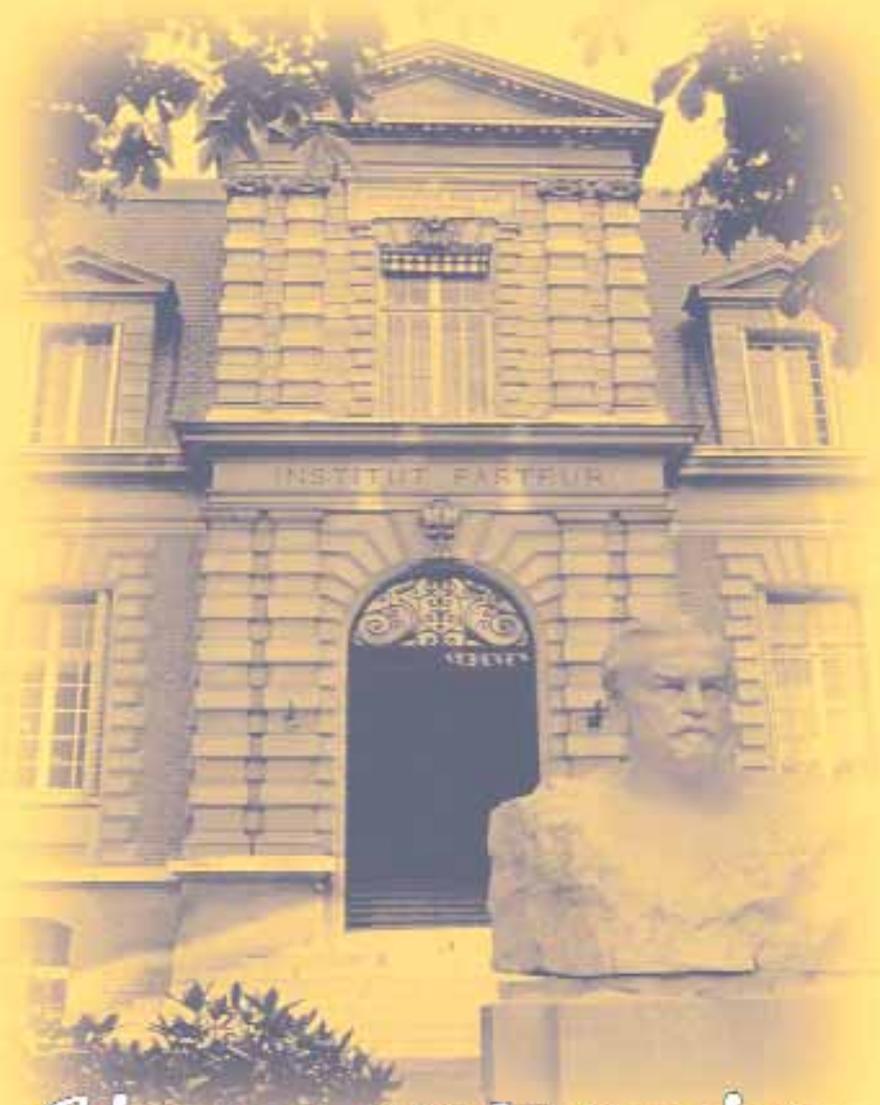


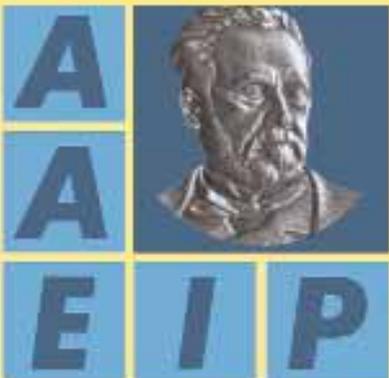
---

# ASSOCIATION DES ANCIENS ELEVES DE L'INSTITUT PASTEUR

---



*Cinquantenaire*



**SEPTEMBRE 2004**  
**Vol. 46 - N° 180**  
**PARASITOLOGIE**



**ASSOCIATION  
DES ANCIENS ÉLÈVES  
DE L'INSTITUT PASTEUR**

## SOMMAIRE

<b>NOTE DE LA REDACTION</b>	p. 102	<b>LES DEUX PASTEUR, par Richard MOREAU (Chronique)</b>	p. 130
<b>PARASITOLOGIE</b>		<i>Henri Michel ANTOINE</i>	
● <b>TRYPANOSOMOSE HUMAINE AFRICAINE : Interactions parasite/hôte et diversité clinique</b>	p. 103	<b>INDEX DES AUTEURS : ERRATUM</b>	p. 131
<i>Vincent JAMONNEAU, Mathurin KOFFI, Philippe SOLANO, David COURTIN, Gérard CUNY et André GARCIA</i>		<b>VIE DE L'ASSOCIATION</b>	p. 132
● <b>PUCES À ADN ET PLASMODIUM FALCIPARUM : Allers-retours entre mises au point techniques et progrès en biologie du parasitisme</b>	p. 109	<b>NOUVELLES DE L'INSTITUT PASTEUR</b>	
<i>Peter DAVID, Jean-Yves COPPEE, Claire DANE</i>		* Enseignement	p. 137
● <b>LES INTERACTIONS ANOPHÈLES/ PLASMODIUM FALCIPARUM</b>	p. 117	* Recherche	p. 143
<i>Catherine BOURGOUIN, Catherine LAVAZEC, Rachida TAHAR</i>		* Santé publique	p. 144
● <b>PARASITISME - La pérennité de parasites eucaryotes qui détournent, comme hôtes naturels, des rongeurs, des êtres humains, des insectes hématophages : est-il possible de re-considérer l'exploration des interactions dont rend compte le terme " parasitisme "</b>	p. 123	<b>INFORMATIONS</b>	p. 147
<i>Geneviève MILON, Peter DAVID, Pierre BUFFET</i>		<b>LIVRES</b>	
		● Nos lectures	p. 151
		● Parutions récentes	p. 152
		<b>CONSEIL D'ADMINISTRATION, BIENFAITEURS ET SECRETARIAT</b>	

### COTISATION ET ABONNEMENT

Cotisation annuelle (2004) .....	26 euros
Abonnement (2004) au tarif préférentiel pour les membres de l'Association* .....	39 euros
Abonnement d'un an : 2004 (4 numéros) pour les non membres .....	51 euros
Prix du numéro .....	13 euros

\* tarifs dégressifs pour les couples adhérents, les retraités et les étudiants (voir Rubrique "Vie de l'Association").

Bulletin publié par **L'ASSOCIATION DES ANCIENS ELEVES DE L'INSTITUT PASTEUR**

Directeur de la Publication : Docteur **Michel DUBOS**

La revue comprend ... pages avec les publicités

ISSN 0183-8849 - Inscription à la Commission paritaire N° 61684 - Dépôt légal 3<sup>ème</sup> trimestre 2004

Conception-Edition : OPAS RCS Paris B 333 953 123  
41, rue Saint-Sébastien - 75011 PARIS - Tél. 01 49 29 11 20  
Editeur Conseil : J.P. KALFON - Impression en CEE.



## AVANT-PROPOS

Chers lecteurs,

Le troisième numéro de cette année 2004 est plus particulièrement consacré à quelques aspects de la parasitologie, dans sa complexité et *via* le regard que des chercheurs portent actuellement aux différents acteurs et composants des traits de vie des parasites, abordés avec des approches modernes – outils de biologie moléculaire, génomique et protéomique.

Aujourd'hui, alors que les maladies parasitaires représentent les taux de morbidité et mortalité parmi les plus élevés au sein des maladies infectieuses, on peut se demander pourquoi l'OMS et diverses instances internationales ont considéré les leishmanioses et les trypanosomoses (africaine ou américaine) comme des maladies "négligées" (Programme DNDi, <http://www.Neglecteddiseases.org/>). Les financements sont tout aussi négligés tant pour l'étude de ces maladies que pour la recherche et la distribution de médicaments adaptés à leur traitement. Nonobstant, chercheurs originaux et cliniciens motivés par la Santé publique continuent avec détermination à caractériser les parasites et les hôtes qui les hébergent et cherchent à identifier les mécanismes moléculaires, sub-cellulaires, cellulaires et tissulaires des interactions réciproques – base même du parasitisme.

Les travaux présentés dans les pages suivantes illustrent le rôle de la recherche fondamentale *via* l'étude des interactions des parasites avec les grands systèmes biologiques (immunologique, endocrinien, nerveux...). Citons pour mémoire l'apport du modèle expérimental de la leishmaniose cutanée chez la souris dans la mise en évidence de la polarisation des cellules CD4<sup>+</sup> vers les Th1 (sécrétant l'IFN-gamma) ou vers les Th2 (productrices d'IL4), ouvrant une voie d'étude de la régulation de la réponse immunitaire.



Détection de molécules du CMH dans des cellules dendritiques de souris infectées par *Leishmania amazonensis*<sup>1</sup>.

Grâce aux techniques de typage moléculaire, la diversité des populations parasitaires a été mieux caractérisée et des niches écologiques ont été mises en évidence. La connaissance des interactions parasites-insectes vecteurs s'est considérablement enrichie avec les technologies de manipulation génétique des parasites et d'imagerie qui permettent d'explorer les tissus, les cellules, voire les molécules en interaction avec le parasite. Enfin, la complexité des interactions du parasite – qui présente souvent plusieurs stades de développement – avec l'hôte mammifère, bénéficie aujourd'hui des avancées de la génomique et de la post-génomique. Le temps est venu de connaître les séquences des génomes du parasite, de l'insecte vecteur et de l'hôte mammifère comme dans le cas de *Plasmodium-Anopheles*-Homme et de Trypanosome africain/Glossine/ Homme. Il est permis de penser que, grâce aux puces à ADN, la régulation de gènes ou de groupes de gènes au cours de leur activation/répression lors des interactions d'une forme parasitaire déterminée avec les cellules, organes ou tissus de l'hôte, vecteur ou mammifère, sera bientôt mieux appréhendée et permettra de mieux définir des cibles potentielles de traitement.

Un grand merci aux auteurs de ces articles et tout particulièrement à Geneviève MILON - coordinatrice de ce numéro - qui nous livre sa vision pertinente et dynamique, dans une perspective d'intégration des partenaires de cette interaction privilégiée nommée "Parasitisme".

La Rédaction

<sup>1</sup> Détection par immunofluorescence des molécules de classe II (en vert) et des molécules H-2M (en rouge) du Complexe Majeur d'Histocompatibilité dans des cellules dendritiques de souris infectées par *Leishmania amazonensis*. La colocalisation des molécules de classe II et H-2M se traduit par une couleur jaune-orangée. Les leishmanies (têtes de flèche) sont localisées dans des compartiments délimités par une membrane à l'intérieur de laquelle sont présentes ces molécules du CMH.

Copyright : E. PRINA, Unité d'Immunophysiologie et parasitisme intracellulaire / Institut Pasteur.



## TRYPANOSOMOSE HUMAINE AFRICAINE : INTERACTIONS PARASITE / HÔTE ET DIVERSITÉ CLINIQUE

Vincent JAMONNEAU<sup>1\*</sup>,  
Institut de Recherche pour le Développement (IRD), Montpellier  
Mathurin KOFFI<sup>1,2</sup>, Philippe SOLANO<sup>2</sup>  
IRD, Centre Pierre Richet, Bouaké/Abidjan, Côte d'Ivoire  
David COURTIN<sup>1,3</sup>,  
IRD, Montpellier et IRD, Dakar, Sénégal  
Gérard CUNY<sup>1</sup>  
IRD, Montpellier  
André GARCIA<sup>3</sup>  
IRD, Dakar, Sénégal

### RÉSUMÉ

La Trypanosomose Humaine Africaine (THA) est l'une des manifestations de la présence et du développement de protozoaires de l'espèce *Trypanosoma brucei* transmis par les glossines ou mouches tsé-tsé en Afrique intertropicale. Il existe des interactions complexes entre la population parasitaire et l'hôte humain se traduisant notamment par une diversité clinique importante. Dans cet article, l'objectif principal est de présenter un ensemble de travaux, menés dans les foyers de THA en Côte d'Ivoire, sur le rôle respectif du Parasite et de l'Homme dans le phénomène de diversité des manifestations des interactions que *T. b. gambiense* établit chez ses hôtes humains. Concernant le Parasite, même si des relations entre génétique parasitaire et diversité clinique ont pu être mises en évidence, une meilleure identification des souches parasitaires s'avère nécessaire pour approfondir cette étude. Des arguments indirects sont en faveur d'une susceptibilité individuelle à l'infection, mais cette dernière reste à prouver. Ainsi, ces travaux montrent bien que l'origine de la diversité clinique, mais aussi l'origine de la diversité de réponses aux tests de dépistage doit être recherchée à la fois chez le parasite, par l'étude précise de sa diversité génétique, ainsi que chez l'homme, en précisant les phénomènes impliqués dans la susceptibilité individuelle.

### I. INTRODUCTION

La Trypanosomose Humaine Africaine (THA) ou maladie du sommeil reste un problème majeur de santé publique en Afrique subsaharienne. Le nombre réel de cas, très souvent sous-estimé à cause de la faible proportion de population à risque sous surveillance (4 millions de personnes sous surveillance sur 60 millions de personnes exposées au risque de la délivrance du parasite agent étiologique, donc au risque de développement de la maladie), oscillerait entre 300.000 et 500.000 [36]. Cette parasitose est l'une des manifestations de la présence et du développement de protozoaires de l'espèce *Trypanosoma brucei* transmis par les glossines ou mouches tsé-tsé.

Cette espèce a été subdivisée en 3 sous-espèces [17] en se basant sur des caractères des trypanosomes communément qualifiés d'extrinsèques (aspects cliniques, hôtes et répartition géographique) : (a) *Trypanosoma brucei gambiense* (*T. b. gambiense*), sous-espèce classiquement reconnue comme responsable d'une forme "chronique" (ou forme gambienne)

de THA en Afrique de l'Ouest et Centrale, (b) *T. b. rhodesiense*, sous-espèce considérée responsable d'une forme plus aiguë de THA en Afrique de l'Est (forme rhodésienne) et (c) *Trypanosoma brucei brucei* (*T. b. brucei*), non pathogène pour l'homme, responsable de la nagana (trypanosomose animale) chez les animaux. Ce complexe d'espèces est classiquement nommé *T. brucei s. l.*<sup>4</sup>.

La maladie du sommeil évolue chez l'homme en deux phases : la première période, lymphatico-sanguine, durant laquelle le parasite se multiplie dans la lymphe et dans le sang, et la deuxième période, méningo-encéphalitique, qui correspond au passage du parasite dans le liquide céphalo-rachidien (LCR). Au cours de la phase lymphatico-sanguine, le malade présente des signes cliniques non spécifiques tels que des accès de fièvre fréquents, des céphalées ou des signes cutanés [7, 25]. La phase méningo-encéphalitique se caractérise habituellement par des troubles neurologiques (troubles du comportement, de la conscience, de la motricité) et, sans traitement, conduit à la mort du malade. Dans le cas de la forme chronique, la première pério-

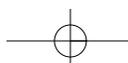
<sup>1</sup> Institut de Recherche pour le Développement (IRD), Unité de Recherche 035, Laboratoire de Recherche et de Coordination sur les Trypanosomoses, Montpellier

<sup>2</sup> IRD, UR 035, Centre Pierre Richet, Bouaké/Abidjan, Côte d'Ivoire

<sup>3</sup> IRD, UR 010, Dakar, Sénégal

<sup>4</sup> s.l. pour sensu lato

\* Correspondance: Vincent Jamonneau, Institut de Recherche pour le Développement (IRD), Unité de Recherche 035, Laboratoire de Recherche et de Coordination sur les Trypanosomoses, Programme Santé Animale, TA 207/G, Campus International de Baillarguet, 34398 Montpellier cedex 5, France, tel et fax: 33 4 67 59 39 19, e-mail : vincent.jamonneau@mpl.ird.fr





de peut durer plusieurs années, les symptômes sont généralement peu prononcés, et le déploiement des troubles neurologiques lors de la deuxième période est progressif. Dans le cas de la forme aiguë, la phase lymphatico-sanguine ne dure que quelques mois, les symptômes sont plus marqués et les manifestations de l'atteinte du système nerveux sont brutales.

Il est cependant actuellement de plus en plus admis que la dichotomie : forme chronique à *T. b. gambiense* versus forme aiguë à *T. b. rhodesiense* ne reflète qu'une vision partielle de la réalité. Concernant la forme gambienne, les tableaux cliniques sont en fait très divers. Certains auteurs ont rapporté l'existence de formes à caractère chronique très prononcé [10, 31, 38], l'exemple le plus connu étant celui de Féo au Togo [29], porteuse de *T. b. gambiense* pendant 21 ans sans atteinte neurologique. D'autres auteurs parlent de formes asymptomatiques [15, 19, 44, 46]. A l'inverse, des patients dépistés en Côte d'Ivoire ont présenté des tableaux cliniques plutôt caractéristiques d'une forme aiguë de la maladie (évolution rapide vers un état très altéré dès le passage en deuxième période) [12, 41]. En Afrique de l'Est, on remarque aussi une diversité des formes cliniques de THA à *T. b. rhodesiense*, des cas de formes chroniques ayant été observés [4, 8].

En résumé, nous sommes confrontés à une maladie dont la gravité potentielle est telle que l'étude de son évolution spontanée n'est éthiquement absolument pas défendable et pour laquelle il existe des interactions complexes entre la population parasitaire et l'hôte. Nos recherches visent à comprendre les mécanismes impliqués dans ces interactions et qui pourraient expliquer certaines observations. Dans cet article, l'objectif principal est de présenter un ensemble de travaux, menés dans les foyers de THA en Côte d'Ivoire (Fig. 1), sur le rôle respectif du Parasite et de l'Homme dans le phénomène de diversité des manifestations des interactions que *T. b. gambiense* établit chez ses hôtes humains. Nous nous sommes intéressés à la diversité de présentation et d'évolution cliniques des patients et à leur lien éventuel avec la variabilité génétique des souches de trypanosomes. Sur l'hôte humain, nos travaux ont porté sur l'étude du polymorphisme génétique qui pourrait rendre compte de l'initiation et du développement des processus pathogènes et de leur gravité.

## II. SUBDIVISION DE *T. BRUCEI* sensu lato - PROBLEMES RENCONTRES

Le problème principal réside dans le fait que les trypanosomes de l'espèce *T. brucei* s.l sont indistinguables morphologiquement. Nous avons vu que la différenciation sub-spécifique de *T. brucei* s.l. basée sur les seuls critères extrinsèques du parasite semble insuffisante. Si l'on se réfère à des caractères plus "intrinsèques" des trypanosomes, les mêmes difficultés émergent. Par exemple, plusieurs auteurs ont observé que *T. b. rhodesiense* et *T. b. brucei* étaient plus "virulents" que *T. b. gambiense* après inoculation chez le rongeur de laboratoire [9, 45] mais des souches de *T. b. brucei* se sont avérées faiblement virulentes chez ces mêmes animaux [33]. L'utilisation de nouvelles techniques d'identification de signatures moléculaires a

permis des avancées importantes sans toutefois résoudre totalement la question. L'individualisation des différentes sous-espèces en tant qu'entités génétiques distinctes reste douteuse. La technique d'électrophorèse des iso-enzymes (MLEE), utilisée pour analyser la structure génétique des populations, a permis d'individualiser un groupe génétiquement homogène, correspondant à 80 % des isolats humains d'Afrique de l'Ouest et Centrale. Ce groupe est communément appelé le "groupe 1" de *T. b. gambiense* [14]. Les 20% restants ont été étiquetés par les auteurs comme "gambienne groupe 2", "non gambienne" ou encore groupe "bouaflé", ce groupe étant génétiquement très hétérogène [16].

D'autres méthodes reposant sur l'ADN parasitaire sont actuellement utilisées afin d'identifier des marqueurs génétiques spécifiques des entités déjà mises en évidence (groupes 1 et 2 de *T. b. gambiense*) ou spécifiques de celles qui seront identifiées par ces mêmes techniques. Grâce à la technique d'amplification de séquences d'ADN microsatellites, des résultats prometteurs ont déjà été obtenus [5, 23, 42].

## III. DIVERSITE CLINIQUE DE LA THA

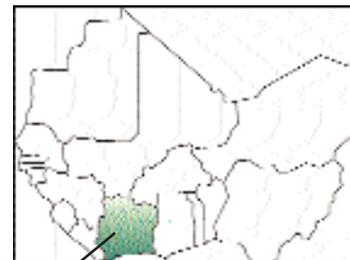
### A) LA TRADUCTION DE LA VARIABILITE GENETIQUE DE *T. BRUCEI* s.l. ?

Pierre RICHET écrivait en 1961 [37] : "il existe une différence de virulence des trypanosomes chez l'homme en Côte d'Ivoire qui peut être attribuée à des différences au sein des souches de parasites".

Si elle semble insuffisante, la caractérisation isoenzymatique de souches de trypanosomes a permis de conforter l'hypothèse d'une relation entre génétique parasitaire et diversité clinique. En effet, la caractérisation des souches isolées durant les récentes épidémies dans le sud-est de l'Ouganda a montré que certains "types de tableaux cliniques" pouvaient être associés à un zymodème particulier [39]. Aux souches du zymodème B17 du groupe "busoga" sont associées des formes cliniques plutôt graves à évolution rapide avec présence dans 92% des cas d'un chancre d'inoculation. A l'inverse, aux souches des zymodèmes du groupe "Zambezi" sont associées des formes cliniques plus chroniques à évolution lente, avec atteinte progressive du système nerveux, et une absence fréquente de chancre d'inoculation.

Lors d'une première étude menée entre 1996 et 1999 sur 139 patients dans l'ensemble des foyers de THA de Côte d'Ivoire (Aboisso au Sud-Est et Sinfra, Daloa, Bouaflé et Bonon au Centre-Ouest, Fig. 1), les techniques de caractérisation des trypanosomes (MLEE, Random Amplified Polymorphism DNA (RAPD) et Amplification en Chaîne par Polymérase de séquences microsatellites (PCR/Microsatellite)) ont mis en évidence un important monomorphisme génétique au sein des souches isolées [20] alors que l'étude a confirmé une grande diversité de tableaux et d'évolutions cliniques [19, 21]. L'hypothèse du rôle primordial de l'hôte dans la diversité de présentation clinique se dégageait donc comme une hypothèse plausible. Cependant, lors de cette étude, seules 46% des souches ont pu être isolées et caractérisées, soulignant un risque

Figure 1. Localisation des zones d'étude



Côte d'Ivoire  
en Afrique de l'Ouest





important de biais de sélection. Ainsi, ce monomorphisme ne pourrait être “ qu'apparent ” et lié à la technique d'isolement utilisée, le Kit for In Vitro Isolation (KIVI) [1]. Il faut d'ailleurs souligner que la détection de ce monomorphisme parmi les souches isolées en Côte d'Ivoire coïncide avec le début de l'utilisation du KIVI, au début des années 1990.

Ainsi, nous avons récemment mis en évidence des biais de sélection associés au caractère cultivable ou non des parasites dans des milieux de culture [22]. En effet, des souches de trypanosomes ont été isolées simultanément à partir de malades atteints de THA et de porcs porteurs de trypanosomes (foyer de Bonon, Figure 1) en utilisant deux techniques d'isolement différentes : le KIVI et l'Inoculation aux Rongeurs de laboratoire (IR). Des différences génétiques (MLEE et PCR/Microsatellites) ont été mises en évidence entre les souches isolées par KIVI et celles isolées par IR provenant du même hôte. Par ailleurs, une différence de génotype a aussi été mise en évidence par des marqueurs microsatellites entre deux souches isolées d'un même malade (par le KIVI) à des phases différentes des processus morbides [42].

La mise au point d'un réactif basé sur la variabilité de séquences microsatellites et permettant de caractériser les trypanosomes directement dans les liquides biologiques des hôtes a confirmé dans le foyer de Bonon (cf. figure), outre le biais sélectif des techniques d'isolement, l'existence de nombreuses infections mixtes chez les différents acteurs de ce “ système pathogène ” [23, 24]. A ce sujet, nous suspectons actuellement dans le foyer de Sinfra, l'existence d'infections mixtes avec des trypanosomes du groupe 1 de *T. b. gambiense* et d'un nouveau groupe de trypanosomes circulant chez l'homme et le porc, infections mixtes qui pourraient être responsables d'une forme particulièrement chronique de THA, avec des parasitemies très faibles, et qui seraient impliquées dans le phénomène de séropositivité sans confirmation parasitologique, ainsi que dans le maintien d'un réservoir humain de trypanosomes dans les foyers [15, 23]. Ceci pourrait en partie expliquer les diagnostics de THA dans des zones où elle n'était plus diagnostiquée depuis plusieurs années, voire plusieurs dizaines d'années. Ces résultats ont été obtenus lors du suivi de malades dépistés depuis 1995 dans le foyer de Sinfra (Fig. 1) et refusant le traitement.

#### B) LA TRADUCTION DE LA VARIABILITÉ GÉNÉTIQUE DES HÔTES ?

La THA est une maladie essentiellement rurale touchant les populations qui vivent en forêt (culture de cacao et de café notamment) et qui sont régulièrement détournées comme sources de sang par l'insecte hôte et vecteur du trypanosome, la glossine. La prise en considération du facteur humain dans l'étude de la localisation et de la fréquence du contact homme/glossine en secteur forestier semble montrer que la THA est une maladie fortement liée au comportement des populations [32]. Cependant, certains auteurs ont récemment mis en évidence les interactions complexes existant entre la prévalence de la maladie, le risque environnemental et comportemental, la présence du vecteur et l'homme [34]. D'autre part, le temps qui s'écoule entre la délivrance des parasites et les pre-

miers signes de la maladie semble plus court pour les sujets natifs de régions où la THA est absente et qui sont venus s'installer en zone d'endémie que pour des sujets natifs de ces zones endémiques [13]. Le rôle complexe de l'âge, à la fois comme facteur de maturation du système immunitaire et comme marqueur de la durée d'exposition, a déjà été souligné dans d'autres pathologies parasitaires [3] pour lesquelles l'existence d'une composante génétique humaine est maintenant fortement suspectée [11].

Malgré l'importance des facteurs de risques environnementaux et comportementaux dans l'épidémiologie de la THA, l'hypothèse d'une sensibilité individuelle à la présence et au développement du parasite, qui se traduit par l'existence de processus pathogènes, est plausible et son caractère valide ou non doit faire l'objet d'une exploration. Un certain nombre de données, reposant sur l'inoculation de trypanosomes à des souris génétiquement différentes, indique l'existence d'une composante génétique dont témoignent les variations des charges parasitaires et la fréquence de la mortalité, bien que des résultats contradictoires concernant le type de modèle génétique sous-jacent aient été obtenus [18]. KEMP *et al.* [26] ont identifié chez la souris des gènes impliqués dans le phénotype résistance à *Trypanosoma congolense* (l'un des deux parasites majeurs de la trypanosomose animale en Afrique). D'autres auteurs ont récemment souligné le rôle de certaines cytokines, du contrôle de l'activité macrophagique et de la sécrétion de NO par les macrophages dans cette résistance [40]. Les souris sensibles produiraient de manière significativement plus importante de l'interleukine 10 (IL10), mais moins d'IL12 que des souris résistantes après l'inoculation de *Trypanosoma congolense*. En présence de *T. congolense*, des cellules de lignées macrophagiques issues des souris génétiquement sensibles produisent plus d'IL10 et d'IL6 mais moins de TNF- $\alpha$  que ces mêmes cellules issues de lignées résistantes. Ces mêmes auteurs avaient préalablement établi que ce sont essentiellement les concentrations sériques qui témoignent des différences entre lignées de souris et non la période à laquelle les cytokines sont détectables [43].

Chez l'homme, les seuls arguments disponibles sont, à notre connaissance, indirects [35]. Ils ont montré que, pour *T. b. rhodesiense*, l'existence d'un antécédent familial de THA était un facteur de risque significatif pour un sujet vivant en zone d'endémie, alors que KHONDE *et al.* [28] ont mis en évidence des concentrations familiales de cas de maladie à *T. b. gambiense*. Dans les deux enquêtes précédentes, le comportement et l'environnement communs aux membres d'une même famille ont été soulignés et le support génétique de ces ressemblances n'a pas été étudié. Cependant, les mêmes auteurs soulignent le fait que dans une zone de forte endémie, des poussées épidémiques cycliques ont été notées dans les années 70 et 80 aux mêmes endroits que celles qui existaient 50 ans auparavant [27]. Bien que les conditions écologiques favorisant le contact homme-vecteur se soient maintenues, les faibles taux de prévalence observés dans ces zones durant plusieurs décennies pourraient être dus à l'existence d'un niveau d'immunité suffisant dans les populations locales. La diminution progressive de l'ef-



fectif des sujets immuns se traduirait alors par l'émergence d'une nouvelle poussée épidémique et la " sélection " d'une nouvelle population immune. L'existence de cette éventuelle pression de sélection reste à démontrer. D'autres éléments indirects sont en faveur d'une variabilité individuelle de réponse à l'infection par *T. b. gambiense*. Du fait du coût et de la difficulté de la mise en évidence du parasite, la recherche active de cas sur le terrain nécessite un criblage sérologique préalable de la population qui permet de repérer des sujets porteurs d'anticorps se liant aux trypanosomes, sujets chez lesquels sera ensuite réalisée la recherche de parasite. Ce criblage sérologique est réalisé à partir d'un test de détection d'anticorps (CATT pour Card Agglutination Test for *Trypanosomiasis*, [30]). Trois types d'individus peuvent ainsi être distingués: des sujets sains (séronégatifs), des malades (séropositifs et confirmés parasitologiquement) et des sujets séropositifs sans confirmation parasitologique. Ces derniers, qui ne sont pas considérés comme malades, ne reçoivent aucun traitement. Il peut s'agir, pour certains d'entre eux, de fausses séropositivités en relation avec des souches de trypanosomes animaux par exemple, mais également de sujets porteurs de rares parasites sans signe clinique (tels que ceux décrits ci-dessus [23]) qui représentent le groupe le plus " dangereux " dans le contexte de la santé publique car susceptibles de maintenir l'endémie dans la population, et enfin de sujets infectés par *T. b. gambiense* mais n'hébergeant plus de parasite (l'existence de guérison spontanée a déjà été suspectée [15, 19]). Ces deux derniers groupes, capables de contrôler plus ou moins efficacement la population parasitaire, présentent un grand intérêt car ils permettent d'évoquer un phénomène de " trypanorésistance " dans la population humaine [46]. Un phénomène du même type existe chez l'animal et son support génétique a été clairement démontré [2].

Depuis 1996, des travaux concernant l'existence d'une sensibilité individuelle, dont témoignent les symptômes et la gravité de la THA sont menés en Côte d'Ivoire dans le foyer de Sinfra (cf. Fig. 1). L'existence d'un phénotype de " trypanorésistance " a pu être suspectée sur une cohorte d'individus sur lesquels a été pratiquée une batterie de tests séro-parasitologiques pendant plus de deux années de suivi. Dans cette cohorte, les trois types d'individus précédemment décrits ont été trouvés, et notamment des sujets pour lesquels le contact avec l'agent de la trypanosomose humaine africaine semble certain et chez qui la confirmation parasitologique n'a pu être obtenue malgré la recherche répétée de parasites par des techniques extrêmement sensibles [12]. Une première enquête d'épidémiologie génétique a été menée en Côte d'Ivoire dans une zone de relativement faible endémie (foyer de Sinfra). Au total, 191 malades et 382 témoins ont été inclus dans une étude d'association entre certains polymorphismes de 4 gènes candidats et le développement de la THA. Parmi les polymorphismes testés, l'un situé dans le promoteur du gène codant pour le TNF- $\alpha$  semble conférer un danger accru de développer la THA rapidement après l'exposition au risque que des parasites aient été délivrés lors du repas sanguin d'une glossine hébergeant des parasites infestants. Un second polymorphisme situé sur le promoteur du gène codant pour l'Interleukine 10 pourrait être associé à un risque diminué de maladie [6].

## V. CONCLUSIONS

Cette revue sur des travaux menés dans les foyers de THA en Côte d'Ivoire montre bien que l'origine de la diversité clinique, mais aussi celle de la diversité de réponses aux tests de dépistage, doivent être recherchées, tant chez le parasite, par l'étude précise de sa diversité génétique, que chez l'homme, en précisant les phénomènes impliqués dans la sensibilité individuelle. Une meilleure identification des souches parasitaires circulant dans les foyers de THA s'avère donc être un élément primordial pour l'épidémiologie et pour la lutte contre la parasitose. Par exemple, si l'existence d'infections mixtes se confirme, celles-ci pourraient être constituées d'un génotype particulièrement pathogène car neurotrope, et d'un génotype " non pathogène " (i.e. un génotype qui ne confère pas la propriété de traverser la barrière méningée) : ce type d'infections mixtes a été plusieurs fois suspecté mais jamais démontré. Chez un sujet chez lequel se déploient deux génotypes parasitaires différents, le diagnostic d'une maladie dont l'évolution clinique est rapide pourrait se traduire par la mise en évidence du seul génotype " non pathogène ", dans la mesure où celui-ci s'isole plus facilement sur KIVI. Nous ne pouvons plus ignorer cette complexité et ses conséquences pour établir la procédure diagnostique optimale visant à détecter tous les génotypes parasitaires dans des zones données. Bien que les interactions parasites / glossines n'aient pas été introduites dans cette brève contribution, identifier chez elles la distribution des différents génotypes parasitaires pourrait être une source précieuse d'informations complémentaires. Enfin, en ce qui concerne le paramètre variabilité individuelle des êtres humains estimé par des phénotypes subtils (déploiement temporel des phases de la maladie, gravité des processus pathogènes), la confirmation ou non de son impact ne pourra être établie que par des études cas-témoins par exemple, dont les difficultés et les contraintes sont telles que leur mise en œuvre exige la mise en place de projets intégrés. Dans ce contexte difficile, il devrait être enfin évident que tous les traits de vie du parasite doivent être considérés. Des études menées parallèlement et dans une même zone d'étude sur les génotypes parasitaires, les deux populations hôtes, Homme et Glossine, contribueraient à rayer des textes et déclarations l'adjectif " négligé(e)s " arbitrairement introduit pour référer au trypanosome et aux maladies qui témoignent de son développement.

