

PARTICULARITÉS ET LIMITES DES VACCINS EN PARASITOLOGIE VÉTÉRINAIRE

PARTICULARITIES AND LIMITS OF THE VACCINES IN VETERINARY PARASITOLOGY

Par Gilles BOURDOISEAU⁽¹⁾

(Communication présentée le 20 Avril 2017

Manuscrit accepté le 11 Mai 2017)

RÉSUMÉ

Chez l'homme et les animaux domestiques, les maladies parasitaires dues à des champignons, des protozoaires, des helminthes et des arthropodes constituent un défi majeur car elles sont à l'origine d'une mortalité parfois élevée (paludisme), de pertes économiques considérables et parfois sources de parasitoses zoonotiques. Malheureusement, la thérapeutique actuelle est parfois inadaptée ou inefficace à cause de l'émergence de la chimiorésistance.

De nombreuses publications mettent en avant des vaccins efficaces contre la leishmaniose et une babesiose canine, une teigne bovine, la toxoplasmose ovine, les coccidioses aviaires et des tiques de bovins ; malheureusement en dépit de ces nombreuses publications, peu de vaccins parviennent à la commercialisation.

La médecine humaine et vétérinaire a besoin aujourd'hui d'une stratégie de recherche efficace pour la mise au point de vaccins dirigés contre des parasitoses majeures et/ou zoonotiques.

Mots-clés : vaccins antiparasites, leishmanioses, babesiose, tiques.

ABSTRACT

In human beings and domestic animals, parasitic diseases — due to either fungi, protozoa, helminths or arthropods — are a very important challenge because they are associated with a very high mortality (malaria), or production loss and sometimes are a source of illness for humans. Unfortunately, the presently available chemotherapeutic arsenal is inadequate or ineffective because of the frequent emergence of chemoresistance.

Several publications and reviews demonstrate the efficiency of vaccines against canine leishmaniosis and babesiosis, bovine ringworms, ovine toxoplasmosis and poultry coccidiosis of poultry and some tick infections of cattle; but, despite many research publications, few vaccines have reached the commercial market.

Medicine quickly need efficacious strategies for the discovery of efficacious vaccines against major eventually zoonotic parasitic diseases.

Key words: vaccines against parasitic diseases, leishmaniosis, babesiosis, ticks.

DÉFINITIONS

Un **vaccin** est défini comme « une préparation antigénique qui, introduite dans un organisme, lui confère l'immunité vraie (immunité active) contre une maladie bactérienne ou virale... » (Garnier Delamare, 2012). Il est surprenant de constater que

les parasites en tant qu'agents pathogènes ne figurent pas dans cette définition alors qu'ils peuvent conférer, à la suite d'une infection naturelle ou plus rarement d'une vaccination, une immunité vraie.

(1) Pr. G. Bourdoiseau, diplomate. EVPC parasitologie-maladies parasitaires VetAgro Sup Campus vétérinaire, 1 avenue Bourgelat, 69260 Marcy l'Étoile
Email : gilles.bourdoiseau@vetagro-sup.fr

L'immunité est « la propriété que possèdent certains individus d'être exempts de manifestations morbides apparentes... » (Garnier Delamare, 2012). Cette immunité peut être qualifiée : elle est innée ou acquise par une infection naturelle ou une vaccination et, dans ce cas, elle peut être d'une durée importante ; elle est passive lorsqu'elle résulte d'une sérothérapie, et dans ce cas elle est souvent brève.

L'immunité repose sur deux voies qui ne s'opposent pas l'une contre l'autre mais dont une seule le plus souvent est prépondérante : une voie à médiation humorale ou précoce reposant sur la synthèse par les lymphocytes B et la persistance d'anticorps ou immunoglobulines de diverses classes, et une voie à médiation cellulaire ou retardée assurée par des lymphocytes T sensibilisés. Les macrophages et certains lymphocytes régulent, stimulent ou inhibent d'autres cellules responsables de l'immunité (en particulier des lymphocytes B et T mémoires) par l'intermédiaire de substances plasmatiques appelées interleukines.

