A la découverte des glossines, hôtes vecteurs des trypanosomes africains

Christelle Cren-Travaillé, Brice Rotureau

▶ **To cite this version:**

Christelle Cren-Travaillé, Brice Rotureau. A la découverte des glossines, hôtes vecteurs des trypanosomes africains. Bulletin de l'Association des Anciens Elèves de l'Institut Pasteur, 2016, 227, pp.53-57. pasteur-02006360

HAL Id: pasteur-02006360

https://pasteur.hal.science/pasteur-02006360

Submitted on 12 Feb 2019

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Distributed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License

A LA DECOUVERTE DES GLOSSINES, HOTES ET VECTEURS DES TRYPANOSOMES AFRICAINS

Christelle CREN-TRAVAILLÉ et Brice ROTUREAU

Groupe transmission des trypanosomes, Unité de biologie cellulaire des trypanosomes, Institut Pasteur, Paris

Correspondance : Christelle Cren-Travaillé, Institut Pasteur, 25 rue du Docteur Roux, 75015 Paris ; téléphone : 01 40 61 38 33 ; Mél : christelle.cren@pasteur.fr

INTRODUCTION

Les glossines, ou mouches tsétsé, sont des insectes diptères hématophages appartenant à la famille des Glossinidae qui n'est composé que du genre *Glossina*. Les 31 espèces et sous-espèces de glossines connues sont réparties en 3 sous-genres, ou groupes, en fonction de leur habitat naturel : le groupe savanicole *morsitans*, le groupe ripicole *palpalis* et le groupe sylvicole *fusca*. Leur distribution est aujourd'hui restreinte exclusivement à l'Afrique sub-saharienne et il est difficile de s'imaginer combien la présence des mouches tsé-tsé a pu façonner la physionomie géopolitique et humaine du continent africain au cours de son histoire. Les glossines sont en effet les principaux vecteurs des trypanosomes africains, protistes parasites de nombreux Vertébrés et responsables des trypanosomoses africaines.

1. BIOLOGIE DES GLOSSINES

1.1. Morphologie

Les glossines ont une taille similaire à celles des mouches domestiques, variant de 6 à 17 mm de longueur, et présentent une teinte allant du gris foncé au brun clair. La tête de la glossine est très caractéristique : elle possède de grands yeux composés, deux antennes dont le troisième segment est très ramifié et des pièces buccales robustes adaptées à l'hématophagie. En effet, contrairement aux moustiques ou aux phlébotomes chez lesquels seules les femelles se nourrissent de sang avant l'oviposition, les glossines

des deux sexes sont strictement hématophages et ainsi capables de transmettre les trypanosomes. Long et étroit, le proboscis des glossines permet de percer la peau d'un animal, d'y injecter la salive puis d'ingérer le repas sanguin. Lorsque la glossine ne se nourrit pas, le proboscis pointe en avant de la tête et reste protégé par une paire de palpes maxillaires. Lors du nourrissage, de petites dents labellaires situées à l'extrémité du proboscis dilacèrent la peau de l'hôte, créant une microhémorragie cutanée. Ce processus, appelé telmophagie, permet à la glossine d'absorber rapidement un grand volume de sang (environ 30µl en moins de 3 minutes de repas au total). Le thorax porte une paire d'ailes, trois paires de pattes et une paire d'haltères. Au repos, les ailes des glossines sont repliées dorsalement l'une sur l'autre en ciseaux et les nervures alaires dessinent un espace caractéristique en forme de hachette [4]. Les ailes et les pattes sont régulièrement utilisées dans les études morphométriques et génétiques.