Titre en anglais : **Human African Trypanosomiasis : Parasite / Host relations and clinical diversity.**

## MOTS-CLES

Trypanosomose Humaine Africaine, variabilité génétique, susceptibilité individuelle, diversité clinique, Côte d'Ivoire

## KEY WORDS

Human African Trypanosomiasis, genetic variability, individual susceptibility, clinical diversity, Côte d'Ivoire



## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES<sup>5</sup>

- 1- AERTS D, TRUC, PENCHENIER L, *et al. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1992, **86**, 394-395.
- 2- AUTHIE E. *Parasitol. today*, 1994, **10**, 360-364
- 3- BAIRD JK. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 1998, **92**, 367-390.
- 4- BAJYANA-SONGA E, HAMERS R, RICKMAN LR *et al. Trop. Med. Parasitol.*, 1991, **42**, 389-393.
- 5- BITEAU N, BRINGAUD F, GIBSON WC *et al. Mol. Biochem. Parasitol.*, 2000, **105**, 185-201.
- 6- COURTIN D, ARGIRO L, JAMONNEAU V *et al. Proceeding 7<sup>ème</sup> MEEGID*, 2004, Valencia, Espagne
- 7- DUMAS M & BOUTEILLE B. *C-R Soc. Biol.*, 1996, **190**, 395-408.
- 8- FOULKES J. *Med. J. Zambia*, 1970, **4**, 167-177.
- 9- FREZIL JL, SAMBA F, BOSSENO MF *et al. Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. et Parasitol.*, 1979, **17**, 107-118.
- 10- GALLAIS P, CROS R & ARQUIE E. *Méd. Trop.*, 1953, **13**, 844-856.
- 11- GARCIA A, MARQUET S, BUCHETON B *et al. Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1998, **58**, 705-709.
- 12- GARCIA A, JAMONNEAU V, MAGNUS E *et al. Trop. Med. Int. Health*, 2000, **5**, 786-793.
- 13- GARCIA A, JAMONNEAU V, SANE B *et al. Trop. Med. Int. Health*, 2002, **7**, 429-434.
- 14- GIBSON WC. *Parasitol. Today*, 1986, **2**, 255-257.
- 15- GINOUX PY & FREZIL JL. *Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. et Parasitol.*, 1981, **XIX**, **1**, 33-40.
- 16- GODFREY DG, BAKER RD, RICKMAN LR *et al. Adv. in Parasitol.*, 1990, **29**, 1-39.
- 17- HOARE CA. The trypanosomes of mammals. A zoological Monograph. *Blackwell Scientific Publications, Oxford*, 1972
- 18- INOUE N, INOUE M, KURIKI K *et al. Vet. Parasitol.* 1999, **86**, 173-84.
- 19- JAMONNEAU V, GARCIA A, N'GUESSAN P *et al. Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 2000, **94**, 831-835.
- 20- JAMONNEAU V, N'GUESSAN P, N'DRI L *et al. Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 2000, **94**, 643-649.
- 21- JAMONNEAU V, GARCIA A, RAVEL S *et al. Trop. Med. Int. Health*, 2002, **7**, 610-621.
- 22- JAMONNEAU V, BARNABE C, KOFFI M *et al. Inf. Genet. Evol.*, 2003, **3**, 143-149.
- 23- JAMONNEAU V, RAVEL S., GARCIA A, *et al. Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 2004, **98**, 329-337.
- 24- JAMONNEAU V, RAVEL S, KOFFI M *et al. Parasitology*, sous presse.
- 25- JANNIN J, MOULIA-PELAT JP, CHANFREAU B *et al. Bull. OMS*, 1993, **71**, 215-222.
- 26- KEMP SJ, IRAQI F, DARVASI A *et al. Nature and Genetics*, 1997, **16**, 194-196.
- 27- KHONDE N, PEPIN J, NIYONSENGA T *et al. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 1995, **89**, 607-611.
- 28- KHONDE N, PEPIN J, NIYONSENGA T *et al. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1997, **91**, 521-524.
- 29- LAPEYSSONNIE L. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 1960, **57**, 28-32.
- 30- MAGNUS E, VERVOORT T & VAN MEIRVENNE N. *Ann. Soc. Belg. Méd. Trop.*, 1978, **59**, 169-176.
- 31- MARDING RD & HUTCHINSON MP. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1948, **41**, 481-512.
- 32- MEDA H, LAVEISSIERE C, DE MUYNCK A *et al. Méd. Trop.*, 1993, **53**, 83-92.
- 33- MELHITZ D. *Etudes et Synthèses de l'IEMVT*, 1986, **N. 18**.
- 34- MOORE A, RICHER M, ENRILE M *et al. Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1999, **61**, 315-318.
- 35- OKHIA M, MBULAMBERI DB & DE MUYMCK A. *Ann. Soc. Belg. Méd. Trop.*, 1994, **74**, 105-112.
- 36- OMS. Rapport d'un comité d'experts OMS, 1998, *Séries des Rapports techniques*, 881.
- 37- RICHER P. Discours inaugural. *Proc. 21<sup>ème</sup> CTRC*, 1961, Conakry, Guinée.
- 38- SARTORY A, LASSEUR P & BRISSAUD H. *Bull. Acad. Méd.*, 1915, **73**, 631-633.
- 39- SMITH DH & BAILEY JW. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 1997, **7**, 851-856.
- 40- TABEL H, KAUSHIK RS & UZONNA J. *Pathobiology*, 2000, **67**, 273-276.
- 41- TRUC P, FORMENTY P, DIALLO PB *et al. Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 1997, **91**, 951-956.
- 42- TRUC P, RAVEL S, JAMONNEAU V *et al. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 2002, **96**, 52-55.
- 43- UZONNA JE, KAUSHIK RS, GORDON JR *et al. Parasite Immunol.*, 1999, **21**, 57-71.
- 44- WERY M & BURKE J. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1972, **66**, 332-333.
- 45- WERY M, WEYN J, NGIMBI NM *et al. Ann. Soc. belge Méd. Trop.*, 1977, **57**, 425-437.
- 46- WOODRUFF AW, EVANS DA & OWINO NO. *J. Infect.*, 1982, **5**, 89-92.

<sup>5</sup> La bibliographie complète avec le nom de tous les auteurs et le titre de l'article est disponible sur demande au secrétariat de notre Association.

## PUCES À ADN ET PLASMODIUM FALCIPARUM : ALLERS-RETOURS ENTRE MISES AU POINT TECHNIQUES ET PROGRÈS EN BIOLOGIE DU PARASITISME

Peter DAVID<sup>1</sup>, Jean-Yves COPPEE<sup>2</sup>,  
Institut Pasteur, Paris

Claire DANE<sup>3</sup>,  
Délégation Générale pour l'Armement, Paris

### RÉSUMÉ

Le paludisme à *Plasmodium falciparum* reste un problème majeur de santé publique. Pour mettre au point des méthodes plus efficaces de contrôle, il est essentiel que les données de séquence du génome de *P. falciparum* publiées en 2002 soient traduites en données sur la biologie du parasite. Parmi les techniques d'analyse génomique dites "à grande échelle", l'application des puces à ADN à l'étude de *P. falciparum* n'en est encore qu'à son début. Après une première phase de validation de la technique et d'identification de nouveaux gènes, on a commencé à explorer la régulation coordonnée des gènes au cours du développement parasitaire. L'analyse du transcriptome au niveau du génome complet a montré que l'expression d'une proportion élevée de gènes est régulée au cours d'un cycle parasitaire aux étapes multiples. Ceci confère certaines difficultés à l'étude des effets sur le transcriptome de modifications de l'environnement, tel le "stress" lié à la présence d'un composant anti-parasitaire. Afin de résoudre ces difficultés, la mise en place d'une plateforme puces à ADN/*P. falciparum* à l'Institut Pasteur facilite les allers-retours nécessaires entre mises au point techniques et progrès en biologie du parasitisme.

### I. INTRODUCTION

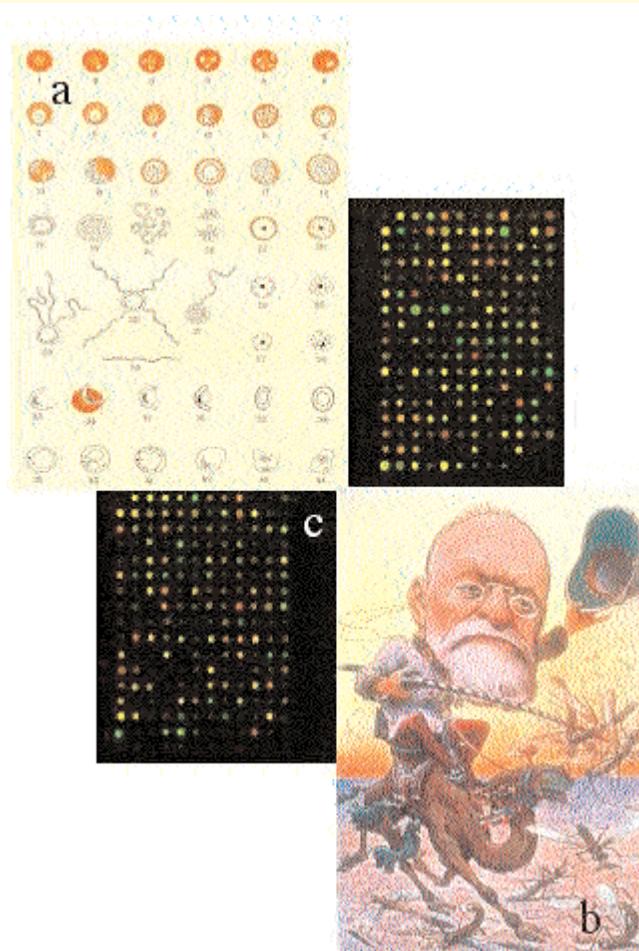
Le paludisme est un problème majeur de santé publique dans de nombreuses régions du monde, *Plasmodium falciparum* étant responsable de la forme la plus grave de la maladie. L'échelle, tout comme l'imprécision de l'évaluation du nombre de décès annuels de l'affection ("entre" 1 et 2 millions !) reflètent bien l'ampleur de ce fléau. Les moyens de contrôle dont nous disposons à l'heure actuelle sont menacés ou insuffisants, la mise au point de nouveaux moyens de lutte se heurtant à la lourdeur des systèmes expérimentaux, à la complexité du cycle parasitaire et aux limites actuelles de nos connaissances sur la biologie du parasite (Fig.1).

**Figure 1 : La biologie de Plasmodium : de la découverte du parasite à l'application des puces à ADN.**

a : différents stades de développement du parasite, planche dessinée par Laveran en 1891 (copyright musée Pasteur)

b : caricature par Moloch, représentant Alphonse Laveran, médecin militaire français qui reçut le Prix Nobel en 1907 pour sa découverte du parasite en 1880.

c : agrandissement d'une puce à ADN de *P. falciparum* hybridée avec des ADNc provenant de deux stades de développement parasitaire.



<sup>1</sup> Unité d'Immunologie Moléculaire des Parasites, URA CNRS 2581, Institut Pasteur, 25 Rue du Dr Roux, 75724 Paris cedex 15, France Tel : 33- 01 40 61 31 72 Fax : 01 42 73 22 40 Email: pdavid@pasteur.fr

<sup>2</sup> Pasteur Génopole Ile de France, Plate-Forme Puces à ADN, Institut Pasteur, 25 Rue du Dr Roux, 75724 Paris cedex 15. Tel : 01 45 68 86 51 Email : jycoppee@pasteur.fr

<sup>3</sup> Délégation Générale pour l'Armement, Direction des Systèmes de Forces et de la Prospective, Service des Stratégies Techniques et des Technologies Communes, Département des Sciences Médicales et Facteurs Humains, 8 Bd Victor, 75015 Paris 00303 Armées. Tel : 01 57 24 79 96 Email : Claire.DANE@dga.defense.gouv.fr



● AVEC LA PUBLICATION DES ARTICLES PRINCEPS SUR LA SÉQUENCE DU GÉNOME DE *PLASMODIUM FALCIPARUM*, LA PALUDOLOGIE EST SANS CONTESTE ENTRÉE DANS UNE ÈRE NOUVELLE.

Grâce aux efforts de consortiums internationaux, la séquence complète du génome d'un clone de *P. falciparum* (3D7) a été publiée en 2002 [7]. Il est composé d'environ 23 Méga bases réparties sur 14 chromosomes, 5.400 phases ouvertes de lecture, 6 kb de génome mitochondrial et un plastide<sup>4</sup> de 35kb d'ADN circulaire. Soixante pour cent des gènes, sans homologues connus dans d'autres organismes, restent sans fonction identifiée. Ont également été publiées récemment les séquences des génomes d'*Homo sapiens* et d'*Anopheles gambiae*, les deux hôtes de *P. falciparum*. Les données de séquence doivent maintenant contribuer à la meilleure connaissance de la biologie du parasite qui peut à présent être explorée, non pas sous l'angle d'un événement limité (expression d'un gène, ou des quelques gènes impliqués dans une voie métabolique, par exemple), mais selon une approche de biologie intégrée : l'enjeu est de comprendre la physiologie cellulaire dans sa globalité. Sans pour cela céder à un optimisme empreint de naïveté, on peut espérer que ces progrès contribueront à la compréhension de la cascade d'événements permettant aux parasites de se développer chez ses hôtes, d'échapper à diverses pressions et de développer des résistances médicamenteuses ; cette exploration pourrait faciliter la découverte de nouveaux anti-paludéens et de vaccins.

● ON CONNAÎT MAL LES MÉCANISMES DE RÉGULATION GÉNÉTIQUE QUI PERMETTENT AU PARASITE, AU COURS DE SON CYCLE DE DÉVELOPPEMENT, DE DÉTOURNER CHEZ SES HÔTES UNE SÉRIE DE NICHES BIOLOGIQUES TRÈS DIVERSES.

*Plasmodium* assure son développement et sa transmission chez deux hôtes, l'homme et le moustique du genre *Anopheles* (Fig.2). Au cours de son cycle, le parasite se différencie en de nombreux stades distincts qui se développent dans des environnements très différents. Lors d'un repas sanguin sur l'homme, le moustique femelle prélève des parasites circulants qui comportent des formes sexuées, ou gamétoctes. C'est dans l'estomac du moustique que survient la différenciation en gamètes, la fertilisation produisant l'ookinète, puis l'oocyste qui atteint la lame basale sur laquelle repose la paroi de l'estomac. Après une phase de multiplication intense du parasite, les sporozoïtes, libérés dans l'hémocèle par l'éclatement de l'oocyste, colonisent les glandes salivaires du moustique. Inoculés chez l'homme, les sporozoïtes envahissent les hépatocytes, s'y multiplient, aboutissant à la formation des schizontes hépatiques contenant des milliers de mérozoïtes hépatiques. Ceux-ci, libérés dans la circulation, envahissent des globules rouges, initiant le cycle érythrocytaire qui est seul responsable des signes cliniques de ces processus parasitaires. Une fois dans le globule rouge, au cours des 48 h suivantes, le parasite se différencie successivement en plusieurs formes : l'anneau, le trophozoïte, puis, au cours d'une phase de multiplication, le schizonte. Celui-ci, arrivé à maturité, va entraîner la lyse du globule rouge, libérant plusieurs dizaines de méro-

<sup>4</sup> Organelle impliquée à l'origine dans la photosynthèse

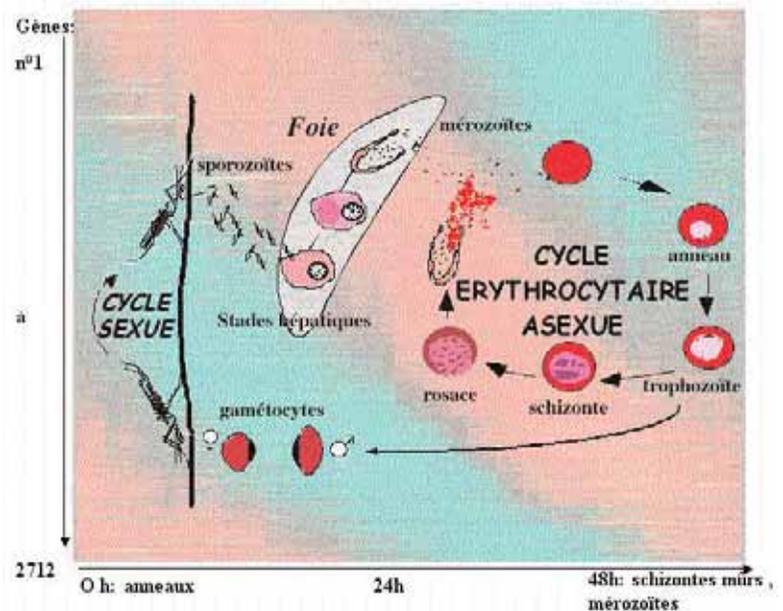


Figure 2 : Au cours d'un cycle complexe, *Plasmodium* détourne une série de niches biologiques très diverses.

En premier plan, surimposé sur le filigrane : le cycle de développement de *Plasmodium*. N'ont été représentés en détail que les stades de développement chez l'homme.

En filigrane : Vue du transcriptome au cours du cycle de développement érythrocytaire asexué (D'après Bozdech et al [3]). Cet aspect en vague a été créé en classant 2.712 gènes, en ordonnée, de haut en bas, par profil et phase d'expression. En abscisse : succession des différents stades du cycle, de 0h (anneau jeune) à 48h (schizonte mûr et mérozoïtes). La couleur verte correspond à une sous-expression par rapport à un pool d'ARN préparé à partir d'un mélange de tous les stades du cycle ; le rouge correspond à une sur-expression par rapport à ce même pool ; le noir représente une expression équivalente dans les deux populations.

zoïtes qui vont ré-initier le cycle érythrocytaire. Le développement *in vivo* du parasite est le plus souvent assez bien synchronisé, comme en témoigne la périodicité des pics fébriles, survenant lors de l'éclatement des schizontes toutes les 48 h. Certains mérozoïtes se différencient après invasion en formes sexuées, les gamétoctes ; leur présence dans le sang se traduit par l'initiation du cycle chez le moustique femelle hématophage. A la complexité de ce cycle doit correspondre une régulation sophistiquée de l'expression des gènes au cours des différentes étapes du développement parasitaire.

● LES STRATÉGIES DE LUTTE ANTI-PARASITAIRE DOIVENT NÉCESSAIREMENT APPRÉHENDER LA RÉALITÉ COMPLEXE DE LA PHYSIOLOGIE CELLULAIRE DU PARASITE EXPOSÉ AUX MOYENS MIS EN OEUVRE POUR LE COMBATTRE : UNE APPROCHE SYSTÉMATIQUE GLOBALE DE L'ÉTUDE DU GÉNOME EST PARTICULIÈREMENT OPPORTUNE.

Parmi les techniques d'analyse génomique dites "à grande échelle", le développement rapide de la technique des puces à ADN permet à présent d'étudier le transcriptome, profil d'expression de tous les transcrits d'une population de cellules (et même d'une seule cellule). Ce profil peut changer au

cours du temps, selon la physiologie de l'organisme, la souche ou le type cellulaire, reflétant non seulement le programme de différenciation mais également l'impact de différentes conditions environnementales. Les phénotypes complexes résultant de la somme des effets de multiples gènes, l'analyse du transcriptome peut mettre en évidence la régulation coordonnée de groupes de gènes et éclairer sur la manière dont de nombreux gènes et leurs produits s'intègrent dans des voies qui déterminent le fonctionnement des cellules et des organismes.

A ce stade, rappelons que le transcriptome, s'il nous permet une appréciation semi-quantitative des différents ARN messagers (ARNm), ne nous renseigne pas nécessairement sur le caractère fonctionnel des protéines correspondantes. Celles-ci peuvent subir des modifications post-traductionnelles, par exemple être activées par des processus de phosphorylation ou inactivées par protéolyse à différents moments du cycle. De plus, passer d'un niveau d'ARN à une fonction sous-entend que l'ARNm n'est produit et présent que lorsque l'organisme a besoin du produit du gène correspondant, et que la quantité d'une protéine est le reflet de la quantité de l'ARNm correspondant. Ceci est loin d'être toujours le cas. Enfin, on sait que la quantité d'un ARNm à un instant donné est dépendante non seulement de sa synthèse lors de la transcription, mais également de sa stabilité dans la cellule

Ces puces peuvent comporter 20-30.000 dépôts par lame. Pour l'étude du transcriptome (ensemble des transcrits d'une population cellulaire à un instant donné), les ARNm "test" et "contrôle" sont rétro-transcrits et marqués avec deux fluorochromes, le plus souvent la cyanine 3 (fluorescence représentée en vert) et la cyanine 5 (fluorescence représentée en rouge). Ces cibles sont mélangées et hybridées avec la puce. Après lavage, la lame est lue au moyen d'un scanner à deux lasers, et c'est le rapport de l'intensité des signaux d'hybridation qui sera évalué. Ce rapport entre les deux intensités d'hybridation reflète la sur-expression ou la sous-expression des gènes d'une population-test (par exemple des parasites soumis aux effets d'un composant anti-parasitaire) par rapport à ceux de la population-contrôle. Bien que la fabrication de ce type de puce repose sur une technologie assez lourde, le dépôt sur lame peut être mis en œuvre à l'échelle de la plateforme technique d'une génopole ou d'un centre de recherche universitaire.

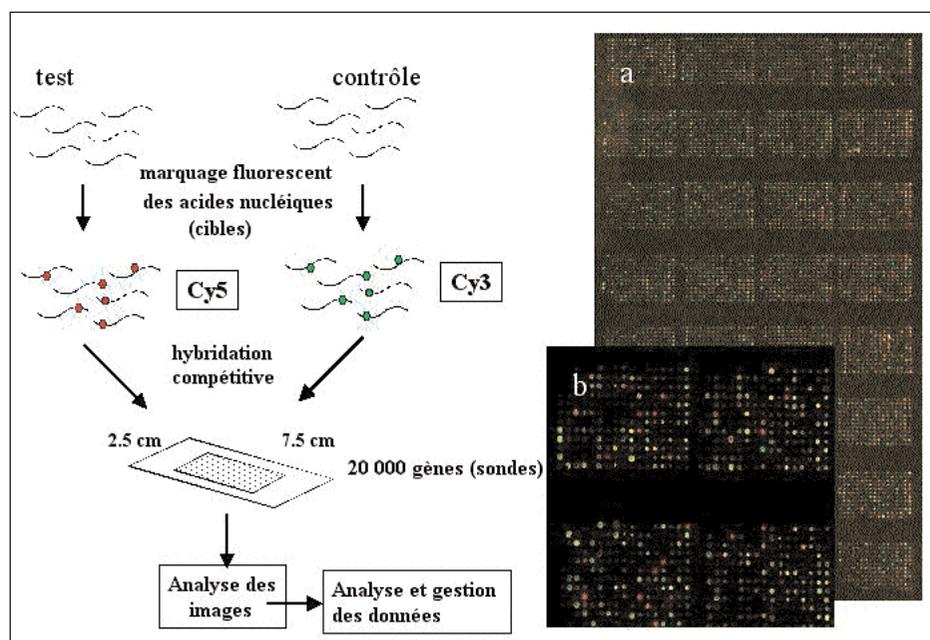
□ **La synthèse d'oligonucléotides** peut être effectuée *in situ*, directement sur le support solide. C'est sur une technique photolithographique de synthèse que repose le type de puces proposées par la société Affymetrix, puces qui peuvent comporter jusqu'à 600.000 oligonucléotides. Pour ce type de puce, l'ARNm d'un seul échantillon sera rétro-transcrit en ADNc

## II. PUCES À ADN : QUELQUES DÉFINITIONS ET RAPPELS TECHNIQUES

Les puces à ADN peuvent être appliquées au génotypage (analyse du contenu de l'ADN génomique d'un organisme) et à l'exploration du transcriptome (ensemble des transcrits d'une population cellulaire à un instant donné). C'est essentiellement la deuxième approche qui a été appliquée à l'étude de *Plasmodium falciparum*. Nous ne ferons qu'un bref rappel technique, une revue récente consacrée aux puces à ADN ayant été publiée dans ce même Bulletin [14].

La puce consiste en une répartition à haute densité, de façon ordonnée, d'échantillons d'ADN ou d'oligonucléotides, les "sondes", dont la séquence est complémentaire du génome du parasite (ou de l'hôte), immobilisés sur un support solide. On distingue essentiellement deux types de puces, ceci selon son mode de fabrication et d'hybridation avec la "cible" :

□ **Les puces** constituées par le dépôt sur support solide (en général, une lame de verre, type lame de microscope) d'oligonucléotides de grandes tailles (40-70 bases) ou d'ADN complémentaire (ADNc) (Fig. 3).



**Figure 3 : Technique d'utilisation d'une puce à ADN du type "dépôt d'oligonucléotides" :**

Ce type de puces est constitué par le dépôt sur support solide (en général, une lame de verre, type lame de microscope) de 20-30.000 oligonucléotides de grande taille (40-70 bases) ou d'ADNc. Les ARNm "test" et "contrôle" sont rétro-transcrits et marqués avec deux fluorochromes, le plus souvent la cyanine 3 (fluorescence représentée en vert) et la cyanine 5 (fluorescence représentée en rouge). Ces cibles sont mélangées et hybridées avec la puce. Après lavage, la lame est lue au moyen d'un scanner à deux lasers et c'est le rapport de l'intensité des signaux d'hybridation qui sera évalué (un spot rouge représente un gène sur-exprimé dans la population-test, un spot vert un gène surexprimé dans la population-cible, un spot jaune un gène exprimé dans les deux populations).

a : Vue globale de toute la puce

b : Agrandissement de 4 blocs comportant environ 200 nucléotides chacun.



dont sera issu l'ARNc biotinyllé qui sera hybridé sur une puce. La révélation se fait à l'aide de biotine-streptavidine liée à un fluorochrome (phycoérythrine) et lecture-scanner. Les cibles ne sont pas mélangées, la comparaison du contrôle avec le test se faisant de puce à puce. Ces puces, qu'elles figurent au catalogue ou soient dessinées sur commande, doivent être achetées chez le fabriquant dont le laboratoire de recherche reste ainsi dépendant.

### III. CONCEPTION D'UNE EXPERIENCE D'ETUDE DU TRANSCRIPTOME :

**LORS DE LA CONCEPTION D'UNE ÉTUDE DU TRANSCRIPTOME TOUT COMME LORS DE LA NORMALISATION, ANALYSE OU INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS, LE BIOLOGISTE PEUT AISÉMENT SE PERDRE DANS UN TYPE DE COMPLEXITÉ QUI NE LUI EST PAS FAMILIER.**

Le caractère reproductible des résultats fournis par les puces à ADN doit être clairement démontré. En effet, le "bruit" s'imisce à chaque étape expérimentale, de la préparation des échantillons à l'exploitation des données, en passant par le type de fluorochrome, la place du dépôt d'ADN sur la lame, les inégalités de la surface de verre ou la présence de poussières. D'où l'importance du nombre de répétitions des expériences, de la normalisation des variations entre lames et de l'analyse statistique des résultats [19].

Le nombre idéal de répétitions à effectuer pour valider une observation est difficile à déterminer, puisqu'il est conditionné par le type de question posée, la qualité des données et le degré de précision souhaité. Pourtant, la question est cruciale. En effet, au cours d'une démarche expérimentale "classique", le nombre de variables étudiées est faible et les mesures sont répétées plusieurs fois. Une analyse statistique "standard" permettra alors de discriminer les données expérimentales significatives du bruit de fond et de la variabilité inhérente à l'exploration de systèmes biologiques. Dans le cas des puces, ce sont des milliers de variables qui sont étudiées, correspondant aux milliers de gènes dont on explore l'expression ; ceci implique le développement d'outils d'analyse spécifique et rend indispensable les répétitions. Cependant, des facteurs comme l'obtention difficile d'ARN en quantité suffisante ou le prix élevé des puces font que les expériences ne sont souvent répétées que peu de fois (et parfois même ... pas du tout !).

Pour ce qui est de l'analyse statistique, le biologiste, parfois saisi par la panique, perclus de doutes sur la validité des résultats et croulant sous la masse des données, peut avoir recours de manière arbitraire à des logiciels commerciaux standard, souvent mal adaptés. Si aujourd'hui les analyses statistiques ne sont plus omises dans les publications, il arrive que leur choix ne soit ni judicieux ni motivé et que les résultats soient parfois interprétés sans évaluation de la variabilité "naturelle" des systèmes étudiés, fixant par exemple une valeur arbitraire au rapport de niveau d'expression (généralement de 2) choisi pour considérer qu'un gène est sur/sous-exprimé.

Comparer le niveau de transcription d'une collection de gènes dans différentes conditions expérimentales n'est pas le seul objectif visé par le recours aux puces à ADN. La puissance de la technique permet de mettre en évidence des motifs d'expression similaires dans différents échantillons. En effet, des gènes aux profils d'expression similaires peuvent coder pour des protéines de fonctions analogues ou être régulés par des mécanismes communs. Regrouper ainsi les gènes repose sur une approche dite de "clustering" [6, 16]. La difficulté est liée ici à la multiplicité des types de clustering, ainsi qu'au désaccord entre statisticiens autour du choix de la meilleure méthode à appliquer. Le clustering effectué, un autre danger guette le biologiste : au milieu d'un océan de données, il risque de ne s'agripper qu'aux clusters qu'il s'attend à trouver, de choisir son "cluster préféré" et de s'y limiter.

Il n'y a pas (et il n'y a aura peut être jamais...) de consensus sur la "bonne" technique d'analyse à adopter pour exploiter les résultats des expériences de puces à ADN : l'interprétation des données de transcriptome constitue un domaine de recherche en soi. Cependant, on ne peut trop insister sur l'importance d'un dialogue avec le biostatisticien dès la conception des expériences. En effet, pour citer Ronald FISHER (1938), "Faire appel au statisticien une fois que l'expérience a été effectuée peut être assimilé à un examen *post-mortem* : il pourra peut-être diagnostiquer de quoi l'expérience... est "morte" !

### IV. PUCES ET PLASMODIUM : DES OBSERVATIONS CRUCIALES MALGRÉ UNE APPLICATION TECHNIQUE ENCORE RELATIVEMENT LIMITÉE

Plus de 3.000 travaux faisant appel aux puces à ADN, la plupart portant sur l'homme, la souris et la levure, ont été publiés depuis l'étude princeps de l'équipe de BROWN en 1995 [15]. Ceci contraste avec les applications des puces en parasitologie où l'on en est encore souvent au stade de validation technique [12]. Ainsi peu de publications (de l'ordre d'une dizaine à ce jour) sont-elles parues sur l'analyse du transcriptome de *Plasmodium falciparum* par puce à ADN depuis la première sur le sujet en 2000. Après une première phase de validation de la technique et d'identification de nouveaux gènes [8] qui précéda la publication du génome de *Plasmodium*, on en est venu à explorer la régulation coordonnée des gènes au cours du cycle de développement parasitaire [2, 11], deux publications seulement portant à ce jour sur l'analyse du transcriptome au niveau du génome complet [3, 10]. Les résultats de ces travaux, obtenus grâce à deux technologies différentes, sont venus compléter l'excellente base de données PlasmoDB (<http://plasmodb.org>) dont disposent les chercheurs travaillant sur *Plasmodium*.

Il faut souligner qu'aucune étude n'est encore parue sur le recours aux puces à ADN pour étudier les altérations du transcriptome entraînées par des modifications de l'environnement, telle une élévation de la température ou la présence d'un composant anti-parasitaire. Nous verrons plus loin que cette



absence de données est probablement liée à certaines caractéristiques du parasite qui rendent difficiles la mise en œuvre et l'interprétation de telles expériences.

● **DEUX ÉTUDES DU TRANSCRIPTOME, AU NIVEAU DU GÉNOME COMPLET, METTENT EN ÉVIDENCE LA RÉGULATION COORDONNÉE D'UN POURCENTAGE ÉLEVÉ DES GÈNES DE *P. FALCIPARUM*, AU COURS DES DIFFÉRENTES ÉTAPES DU CYCLE DE DÉVELOPPEMENT PARASITAIRE.**

Une étude publiée par LE ROCH *et al.* [10] porte sur les principales étapes du cycle parasitaire, analysant le transcriptome chez le sporozoïte, le mérozoïte, aux six stades de développement dans le globule rouge et chez le gamétocyte en fin de maturation (notons que les stades de développement du parasite au sein de l'hépatocyte n'ont pas été explorés). Cette étude fait appel à la technique Affymetrix, avec une puce fabriquée à façon, comprenant plus de 367.000 oligonucléotides (de 25 bases) couvrant la totalité du génome à raison d'un oligonucléotide toutes les 150 bases environ, ceci sur chaque brin d'ADN. Il est montré qu'environ 90% des gènes prédits par l'annotation sont exprimés au moins une fois au cours du cycle, 50% des gènes exprimés étant différentiellement exprimés selon le stade de développement considéré. Les gènes ont été regroupés en clusters selon leur degré de similarité d'expression. Des 2.235 gènes regroupés en 15 clusters, seuls 35% codent pour des protéines dont la fonction peut être présumée. Peu de gènes sont spécifiquement transcrits aux stades sporozoïte (41 gènes) et gamétocyte (200 gènes).

BOZDECH *et al.* [3] rapportent une exploration cinétique détaillée des seuls stades de développement érythrocytaire asexué. Une puce comprenant 7.462 oligonucléotides de 70 nucléotides, représentant 4.488 des 5.409 phases de lecture ouvertes annotées au moment de l'étude, a permis d'étudier l'évolution du transcriptome à partir d'échantillons prélevés toutes les heures d'une culture synchronisée, pendant les 48 h du cycle. Il est montré que la majorité des gènes sont exprimés au cours de cette partie du cycle. Pour 80% de ces gènes exprimés, la transcription est périodique, l'abondance relative de chaque ARNm variant de manière continue au cours du cycle, avec un seul maximum et un seul minimum pour chaque gène. Ceci différencie *P. falciparum* d'autres organismes chez qui le pourcentage de gènes, dont l'expression est modulée au cours du développement, est peu élevé (par exemple, 15% pour *Saccharomyces cerevisiae* [16]).

L'agencement temporel des profils d'expression produit une " vague " (Fig.1) qui naît au stade de trophozoïte jeune (950 gènes impliqués dans des fonctions générales des eucaryotes) et croît pendant le passage du trophozoïte au schizonte, quand le niveau de transcription de 1.050 gènes est à son niveau maximal. Au cours de la maturation du schizonte, 550 gènes supplémentaires présentent leur maximum d'induction. Les gènes dont les produits participent à des grandes familles de fonctions biologiques ou de voies métaboliques, telles que la transcription, la traduction, la glycolyse, la synthèse des acides nucléiques et le cycle tricarboxylique, semblent co-régulés au

sein de chacune de ces familles. Ainsi les inductions d'expression des gènes appartenant à ces différents groupes se succèdent-elles dans le temps : l'expression des gènes codant pour les éléments nécessaires à la transcription en début de cycle étant suivie de l'expression des groupes de gènes liés à la traduction, puis à la synthèse des acides nucléiques ; en fin de cycle sont transcrits les gènes codant pour des produits intervenant dans l'invasion du globule rouge (protéines de surface, protéines d'organelles spécialisées dans l'invasion, les composants du système actine-myosine, kinases, phosphatases, certaines protéases ...). La cascade d'expression observée suggère que les gènes ne sont activés qu'au moment où leurs produits deviennent essentiels au parasite.

● **LA MÉTHODOLOGIE DES PUCES À ADN POURRAIT PERMETTRE LE RATTACHEMENT POTENTIEL À UNE FONCTION DES NOMBREUX GÈNES CODANT POUR DES PROTÉINES DE FONCTION JUSQU'ALORS INCONNUE.**

Les différents groupes de gènes dont les produits participent à de grandes familles de fonctions biologiques ou de voies métaboliques semblent co-régulés au sein de chaque groupe et appartenir au même cluster. Aussi, la méthodologie des puces à ADN pourrait permettre pour *P. falciparum*, par association de gènes au sein d'un même cluster, le rattachement potentiel à une fonction des nombreux gènes codant pour des protéines de fonction jusqu'alors inconnue (environ 60% des 5.409 phases de lecture ouverte de *P. falciparum* n'ayant pas d'orthologues connus). Par exemple, vingt-huit gènes parmi ceux transcrits en fin de cycle, au moment de la rupture de l'érythrocyte infecté et de la libération des formes invasives que sont les mérozoïtes, sont connus comme étant liés à la physiologie du mérozoïte ou à une propriété vaccinale intéressante [3]. Ceci confère un intérêt tout particulier aux 189 gènes de fonctions inconnues qui leur sont associés.

## V. MECANISMES DE REGULATION

● **PROMOTEURS, FACTEURS DE TRANSCRIPTION, SÉQUENCES RÉGULATRICES : DE NOMBREUSES INCONNUES SONT ENCORE RECÉLÉES PAR UN GÉNOME D'UNE EXTRÊME RICHESSE EN A-T.**

Les résultats de BOZDECH *et al.* [3] suggèrent que la régulation transcriptionnelle de la plupart des gènes chromosomiques de *Plasmodium* semble être mono-cistronique, à l'exception des 7 gènes d'une famille polygénique (SERA) et des gènes des protéines ribosomales. Les gènes en rapport avec le plastide semblent avoir une transcription co-régulée, le plastide étant un organelle acquis secondairement au cours de l'évolution (*Plasmodium* est ainsi classé parmi les *meta-algae*) [20]. Pendant la deuxième moitié du cycle, il existe une relation temporelle entre l'expression poly-cistronique des gènes du génome associé au plastide et la transcription des 124 gènes nucléaires prédits comme ayant des séquences de ciblage au plastide. Cette co-régulation de gènes nucléaires associés au plastide suggère l'existence d'éléments promoteurs communs aux gènes codant pour les composants de cet organelle.



Le caractère continu et périodique du cycle de la transcription suggère qu'un petit nombre de facteurs de transcription pourrait expliquer la cascade d'expression des gènes au cours du cycle érythrocytaire. Cela nous mène à évoquer brièvement un aspect mal connu du génome de *P. falciparum* : les régions intergéniques, dont la richesse en AT (90%) rend difficile l'identification des séquences régulatrices qui conditionnent la chronologie des différents stades de développement au cours du cycle parasitaire. En particulier, on ne connaît pas de promoteur clairement défini pour les stades asexués. De plus, les quelques motifs identifiés chez *Plasmodium* ne présentent pas d'homologie avec les promoteurs eucaryotes connus. Souhaitons que l'analyse des profils d'expression par cluster aboutisse à l'identification de séquences régulatrices communes en amont de gènes possédant des profils d'expression similaires [5].

