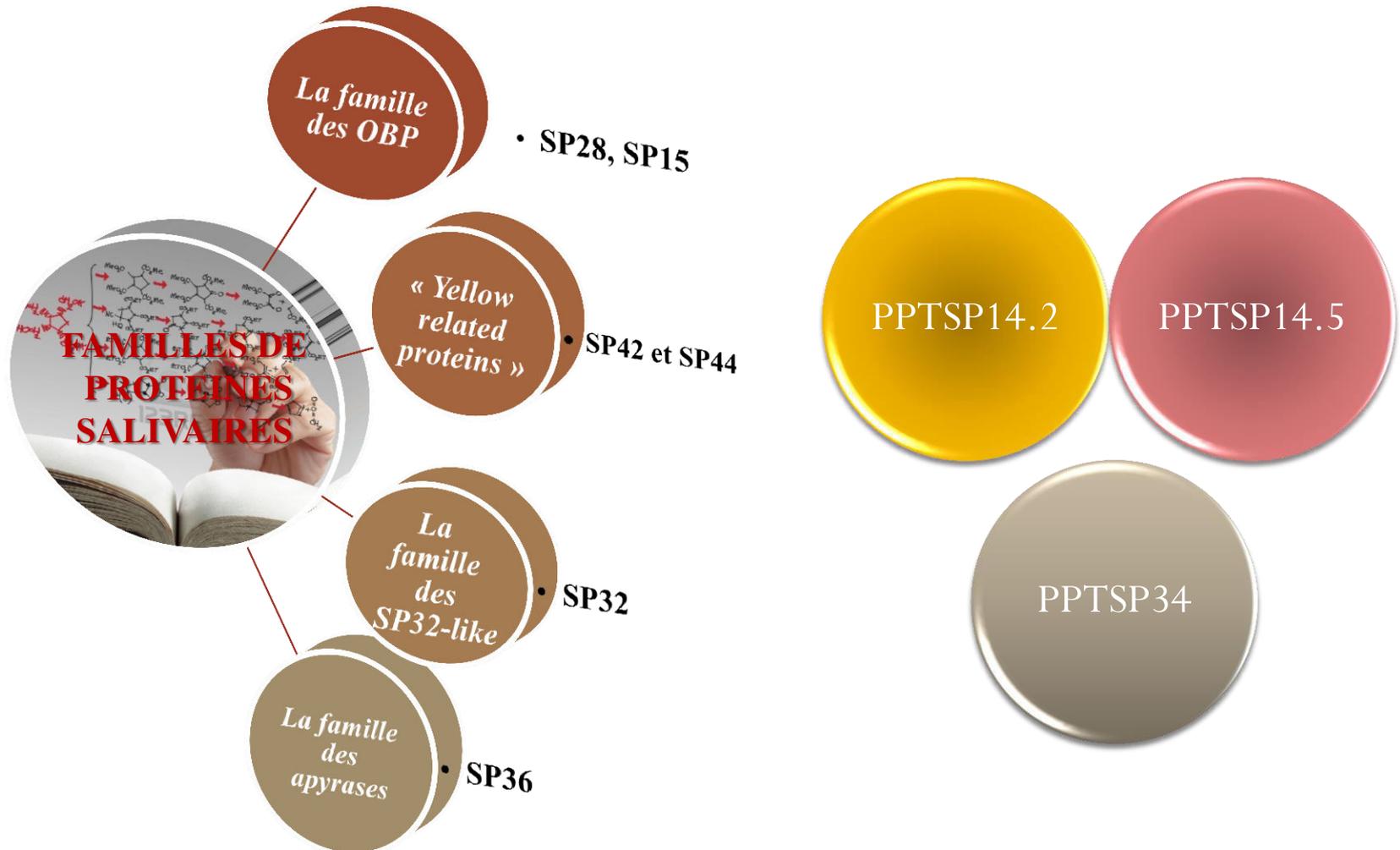
PPTSP34

Production de la  
banque génomique  
des glandes salivaires  
de la souche  
Tunisienne de  
*Phlebotomus  
papatasi*

PPTSP14.2

PPTSP14.5

# Description des protéines salivaires de *P. papatasi*



# Characterization of the Antibody Response to the Saliva of *Phlebotomus papatasi* in People Living in Endemic Areas

Soumaya Marzouki,† Mélika Ben Ahmed,†  
Abdelkader Naman

Department of Clinical Immunology, Institut Pasteur de Tunis  
Epidemiology, Institut Pasteur de Tunis

