

## La mouche des sables joue-t-elle un rôle dans la leishmaniose ?

par Rachid Sabbahi



### Introduction

Les protozoaires se retrouvent pratiquement dans tous les habitats terrestres. Plusieurs protozoaires sont responsables de maladies humaines très graves et touchent des millions d'individus à travers le monde. Parmi ces protozoaires, on trouve fréquemment le *Plasmodium* et le *Leishmania* qui causent respectivement la malaria et la leishmaniose (Prescott *et al.* 2003).

Dans le cycle de transmission d'une maladie, les parasites doivent obligatoirement passer par un insecte vecteur. Cependant, certains insectes vecteurs arrivent à se débarrasser de l'agent infectieux. Ainsi, l'efficacité de la réponse immunitaire de l'insecte à l'égard de l'agent infectieux peut jouer un rôle important dans la transmission de la maladie.

Les insectes fournissent un exemple particulier d'une immunité naturelle, dite non spécifique, qui n'implique pas les lymphocytes et les anticorps comme chez les mammifères. Par exemple, l'immunité induite à la suite de l'invasion de la cavité intérieure de l'insecte par des bactéries déclenche la synthèse de petits peptides puissants ayant une activité antibactérienne, antifongique et même antiparasitaire (Hoffmann et Reichhart, 2002). Malgré ces moyens de défense, de nombreux insectes vecteurs n'éliminent pas tous les parasites ou agents pathogènes envahisseurs.

La réponse immunitaire chez les insectes est constituée d'une réponse cellulaire facilitée par les hémocytes et d'une réponse humorale impliquant des peptides antibactériens. Les hémocytes sont dérivées de la glande lymphatique de l'insecte. Cette glande engendre trois types de cellules : les cellules à cristaux qui génèrent les enzymes impliquées dans des réactions de mélanisation, les lamellocytes et les plasmatocytes qui sont des phagocytes. La différenciation des lamellocytes n'aura lieu qu'après infection de l'hôte par des grands parasites (Hoffmann et Reichhart, 2002).

Le parasite *Leishmania* est l'agent étiologique de la leishmaniose qui est considérée comme l'une des six maladies infectieuses les plus importantes par l'Organisation mondiale de la santé (Prescott *et al.* 2003). L'infection par ce parasite peut provoquer

plusieurs types de pathologies qui semblent être liées spécifiquement à certains vecteurs de *Leishmania* (Roux, 1986). Par exemple, la leishmaniose cutanée est causée par *L. major*. Cette maladie se traduit par une forte inflammation au site d'infection. La leishmaniose viscérale, causée par *L. donovani*, se caractérise par peu d'inflammation au site d'infection et par une attaque des viscères tels que le foie, les reins et la rate. Plusieurs études suggèrent que les différences de pathologie causées par les espèces de *Leishmania* seraient dues, du moins en partie, aux oligosaccharides présents à la surface du parasite. Par exemple, un des oligosaccharides spécifiques à l'espèce *L. major* est l'épitope<sup>1</sup> poly- $\beta$ -galactosyl (Gal $\beta$ 1-3)<sub>n</sub> présent seulement dans les lipophosphoglycanes (LPG) de cette espèce. Il est intéressant de constater que cet épitope serait aussi impliqué dans le développement du parasite à l'intérieur de l'insecte vecteur. Les lectines de l'insecte (protéines reconnaissant des oligosaccharides spécifiques) reconnaissent les épitopes polygalactosyls du parasite (Pelletier et Sato, 2002). Elles peuvent être aussi impliquées dans la liaison des espèces du parasite à leurs vecteurs (Pelletier *et al.* 2003).