● **DES MÉCANISMES DE RÉGULATION POST-TRANSCRIPTIONNELLE DE L'EXPRESSION DES GENES POURRAIENT INTERVENIR CHEZ *PLASMODIUM*.**

Une technique d'étude de la transcription, le SAGE (Serial Analysis of Gene Expression), a permis de mettre en évidence l'existence d'ARN anti-sens chez *P. falciparum* [13], ceci ayant été ensuite confirmé par le recours aux puces à ADN [10]. Les ARN anti-sens pourraient contribuer à la régulation de l'expression des gènes chez *Plasmodium*, par formation de duplex ARN sens-antisens qui seraient dégradés ou viendraient inhiber la traduction [9, 17]. L'existence chez *P. falciparum* d'un contrôle post-transcriptionnel de l'expression des gènes a également été suggéré par une étude récente *in silico*<sup>5</sup> [4].

● **SI LA RÉGULATION DES GÈNES AU COURS DU CYCLE PARASITAIRE (SCHEMA DE RÉGULATION INTERNE) COMMENCE À ÊTRE EXPLORÉE, AUCUNE DONNÉE N'EST PUBLIÉE CONCERNANT LES ALTÉRATIONS DU TRANSCRIPTOME, ENTRAÎNÉES PAR DES MODIFICATIONS DE L'ENVIRONNEMENT DU PARASITE (INFLUENCE EXTERNE SUR LA RÉGULATION DE LA TRANSCRIPTION).**

L'existence d'une proportion très élevée de gènes dont la transcription est soumise à régulation par le développement (donc soumise à une régulation interne) complique toute analyse de la régulation de l'expression des gènes chez *Plasmodium*, en particulier les études portant sur les altérations du transcriptome entraînées par des modifications de l'environnement du parasite (gènes dont la régulation est donc modulée par le milieu externe).

Ce sont le plus souvent des populations parasitaires dont le développement a été synchronisé qui doivent être étudiées. Or, si le développement *in vivo* du parasite est le plus souvent assez bien synchronisé comme en témoigne la périodicité des pics fébriles liés à l'éclatement des schizontes, la synchronisation du développement parasitaire en culture doit être induite, puis entretenue. Bien qu'il existe plusieurs méthodes de synchronisation, aucune d'entre elles n'est parfaite, ceci rendant difficile l'obtention de deux populations de parasites présentant un degré de synchronisation et un stade de développement stric-

tement identiques. Il sera essentiel de mettre au point une méthode d'évaluation de ces deux paramètres, bien plus précise que le simple examen microscopique d'un frottis coloré, ceci afin de pouvoir corriger les données issues de la comparaison entre deux populations parasitaires.

Il est le plus souvent indispensable de conduire des expériences comportant une étude cinétique des modifications du transcriptome. Prenons comme exemple l'effet au cours du temps qu'exerce sur le parasite l'action d'un composant anti-plasmodial : le premier effet observé (comme dans le cas de la plupart des "stress" auxquels on pourra soumettre le parasite) est le ralentissement du développement parasitaire. L'exploration du transcriptome en sera compliquée, car une fois le retard de développement évalué (voir limitations au paragraphe précédent), il faudra appliquer une méthode de correction des données avant d'effectuer l'analyse différentielle du transcriptome pour ne retenir que les gènes dont l'expression est directement modulée par l'antipaludéen. Différentes approches, décrites pour l'étude du transcriptome de la levure, doivent maintenant être adaptées au cas très particulier de *Plasmodium* [1].

## VI. PUCES ET PLASMODIUM : PROBLEMES A RESOUDRE

● **INSUFFISANCES DES PUCES DE " PREMIÈRE GÉNÉRATION " : LE GÉNOME DE *P. FALCIPARUM* EST POLYMORPHE ET SUBIT DES ALTÉRATIONS AU COURS DE L'ADAPTATION DU PARASITE À LA CULTURE *IN VITRO***

Les puces à ADN décrites à ce jour correspondent à la seule souche dont le génome ait été publié, la souche de laboratoire 3D7, souche adaptée de longue date à la culture *in vitro* dans les érythrocytes. Or la mise en culture des parasites entraîne des contraintes génératrices d'artefacts dont témoignent les observations suivantes :

1) il est difficile d'adapter à la culture les populations parasitaires isolées directement de patients. *In vitro*, ces isolats s'engagent souvent rapidement dans le "cul de sac" de la gamétoctogenèse ;

2) une fois la mise en culture obtenue, plusieurs protéines parasitaires détectées par leurs interactions avec des molécules de la membrane de l'érythrocyte qui héberge le parasite ne sont plus présentes après quelques cycles *in vitro* ;

3) des délétions chromosomiques surviennent souvent *in vitro* : la souche 3D7 elle-même est porteuse de délétions.

Il ne faut donc pas oublier que nous étudions le plus souvent des souches de laboratoire, et que les résultats obtenus avec de telles "souches de cirque" devront être confirmés avec des souches fraîchement isolées de patients.

Ceci nous amène à évoquer un problème d'un autre type : le polymorphisme important du génome de *P. falciparum* [18]. Bien qu'elles aient été choisies dans des régions conservées des gènes, on pouvait craindre que de nombreuses séquences d'oligonucléotides issues du génome de 3D7 ne pré-

<sup>5</sup> Analyse bio-informatique, selon la terminologie introduite par A. Danchin. Cf n° 177 Association des Anciens Elèves de l'Institut Pasteur, p. 238



sentent pas d'hybridation croisée avec les ADNc d'autres souches. L'étude du transcriptome publiée par BOZDECH *et al.* [3] a été effectuée avec des ARN provenant d'une souche hétérologue, la souche HB3, montrant ainsi que la grande majorité des oligonucléotides présentaient une hybridation croisée. Les exceptions correspondaient à des séquences choisies pour leur polymorphisme (gènes *var*, *rifin* et *stevor* codant pour des molécules soumises à variation antigénique ...). Cependant, il faut rester vigilant sur l'existence du polymorphisme présenté par d'autres souches, et, *a fortiori*, sur les lacunes dans la représentation du génome correspondant aux délétions présentées par 3D7.

● **LA PLATE-FORME PUCES À ADN DE L'INSTITUT PASTEUR, ÉLÉMENT CENTRAL D'UN RÉSEAU INTERACTIF DE COLLABORATIONS ENTRE LABORATOIRES DE RECHERCHE SUR LE PALUDISME.**

L'importance, mais aussi la difficulté de l'application de la technique des puces à ADN à l'étude de *P. falciparum*, justifient pleinement une approche de recherche fédérative. Celle-ci doit assurer l'interface entre une technologie qui reste encore assez lourde, privilège de centres spécialisés, et les laboratoires de recherche possédant une connaissance profonde des phénomènes biologiques liés au parasitisme. C'est ainsi qu'il a été mis en place à l'Institut Pasteur une plate-forme de puces à ADN de *P. falciparum*, permettant la collaboration avec de nombreux laboratoires français ainsi qu'avec des laboratoires situés en zone d'endémie palustre (Cambodge, Madagascar, Sénégal). Un réseau interactif a été créé, au sein duquel sont explorées les réponses à différentes conditions physiologiques, la différenciation cellulaire et la génomique des souches de terrain<sup>6</sup>.

Les puces utilisées consistent en 9.000 oligonucléotides 70-mer représentant la quasi-totalité du génome de *P. falciparum*. Cette collection a permis de compléter l'éventail de gènes étudiés et d'enrichir en certaines sondes, notamment pour des gènes impliqués dans les processus physiologiques plus particulièrement étudiés par les groupes collaborateurs. Une base de données annotée a été constituée et les outils appropriés d'analyse statistique des résultats ont été mis en place. Le caractère fonctionnel de cette plate-forme a été validé par l'exploration de l'évolution du transcriptome au cours du développement érythrocytaire du parasite. Sont maintenant explorés les mécanismes de différenciation du parasite, la réponse du parasite à des modifications de l'environnement, telle la présence d'anti-paludéens, et l'application possible des puces à l'étude du génome de souches de terrain.

## CONCLUSION

Dans un univers de recherche où l'on a trop souvent recours à des concepts-bannière dont la terminologie faussement sophistiquée multiplie à l'infini les suffixes en " mique ",

la mise au point d'une nouvelle technologie provoque souvent une vague d'enthousiasme irraisonné. Ceci s'accompagne souvent de publications hâtives dans lesquelles le nouveau créneau technique est exploité sans la rigueur et la prudence nécessaires. Une fois ce premier engouement passé, la non-teneur de promesses irraisonnées fait souvent qualifier la technique d' " effet de mode ", la faisant accuser de maux aussi peu justifiés que l'étaient les espoirs suscités à l'origine.

En ce qui concerne les puces à ADN, les chercheurs dans le domaine du paludisme ont eu la chance qu'un temps appréciable sépare la première description de la technique (1995) de la publication de la séquence du génome de *P. falciparum* (2002) qui leur rendait cette technique plus accessible. Ceci a laissé le temps d'établir des stratégies d'application raisonnées : bien qu'on puisse encore déplorer l'impatience peu réfléchie de certains, réclamant la publication trop hâtive de résultats ou accusant la technique de manque de fiabilité, la communauté de chercheurs sur le paludisme a dans son ensemble bien compris le pouvoir et les limitations des puces à ADN. Nous avons vu ici que, malgré certaines difficultés liées à des particularités de la biologie de *Plasmodium*, des résultats de première importance ont d'ores et déjà été obtenus. Gageons que dans l'application des puces à ADN à l'étude de *Plasmodium*, la bonne coordination des divers domaines d'expertises indispensables à la conception, à la mise en œuvre et à l'interprétation des expériences permettront de confirmer ces premiers succès. Les stratégies de lutte anti-parasitaire devant nécessairement appréhender la réalité complexe de la réponse cellulaire du parasite aux moyens mis en œuvre pour le combattre, une telle approche globale de l'étude du génome devrait être particulièrement fertile.

## REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient vivement Geneviève MILON, Ghislaine GUIGON et Emmanuel BISCHOFF pour des discussions animées et pour leurs suggestions lors de l'analyse critique de ce manuscrit.

## MOTS-CLES

Paludisme, *Plasmodium falciparum*, puces à ADN, transcriptome, parasitologie

## ABSTRACT

*Plasmodium falciparum* malaria remains a major public health problem. Towards progress in parasite control methods, it is essential to translate the *P. falciparum* genome sequence data published in 2002 into knowledge on parasite biology. Of the high-output techniques in genomics, the application of DNA microarrays to the study of *P. falciparum* is in its infancy. After a first phase of technical validation and identification of new

<sup>6</sup> La Plate-Forme Puces à ADN de l'Institut Pasteur a pu être mise en place grâce à des fonds provenant du Programme Génopole et du Programme PAL+ du Ministère de la Recherche, de la DGA, du CNRS (Programme Puces à ADN) et de l'Institut Pasteur.



genes, the coordinated regulation of gene expression during parasite development has been studied. Transcriptome analysis at the whole genome level has shown that a high proportion of genes are developmentally regulated during the multiple stages of the parasite life cycle. This introduces certain difficulties in studying the effects on the transcriptome of environment alterations, such as the stress induced by an anti-malarial drug. Towards resolving these difficulties, the establishment of a *P.*

*falciparum* microarray platform at the Institut Pasteur should facilitate interactions between technical progress and knowledge of parasite biology.

### KEY-WORDS

Malaria, *Plasmodium falciparum*, DNA microarrays, transcriptome, parasitology

## BIBLIOGRAPHIE

1. AACH J, CHURCH GM. Aligning gene expression time series with time warping algorithms. *Bioinformatics*. 2001, **17**, 495-508
2. BEN MAMOUN C, GLUZMAN IY, HOTT C, MACMILLAN SK *et al.* Coordinated programme of gene expression during asexual intraerythrocytic development of the human malaria parasite, *Plasmodium falciparum* revealed by microarray analysis. *Mol.Microbiol.* 2001, **39**, 26-36
3. BOZDECH Z, LLINAS M, PULLIAM BL, WONG ED *et al.* The transcriptome of the erythrocytic development cycle of *Plasmodium falciparum*. *PLOS Biology* 2003, **1**, 85-100
4. COULSON RMR, HALL N, OUZONIS CA. Comparative genomics (genomics ??) of transcriptional control in the human malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *Genome Res.* 2004, **14**, 1548-1554
5. DUNCAN R. DNA microarray analysis of protozoan parasite gene expression: outcomes correlate with mechanisms of regulation. *Trends in Parasitol.* 2004, **20**, 211-215
6. EISEN MB, SPELLMAN PT, BROWN PO, BOTSTEIN D. Cluster analysis and display of genome-wide expression patterns. *Proc. Natl . Acad. Sci. USA.* 1998, **95**, 14863-14868
7. GARDNER MJ, HALL N, FUNG E, WHITE O *et al.* Genome sequence of the human malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *Nature* 2002, **419**, 498-511
8. HAYWARD E, DERISI JL, ALFADHLI S, KASLOW DC *et al.* Shotgun DNA microarrays and stage specific gene expression in *Plasmodium falciparum*. *Mol. Microbiol.* 2000, **35**, 6-14
9. KNEE R, MURPHY PR. Regulation of gene expression by natural antisense RNA transcripts. *Neurochem. Int.* 1997, **31**, 379- 392
10. LE ROCH KG, ZHOU Y, BLAIR PL, GRAINGER M *et al.* Discovery of gene function by expression profiling of the malaria parasite life cycle. *Science* 2003, **301**, 1503-1508
11. LE ROCH KG, ZHOU Y, BATALOV S, WINZELER EA. Monitoring the chromosome 2 intraerythrocytic transcriptome of *Plasmodium falciparum* using oligonucleotide arrays. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2002, **67**, 233-243
12. MORRISON, DA, ELLIS JT. The design and analysis of microarray experiments : application in parasitology. *DNA and Cell Biol.* 2003, **22**, 6, 357-394
13. PATANKAR S, MUNASINGHE A., SHOAIBI A, CUMMINGS LM *et al.* Serial analysis of gene expression in *Plasmodium falciparum* reveals global expression profile of erythrocytic stages and the presence of anti-sense transcripts in the malaria parasite. *Mol.Biol.Cell* 2001, **12**, 3114-3125
14. PEDRON T, REGNAULT B. Les puces à ADN et leurs applications. *Association des Anciens Elèves de l'Institut Pasteur.* 2003, **45**, 195-201
15. SCHENA M, SHALON D, DAVIS RW ET BROWN PO. Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray. *Science* 1995, **270**, 467-470
16. SPELLMAN PT, SHERLOCK G, ZHANG MQ, IYER VR *et al.* Comprehensive identification of cell-cycle regulated genes in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* by microarray hybridization. *Mol.Biol.Cell* 1998, **9**, 3273-3297
17. VANHEE-BROSSOLET C, VAQUERO C. Do natural antisense transcripts make sense in eukaryotes ? *Gene* 1998, **211**, 1-9
18. VOLKMAN S, HARTL DL, WIRTH D., NIELSEN KM *et al.* Excess polymorphisms in genes for membrane proteins in *Plasmodium falciparum*. *Science* 2002, **298**, 216- 218
19. YANG YH ET SPEED T. Design issues for cDNA microarray experiments. *Nat.Rev.Genet.* 2002, **3**, 579-588
20. ZUEGGE J, RALPH SA, SCHMUKER M, MCFADDEN GI, SCHNEIDER G. Deciphering apicoplast targeting signals-feature extraction from nuclear encoded precursors from *Plasmodium falciparum* apicoplast proteins. *Gene* 2001, **280**, 19-26



## LES INTERACTIONS *PLASMODIUM FALCIPARUM*/ANOPHELES

Catherine BOURGOUIN<sup>1</sup>

Catherine LAVAZEC

Rachida TAHAR

Biologie et Génétique du Paludisme, Institut Pasteur

### RÉSUMÉ

*Plasmodium falciparum*, l'agent étiologique du paludisme, est transmis par des moustiques du genre *Anopheles*. Les interactions *P. falciparum*/*Anopheles* sont remarquables par leur complexité. Cette complexité réside à la fois dans le déroulement du développement du parasite chez son hôte moustique mais également dans la spécificité de ces interactions. Lors de la dernière décennie, est devenue possible et perceptible une avancée considérable des connaissances, au niveau moléculaire, des interactions *Plasmodium-moustique* par l'utilisation de systèmes modèles. Cependant, une réserve s'impose de ne pas systématiquement extrapoler les données issues de systèmes modèles aux systèmes naturels de transmission. En effet, ces systèmes naturels résultent d'une adaptation/co-évolution ancestrale entre le parasite et son hôte qui, dans ce cas, est aussi vecteur et témoignent d'une autre propriété remarquable des anophèles, leur hématophagie.

### INTRODUCTION

Le paludisme constitue toujours une priorité de santé publique dans les pays en développement, notamment sur le continent africain qui héberge 90% des cas graves de paludisme (OMS, 2002)<sup>2</sup>. La majorité de ces formes graves sont dues à *Plasmodium falciparum*. Sur le continent africain, *Anopheles gambiae* sensu stricto<sup>3</sup> constitue, du fait de sa large répartition géographique, de son abondance et de sa capacité vectorielle<sup>4</sup>, le vecteur principal de *P. falciparum*. *An. arabiensis*, espèce jumelle d'*An. gambiae*, représente également un vecteur important. D'autres espèces, telles que *An. funestus*, *An. moucheti* et *An. nili*, sont aussi vecteurs de *P. falciparum* et leur importance en terme de transmission à l'échelle régionale a souvent été négligée [13]. A l'échelle du globe, environ une soixantaine d'espèces d'Anophèles ont été répertoriées comme hôtes et vecteurs de *Plasmodium* infectant l'Homme, la majorité d'entre elles sont inféodées aux régions tropicales et sub-tropicales. Chaque espèce possède une aire de répartition géographique spécifique. Une connaissance approfondie des relations entre *Plasmodium* et ses vecteurs naturels contribuera à l'optimisation des méthodes d'intervention pour diminuer la transmission des parasites et réduire l'incidence du paludisme. L'acquisition de cette connaissance est aujourd'hui facilitée par le décryptage des génomes d'*An. gambiae* et de *P. falciparum*, d'une part et le constant développement de nouvelles technologies à l'échelle des molécules et des cellules telles que les puces à

ADN, la transgénése et l'imagerie en temps réel. L'existence de relations adaptatives étroites entre les diverses souches de *P. falciparum* et ses hôtes /vecteurs pourront néanmoins constituer un frein au développement de stratégies communes à l'ensemble des systèmes vectoriels *P. falciparum*/*Anopheles*.

### I. DEVELOPPEMENT DU PARASITE CHEZ LE MOUSTIQUE

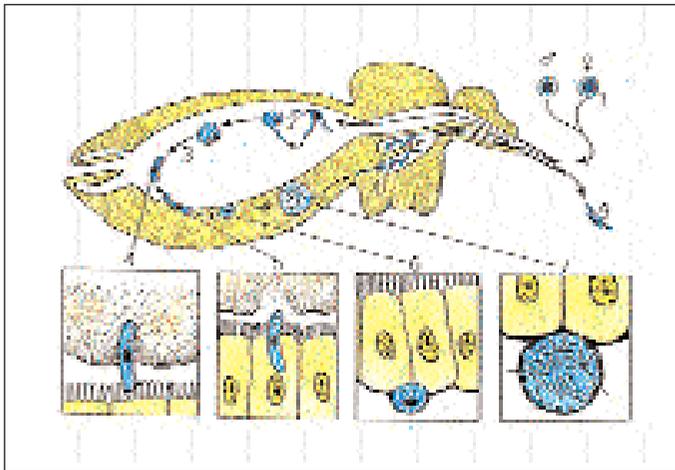
L'initiation du développement de *Plasmodium* chez le moustique se produit lorsqu'un moustique ingère des formes gamétocytes mâles et femelles à l'occasion d'un repas sanguin sur un individu infecté (Fig. 1). Dans la lumière du tube digestif du moustique (encore appelé estomac), gamétocytes mâles et femelles se différencient en gamètes mâles et femelles respectivement, dans un délai de trente minutes. S'ensuivent fécondation et formation d'un zygote diploïde. Au cours des 20 heures suivantes, le zygote se transforme en ookinète mobile au sein duquel va se produire la réduction méiotique. L'ookinète interagit successivement avec la matrice péritrophique, structure amorphe qui entoure le repas sanguin, et l'épithélium intestinal qu'il traverse, avant de se loger au niveau de la lame basale sur laquelle repose la face externe du tube digestif ; celui-ci baigne dans l'hémolymphe de l'insecte. Au cours de cette migration, l'ookinète se transforme en une forme ronde, l'oocyste, au sein duquel vont se différencier de nombreux sporozoïtes par un jeu

<sup>1</sup> 25 rue du Dr Roux, 75724 Paris, cedex 15 ; tél. : 01 45 68 82 24, téléc. : 01 40 61 30 89, courriel : [cbourg@pasteur.fr](mailto:cbourg@pasteur.fr)

<sup>2</sup> Le nombre de cas annuels de paludisme est estimé à 400 millions, provoquant le décès de 1 à 3 millions de personnes, principalement des enfants de moins de 5 ans. Ceci représente approximativement un mort toutes les trente secondes.

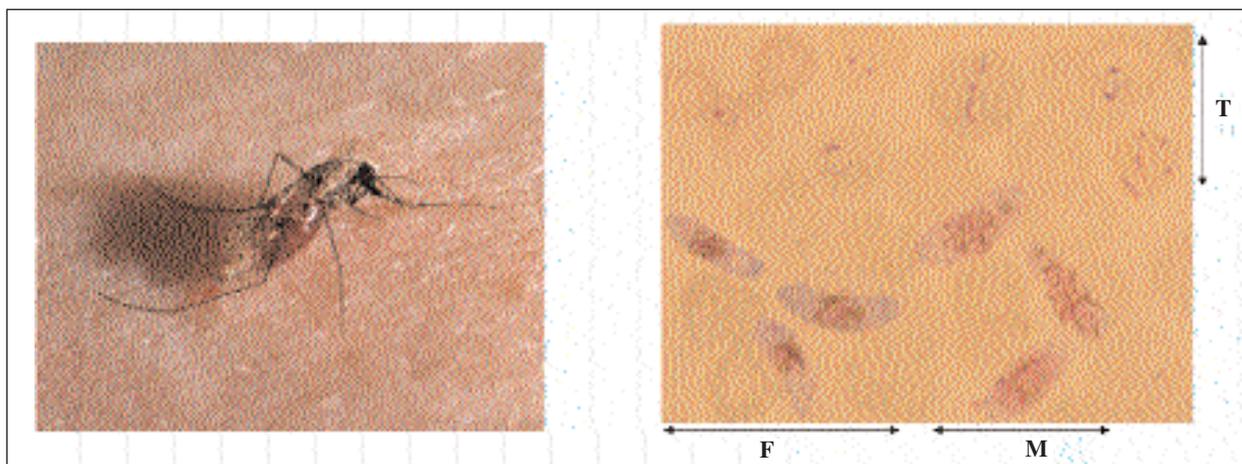
<sup>3</sup> *An. gambiae* sensu stricto ou ss appartient à un complexe d'espèces ou espèces jumelles (*An. gambiae* sensu lato ou sl) constitué par : *An. arabiensis*, *An. gambiae* ss, *An. quadriannulatus*, *An. merus*, *An. melas*, *An. bwambae*. Seuls *An. arabiensis* et *An. gambiae* représentent des vecteurs importants de *P. falciparum*. Il a été montré récemment qu'*An. gambiae* ss était de fait composé de deux espèces décrites sous les termes forme moléculaire M et S [13, 50].

<sup>4</sup> La capacité vectorielle inclut la compétence vectorielle ou réceptivité au parasite et des facteurs biotiques (durée de vie du vecteur, degré d'*anthropophilie*).



**Figure 1 : Développement de Plasmodium chez son hôte moustique :**  
 1 : gamécytes ; 2 : exflagellation des gamètes mâles et fécondation ; 3 : transformation zygote- ookinète ; 4 : migration de l'ookinète à travers la matrice péritrophique ; 5 : migration de l'ookinète à travers les cellules épithéliales ; 6 : maturation de l'oocyste ; 7 : formation des sporozoïtes ; 8 : migration des sporozoïtes et invasion des glandes salivaires (D'après WARBURG et MILLER<sup>5</sup>).

de divisions nucléaires intenses (un oocyste produit de 5.000 à 10.000 sporozoïtes). L'étape de migration des ookinètes dure environ 48 h. La maturation des oocystes est effective de 7 à 11 jours après l'ingestion des gamécytes, en fonction des espèces plasmodiales et de la température. A l'issue de ce délai, la paroi des oocystes se rompt, libérant les sporozoïtes dans l'hémolymphe de l'insecte. Ceux-ci vont ensuite migrer vers les glandes salivaires de l'insecte qu'ils envahissent avant d'être inoculés à un nouvel hôte vertébré à l'occasion d'un nouveau repas sanguin du moustique. La durée totale du développement chez l'insecte varie généralement de 10 jours à 18 jours (Fig. 2).



**Figure 2 : Anopheles gambiae et Plasmodium falciparum**

An. gambiae : photos C. BOURGOUIN, P. falciparum, extrait de *Malaria Journal* : TALMAN et al, 2004 (<http://www.malariajournal.com/content/3/1/24>). F= gamécytes femelles, M : gamécytes mâles, T : Trophozoïtes

Au cours de ce développement complexe, le parasite doit franchir plusieurs barrières physiques (matrice péritrophique, épithélium digestif, paroi et membranes des glandes salivaires) et est confronté à au moins deux environnements hostiles : le contenu du tube digestif et l'hémolymphe.

## II. INTERACTION *PLASMODIUM*/TUBE DIGESTIF DU MOUSTIQUE

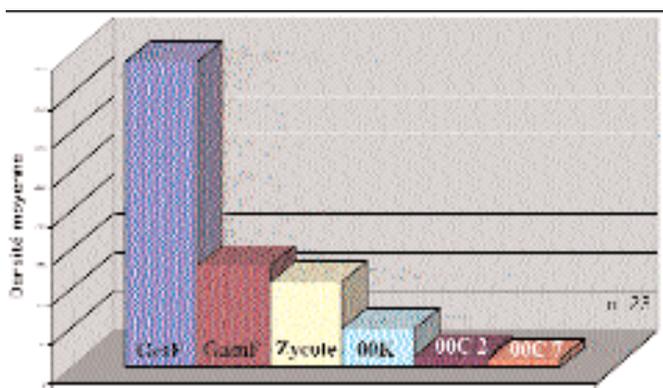
### A. L'ENVIRONNEMENT DU BOL ALIMENTAIRE

L'ingestion de *Plasmodium* est concomitante de l'ingestion d'un repas sanguin qui induit la production, dans la lumière du tube digestif, d'enzymes digestives dont les plus documentées appartiennent à la famille des sérine-protéases (trypsines et chymotrypsines). L'action conjuguée de ces diverses enzymes sur le sang ingéré conduit notamment à la libération d'acides aminés essentiels pour le déclenchement de la vitellogénèse requise pour la maturation des œufs du moustique [21].

Au sein du tube digestif se produit une forte réduction du nombre de parasites franchissant chaque étape de développement [19, 48] (Fig. 3) de telle sorte que, dans des conditions naturelles de transmission de *P. falciparum*, seuls quelques parasites atteignent le stade oocyste (rarement plus de 10). La réduction parasitaire observée dans le tube digestif du moustique résulte vraisemblablement de la conjugaison d'au moins trois groupes de facteurs : 1) le succès reproductif du parasite 2) les facteurs sanguins de l'hôte vertébré ingérés en même temps que les parasites 3) des facteurs produits par le moustique.

Le succès reproductif du parasite est dépendant à la fois de la proportion du nombre de gamécytes mâles et femelles ingérés et possiblement du nombre de clones parasites les produisant, la fécondation ne suivant pas un principe de fécondation au hasard [37, 44]. Les facteurs contrôlant ces deux variables font l'objet de modèles et d'hypothèses parfois diver-

<sup>5</sup> Publié avec l'aimable autorisation des auteurs et de la revue Science (Sporogonic development of a malaria parasite in vitro, 1992, 255, pp 448-450).



**Figure 3 : Réduction parasitaire dans le tube digestif d'*Anopheles gambiae* infecté par *Plasmodium falciparum*.** Moyenne de 23 infections expérimentales. GCtF : Gamétocytes femelles ; GamF : Gamètes femelles ; OOK : Ookinètes ; OOC 2 : oocystes 48h après le repas infectant ; OOC 7 : Oocystes 7 jours après le repas infectant. Données extraites de la thèse de LC. GOUAGNA, Université de Yaoundé, 1998

gents, notamment concernant les éléments contrôlant l'établissement d'un *sex ratio* propice à une transmission optimale par le moustique, *sex ratio* pouvant varier en fonction des niveaux de transmission de *P. falciparum* [36, 44].

Les facteurs sanguins pouvant contribuer à la réduction parasitaire observée dans l'estomac du moustique impliquent globules blancs et cytokines, anticorps, et vraisemblablement la concentration en métabolites sériques. La phagocytose des parasites par les globules blancs au sein de la lumière stomacale du moustique a été décrite et est dépendante des cytokines [32, 41]. Sa contribution en terme de réduction parasitaire est l'objet de conclusions divergentes [22]. Le rôle des anticorps dirigés contre des déterminants parasitaires dans la réduction parasitaire et le succès du développement sporogonique<sup>6</sup> du parasite font l'objet de nombreuses études. En particulier, la détermination de la prévalence de ces anticorps à effet bloquant dans les populations vivant en zone d'endémie palustre ("transmission blocking immunity") est une composante essentielle pour décrire l'épidémiologie d'une zone avant l'implémentation d'une stratégie vaccinale bloquant le développement du parasite chez l'hôte vecteur, donc bloquant la transmission [5]. Dans les conditions naturelles, les déterminants parasitaires concernés sont, de fait, en nombre relativement restreint. En effet, seuls les déterminants communs aux formes circulant chez l'Homme et aux formes se développant dans la lumière stomacale du moustique sont susceptibles d'induire la production d'anticorps spécifiques pouvant présenter un effet bloquant sur la poursuite du développement du parasite. Sont principalement concernées les molécules de surface Pfs 230 et Pfs 45/48 présentes chez les gamétocytes et les gamètes. En particulier, la molécule Pfs 45/48 joue un rôle déterminant pour la fertilité des

gamètes mâles [47]. La qualité du repas sanguin par sa richesse en métabolites intervient vraisemblablement dans l'efficacité de développement du parasite chez son hôte moustique.

Parmi les facteurs moustiques influençant le développement parasitaire, les premiers étudiés ont été les enzymes digestives. Dès 1979, YEATES et coll ont montré la sensibilité des stades ookinètes jeunes aux trypsines digestives [18]. Egalement, une augmentation de l'activité aminopeptidase semble être associée à l'acquisition d'un caractère réfractaire au développement de *P. falciparum* chez *An. stephensi*, hôte et vecteur asiatique [11]. Plus récemment, LUCKHART et coll [30] ont montré que la production de NO par le moustique réduisait l'efficacité du développement parasitaire. LANZ-MENDOZA et coll [27] ont également impliqué la production de superoxyde comme facteur limitant ce développement. La réduction parasitaire observée dans le tube digestif du moustique pourrait également résulter de l'action de molécules du système immunitaire du moustique. En effet, il a été montré que l'expression de gènes du système immunitaire du moustique peut être activée au cours du développement sporogonique de *Plasmodium* [10, 43].

A côté de cette vision d'un environnement hostile, le bol alimentaire du moustique et son système immunitaire peuvent également constituer une source de facteurs essentiels ou facilitant le développement du parasite. Comme tout parasite, *Plasmodium* exploite les ressources de son hôte. Ainsi l'acide xanthurénique<sup>7</sup>, produit par le moustique, faciliterait la maturation des gamètes mâles dans la lumière du tube digestif du moustique [3]. De même, la production de métabolites secondaires issus de l'action des enzymes digestives sur le sang ingéré contribue au développement de *P. falciparum* chez *An. gambiae* (C. LAVAZEC *et al.*, en prep.).

### **B. FRANCHISSEMENT DES BARRIERES : MATRICE PERITROPHIQUE ET EPITHELIUM INTESTINAL**

Ayant atteint le stade ookinète, *Plasmodium* doit franchir deux barrières physiques pour poursuivre son développement chez le moustique : la matrice péritrophique et l'épithélium intestinal. Une série de travaux émanant du groupe de Shahabuddin ont proposé que *Plasmodium*<sup>8</sup> accomplit la traversée de la matrice péritrophique grâce à la production d'une chitinase hydrolysant cette matrice composée essentiellement de chitine [39]. De plus, cette chitinase serait produite sous forme de pro-enzyme et serait activée sous l'action des trypsines du moustique. Cette observation fournit un bel exemple d'adaptation étroite entre le parasite et son hôte. Des travaux plus récents exploitant les outils de génétique réverse chez *P. berghei*<sup>9</sup> et *P. falciparum* suggèrent un rôle additionnel pour les chitinases parasitaires [8, 45].

Les premières observations en microscopie électronique illustrent l'adhésion des ookinètes aux microvilli des cellules épithéliales, la migration intracellulaire du parasite puis sa loca-

<sup>6</sup> Développement sporogonique : terme abusivement utilisé pour décrire les stades de développement se déroulant chez le moustique des gamétocytes aux sporozoïtes ; il décrivait initialement le développement des stades gamétocytes à oocystes ("spores").

<sup>7</sup> L'acide xanthurénique est un composant essentiel de la voie de synthèse des pigments chez le moustique.

<sup>8</sup> Il s'agit ici de *P. gallinaceum*, parasite des oiseaux, se développant expérimentalement chez *Aedes aegypti* alors que cette espèce est naturellement transmise par *Mansonia crassipes* [34], et vraisemblablement par des moustiques du genre *Culex*, les mieux inféodés aux oiseaux.

<sup>9</sup> *P. berghei* est un parasite infectant les rongeurs, dont le vecteur naturel est *Anopheles durenii*, vivant dans les forêts galerie du Katanga (VINCKE et LIPS, 1948).



lisation entre membrane épithéliale et membrane basale, sur la face externe du tube digestif du moustique [15-16]. A aucun moment, le parasite n'est inclus dans une vacuole parasitophore comme cela est le cas chez son hôte vertébré. Une analyse en microscopie confocale a confirmé ces observations dans le cas de *P. berghei*. [20]. Il existe cependant toujours un débat concernant la traversée des ookinètes de *P. falciparum* dont la migration à travers l'épithélium intestinal se ferait en position intercellulaire [31]. Les données actuelles proposent de découpler la traversée en - 1) une étape de glissement des ookinètes à la surface des microvilli jusqu'à la reconnaissance d'un récepteur - 2) une migration intracellulaire et un passage possible des ookinètes d'une cellule à sa voisine. Cette migration correspondrait à une réaction d'échappement de l'ookinète à une production locale de NO cytotoxique, produit par la cellule qui réagit à la présence de l'ookinète [20, 49] (Fig. 4).

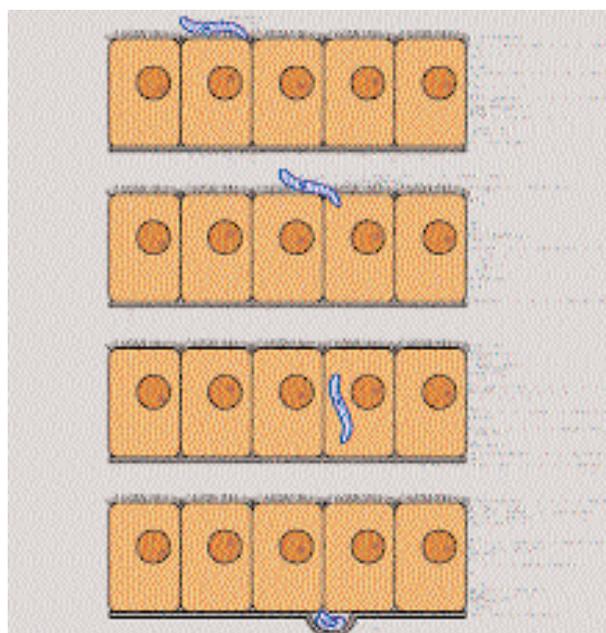


Figure 4 : Représentation schématique de la pénétration des ookinètes de *Plasmodium* à travers l'épithélium intestinal du moustique. Schéma Welcome trust " Malaria CD "

L'identification d'un récepteur spécifique des ookinètes à la surface des microvilli n'a pas encore abouti. Plusieurs stratégies ont été développées [26] parmi lesquelles il est à mentionner l'identification par " phage display " d'un peptide (SM1) se liant aux microvilli. La sécrétion de ce peptide dans la lumière du tube digestif d'une lignée transgénique d'*Anopheles stephensi* limite le développement de *P. berghei* [23]. Le(s) ligand(s) parasite(s) de ce peptide n'a pas été identifié.