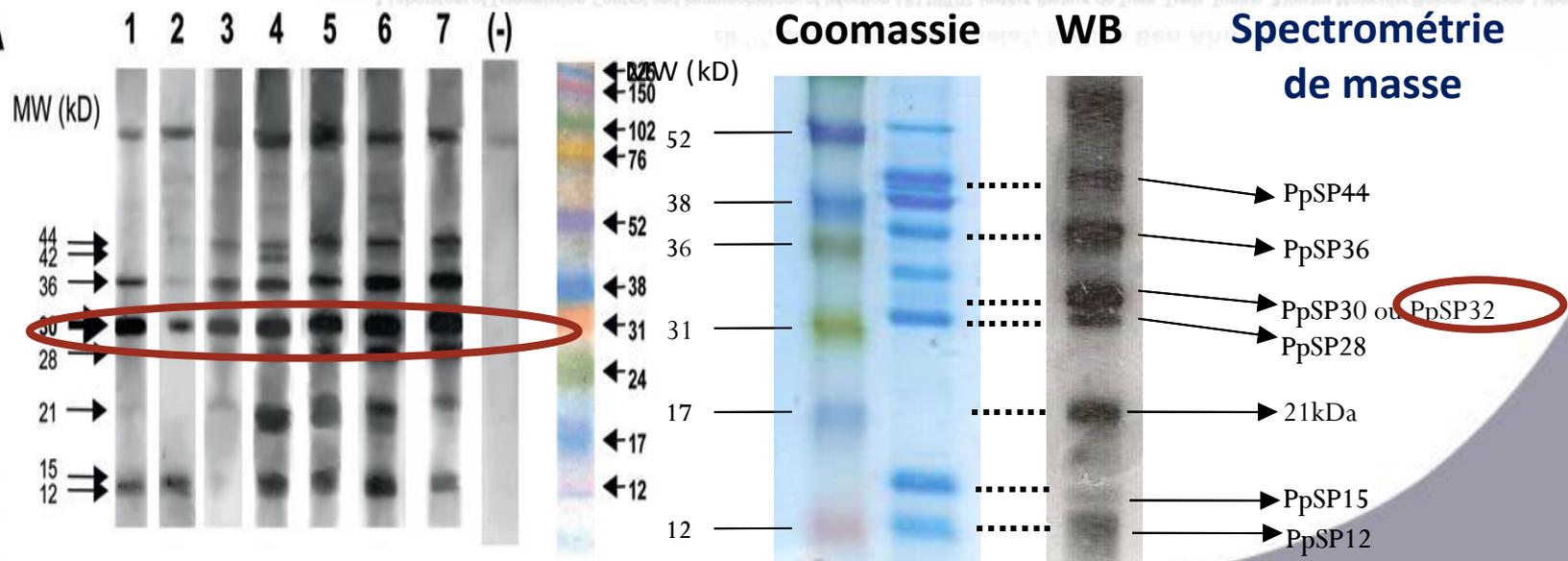
OPEN ACCESS Freely available online

PLOS | NEGLECTED TROPICAL DISEASES

## Salivary Antigen SP32 Is the Immunodominant Target of the Antibody Response to *Phlebotomus papatasi* Bites in Humans

Soumaya Marzouki<sup>1</sup>, Maha Abdeladhim<sup>1</sup>, Chaouki Ben Abdesslem<sup>1</sup>, Fabiano Oliveira<sup>2</sup>, Beya Ferjani<sup>1</sup>, Dana Gilmore<sup>2</sup>, Hechmi Louzir<sup>1,3</sup>, Jesus G. Valenzuela<sup>2</sup>, Mélika Ben Ahmed<sup>1,3\*</sup>

**1** Laboratory of Transmission, Control and Immunobiology of Infection, LR11IPT02, Institut Pasteur de Tunis, Tunis, Tunisia, **2** Vector Molecular Biology Section, Laboratory of Malaria and Vector Research, National Institute of Allergy and Infectious Diseases, National Institutes of Health, Rockville, Maryland, United States of America, **3** Faculté de Médecine de Tunis, Université Tunis El Manar, Tunis, Tunisia