1.2. Physiologie

Les glossines sont des insectes à cycle de développement long (40 à 100 jours) avec une durée de vie moyenne de 3 à 4 mois *in natura*. Une singularité des glossines est leur mode de reproduction par viviparité adénotrophique : une femelle ne peut porter qu'une seule et unique larve à la fois [16]. Il en résulte un taux de reproduction très faible n'excédant pas 10 descendants par femelle. Après fécondation, l'œuf puis l'embryon se développent dans l'utérus de la glossine pendant 14 jours (***Fig.1***). La larve y est alimentée avec le lait sécrété par des glandes lactogènes annexes. Après les deux semaines nécessaires au développement des 3 stades larvaires, la glossine femelle recherche un endroit approprié pour déposer sa larve, habituellement un sol meuble dans une zone abritée. Le processus de larviposition est rapide (5-10 secondes) et résulte des mouvements de reptation de la larve. Immédiatement, la larve s'enfouit et entame la solidification et la mélanisation de son enveloppe nymphale, le puparium (***Fig.1***). Après environ un mois de développement nymphal (du 4ème stade larvaire à l'imago), la glossine adulte brise son puparium grâce à une expansion frontale appelée ptilinum et s'en extrait en quelques secondes. Ensuite, ses ailes se déploient et son corps se durcit et s'allonge jusqu'à atteindre sa taille adulte en quelques minutes, on parle alors de mouche ténérale. La glossine, maintenant apte à voler, cherche rapidement son premier repas. La maturité sexuelle est atteinte en 3 à 5 jours et le premier

accouplement est le seul efficace car les gamètes mâles sont conservés dans la spermathèque de la femelle puis utilisés à chaque cycle durant toute la vie de la glossine.

Les glossines ont une activité diurne, en particulier à l'aube et en fin d'après-midi, leur activité étant complètement stoppée avec la tombée de la nuit. En raison de leur métabolisme énergétique basé sur l'utilisation d'une combinaison proline-alanine peu rentable, les glossines volent très peu et ne sont activent que moins d'une heure par jour. Leur activité principale reste la recherche d'un hôte nourricier tous les 3 jours environ.

1.3. Écologie

Parmi les trois principaux groupes de glossines définis selon leur distribution, leur habitat et leurs caractères morphologiques, les espèces ripicoles du groupe *palpalis* et savanicoles du groupe *morsitans* sont plus particulièrement impliquées dans la transmission des trypanosomes africains.

Glossina palpalis

Les espèces du groupe *palpalis* ont besoin d'un taux d'humidité élevé (environ 80 % d'humidité relative) et de beaucoup d'ombre. Elles habitent généralement dans les galeries forestières situées le long des cours d'eau. A l'ombre du couvert végétal, les températures y demeurent plus faibles que dans la savane environnante pendant la journée, et plus fortes la nuit. La présence d'eau à proximité fournit le degré d'humidité élevé requis. Pendant la saison des pluies, *G. palpalis* peut se disperser dans la savane. Cependant, en saison sèche elle se concentre uniquement dans ces forêts-galeries. *G. palpalis* se nourrit préférentiellement sur des espèces vivant à proximité de l'eau (varan et crocodile), parfois sur des bovidés ou phacochères quand ces animaux s'abreuvent, ou encore sur l'homme lorsqu'il fréquente les rivières pour ses activités (ex : pêche, toilette, cultures…).

Glossina morsitans

Les espèces du groupe *morsitans* sont présentes dans les régions de l'Afrique tropicale où la température annuelle moyenne se situe entre 19°C et 28°C avec une hygrométrie de 50 à 60%. L'habitat typique de *G. morsitans* est la forêt claire et la savane boisée peuplée par un gibier abondant. *G. morsitans* peut modifier son comportement habituel et se nourrir sur des animaux domestiques, en particulier des bovins, en l'absence de

gibier. *G. morsitans* est un vecteur important dans l'étiologie de la trypanosomose animale.