### C. EFFET " FEEDBACK " DE L'HEMOLYMPHE SUR LA FORMATION DES OOCYSTES.

L'expression de la réponse immunitaire des insectes se déroule principalement dans l'hémolymphe impliquant deux acteurs principaux : les hémocytes et les cellules du corps gras,

équivalent fonctionnel du foie des mammifères [46]. Les cellules du corps gras produisent notamment les peptides antibactériens tels que la défensine. La présence de *Plasmodium* pouvant stimuler la réponse immunitaire de son hôte moustique, celle-ci a fait l'objet de nombreuses études au cours de la dernière décennie [28]. En particulier, des approches utilisant la technologie des puces à ADN ont conduit à l'identification de nombreux gènes d'*An. gambiae* dont l'expression est régulée au cours du développement de *P. berghei* [6, 9]. Le rôle de trois gènes, ainsi identifiés, sur le développement parasitaire vient d'être précisé grâce à la technologie d'inactivation génique par interférence ARN (RNAi) [35]. Un gène code pour une molécule de reconnaissance qui limite le nombre d'oocystes formés. De manière très intéressante, les produits des deux autres gènes favorisent le développement des ookinètes en oocystes. S'intéressant à la réponse immunitaire associée aux hémocytes circulant dans l'hémolymphe, Blandin et coll. [4] ont établi que la molécule TEP (Thio -Ester Protein, famille des  $\alpha$ -macroglobulines), sécrétée par des hémocytes, adhère aux oocystes et contribue à leur mort, limitant ainsi le nombre d'oocystes formés. Bien qu'il ait été proposé que l'épithélium intestinal soit doué d'une réponse immunitaire propre, il est toutefois remarquable de noter l'efficacité du système de surveillance du moustique par sa capacité à signaler aux hémocytes et au corps gras la présence de parasites, alors que ceux-ci n'ont pas encore atteint l'hémolymphe.

### III. SURVIE DANS L'HEMOLYMPHE ET INVASION DANS LES GLANDES SALIVAIRES : UN DEFI DE PLUS

A la rupture des oocystes, des milliers de sporozoïtes sont libérés dans l'hémolymphe et sont donc directement exposés aux lignages cellulaires du système immunitaire du moustique. Alors que TEP reconnaît les oocystes, cette molécule ne reconnaît pas les sporozoïtes [4], suggérant que *Plasmodium* utilise une stratégie d'échappement, stratégie à identifier. Sur un plan finaliste et de coût, il semble plus efficace pour le moustique de limiter le nombre d'oocystes formés, sachant qu'un oocyste libère entre 5.000 et 10.000 sporozoïtes.

La rencontre sporozoïtes/glandes salivaires ne semble pas être associée à un tropisme spécifique. Par l'utilisation d'une souche fluorescente de *P. berghei* [33], F. FRIESCHNECHT a observé des sporozoïtes en constant mouvement dans l'ensemble des parties du corps du moustique (notamment ailes et pattes) irriguées par un flux d'hémolymphe (communication personnelle).

L'entrée des sporozoïtes dans les glandes salivaires est vraisemblablement initiée par une reconnaissance de type ligand-récepteur impliquant possiblement la CSP (molécule de surface des sporozoïtes) [1, 40]. A cette étape, le parasite doit franchir successivement une lame basale et une membrane cellulaire. Inclus dans une vacuole parasitophore, le sporozoïte est ensuite relargué dans la lumière des acini qui, par coalescence, forme la région distale du canal salivaire. Très peu d'informations sont disponibles sur les molécules du moustique impliquées au cours de ce processus. La composition de la salive du moustique fait actuellement l'objet de nombreuses études afin



d'identifier des molécules impliquées dans l'interaction parasite/hôte et également dans l'acquisition du pouvoir infectieux des sporozoïtes. En effet, il a été établi qu'au cours de cette migration, les sporozoïtes acquièrent la propriété de s'établir chez l'hôte vertébré, les sporozoïtes circulant dans l'hémolymphe n'ayant pas cette propriété. De plus, la propriété infectieuse des sporozoïtes peut varier en fonction de la charge des glandes salivaires en parasites [38]. En terme de transmission, il faut garder à l'esprit qu'un seul oocyste produit un très grand nombre de sporozoïtes et que, lors de l'acte très complexe de l'hématophagie, le moustique porteur de sporozoïtes en délivre très peu, mais que ce faible nombre se traduit par l'établissement d'une infection chez l'hôte vertébré [2, 14]. La présence de sporozoïtes dans les glandes salivaires du moustique augmente de manière significative la fréquence à laquelle il "sonde" la peau dans sa recherche de sang. A chaque coup de "sonde" il peut inoculer des sporozoïtes. Cette modification du comportement du moustique porteur de sporozoïtes augmente les possibilités de transmission du parasite et pourrait refléter un mode de manipulation de l'hôte moustique par *Plasmodium* afin d'assurer une meilleure transmission [25].

#### IV. INTERACTIONS SPECIFIQUES *PLASMODIUM FALCIPARUM* / *ANOPHELES*

Toutes les espèces connues de *Plasmodium* infectant les mammifères sont transmises par des Anophèles. De ce fait, en matière d'Anophèles et *Plasmodium*, la notion d'interactions spécifiques peut être considérée à deux niveaux : spécifique et infra spécifique. L'interaction spécifique correspond aux diverses combinaisons possibles entre espèces d'Anophèles et espèces plasmodiales. L'interaction infra spécifique fixe une espèce et implique des variants d'espèces (souches) de l'autre espèce. Cette notion de spécificité d'interaction est particulièrement importante dès lors que l'on veut extrapoler les connaissances d'un système à l'autre et proposer des stratégies communes pour interrompre la transmission de *Plasmodium* en agissant sur l'anophèle hôte /vecteur.

La majorité des données cellulaires et moléculaires décrites précédemment a été obtenue par l'utilisation de systèmes modèles impliquant *P. berghei* et *An. gambiae* ou *An. stephensi*. Cependant, même si *An. gambiae* et *An. stephensi* constituent de bons hôtes pour le développement de *P. berghei* au laboratoire, ils ne le transmettent pas dans la nature<sup>10</sup>. Comme tout système modèle, cette combinaison parasite / hôte

expérimental a le bénéfice d'une manipulation aisée en laboratoire<sup>11</sup>. Néanmoins, au moins quatre séries de données suggèrent qu'il existe des différences entre ce système modèle et le système *P. falciparum* et son/ses vecteur(s) naturel(s) : 1) la migration des ookinètes de *P. falciparum* à travers l'épithélium intestinal semble suivre un trajet intercellulaire et non intracellulaire comme les ookinètes de *P. berghei* [31] ; 2) FELDMANN et PONNUDURAI [12] ont sélectionné une lignée d'*An. stephensi* réfractaire au développement de *P. falciparum*, non réfractaire au développement de *P. berghei* ; 3) nous avons montré que les voies de la réponse immunitaire d'*An. gambiae* ne sont pas activées de la même manière lorsque celui-ci a ingéré *P. falciparum* ou *P. berghei* [43] ; 4) la souche transgénique d'*An. stephensi*, exprimant le peptide SM1 [23] qui bloque le développement de *P. berghei* ne bloque pas celui de *P. falciparum* (Jacobs-Lorena, communication orale "Mosquito Embo Workshop, 2003").

Si l'on considère les relations au niveau infra-spécifique, il est connu depuis longtemps qu'*An. atroparvus* qui constituait un bon vecteur des souches européennes de *P. falciparum* est totalement réfractaire aux souches de ce même parasite originaires de Malaisie ou d'Afrique. A l'inverse, les échantillons d'*An. gambiae* capturés lors de son importation accidentelle au Brésil en 1930<sup>12</sup> et ayant vraisemblablement ingéré des gamétocytes des souches américaines de *P. falciparum* présentaient un nombre d'oocystes pouvant atteindre 300 (in [24]) alors que ce nombre dépasse rarement 10 en Afrique. Une observation fort intéressante concerne le comportement d'une lignée sélectionnée d'*An. gambiae* vis-à-vis du développement de nombreuses espèces de *Plasmodium*. Cette lignée a été sélectionnée pour sa capacité à encapsuler et mélaniser<sup>13</sup> les oocystes de *P. cynomolgi*, parasite d'un primate simien [7]. Cette lignée encapsule également *P. berghei* et *P. falciparum*. Mais dans le cas de *P. falciparum*, elle n'encapsule que les souches américaines et non les souches africaines du parasite. Ces données montrent l'existence d'une étroite adaptation entre souches de *P. falciparum* et son/ses vecteurs.

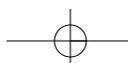
Intégrant les limitations possibles des systèmes modèles pour étudier les interactions *Plasmodium/Anopheles*, les développements actuels s'orientent vers le criblage de puces à ADN avec des ARNs isolés de moustiques hôtes naturellement infectés par *P. falciparum*. Cependant, ces approches n'apportent que des informations sur la régulation de l'expression de gènes du moustique. Face à la difficulté actuelle de réaliser en routine des "infections" d'*Anopheles* par *P. falciparum* seul un nombre restreint de gènes pourront faire l'objet d'une analyse fonctionnelle susceptible de caractériser des gènes impliqués

<sup>10</sup> *P. berghei* est un parasite hébergé par des rongeurs de forêt africains et est transmis par *Anopheles durenii* dans des conditions climatiques incompatibles avec la présence d'*An. gambiae*, moustique essentiellement anthropophile. *An. stephensi* est un moustique du sous-continent asiatique.

<sup>11</sup> Alors que les infections d'Anophèles par *P. berghei* peuvent être réalisées aisément de manière quotidienne, les infections d'Anophèles par *P. falciparum* requièrent une infrastructure appropriée pour la production *in vitro* des stades gamétocytes infectants, production basée sur un savoir faire que seul un nombre restreint d'équipes maîtrise. L'alternative est de réaliser des infections expérimentales sur le terrain par gorgement artificiel des Anophèles sur le sang de porteurs de gamétocytes vivant en zone d'endémie. En zones de transmission saisonnière du paludisme, de telles infections expérimentales ne sont réalisables que quelques mois par an.

<sup>12</sup> *An. gambiae* été introduit au Brésil accidentellement dans les années 1930 où, trouvant des conditions écologiques favorables à son développement, il a commencé à s'implanter et a été responsable d'une grave épidémie de paludisme en 1938-1939. Sans l'intervention musclée de Fred SOPER [24, 42] qui permit l'éradication de ce moustique du continent américain dès 1940, la présence d'*An. gambiae* sur ce continent aurait probablement conduit à une situation d'endémie palustre beaucoup plus grave que celle existant. En effet, *An. gambiae* est l'un des meilleurs vecteurs, voire le meilleur, de *P. falciparum* et des études de modélisation suggèrent que sans contrôle il aurait colonisé de nombreuses régions en Amérique latine et centrale de même que dans les Caraïbes [29].

<sup>13</sup> La mélanisation est un processus commun chez les invertébrés : elle se traduit par la biogénèse d'une "structure biologique" riche en mélanine qui entoure le substrat inerte modèle (p.e bille de latex) ou le microorganisme qui en a induit l'initiation.





dans l'interaction *P. falciparum* / Anophèles. D'autre part, compte tenu de l'existence d'interactions spécifiques et infra spécifiques entre *P. falciparum* et ses vecteurs, il sera nécessaire d'évaluer dans chaque système la validité des conclusions élaborées par l'utilisation d'un système particulier.

## CONCLUSION

Les interactions *P. falciparum*/ *Anopheles* sont remarquables par leur complexité. Cette complexité réside à la fois dans le déroulement du développement du parasite chez son hôte moustique mais également dans la spécificité de ces inter-

actions. L'ère génomique et post génomique va sans aucun doute se concrétiser par une extension et un approfondissement de notre appréhension des processus biologiques qui caractérisent les interactions parasites / hôtes. Le grand défi sera d'identifier les mécanismes propres à chaque système naturel parasite – hôte pour proposer des solutions adéquates de contrôle de la transmission de *Plasmodium* et de contrôle du paludisme.

## MOTS-CLES

*Anopheles*, *Plasmodium*, transmission du paludisme, interactions spécifiques

## REFERENCES<sup>13</sup>

1. BARREAU C *et al.* *Insect Biochem Mol Biol*, 1999. **29**(6): p. 515-526.
2. BEIER JC *et al.* *Med Vet Entomol*, 1991. **5**(1): p. 71-79.
3. BILLKER O *et al.* *Nature*, 1998. **392**(6673): p. 289-292.
4. BLANDIN S *et al.* *Cell*, 2004. **116**(5): p. 661-670.
5. BOUDIN C & ROBERT V. *Bull Soc Pathol Exot*, 2003. **96**(4): p. 335-340.
6. CHRISTOPHIDES GK *et al.* *Science*, 2002. **298**(5591): p. 159-165.
7. COLLINS FH *et al.* *Science*, 1986. **234**: p. 607-610.
8. DESSENS JT *et al.* *Infect Immun*, 2001. **69**(6): p. 4041-4047.
9. DIMOPOULOS G *et al.* *PNAS*, 2002. **99**(13): p. 8814-8819.
10. DIMOPOULOS G *et al.* *EMBO Journal*, 1998. **17**(21): p. 6115-6123.
11. FELDMANN AM, BILLINGSLEY PF & SVELKOUL A. *Parasitology*, 1990. **101**: p. 193-200.
12. FELDMANN AM & PONNUDURAI T. *Med Vet Entomol*, 1989. **3**, p. 41-52.
13. FONTENILLE D *et al.* *Méd Trop (Mars)*, 2003. **63**(3): p. 247-253.
14. FRISCHKNECHT F *et al.* *Cell Microbiol*, 2004. **6**(7): p. 687-694.
15. GARNHAM PCC *et al.* *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 1969. **63**(2): p. 187-194.
16. GARNHAM PCC, BAKER JR. & BIRD RG. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 1962. **56**: p. 116-120.
17. GARNHAM PCC *et al.* *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 1969. **63**(3): p. 328-332.
18. GASS RF & YEATES RA. *Acta Tropica*, 1979. **36**: p. 243-252.
19. GOUAGNA LC *et al.* *Tropical Medicine & International Health*, 1998. **3**(1): p. 21-28.
20. HAN YS *et al.* [In Process Citation]. *Embo J*, 2000. **19**(22): p. 6030-6040.
21. HANSEN IA *et al.* *PNAS*, 2004: p. 0403460101.
22. HEALER JA GRASZYNSKI A & RILEY E [In Process Citation]. *Infect Immun*, 1999. **67**(5): p. 2334-2339.
23. ITO J *et al.* *Nature*, 2002. **417**(6887): p. 452-455.
24. KILLEEN GF *et al.* *Lancet Infect Dis*, 2002. **2**(10): p. 618-627.
25. KOELLA JC, SORESENSEN FL & ANDERSON RA. *Proceedings of the Royal Society of London - Series B: Biological Sciences*, 1998. **265**(1398): p. 763-768.
26. LAL AA *et al.* *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2001. **98**(9): p. 5228-33.
27. LANZ-MENDOZA H *et al.* *J Parasitol*, 2002. **88**(4): p. 702-706.
28. LEVASHINA EA. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2004. **34**(7): p. 673-678.
29. LEVINE RS, PETERSON AT & BENEDICT MQ. *Am J Trop Med Hyg*, 2004. **70**(2): p. 105-109.
30. LUCKHART S *et al.* *Proceedings of the National Academy of Sciences, U.S.A.*, 1998. **95**(10): p. 5700-5705.
31. MEIS JF *et al.* *Parasitology Research*, 1989. **76**(1): p. 13-19.
32. NAOTUNNE TS *et al.* *Immunology*, 1993. **78**(4): p. 555-562.
33. NATARAJAN R *et al.* *Cell Microbiol*, 2001. **3**(6): p. 371-379.
34. NILES WJ, FERNANDO MA, & DISSANAIKE AS. *Nature*, 1965. **205**: p. 411-412.
35. OSTA MA, CHRISTOPHIDES GK & KAFATOS FC. *Science*, 2004. **303**(5666): p. 2030-2032.
36. PAUL REL, BREY PT & ROBERT V. *Trends in Parasitology*, 2002. **18**(1): p. 32-38.
37. PAUL REL *et al.* *Science*, 1995. **269** (5231): p. 1709-1711.
38. PUMPUNI CB, MENDIS C & BEIER JC. *J Parasitol*, 1997. **83**(4): p. 652-655.
39. SHAHABUDDIN M & KASLOW DC. *Experimental Parasitology*, 1994. **79**(1): p. 85-88.
40. SIDJANSKI SP, VANDERBERG JP & SINNIS P. *Molecular & Biochemical Parasitology*, 1997. **90**(1): p. 33-41.
41. SINDEN RE *et al.* In: *Malaria parasites: Genomes and Molecular Biology*, A.P.A.J. Waters, C.J., Editor. 2004, Caister Academic Press: Wymondham, UK. p. 475-500.
42. SOPER FL, WD. In: *Anopheles gambiae in Brazil, 1930 to 1940*. Rockefeller Foundation, 1943: New York.
43. TAHAR R *et al.* *Embo J*, 2002. **21**(24): p. 6673-6680.
44. TALMAN A, *et al.* *Malaria Journal*, 2004. **3**(1): p. 24.
45. TSAI Y-L *et al.* *Infect Immun*, 2001. **69**(6): p. 4048-4054.
46. TZOU P, DE GREGORIO E & LEMAITRE B. *Current Opinion in Microbiology*, 2002. **5**(1): p. 102-110.
47. VAN DIJK, MR *et al.* *Cell*, 2001. **104**(1): p. 153-164.
48. VAUGHAN JA, NODEN BH & BEIER JC. *Journal of Parasitology*, 1992. **78**(4): p. 716-724.
49. VLACHOU D *et al.* *Cell Microbiol*, 2004. **6**(7): p. 671-685.
50. WONDJI C, SIMARD F & FONTENILLE D. *Insect Mol Biol*, 2002. **11**(1): p. 11-19.

<sup>13</sup> La bibliographie complète (titre de l'article et noms de tous les auteurs) est disponible sur demande au secrétariat de l'AAEIP.



## PARASITISME

### La pérennité de parasites eucaryotes qui détournent, comme hôtes naturels, des rongeurs, des êtres humains, des insectes hématophages : est-il possible de reconsidérer l'exploration des interactions dont rend compte le terme parasitisme ?

Geneviève MILON<sup>1</sup>, Peter DAVID<sup>2</sup>, Pierre BUFFET<sup>3</sup>,  
Institut Pasteur

#### I. PREAMBULE

A la fin du XIXe et au début du XXe siècle, période pendant laquelle les organismes parasites ont été identifiés chez des êtres humains et des animaux domestiques, nos Maîtres n'inscrivaient pas les objets de leurs investigations dans le cadre des champs disciplinaires actuels<sup>4</sup>. Comme les biomolécules et les cellules eucaryotes étaient encore difficilement isolables en tant qu'objets de recherche, les investigations se situaient essentiellement (a) au niveau de l'entité "organisme" et (b) au niveau des "populations d'organismes". Que les organismes vivants soient unicellulaires - procaryotes, eucaryotes - ou multicellulaires, les investigations pour caractériser leurs traits de vie à l'homéostasie s'inscrivaient dans les champs disciplinaires suivants : anatomie, biochimie alimentée par la chimie organique, embryologie, physiologie, reproduction, transmission héréditaire des caractères, reproduction/génétique [26,31].

Du cadre conceptuel et méthodologique fondateur introduit et déployé par R. KOCH, L. Pasteur et leurs collaborateurs, a émergé le mot "pathogène" pour qualifier des germes/microorganismes reconnus comme agents causaux de maladies infectieuses. Selon les postulats de causalité de Henle-Koch, l'adjectif pathogène qualifie le microorganisme, en général cultivable, qui était isolé du sujet malade (voire du cadavre), microorganisme qui, une fois inoculé à l'animal de laboratoire, reproduit la majorité des signes observés chez ce sujet – depuis les symptômes cliniques jusqu'aux anomalies constatées à l'examen anatomopathologique, puis histologique de coupes de tissus fixés, enrobés et colorés. L'identification des parasites eucaryotes a donc d'abord été inscrite dans le contexte de l'étude de maladies locales ou systémiques plus ou moins graves dont ils ont été reconnus comme les agents étiologiques. Initialement et pendant longtemps, l'étude des propriétés de ces parasites a été celle d'entités de recherche médicale humaine et agro-vétérinaire. Or, il n'est plus "raisonnable" de restreindre l'étude des parasites à celle des maladies parasitaires dont ils peuvent induire le développement, ni de percevoir ces maladies

comme la traduction de propriétés pathogènes directes des parasites. L'une des illustrations de ce cadre trop restreint d'observation est visible dans l'expression "Malaria genome" encore trop souvent utilisée dans nombre de publications ou d'appels à financement de projets ! Nous espérons que cet exemple, extrême, permettra d'appréhender qu'il n'est plus justifié de référer au parasite par les termes " pathogène, agresseur ". En effet, les parasites sont des organismes que nous devrions d'abord identifier avec leurs noms de genre et d'espèce et dont nous devrions tenter de décrypter tous les traits de vie et non pas seulement ceux qui se traduisent par des symptômes cliniquement détectables chez les êtres humains ou les animaux que les êtres humains ont domestiqués, *i.e.* par les processus pathogènes qui ont initialement attiré l'attention des remarquables investigateurs qu'étaient nos prédécesseurs (LAVERAN, NICOLLE, etc.). En d'autres termes, nous souhaitons que le parasite soit considéré comme un organisme vivant : en tant que tel et pas seulement sous l'angle des éventuels processus morbides cliniquement détectables qui conduisent à le détecter, à le soumettre aux activités de molécules parasitocides ou à des interventions immuno-prophylactiques, ou autres, aussi importantes que soient ces considérations d'ordre biomédical.

Avec l'expression "traits de vie" des parasites - que ceux-ci soient procaryotes ou eucaryotes - nous souhaitons référer à l'ensemble des programmes de développement qu'expriment les organismes parasites, chez les autres organismes vivants dont dépend leur pérennité, organismes que nous avons pris l'habitude de nommer "hôtes". Du déroulement spatio-temporel de ces programmes de développement des parasites, témoigne l'existence de différents processus qui ont lieu le plus souvent dans des tissus différents et distants du tissu de délivrance/d'entrée, voire au sein de cellules de différents lignages de leurs hôtes, pour de nombreux parasites protozoaires (par exemple les leishmanies du genre *Leishmania* spp.<sup>5</sup> au sein de macrophages qu'elles contribuent à remodeler pour les détourner comme cellules hôtes où se multiplier, ou, autre exemple, *Plasmodium falciparum* au sein des hépatocytes, puis des glo-

<sup>1</sup> Correspondance : Unité d'Immunophysiologie et Parasitisme intracellulaire, Institut Pasteur, 25 rue du Dr. Roux, 75724 Paris Cedex 15 (France). Tél. 33.1.45.68.86.67 / Fax 33.1.40.61.33.32 / e-mail : gmilon@pasteur.fr

<sup>2</sup> URA CNRS 2581, Paris, Unité d'Immunologie moléculaire des Parasites, Institut Pasteur,

<sup>3</sup> Unité d'Immunologie moléculaire des Parasites et Pôle de Recherche biomédicale, Institut Pasteur

<sup>4</sup> Ces champs sont arbitrairement fragmentés en fonction des deux niveaux auxquels sont actuellement explorées les propriétés des organismes vivants. Les travaux de recherche récents se sont inscrits, en effet, pour l'essentiel aux deux niveaux d'exploration suivants : (i) le niveau des biomolécules que sont les acides nucléiques, les protéines, des polymères ; (ii) le niveau des cellules/de leurs compartiments subcellulaires. Rendent compte de ces analyses les expressions " biologie moléculaire, génomique, génomique fonctionnelle, biologie cellulaire, microbiologie cellulaire ".

<sup>5</sup> spp "espèces (pluriel)" cf. FRENEY J, RENAUD, Manuel de Bactériologie clinique, vol. I, 1994, Elsevier 2e édition, p. 47



bules rouges humains...). Au fil des années, nous avons été amené(e)s à inscrire nos interrogations dans ce cadre élargi d'investigations, en privilégiant des analyses *in vivo et/ou ex vivo*, à l'échelle des tissus, ce chez tous les hôtes dont ils dépendent, insectes compris quand les parasites détournent ceux-ci comme "hôtes et vecteurs". Pour tenter de renouveler nos méthodes d'exploration, nous avons d'abord considéré qu'il importait d'établir l'état des connaissances sur les cycles des parasites eucaryotes, dans leurs écosystèmes naturels. Ce fut un exercice fascinant car il a révélé l'ampleur de notre ignorance, ce qui s'est traduit par la transformation, certes encore très partielle, de cette ignorance en hypothèses, expérimentations, analyse, interprétations, abandon des hypothèses non validées, reformulation d'autres hypothèses... Nous considérons que les "hôtes" sont des organismes vivants chez lesquels d'autres organismes vivants que sont les parasites détectent, remodelent des niches tissulaires, cellulaires [2] ; dans ces niches, ils pourront s'établir, se développer et, à partir de là, être transmis à d'autres hôtes. Dans ce contexte, les parasites sont des sources de signaux que perçoivent et traitent non seulement les cellules, les tissus en tant qu'entités fonctionnelles, mais aussi les "grands" systèmes de l'hôte comme le système endocrinien, le système immunitaire. Ils deviennent des "sondes vivantes" qui révèlent la plasticité des "grands systèmes", des tissus, des lignages cellulaires des organismes vivants qu'ils détournent comme hôtes. En caractérisant la plasticité des systèmes, des tissus et/ou des lignages cellulaires, dans ce contexte de l'étude du parasitisme, il est plus que probable que soit perceptible et analysable le redémarrage, au moins partiel, de programme(s) génétique(s) actif(s) pendant les étapes de développement des tissus et/ou lors de la détermination des lignages cellulaires. L'étude de ces processus pourrait être désignée par l'expression "microbiologie tissulaire". Cette étude reposera bien sûr sur les données de séquences des génomes des différents partenaires de ces associations microorganismes/hôtes [9,10,24,28].

## II EXPLORATION DU PARASITISME : QUELLE PLACE, LORS DE CETTE EXPLORATION ÉLARGIE DU PARASITISME, POUR DES SOURIS DE LABORATOIRE, DES PRIMATES SIMIENS, VOIRE POUR DES ORGANES HUMAINS ISOLÉS/ PERFUSÉS ?

### A. LES ANIMAUX DE LABORATOIRE PEUVENT-ILS ÊTRE DÉTOURNÉS PAR DES PARASITES COMME DES " HÔTES " : LIMITATIONS ET AVANTAGES DE CETTE EXPLORATION EXPÉRIMENTALE [22] ?

Deux exemples seront brièvement déployés comme éléments de réponse à cette question essentielle. Ces exemples concernent *Leishmania major* et *Toxoplasma gondii*.

● Dans leurs écosystèmes naturels, la pérennité des populations de *Leishmania major* dépend essentiellement de deux populations hôtes : des rongeurs non domestiques et des insectes femelles hématophages/telmophages<sup>5</sup>, les phlébotomes [6,11,13,25,29,34-37,40,42,43]. La pérennité des phlébotomes dépend de l'hématophagie, un processus complexe que seuls les phlébotomes femelles déploient. L'hématophagie des phlébotomes (a) débute avec la recherche de l'hôte, en général un mammifère, source de sang, (b) elle se continue avec le sondage de la zone cutanée où la femelle phlébotome, un insecte de très petite taille, cisaille les microvaisseaux du derme superficiel, (c) se termine par l'ingestion de sang non coagulé à partir d'un micro-site dermique superficiel hémorragique. Les sources de sang des phlébotomes hôtes et vecteurs de *L. major* sont les rongeurs avec lesquels se sont établies des conditions de co-habitation également favorables aux stades pré-imaginaux de ces insectes. Si les écosystèmes étudiés sont stables et durables, il est rare que, chez les rongeurs, le développement des leishmanies, se traduise par des lésions cutanées ou par la présence de cicatrices cutanées qui pourraient témoigner de lésions qui ont spontanément guéri. Par contre, des leishmanies sont détectables dans les zones cutanées saines/intactes le plus souvent glabres - par exemple les oreilles, la queue, des zones où les phlébotomes peuvent aisément sonder/prendre leurs repas sanguins. Une fois ces traits de vie "naturels" pris en compte, des modèles expérimentaux ont pu être mis au point [4-8]. Deux paramètres ont été fixés : (a) le choix des souris de laboratoire du genre *Mus* comme rongeurs "hôtes", (b) l'inoculation, dans le derme de leur oreille, d'un petit nombre de parasites qui ont atteint le stade de promastigotes métacycliques : en effet, seul ce stade de développement détecté à la base du pharynx ou dans le proboscis/cibarium de l'insecte hôte/vecteur s'établit chez le mammifère auquel il est inoculé. Ce modèle a permis d'établir de nombreuses données originales. Dans le contexte de cette contribution, nous dégagerons les suivantes. Chez les souris C57BL/6, celles dont le génome a été séquencé, l'inoculation intradermique, au niveau de l'oreille, de 100 promastigotes métacycliques de *L. major* se traduit par plusieurs processus successifs générés *in vitro* :

- (i) A d'abord été notée une augmentation importante de l'effectif de la descendance des parasites qui se sont différenciés en amastigotes au sein des macrophages du derme, ce sans le moindre signe cliniquement détectable au niveau de l'oreille.
- (ii) Puis a été documentée, à partir de la cinquième/sixième semaine post-inoculation de ce faible inoculum de parasites, la réduction de la population d'amastigotes ; à cette réduction de la charge parasitaire est couplé le développement d'une lésion transitoire initiée par le recrutement de lymphocytes T CD4 et CD8 qui confèrent aux macrophages des propriétés microbicides/statiques.
- (iii) Y succèdent des processus de guérison spontanée de la lésion auxquels sont couplées la mise en place et la consolidation relative d'un équilibre favorable à la persistance de parasites et à l'expression de la prémunition.

Par prémunition, un terme introduit par SERGENT et PARROT [38], nous référons au fait suivant : chez de telles souris guéries et chez lesquelles persistent des parasites, aucune

<sup>5</sup> Telmophage : " arthropode hématophage qui coupe à travers la peau les vaisseaux sanguins causant une petite hémorragie pour se nourrir du sang "



lésion ne se développe au site distant où est délivré un second inoculum de promastigotes métacycliques. Il a été récemment établi que cet équilibre, par ailleurs très fragile, révèle la présence, dans le derme, de lymphocytes T régulateurs qualifiés de naturels, caractérisables, entre autres, par la présence simultanée des molécules suivantes CD4, CD25, CTLA-4, Foxp3... [5,33] Précisons brièvement que ces lymphocytes CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> ont été initialement détectés par leurs propriétés à prévenir (a) la prolifération et (b) l'expression des fonctions tissus – destructrices de lymphocytes T auto-réactifs. En outre, depuis ces premiers travaux, il a été possible d'établir que, au moins chez la souris, les lymphocytes CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> sont présents dans les espaces sub-épithéliaux de tissus périphériques comme le derme sous-épidermique. Cette cascade d'événements permet de souligner la multiplicité des lignages cellulaires que détournent les promastigotes métacycliques et leur descendance. Outre les cellules phagocytaires qu'ils remodelent comme cellules où ils peuvent se différencier et se multiplier, ou qu'ils détournent comme cellules navettes assurant leur dissémination, des lymphocytes T régulateurs naturels sont donc impliqués dans le processus de persistance d'une population stable et limitée d'amastigotes. Parmi les nombreux mutants co-isogéniques de *Leishmania* spp. qui ont été créés, certains ont été et seront précieux pour caractériser certaines étapes de ces processus [1,2,10,21,40]. Nous ne prétendons pas que ce modèle et ces variantes permettent de révéler toute la diversité qui est déployée dans les écosystèmes naturels, mais au moins permettent-ils maintenant d'explorer plusieurs questions :

- (i) Quels sont les processus qui déterminent une partie très réduite de la descendance de *L.major* à persister dans le derme, voire dans d'autres tissus distants non cutanés (ganglions drainant, moelle osseuse...)?
- (ii) Les parasites amastigotes - qui persistent - sont-ils au sein de cellules autres que des macrophages (par exemple, au sein des leucocytes dendritiques, des fibroblastes issus de fibrocytes...)?
- (iii) Les parasites amastigotes qui persistent ont-ils atteint un stade de différenciation unique qui leur confère la propriété d'être transmissibles aux phlébotomes? La disponibilité de colonies de phlébotomes établies dans des insectarium (voir § III) rend possible la transformation de ces questions en expérimentations.

L'un des co-auteurs de cette contribution, Pierre BUFFET, thérapeute entre autre des leishmanioses, pose la question de la pertinence de la souris comme "hôte expérimental" pour améliorer le traitement, la prévention des leishmanioses cutanées humaines dont l'agent étiologique est l'espèce *L. major*. Quand nous référons à l'échelle de l'individu souffrant d'une lésion, les arguments favorables déployés sont les suivants :

- (i) Une meilleure connaissance des processus de réparation tissulaire (derme et épiderme), tels qu'ils se déroulent chez la souris, pourrait être précieuse pour une thérapie des lésions cutanées et une clairance complète des parasites : pourraient être en effet couplées des molécules actives sur tous les stades de développement des parasites (parasites se multipliant, parasites qui persistent) et des molécules qui contribuent à remodeler la peau où s'est développée la lésion. Quand nous faisons référence à l'échelle de la santé publique et de la prévention des

leishmanioses humaines, est-ce que les données obtenues dans les laboratoires de recherche dans le contexte de l'exploration des traits de vie de *L. major* sont aussi précieuses? Nous pensons que la réponse est positive, même si la nature des arguments est différente.

- (ii) Au sein de ces écosystèmes naturels stables, la pérennité des populations de *L. major* n'est pas couplée à l'existence de processus pathogènes cutanés. Cette observation témoigne des traits de vie des trois partenaires de ces écosystèmes qui ont pu être mimés partiellement dans les laboratoires où sont disponibles, non seulement des souris, mais aussi des colonies de *Phlebotomus papatasi*, l'un des " hôtes/vecteurs " naturels de *Leishmania major*. Nous les décrirons brièvement dans le § III de cette brève contribution.