Au niveau de l'intestin de l'insecte, il a été démontré qu'une glycoprotéine nommée galectine agit comme récepteur des lipophosphoglycanes (LPG) de *L. major*. Cette molécule permettrait l'attachement de ce parasite aux cellules intestinales de l'insecte. L'interaction entre le LPG et la galectine serait cruciale pour la survie du parasite *L. major* dans l'intestin médian de son insecte vecteur, *Phlebotomus papatasi* (Diptera : Psychodidae). La surface cellulaire et la sécrétion des LPG par le parasite protègent ce dernier de l'activité protéolytique au niveau de l'intestin médian de l'insecte à la suite d'un repas sanguin. Cette protection facilite l'attachement du parasite aux cellules épithéliales intestinales de l'insecte et, conséquemment, aide à maintenir l'infection parasitaire durant l'excrétion du sang. Ceci contribue donc à la formation d'un réservoir biologique à l'intérieur de l'intestin qui peut promouvoir d'éventuelles transmissions à l'hôte principal (mammifère) par une simple piqûre.

1. Structure présente à la surface de la molécule d'antigène.

## Système immunitaire chez les insectes

Afin d'empêcher l'invasion par les agents pathogènes, les insectes ont développé, au cours de leur évolution, différents mécanismes de défense. L'arsenal défensif des insectes est constitué des barrières structurales passives comme la cuticule. Le tégument chitineux de l'insecte constitue une barrière primaire efficace contre l'invasion d'une majorité des microorganismes. En absence de blessure, la plus importante voie d'infection des insectes par les bactéries, les virus et les parasites est le canal alimentaire. Cependant, les champignons entomopathogènes ont l'habileté de pénétrer à travers la cuticule pour établir l'infection.

En plus des barrières passives, il existe une cascade de réponses actives lorsque les pathogènes ont atteint l'hémocœle de l'insecte (Hoffmann et Reichhart, 2002). Ces réponses actives incluent la mélanisation, les réactions cellulaires, les réactions humorales et la production des inhibiteurs de protéases (Gillespie *et al.* 2000). Comme les mammifères, les insectes ont un système immunitaire naturel complexe et efficace qui leur fournit une grande résistance contre les infections par les microbes (Franc et White, 2000; Fugita, 2002; Hoffmann et Reichhart, 2002). Les antigènes microbiens sont reconnus par le système immunitaire naturel de l'insecte grâce à des unités répétitives constituées de polysaccharides trouvés dans les glycoprotéines de la surface microbienne. Parmi ces unités, on trouve les lipopolysaccharides (LPS) associés aux bactéries Gram-négatives, les peptidoglycanes associés aux bactéries Gram-positives, les glycanes riches en mannose associés aux levures et les lipophosphoglycanes (LPG) associés aux parasites (Pace et Baum, 2004). D'après Fugita (2002), ces unités répétitives de saccharides sont reconnues par des récepteurs de reconnaissance de formes (PRR). La reconnaissance des saccharides microbiens par les PRR des insectes induit la libération de peptides antimicrobiens (AMP) qui tuent directement les pathogènes (Hoffmann et Reichhart, 2002). Les AMP sont des molécules cationiques d'environ 10 kDa. Ils sont classés en trois groupes : (1) les peptides linéaires dépourvus de cystine; (2) les peptides riches en proline et en glycine; et (3) les peptides riches en cystéine (Dimarcq *et al.* 1998). Chaque AMP a une activité antimicrobienne spécifique. À titre d'exemple, la drosomycine et la metchnikowine ont exclusivement des propriétés antifongiques (Bulet *et al.* 1999) alors que la défensine, la drosocine, la dip-téricine et la cécropine affectent la croissance bactérienne (Boulanger *et al.* 2001). Alternativement,

les pathogènes peuvent aussi être phagocytés par les hémocytes à la suite de la reconnaissance de certains antigènes.