1.4. Importance en santé humaine et animale

Les glossines sont les hôtes et vecteurs de plusieurs espèces de parasites de la famille des trypanosomatidés, les trypanosomes africains. Les trypanosomes africains sont des protistes uniflagellés extracellulaires qui prolifèrent dans la circulation sanguine de hôte mammifère. Ils ont la capacité de traverser la barrière hémato-encéphalique, entrainant de sévères désordres neurologiques dont l'issue peut être fatale, en particulier en l'absence de traitement [1]. La trypanosomose humaine africaine (THA), également appelée maladie du sommeil, est une maladie tropicale négligée causée par *Trypanosoma brucei (T. b.) rhodesiense* en Afrique de l'Est et par *T. b. gambiense* en Afrique de l'Ouest et en Afrique Centrale [14]. Depuis 2009, moins de 10 000 cas annuels sont recensés, cependant l'OMS estime à 20 000 le nombre de cas réels et à 70 millions la population exposée au risque d'infection [19]. *T. b. gambiense,* transmis par les glossines du groupe *palpalis* est responsable de la forme chronique de la THA qui représente actuellement plus de 98% des cas notifiés. Une personne peut être infectée pendant des mois, voire des années, sans présenter de signes cliniques. Quand les symptômes surviennent, la maladie est déjà souvent à un stade avancé et le système nerveux central est atteint. *T. b. rhodesiense,* transmis quant à lui par les glossines du groupe *morsitan*s, est responsable de la THA aigüe représentant moins de 2% des cas notifiés [19]. Les premiers signes cliniques se manifestent après quelques semaines et la maladie évolue alors rapidement vers une atteinte du système nerveux central. D'autres espèces proches de *Trypanosoma brucei* sont responsables des trypanosomoses animales africaines (TAA) ou Nagana, avec un impact socio-économique majeur dans les zones touchées [1]. *T. vivax* et *T. congolense* sont des pathogènes infectant principalement les bovins et autres ruminants sauvages alors que *T. simiae* cause une mortalité élevée chez les porcs domestiques. *T. brucei brucei* quant à lui, affecte aussi bien le bétail que les équidés ou encore les canidés.

La glossine étant un hôte obligatoire pour la plupart de ces trypanosomes africains, le contrôle de la transmission de ces parasites nécessite préalablement une connaissance approfondie de leur développement dans la glossine (biologie cellulaire, physiologie,

interactions hôtes / symbiontes / parasites, réponse immunitaire) ainsi que des mécanismes de leur transmission à l'hôte mammifère. C'est pourquoi, nous avons créé un élevage d'environ 5 000 individus de l'espèce *Glossina morsitans morsitans* au sein de notre laboratoire de l'Institut Pasteur de Paris. Ces mouches sont les vectrices du parasite de bovins *Trypanosoma brucei brucei* que l'on retrouve principalement en Afrique de l'Est, du Mozambique en Tanzanie septentrionale. Depuis 2007, et avec le soutien initial de l'unité IRD-CIRAD InterTryp de Montpellier, nous avons progressivement optimisé un protocole d'élevage et mis en place une méthode d'infection expérimentale adaptée aux nombreuses contraintes biologiques imposées par les glossines. Les conditions optimales pour l'élevage de cette espèce sont une température d'environ 24°C et un taux d'hygrométrie d'environ 70%. Les glossines de notre élevage sont nourries artificiellement quatre fois par semaine avec du sang de mouton frais défibriné à travers une membrane en silicone. Elles sont maintenues en cages parallélépipédiques Roubaud par groupe de 30 à 40 individus. Les larges mailles du tissu qui recouvre les cages permettent aux pupes de tomber directement dans un toboggan placé sous les cages et les pupes sont ramassées quotidiennement. Après un mois de développement nymphale en pot d'émergence, toutes les jeunes femelles sont collectées pour l'élevage alors que la plupart des mâles sont utilisés pour les infections expérimentales nécessaires à nos programmes de recherche. Cet élevage nous a ainsi permis de découvrir différents aspects étonnants du développement cycliques des trypanosomes africains. Ceci n'est réalisé que dans très peu de laboratoires dans le monde, en raison des difficultés techniques (maintenance des parasites, des insectes et imagerie) et du caractère chronophage de ces activités.