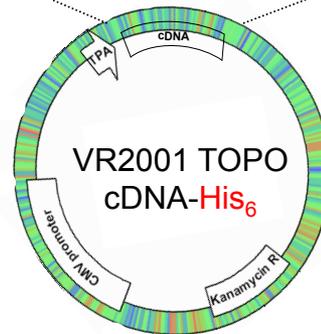


# Approche vaccinale

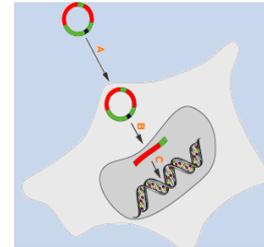


Identifier les protéines salivaires qui induisent une réponse Th1

ADNc His6-



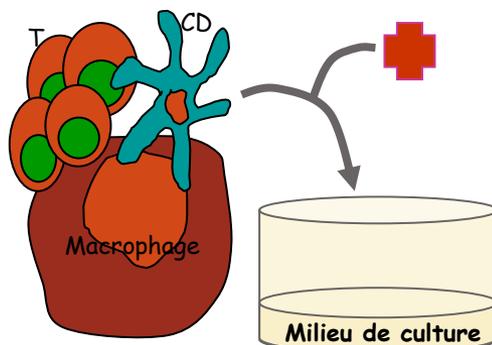
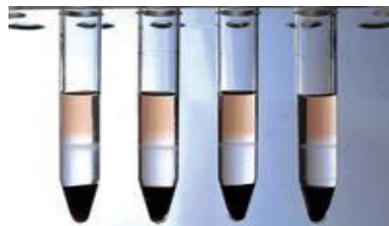
Plasmidess



Transfection HEK-293F cells

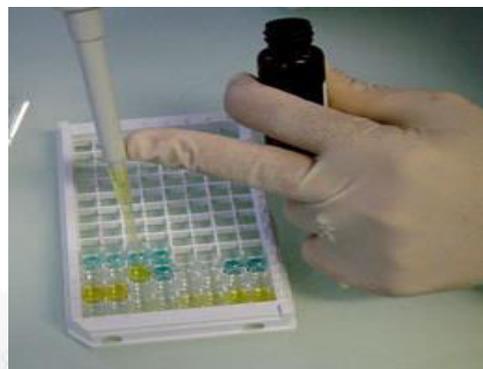
Protéines recombinantes

**PBMC de donneurs  
immuns**

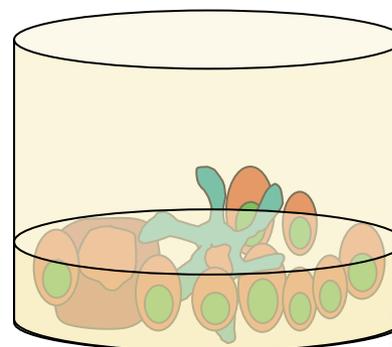


**Plasmides**

**Production d'IFN- $\gamma$**



**Prolifération**



# Candidats vaccins potentiels

PpSP44



PpSP36

PpSP42

Formes recombinantes

Confirmer ou infirmer leur  
capacité à induire une réponse Th1

# Le vaccin est possible

Antigènes relativement conservés entre espèces

Une seule forme infectante

Une seule cellule cible

Disponibilité des adjuvants Th1

Effet protecteur des antigènes du parasite et du phlébotome

# Remerciements

## Institut Pasteur de Tunis

- Thouraya Bousoffara
- Ikbel Naouar
- Maha Abdeladhim
- Soumaya Marzouki
- Elyès Zhioua
- Koussay Dellagi
- Afif Ben Salah
- Mehdi Chenik
- Foued Benhnini
- Ines Naouar

## International partners

- Paul Peter Tack (NL)
- Robert and Mireille Killick-Kendrick (UK)
- Jesus Valenzuela (USA)
- Shaden Kamhawi (USA)
- Fabiano Oliveira (USA)

**Financial support:** MESRS (LR), European Commission, WHO, RIIP, NIH (TMRC).

**Table 2. The three most promising sand fly salivary vaccine candidates to date.**

Vaccine candidate	Origin	Protection	Animal model	Homology	Potential vaccine coverage
PdSP15	<i>Ph. duboscqi</i>	CL <sup>†</sup>	NHP	<i>P. papatasi</i> <sup>†</sup> <i>Ph. sergenti</i> <sup>†</sup>	MENA and sub-Saharan Africa
LIM19	<i>Lu. longipalpis</i>	VL <sup>‡,§</sup> , CL <sup>¶</sup>	Hamsters	<i>Lu. intermedia</i> <sup>#</sup> <i>Lu. ayacuchensis</i> <sup>#</sup>	Latin America
LJL143	<i>Lu. longipalpis</i>	VL ( <i>in vitro</i> ) <sup>††</sup>	Dogs	Ubiquitous <sup>#</sup>	Global

<sup>†</sup>Oliveira *et al.* [39].

<sup>‡</sup>Gomes *et al.* [38].

<sup>§</sup>da Silva *et al.* [44].

<sup>¶</sup>Tavares *et al.* [45].

<sup>††</sup>Collin *et al.* [46].

CL: Cutaneous leishmaniasis; VL: Visceral leishmaniasis.

Reed SG *et al*, *Exp Rev Vaccines*, 2015