## La mouche des sables, *Phlebotomus papatasi*

La mouche des sables ou phlébotome appartient à la sous-famille des Phlebotominae de la famille des Psychodidae. Elle est le vecteur du parasite *Leishmania* infectant les humains et autres vertébrés (Feliciangeli, 2004). L'écologie et la biologie de la mouche des sables et ses stades de développement ont été documentées (Kettle, 1995; Rodhain et Perez, 1985). La mouche des sables est un hématophage dont les antennes, sont longues de six à quinze articles. Ce diptère a l'aspect d'un petit moustique velu, de couleur jaunâtre, à gros yeux noirs, aux ailes lancéolées, frangées de longs poils. Il appartient au groupe des holométaboles et est rencontré dans différents habitats (ex. habitat domestique ou sylvatique). Les adultes mesurent environ 3 mm de long et vivent dans les régions tropicales et tempérées. Les larves se développent en présence de matière organique, de chaleur et d'humidité. On les trouve dans les déchets domestiques, dans l'écorce de vieux arbres, dans les nids de fourmis et dans les fissures des murs des maisons (Feliciangeli, 2004).

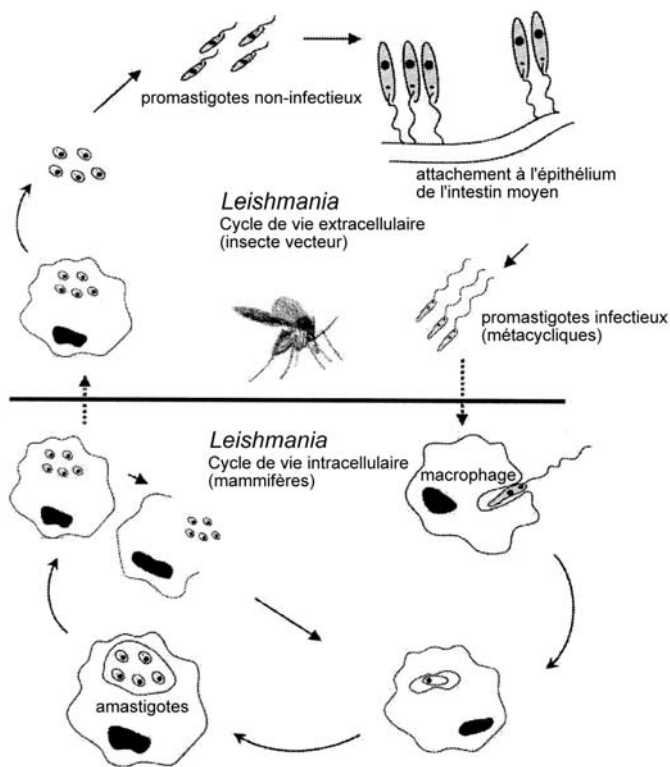
La mouche des sables s'alimente habituellement la nuit (Arias *et al.* 1996). Les mâles se nourrissent uniquement de la sève des plantes alors que seules les femelles ont besoin d'un repas sanguin afin de permettre le développement des œufs. Il semble que l'attraction des phlébotomes pour l'humain dépend de la production de CO<sub>2</sub> par ce dernier, mais également de son odeur (Pinto *et al.* 2001).

Plusieurs tentatives ont été envisagées pour contrôler les populations des phlébotomes dans les écosystèmes. Par contre, des applications d'insecticides organochlorés pour réduire les populations de *P. papatasi* n'ont pas mené à des résultats concluants (Vioukov, 1987).

## Le parasite, *Leishmania major*

Le cycle de vie de *Leishmania major* comporte plusieurs phases. *Leishmania major* se différencie dans le tube digestif de l'insecte en promastigotes. Ceux-ci sont d'abord au stade procyclique où ils se divisent activement, mais ne sont pas infectieux (Fig. 1).