2. DEVELOPPEMENT CYCLIQUE DES TRYPANOSOMES AFRICAINS

L'infection de la mouche tsétsé se produit à la suite d'un repas sanguin sur un hôte infecté. Pour être transmis à un nouvel hôte mammifère, les trypanosomes doivent alors suivre un véritable parcourt du combattant dans le vecteur : ils se développent selon un cycle complexe, durant quelques jours pour *T. vivax* à au moins 3 semaines pour *T. brucei*, combinant 4 à 8 étapes de différenciations successives ainsi que 2 étapes de migration, le tout dans 5 organes différents selon l'espèce de trypanosome concernée

(***Fig. II***) [5, 6, 9, 18]. Au cours de la digestion, le repas sanguin entraine les formes parasitaires sanguines dans la partie postérieure de l'intestin. Chez *T. brucei*, ces formes se différencient alors en formes prolifératives procycliques. Puis, 3 à 6 jours après le repas infectant, une partie de ces formes procycliques traverse la membrane péritrophique (membrane semi-perméable protectrice dans laquelle se déroule la digestion). Après différenciation en formes mésocycliques, les trypanosomes migrent le long de l'intestin vers sa partie antérieure, puis pénètrent à nouveau dans l'espace endopéritrophique pour envahir le lumen du proventricule (cardia), puis l'œsophage [18]. Les formes mésocycliques migratoires se différencient et se divisent aussitôt de manière asymétrique produisant des formes épimastigotes longues et courtes [8, 13, 17]. Après un long voyage via les pièces buccales, seuls quelques parasites épimastigotes courts parviennent à coloniser les glandes salivaires de la glossine, auxquelles ils s'attachent afin de se différencier en stades métacycliques, seules formes infectantes pour l'hôte mammifère une fois injectées dans la salive de la mouche.

Notre unité s'est particulièrement intéressée aux multiples rôles du flagelle des trypanosomes au cours du développement parasitaire [6]. Le flagelle du trypanosome est un organite essentiel ancré le long du corps cellulaire via une structure spécialisée appelée zone d'attachement du flagelle (FAZ), dont l'organisation reste méconnue et qui pourrait constituée une cible vaccinale potentielle. Nous avons découvert de nouveaux éléments de la FAZ [11] et démontré que l'expression de certaines protéines de cette zone primordiale évolue selon le stade du cycle parasitaire [8]. Ceci suggère un rôle fonctionnel de la FAZ dans le contrôle de la taille et de la morphologie du parasite au cours de la division cellulaire des parasites épimastigotes dans le proventricule. Nous avons également montré l'implication de protéines de la famille ALBA durant les étapes de différenciation du parasite au cours desquelles la FAZ est remodelée [15]. Il s'agit de la première démonstration *in vivo* du rôle spécifique de protéines de régulation traductionnelle chez les trypanosomes.

A partir de parasites fluorescents, nous avons mis en évidence que la motilité des différents stades du parasite était directement adaptée à leur fonction au cours du cycle parasitaire (migration, attachement ou prolifération). De plus, des parasites mutants rendus presque immobiles se sont avérés incapables d'effectuer leur première différenciation dans l'intestin de la mouche et d'atteindre les glandes salivaires,

démontrant le caractère essentiel de la mobilité pour achever la partie vectorielle du cycle parasitaire [10, 12]. L'efficacité de cette mobilité semble dépendre de l'activité d'une protéine phosphagène spécifique du flagelle, nommée Arginine kinase 3, qui participe à la régulation énergétique des battements de ce dernier [7]. Enfin, de manière inattendue, des « comportements sociaux » au sein de certaines populations de parasites ont été observés *in vivo*. À forte densité, les parasites en migration dans l'intestin du vecteur sont capables de synchroniser leurs mouvements afin de faciliter leur progression (données non publiées).

Pour achever son cycle parasitaire dans l'insecte, *T. brucei* doit atteindre les glandes salivaires afin d'y produire des formes métacycliques infectantes. Ces parasites sont expulsés avec la salive avant chaque repas sanguin et durant toute la vie de l'insecte. Cependant, le modèle communément accepté ne permet pas d'expliquer comment des parasites infectants sont produits de façon continue dans les glandes salivaires. Nous avons démontré l'existence de deux modes distincts de prolifération se produisant simultanément parmi les trypanosomes attachés dans les glandes salivaires [9]. Le premier mode de division produit deux cellules équivalentes attachées à l'épithélium et prédomine lors de la colonisation des glandes aux étapes précoces de l'infection. Le second, plus abondant aux stades tardifs de l'infection, est basé sur une division asymétrique. Celle-ci produit une cellule fille qui mûrit en forme métacyclique infectante libérée dans la salive. La coordination de ces deux cycles alternatifs explique la production précoce et continue de parasites infectants, révélant la dernière grande étape du cycle parasitaire longtemps recherchée [9]. Des observations comparables ont été obtenues en reproduisant le cycle de développement de *T. vivax in vitro* [3] et *in vivo* (données non-publiées).