VACCINS ANTIPARASITAIRES COMMERCIALISÉS EN FRANCE

Vaccins à destination de l'homme

Dans la rubrique infectiologie – parasitologie du dictionnaire Vidal, le paragraphe « vaccins - immunothérapie » ne mentionne aucun vaccin antiparasitaire commercialisé pour l'espèce humaine (Le Dictionnaire Vidal®, 2014). Toutefois, il convient de retenir l'importance de nombreuses publications concernant des travaux de laboratoire et des essais cliniques de candidats vaccinaux à l'encontre de maladies parasitaires majeures.

Vaccins à destination de l'animal

(Dictionnaire des médicaments vétérinaires, 2016)

Plusieurs vaccins sont aujourd'hui commercialisés au moins en France chez plusieurs espèces animales :

- le chien : pour une immunisation active contre la leishmaniose à *Leishmania infantum* (CaniLeish®) et contre la piroplasmose à *Babesia canis* (Pirodog®) ; dans les deux cas, le vaccin repose sur des protéines antigéniques excréation-sécrétion associées à un adjuvant, la saponine ;
- les bovins : pour une immunisation active des veaux et des bovins à risque d'infection à *Trichophyton verrucosum* (Bovilis® Ringvac) agent des « dartres » et zoonotique ; le vaccin renferme des microconidies viables issues d'une souche atténuée ;
- les ovins : pour une immunisation active à l'encontre de *Toxoplasma gondii* (Ovilis® Toxovax) agent d'avortements et zoonotique ; le principe immunisant est une suspension de tachyzoïtes vivants issus d'une souche non kystogène de toxoplasme (S48) ;
- le poulet de chair : pour une réduction de la colonisation intestinale, des lésions intestinales et des signes cliniques causés par *E. acervulina*, *E. maxima*, *E. mitis*, *E. præcox* et *E. tenella* (Hipracox®) ; par *E. acervulina*, *E. maxima*, *E. mitis* et *E. tenella*

(Paracox®-5) ; la poule : immunisation active contre les coccidioses provoquées par *E. acervulina*, *E. brunetti*, *E. maxima*, *E. mitis*, *E. necatrix*, *E. præcox* et *E. tenella* (Paracox®-8). Ces vaccins sont constitués d'ookystes sporulés vivants issus de lignées précoces de coccidies, c'est-à-dire dont la multiplication asexuée intra-épithéliale se réduit à une seule schizogonie.

Ces vaccins confèrent une immunité capable de diminuer les risques d'une infection active du (ou des) pathogène(s) considéré(s) et donc d'atténuer l'expression clinique de la maladie : c'est le cas de la vaccination contre la leishmaniose, la babésiose ou la coccidiose cæcale. Le vaccin peut aussi réduire de façon significative les pertes économiques importantes : diminution de l'avortement toxoplasmique chez le mouton, ou des conséquences en élevage industriel des coccidioses intestinales. Le vaccin peut enfin constituer un médicament de prévention de certaines maladies parasitaires zoonotiques et être ainsi un atout majeur de santé publique :

- contre la leishmaniose viscérale méditerranéenne humaine à *L. infantum* pour laquelle le chien est réservoir : le chien vacciné et infecté peut être source de parasites pour le phlébotome vecteur mais de façon moindre par rapport au chien non vacciné (Bongiorno *et al.* 2013) ; la vaccination canine contribue donc à diminuer les risques de l'infection humaine ;
- la toxoplasmose congénitale ou opportuniste : l'absence de kyste toxoplasmique chez le mouton interdit ainsi la transmission du parasite à l'homme ; or, la viande de mouton est la principale source de contamination humaine ;
- une teigne bovine inflammatoire fréquemment transmise à l'homme mais bénigne.

LES CANDIDATS VACCINAUX : EXEMPLES ILLUSTRANT LEUR INTÉRÊT ET LEURS DIFFICULTÉS

Contre le paludisme à *Plasmodium falciparum*

Le paludisme est l'une des maladies considérées comme prioritaires par l'OMS. Des progrès significatifs ont pu être obtenus grâce à l'utilisation de moustiquaires imprégnées d'insecticides et entretenues par les populations concernées. Toutefois, la mortalité reste très élevée : environ 500.000 morts par an, essentiellement d'enfants en bas âge et/ou de femmes enceintes ; en outre, la chimiorésistance des anophèles à l'encontre des insecticides et du *Plasmodium* à l'encontre des antipaludiques est importante et croissante.