Après quatre jours, des promastigotes plus allongés et motiles, appelés nectomonades, commencent à apparaître et s'attachent aux microvillosités des cellules épithéliales de l'intestin médian de l'insecte par leur flagelle. À partir du septième



**Figure 1.** Cycle de vie du parasite *Leishmania* (Kamhawi et al. 2004).

jour, les parasites migrent vers la partie antérieure de l'intestin médian, jusqu'à la valve du stomodaeum qui sépare l'intestin médian de l'avant du système digestif de l'insecte. Les nectomonades se transforment alors en haptomonades qui sont plus petits et plus arrondis. Finalement, les haptomonades se transforment en promastigotes métacycliques qui eux, ne se divisent plus, sont plus minces avec un long flagelle et hautement motiles. Ces derniers constituent la forme qui est infectieuse pour les mammifères. La valve du stomodaeum se dégrade et permet la migration des promastigotes métacycliques vers l'œsophage, le pharynx et le proboscis (Sacks et Kamhawi, 2001). La leishmaniose est transmise par la piqûre de phlébotomes femelles. Pendant qu'ils sucent le sang d'un humain, ces insectes transmettent l'infection en injectant dans leur hôte des parasites promastigotes. Ces parasites infectent l'humain et sont ingérés par des phagocytes du système réticulo-endothélial. Ils se transforment alors en parasites amastigotes ovoïdes de 2 à 5 µm de diamètre, avec un très court flagelle et ils ne sont plus mobiles. Ceux-ci se multiplient par fission binaire dans le phagolysosome du phagocyte qui est finalement lysé. Les parasites ainsi libérés sont phagocytés à leur tour par les cellules avoisinantes. Ils affectent ensuite

différents tissus en causant des manifestations cliniques correspondant aux types de leishmaniose.

Les phlébotomes peuvent également devenir porteurs de parasites lorsqu'ils sucent le sang d'un humain préalablement infecté en ingérant des macrophages envahis de parasites amastigotes. Dans l'intestin du phlébotome, les parasites changent à nouveau de forme, se multiplient et migrent de nouveau dans le proboscis de l'insecte.

### Transmission de la leishmaniose

On peut qualifier les leishmanioses d'anthroponoses ou de zoonoses selon que l'humain soit l'hôte direct ou l'hôte accidentel du vecteur (Forget, 2004). En effet, certains vecteurs sont attirés par l'humain alors que la majorité a plutôt tendance à infecter d'autres mammifères. Un grand nombre d'animaux sauvages et domestiques, dont le chien, peuvent constituer des réservoirs d'infection, tout comme l'homme. La maladie est très concentrée : sa répartition géographique se limite aux zones tropicales et tempérées où l'on rencontre des populations de phlébotomes. Elle est actuellement endémique dans 88 pays où elle menace 350 millions de personnes (OMS, 2002).

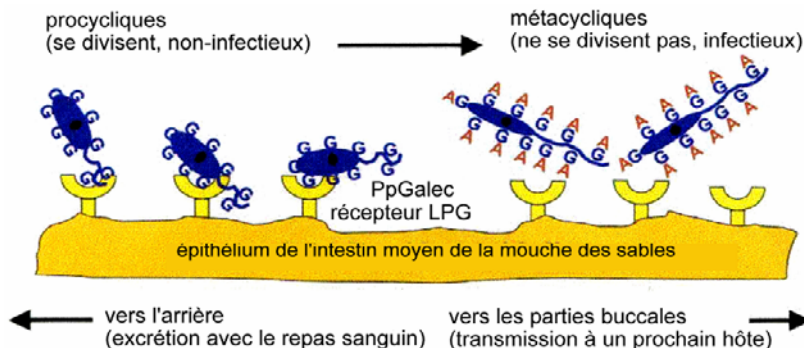
La taille de la population des phlébotomes transmettant la leishmaniose dépend principalement de la disponibilité des lieux favorables pour leur développement (des sols suffisamment humides avec des plantes qui se putréfient) et du nombre d'hôtes disponibles pour ces insectes. Une réduction de la population animale, à la suite de perturbations des écosystèmes, concentre d'abord les phlébotomes sur les animaux déjà infectés et intensifie ainsi la transmission à la population restante. De plus, les phlébotomes sont davantage obligés de chercher leurs hôtes pour en prélever le sang ce qui entraîne une augmentation des attaques chez les animaux domestiques et l'humain (Felicangeli, 2004). En effet, avec la destruction du réservoir animal, il peut y avoir une proportion de phlébotomes infectés plus importante et, ainsi, une augmentation des attaques chez l'homme. Dans ce cas, il y a accroissement de l'incidence des maladies humaines.