3. PERSPECTIVES

L'injection de formes métacycliques infectantes de *T. brucei* lors d'une piqure de mouche tsé-tsé dans la peau de l'hôte mammifère induit une réponse inflammatoire locale. Les trypanosomes transitent apparemment d'abord dans le système lymphatique, avant d'envahir la circulation sanguine où ils prolifèrent et provoquent les symptômes typiques de la maladie. Cependant, très peu de détails sont aujourd'hui connus sur les

étapes précoces de l'infection, en particulier leurs mécanismes de différenciation, leur prolifération et leur passage à la circulation sanguine. C'est pourquoi nous étudions actuellement les étapes précoces du développement de *T. brucei* fluorescents et bioluminescents dans le derme de la souris, après injection par piqûre infectante de mouche tsé-tsé, en utilisant des technologies d'imagerie intra-vitales récentes. Ces études, réalisées en conditions de transmission naturelle grâce à notre élevage de glossines, nous permettront de bénéficier d'une vue d'ensemble sur les mécanismes précoces de l'infection par les trypanosomes africains et seront également utiles pour la mise au point d'un diagnostic chez l'homme voire pour l'identification de nouvelles cibles thérapeutiques.

Bibliographie

1. Brun R, Blum J, Chappuis F*, et al.*, Human African trypanosomiasis. *Lancet*, 2010. **375**(9709): p. 148-59.
2. Cuisance D, Le piégeage des tsé-tsé. *Etudes et synthèses de l'Institut d'Elevage et de Médecines Vétérinaires Tropicaux (IEMVT). Maisons-Alfort : Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement (CIRAD), Montpellier (France).* , 1989. **32**: p. 172.
3. D'archivio S, Medina M, Cosson A*, et al.*, Genetic engineering of Trypanosoma (Dutonella) vivax and in vitro differentiation under axenic conditions. *PLoS neglected tropical diseases*, 2011. **5**(12): p. e1461.
4. De La Rocque S, Geoffroy B, Michel JF*, et al.*, [Tsetse fly wings, an identity card of the insect?]. *Parasite*, 2002. **9**(3): p. 275-81.
5. Oberle M, Balmer O, Brun R*, et al.*, Bottlenecks and the maintenance of minor genotypes during the life cycle of Trypanosoma brucei. *PLoS pathogens*, 2010. **6**(7): p. e1001023.
6. Ooi CP and Bastin P, More than meets the eye: understanding Trypanosoma brucei morphology in the tsetse. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 2013. **3**: p. 71.
7. Ooi CP, Rotureau B, Gribaldo S*, et al.*, The Flagellar Arginine Kinase in Trypanosoma brucei Is Important for Infection in Tsetse Flies. *PloS one*, 2015. **10**(7): p. e0133676.
8. Rotureau B, Subota I and Bastin P, Molecular bases of cytoskeleton plasticity during the Trypanosoma brucei parasite cycle. *Cellular microbiology*, 2011. **13**(5): p. 705-16.
9. Rotureau B, Subota I, Buisson J*, et al.*, A new asymmetric division contributes to the continuous production of infective trypanosomes in the tsetse fly. *Development*, 2012. **139**(10): p. 1842-50.
10. Rotureau B and Van Den Abbeele J, Through the dark continent: African trypanosome development in the tsetse fly. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 2013. **3**: p. 53.
11. Rotureau B, Blisnick T, Subota I*, et al.*, Flagellar adhesion in Trypanosoma brucei relies on interactions between different skeletal structures in the flagellum and cell body. *Journal of cell science*, 2014. **127**(Pt 1): p. 204-15.
12. Rotureau B, Ooi CP, Huet D*, et al.*, Forward motility is essential for trypanosome infection in the tsetse fly. *Cellular microbiology*, 2014. **16**(3): p. 425-33.
13. Sharma R, Gluenz E, Peacock L*, et al.*, The heart of darkness: growth and form of Trypanosoma brucei in the tsetse fly. *Trends in parasitology*, 2009. **25**(11): p. 517-24.
14. Simarro PP, Jannin J and Cattand P, Eliminating human African trypanosomiasis: where do we stand and what comes next? *PLoS Med*, 2008. **5**(2): p. e55.
15. Subota I, Rotureau B, Blisnick T*, et al.*, ALBA proteins are stage regulated during trypanosome development in the tsetse fly and participate in differentiation. *Molecular biology of the cell*, 2011. **22**(22): p. 4205-19.