Plusieurs dizaines de candidats vaccinaux ont été testés mais aucun n'a pu démontrer scientifiquement un avantage majeur. En effet, ces candidats vaccinaux testés sur le terrain n'induisent pas chez le jeune enfant une immunité de qualité et de durée significativement supérieures à celles obtenues à la suite d'une infection naturelle ; en zone d'endémie, les piqûres infectantes répétées peuvent en effet conférer une protection efficace (Raoult, 2017).

Contre la gale sarcoptique

300 millions de cas humains sont confirmés dans le monde. La mise au point d'un vaccin est apparue nécessaire pour plusieurs raisons d'ordre thérapeutique : la difficulté à appliquer des traitements topiques renouvelés et l'importance de leurs effets secondaires, la nécessité d'hospitalisation pour les cas compliqués de pyodermite ou surajoutés à une immunodépression, l'émergence de la chimiorésistance, et enfin les défauts d'observance du traitement ; toutes ces difficultés ont été confirmées au sein de certaines communautés comme celle des aborigènes australiens (Hengge *et al.* 2006).

Des études expérimentales chez l'animal mettent en évidence le rôle majeur des anticorps IgE dont la synthèse (ou l'efficacité ?) fait défaut lors de tentative vaccinale alors que la gale sarcoptique animale est systématiquement suivie d'une protection naturelle solide (Tarigan & Huntley, 2005). La localisation intra-épidermique du sarcopte peut induire en effet une réaction immunitaire chez l'animal mais qui apparemment fait défaut dans le cas des gales superficielles, chorioptique ou psoroptique par exemple.

Chez l'homme, l'hyperéosinophilie et le taux élevé d'immunoglobulines IgE et IgG traduisent plutôt une réaction à immunité humorale peu efficace et autorisant une ré-infection.

Contre les leishmanioses humaines

Quels sont les obstacles à la mise au point d'un vaccin ? De nombreuses observations d'ordre parasitologique, biologique et immunologique constituent des pistes intéressantes et des défis majeurs.

Les leishmanies sont des espèces à l'origine de leishmanioses humaines viscérales (20 à 40 000 morts par an), cutanées et cutanéomuqueuses (0,7 à 1,2 million de cas annuels) transmises par des phlébotomes. Les sujets qui parviennent à surmonter l'infection bénéficient alors d'une immunité solide à médiation cellulaire à l'encontre d'infections ultérieures ; cette observation suggère donc une efficacité potentielle de la vaccination (Mendonça, 2016). Toutefois, de multiples observations cliniques et expérimentales fournissent des informations apparemment contradictoires, en tout cas différentes et difficiles à interpréter.

Observation princeps de Mossman

L'inoculation chez la souris de leishmanies issues d'une même culture de *L. major* donne des résultats contradictoires selon la nature génétique de l'animal : les souris C57BL/6 contrôlent la multiplication des leishmanies dans les ganglions lymphatiques et interdisent la dissémination du parasite dans l'organisme ; à l'opposé, les souris BALB/c présentent rapidement une leishmaniose systémique mortelle (Mossman *et al.* 1986).

Certaines interleukines stimulent l'action leishmanicide des macrophages – essentiellement l'interféron gamma IFN γ et l'IL2 – et sont associées à l'instauration d'une immunité cellulaire solide ; d'autres interleukines en revanche (IL-4, 5 et 6)

autorisent la multiplication intramacrophagique des parasites puis leur dissémination, et induisent une réaction immunitaire à médiation humorale inefficace. Ces interleukines différentes sont synthétisées par deux sous-populations distinctes de lymphocytes T auxiliaires (ou T-helpers), base du paradigme Th1 (synonyme d'un état de contrôle ou de résistance et d'une immunité cellulaire à l'encontre de pathogènes intracellulaires) *versus* Th2 (synonyme d'un état de sensibilité et d'une immunité humorale).

Depuis cette observation fondamentale, une autre sous-population de lymphocytes Th a été identifiée – LyTh17 – intervenant dans la réaction cellulaire et inflammatoire par l'intermédiaire des interleukines IL-17 et IL-22 (Day, 2016).

Toutefois, cette dichotomie Th1/Th2 n'est pas toujours extrapolable à des infections expérimentales dues à d'autres espèces de leishmanies (Mendonça, 2016).