Lors d'un repas sanguin, la mouche des sables, qu'elle soit infectée ou non par le parasite, injecte de la salive au site de la piqûre. Les glandes salivaires jouent un rôle d'immunomodulateur (immunogène ou immunosuppresseur) lorsque le parasite *Leishmania* est injecté simultanément. Ceci entraîne une augmentation de la taille des lésions ou de la charge en parasites (Sacks et Kamhawi, 2001). Cette exacerbation de la pathologie est associée à une augmentation de l'IL-4

(interleukine 4) (Forget, 2004) et à une inhibition de plusieurs fonctions des macrophages (ex. présentation d'antigène et production de monoxyde d'azote) et la prolifération de lymphocytes T spécifiques aux parasites (Hall et Titus, 1995; Katz *et al.* 2000; Theodos et Titus, 1993). Le succès de l'insecte à transmettre la leishmaniose dépend des constitutions moléculaires de son parasite. Ces molécules jouent un rôle important pour la survie du parasite et aussi pour la compétence du vecteur.

### Compétence de l'insecte vecteur

Il existe une association spécifique entre les espèces d'insectes vecteurs et les parasites (Killick-Kendrick, 1990). La susceptibilité ou la résistance d'une espèce de phlébotome au développement d'un parasite en particulier dépend de la capacité de celui-ci à surmonter certaines barrières telles que les enzymes protéolytiques de l'intestin moyen, la membrane péritrophique entourant le repas sanguin et l'excrétion du contenu de l'intestin moyen lors de la digestion (Sacks et Kamhawi, 2001). À l'intérieur de la mouche des sables, le parasite doit être capable de s'attacher aux cellules épithéliales de l'intestin afin d'échapper à son élimination lors de l'excrétion du repas sanguin. Cet attachement est réalisé grâce à l'interaction entre les LPG et les cellules épithéliales intestinales (Kamhawi *et al.* 2000; Fig. 2).



**Figure 2.** Liaison du parasite *Leishmania* avec les cellules épithéliales de l'intestin du phlébotome *Phlebotomus papatasi* (Kamhawi *et al.* 2004).

Les ramifications de résidus galactose du LPG de *L. major* permettraient son attachement dans son vecteur naturel *P. papatasi* alors que *L. donovani* ne peut s'y fixer en raison de son LPG non ramifié (Pimenta *et al.* 1994). À l'inverse, *L. major* et *L. donovani* ne peuvent coloniser l'intestin moyen de *P. sergenti*, vecteur naturel de *L. tropica*. Le LPG de *L. tropica* contient beaucoup de glucose et d'arabinose (Kamhawi *et al.* 2000). Donc, les différences de structure entre les LPG des différentes espèces de *Leishmania* seraient responsables de leur survie dans leurs vecteurs respectifs (Forget, 2004).

*Leishmania* doit pouvoir s'évader rapidement de la membrane péritrophique pour sa survie. Cette membrane est, entre autres, composée de chitine et il semble que le parasite pourrait la lyser grâce à la production d'une chitinase (Schlein *et al.* 1991). Quant aux enzymes digestives, les protéophosphoglycane (PPG) et les phosphatases acides forment une matrice qui diminue la quantité des enzymes digestives de l'intestin et leurs charges négatives protègent le parasite de l'effet hydrolysant des enzymes protéolytiques à proximité (Sacks et Kamhawi, 2001).

L'interaction *Leishmania-Phlebotomus* est sujette à la liaison du parasite par ses LPG membranaires avec leur récepteur spécifique situé à l'intérieur de l'intestin de l'insecte. Il s'agit de la galectine dont les rôles sont multiples chez l'insecte. Ce récepteur appartient à la famille des lectines.