16. Tobe SS, Reproductive physiology of Glossina. *Annu Rev Entomol*, 1978. **23**: p. 283-307.
17. Van Den Abbeele J, Claes Y, Van Bockstaele D*, et al.*, Trypanosoma brucei spp. development in the tsetse fly: characterization of the post-mesocyclic stages in the foregut and proboscis. *Parasitology*, 1999. **118 (Pt 5)**: p. 469-78.
18. Vickerman K, Developmental cycles and biology of pathogenic trypanosomes. *Br Med Bull*, 1985. **41**(2): p. 105-14.
19. Who, Investing to overcome the global impact of neglected tropical diseases, in Third WHO report on neglected tropical diseases. 2015. p. 211.

Figures

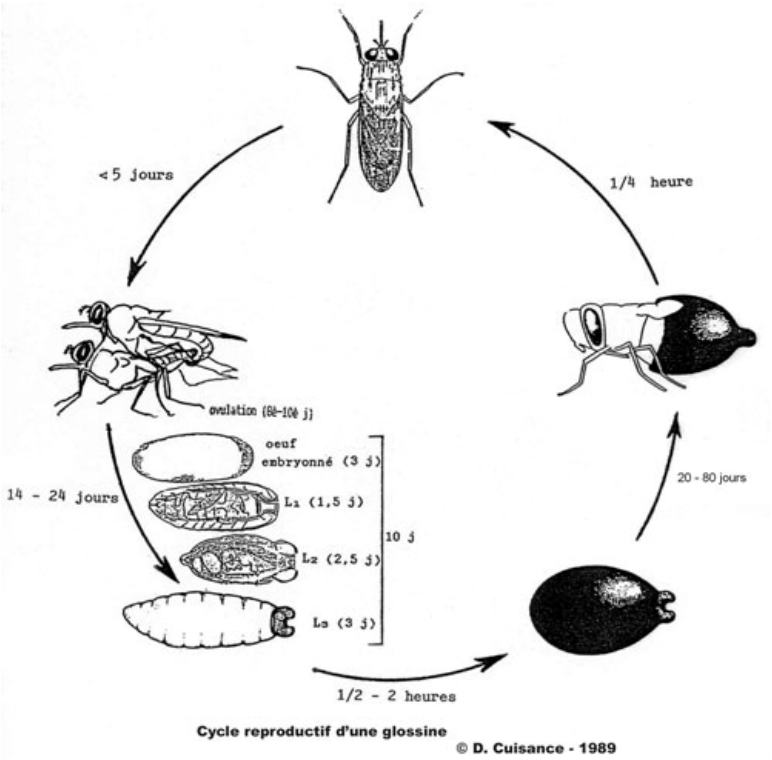

Figure I. **Cycle reproductif de la glossine (D'après D. Cuisance [2])**

Après fécondation, les 3 premiers stades du développement larvaire ont lieu dans l'utérus de la glossine femelle pendant 14 jours. La glossine cherche alors un sol meuble pour y déposer sa larve. Immédiatement, la larve s'enfouit et entame la solidification et la mélanisation de son enveloppe nymphale. Après 1 mois, l'imago ténéral brise son puparium, ses ailes se déploient, son corps se durcit et s'allonge jusqu'à atteindre sa taille adulte. La maturité sexuelle est atteinte après environ 5 jours.