● En ce qui concerne *Toxoplasma gondii*, la situation est encore plus scientifiquement favorable, car les souris sauvages du genre *Mus* sont détournées comme des hôtes naturels de ce parasite [14,18,19,30,39]. Dans les conditions naturelles, outre les oocystes - expulsés par les chats - les souris (bien qu'elles ne soient pas carnivores) peuvent ingérer des kystes présents, entre autres, dans le cerveau des cadavres de leurs congénères (cannibalisme). Aussi, a-t-il été possible dans les conditions de laboratoire de mettre au point un modèle qui consiste à délivrer, dans la lumière de l'estomac des souris, des kystes de *T.gondii*, puis de rendre compte de la dissémination des tachyzoïtes depuis la lumière de l'intestin grêle jusqu'au parenchyme cérébral, un environnement tissulaire où sont détournés des signaux constitutifs, voire où sont induits des signaux qui se traduisent par la biogenèse des kystes où persistent des bradyzoïtes. Brièvement, après une phase de courte durée pendant laquelle les parasites sont essentiellement détectables au niveau de l'intestin grêle et au terme de laquelle l'effectif de leur population a augmenté, les parasites sont détectables transitoirement dans les ganglions mésentériques, puis dans le sang. Dans ce compartiment sanguin, les leucocytes qui transportent les parasites sont des leucocytes CD11b<sup>+</sup> qui ont été identifiés comme des monocytes CD11c<sup>-</sup> et des leucocytes dendritiques CD11c<sup>+</sup>. Il a été possible d'établir que ces leucocytes sanguins, détournés comme cellules navettes par les parasites; atteignent le parenchyme cérébral de souris receveuses à l'homéostasie. Cette étude doit être approfondie par la caractérisation de nombreux autres paramètres [3,17] : par exemple, outre les récepteurs de chimiokines, les molécules d'adhésion dont l'expression pourrait avoir été induite par le tachyzoïte " qu'abritent " ces leucocytes. Il importera aussi d'approfondir une donnée qui a été obtenue lors d'autres études antérieures (G. Milon et I. Tardieux observation non publiée) : *T. gondii* est détectable dans la moelle osseuse des souris ; il sera important d'identifier quels sont les lignages qui abritent les zoïtes dans ce tissu et leur stade de développement. Il est plus que probable que les parasites nous obligent à reconsidérer les fonctions qu'assure la moelle osseuse et la référence aux polynucléaires neutrophiles permet d'en illustrer un aspect. A l'homéostasie, les polynucléaires neutrophiles sont libérés essentiellement dans le sang, un compartiment où leur circulation transitoire accentue leur phénotype sénescence et l'apoptose naturelle. Il était considéré qu'essen-



tiellement les macrophages du foie et de la pulpe rouge de la rate assuraient leur clairance ; or, très récemment, des études réalisées chez la souris, ont établi que des neutrophiles sénescents peuvent atteindre la moelle osseuse. Si les macrophages du stroma médullaire les phagocytent, ceci pourrait encore accentuer le seuil contre-inflammatoire déjà élevé de ces macrophages que nous savons par ailleurs identifier grâce à la présence de la sialoadhésine. Au contact de ces macrophages, se développent le lignage des neutrophiles et très probablement celui des leucocytes dendritiques (dont les leucocytes plasmacytoïdes), leucocytes que des tachyzoïtes pourraient aussi détourner comme cellules navettes entre la moelle osseuse et les tissus périphériques où sont régulièrement renouvelées les cellules de ce lignage. L'étude des interactions *Toxoplasma gondii*/souris de laboratoire bénéficie :

- (i) des nombreux réactifs disponibles pour les leucocytes mobiles que sont les leucocytes dendritiques [12], les monocytes  
- (ii) et de nombreuses méthodes génétiques ou non pour suivre ces cellules (cytométrie de flux, tri).

Pour ce deuxième exemple, la pertinence du choix de la souris de laboratoire n'a pas à être argumentée au même niveau puisque les souris sauvages du genre *Mus* sont des hôtes naturellement détournés comme hôtes par *Toxoplasma gondii* : toutefois, nous ne devons pas négliger que les isolats de parasites que nous utilisons sont essentiellement maintenus dans des souris de laboratoire.

Comme il est désormais aisé de manipuler le génome de la souris de laboratoire, de nombreuses approches expérimentales complémentaires sont envisageables. En outre, de nouvelles méthodes d'imagerie *in vivo* en temps réel peuvent être relativement aisément mises en œuvre avec les souris de laboratoire. Depuis l'isolement des différents gènes codant la luciférase et des phosphoprotéines de divers organismes marins (Green Fluorescent Protein) ou leurs mutants, ces gènes peuvent être utilisés comme marqueurs de parasites ; une fois que la luciférase a atteint le site enzymatique de la luciférase, leur détection repose sur la disponibilité de caméra intensifiée refroidie, à - 70° (Camera CCD). Ces protéines permettent d'analyser les parasites *in situ*, dans les tissus, à des périodes clés de leur développement : au moment de leur établissement initial, voire quand ils remodelent des tissus où vont persister les stades de développement qui sous-tendent leur transmissibilité d'hôte à hôte.

**B. LA RATE HUMAINE ISOLÉE PERFUSÉE  
DANS LE CONTEXTE D'EXPLORATIONS IN VIVO  
DE PROPRIÉTÉS DE GLOBULES ROUGES HUMAINS  
NATURELLEMENT DÉTOURNÉS PAR PLASMODIUM  
FALCIPARUM : UN MODÈLE EN AVAL D'EXPLORATIONS  
RÉALISÉES CHEZ DES PRIMATES SIMIENS AVEC  
P. KNOWLESI, P. FALCIPARUM OU P. FRAGILE.**

*Plasmodium falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae* sont les 4 espèces dont la pérennité dépend strictement des anophèles hématophages et des êtres humains. Chez les êtres

humains, les parasites détournent, outre les hépatocytes, les globules rouges comme cellules hôtes. C'est dans les hépatocytes, puis dans les cellules énucléées plus ou moins matures du lignage érythrocytaire que se déploie une importante amplification de parasites asexués. C'est aussi dans les globules rouges qu'a lieu la détermination des mérozoïtes sexués, puis la différenciation de gamétocytes mâles et femelles, les seuls stades de développement qui permettront aux parasites de s'établir chez les anophèles<sup>6</sup> [11].

Seules, les phases d'amplification qui se déroulent dans les globules rouges présents dans le sang, se traduisent par des processus pathogènes qui, chez certains patients, peuvent être très graves, voire mortels en l'absence d'un traitement ciblé sur les parasites et d'une thérapie qui contribue à la réparation des désordres systémiques. Dans ce paragraphe, nous allons nous référer à cette phase intra-érythrocytaire, car son appréhension, *in vivo*, exige encore de nombreuses explorations surtout pour *P. falciparum*. Il a été possible, grâce à des études *in vitro*, de dégager quelques éléments du dialogue complexe qui s'établit entre le parasite *Plasmodium falciparum* et le globule rouge humain : ainsi a-t-il été établi qu'après l'invasion des globules rouges par les mérozoïtes de *P. falciparum*, sont identifiables des anneaux, des trophozoïtes et des schizontes [15]. A partir d'un mérozoïte, une descendance de 8 à 32 mérozoïtes peut être ainsi générée. Mais, *in vivo*, comment rendre compte du fait qu'essentiellement des gamétocytes matures ou les premiers stades (anneaux) de développement de *P. falciparum* soient visibles sur des frottis de sang prélevé chez des sujets parasités ? L'une des explications classiquement avancée fait référence aux fonctions physiologiques de filtre que la rate exerce vis-à-vis des globules rouges sénescents, ou aux propriétés de déformabilité anormale : pour " éviter ce filtre splénique ", les globules rouges hébergeant des trophozoïtes et des schizontes se lient à des cellules endothéliales des veinules post-capillaires dans des tissus autres que la rate. Nous avons considéré qu'avec cette explication - certes séduisante - n'avaient été que trop peu considérées d'autres données [16,20,23]: (i) des résultats obtenus dans le cadre d'explorations réalisées soit chez des singes écureuils - *Saimiri sciureus* - splénectomisés (S-) ou non (S+), détournés comme hôtes expérimentaux de *P. falciparum*, soit chez des singes rhésus - *Macaca mulatta* - S- ou S+ détournés comme hôtes expérimentaux de *P. knowlesi*, soit chez le singe toque - *Macaca sinica* - S- ou S+ détourné comme hôte naturel de *Plasmodium fragile*, (ii) la complexité de la structure et des fonctions de la rate des primates. Au terme de trois types d'études reposant sur l'exploration d'antigènes de surface de globules rouges parasités, prélevés chez des primates simiens S- ou S+, a été établie l'existence d'une variation antigénique et d'une diversité antigénique modulée par la présence de la rate chez l'hôte.

Quels sont donc, à l'homéostasie, les éléments structuraux et fonctionnels de la rate humaine ou de primates simiens qui ont retenu notre attention ? Tout d'abord, le territoire microvasculaire sanguin de la rate présente des particularités (i) aussi

<sup>6</sup> NDLR. Le cycle évolutif de *Plasmodium falciparum* a été présenté dans le Bulletin 174, page 24, dans le résumé de la thèse de Marie-Thérèse EKALA, ainsi que dans les articles de Peter DAVID et Catherine BOURGOUIN, publiés dans le présent numéro.



bien au niveau de la zone périfolliculaire présente à la périphérie de la pulpe blanche, (ii) qu'au niveau de la pulpe rouge [38]. Au niveau de la zone périfolliculaire, a été observée une accumulation de globules rouges, de granulocytes, de monocytes ce, sans que soient détectables, autour de ces cellules sanguines, des cellules endothéliales CD31+ thrombomoduline+ ; jointes à d'autres explorations, ces images histologiques et immunocytochimiques sont compatibles avec l'existence du système vasculaire ouvert en aval d'artérioles. Le marquage de macrophages (CD68, activité phosphatase acide) a permis de révéler que la transition entre zone périfolliculaire et pulpe rouge est progressive. La pulpe rouge est structurée par des sinus/sinusoïdes délimités par une lame basale discontinue : à la surface des cellules endothéliales qui délimitent ces sinus, très peu de CD31 a été détectable, mais ont été détectés :

- (i) la chaîne  $\alpha$  de la molécule CD8,
- (ii) la thrombomoduline,
- (iii) la molécule CD36,
- (iv) le facteur VIII,
- (v) le récepteur de la transferrine et, très récemment, le ligand du domaine riche en cystéine du récepteur du mannose.

Dans les conditions homéostatiques, s'ils sont structurellement et fonctionnellement normaux, les globules rouges qui n'ont pas circulé dans le circuit sanguin fermé/rapide, mais qui ont été déversés dans le circuit sanguin ouvert, traversent donc les cordons de la pulpe rouge et atteignent, en s'insinuant entre les cellules endothéliales<sup>7</sup> des sinus, la lumière de ces derniers puis les veines trabéculaires. Physiologiquement, une fois que les globules rouges – non parasités – sont libérés dans le sang, à partir de la moelle osseuse, leurs propriétés mécaniques/rhéologiques et fonctionnelles sont donc criblées au niveau de la pulpe rouge de la rate ; si ces fonctions sont altérées, outre le processus fascinant de remodelage (culling, pitting) de globules rouges qui gagnent la lumière des sinus, puis du circuit veineux, peut avoir lieu la phagocytose a-phlogistique de globules rouges prématurément altérés ou sénescents par les macrophages qui sont présents autour des sinus de la pulpe rouge. Nous avons formulé plusieurs questions dans notre quête de propriétés de la rate que pourraient avoir détournées les parasites :

- (i) le mérozoïte et le jeune anneau asexué de *Plasmodium falciparum* remodelent-ils le globule rouge que le mérozoïte a envahi et où son développement va se poursuivre ?
- (ii) les propriétés mécaniques du globule rouge hébergeant ces parasites jeunes traduisent-elles la présence, dans la zone périfolliculaire de la rate, de signaux qui permettent d'éviter de gagner les cordons de la pulpe rouge et donc d'éviter les processus de pitting ou de clairance par phagocytose ?

Il importe d'élucider le trafic des globules rouges parasités dans la rate et d'élucider la nature des circuits sanguins (rapides/lents) qu'ils empruntent : ceux qui sont déversés dans le circuit ouvert se lient-ils aux cellules non endothéliales qui expriment la thrombomoduline dans la zone périfolliculaire, ou aux cellules pseudo-endothéliales des sinus ? Pour tenter de répondre

à ces questions, des rates humaines ont été isolées et perfusées de façon reproductible. A ce stade de nos explorations, nous ne réferons qu'à un seul critère pour préciser qu'il est possible de maintenir des fonctions au moins de sa pulpe rouge dans des conditions satisfaisantes. En témoignent les observations suivantes : au moment de l'invasion des globules rouges par des mérozoïtes, une molécule parasitaire désignée par l'acronyme RESA (Ring-infected Erythrocyte Surface Antigen) est déposée au niveau de la membrane des globules rouges et est détectable par immunofluorescence. Si des globules rouges hébergeant des anneaux de *Plasmodium falciparum* sont exposés à l'artésunate, l'un de leur devenir est le dénoyautage/pitting du parasite au niveau de la pulpe rouge de la rate, ce qui se traduit par la présence de globules rouges dépourvus de parasites, mais encore positifs pour la présence de la molécule RESA. Donc, pour cribler une fonction de la rate humaine isolée perfusée, des globules rouges hébergeant des anneaux - qui avaient été exposés à l'artésunate *in vitro* - ont été introduits dans le circuit artériel de la rate isolée et perfusée : la présence dans le perfusat veineux d'un nombre croissant de globules rouges RESA positifs dépourvus des parasites signe en effet le maintien de la fonction de dénoyautage/pitting. Précisons que la molécule parasitaire RESA a la propriété fascinante d'interagir avec la spectrine, l'une des molécules du cytosquelette cortical du globule rouge dont dépend sa remarquable déformabilité.

### III. LE PARASITISME : LA TRANSMISSIBILITÉ DES PARASITES DES HÔTES SOURCES DE SANG AUX HÔTES INSECTES HÉMATOPHAGES ET DES INSECTES HÉMATOPHAGES AUX HÔTES SOURCES DE SANG : QUELLES PERSPECTIVES ?

Des insectes hématophages exploitent des êtres humains comme sources de sang ; quand il a été établi que de tels insectes étaient également détournés comme hôtes/vecteurs par des parasites "humains", des insectariums ont été créés pour y assurer l'établissement de colonies d'insectes et établir comment les parasites s'y développaient ou non.

Actuellement, des colonies d'anophèles, de glossines [27], de phlébotomes sont disponibles dans quelques institutions de recherche dont la nôtre (insectes du genre *Anopheles* ou *Aedes*). Les plus étudiés des insectes restent les **anophèles**, insectes dont dépend la pérennité des espèces de *Plasmodium* qui ont pour deuxièmes "hôtes obligatoires" des êtres humains. Nous commençons à percevoir l'impact des données de séquençage des génomes de *Drosophila melanogaster*, un insecte non hématophage, et d'*Anopheles gambiae* [11]. Il est toutefois étonnant de constater que trop de nos collègues dans ce domaine réfèrent au cycle de développement de *Plasmodium* chez l'anophèle avec le terme "malaria" ! Utiliser ce terme pour rendre compte du développement de la descendance de l'ookinète qui a été l'objet d'une translocation depuis la lumière du tube digestif de l'anophèle jusqu'à la lame basale sur laquelle reposent les cellules épithéliales du mésentéron/estomac, c'est se priver de nombreuses hypothèses. Nous souhaitons en développer une à titre d'exemple. Une fois que l'ookinète est niché sur la lame basale, dans l'hémocoèle, il est plus que probable

<sup>7</sup> A noter que ces cellules co-expriment des marqueurs de deux lignages, lignage endothélial et lignage des macrophages tissulaires.



qu'il est en mesure de remodeler cet environnement en atténuant des processus immuns qui pourraient empêcher son développement ultérieur. En outre, lors de la biogenèse de l'oocyste – qui se traduit par la production de sporozoïtes – pourraient se déployer des processus actifs qui règlent l'homéostasie de ce site : par exemple, si l'apoptose des cellules épithéliales ne se traduit pas par leur desquamation dans la lumière du tube digestif, mais par leur phagocytose par les plasmocytes, des médiateurs contre-inflammatoires, comme le TGF  $\beta$ , synthétisés par les plasmocytes pourraient contribuer au remodelage de ce site comme une niche optimale pour le développement de la descendance des parasites. D'autres travaux qui ont pour objets d'études les stades de développement des parasites en amont et en aval de cette niche sont explicités dans la contribution de Catherine BOURGOIN *et al.* [11].

● Le dernier point que nous souhaitons aborder concerne de nouveau des traits de vie des leishmanies, cette fois chez leurs hôtes insectes/vecteurs les **phlébotomes**. Après les travaux pionniers, en Europe, de Robert et Mireille Killick-Kendrick qui ont établi des colonies de phlébotomes, quelques autres rares équipes, dont celles de Paul Bates et de Petr Volf, ont pu re-formuler des questions fondamentales sur des processus qui précèdent et contribuent à la délivrance des promastigotes métacycliques dans le derme des mammifères sources de sang. Brièvement, après avoir établi des colonies de *Lutzomyia longipalpis*, Paul Bates [35,36] et coll. ont observé que les promastigotes métacycliques de *Leishmania mexicana* qui se développaient chez les femelles de *L. longipalpis* étaient présentes au sein d'un bouchon mucilagineux, au niveau de la partie antérieure du mésentéron/estomac. Ce bouchon mucilagineux d'origine parasitaire est composé essentiellement de protéophosphoglycane filamenteux (fPPG), de quelques autres glycannes de poids moléculaire plus faible et de quelques protéines. De l'ordre de 1000 parasites – dont 86 à 98% sont des promastigotes métacycliques – sont régurgités avec ce gel et avec de la salive par les femelles qui sont amenées à mimer ce qu'est l'étape de sondage/cisaillement/prise de repas sanguin (repas forcé sur membrane). Jointe à d'autres données, cette contribution très originale permet enfin d'estimer que le nombre de parasites délivrés au niveau du derme pourrait varier entre 10, 50 et 1000 parasites et qu'en outre, soit de la salive seule, soit le gel et de la salive sont co-délivrés avec ces parasites promastigotes métacycliques, le seul stade de développement qui s'établit chez l'hôte mammifère source de sang [35,36]. Comme nous l'avons annoncé dans le paragraphe précédent (§ A), l'impact de propriétés immunogènes de molécules de la salive des phlébotomes a été et est l'objet d'études à deux niveaux. Chez des souris qui ont été exposées à des sondages/repas sanguins de femelles phlébotomes émergentes donc sans *L. major* – avant d'être exposées à des phlébotomes dont le tube digestif héberge des promastigotes métacycliques de *L. major*, les parasites s'établissent, persistent sans qu'aient été observées de lésions cutanées ulcérées, voire en absence de toute lésion cutanée. Il a été possible d'établir que lors des sondages/repas sanguins par les femelles émergentes, la délivrance dans le derme de composés immunogènes de la salive se tra-

duisait par la présence de lymphocytes T CD4 effecteurs d'un processus inflammatoire et par la présence d'anticorps sériques. Chez une souris exposée une seconde fois à des femelles phlébotomes, au site cutané de ce second sondage se développe un environnement tissulaire inflammatoire transitoire dont témoignent deux types de processus : (i) le processus en général de longue durée de sondage/tentative de prise de repas sanguin au terme duquel la femelle phlébotome "gorgée" est plus rapide, donc l'hématophagie est facilitée ; (ii) la descendance du petit nombre de parasites délivrés n'atteint jamais les effectifs atteints chez des souris non préalablement exposées aux phlébotomes et il est probable qu'au sein de cette descendance d'effectif limité, la majorité des parasites aient rapidement atteints le stade de développement "persistance", un programme génétique qui sous-tend non seulement la prémunition mais aussi sans doute la transmissibilité à d'autres insectes.

#### IV. QUELQUES PERSPECTIVES EN GUISE DE CONCLUSION

Dans le cadre de cette contribution, nous avons souhaité partager des faits, des hypothèses dont nous n'avons pas toujours explicité comment nous avons été amené(e)s à les faire émerger. Nous n'avons pas non plus toujours explicité comment certaines hypothèses seront transformées en nouvelles méthodes exploratoires de recherche. L'un des co-auteurs a eu le privilège de s'approprier/de remodeler le contenu de leçons /conférences au cours desquelles était déployée la richesse de l'analyse comparée des propriétés d'organismes vivants non parasites (libres) et parasites. C'est dans ce cadre originel qu'ont été intégrées les données remarquables sur la biologie du développement d'organismes eucaryotes qualifiés d'organismes modèles, par exemple *Caenorabditis elegans*, *Drosophila melanogaster* [32], *Mus musculus musculus*. Par exemple, l'analyse comparée des séquences des génomes de *Drosophila melanogaster* et d'*Anopheles gambiae* a déjà été et sera précieuse pour appréhender certains des éléments de la biologie d'*Anopheles gambiae* qu'il s'agisse de l'hématophagie, ou de la reproduction, ou de son détournement comme hôte et vecteur de *Plasmodium falciparum*. Le caractère pertinent, légitime des recherches qualifiées de "fondamentales" ne devrait pas être remis en cause. Les résultats de cette recherche sont aussi des sources inestimables pour les investigations cliniques, encore faut-il que l'attention, la curiosité, l'exigence, la perplexité des investigateurs que nous sommes ne soient pas détournées de leurs objectifs essentiels : mieux rendre compte des processus biologiques, de la multiplicité des interactions plus ou moins durables que des organismes vivants établissent entre eux.

#### DÉDICACE

*Partager des connaissances, des savoir et savoir-faire est une motivation qui devrait être commune à tous les membres des communautés scientifiques ; c'est celle qui a toujours guidé nos collègues le Professeur Raymond DEDONDER et le Docteur Bruno HURTREL ; celles et ceux qui ont eu le privilège d'en apprécier les résultats inestimables sauront pérenniser cette qualité, en mémoire de Monsieur DEDONDER et de Bruno.*



## RÉSUMÉ

Le terme parasitisme réfère à des interactions complexes que des organismes vivants - les parasites - établissent et renouvellent chez d'autres organismes vivants. La pérennité des parasites dépend de leurs propriétés à détourner, au sein d'autres organismes vivants que nous nommons hôtes, des niches tissulaires et cellulaires successives. Lors de ces processus biologiques fascinants, les propriétés des niches où sont initiés et maintenus les programmes génétiques sous-tendant leur transmissibilité d'hôte à hôte, doivent être impérativement caractérisées.

## MOTS-CLEFS

Parasitisme / microbiologie tissulaire et cellulaire / remodelage tissulaire / transmission

## ABSTRACT

The word parasitism describes the complex and renewed interactions that parasites establish once they have reached other living organisms we named hosts. The perpetuation of parasites relies on rapid and renewed cross-talks that allow them to find and/or create unique tissue, cell niche where to develop. To decipher the properties of the niches where the parasites reach the developmental stage underlying their transmissibility to the next host, is of prime interest.

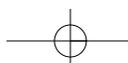
## KEY WORDS

Parasitism / tissue microbiology / cellular microbiology / tissue remodelling / transmission

## BIBLIOGRAPHIE<sup>1</sup>

- 1 AEBISCHER T, HARBECKE D & ILG T. *Infect Immun.* 1999, **67**, 5379-5385.
- 2 ANTOINE J-C, PRINA E, COURRET N. *et al. Adv Parasitol*, 2004, **58**, sous presse.
- 3 BALLABH P, BRAUN A & NEDERGAARD M. *Neurobiol Dis.* 2004, **16**, 1-13.
- 4 BELKAID Y, MENDEZ S, LIRA R *et al. J Immunol.* 2000, **165**, 969-977.
- 5 BELKAID Y, PICIRILLO CA, MENDEZ S *et al. Nature.* 2002, **420**, 502-507.
- 6 BELKAID Y, VALENZUELA JG, KAMHAWI S. *et al. Proc Natl Acad Sci USA.* 2000, **97**, 6704-6709.
- 7 BELKAID Y, HOFFMANN KF, MENDEZ S. *et al. J Exp Med.* 2001, **194** (10), 1497-1506.
- 8 BELKAID Y & MILON G. *In : Susceptibilité aux maladies infectieuses*, G. MILON, ed. scientifique, *Ann Inst Pasteur*, Elsevier, pp. 1-37.
- 9 BERRIMAN M, ASLETT M & IVENS A. *Trends Parasitol.* 2001, **17**, 463-464.
- 10 BEVERLEY S.M. *Nat Rev Genet.* 2003, **4**, 11-19.
- 11 BOURGOUIN C, LAVAZEC C & RACHIDA T. *Ass Anc Elèves Inst Pasteur* (ce numéro).
- 12 CAVANAGH LL & VON ANDRIAN UH. *Immunol Cell Biol.* 2002, **80**, 448-462.
- 13 CHARLAB R & RIBEIRO JM. *Am J Trop Med Hyg.* 1993, **48**, 831-838.
- 14 COPPENS I & JOINER KA *Exp Rev Molec Medicine*, Cambridge University Press, 2001, pp. 1-18.
- 15 DAVID P, COPPEE JY & DANE C *Ass Anc Elèves Inst Pasteur* (ce numéro).
- 16 DAVID PH, HOMMEL M, MILLER LH *et al. Proc Nat Acad Sci USA* 1983, **80**, 5075-5079.
- 17 DREVETS DA, LEENEN PJM & GREENFIELD RA. *Clin Microbiol Rev.* 2004, **17**, 323-347.
- 18 DUBEY JP, LINDSAY DS & SPEER CA. *Clin Microbiol Rev.* 1998, **11**, 267-299.
- 19 FERGUSON DJP. *Int J Parasitol.* 2004, **34**, 347-360.
- 20 GALINSKI MR & CORREDOR V. *Molec Biochem Parasitol.* 2004, **134**, 17-25.
- 21 GARAMI A, MELHERT A & ILG T. *Molecular and Cellular Biology.* 2001, **21**, 8168-8183.
- 22 GOTTSSTEIN B. *In : Contrib Microbiol.*, Schmidt, A. Weber OF, eds., Karger, Basel (2001), 9, pp 31-44.
- 23 HANDUNETTI SM, MENDIS KN & DAVID PH. *J Exp Med.* 1987, **165**, 1269-1283.
- 24 HERTZ-FOWLER C & HALL N. *In : Methods in Molecular Biology. Parasite Genomic Protocols*, S.E. Melville ed, Humana Press Inc, Totowa (2004), N J, 270, pp. 45-74.
- 25 HURD H. *Annu Rev Entomol.* 2003, **48**, 141-161.
- 26 JACOB F. Ed. Gallimard, Paris (1970).
- 27 JAMONNEAU V, KOFFI M, SOLANO P, COURTIN D *et al. Ass Anc Elèves Inst Pasteur* (ce numéro).
- 28 JOHNSTON DA, BLAXTER ML, DEGRAVE WM *et al. BioEssays.* 1999, **21**, 131-147.
- 29 KAMHAWI S. *Microbes Infect.* 2000, **2**, 1765-1773.
- 30 KIM K & WEISS LM. *Int J Parasitol.* 2004, **34**, 423-432.
- 31 LECOURT D. Quadrige/PUF, Paris (2004).
- 32 MEISTER M & LAGUEUX M. *Cell Microbiol.* 2003, **5**, 573-580.
- 33 MENDEZ S, RECKLING SK, PICIRILLO CA *et al. J Exp Med.* 2004, **2**, 201-210.
- 34 RIBEIRO JM & FRANCISCHETTI IM. *Annu Rev Entomol.* 2003, **48**, 73-88.
- 35 ROGERS ME, CHANCE ML & BATES PA. *Parasitol.* 2002, **124**, 495-507.
- 36 ROGERS ME, ILG T, NIKOLAEV AV *et al. Nature.* 2004, **430**, 463-467.
- 37 SACKS D & KAMHAWI S. *Annu Rev Microbiol.* 2001, **55**, 453-483.
- 38 SERGENT E & PARROT L. *Arch Inst Pasteur d'Algérie.* 1935, Tome XIII, n° 3, 280-319.
- 39 SIBLEY LD *Traffic.* 2003, **4**, 581-586.
- 40 SPATH GF, LYE LF, SEGAWA H *et al. Science.* 2003, **301**, 1241-1243.
- 41 STEINIGER B & BARTH P. *In : Advances in Anatomy, Embryology and Cell Biology*, Springer, Berlin (2000), 151, 101 p.
- 42 STIERHOF YD, BATES PA, JACOBSON RL *et al. Eur J Cell Biol.* 1999, **78**, 675-89.
- 43 VALENZUELA JG, BELKAID Y, GARFIELD MK *et al. J Exp Med.* 2001, **194**, 331-342.

<sup>1</sup> .....





## LES DEUX PASTEUR,

Le père et le fils, Jean Joseph et Louis PASTEUR  
Louis PASTEUR, de Besançon à Paris

par Richard MOREAU

### Chronique de deux livres<sup>1</sup>

Henri Michel ANTOINE<sup>2</sup>

*Les origines comtoises de notre ancien Président, le Médecin Général Inspecteur Henri Michel ANTOINE, l'ont amené à résumer les deux livres sur Louis PASTEUR et sa famille écrits par son ami le Professeur Richard MOREAU, originaire également de ce même terroir. Nous espérons que cette brillante analyse vous incitera à lire ces deux ouvrages et à y trouver le même plaisir que nous. Nous le remercions vivement.*

Notre collègue Richard MOREAU, docteur ès sciences naturelles, agrégé des Facultés de pharmacie, Professeur honoraire de Microbiologie à l'Université de Paris XII est passionnément attaché à Louis PASTEUR et sa famille. Il est aussi viscéralement comtois et les deux livres dont il est l'auteur nous font revivre l'histoire familiale et l'évolution du jeune Louis PASTEUR au milieu des siens, mais aussi revivre la société du XIXe siècle en terre jurassienne.

#### ● LES DEUX PASTEUR - Le père et le fils - Jean Joseph et Louis Pasteur (Dole, Marnoz, Arbois)

Ce premier ouvrage nous présente la lignée familiale du futur savant, lignée paysanne enracinée dans son terroir, lignée toute modeste mais qui va sortir de l'anonymat grâce aux deux PASTEUR, le père assurant l'ascension sociale du fils. La personnalité de chacun est bien observée et analysée, la place de la mère et des soeurs du jeune Louis n'est pas négligée.

De nombreux auteurs ont voulu cerner la biographie de Louis PASTEUR ; Richard MOREAU apporte le fruit de ses recherches personnelles, et insiste beaucoup sur l'extraction paysanne, comtoise, de la famille qui a marqué le père puis le fils. Jean Joseph a vécu l'épopée napoléonienne qui a laissé des traces dans la campagne, mais il ne fait pas preuve d'un véritable militarisme. Il n'est pas non plus foncièrement religieux, en témoigne le baptême un peu tardif du jeune Louis. L'ambiance sociologique du XIXe siècle est particulièrement bien rendue, y compris l'existence d'une confrérie d'allure maçonnique, celle des " Bons cousins " qui ne déplaisait pas à Jean Joseph et dont l'influence est allée au-delà de l'intéressé.

Jean Joseph n'est pas non plus le pauvre tanneur d'une certaine légende, il a su conduire ses affaires. Si la tannerie de Dole, au moment de la naissance de Louis, n'est que modeste, l'évolution professionnelle se fera. On quitte Dole pour Marnoz, mais ce n'est qu'une halte, avant Arbois où les affaires vont aller de mieux en mieux. La famille va s'intégrer dans la petite bourgeoisie locale et Richard MOREAU nous fait revivre ce microcosme arboisien avec ses petits propriétaires, ses notables, ses enseignants.

Jean Joseph ne manque pas d'ambition, il en a certainement pour son fils. Une seule recette pour la réussite c'est le travail, et encore le travail. Les talents artistiques de Louis, jeune portraitiste doué, sont reconnus mais tout juste appréciés de crainte qu'ils ne détournent l'auteur de ses objectifs scolaires, puis universitaires.

Il n'est pas possible de reprendre ici tous les apports des deux livres de Richard MOREAU, mais il faut insister sur le vif intérêt sociologique des recherches et travaux conduits par l'auteur.

On sait l'attachement de Louis PASTEUR à son milieu familial, " Oh mon père et ma mère ! Oh mes chers disparus qui avez si modestement vécu dans cette petite maison, c'est à vous que je dois tout ! ". Interpellation connue de tous les amis du savant au zénith.

Louis PASTEUR est resté tout autant attaché à ses maîtres du collège d'Arbois, puis du collège royal de Besançon que nous retrouvons dans leur environnement d'une époque maintenant bien lointaine.

La valeur " travail " inculquée au sein de la famille est reprise au collège et, plus tard, le savant ne manquera pas de dire aux jeunes " Aimez donc le travail, jeunes élèves, hors du travail, vous ne trouvez que déception et suprême ennui ".

Une biographie honnête, dit-on, se doit d'écorner la statue ! Je suis sûr de l'honnêteté du travail de Richard MOREAU, la statue des deux PASTEUR n'est pas véritablement écornée.

#### ● LOUIS PASTEUR - De Besançon à Paris (L'envol)

L'essentiel du 2<sup>ème</sup> tome est la belle histoire d'un jeune comtois qui monte à Paris " avec bien des maux ", pour reprendre une expression de son terroir.

Les parents de PASTEUR devenu adolescent n'ont pas été sans penser que leur fils pourrait les remplacer dans la tannerie devenue entreprise familiale rentable. La perspective d'une poursuite des études aux fins d'obtenir une situation d'enseignement, voire universitaire, était assortie du souci de la prise en charge des conditions matérielles. Pourtant, la décision est prise, il faut quitter le collège d'Arbois, rejoindre celui de Besançon, ce qui nous vaut une description saisissante de la ville en cette fin de moitié du XIXe siècle, puis une plus riche encore description du collège royal de la capitale comtoise. Il y a là preuve d'une iconographie passionnante, qui mérite lecture et réflexion.

Le choix d'une carrière devait se préciser, l'état militaire ne l'attirait pas, l'idée de l'Ecole polytechnique en rang suffisant pour ne pas risquer de faire une carrière sous les drapeaux n'a pas été retenue. Déjà !

Quant à l'université, même si la famille aurait souhaité une solution locale, pourquoi ne pas penser à la grande porte, c'est à dire l'Ecole normale supérieure ?

Pour cette solution admise par l'environnement paternel non sans réticence, il va falloir surmonter " bien des maux " et rejoindre la " sortie du tunnel ".

En 1842 enfin, c'est l'installation à Paris, à la pension Barbet, impasse des Feuillantines, institution privée originale qui ne manque pas de pittoresque, y compris le fait que la surveillance médicale est assurée par un médecin militaire de grand renom : Louis BÉGIN.

Les détails ne manquent pas quant au fonctionnement de l'institution qui assure de bons résultats aux concours. La question du service militaire de Louis PASTEUR nous vaut une remise au point des conditions d'appel au service en 1840, et mieux encore, des dispositions d'aptitude médicale avec l'exemption du futur savant qui ne manifestait pas une attirance pour l'état militaire.

Le deuxième volume de *Louis PASTEUR, de Besançon à Paris*, est tout aussi riche que le premier de données fouillées et détaillées, recueillies par l'auteur et ses amis, collaborateurs attachés à l'épopée pasteurienne.

L'épilogue s'intitule tout simplement " L'Ecole normale supérieure " et c'est bien là " l'aurore immense " de la carrière scientifique de Louis PASTEUR, ou tout simplement " l'envol ".

<sup>1</sup> Ed. L'Harmattan, Collection Acteur de la Science.

<sup>2</sup> Professeur du Service de Santé des Armées du Val de Grâce



## INDEX DES AUTEURS

### ERRATUM

Une manipulation informatique malencontreuse a entraîné la suppression du nom de notre ancien Président, le Médecin Général Inspecteur H.M. ANTOINE de l'index des auteurs. Nous le prions vivement de bien vouloir nous en excuser.

Nous reproduisons ci-dessous les informations qui auraient dû figurer à la page 71 du Bulletin n° 179.