### Conclusion

Il est essentiel de décrire la réponse immunitaire de *P. papatasi* à l'infection par *L. major* et de fournir un nouveau modèle pour bien comprendre les bases moléculaires de la défense immunitaire naturelle du vecteur contre les parasites. Les réponses immunitaires chez tout insecte déclenchent la synthèse des peptides antibactériens. Malheureusement, peu d'études ont été réalisées pour élucider les processus par lesquels les phlébotomes synthétisent, transcrivent et sécrètent ces peptides devant une éventuelle infection par *Leishmania*. Les mécanismes moléculaires par lesquels un insecte contrôle sa susceptibilité à l'infection par *Leishmania* ne sont pas bien connus. Ainsi, il serait intéressant d'accroître nos connaissances sur la biologie du vecteur afin de bien connaître les réponses immunitaires induites par le parasite.

### Références

- Arias, J.R., Monteiro, P. et Zicker, F. 1996. The re-emergence of visceral leishmaniasis in Brazil. *Emerg. Infect. Dis.* 2 : 145-146.
- Boulanger, N., Ehret-Sabatier, L., Brun, R., Zachary, D., Bulet, P. et Imler, J.L. 2001. Immune response of *Drosophila melanogaster* to infection with the flagellate parasite *Crithidia* spp. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 31(2) : 129-37.
- Bulet, P., Hertu, C., Dimarcq, J.L. et Hoffmann, D. 1999. Antimicrobial peptides in insects; structure and function. *Dev. Comp. Immunol.* 23(4-5) : 329-44.
- Dimarcq, J.L., Bulet, P., Hertu, C. et Hoffmann, J. 1998. Cysteine-rich antimicrobial peptides in invertebrates. *Biopolymers* 47(6) : 465-77.