Observations cliniques chez l'homme et expérimentales chez la souris (Mendonça, 2016)

En zone d'endémie, les sujets qui guérissent spontanément d'une leishmaniose cutanée sont habituellement réfractaires à d'autres infections naturelles : cette observation conduit à des tentatives de vaccination (Kumar & Samant, 2016). Des essais vaccinaux ont été entrepris chez l'homme à l'encontre de *L. major* – agent du « bouton d'Orient » dans sa forme humide – par des techniques dites de « leishmanisation » en Ouzbékistan ; ces essais reposaient sur l'inoculation intradermique d'amastigotes issus de lésions cutanées spontanées ou de promastigotes vivants issus de cultures (Palatnik-de-Sousa, 2008). Outre le risque d'inoculation d'autres pathogènes que la leishmanie, cette méthode est abandonnée du fait de résultats contradictoires et différents de ceux observés avec l'inoculation naturelle du parasite par le phlébotome.

Des études expérimentales effectuées chez la souris démontrent que les mêmes antigènes peuvent induire des réponses immunitaires différentes selon leur présentation au système immunitaire : en effet, cette présentation via des cellules spécialisées (cellules de Langerhans par exemple) aux lymphocytes et la présence préalable de certaines interleukines conditionnent la nature de la réaction. Aussi, les réponses immunes contradictoires à l'encontre de certains antigènes présentés par la voie de l'inoculation expérimentale ou par celle de l'infection naturelle conduisent à considérer que la seule identification des antigènes potentiellement vaccinaux induisant une réponse Th1 n'est pas suffisante pour l'élaboration d'un vaccin.

Si le **paradigme Th1 / Th2** (respectivement « résistance » *versus* « sensibilité ») n'est pas remis en cause en matière de pathogénie des leishmanioses, néanmoins plusieurs facteurs conditionnent la nature de la réponse : la variabilité génétique de l'hôte, celle du parasite (entre les espèces et au sein d'une seule espèce entre les souches) et enfin l'importance de l'inoculum et le nombre de piqûres infectantes que reçoit le sujet (Srivastava *et al.* 2016). Si les vaccins tués peuvent conférer une bonne protection, les

vaccins vivants présentent un danger majeur pour les sujets immunodéprimés. Les vaccins recombinants – virus dont l'ADN inclut un gène ou une séquence de gènes responsables de la synthèse d'une protéine immunogène – ou les vaccins ADN sont encore à des stades d'études préliminaires.

VACCINS COMMERCIALISÉS

Contre la leishmaniose canine

Le paradigme Th1/Th2 est retenu pour comprendre des situations et évolutions cliniques très différentes chez le chien vivant en zone d'endémie : les chiens leishmaniens caractérisés par un taux très élevé d'anticorps (en particulier des IgG1) présentent souvent des phénomènes immunopathologiques graves (glomérulonéphrite irréversible) et un pronostic très péjoratif alors que des chiens cliniquement comparables et présentant un titre en anticorps beaucoup plus faible (en particulier des IgG2) sont associés à un pronostic plus favorable (Bourdoiseau *et al.* 1997a). D'autre part, la migration de la cellule de Langerhans ayant intégré des antigènes leishmaniens dans le ganglion lymphatique satellite est démontrée chez le chien (Bourdoiseau *et al.* 1997b).

Ces deux éléments fondamentaux pouvaient donc laisser entrevoir une perspective vaccinale.

La vaccination contre *Leishmania infantum* chez le chien repose aujourd'hui sur un vaccin adjuvé commercialisé (CaniLeish®) à base d'antigènes excrétés-secrétés purifiés issus d'un milieu axénique et asérique. Celui-ci induit une forte réaction de type Th1 à l'origine d'une activation macrophagique leishmanicide (Moreno *et al.* 2014) ; son efficacité est démontrée en divisant par presque 4 les risques d'apparition d'une infection active ou d'une leishmaniose maladie, le chien vacciné pouvant toutefois développer la maladie mais sous une forme clinique atténuée (Oliva *et al.* 2014).

Le suivi clinique, parasitologique et sérologique durant plus de trois ans de sept chiens vaccinés *versus* 11 non vaccinés vivant en zone de forte endémie a permis de confirmer une réaction immune à médiation cellulaire de type Th1 dans le premier lot (De Mari *et al.* 2016).