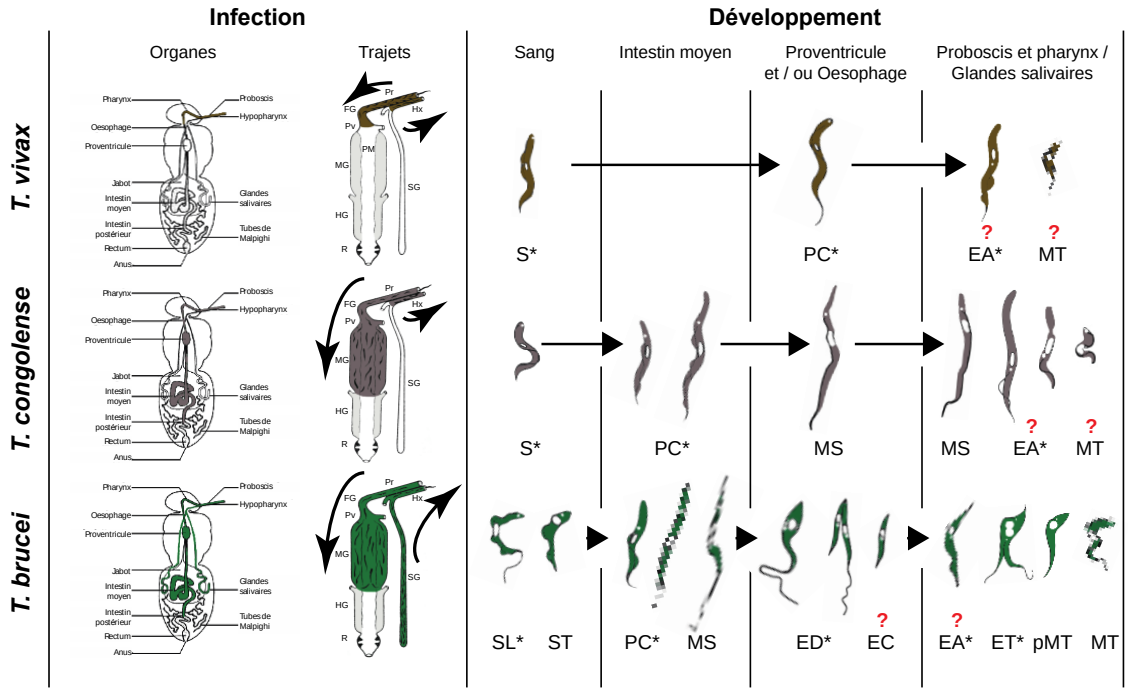

Figure II. **Développement cyclique des 3 principaux groupes de trypanosomes africains.** Cycles parasitaires de *T. brucei* (3 semaines), *T. congolense* (2 semaines) et *T. vivax* (1 semaine) chez leur deux hôtes successifs, l'hôte mammifère et la mouche tsé-tsé [10]. Les chemins suivis par les parasites dans les différents organes de la glossine sont détaillés à gauche. Les stades parasitaires successifs sont représentés dans l'ordre chronologique à droite. ∗ indique un stade prolifératif et ? indique une incertitude quant à la division et/ou à la forme de transition. Pr : proboscis, FG : foregut (œsophage), Pv : proventricule, PM : membrane péritrophique, MG : intestin moyen, HG : intestin postérieur, R : rectum, Hx : hypopharynx, SG : glandes salivaires, SL : trypomastigote slender long, ST : trypomastigote stumpy trappu, PC : trypomastigote procyclique, MS : trypomastigote mésocyclique, ED : épimastigote long en division, EC : épimastigote court, EA : épimastigote attaché, ET : épimastigote en division épi-trypo, pMT : trypomastigote pré-métacyclique, MT : trypomastigote métacyclique.