- Feliciangeli, I. 2004.** Natural breeding places of phlebotomine sandflies. *Med. Vet. Entomol.* 18 : 71-80.
- Forget, G. 2004.** Étude des mécanismes de régulation négative utilisés par *Leishmania* pour contrer la réponse immunitaire innée. Thèse de doctorat. Université Laval. 300 p.
- Franc, N.C. et White, K. 2000.** Innate recognition systems in insect immunity and development: new approaches in *Drosophila*. *Microbes Infect.* 2(1) : 243-250.
- Fugita, T. 2002.** Evolution of the lectin-complement pathway and its role in innate immunity. *Nature Rev. Immunol.* 2 : 346-353.
- Gillespie, J.P., Bailey, A.M., Cobb, B. et Villcinskis, A. 2000.** Fungi as elicitors of insect immune responses. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 44 : 49-68.
- Hall, L.R. et Titus, R.G. 1995.** Sand fly vector saliva selectively modulates macrophage functions that inhibit killing of *Leishmania major* and nitric oxide production. *J. Immunol.* 155 : 3501-3506.
- Hoffmann, J.A. et Reichart, J.M. 2002.** *Drosophila* innate immunity: An evolutionary perspective. *Nature Immunol.* 3 : 121-126.
- Kamhawi, S., Modi, G.B., Pimenta, P.F.P., Rowton, E. et Sacks, D.L. 2000.** The vectorial competence of *Phlebotomus sergenti* is specific for *Leishmania tropica* and is controlled by species-specific, lipophosphoglycan mediated midgut attachment. *Parasitology* 121 : 25-33.
- Kamhawi, S., Ortigao, R.M., Pham, V.M., Kumar, S., Lawyer, P.G., Turco, S.J., Mury, B.C., Sacks, D.L. et Valenzuela, J.G. 2004.** A role for insect galectins in parasite survival. *Cell* 119(3) : 329-41.
- Katz, O., Waitumbi, J.N., Zer, R. et Warburg, A. 2000.** Adenosine, AMP, and protein phosphatase activity in sandfly saliva. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.* 62 : 145-150.
- Kettle, D.S. 1995.** Medical and Veterinary Entomology. 2<sup>e</sup> éd., CAB International, Wallingford, Angleterre. Chapitre 9 : « Psychodidae-Phlebotominae (sandflies) », pp. 177-191.
- Killick-Kendrick, R. 1990.** Phlebotomine vectors of the leishmaniasis: a review. *Med. Vet. Entomol.* 4 : 1-24.
- OMS, 2002.** Défense mondiale contre la menace des maladies infectieuses. Ouvrage préparé sous la direction de Mary Kay Kindhauser. 170 p.  
[www.who.int/infectious-disease-news/cds2002/cds2002fr.pdf](http://www.who.int/infectious-disease-news/cds2002/cds2002fr.pdf).
- Pace, K.E. et Baum, L.G. 2004.** Insect galectins: roles in immunity and development. *Glycoconj. J.* 19 : 607-614.
- Pelletier, I. et Sato, S. 2002.** Specific recognition and cleavage of galectin-3 by *Leishmania major* through species-specific polygalactose epitope. *J. Biol. Chem.* 277(20) : 17663-70.
- Pelletier, I., Hashidate, T., Urashima, T., Nishi, N., Nakamura, T., Futai, M., Arata, Y., Kasai, K., Hirashima, M., Hirabayashi, J. et Sato, S. 2003.** Specific recognition of *Leishmania major* poly-beta-galactosyl epitopes by galectin-9: possible implication of galectin-9 in interaction between *L. major* and host cells. *J. Biol. Chem.* 278(25) : 22223-30.
- Pimenta, P.F., Saraiva, E.M., Rowton, E., Modi, G.B., Garraway, L.A., Beverley, S.M., Turco, S.J. et Sacks, D.L. 1994.** Evidence that the vectorial competence of phlebotomine sand flies for different species of *Leishmania* is controlled by structural polymorphisms in the surface lipophosphoglycan. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 91 : 9155-9156.
- Pinto, M.C., Campbell, D.H., Lozovei, A.L., Teodoro, U. et Davies, C.R. 2001.** Phlebotomine sandfly responses to carbon dioxide and human odour in the field. *Med. Vet. Entomol.* 15 : 132-139.
- Prescott, L.M., Harley, J.P. et Klein, D.A. 2003.** Microbiologie. Traduction de la 5<sup>e</sup> éd. américaine par Claire-Michelle Bacq-Calberg et Jean Dusart. 2<sup>e</sup> éd. française. De Boeck, Bruxelles.
- Rodhain, F. et Perez, C. 1985.** Précis d'entomologie médicale et vétérinaire. S.A. Maloine, éditeur, Paris. Chapitre 5 : « Les phlébotomes : systématique, biologie, importance médicale », pp. 157-175.
- Roux, J.A. 1986.** Leishmania. Taxonomie-Phylogénèse. Institut Méditerranéen d'Études Épidémiologiques et Écologiques. J.A. Roux, éditeur, Montpellier. 537 pages.
- Sacks, D.L. et Kamhawi, S. 2001.** Molecular aspects of parasite-vector and vector-host interactions in Leishmaniasis. *Annu. Rev. Microbiol.* 55 : 453-83.
- Schlein, Y., Jacobson, R.L. et Shlomai, J. 1991.** Chitinase secreted by *Leishmania* functions in the sandfly vector. *Proc. R. Soc. Lond. Ser. B* 245 : 121-126.
- Theodos, C.M. et Titus, R.G. 1993.** Salivary gland material from the sand fly *Lutzomyia longipalpis* has an inhibitory effect on macrophage function *in vitro*. *Parasite Immunol.* 15 : 481-487.
- Vioukov, V.N. 1987.** Control of transmission. Pages 909-928 *in* W. Peters et R. Killick-Kendrick (éds.), *The Leishmaniasis in Biology and Medicine*, Vol. 2. Academic Press, London.

*Rachid Sabbahi est étudiant au doctorat en biologie sous la direction du Dr Claude Guertin, INRS-Institut Armand Frappier.*