En outre, si le chien vacciné reste porteur et donc réservoir de leishmanies, sa capacité à être source de parasites pour les phlébotomes est moindre (Bongiorno *et al.* 2013). Tous ces éléments concourent à contrôler plus efficacement la maladie et à diminuer les risques zoonotiques.

La vaccination est recommandée pour le chien exposé âgé d'au moins six mois et séronégatif à l'encontre des kinésines leishmaniennes signes d'une infection ; en effet, la vaccination chez un chien naturellement infecté n'a pas été évaluée.

Contre la babésiose canine à *Babesia canis*

Un vaccin (Pirodog®) est commercialisé contre cette babésiose ; il est constitué d'antigènes solubles excrétés associés à de la saponine.

« Tout chien guéri de la maladie naturelle ou expérimentale est désormais réfractaire ; il supporte impunément l'injection de sang virulent à des doses bien supérieures à celles qui sont toujours mortelles pour les témoins » écrit E. Nocard en 1902 (Nocard & Motas, 1902). Il ajoute : « ... l'immunité conférée par une première atteinte suivie de guérison est à la fois solide et durable ». Cette protection est relevée également dans une étude épidémiologique des babésioses canines qui démontre que 52% des cas cliniques confirmés concernent des chiens de moins de 5 ans et que 82% des animaux parasités sont victimes d'un « premier accès » *versus* 18% victimes d'une rechute (René-Martellet R *et al.* 2013).

Le vaccin ayant été commercialisé au début des années 80, il est possible de regrouper des données cliniques, épidémiologiques et de vaccinovigilance :

Babesia canis n'est pas la seule espèce parasite du chien ; deux « grandes babésies » – donc antigéniquement différentes – sont décrites en Europe : *B. canis* transmise par *Dermacentor reticulatus* et *B. vogeli* par *Rhipicephalus sanguineus* (René-Martellet *et al.* 2015). L'immunité conférée par l'une des espèces n'est pas efficace à l'encontre de l'autre et au sein même de *B. canis*, il existe des souches différentes (Schetters, 2005) à l'encontre desquelles l'immunité croisée n'est pas toujours démontrée ;

Des « petites babésies » sont décrites en Europe à l'encontre desquelles l'immunité conférée par *B. canis* ne sera pas efficace ;

Ensuite, « 65% des échecs » – de la vaccination – « sont représentés par des chiens ayant des antécédents piroplasmiques » (Rhône Mérieux, 1997). Les auteurs précisent : « 70% des échecs sont rencontrés sur des chiens vaccinés en septembre, octobre ou novembre. Les chiens vaccinés en juin, juillet, août ont un taux d'échec faible (inférieur à 2%) » (observation effectuée sur des chenils de l'armée et durant trois années). Tout se passe comme si « la place restait occupée par le premier occupant », définition de la prémunition ou immunité de co-infection, inefficace en la circonstance (Euzeby *et al.*, 2005).

Enfin, les babésies effectuent une reproduction sexuée chez la tique ce qui conduit à l'émergence de nouvelles souches caractérisées par une configuration antigénique différente des configurations initiales des « deux parents ».

Contre le vecteur

Le vecteur – c'est-à-dire l'arthropode hématophage – joue un rôle actif dans la transmission du pathogène et l'induction d'une réaction immunitaire de l'hôte infecté. L'inoculation de leishmanies par aiguille n'induit pas la même réponse que l'injection du parasite par la piqûre de phlébotome ; en outre, si la première provoque une infection confirmée par la sérologie, seule la seconde peut entraîner la maladie confirmée par la clinique, la sérologie et la mise en évidence du parasite (Mendonça, 2016). D'autre part, un même vecteur peut transmettre plusieurs pathogènes différents.

Il pouvait donc être utile de concevoir un vaccin anti-tiques constitué d'antigènes salivaires qui interdirait la fixation de la tique et/ou l'inoculation de pathogènes transmis lors du repas.