#### **ANTOINE Henri Michel**

- 1976 (vol. 18)** n°70, p.434. Le Médecin-colonel POIRIER
- 1982 (vol. 24)** n°91, p.60. Le Médecin Général Georges BERNIER
- 1982 (vol. 24)** n°94, p.38. Le Médecin Général Paul Henri BONNEL
- 1993 (vol. 35)** n°137, p.133-134. Jean G. BERNARD
- 1994 (vol. 36)** n°139, p.29. Visite de l'Institution nationale des Invalides
- 1995 (vol. 37)** n°142, p.3. 1995 - Année Pasteur (éditorial)
- 1997 (vol. 39)** n°151, p.53-54. Mérieux 1897-1997 : une belle épopée
- 1997 (vol. 39)** n°152, p.100. Pathologie comparée
- 1999 (vol. 41)** n°161, p.121. Editorial
- 2001 (vol. 43)** n°167, p.145-146. Le Médecin Général Léon LAPEYSSONNIE
- 2001 (vol. 43)** n°168, p.144-145. Madame Camille LATASTE-DOROLLE (1905-2001)



## VIE DE L'ASSOCIATION

### I. ADMISSIONS

Selon l'approbation du Conseil d'Administration en date du 20 septembre 2004, nous avons le plaisir d'accueillir comme nouveaux membres de l'Association les stagiaires et lauréats (dont trois boursiers de l'Association) dont les noms suivent :

- Véronique AVETTAND-FENOEL, pharmacienne, cours de Virologie fondamentale 2004,
- Serge DIAGBOUGA, vétérinaire de nationalité burkinabé, cours de Biologie moléculaire de la cellule 1993, d'Immunologie générale 1995, de Virologie médicale 1996 et stage dans les unités d'Oncologie virale 1995 et de Physiopathologie de l'infection et 1996-1997,
- Olivier FLUSIN, médecin, cours de Virologie systématique 2004,
- Aya Nathalie GUESSENND, scientifique de nationalité ivoirienne, cours de Bactériologie médicale 2004,
- Thibault GUILLEMET, cours de bactériologie médicale 2004,
- François-Xavier HUCHET, médecin, cours d'Immuno-pathologie (European course of immuno-pathology), 1991,
- Nadia KECHOUT, médecin de nationalité algérienne, cours d'Immunologie approfondie 2003-2004,
- Soumeya LAMHENE-BOUDJADJA, biologiste de nationalité algérienne, cours de Virologie systématique 2004 et stagiaire dans les unités de Caractérisation des molécules et des Entérovirus, 2004
- Marie-Laure MICHEL, scientifique, cours d'Immunologie approfondie 2003-2004,
- Ernesto MORA, médecin de nationalité mexicaine, cours de Mycologie médicale 1991,
- Michel NOUBOM, médecin de nationalité camerounaise, cours de Mycologie médicale 2004,
- Roger PRAT, médecin, cours de Bactériologie, d'Immunologie générale et de Sérologie 1962,
- Christelle ROBERT, scientifique, cours d'Informatique en biologie 2003,
- Pierre RONCO, médecin, cours d'Immunologie générale, d'Immunologie approfondie et d'Immunologie des infections bactériennes et virales 1976,
- Krassimira TSVETKOVA, médecin de nationalité bulgare, cours de Bactériologie médicale 2004 et stagiaire dans l'unité des Agents antibactériens 2004,
- Mathias VANDENBOGAERT, scientifique de nationalité belge, cours d'Informatique en biologie 2004.

### II. ENTRAIDE

#### A. EMPLOI

*La publication de chaque annonce est gratuite pour tous les membres de l'Association à jour dans le règlement de leur cotisation annuelle. Elle est faite dans deux numéros successifs et, à la demande expresse de l'annonceur, dans un troisième Bulletin. Pour éviter des redites inutiles, veuillez nous prévenir dès que votre annonce ne sera plus justifiée. Le secrétariat tient par ailleurs, à la disposition de ceux que cela intéresse, une liste de cabinets de Conseil en recrutement ayant fait appel à nos services. A tout moment, vous pouvez être informés des annonces déjà parues encore valables et de celles qui ne sont pas encore publiées, en contactant directement le secrétariat (Tél. 01 45 68 81 65 ou Tél/Télec. 01 43 27 72 37).*

#### 1) OFFRES D'EMPLOI

*Elles sont portées à la connaissance des élèves des cours par affichage sur le tableau du hall du Département des enseignements. Pensez plus souvent à nous lorsque vous devez recruter des collaborateurs ; vos offres d'emploi peuvent être communiquées par le secrétariat à des demandeurs dès réception de l'information.*

- Le Service de santé des armées recherche un médecin biologiste, formé à la virologie. Une expérience pratique en arbovirologie ou virologie tropicale est souhaitée. Le poste à pourvoir est celui de chef du laboratoire de diagnostic des arbovirus intégré à l'unité de virologie tropicale de l'Institut de Médecine tropicale du Service de Santé des Armées, à Marseille, et associé au Centre National de Référence des arbovirus. Il comporte des activités techniques et des respon-

sabilités administratives et contribue aux activités de recherche de l'unité. Une connaissance de l'anglais est nécessaire. Le candidat retenu se verra proposer un contrat de 6 ans. Des renseignements peuvent être obtenus au 04 91 15 01 17 ou par mél à l'adresse [imtssa.vro@wanadoo.fr](mailto:imtssa.vro@wanadoo.fr)

#### 2) DEMANDES D'EMPLOI

- Titulaire du DEA de biophysique moléculaire de l'Université Paris VI et diplômée d'"Informatique en biologie" de l'Institut Pasteur à Paris, je propose mes services en tant qu'**ingénieur en bioinformatique** aux acteurs majeurs des instituts et laboratoires de recherche scientifique ainsi qu'aux bio-industries. Je souhaite **m'investir dans** un environnement de R&D afin de concevoir et développer des logiciels **orientés vers l'étude des systèmes biologiques complexes.**

**Vous pouvez me contacter par courriel à l'adresse [chrisr.robert@free.fr](mailto:chrisr.robert@free.fr) ou par tél au 06 63 14 52 63. Christelle ROBERT.**

#### B. BOURSE AU LOGEMENT

*Vous disposez d'une chambre ou d'un studio à Paris ou en région parisienne susceptibles d'être loués à un étudiant ? Adressez vos propositions à notre secrétariat qui les transmettra aux élèves ou stagiaires (DEA, thésards, post-doc) de l'Institut Pasteur. Offres et demandes de logement sont aussi valables pour les autres régions !*

#### C. IMMOBILIER



### III. ANNUAIRE : Modifications ou compléments

- Mme Sophie ALAIN ALBERTINI, 14 rue Mariette, 87000 LIMOGES
- Mme Marianne ASSO-BONNET, 147, avenue du Général de Gaulle, 92170 VANVES
- Mme Edith Authié, 2, rue Jean Jaurès - Vallée de Cousse - 37210 VERNOU SUR BRENNE
- M. et Madame DELAFOSSE (Arnaud et Sandrine), 13, rue des Moulins, 53370 SAINT PIERRE DES NIDS
- Monsieur Daniel GARIN, Médecin en chef, Maître de Recherche du Service de Santé des Armées, 24, avenue des

- Maquis du Grésivaudan, BP 87, 38702 LA TRONCHE Cedex. Tél. 04 76 63 68 44, téléc. 04 76 63 69 06 – Courriel : Daniel.Garin@wanadoo.fr
- M. Vincent HERVÉ, 25, avenue du Maréchal Joffre, 92190 MEUDON
- Mme Anne MARQUET, Top floor flat, 191 Wilton Street, GLASGOW G20 6DF United Kingdom
- M. Jérôme THEVENON, Le Clos des Sermaises, 51, allée des Sermaises, 38330 SAINT ISMIER

### IV. NÉCROLOGIE

#### ● HOMMAGE A LOUIS ANDRAL<sup>1</sup>



Le 2 juin 2004, le Docteur Louis ANDRAL décédait des suites d'un accident de la route à Mondonville, en Haute Garonne. Ainsi disparaissait brutalement l'une des personnalités les plus connues de la haute administration et de la recherche vétérinaires françaises.

Louis ANDRAL était né le 23 mai 1921 à Toulouse, où son père était ingénieur de la Société nationale des chemins de fer français. C'est dans cette même ville qu'il effectua toutes ses études secondaires et prépara le concours d'entrée aux écoles nationales vétérinaires. Très tôt, en effet, il avait été attiré par une carrière scientifique dans laquelle il voyait l'opportunité d'une formation à la fois solide et proche de ses racines.

Ayant été admis à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, il réussit à y achever sa scolarité en 1946, malgré toutes les vicissitudes de la seconde guerre mondiale. Sa thèse, soutenue en 1948, portait sur la brucellose. C'est au cours de cette scolarité qu'il rencontra l'une des premières jeunes filles admises dans les écoles vétérinaires françaises, Maude SYKES.

<sup>1</sup> Texte rédigé par Jean Blancou, avec l'aide des amis et des proches de Louis Andral.

Elle faisait partie de la promotion suivant immédiatement la sienne, et il l'épousa en 1948. Ils eurent quatre fils : Jean-Marc, Yves, Bruno (qui sera lui aussi vétérinaire et chercheur) et Jean-Louis.

Aussitôt après sa sortie de l'Ecole, le Docteur ANDRAL est recruté comme assistant au Laboratoire central de recherches vétérinaires d'Alfort, alors rattaché au ministère de l'agriculture. C'est là qu'il peut donner libre cours à son goût pour la recherche microbiologique, alors aussi passionnante que risquée : il se contamine accidentellement au cours d'une autopsie de lièvre, et contracte une grave tularémie.

Ses qualités de chercheur et d'organisateur sont rapidement reconnues par ses supérieurs, qui le nomment Vétérinaire Inspecteur. Il est alors chargé de mettre en place à Auch le premier laboratoire vétérinaire départemental français établi après la guerre. Il y développe les activités de services classiques (diagnostics et contrôles en santé animale), mais aussi des activités de recherches plus approfondies en pathologie des abeilles. Il sera rapidement nommé Directeur des services vétérinaires du département du Gers.

Toutefois, la médecine vétérinaire exotique le tente plus que ces activités administratives métropolitaines, et les besoins en assistance technique sont alors très nombreux outre-mer. Il préfère donc se consacrer à la coopération technique dans les pays en développement, et, en 1951, il est affecté à l'Institut Pasteur d'Addis-Abeba (Ethiopie), dirigé par le Docteur CHABAUD. Il y restera douze ans, et ce sera là l'une des périodes les plus fécondes de sa carrière scientifique.

À l'Institut Pasteur, il est chargé des recherches en santé animale ainsi que de la production et du contrôle de certains vaccins à usage humain, notamment le vaccin de la variole (qui sévissait encore en Afrique) et le vaccin de la rage.

Il travaille alors en très étroite collaboration avec un médecin microbiologiste, le Docteur Charles SÉRIÉ, dont la famille établira des liens d'amitié indéfectibles avec la sienne. Ensemble, les deux hommes feront des découvertes fondamentales en épidémiologie animale et humaine. Ils alertent d'abord la communauté scientifique internationale en démontrant, par des analyses sérologiques et virologiques approfondies, que certains chiens éthiopiens pouvaient être porteurs du virus de la rage sans extérioriser les symptômes de la maladie [2, 5].



## Association des Anciens Élèves de l'Institut Pasteur

Vigoureusement contestés à l'époque, leurs résultats seront expliqués 30 ans plus tard par l'existence de différents biotypes de virus rabique : les chiens éthiopiens avaient probablement été contaminés par un virus adapté à un autre carnivore, d'une espèce sauvage. Avec l'équipe de l'Institut Pasteur d'Addis Abeba (NÉRI, LINDREC, POIRIER), ils élucident ensuite le cycle de la fièvre jaune en Afrique de l'Est, en démontrant le rôle des colobes ("singes à manteau blanc") dans la pérennité de cette redoutable virose [1, 6], ainsi que l'intervention d'une espèce de moustique alors inattendue, *Aedes simpsoni*, comme vecteur du virus entre le singe et l'homme [4].

Au cours de son séjour éthiopien, Louis ANDRAL collabore avec de nombreux établissements vétérinaires africains ou européens. Il travaille notamment en étroite collaboration avec Jean PAGOT, le directeur de l'Institut d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux de Maisons-Alfort, et Robert BLANC, chargé de la Mission vétérinaire française en Ethiopie. Ils joueront tous trois un rôle fondamental dans la création du grand laboratoire africain de diagnostic, de production et de recherche vétérinaire qui sera construit en 1963 dans la ville de Debré-Zeit, à 50 km d'Addis-Abeba. Ce laboratoire est encore l'un des plus grands centres de production de vaccins et de recherches vétérinaires d'Afrique de l'Est.

Lorsque le Docteur CHABAUD quitte Addis-Abeba, il est remplacé par le Docteur SÉRIÉ. Louis ANDRAL est alors nommé Directeur adjoint de l'Institut Pasteur, qui était devenu un institut de recherches renommé.

En 1964, sa mission en Ethiopie prend fin. Son œuvre et sa mémoire y resteront toujours respectées par ses anciens collaborateurs, malgré l'instauration d'un régime communiste qui souhaitait faire table rase de tout ce qui avait été réalisé sous le règne de l'Empereur Haïlé Sélassié.

A son retour en France, il est affecté pendant quelques mois à la Direction générale des services vétérinaires. Il sollicite et obtient rapidement un nouveau détachement outre-mer, à l'Institut Pasteur de Casablanca, où il est responsable des diagnostics et des contrôles vétérinaires du Maroc, et là encore de la production et du contrôle de divers vaccins. A nouveau, il a également l'occasion de participer à un important travail en épidémiologie animale dans le domaine de la peste équine. A Casablanca, il retrouve le Docteur CHABAUD, qu'il était appelé à remplacer à la direction de l'Institut. Mais, en 1967, il doit rejoindre Paris, où il est de nouveau affecté à la Direction générale des services vétérinaires. Cette affectation ne satisfait pas son goût pour l'action et la recherche, aussi est-il particulièrement heureux d'accepter la nouvelle mission qui lui est confiée par le ministère de l'agriculture : préparer l'établissement d'un laboratoire de diagnostic de la rage à Nancy. Cette redoutable zoonose vient en effet de réapparaître à la frontière allemande, en mars 1968 sous sa forme la plus difficile à combattre : la rage du renard.

Il doit alors user de toutes ses relations, et notamment celles qu'il avait établies en Ethiopie avec Monsieur JACSON, député de Meurthe-et-Moselle, pour obtenir les ressources financières et humaines nécessaires à l'établissement d'un laboratoire d'études sur la rage. Les crédits nécessaires sont votés en février 1970 par le Conseil général de Meurthe-et-Moselle et un

"Centre d'études sur la rage" (CER), est bâti aux portes de Nancy, à Malzéville. Les laboratoires sont ouverts le 1er mars 1971 et confiés à l'Etat, à charge pour le ministère de l'agriculture d'en assurer le fonctionnement et la dotation en personnel. Cette dernière est particulièrement laborieuse, car le ministère ne peut accorder à Louis ANDRAL, qui est appelé à diriger le centre, que quelques postes subalternes. Avec un grand courage et une efficacité remarquable, le nouveau directeur installe le matériel du laboratoire et forme lui-même son personnel. Les diagnostics de rage peuvent être alors assurés dans toute la France, et le premier *Bulletin épidémiologique mensuel de la rage en France* est publié : il était temps, la rage vulpine avançait alors de 40 kilomètres par an !

Ce n'est que plus tard que le CER pourra recruter d'autres cadres scientifiques, dont Martial VILLEMEN, Maude SYKES-ANDRAL, Michel AUBERT, Marc ARTOIS, Michèle DUBREUIL, Jean BLANCOU, Jacques BARRAT... Louis ANDRAL sait insuffler à la petite équipe qu'il a choisie le dynamisme et la motivation qu'elle saura toujours conserver par la suite. En 1972, il crée dans la commune d'Atton, une station de recherches sur les renards qui ne cessera de s'agrandir et jouera un rôle clé dans la mise au point des vaccins de la rage en France et dans de nombreux autres pays. Il sait aussi convaincre les conseillers généraux des départements touchés par la rage de créer une "Entente interdépartementale de lutte contre la rage" en 1975. Cette dernière organisation restera le partenaire privilégié du Laboratoire de Malzéville, qui travaillera étroitement avec elle pour arrêter la vague de rage.

En 1979, le CER devient "Centre national d'études sur la rage" (CNER), puis en 1980 "Centre national d'études sur la rage et la pathologie des animaux sauvages" (CNERPAS). Pendant 12 ans, Louis ANDRAL coordonne avec autorité et intelligence les travaux scientifiques de son équipe de chercheurs, signant lui-même de très nombreux articles de virologie, d'immunologie, d'éthologie ou d'éco-pathologie [revue in 3].

En 1982, le Docteur Konrad BÖGEL, chef du Service de santé publique à l'OMS, lui demande d'assurer la mise en place d'un "Centre méditerranéen de lutte contre les zoonoses" à Athènes. Il passera plusieurs mois dans cette ville, où il aura la grande joie de retrouver le Docteur SÉRIÉ. L'année suivante, Gilbert JOLIVET (Directeur de la Qualité) et Claude MEURIER (Inspecteur général des laboratoires nationaux), lui confient la préparation de la réorganisation et la coordination des laboratoires vétérinaires départementaux rendues nécessaire par les lois de décentralisation.

Le Centre de Malzéville sera alors confié à Jean BLANCOU, puis à Michel AUBERT en 1990 et à Florence CLIQUET en 2001. Ce Centre est certainement l'héritage le plus important qu'aura laissé Louis ANDRAL à la recherche vétérinaire française. Il en fut le directeur et l'âme de 1971 à 1983, année où l'établissement fut officiellement nommé "Centre collaborateur de l'OMS pour les recherches et l'organisation en matière de lutte contre les zoonoses" par l'Organisation mondiale de la santé.

Lorsqu'en avril 1999, le CNERPAS sera rattaché à l'AFSSA, ses missions resteront pratiquement les mêmes que celles que lui avait assignées ses fondateurs en 1971 : diagnostic épidémiologique de la rage animale, contrôle de la vaccina-



tion anti-rabique des animaux, éco-pathologie des animaux sauvages, recherches, information et formation dans tous ces domaines. Son plus grand succès fut celui de l'éradication de la rage vulpine, officiellement déclarée le 30 avril 2001, et obtenue grâce à la vaccination par voie orale des renards dont Louis ANDRAL avait le premier pressenti l'avenir. Résultat d'un effort collectif sans précédent dans l'histoire de la lutte contre les zoonoses, cette vaccination ne fut possible que grâce à un élan d'enthousiasme international dans lequel le laboratoire de Malzéville put jouer un rôle essentiel grâce à l'outil qu'avait forgé son premier directeur.

Louis ANDRAL prend définitivement sa retraite en 1985, et se retire dans sa propriété familiale des Vigneaux, dans la commune de Mondonville. Il peut alors pleinement goûter les joies de la vie familiale, mais sans perdre pour autant son intérêt pour la profession vétérinaire et le monde de la recherche, dont il était resté très écouté.

Le Docteur ANDRAL fut en effet un meneur d'hommes hors pair, un pionnier de la recherche en santé animale et humaine et un modèle pour tous ses collaborateurs. D'une grande générosité, il faisait preuve d'un enthousiasme contagieux et d'un goût prononcé pour les idées nouvelles et les grands desseins. D'une grande rectitude morale et intellectuelle, doué d'une rare faculté d'indignation, il attirait la sympathie de tous, même lorsqu'il devait déranger le conformisme ou le laxisme de certains.

Toutes ces qualités lui valurent des promotions méritées durant sa carrière et furent récompensées par de nombreuses décorations françaises (le Mérite national en 1968, puis la Légion d'honneur en 1987) ou étrangères (dont l'Ordre de Ménélik, avant son départ d'Éthiopie). En 1990, cinq ans après son départ en retraite, il se verra attribuer à Genève un "Award" de l'OMS pour l'ensemble de ses travaux et de ceux de ses collaborateurs à Malzéville.

## RÉFÉRENCES

1. ANDRAL L, BRES P, SÉRIÉ C, CASALS J et PANTHIER R. Etudes sur la Fièvre Jaune en Ethiopie ; III. Etude sérologique et virologique de la faune sylvatique. *Bulletin de l'Organisation Mondiale de la Santé*, 1968, **38**, 855-861.
2. ANDRAL L, SÉRIÉ C.. Etudes expérimentales sur la rage en Ethiopie *Ann Inst Pasteur* (Paris). 1957, **93** (4), 475-88.
3. AUBERT MFA. Du diagnostic de la rage vulpine à son élimination. Bilan de l'activité du Laboratoire d'études sur la rage et la pathologie des animaux sauvages de Nancy en matière de rage. *Bull Acad Vét de France*. 2003, **156**, 1,6-14.
4. NÉRI P, SÉRIÉ C, ANDRAL L et POIRIER A. Etudes sur la Fièvre Jaune en Ethiopie IV. Recherches entomologiques à la station de Manéra. *Bulletin de l'Organisation Mondiale de la Santé*, 1968, **38**, 863-872.
5. SÉRIÉ C et ANDRAL L. Etudes expérimentales sur la rage en Ethiopie. II. Pouvoir virulicide du sérum de chiens errants ; *Annales Institut Pasteur de Paris*. 1960, **98**, 688-693.
6. SÉRIÉ C, ANDRAL L, POIRIER A, LINDREC A et NÉRI P. Etudes sur la Fièvre Jaune en Ethiopie : VI Etude épidémiologique. *Bulletin de l'Organisation Mondiale de la Santé*, 1968, **38**, 878-884.

● La disparition du **Professeur Raymond DEDONDER** suscite une profonde tristesse chez nos collègues de l'AAIEP. Membre d'honneur de notre association, il suivait avec grand intérêt nos activités ; il a notamment participé, avec son épouse, à plusieurs de nos voyages dont nous conservons des souvenirs heureux et amicaux. Nous invitons nos lecteurs à prendre connaissance de la carrière de ce biochimiste et microbiologiste de haute renommée dans la notice rédigée par la direction de l'Institut Pasteur et reproduite page... Nous tenons à partager avec Madame DEDONDER et ses enfants leur peine en leur présentant nos sincères condoléances.

● La disparition brutale de notre ami et ancien président le **Docteur Alain LEBLANC** stupéfait et afflige tous ceux qui l'ont connu et apprécié. Il s'est éteint le 16 septembre dernier en Italie, pays d'origine de son épouse, où il savourait l'achèvement d'une résidence récemment construite. Son dynamisme coutumier a marqué l'organisation de notre Assemblée générale 2004 à laquelle il projetait de participer très activement. Que Madame LEBLANC, ses enfants et petits-enfants trouvent ici l'assurance de nos très sincères condoléances et de notre profonde tristesse. Notre prochain bulletin de liaison évoquera la personnalité et l'action du Docteur LEBLANC qui comptera parmi les grands serviteurs de notre Association.



## V. RENCONTRE RÉGIONALE

La prochaine réunion régionale de l'AAEIP se tiendra le lundi 6 décembre 2004, à l'Institut Pasteur de Lille.

Le programme, actuellement en cours d'élaboration et qui s'annonce très intéressant, sera consacré à la TUBERCULOSE avec la participation de chercheurs des Instituts Pasteur de Bruxelles, Lille et Paris.

Retenez bien cette date. Vous recevrez très prochainement le programme avec toutes les informations logistiques.

## VI. BULLETIN DE L'ASSOCIATION : COMPLÉTEZ VOTRE COLLECTION

L'Association tient à votre disposition un certain nombre d'anciens numéros de son Bulletin trimestriel, de l'origine de cette publication à aujourd'hui. Toute personne intéressée par certains numéros ou par une (ou plusieurs) année(s) complète(s) est invitée à contacter notre secrétariat.

Le numéro 161 de l'année 1999 comporte la liste des articles publiés à cette date, liste qui peut être actualisée à la

demande, en attendant l'édition, prévue pour 2004, de l'index général des articles publiés dans notre Bulletin depuis le premier numéro datant de 1959.

Vous appréciez notre Bulletin. Il intéressera sûrement certains de vos amis ; communiquez-nous leurs nom et adresse, nous serons heureux de les faire bénéficier de cette offre de numéros anciens et de leur proposer un abonnement.

## VII. AVANTAGES POUR NOS ADHÉRENTS

### ● CARTES DE RÉDUCTION POUR LES GRANDS MAGASINS

L'Association a le plaisir de rappeler à ses membres adhérents qu'elle tient à leur disposition des cartes de réduction, valables dans différents grands magasins : Bazar de l'Hôtel de Ville, Galeries Lafayette, Nouvelles Galeries (5 à 10 %), La Samaritaine (10 %), Au Printemps (10 %)... Ces cartes (établies au nom de l'AAEIP), présentées lors du passage en caisse, permettent de bénéficier immédiatement d'une remise et de différents avantages promotionnels. L'AAEIP demandera un

chèque de dépôt en échange de la carte. Après utilisation, il conviendra de la ramener aussi rapidement que possible afin qu'un autre membre puisse en bénéficier, l'AAEIP ne disposant que d'une carte pour chaque grand magasin.

### ● ACCÈS GRATUIT À LA MÉDIATHÈQUE

Rappelons que la carte de membre de l'AAEIP, validée par la vignette de cotisation annuelle, donne un accès gratuit à la médiathèque de l'Institut Pasteur

## VIII. MONTANT DES COTISATIONS POUR 2004

Le montant des cotisations et de l'abonnement au Bulletin pour 2004 a été arrêté lors de l'Assemblée générale du 20 juin 2003.

**Cotisation :** Membre actif : 65 € ; Retraité : 54 € ; Couple non retraité : 79 € ; Couple retraité : 64 € ; Tarif étudiant : 25 €.

Ce tarif, particulièrement attractif, a été entériné par le Conseil d'Administration et permettra l'accès de tous les étudiants à l'AAEIP.

**Abonnement extérieur :** 51 €.



## NOUVELLES DE L'INSTITUT PASTEUR

### I - ENSEIGNEMENT ET FORMATION

#### A. PROGRAMME DES COURS (I<sup>ÈRE</sup> PARTIE)

*Le calendrier des cours de l'Institut Pasteur pour l'année universitaire 2004-2005 a été publié dans le numéro précédent. Nous reproduisons, à titre d'information, le programme de ces cours<sup>1</sup> afin que nos lecteurs puissent avoir connaissance de l'évolution des enseignements actuellement dispensés. Des renseignements complémentaires et relatifs aux inscriptions peuvent être obtenus auprès du Secrétariat des Enseignements, Institut Pasteur, 25-28 rue du Docteur Roux, 75724 Paris Cedex 15. Tél. +33 (0) 1 45 68 81 41 ou + 33 (0) 1 40 61 33 62, téléc. + 33 (0) 1 40 61 30 46 et sur le site web : [www.pasteur.fr/enseignement](http://www.pasteur.fr/enseignement).*

##### 1 - Analyse des génomes

L'objectif de ce cours est de former les étudiants à la démarche intellectuelle et aux techniques de la Génomique et de la Post-Génomique. L'originalité de ce cours tient à ce qu'il comporte à la fois des travaux d'expérimentation à la paillasse ainsi que le traitement et l'analyse de données génomiques par l'utilisation d'outils informatiques.

Ce cours comprend des conférences et des travaux pratiques.

- Les **conférences** traiteront des aspects fondamentaux de la Génomique : Structure et évolution des génomes (Procaryotes et Eucaryotes), analyse de la dynamique des génomes, étude de l'expression des génomes par l'analyse de transcriptomes et de protéomes (Aspects fondamentaux et appliqués).

- Les **travaux pratiques** comprendront trois parties :

1 - Utilisation des outils informatiques de base, analyse des séquences génomiques, méthodes d'annotation, génomique comparative et phylogénie moléculaire.

2 - Instabilité et dynamique du génome de la levure *Saccharomyces cerevisiae* : criblage de mutants, cartographie moléculaire par électrophorèse en champ pulsé, puces à ADN, séquençage d'ADN, étude de la variabilité de microsatellites, génotypage moléculaire.

3 - Etude protéomique de la biogenèse des ribosomes par "tandem affinity purification (TAP) tag" et "Western blots", analyse des résultats de séquençage de peptides par spectrométrie de masse (MALDI TOF).

Cet enseignement doit être validé comme l'une des parties de certains Masters (2<sup>e</sup> année) des Universités d'Ile-de-France (René Descartes-Paris 5, Pierre et Marie Curie-Paris 6, Denis Diderot-Paris 7, Paris-Sud 11, Orsay et Versailles Saint-Quentin). Ceci sera opérationnel dès que les Masters seront en place, à la rentrée universitaire 2004-2005 pour les étudiants inscrits dans ces établissements.

<sup>1</sup> présentés par ordre alphabétique (de A à D)

A la fin du cours, le Diplôme de l'Institut Pasteur sera délivré. Cet enseignement, dispensé en convention avec les Universités Pierre et Marie Curie-Paris 6 et Denis Diderot-Paris 7), peut aboutir à la délivrance d'un Diplôme Interuniversitaire.

##### 2 - Bactériologie médicale

Cet enseignement est destiné à des candidats désirant pratiquer la Bactériologie médicale humaine ou animale. Le cours comprend des conférences, des travaux pratiques et des travaux dirigés.

Ce cours a pour objet l'étude de nombreux genres bactériens d'intérêt médical humain, vétérinaire et de l'environnement : morphologie, métabolisme, biochimie, antibiogramme, utilisation des outils moléculaires pour le diagnostic des bactéries à culture difficile ou non cultivables.

Seront traités les genres bactériens suivants :

- Les bactéries à Gram-négatif : les aérobies strictes, les aéro-anaérobies facultatifs à culture facile et ceux à culture difficile.

- Les Bactéries à Gram-positif : les cocci, les bacilles corynéformes et non corynéformes.

- Les cultures à culture spécifique et bactéries non cultivables.

- Les bactéries anaérobies strictes.

- Les mycobactéries.

- Antibiogrammes : choix, tests, interprétation phénotypique.

- Sérodiagnostic.

- Outils moléculaires : PCR, champ pulsé, séquençage et analyse de l'ADN

A la fin du cours, le Diplôme de l'Institut Pasteur sera délivré. Cet enseignement, dispensé en convention avec les Universités Pierre et Marie Curie (Paris 6) et Denis Diderot (Paris 7), peut aboutir à la délivrance d'un **Diplôme Interuniversitaire**.

##### 3 - Biochimie des protéines

Ce cours a pour but de donner aux étudiants une formation théorique et pratique orientée vers la compréhension, en termes de structure chimique et de conformation, des propriétés fonctionnelles des protéines et de leurs interactions spécifiques avec les divers constituants cellulaires impliqués dans les grandes fonctions biologiques.

Il comprend un cycle de conférences et des travaux pratiques centrés sur l'étude des relations entre la structure, la fonction et l'intégration cellulaire des protéines.

Les thèmes abordés sont : Les stratégies de production des protéines recombinantes. La caractérisation physique et chimique de protéines purifiées. L'analyse structurale et bio-informatique.



Il est prévu que cet enseignement soit validé comme l'une des parties de certains Masters (2e année) des Universités d'Ile-de-France (Pierre et Marie Curie-Paris 6, Denis Diderot-Paris 7 et Paris-Sud 11, Orsay). Ceci sera opérationnel dès que les Masters seront en place, à la rentrée universitaire 2004-2005 pour les étudiants inscrits dans ces établissements.

A la fin du cours, le Diplôme de l'Institut Pasteur sera délivré. Cet enseignement, dispensé en convention avec les Universités Pierre et Marie Curie (Paris 6) et Denis Diderot (Paris 7), peut aboutir à la délivrance d'un **Diplôme Interuniversitaire**.

#### 4 - Biologie moléculaire de la cellule

L'objectif de ce cours est de former les étudiants à la démarche intellectuelle et aux méthodes expérimentales de la Biologie Cellulaire. Il associe étroitement une formation pratique et théorique dans les domaines les plus actuels de la recherche en biologie cellulaire.

Les thèmes suivants sont abordés : organisation fonctionnelle de la cellule (compartiments membranaires, cytosquelette, polarité cellulaire) ; routages intracellulaires (transport des protéines membranaires et sécrétées, endocytose des macromolécules) ; cytosquelette ; contacts et communications entre cellules ; interactions bactéries intracellulaires - cellules hôtes ; signalisation et transduction des messagers cellulaires ; échanges noyau-cytoplasme ; cycle cellulaire.

Les techniques mises en oeuvre seront celles de l'analyse génétique, la transfection et l'expression des gènes clonés, la culture cellulaire, la reconstitution *in vitro* des fonctions cellulaires, la visualisation des constituants cellulaires y compris par les techniques les plus récentes de microscopie confocale et d'imagerie.

Cet enseignement doit être validé comme l'une des parties de certains Masters (2e année) des universités d'Ile-de-France (René Descartes-Paris 5, Pierre et Marie Curie-Paris 6, Denis Diderot-Paris 7 et Paris-Sud 11, Orsay). Ceci sera opérationnel dès que les Masters seront en place, à la rentrée universitaire 2004-2005, pour les étudiants inscrits dans ces établissements. A la fin du cours, le diplôme de l'Institut Pasteur sera délivré. Cet enseignement dispensé en convention avec les Universités Pierre et Marie Curie (Paris 6) et Denis Diderot (Paris 7), peut aboutir à la délivrance d'un **Diplôme Interuniversitaire**.

#### 5 - Circulation des agents infectieux et maîtrise du risque (Ecole pasteurienne d'infectiologie)

Ce cours délivré dans le cadre de l'Ecole Pasteurienne d'Infectiologie (EPI), s'adresse à des médecins, pharmaciens, vétérinaires, scientifiques et ingénieurs, français ou étrangers, souhaitant acquérir des connaissances dans le domaine de l'épidémiologie descriptive des maladies infectieuses et de leur prévention.

Il a pour objectif de former des spécialistes capables d'apprécier les relations entre les agents infectieux, leurs hôtes et l'environnement. L'accent sera mis sur les différents modes de transmission et sur les conséquences éco-épidémiologiques des modifications du milieu liées aux activités humaines. Un autre aspect concernera les principes de surveillance et de prévention des maladies infectieuses.

Des situations épidémiologiques particulières, choisies dans les domaines de la virologie, de la bactériologie, de la parasitologie et de la mycologie, seront développées dans une optique multidisciplinaire.

Cet enseignement doit être validé comme l'une des parties de Master (2e année) de l'Université de Versailles Saint-Quentin. Ceci sera opérationnel dès que les Masters seront en place, à la rentrée universitaire 2004-2005, pour les étudiants inscrits dans cet établissement.

#### 6 - Développement et plasticité du système nerveux

Ce cours comprend une formation pratique et théorique dans les domaines les plus actuels de la recherche en neurobiologie cellulaire et moléculaire, en relation avec l'étude du développement, de la plasticité, des pathologies et de la réparation du système nerveux.

Les thèmes abordés sont : la neurogénèse embryonnaire ; son programme génétique et sa régionalisation, la croissance neuritique ; la synaptogenèse et l'établissement de réseaux neuronaux ; le développement et le fonctionnement de systèmes sensoriels ; les processus de maturation des réseaux ; la neurogénèse adulte et sa signification fonctionnelle ; la régénération du système nerveux par les cellules souches et la thérapie génique ; la formation et les pathologies de la myéline ; la nature du privilège immunitaire du cerveau et la barrière hémato-encéphalique ; le transport axonal des virus et les infections virales persistantes du système nerveux ; les outils d'analyse cellulaire et comportementale de l'organisation et du fonctionnement du système nerveux chez des souris normales, transgéniques ou dans le cadre de modèles pathologiques.

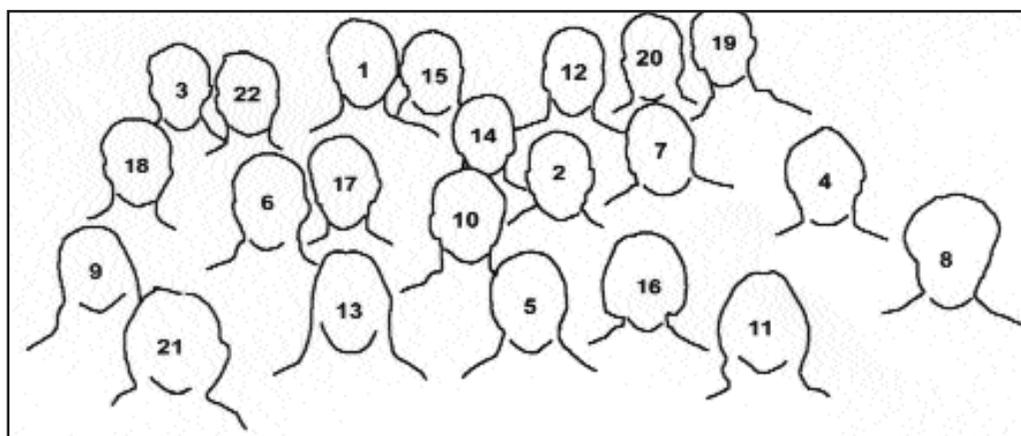
Les travaux pratiques font une large place à des approches expérimentales et des méthodologies nouvelles pour élucider l'organisation anatomique et fonctionnelle du système nerveux, le développement du système nerveux et ses dysfonctionnements.

Cet enseignement doit être validé comme l'une des parties de certains Masters (2e année), des Universités d'Ile-de-France (René Descartes-Paris 5, Pierre et Marie Curie-Paris 6, et Denis Diderot-Paris 7). Ceci sera opérationnel dès que les Masters seront en place, à la rentrée universitaire 2004-2005 pour les étudiants inscrits dans ces établissements.

A la fin du cours, le Diplôme de l'Institut Pasteur sera délivré. Cet enseignement, dispensé en convention avec les Universités Pierre et Marie Curie (Paris 6) et Denis Diderot (Paris 7), peut aboutir à la délivrance d'un **Diplôme Interuniversitaire**.