Ces vaccins concernent en priorité les tiques monotropes – les trois stades se nourrissant préférentiellement chez une seule espèce (ex : la tique brune du chien *Rhipicephalus sanguineus* vectrice de babésiose, de l'hépatozoonose et de rickettsioses) – et *a fortiori* les tiques monophasiques dont les trois stades se nourrissent chez le même individu et qui sont donc des cibles privilégiées. De tels vaccins pourraient ainsi diminuer le parasitisme des tiques et la prévalence des maladies transmises.

Les antigènes candidats concernent des protéines salivaires impliquées dans la fixation et la fabrication du cément, le repas de sang, la reproduction et le développement de la tique choisie. La tique monotrope monophasique des bovins *Rhipicephalus microplus* (ex- *Boophilus microplus*) a fait l'objet de nombreux travaux ; un antigène intestinal (Bm86) a démontré son intérêt dans la lutte antitiques et des pathogènes transmis, le vaccin correspondant ayant fait l'objet d'une commercialisation (TickGARD®). Les protéines candidates communes à plusieurs espèces de tiques sont testées dans des vaccins recombinants dirigés contre plusieurs espèces différentes (*B. microplus*, *B. decoloratus*) ; elles réduisent d'environ 50% le nombre de tiques femelles gorgées (Odongo *et al.* 2007 ; Schetters *et al.* 2016).

La piste et les premiers résultats obtenus sont très prometteurs de sorte qu'un guide de recommandations pour la recherche

portant sur les vaccins anti-tiques est en projet de présentation à l'Association mondiale pour les progrès en parasitologie vétérinaire et soumis à publication.

PERSPECTIVES, DÉFIS

Les maladies parasitaires humaines et animales constituent aujourd'hui un défi mondial pour la santé publique humaine et vétérinaire (« one health ») et l'économie de nombreux pays. La thérapeutique présente aujourd'hui ses limites en particulier du fait de l'émergence croissante de la chimiorésistance des parasites et de leurs vecteurs.

Les vaccins antiparasites et/ou anti-parasitoses constituent aujourd'hui une piste prometteuse ; toutefois, de nombreux travaux cliniques et expérimentaux doivent être menés afin d'obtenir des vaccins efficaces. En plus de ces difficultés majeures mais que les équipes de recherche fondamentale et clinique peuvent relever, une autre menace semble émerger en médecine humaine : le refus croissant de la vaccination qui pourrait un jour mettre en péril ses effets largement bénéfiques contre de nombreuses maladies infectieuses. La communication et la pédagogie, avec l'aide des sciences humaines et sociales, sont plus que jamais indispensables.