## B. RÉSULTATS DES COURS

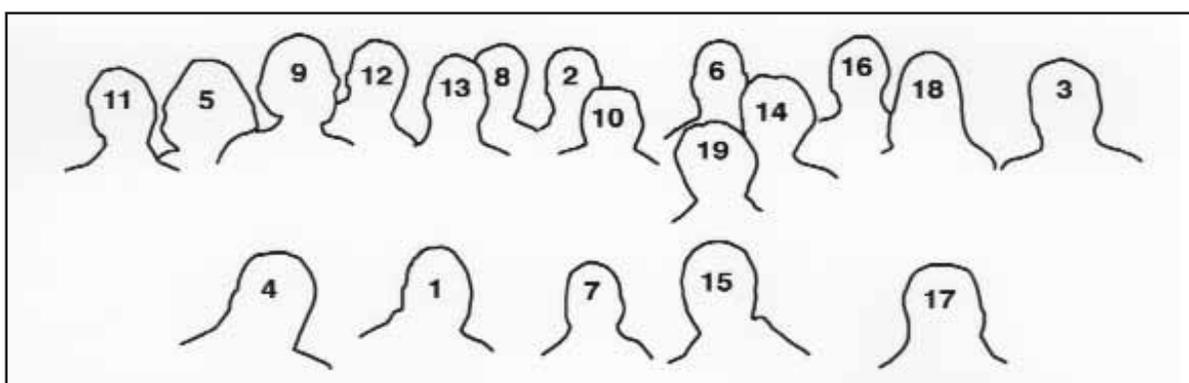
### ■ LES ÉLÈVES DU COURS "BIOCHIMIE DES PROTÉINES" ET LEURS ENSEIGNANTS - 12 JANVIER - 27 FÉVRIER 2004



- |   |  |
|---|--|
| 1. <b>BANNWARTH</b> Ludovic                             | - <b>GOVINDIN</b> Mariannick (IP) (absente)                |
| 2. <b>BARHOUMI</b> Mourad (Tunisie)                     | 13. <b>HUYET</b> Jessica                                   |
| 3. <b>BERNARD JAOLU</b> Adrien                          | 14. <b>LEFEVRE VERHEYDEN</b> Julien                        |
| 4. <b>BETTON</b> Jean-Michel (Directeur)                | 15. <b>MAROUN</b> Rachid (Enseignant) (IP)                 |
| 5. <b>BONHOMME</b> Céline                               | 16. <b>MERIAUX</b> Véronique (IP)                          |
| 6. <b>BOUGATEF</b> Karim (Tunisie)                      | 17. <b>RABHI</b> Imen                                      |
| 7. <b>CHAFFOTTE</b> Alain (Directeur)                   | 18. <b>RICHARD</b> Nicolas                                 |
| 8. <b>CHARLES</b> Marie-Hélène (IP)                     | 19. <b>ROCHE</b> Stéphane (Enseignant - CNRS - Gif/Yvette) |
| 9. <b>CUERVO GASPAS</b> Ana                             | 20. <b>ROUSSEAU</b> Erwann                                 |
| 10. <b>DAOUST</b> Grégoire                              | 21. <b>SASSOON-CLAVIER</b> Nathalie (IP)                   |
| 11. <b>FICHELLE</b> Delphine                            | 22. <b>SEGUIN</b> Jérôme                                   |
| 12. <b>GAUDIN</b> Yves (Enseignant - CNRS - Gif/Yvette) |  |

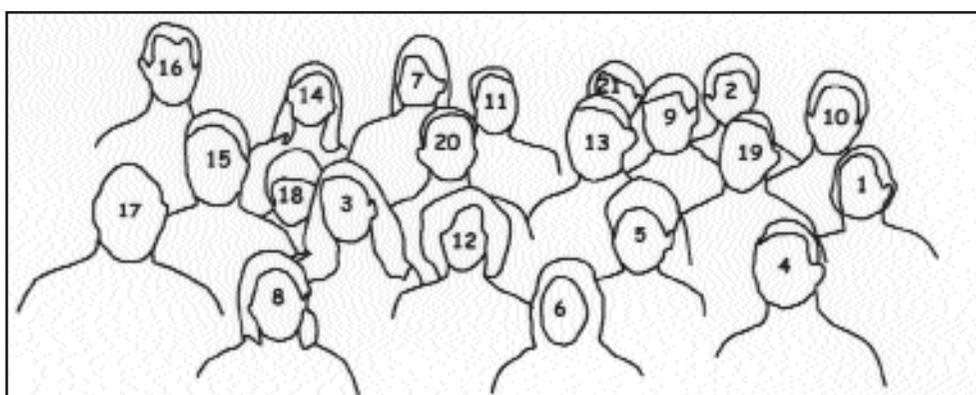


■ **LES ÉLÈVES DU COURS "ENTOMOLOGIE MÉDICALE" 2003-2004  
ET LEURS ENSEIGNANTS**  
- 22 MARS -14 MAI 2004



- |  |                                      |
|--|--------------------------------------|
| 1. ANTONIO NKONDJIO Christophe ( <i>Cameroun</i> ) | 11. MOUSSON Laurence ( <i>IP</i> )   |
| 2. AYALA GONZALEZ Diego ( <i>Espagne</i> )         | 12. MUYA Dibaya ( <i>Congo</i> )     |
| 3. BARANTON Guy ( <i>IP</i> )                      | 13. NICOLAS Luc ( <i>IP</i> )        |
| 4. BOUBIDI Saïd ( <i>Algérie</i> )                 | 14. PEREZ-EID Claudine ( <i>IP</i> ) |
| 5. CORRE-CATELIN Nicole ( <i>IP</i> )              | 15. PEYREFITTE Christophe            |
| 6. CZEHER Cyril                                    | 16. RODHAIN François ( <i>IP</i> )   |
| 7. DIA Ibrahima ( <i>Sénégal</i> )                 | 17. SARIH M'Hammed ( <i>Maroc</i> )  |
| 8. LABBO Rabiou ( <i>Niger</i> )                   | 18. VAZEILLE Marie ( <i>IP</i> )     |
| 9. MENTOU TADZONG Catherine ( <i>Cameroun</i> )    | 19. VILLERET Régine ( <i>IP</i> )    |
| 10. MOUROU MBINA Jean-Romain ( <i>Gabon</i> )      |                                      |

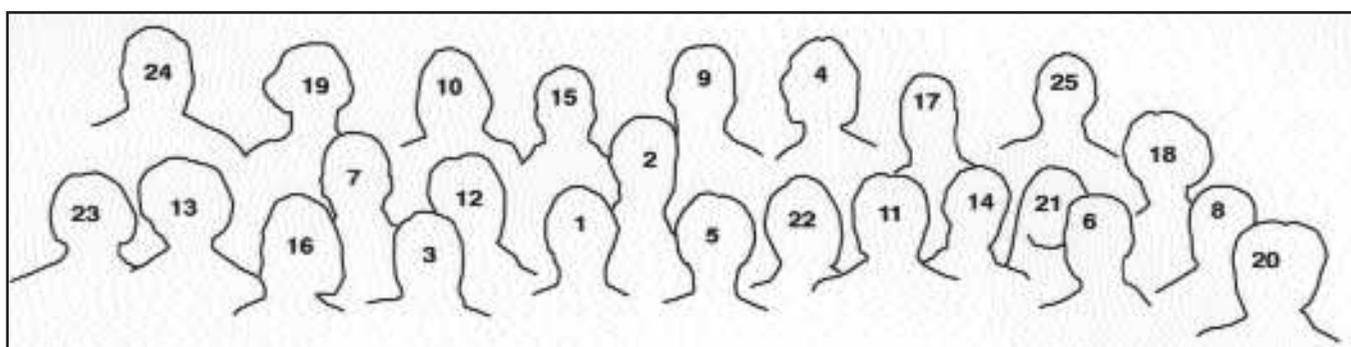
## ■ LES ÉLÈVES DU COURS "VIROLOGIE SYSTÉMATIQUE" ET LEURS ENSEIGNANTS



- |   |  |
|---|--|
| 1. Mme <b>ABDELATIF</b> El Bia ( <i>Algérie</i> )       | 12. Mme <b>ICHOU</b> Houria                                    |
| 2. M. <b>AGNELLO</b> Davide ( <i>Italie</i> )           | 13. M. <b>JUTCHA</b> Florent ( <i>Cameroun</i> )               |
| 3. Mlle <b>ATTALI</b> Julie                             | 14. Mlle <b>LAGATHU</b> Gisèle                                 |
| 4. M. <b>BASHAR</b> Rouzbeh ( <i>Iran</i> )             | 15. M. <b>LAHLOU AMINE</b> Idriss ( <i>Maroc</i> )             |
| 5. Mlle <b>BORHAN</b> Rosa                              | 16. M. <b>MAHIEUX</b> Renaud ( <i>IP</i> )                     |
| 6. Mlle <b>BOUDJADJA</b> Soumeya ( <i>Algérie</i> )     | 17. M. <b>MANUGUERRA</b> Jean-Claude ( <i>IP</i> )             |
| 7. Mlle <b>FERAL PIERSENS</b> Anne-Laure                | 18. Mme <b>MERIAUX</b> Véronique ( <i>IP</i> )                 |
| 8. Mme <b>FKI BERRAJAH</b> Lamia ( <i>Tunisie</i> )     | 19. M. <b>NAKOUNE YANDOKO</b> Emmanuel ( <i>Centrafrique</i> ) |
| 9. M. <b>FLUSIN</b> Olivier                             | 20. M. <b>NDIAYE</b> Abdou Kader ( <i>Sénégal</i> )            |
| 10. M. <b>GESSAIN</b> Antoine ( <i>IP</i> )             | 21. Mlle <b>SADONES</b> Hélène                                 |
| 11. Mme <b>GUEYE NDIAYE</b> Aïssatou ( <i>Sénégal</i> ) |  |



**■ LES ÉLÈVES DU COURS "MYCOLOGIE MÉDICALE"  
ET LEURS ENSEIGNANTS  
JUN 2004**



- |  |  |
|--|--|
| 1. <b>AFIA</b> Lilia ( <i>Algérie</i> )  | 13. <b>KALLEL EL EUCH</b> Dalenda ( <i>Tunisie</i> ) |
| 2. <b>BOIRON</b> Patrick ( <i>Fac. de Pharmacie - Lyon I</i> )                 | 14. <b>LEMRISS</b> Sanaa ( <i>Maroc</i> )            |
| 3. <b>BOURA</b> Hasna ( <i>Maroc</i> )   | 15. <b>LMIMOUNI</b> Badre Eddine ( <i>Maroc</i> )    |
| 4. <b>CAUWENBERGH</b> Sarah ( <i>Belgique</i> )                                | 16. <b>MACHOUART</b> Marie                           |
| 5. <b>CHABANE</b> Sandrine ( <i>IP</i> )                                       | 17. <b>NOUBOM</b> Michel ( <i>Cameroun</i> )         |
| 6. <b>CONTET-AUDONNEAU</b> Nelly (*) ( <i>Hôp. Fournier - Nancy</i> )          | 18. <b>NUGUES</b> Viviane ( <i>IP</i> )              |
| 7. <b>DUBOURDEAU</b> Marc ( <i>IP</i> )  | 19. <b>RENOIR</b> Céline                             |
| 8. <b>DUNAND</b> Jean (*) ( <i>Hôp. Ambroise Paré - Boulogne Billancourt</i> ) | 20. <b>ROUFFAUD</b> Marie-Ange ( <i>IP</i> )         |
| 9. <b>FLORI</b> Pierre   | 21. <b>ROUSSEL</b> Sandrine                          |
| 10. <b>FREALLE</b> Emilie  | 22. <b>SARFATI-BERT</b> Jacqueline ( <i>IP</i> )     |
| 11. <b>GRANET</b> Oumaïma ( <i>IP</i> )  | 23. <b>SERVAIS</b> Christine ( <i>IP</i> )           |
| 12. <b>HACHICHA JARRAYA</b> Lilia ( <i>Tunisie</i> )                           | 24. <b>SOLER</b> Charles                             |
|  | 25. <b>WAXIN</b> Hervé ( <i>IP</i> )                 |

(\*) Enseignants



## II • RECHERCHE

### A. THÉRAPIE CELLULAIRE DU FOIE : UNE AVANCÉE IMPORTANTE

La greffe de cellules souches capables de régénérer le foie est un espoir pour le traitement de maladies comme l'insuffisance hépatique, la cirrhose, ou le cancer du foie, pour lesquelles la greffe de foie, limitée par le manque d'organes disponibles, est souvent la seule alternative possible. Dans cette perspective, l'équipe de Mary WEISS (Unité de Génétique de la Différenciation, Institut Pasteur/CNRS URA 2578), en collaboration avec l'Unité mixte Inserm-Institut Pasteur "Carcinogénèse hépatique et Virologie moléculaire" dirigée par Patrizia PATERLINI, a fait une avancée majeure chez l'animal : elle a greffé à des souris atteintes de dégénérescence hépatique des cellules souches embryonnaires non transformées, qui se sont différenciées en cellules fonctionnelles du foie et des canaux biliaires. Prochaine étape pour les chercheurs : obtenir des lignées de cellules souches adultes. Ce type de lignées offrirait la possibilité d'utiliser les cellules du patient lui-même, et d'éviter ainsi la réaction du greffon contre l'hôte, qui est une des limites actuelles de la thérapie cellulaire. Ces travaux, publiés dans PNAS, ont été menés dans le cadre du Grand Programme Horizontal "Cellules souches", qui regroupe quinze laboratoires de recherche du campus pasteurien, et qui est dirigé par Mary WEISS et Jean-Michel HEARD, directeur de l'Unité Rétrovirus et Transfert génétique (IP/INSERM 622).

Pour en savoir plus, lisez le communiqué de presse en ligne : <http://www.pasteur.fr/actu/presse/com/communiqués/04ReparationFoie.html> (Source : BIP 27/05/2004).

### B. DÉCRYPTER LES SECRETS DE L'ÉVOLUTION : L'EXEMPLE DES LEVURES

Un groupement de laboratoires français, nommé Génolevures, publie dans "Nature" du 1er juillet 2004 l'analyse de la séquence de quatre nouvelles espèces de levures. L'analyse des cartes chromosomiques, de l'évolution des familles de gènes (et donc de protéines) et des redondances génomiques révèle les mécanismes complexes d'évolution de ces différentes espèces de levure. Cette étude de génomique comparative a été dirigée par Bernard DUJON (Institut Pasteur-CNRS) et Jean-Luc SOUCIET (CNRS-Université Louis Pasteur), coordinateur de Génolevures. Réalisée pour la première fois sur les levures, cette analyse est exemplaire des progrès permis par la génomique pour comprendre la diversité et l'évolution du

monde vivant, bien au-delà de ce micro-organisme unicellulaire. Pour en savoir plus, lisez le communiqué de presse en ligne à l'adresse :

<http://www.pasteur.fr/actu/presse/com/communiqués/04GenomeLevure.htm> (Source : BIP 02/07/2004).

### C. UN ESPOIR DANS LE TRAITEMENT DU MÉLANOME

Une étude menée par une équipe Institut Pasteur-Inserm<sup>2</sup>, en collaboration avec l'hôpital Saint-Louis, et publiée dans "The Journal of Immunology", ouvre un espoir important dans le traitement du mélanome.

Cette étude, réalisée à partir de ganglions de malades souffrant de mélanomes métastatiques, a permis de démontrer que les lymphocytes Treg (pour "T régulateurs"), en remplissant leur rôle de frein aux phénomènes d'auto-immunité, empêchent aussi l'organisme de se défendre contre les cellules tumorales. Des expériences antérieures menées sur des animaux atteints de tumeurs ont montré que la suppression des Treg, associée à une immunothérapie, permettait une guérison définitive de ces animaux. L'objectif des scientifiques est désormais de mettre en place un essai thérapeutique chez l'homme afin de confirmer cette hypothèse. Pour en savoir plus, lisez le communiqué de presse à l'adresse :

<http://www.pasteur.fr/actu/presse/com/communiqués/04melanome IP Inserm.htm>

Version anglaise :

<http://www.pasteur.fr/actu/presse/press/04melanoma IP Inserm-E.htm> (Source : BIP : 02/09/2004).

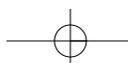
### D. ADN MITOCHONDRIAL

Des chercheurs de l'Institut Pasteur associés au CNRS<sup>3</sup> viennent de montrer l'importance de l'insertion de petites séquences d'ADN mitochondrial dans le génome humain. Ces insertions sont potentiellement mutagènes et peuvent être associées à des pathologies graves. Ces travaux pourraient permettre la mise au point de nouveaux outils diagnostiques dans le domaine du cancer et une meilleure évaluation des risques liés aux radiations. Pour en savoir plus :

<http://www.pasteur.fr/actu/presse/com/communiqués/04Genomehumain.html> ou bien

<http://www.pasteur.fr/actu/presse/com/communiqués/04Genomehumain.html>

<sup>2</sup> Travail mené par Manuelle VIGUIER, sous la direction de Laurent FERRADINI dans l'Unité de Biologie Moléculaire du Gène (Institut Pasteur- Unité Inserm 277) dirigée par Philippe KOURILSKY.





### III • INTERNATIONAL

#### A. L'INSTITUT PASTEUR DE LILLE REJOINT LE RÉSEAU INTERNATIONAL

L'Institut Pasteur de Lille a rejoint le Réseau International des Instituts Pasteur le 26 juin dernier.

Créée en 1894, cette fondation reconnue d'utilité publique accueille aujourd'hui 1.100 personnes. L'Institut Pasteur de Lille, dirigé par le Pr. Philippe AMOUYEL, héberge un ensemble d'activités dans la droite ligne de la tradition pasteurienne :

- des activités de recherche en santé humaine
- des activités d'expertise en santé, alimentation et environnement
- des activités d'enseignement et de formation
- des activités liées à la santé publique (centre de médecine préventive et service de vaccination).

Ses actions internationales (recherche, activités de service) font de l'Institut Pasteur de Lille un partenaire naturel des Instituts du Réseau international depuis plusieurs années.

Site web :

<http://www.pasteur-lille.fr> (Source : BIP 09/07/2004).

#### B. L'INSTITUT STEPHAN ANGELOFF REJOINT LE RÉSEAU INTERNATIONAL

L'Institut de Microbiologie Stephan Angeloff, situé à Sofia en Bulgarie, a rejoint le Réseau International des Instituts Pasteur en tant qu'institut associé. Fondé le 7 mars 1947, cet institut emploie 171 personnes. Ses activités, y compris à l'international, sont dans la droite ligne de la tradition pasteurienne : recherche dans le domaine des maladies infectieuses ; enseignement et formation ; santé publique. Les domaines de recherche actuels de l'Institut Stephan Angeloff sont la Bactériologie, la Virologie, l'Immunologie infectieuse et la Microbiologie appliquée. Il participe, au niveau national, à la lutte contre certaines infections bactériennes ou virales :

Salmonelloses, tuberculose, yersinioses, listériose, grippe, maladies respiratoires aiguës, poliomyélite, etc. L'intégration de l'Institut Stephan Angeloff dans le Réseau International des Instituts Pasteur permet le développement du Réseau en Europe.

Site web de l'Institut Stephan Angeloff :

<http://www.microbio.bas.bg/intr.html> (Source : BIP 5/07/2004).

#### C. LANCEMENT DU RÉSEAU EUROPÉEN "ÉPIGÉNOME"

Et si l'hérédité n'était pas uniquement portée par les gènes ? Des découvertes récentes ont en effet montré que des modifications, dites "épigénétiques", affectent l'information héréditaire sans que le code génétique soit modifié. Parmi elles, on peut citer la fixation de groupements chimiques sur l'ADN et les protéines qui lui sont associées. Non seulement ces découvertes bouleversent notre vision "classique" de l'hérédité, mais elles permettent aux scientifiques d'étudier sous un tout nouvel angle le vieillissement cellulaire, le cancer, ou la différenciation des cellules souches. C'est à ce domaine émergent de la biologie que va se consacrer le Réseau d'excellence européen "Epigénome". Ce Réseau, qui sera officiellement lancé le 24 septembre 2004, regroupera 25 laboratoires européens, parmi lesquels deux groupes français, dont celui de Philippe AVNER (Laboratoire CNRS - Institut Pasteur de Bases génétiques, moléculaires et cellulaires du développement). L'objectif à 5 ans est de créer une plate-forme dédiée à la recherche et à la communication dans le domaine de l'épigénétique.

Site web du Réseau :

[http://www.epigenome.imp.ac.at/content/con\\_intro.html](http://www.epigenome.imp.ac.at/content/con_intro.html)

Pour en savoir plus :

<http://www.pasteur.fr/actu/presse/com/communiqués/04epigenome.htm> (Source : BIP 06/09/2004).

### IV - NECROLOGIE

La direction de l'Institut Pasteur fait part du décès de deux pasteuriens.

● Monsieur **Bruno HURTREL**, Chef de laboratoire à l'Institut Pasteur, est décédé le 17 juillet 2004.

Né le 30 mars 1945 à Bolbec, Monsieur Bruno HURTREL était titulaire d'un doctorat vétérinaire (Toulouse 1970). Il a intégré l'Institut Pasteur dès 1973, après avoir été Assistant de recherche à l'INRA à partir d'octobre 1972. Après avoir participé au projet de création de l'Animalerie centrale, auprès de

<sup>3</sup> Miria RICCHETTI, de l'unité de Génétique et Biochimie du Développement (Institut Pasteur - CNRS) et Bernard DUJON, de l'Unité de Génétique Moléculaire des Levures (Institut Pasteur - CNRS). Travaux publiés dans *Public Library Of Sciences*, 7 septembre 2004.



Jean-Louis GUENET, il rejoint l'unité de Philippe LAGRANGE, elle-même au sein de l'unité d'Immunophysiologie cellulaire dirigée par Robert FAUVE, où il mène des travaux sur l'hyposensibilité retardée chez la souris, en particulier sur les facteurs nutritionnels au cours de l'induction des réponses immunitaires et au cours de candidoses expérimentales chez la souris.

Il est promu au grade de Chargé de recherche en janvier 1980, puis au grade de Chef de laboratoire en janvier 1985, son activité s'étant poursuivie dans le domaine de l'immunité à médiation cellulaire (candidoses et maladie de Chagas). Il aborde ensuite l'étude de la résistance naturelle et acquise à *Mycobacterium tuberculosis* et après immunisation par le BCG.

Le 1<sup>er</sup> juin 1988, il rejoint l'unité d'Oncologie virale dirigée par Luc MONTAGNIER où il met en place les modèles d'infections lentivirales chez les primates et développe un programme d'études d'encéphalites expérimentales induites par des virus (SIV et FIV) proches des virus du Sida humain.

C'est en 1990 que Bruno HURTREL conçoit, en relation avec l'ANRS, le Centre de Rennemoulin, dont de nombreux collègues ont bénéficié pour leurs recherches sur des candidats vaccins contre le Sida. Des études remarquables sur la physiopathologie des infections SIV sont issues de ce Centre.

En 2001, il devient chef de l'Unité de recherche et d'expertise " Physiopathologie des infections lentivirales ", alliant à la fois recherche et activités au service de l'Institut Pasteur, reconnues par ses pairs, en apportant ses compétences et son dévouement à de nombreuses équipes de recherche en France.

Les travaux de Bruno HURTREL ont été consacrés par plus d'une centaine de publications scientifiques. Parallèlement, il s'est fortement impliqué dans des tâches d'enseignement et de formation, en virologie fondamentale notamment, tout en prodiguant de précieux conseils à ses collègues dans le domaine de l'expérimentation animale, notamment par son approche éthique. Il représentait l'Institut Pasteur à la Commission nationale vétérinaire du Ministère de l'Agriculture.

Nous apprécions tous le sens des responsabilités et les qualités humaines de Bruno HURTREL.

● Monsieur **Raymond DEDONDER**, Directeur Honoraire de l'Institut Pasteur, est décédé le 5 septembre 2004

Raymond DEDONDER est né le 30 août 1920, à Joinville-le-Pont. Entré comme stagiaire de recherche au CNRS en 1943, il soutient sa thèse de Doctorat ès Sciences naturelles en 1952 sur la structure et la biochimie des glucides présents dans les réserves d'une plante, le topinambour. Nommé attaché de recherche en 1947, il entre en 1948 dans le Service des Fermentations dirigé par le Pr. M. LEMOIGNE à l'Institut Pasteur. Il est nommé directeur de recherche au CNRS en 1961. Intégré à l'Institut Pasteur au grade de chef de service en 1965, il devient professeur à la faculté des sciences de Paris en 1966.

Son intérêt pour le métabolisme des sucres s'est élargi au monde bactérien. A partir des années 1960, il se consacre à l'étude d'une protéine enzymatique responsable de la biosynthèse, à partir du saccharose, de polymères de fructose (lévanes) chez *Bacillus subtilis*. Parallèlement, il s'est intéressé aux propriétés de *Bacillus thuringiensis*, pathogène pour cer-

tains insectes nuisibles en agriculture ou vecteurs de maladies tropicales, dont l'utilisation s'est avérée très prometteuse. L'avènement du génie génétique, dans les années 1980, lui a permis d'approfondir les connaissances sur les mécanismes moléculaires qui contrôlent les éléments génétiques intervenant dans le transport et le métabolisme des glucides chez *B. subtilis* d'une part, et dans la biosynthèse des protéines toxiques de *B. thuringiensis*, d'autre part. Raymond DEDONDER a également contribué au développement de la génétique de *B. subtilis*, qui a abouti à la détermination complète de la séquence du génome de cette bactérie en 1997 par un consortium européen et japonais et dont il a été un des éléments moteurs initiaux. Au cours de sa longue carrière, Raymond DEDONDER a formé de très nombreux chercheurs, à l'Institut Pasteur et à la Faculté des Sciences de Paris-Jussieu. Ils garderont de lui l'image d'un chercheur d'une très grande rigueur et d'un conseiller avisé d'une droiture absolue.

En 1966, il est chargé de la création de l'Institut mixte – CNRS – Faculté des sciences de Paris sur le site de la Halle aux Vins (Jussieu). Il est, de 1970 à 1978, le directeur de ce nouvel Institut de Recherche de Biologie Moléculaire, devenu depuis Institut Jacques Monod. Il y dirige jusqu'en 1981 une unité de Biochimie cellulaire, qui rejoint l'Institut Pasteur en 1981.

Réintégré comme professeur à l'Institut Pasteur, il se voit confier en 1981 les fonctions de Directeur scientifique du développement. A la fin de cette même année, il est appelé par le Conseil d'Administration à succéder à François GROS comme Directeur de l'Institut Pasteur, fonctions qu'il exerce du 1<sup>er</sup> janvier 1982 au 31 décembre 1987.

Sa direction est notamment marquée par le conflit opposant l'Institut Pasteur aux autorités américaines sur la reconnaissance de l'identification du virus responsable du Sida, et la délivrance d'un brevet sur les méthodes de diagnostic. Il a joué un rôle décisif dans cette bataille difficile, et conclu puis signé les accords de 1987. De 1988 à ce jour, il a présidé la Fondation Mondiale sur le Sida, issue de ces accords, qui a pu promouvoir et financer de nombreux projets intéressants les pays en voie de développement.

De 1988 à 1994, il a été membre du conseil d'administration de l'Institut Pasteur, avant de devenir en 1996, membre de son Assemblée.

Raymond DEDONDER était officier de la Légion d'honneur, commandeur de l'Ordre national du Mérite et Commandeur des Palmes académiques.

Rappelons que c'est sous la direction de Raymond DEDONDER qu'a été organisé en 1987 le Centenaire de l'Institut Pasteur. Cette manifestation prestigieuse a permis de célébrer le passé, mais aussi d'œuvrer "pour un nouveau siècle" de succès de l'Institut Pasteur.

D'une honnêteté scrupuleuse dans ses analyses et ses choix, courageux et déterminé dans son action, Raymond DEDONDER a été un grand directeur de notre Institut qu'il a marqué de sa personnalité.

Que les familles éprouvées trouvent ici l'expression de nos très sincères condoléances.



## V • INFORMATIONS DIVERSES

### DÉCISIONS DU CONSEIL D'ADMINISTRATION

Sur proposition du Directeur Général, le Conseil d'Administration du 3 juin 2004 a pris les décisions suivantes :

- Madame Brigitte GICQUEL est nommée Directeur du Département de Pathogénèse microbienne jusqu'au 31 décembre 2005. Elle succède à Madame Agnès LABIGNE qui assurait cette fonction depuis le 1er janvier 2002.

- L'unité postulante de Biologie systémique est créée, après consultation du Conseil Scientifique. Elle est placée sous la direction de Monsieur Benno SCHWIKOWSKI et est rattachée au département de Structure et Dynamique des Génomes (*Source : BIP 08/06/2004*).

## MUSÉE PASTEUR

Le Musée Pasteur est une source de documentation inégalable.  
Pensez à en proposer la visite à vos proches, vos amis, vos enfants.

Ce musée propose des souvenirs pasteurien, des ouvrages, des objets pratiques et des supports pédagogiques. Ce sont des cadeaux très appréciés par vos collègues étrangers.  
Pensez à vous en munir lors de vos déplacements.

- Ouverture au public :  
De 14 h à 17 h, du lundi au vendredi (sauf en août et jours fériés)  
Tél. 01 45 68 82 82. Courriel : a.perrot@pasteur.fr



## INFORMATIONS

### I - CONGRÈS ET COLLOQUES<sup>1</sup>

#### ----- Octobre 2004 -----

##### ■ 24 – 27 octobre à Venise (Italie)

XV International Symposium on **Drugs affecting lipid metabolism**.  
 ⇒ Fondazione Giovanni Lorenzini, via A. Appiani 7, 20121 Milan, Italie. Tél. 39 02 29 00 62 67, téléc. 39 01 29 00 70 18. Courriel : [dalm@lorenzinifoundation.org](mailto:dalm@lorenzinifoundation.org) (Source : *Bull Soc Fr Microbiol*, 19, 2, 2004)

#### ----- Novembre 2004 -----

##### ■ 4 – 6 novembre à Paris-La Défense

##### **Journées internationales de biologie (JIB)**

Les Journées Internationales de Biologie qui ont remplacé les Journées de Biologie Clinique à la suite d'une internationalisation sont devenues un événement très important. Elles comportent des manifestations organisées par la SFBC (Société française de biologie clinique), les 12èmes journées de l'Internat des Hôpitaux de Paris (qui n'ont lieu que tous les deux ans), les Journées Biologiques de Lariboisière, un atelier organisé (comme l'année dernière) pour les techniciens de laboratoire, une session de formation SFBC qui a pour but de faire le point sur plusieurs domaines d'actualité pour les laboratoires de Biologie Médicale, une journée du Secrétariat de laboratoire et grâce à un partenariat une journée de l'Espagne et du Portugal où seront traités les contrôles de qualité dans ces pays. Enfin, pendant ces journées, aura lieu une exposition de matériel de laboratoire à laquelle participeront des firmes étrangères. Différents rendez-vous d'affaires peuvent être préparés par le commissaire général des JIB. Les journées s'achèveront par une session professionnelle des biologistes où il sera discuté du marquage des réactifs (marquage CE dans la communauté européenne) et de la réforme de l'assurance maladie.

⇒ Site internet : [www.sdbio.fr](http://www.sdbio.fr) – Annemarie DESHAYES, 9 Villa Pierre Ginier, 75018 Paris. Tél. 01 43 87 42 32, téléc. 01 43 87 30 72. Courriel : [comevent@comevent.com](mailto:comevent@comevent.com)

##### ■ 6 – 10 novembre à Dijon (Hôtel de Ville)

##### **2<sup>nd</sup> World Calicivirus Conference**

⇒ Pierre POTHIER. Courriel : [calicimeeting@u-bourgogne.fr](mailto:calicimeeting@u-bourgogne.fr) - Site web : [www.eufoodborneviruses.net](http://www.eufoodborneviruses.net) (Source : *Bull Soc Fr Microbiol*, 19, 2, 2004)

##### ■ 17 – 19 novembre à Monte-Carlo (Monaco)

##### **DNA Vaccines 2004 : the gene vaccine Conference**

⇒ J. HERRIOT. Tél. 04 83 42 77 70, téléc. 04 83 42 85 16. Courriel : [jherriot@meetingsmgmt.u-net.com](mailto:jherriot@meetingsmgmt.u-net.com). Site web : [www.meetingsmanagement.com/dna\\_2004](http://www.meetingsmanagement.com/dna_2004) (Source : *Bull Soc Fr Microbiol*, 19, 2, 2004)

##### ■ 17 – 20 novembre à l'Institut Pasteur

5<sup>ème</sup> conférence Louis Pasteur sur les maladies infectieuses : **Pathogènes et leurs écosystèmes**.

⇒ Institut Pasteur, CIS, 28 rue du Docteur Roux, 75724 Paris Cedex 15. Tél. 01 40 61 30 25, courriel : [clp@pasteur.fr](mailto:clp@pasteur.fr). Site web : [www.pasteur.fr/infosci/conf/sb/CLP5/](http://www.pasteur.fr/infosci/conf/sb/CLP5/) (Source : *Bull Soc Fr Microbiol*, 19, 2, 2004)

##### ■ 24 – 27 novembre à Düsseldorf (Allemagne)

##### **Medica 2004.**

⇒ Promessa, 3, rue de la Louvière, BP 37, 78512 Rambouillet. Tél. 01 34 57 11 44, téléc. 01 34 57 11 40. Courriel : [promessa@promessa.com](mailto:promessa@promessa.com) (Source : *Bull Soc Fr Microbiol*, 19, 2, 2004)

##### ■ 25 - 26 novembre 2004 à Issy-les-Moulineaux

##### **Innovations technologiques et handicap**

Ces entretiens s'inscrivent dans la réflexion que le ministère de la Recherche mène actuellement sur le même sujet. Ce colloque est organisé par l'Institut Garches et l'IFR 25.

⇒ Agence Vocatif - 8 avenue de la République - 75011 Paris - Tél. 33 (0)1 43 55 33 60, téléc. 33 (0)1 43 55 38 31

##### ■ 26 novembre à Paris

##### **From bench to bedside : immune tolerance versus priming.**

⇒ Secrétariat de la SFI, 28 rue du Docteur Roux, 75724 Paris Cedex 15. Tél. 01 45 68 81 64, téléc. 01 45 67 46 98. Site web : [www.sfi-immunologie.com](http://www.sfi-immunologie.com) (Source : *Bull Soc Fr Microbiol*, 19, 2, 2004)

#### ----- Décembre 2004 -----

##### ■ 1<sup>er</sup> décembre à l'Institut Pasteur (CIS)

##### **L'antibiogramme au 21<sup>ème</sup> siècle (1<sup>ère</sup> partie).**

⇒ SFM, 28 rue du Docteur Roux, 75724 Paris cedex 15, tél. 01 45 68 81 79, téléc. 01 45 67 46 98, courriel : [cmurphy@pasteur.fr](mailto:cmurphy@pasteur.fr) (Source : *Bull Soc Fr Microbiol*, 19, 2, 2004)

##### ■ 1<sup>er</sup> – 3 décembre à Paris

6<sup>th</sup> European Congress of **Chemotherapy** et 24<sup>ème</sup> réunion interdisciplinaire de **chimiothérapie anti-infectieuse** (RICAI)

⇒ Alexia NOLLENT. Tél. 01 40 64 20 00, téléc. 01 40 64 27 44. Site web : <http://www.ricai.org> (Source : *Bull Soc Fr Microbiol*, 19, 2, 2004)

##### ■ 10 décembre à l'Institut Pasteur

##### **Colloque - Ludwik RAJCHMAN (1881-1965) de l'Institut Pasteur à l'UNICEF - une vie pour l'humanitaire**

Journée consacrée à Ludwik RAJCHMAN, premier directeur de l'Organisation d'hygiène de la Société des nations, créateur de l'UNICEF, et cofondateur, avec Robert Debré, du Centre international de l'Enfance. Précurseur dans le domaine la préven-

<sup>1</sup> Les congrès et colloques ne sont mentionnés qu'une fois.



tion, RAJCHMAN fut une des figures principales des institutions sanitaires et humanitaires internationales de la première moitié du XXe siècle. Il a laissé derrière lui trois institutions majeures : l'Institut d'hygiène de Pologne, l'UNICEF et l'Organisation mondiale de la santé (dont il fut le père spirituel). L'objet de ce colloque sera de faire connaître RAJCHMAN aux acteurs de la santé publique et de la médecine humanitaire actuelles, ainsi qu'à tous ceux qui s'intéressent à l'Europe centrale et aux origines des institutions internationales.