BIBLIOGRAPHIE

- Bongiorno G, Papacorne R, Manzillo V F, Oliva G, Cuisinier A-M, Gradoni L. Vaccination with LiESP/QA-21 (CaniLeish®) reduces the intensity of infection in *Phlebotomus perniciosus* fed on *Leishmania infantum* infected dogs — A preliminary xenodiagnosis study. *Vet. Parasitol.*, 2013 ;197 :691-695 doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.05.008
- Bourdoiseau G, Bonnefont C, Hoareau E, Boehringer C, Stolle T, Chabanne L. Spécific IgG1 and IgG2 antibody and lymphocyte subset responses in naturally *Leishmania infantum* – infected treated and untreated dogs. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 1997 ;59 :21-30. (a)
- Bourdoiseau G, Marchal T, Magnol J P. Immunohistochemical detection of *Leishmania infantum* in formalin-fixed paraffin-embedded sections in canine skin and lymph nodes. *J. Vet. Diag. Invest.*, 1997 ;9 :439-440. (b)
- Day M J. Arthropod-borne infectious diseases of the dog and cat. 2nd ed. Boca Raton ; 2016.
- Dictionnaire des médicaments vétérinaires. 20^{ème} ed. Paris : Point vétérinaire ; 2016.
- De Mari K, Cuisinier A M, Navarro C, Vouldoukis I. Preliminary results of a pilot field study : immunoparasitological evaluation and follow-up of dogs vaccinated with the LiESP/QA-21 vaccine (CaniLeish®) in endemic areas of canine leishmaniosis. Poster congrès SOIPA-EVPC, 2016, Bari.
- Euzeby J, Bourdoiseau G, Chauve C M. Dictionnaire de parasitologie médicale et vétérinaire. Lavoisier, Paris, 2005.
- Garnier Delamare. Dictionnaire illustré des termes de médecine. 31^{ème} ed. Paris : Maloine ; 2012.
- Hengge UR, Currie BJ, Jäger G, Lupi O, Schwartz RA. Scabies : a ubiquitous neglected skin disease. *Lancet Inf Dis*, 2006 ;6 :769-79.
- Kumar A, Samant M. DNA vaccine against visceral leishmaniasis : a promising approach for prevention and control. *Paras. Immunol.*, 2016 ;38 :273-281 doi :10.1111/pim.12315
- Mendonça SCF. Differences in immune responses against *Leishmania* induced by infection and by immunization with killed parasite antigen : implications for vaccine discovery. *Parasites & Vectors*, 2016 ;9 :492. doi :10.1186/s13071-016-1777-x
- Moreno J, Vouldoukis I, Schreiber P, Martin V, McGahie D, Gueguen S *et al.* Primary vaccination with the LiESP/QA-21 vaccine (CaniLeish®) produces a cell-mediated immune response which is still present 1 year later. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 2014 ;158 :199-207 doi.org/10.1016/j.vetimm.2014.01.011
- Mossmann TR, Cherwinski H, Bond MW, Giedlin MA, Coffman RL. Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokines activities and secreted proteins. *J. Immunol*, 1986 ;136 :2348-57.
- Nocard E, Motas C. Contribution à l'étude de la piroplasmose canine. *Ann. Inst. Pasteur*, 1902 ;16 :257-90.
- Odongo D, Kamau L, Skilton R, Mwaura S, Nitsch C, Musoke A *et al.* Vaccination of cattle with TickGARD induces cross-reactive antibodies binding to conserved linear peptides of Bm86 homologues in *Boophilus decoloratus*. *Vaccine*, 2007 ;25 :1287-96 doi :10.1016/j.vaccine.2006.09.085
- Oliva G, Nieto J, Manzillo V F, Cappiello S, Fiorentino E, Di Muccio T *et al.* A randomised, double-blind, controlled efficacy trial of the LiESP/QA-21 vaccine in naïve dogs exposed to two *Leishmania infantum* transmission seasons. *PLOS Negl. Trop. Dis*, 2014 ;8 :10:e3213 doi :10.1371/journal.pntd.0003213
- Palatnik-de-Sousa C B. Vaccines for leishmaniasis in the fore coming 25 years. *Vaccine*, 2008 ;26 :1709-1724 doi :10.1016/j.vaccine.2008.01.023
- Raoult D. Questioning effectiveness of vaccines against malaria. *Lancet Inf. Dis*. 2017 ;17:22.
- Vidal®. Le dictionnaire. 90^{ème} ed. Vidal France, 2014.
- René-Martellet M, Chêne J, Chabanne L, Chalvet-Monfray K, Bourdoiseau G. Clinical signs, seasonal occurrence and causative agents of canine babesiosis in France : results of a multiregional study. *Vet. Parasitol.*, 2013, 197, 50-58. doi :10.1016/j.vetpar.2013.04.034

- René-Martellet M, Valiente Moro C, Chêne J, Bourdoiseau G, Luc Chabanne L, Mavingui P. Update on epidemiology of canine babesiosis in Southern France. *BMC Vet. Research*, 2015,11:223 doi :10.1186/s12917-015-0525-3
- Rhône Mérieux. Pirodog®, le vaccin contre la piroplasmose. 1997
- Schetters T. Vaccination against canine babesiosis. *Trends in Parasitol.*, 2005 ;21 :179-184 doi :10.1016/j.pt.2005.02.006
- Schetters T, Bishop R, Crampton M, Kopacek P, Lew-Tabor A, Maritz-Olivier C, *et al.* Cattle tick vaccine researchers join forces in CATVAC. *Parasites & Vectors*, 2016 ;9 :105 doi :10.1186/s13071-016-1386-8
- Srivastava S, Shankar P, Mishra J, Singh S. Possibilities and challenges for developing a successful vaccine for leishmaniasis. *Parasites & Vectors*, 2016 ;9 :277. doi 10.1186/s13071-016-1553-y
- Tarigan S, Huntley J F. Failure to protect goats following vaccination with soluble proteins of *Sarcoptes scabiei* : evidence for a role for IgE antibody in protection. *Vet. Parasitol.*, 2005 ;133 :101-109.