⇒ Daniel DEMELLIER : [ddemelli@pasteur.fr](mailto:ddemelli@pasteur.fr)

Site web : <http://www.pasteur.fr/infosci/archives/b-exp2a.html>  
(en français)

#### ----- Janvier 2005 -----

■ 21 janvier à l'Institut Pasteur (Grand amphithéâtre)

**Bactéries et virus responsables d'infections uro-génitales (VIH exclu)**

⇒ SFM, 28 rue du Docteur Roux, 75724 Paris cedex 15, tél. 01 45 68 81 79, téléc. 01 45 67 46 98, courriel : [cmurphy@pasteur.fr](mailto:cmurphy@pasteur.fr)  
(Source : *Bull Soc Fr Microbiol*, 19, 2, 2004)

#### ----- Février 2005 -----

■ 2 - 4 février à Marseille

**Journées du réseau de Mycologie.**

⇒ SFM, 28 rue du Docteur Roux, 75724 Paris cedex 15, tél. 01 45 68 81 79, téléc. 01 45 67 46 98, courriel : [cmurphy@pasteur.fr](mailto:cmurphy@pasteur.fr)  
(Source : *Bull Soc Fr Microbiol*, 19, 2, 2004).

#### ----- Mars 2005 -----

■ 9 mars 2005 à Paris (Hôpital Cochin, Amphithéâtre Florent Coste)

- 21<sup>ème</sup> Journée de Rhumatologie de l'Hôpital Cochin - 1e journée du Pôle ostéoarticulaire "Exercices à visée thérapeutique et pathologies ostéoarticulaires"

⇒ Magali VALLET-AMOR, Institut de Rhumatologie, Hôpital Cochin, 27, rue du Fg St Jacques, 75679 Paris Cedex 14. Tél. 01 58 41 25 76

La 21<sup>ème</sup> journée est organisée par les services de rhumatologie (Pr B. AMOR - Pr M. DOUGADOS Pr A. KAHAN, Pr C. J. MENKES), le service de rééducation (Pr M. REVEL, Pr POIRAUDEAU), l'Institut Cochin (C. FOURNIER, G. CHIOCCHIA) et la Société Robert Verspyck

Téléchargez le bulletin d'inscription au format .pdf :

<http://www.snmr.org/documents/21JR.pdf>

■ 15-18 mars 2005 à Paris

**MEDEC**

Société 3E 21 rue Camille Desmoulins 92789 Issy Les Moulineaux cedex 9. Tél. : 01 73 28 15 40/69 - Fax : 01 73 28 15 58 - Tél. (administratives) : n° vert 0 800 204 408

⇒ Site web : [www.lemedec.com](http://www.lemedec.com)

E-mail : [secretariat@lemedec.com](mailto:secretariat@lemedec.com)

#### ----- Avril 2005 -----

■ 16-20 avril 2005 à Anaheim (Etats-Unis)

**96<sup>th</sup> Annual Meeting of the American Association for Cancer Research-AACR**

⇒ American Association for Cancer Research-AACR

Public Ledger Building, Suite 826 - 150S Independence Mall West, Philadelphia, PA 19106-3483, USA - Tel. (administratives) : 1/215/440 9300, téléc. (administratives) : 1/215/351 9165

#### ----- Juin 2005 -----

■ 1<sup>er</sup> - 4 juin à l'Institut Pasteur

**7<sup>ème</sup> Congrès International sur le transport, le stockage et le métabolisme du fer chez les microorganismes**

Iron is essential, but also highly toxic for most cells including bacteria. Thus, iron homeostasis is critical for bacterial survival and virulence. The scientific program will focus on the molecular mechanisms modulating iron balance such as uptake, storage and metabolism and their consequences on virulence. / Le fer est un élément à la fois essentiel et toxique pour la plus part des organismes y compris les bactéries. Son homéostasie est cruciale pour la multiplication des bactéries et leur virulence. Le programme scientifique fera le point sur les mécanismes moléculaires permettant d'équilibrer les besoins en fer tels que le transport, le stockage et le métabolisme du fer et leurs effets sur la pathogénicité.

⇒ Sandra BOBICHON ([colloque@pasteur.fr](mailto:colloque@pasteur.fr))

■ 26 - 29 juin à Lyon

8<sup>th</sup> Symposium on **Bacterial genetics and Ecology** : BAGECO 8.

⇒ M. MAGNIN, tél. 04 72 43 84 02, téléc. 04 72 44 07 32. Courriel : [Bageco8.reg@microbial-ecology.org](mailto:Bageco8.reg@microbial-ecology.org)

#### ----- Juillet 2005 -----

■ 18 - 22 juillet à University Park, Pennsylvanie (Etats-Unis)

**24<sup>th</sup> annual scientific meeting of the American Society for Virology.**

⇒ Grossberg, Secretary-Treasurer, American Society for Virology, Dpt of Microbiology & Molecular Genetics, Medical College of Wisconsin, 8701 Watertown Plank Road, Milwaukee, WI 53226-0509, Etats-Unis. Tél. 1 414 456 8104, téléc. 1 414 456 6566. Mél : [ASV@mcw.edu](mailto:ASV@mcw.edu) (Source : *Bull Soc Fr Microbiol*, 19, 2, 2004).

#### ----- Septembre 2005 -----

■ 11 - 15 septembre à Marseille

**Medicine and Health in the tropics**

⇒ Pr. AMBROISE-THOMAS. Tél. 01 41 05 94 10, téléc. 01 41 05 94 19. Courriel : [Alexandra@albine-conseil.fr](mailto:Alexandra@albine-conseil.fr). Site web : [www.iftm-pharo2005.org](http://www.iftm-pharo2005.org)

■ 25 - 29 septembre à Cairn (Australie)

Symposium international Lancefield sur les **Streptocoques et les infections streptococciques.**

⇒ Site web : [www.qimr.edu.au/whatson/conf/Lancefield2005](http://www.qimr.edu.au/whatson/conf/Lancefield2005)  
(Source : *Bull Soc Fr Microbiol*, 19, 2, 2004).



## II. CONFÉRENCES

### ■ JSF 2004 À TOKYO

Les prochaines Journées scientifiques francophones (JSF) se tiendront les 4 et 5 novembre 2004 à Tokyo (Japon).

⇒ Site web : <http://www.jeunesdocteurs.com/bloc-notes/2004/ad-568.html>

### ■ Conférences "Science-Débats" de l'Ecole Normale Supérieure :

- Mardi 16 novembre 2004 : Claire SALOMON-BAYET : "Un avenir pour le néo-hippocratisme : questions à la Bio-Médecine"

- Mardi 7 décembre 2004 : Jean WEISSEBACH : "Les microbes : anges-gardiens de la Biosphère."

Dans le cadre des 18-19 de l'Ecole Normale Supérieure les conférences "Science-Débats" ont lieu à l'ENS, 45 rue d'Ulm, Paris 05 : Amphi DUSSANE à 18 heures précises

⇒ [Sciences-debats@ibpc.fr](mailto:Sciences-debats@ibpc.fr)

### ■ 5<sup>ème</sup> Conférence Louis Pasteur sur les Maladies Infectieuses :

Pathogènes et leurs écosystèmes traitera de la relation entre les agents infectieux et leurs écosystèmes. En plus du rôle de l'environnement sur l'expression et l'évolution de la résistance et de

la pathogénicité des agents infectieux, seront abordés les problèmes d'émergence de pathogènes nouveaux, de relations entre organismes commensaux et surfaces de l'hôte, et de lutte contre les infections transmises par les arthropodes vecteurs.

Lieu: Institut Pasteur - Du Mercredi 17 Novembre 2004 au Samedi 20 Novembre 2004

⇒ Robert MÉNARD ([clp@pasteur.fr](mailto:clp@pasteur.fr))

<http://www.pasteur.fr/infosci/conf/sb/CLP5/> (en français)

<http://www.pasteur.fr/infosci/conf/sb/CLP5/> (in english)

### ■ Euroconférence sur les Cellules Souches

Elle a pour but de réunir des experts spécialistes en biologie des cellules souches, afin de faire le point sur le sujet et d'aborder certains thèmes controversés. Les présentations porteront sur les cellules souches embryonnaires, les cellules souches neurales ainsi que d'origine mésenchymateuse, endodermale et ectodermale. Une emphase particulière sera donnée aux cellules souches adultes multipotentes ou pluripotentes.

9 et 10 décembre 2004, Institut Pasteur

⇒ Informations : <http://www.pasteur.fr/applications/euroconf/stemcells/index.html>

## III. ENSEIGNEMENT ET FORMATION

### ■ Université Louis Pasteur, Strasbourg

Biotechnologies

16 – 19 novembre 2004 : Techniques d'analyse immunogénétique

6 – 9 décembre 2004 : Biologie moléculaire des génomes et introduction à la bio-informatique

9 – 13 mai 2005 : Initiation aux techniques de microscopie et électronique appliquées au matériel biologique

23 – 27 mai 2005 : Clonage moléculaire et PCR en temps réel

6 – 10 juin 2005 : Profils d'expression de gènes par analyse du transcriptome

Formations diplômantes

8 – 10 mars 2005 : Bonnes pratiques de laboratoire

23 – 27 mai 2005 : Validation de méthodes d'analyse

⇒ Département d'Education permanente, 21 rue du Maréchal Lefebvre, 67100 Strasbourg. Tél. 03 90 24 49 20, téléc. 03 90 24 49 29

### ■ Université Paris Sud XI

6 – 10 décembre 2004 : Le risque chimique en laboratoire et sa prévention

⇒ Formation permanente, Centre scientifique d'Orsay, Université Paris-Sud, Les Algorithmes, 91405 Orsay Cedex. Tél. 01 69 35 60 00, téléc. 01 69 35 01 01.

Courriel : [fporsay@fp.u.psud.fr](mailto:fporsay@fp.u.psud.fr)

(Source : *Bull Soc Fr Microbiol*, 19, 2, 2004).

### ■ EMBL : European Molecular Biology Laboratory (Heidelberg)

programme des formations : <http://www.embl-heidelberg.de>

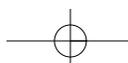
- L'EMBL propose un Programme international d'études doctorales permettant de préparer un doctorat à l'EMBL de Heidelberg (Allemagne), dans ses antennes de Hambourg, de Grenoble, de Hinxton (Angleterre), ou dans le cadre du nouveau programme de génétique de la souris à Monterotondo (Italie).

Les candidats potentiels peuvent être issus des disciplines suivantes : biologie, chimie, médecine et sciences physiques.

⇒ Matthias HENTZE : European Molecular Biology Laboratory - Meyerhofstrasse 1 - 69177 Heidelberg (Allemagne)

Tél. 49-6221-387430 – téléc. 49-6221-387306

Courriel : [predocs@embl-heidelberg.de](mailto:predocs@embl-heidelberg.de)





## IV. BOURSES, STAGES DOCTORAUX POST-DOCTORAUX ET APPELS

### ■ Fondation CNP soutient 10 projets consacrés à la lutte contre la douleur

Cette Fondation lance un nouvel appel à projets sur le thème de la lutte contre la douleur.

L'utilité directe de ces projets pour les malades et leur famille, leur caractère innovant et leur insertion dans une démarche globale seront pris en compte.

La date limite de dépôt de dossiers des deux sessions qui se tiendront en 2005 sont le 20 octobre 2004 et le 20 avril 2005.

CNP : agir contre la douleur (sous l'égide de la Fondation de France) soutient des projets concernant la

recherche clinique, l'information et la sensibilisation des professionnels et du grand public, les soins palliatifs et la qualité des soins.

Le dossier-type de présentation de projet est disponible sur le site Internet [www.cnp.fr](http://www.cnp.fr) dans la rubrique mécénat et doit être déposé avant le 20 octobre 2004.

⇒ Tamara BERNARD. Tél. 01 42 18 86 19

Courriel : [servicepresse@cnp.fr](mailto:servicepresse@cnp.fr)

⇒ Service Mécénat de CNP Assurances au 01 42 18 86 35 ou [fondation@cnp.fr](mailto:fondation@cnp.fr)

## V. PRIX ET DISTINCTIONS

### ■ Prix de l'AFAS

L'Association française pour l'avancement des sciences (Afas) attribue des prix d'encouragement à la recherche. Date limite de candidature : 1<sup>er</sup> décembre 2004.

Fondée en 1872, l'Association française pour l'avancement des sciences a pour vocation d'organiser le dialogue entre la communauté scientifique et le public. Elle décerne aussi des prix d'encouragement à la recherche.

Quatre prix seront attribués en 2004 :

1. Le prix Irène Meynieux (1.000 €) récompense un jeune chercheur de moins de trente ans, auteur d'un travail personnel sur un sujet scientifique en rapport avec la philosophie des sciences.

2. Le prix Jean-Louis Parrot (1.000 €) récompense un jeune chercheur de moins de trente ans, auteur d'un sujet de biologie générale.

3. Le prix de l'association Actualités de l'hydrologie (1.000 €) récompense un candidat résidant dans l'espace communautaire et ayant poursuivi des recherches approfondies en hydrologie, notamment dans le cadre de la préparation d'un doctorat.

4. Le prix Yvette Joutel (800 €) récompense une étude personnelle sur la prévention des pollutions.

Les candidatures doivent parvenir à l'Afas avant le 1<sup>er</sup> décembre 2004.

⇒ Site web : [www.avancement-sciences.org](http://www.avancement-sciences.org)

## VI. DIVERS

### ■ France Contact

France Contact s'adresse aux futurs, actuels et anciens chercheurs étrangers invités en France, notamment les chercheurs post-doctoraux. Le site fournit tout d'abord toutes les clés pour préparer et organiser au mieux son séjour en France : recherche d'un laboratoire d'accueil et d'un financement, guide des formalités administratives... L'adhésion (gratuite) permet aux chercheurs étrangers de bénéficier aussi de services supplémentaires, tant sur Internet (informations personnalisées en fonction du pays d'origine et de la région d'accueil en France) que dans la vie courante. Citons par exemple une assistance administra-

tive et juridique, des assurances spécialement négociées pour les chercheurs en mobilité, ou encore des facilités bancaires. France Contact permet enfin aux chercheurs étrangers de rester en relation avec la France une fois rentrés dans leur pays, ainsi qu'avec tout le réseau mondial des chercheurs étrangers invités en France.

France Contact est un site réalisé par l'Agence pour la diffusion de l'information technologique (Adit), avec la collaboration de la Fondation nationale Alfred Kastler (Fnak) et le soutien du ministère des affaires étrangères.

⇒ Site web : [www.francecontact.net](http://www.francecontact.net)



## LIVRES

### NOS LECTURES

□ P. CH. LEFEVRE, Jean BLANCOU\* et R. CHERMETTE ont coordonné un remarquable et volumineux ouvrage en 2 tomes<sup>1</sup>, véritable traité consacré aux **PRINCIPALES MALADIES INFECTIEUSES ET PARASITAIRES DU BÉTAIL D'EUROPE ET DES RÉGIONS CHAUDES**

Le tome I est consacré, d'une part, aux généralités (273 pages), d'autre part aux maladies virales (486 pages).

La première partie comprend 18 chapitres répartis en 4 sections qui font légitimement une large place aux conditions propres aux régions chaudes, conditions que connaissent particulièrement bien les coordonnateurs qui y ont longtemps exercé leur art. Ces 4 sections correspondent à 4 axes essentiels :

- économie de la santé animale, incidence des maladies transmissibles des animaux sur le commerce international, rôle des organisations intergouvernementales dans la prophylaxie de ces maladies, conditions de la coopération internationale ;
- particularités épidémiologiques des régions chaudes ;
- vecteurs : tiques, vecteurs des arboviroses, des trypanosomoses, mollusques d'intérêt vétérinaire ;
- dépistage et maîtrise, c'est-à-dire techniques classiques et apport de la biologie moléculaire et du génie génétique au diagnostic, conditions de l'immunité, de son acquisition et des applications pratiques de celles-ci, résistance génétique, règles de la police sanitaire.

La seconde partie de ce tome I, consacrée aux maladies virales des animaux, est elle-même divisée en 3 sections :

- maladies virales à transmission directe (chapitres 19 à 51). La plupart d'entre elles étaient classiquement considérées comme épargnant l'homme, bien qu'on ait connu de longue date des exceptions exemplaires comme la rage. C'est donc leur importance économique qui expliquait le grand intérêt qu'on leur portait. Mais, depuis quelques années, on constate que leurs agents (*Morbillivirus*, virus grippaux, *Poxvirus*...) peuvent infecter gravement l'homme ;
- maladies virales à transmission vectorielle (chapitres 52 à 60). Ce sont surtout des arboviroses qui, dans certains cas, peuvent être responsables d'épidémies humaines ravageuses (fièvre de la vallée du Rift en particulier).
- Agents non conventionnels (chapitres 61 et 62). L'encéphalopathie spongiforme bovine domine, bien sûr, cette section.

Dans la section des vecteurs, trois chapitres sont consacrés aux tiques, séparées des autres vecteurs d'arbovirus (culicoïdes et moustiques). En effet, phlébotomes et tiques n'interviennent, dans la transmission des arbovirus, que dans le cas de ceux qui sont pathogènes pour l'homme ; ils n'ont donc pas une place déterminante dans cet ouvrage, en tant que tels. Par contre, un court chapitre sur les insectes vecteurs mécaniques est le bienvenu.

Dans la partie réservée aux spécificités de l'épidémiologie, un chapitre expose l'apport de la modélisation mathématique à la prévision en épidémiologie et insiste notamment sur le rôle des conditions climatiques en prenant comme exemple El Niño, dont l'impact a été considérable.

Autour des 3 coordonnateurs, 106 auteurs ont apporté leur expérience à la rédaction de ce traité qui est, par ailleurs, de lecture très attrayante et luxueusement illustré. Dans la préface, Y. CHENEAU, Chef de service à la FAO, rappelle que cet ouvrage " vient à son heure " ; en apportant " les dernières informations scientifiques disponibles ", il comble le déficit que présentait la littérature vétérinaire de langue française par rapport à son homologue de langue anglaise.

Voilà donc un ouvrage de référence de haut niveau scientifique qui a sa place dans toutes les bibliothèques fréquentées par tous les biologistes et responsables de santé publique, et pas seulement de la santé animale. Car chacun aura bien souvent à le consulter, tant les maladies infectieuses animales et humaines tendent à s'imbriquer de plus en plus. Nous n'en citerons que deux exemples : la rage, connue depuis l'Antiquité et, parmi les maladies dites émergentes, la fièvre due au virus Ebola ou la " grippe aviaire humaine " due au *Myxovirus A/H<sub>5</sub>/N<sub>1</sub>* comme les dépêches émanant de l'OMS la dénomment.

Alain CHIPPAUX

### □ UNE PETITE HISTOIRE DE LA MÉDECINE

Claude CHASTEL\*. L'esprit des Sciences, Coll. Ellipses. Mars 2004

L'histoire de la médecine, c'est l'histoire de l'Humanité dans ce qu'elle a de plus noble : la préservation de la vie et la lutte contre la souffrance. C'est aussi l'histoire de l'évolution de la pensée humaine, de ses errements et de ses éclairs de génie dans sa réflexion sur la vie.

Le voyage, passionnant, que nous faisons aujourd'hui avec Claude CHASTEL, nous mène des débuts de l'humanité jusqu'à nos jours : des premiers balbutiements des prêtres égyptiens jusqu'à l'évolution prodigieuse des connaissances théoriques et pratiques des deux derniers siècles.

Tous les aspects de la médecine sont présents dans cet ouvrage : la maladie, les traitements utilisés au cours des siècles par les différentes écoles, l'évolution de la chirurgie, les maladies infectieuses, puis la génétique médicale, l'immunologie, la radiologie et l'imagerie médicale.

En conclusion, l'auteur nous livre quelques réflexions sur l'avenir de la médecine qui, malgré ses récentes prouesses, ne doit pas nous faire oublier que tout n'est pas gagné pour l'Humanité : l'apparition de nouvelles maladies, dues souvent à

<sup>1</sup> Voir l'analyse du second volume dans le Bulletin n° 179, rubrique " Livres ".



nos erreurs dans la gestion de l'écologie planétaire (Sida, SARS...) est là pour nous rappeler à un peu de modestie et à beaucoup de vigilance.

D'une lecture aisée, accessible à tous, cet ouvrage concis, remarquablement didactique, ne s'adresse pas qu'aux

étudiants en médecine qui devraient cependant y trouver matière à réflexion ; il concerne chacun de nous et nous réserve à tous le plaisir d'un récit passionnant.

Monique THIBON

## PARUTIONS RECENTES

### ❑ MÉDECIN LIEUTENANT AU 1<sup>o</sup> BATAILLON MUONG - INDOCHINE (1954-1955)<sup>2</sup>

André THABAUT\*

Editions l'Harmattan, 5-7, rue de l'École Polytechnique, 75005 PARIS. ISBN : 2-7475-6331-6. Prix : 17 €, 192 pages.

### ❑ LES ACTUALITÉS PERMANENTES EN BACTÉRIOLOGIE CLINIQUE (2000-2004).

Coordinateurs : J. FRESNEY, F. RENAUD, C. BOLLET, R. LECLERC. Editions Eska, 2 tomes, 500 pages. (Source : *Bull Soc Fr Microbiol*, 19, 2, 2004).

### ❑ FONDS MONOD - "Les origines de la biologie moléculaire, hommage à J. MONOD"

Une édition revue et complétée de "*Origins of Molecular Biology, attribute to Jacques Monod*", présentée par Agnès ULLMANN, est parue récemment aux éditions *American Society for Microbiology Press*.

Vous pouvez commander ce livre aux "Editions Médicales Internationales" (<http://www.eminter.fr>) : numéro de catalogue ISBN 1-55581-281-3 (Source : *BIP* 12/03/2004).

### ❑ PRINCIPALES MALADIES INFECTIEUSES ET PARASITAIRES DU BÉTAIL - EUROPE ET RÉGIONS CHAUDES

Deux volumes, sous la direction de P.C. LEFÈVRE, J. BLANCOU\*, R. CHERMETTE, coordinateurs de 106 auteurs. EMInter - Editions TEC & DOC. Allée de la Croix-Bossée - 94234 Cachan Cedex. ISBN : 2-7430-0495-9. 150 €.

### ❑ CODE SANITAIRE POUR LES ANIMAUX TERRESTRES\*\*\*

Treizième édition : disponible à partir d'août 2004. Réf. F. 126. 55 €

### ❑ LETTRE OUVERTE À MONSIEUR PASTEUR LOUIS

Par le Docteur Yves ROBIN. Feel France Europe Editions, 2002.

### ❑ ACTES DE LA CONFÉRENCE MONDIALE SUR LE BIEN-ÊTRE ANIMAL

Trilingue. Réf. T. 123. Gratuit. Une contribution de 20 € est demandée pour couvrir les frais d'envoi et de gestion.

### ❑ ZOONOSES ET MALADIES TRANSMISSIBLES COMMUNES À L'HOMME ET AUX ANIMAUX

Volume 1 (Bactéries et mycoses), 2004, 3<sup>ème</sup> édition. Réf. T. 122-1. 50 €,

### ❑ ATLAS D'HISTOLOGIE ET DE CYTOLOGIE DES MOLLUSQUES BIVALVES MARINS

Bilingue. Réf. B 117, 70 €.

### ❑ TRAITE DE MICROBIOLOGIE CLINIQUE

Troisième mise à jour. Sous la direction de de A. EYQUEM\*, J. ALOUF\* et L. MONTAGNIER. Piccin Ed., 2003

### ❑ THE DELPHIC BOAT : WHAT GENOMES TELL US

by A. DANCHIN, translated by Alison QUAYLE, Harvard University press, USA, 2002.

### ❑ LA MÉDECINE ROUENNAISE À L'ÉPOQUE DE CHARLES NICOLLE, DE LA FIN DU XIX<sup>E</sup> SIÈCLE AUX ANNÉES 1930.

Mélanie MATAUD & Pierre-Albert MARTIN. Préface de Béatrice PANNEQUIN-NICOLLE. Caricatures de René DUBUC. Édité en faveur de l'Association Charles Nicolle pour la recherche médicale hospitalière en Haute-Normandie. Ed. Bertout (2003). Commande auprès du Docteur PA MARTIN, 101 rue Martainville - 76000 Rouen (30 euros à joindre à la commande).

### ❑ INITIATION À L'ÉTHIQUE MÉDICALE

Ouvrage sous la direction de H. BRUNSWIC et M. PIERSON. Ed. Vuibert, juillet 2002 (23 euros).

### ❑ FIEVRE APHTEUSE : FAIRE FACE AUX NOUVEAUX DILEMMES

G.R. THOMSON, éd. Revue scientifique et technique de l'OIE, Vol. 21 (3), décembre 2002. ISSN 0253-1933 - ISBN 92-9044-568-8. Réf. R21 3. 498 Pages (45 euros, frais d'envoi par voie aérienne).

### ❑ TEL CLIMAT, QUELLE SANTÉ ?

Maurice HUET\*. 1 vol. 182 pages. Ed. l'Harmattan, Paris, 2002.

### ❑ MANUAL OF STANDARDS FOR DIAGNOSTIC TESTS AND VACCINES

OIE, 2000.

### ❑ CHIMIE ORGANIQUE

Christian BELLEC. Ed. Vuibert/ISBN : 2-7117-8999-3. 18x24 cm, 320 pages, 28 euros.

### ❑ LA GUERRE CONTRE LES VIRUS

Jean-François SALUZZO\*. Ed. Plon, septembre 2002.

<sup>2</sup> Une analyse de cet ouvrage sera proposée dans le prochain numéro du Bulletin.



❑ **AL CABO DE LA VELAS - EXPEDICIONES CIENTIFICAS EN COLOMBIA. SIGLOS XVIII, XIX Y XX**

Alberto GOMEZ GUTIERREZ\*. Instituto Colombiano de Cultura Hispanica, Bogota, Colombie (1998).

❑ **DEL MACROSCOPIO AL MICROSCOPIO - HISTORIA DE LA MEDICINA CIENTIFICA**

Universidad Javeriana et Alberto GOMEZ GUTIERREZ\*. Academia Nacional de Medicina, Bogo, Colombia (2000)

❑ **SINGULAR SELVES : HISTORICAL ISSUES AND CONTEMPORARY DEBATES IN IMMUNOLOGY**

Dialogues entre soi. Aspects historiques et débats contemporains en immunologie.  
Ed. A.M. MOULIN\* and A. CAMBROSIO. Ed. Elsevier (en anglais), 2001.

❑ **LA BIOLOGIE DES ORIGINES A NOS JOURS** - Une

histoire des idées et des hommes  
Pierre VIGNAIS\* (2001). Collection Grenoble Sciences. A commander à EDP Sciences, 7 avenue du Hoggar, BP 112, P.A. de Courtaboeuf, 91944 Les Ulis Cedex A. 480 p., 35 euros.

❑ **LES INSTITUTS PASTEUR D'OUTRE-MER**

Cent vingt ans de microbiologie française dans le monde.  
Jean-Pierre DEDET\*. A commander aux Ed. L'Harmattan, 7 rue de l'Ecole polytechnique, 75005 Paris, 2000.

❑ **ADRIEN CHARLES LOIR, PASTEURIEN DE PREMIÈRE GÉNÉRATION**

par Pieter G. JANSSENS, Marc WERY & Sonia PASKOFF.  
Disponible au Musée de l'Institut Pasteur.

❑ **LA FIN D'UN PROTECTORAT VUE PAR UN NAÏF**

Paul MARTINIÈRE - Préface de Pierre GANTÈS\*. Mémoire de notre temps - Ed. Le Belvédère F1 - Avenue M. Carrieu - 34080 Montpellier, 2001.

❑ **LA MOSAÏQUE HUMAINE. ENTRETIEN**

**SUR LES RÉVOLUTIONS DE LA MÉDECINE ET LE DEVENIR DE L'HOMME**

Jean BERNARD\* - Jean DAUSSET. Ed. Calmann-Lévy, 2000.

❑ **COMMENT LES VACHES SONT DEVENUES FOLLES**

Réflexions sur l'évolution des connaissances sur l'ESB (Encéphalopathie Spongiforme Bovine), la maladie de Creutzfeldt-Jakob et leurs conséquences. Maxime SCHWARTZ\*\*. Ed. Odile Jacob, 2001.

❑ **DIAGNOSTIC DE LABORATOIRE EN MYCOLOGIE MEDICALE**

Professeurs G. SEGRETAIN\*, E. DROUHET† et F. MARIAT†. 5<sup>ème</sup> édition, Ed. Maloine. Disponible au secrétariat de l'AAEIP, 1987.

Un livre qui, 70 ans après sa première publication, reste plus que jamais d'actualité...

**DESTIN DES MALADIES INFECTIEUSES**

Charles NICOLLE

*“ Il aurait été surprenant que l'homme dont le génie s'emploie tout autant au mal qu'au bien n'ait pas cherché une arme de destruction contre ses semblables dans les acquisitions de la science des maladies infectieuses.... Gardons-nous de conclure que la guerre microbienne est impossible et que dans le secret de certains laboratoires, malgré les protestations publiées, elle n'est pas partout préparée ”.* Ces propos du visionnaire que fut Charles NICOLLE, Prix Nobel de médecine, oh combien d'actualité, vous pourrez les trouver dans un livre “ *Destin des maladies infectieuses* ” publié en 1933 et dont l'Association des Anciens Elèves de l'Institut Pasteur a eu l'heureuse idée de faire une nouvelle édition en Juillet 1993.

Du haut de sa chaire du Collège de France, Charles NICOLLE a dit bien d'autres choses sur la naissance, la vie et la mort des maladies infectieuses, il y a plus de 70 ans, et nous ne saurions trop conseiller à ceux qui ne le connaissent pas de lire et garder en bonne place dans leur bibliothèque ce livre d'un grand pastorien dont la modestie est depuis sans cesse démentie par la permanente actualité de ses travaux et de ses réflexions. N'a-t-il pas écrit “ *il faut la foi puérile des savants pour imaginer que leur nom, le souvenir de leurs œuvres particulières seront conservés après eux* ”...

Ce livre vous permettra, quels que soient les thèmes envisagés, d'apprécier une qualité dans l'expression et un style qui sont un hommage renouvelé à la langue française.

Il reste encore quelques exemplaires de cette réédition dont les bénéfices sont destinés au service d'entraide de l'Association.

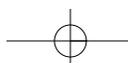
Pour les acquérir, il suffit d'en faire la demande à l'Association des Anciens Elèves de l'Institut Pasteur (25 rue du Docteur Roux, 75724 Paris Cedex 15. Tél. 01 45 68 81 65 ; télécopie : 01 43 27 72 37 ; courriel : vchoisy@pasteur.fr/). Il vous en coûtera la somme de 27,44 euros. Frais d'expédition en sus : 3,20 euros.

\* Membre de notre Association

\*\* Membre d'honneur de notre Association.

\*\*\* Publications de l'Office international des épizooties (OIE), 12 rue de Prony, 75017 PARIS. Site web : www.oie.int

NDLR L'Office international des épizooties (OIE) édite régulièrement le catalogue de ses publications, à consulter au Secrétariat de l'AAEIP.





## Association des Anciens Élèves de l'Institut Pasteur

**PRÉSIDENT FONDATEUR : Pierre BRYGOO**, Docteur en Médecine †  
**PRÉSIDENT D'HONNEUR : Professeur Philippe KOURILSKY**, Directeur général de l'Institut Pasteur

### CONSEIL D'ADMINISTRATION

#### ----- CONSEILLERS ELUS ET CONSEILLERS A VIE\* -----

##### A) MEMBRES DU BUREAU

- Président : **Michel DUBOS**, Docteur en médecine
- Vice-présidents : **Jean-Luc GUESDON**, Docteur ès sciences  
Pr. **Pierre SALIOU**, Docteur en médecine
- Trésoriers : **Jean-Paul PENON**, Docteur en pharmacie  
**Robert LE VAGUERESSE**, Docteur en médecine
- Secrétaires généraux :  
**Alain CHIPPAUX**, Docteur en médecine  
Professeur **Philippe LAGRANGE**, Docteur en médecine  
assistés de **Jean-Claude KRZYWKOWSKI**, Pharmacien
- Archivistes : **Alain CHIPPAUX**, Docteur en médecine  
**Jean-Claude KRZYWKOWSKI**, Pharmacien

##### B) RESPONSABLES DE COMMISSIONS

- Entraide : **Jean-Paul SALEUN**, Docteur en médecine
- Regain : Pr. **Marie-José SANSON-LE PORS**, Docteur en médecine
- Admissions : **Michel BERNADAC**, Docteur vétérinaire
- Finances : **Jean-Paul PENON**, Docteur en pharmacie
- Informatique et multimédia : **Philippe CRUAUD**,  
Docteur en pharmacie
- Activités culturelles : **Andrée DEVILLECHABROLLE**,  
Docteur en médecine
- Régionalisation : Pr. **Pierre SALIOU**, Docteur en médecine
- Bulletin : **Paulette DUC-GOIRAN**, Docteur en médecine
- Stagiaires et Relations internationales :  
**Valérie GUEZ**, Docteur ès sciences  
**Christel DEPIENNE**, Ingénieur agronome
- Annuaire : **Bernard VACHER**, Docteur vétérinaire\*

##### C) AUTRES CONSEILLERS

- Professeur **Henri Michel ANTOINE**, Docteur en médecine\*
- Olivier ADOTEVI PLAKOO**, Docteur en médecine
- Professeur **Edith BAR-GUILLOUX**, Docteur ès sciences
- Professeur **Michel BARME**, Docteur en médecine
- Paul T. BREY**, Docteur ès Sciences
- Damien CARLIER**, Docteur vétérinaire
- Jean-Michel CHAYET**, Docteur vétérinaire
- Philippe DESPRES**, Docteur ès sciences
- Vincent DEUBEL**, Docteur ès sciences
- Robert DUMAS**, Docteur en pharmacie
- Professeur **André EYQUEM**, Docteur en médecine
- René GAUMONT**, Docteur vétérinaire
- Valérie GUEZ**, Docteur ès sciences
- Maurice HUET**, Docteur en médecine
- Pierre INIGUEZ**, Docteur ès sciences
- Alain LEBLANC**, Docteur en médecine\* †
- Yvonne LE GARREC**, Docteur en pharmacie\*
- Professeur **Alain PHILIPPON**, Docteur vétérinaire
- François POTY**, Docteur en médecine
- Jean-Yves RIOU**, Docteur en médecine
- Françoise TAILLARD**, Docteur en médecine
- Jacques THÉBAULT**, Docteur en pharmacie\*
- Daniel VIDEAU**, Docteur vétérinaire\*
- Stephan ZIENTARA**, Docteur vétérinaire

#### ----- CONSEILLERS DESIGNES PAR LA DIRECTION DE L'INSTITUT PASTEUR -----

**Marie-Hélène MARCHAND**, Directeur-délégué à la Communication

**Isabelle SAINT GIRONS**, Directeur de l'Enseignement

#### ----- CONSEILLERS HONORAIRES -----

**Marie-Claire CARRÉ**, Docteur en médecine  
 Pr. **Bernard DAVID**, Docteur en médecine  
 Pr. **Jean-Claude TORLOTIN**, Docteur en pharmacie

Pr. **Pierre VERGEZ**, Docteur en médecine  
**Pierre VILLEMIN**, Docteur vétérinaire  
 Pr. **Elie L. WOLLMAN**, Sous-directeur honoraire de l'Institut Pasteur

### BIENFAITEURS

Nous remercions la Direction générale de l'Institut Pasteur et l'institution de Retraite ARRCO du groupe Malakoff, ainsi que les nombreux amis qui contribuent généreusement au succès des activités de l'Association.

### ADRESSE ET SECRÉTARIAT

**AAEIP**, Institut Pasteur, 25 rue du Docteur Roux, F-75724 Paris Cedex 15

- Tél. et télécopie : 01.43.27.72.37 - Tél. 01.45.68.81.65. Site Web : <http://www.pasteur.fr>>, rubrique "Enseignement"  
 CCP : 13.387.59 D Paris

**SECRÉTARIAT : Véronique CHOISY** - e-mail : [vchoisy@pasteur.fr](mailto:vchoisy@pasteur.fr)