

Sommaire

Résumé et mots clés

Introduction

I. Quelques généralités sur les trypanosomoses et la trypanotolérance associée

1.1 Généralités sur les trypanosomoses

- 1.1.1 Trypanosomes et leurs pathologies associées
- 1.1.2 Cycle parasitaire des trypanosomes
- 1.1.3 Trypanosomoses et tableaux cliniques et lésionnels associés
- 1.1.4 Physiopathologie des trypanosomoses
- 1.1.5 Méthodes de lutte contre les trypanosomoses

1.2 Antigénicité des trypanosomes

1.3 A propos de la trypanotolérance

- 1.3.1 Races concernées
- 1.3.2 Caractérisation du bétail trypanotolérant
- 1.3.3 Recherche de marqueurs de la trypanotolérance

1.4 Mécanismes non immunologiques de la trypanotolérance

- 1.4.1 Etat physiologique et adaptation
- 1.4.2 Le contact hôte-parasite
- 1.4.3 Implication possible de facteurs sériques trypanolytiques
- 1.4.4 Intervention hypothétique de facteurs agissant sur le pléomorphisme des formes parasitaires

II. Immunité et trypanosomes

2.1 La réaction cutanée

2.2 Immunité humorale

- 2.2.1 L'hypergammaglobulinémie
- 2.2.2 Immunité humorale comparée des bovins trypanosensibles et trypanotolérants

2.3 Immunité cellulaire

2.4 Hypocomplémentémie

- 2.4.1 Rôle du complément dans la trypanosomose
- 2.4.2 Hypocomplémentémie et ses causes possibles
- 2.4.3 Hypocomplémentémie et trypanotolérance

2.5 Immunosuppression

III. Quelques orientations de recherche axées sur la lutte anti-maladie

- 3.1 Réponse humorale d'animaux trypanotolérants et trypanosensibles face aux antigènes invariants des trypanosomes
- 3.2 Identification des antigènes invariants majeurs des trypanosomes
 - 3.2.1 Antigène 23 kD
 - 3.2.2 Antigène 69 kD
 - 3.2.3 Antigène 33 kD
- 3.3 Identification de la congopaine et essais d'immunisation
 - 3.3.1 Identification de la congopaine
 - 3.3.2 Essais d'immunisation avec deux formes de cystéines protéase

Conclusion

Bibliographie

RESUME

La prévalence de la trypanosomose bovine en Afrique tropicale et équatoriale constitue un frein majeur aux productions animales. Actuellement, aucune méthode de contrôle contre cette pathologie n'est pleinement satisfaisante. La réalisation pratique et le coût des méthodes anti-vectorielles ainsi que l'apparition de résistances aux médicaments trypanocides entravent largement la lutte contre cette maladie. De plus, l'espoir d'un vaccin traditionnel anti-parasite s'amenuise de plus en plus devant le phénomène de variation antigénique, la capacité des trypanosomes à modifier cycliquement leurs protéines de surface, échappant ainsi à la réponse immunitaire de l'hôte. Devant ces difficultés de lutte, la capacité de certains animaux à résister à la maladie ou trypanotolérance, a été mise à l'étude.

Les phénomènes de trypanotolérance s'ils étaient reproductibles pourraient permettre à des animaux trypanosensibles de conserver un état clinique correct et d'être productif malgré l'infection trypanosomienne. Des phénomènes adaptatifs non immunologiques ont pu être mis en évidence chez ces animaux trypanotolérants mais la principale observation actuelle expliquant la trypanotolérance est d'ordre immunologique. Les animaux trypanotolérants développent une réponse humorale particulière, visant notamment certains facteurs parasitaires. Le concept du vaccin anti-maladie est alors apparu : inhiber l'activité de certaines « toxines » parasitaires responsables d'effets pathogènes de la trypanosomose pour permettre à l'animal de conserver un bon état général malgré l'infection.

Plusieurs formes de cystéine protéase, métabolites des trypanosomes, ont été identifiées comme facteurs parasitaires participant à l'établissement de l'anémie et de l'immunosuppression, symptômes essentiels de la trypanosomose. Par ailleurs, les animaux naturellement trypanotolérants synthétisent en cas d'infection des immunoglobulines G spécifiques à ces enzymes. L'identification de ces cystéine protéases a été suivie par la synthèse des protéines recombinantes correspondantes, C1 et C2. Des essais d'immunisation avec ces deux protéines, suivies d'une infection à *Trypanosoma congolense* ont été réalisés sur des groupes d'animaux trypanotolérants et trypanosensibles. L'immunisation au C1 et au C2 a permis un recouvrement plus rapide des normes hématologiques et seule l'immunisation au C2 a permis d'enrayer les phénomènes d'immunosuppression.

L'espoir d'une lutte efficace repose désormais sur cette nouvelle voie de recherche, le vaccin anti-maladie. Différentes études actuelles explorent non seulement les réponses immunes des races locales à l'immunisation puis à l'infection mais également la reproductibilité de cet éventuel vaccin sur le terrain.

Mots clés : trypanosomose, trypanotolérance, immunité
cystéine protéase, congopaine, immunisation, vaccin

INTRODUCTION

Sur le continent africain, les ruminants occupent une place économiquement et socialement de première importance pour les populations. Pourtant, un tiers du continent, comptant pour les zones potentiellement les plus productives d'Afrique, est infesté par les mouches tsé-tsé, vecteurs des trypanosomoses chez l'homme et l'animal.

La trypanosomose bovine est un frein majeur à la production animale dans la plupart des pays d'Afrique tropicale. La forme chronique de la pathologie est l'atteinte la plus courante, caractérisée par une anémie, une perte de poids, une perturbation des fonctions de reproduction (23) et une sensibilité accrue envers des infections diverses, en relation avec une immunosuppression quasi systématique. Parmi les différents trypanosomes, *Trypanosoma congolense* est certainement l'espèce la plus pathogène pour le bétail africain.

Les méthodes de lutte actuelles ne permettent pas un contrôle de la pathologie efficace. La lutte anti-vectorielle est difficile à mettre en place et son coût peut freiner certains éleveurs, la chimioprévention ou prophylaxie est certes possible mais son usage répété ou à mauvaise escient a favorisé l'apparition de certaines résistances. De nombreux travaux ont été menés sur la réalisation d'un vaccin classique mais le phénomène de variation antigénique présenté par les trypanosomes a largement entravé cette voie de recherche.

Il est aujourd'hui envisagé, pour la trypanosomose ainsi que pour d'autres pathologies parasitaires, que le parasite lui-même n'est pas entièrement responsable de la pathogénie, les symptômes pouvant être plutôt liés à la libération de toxines parasitaires dans l'organisme de l'hôte. En conséquence, si ces facteurs parasitaires peuvent être inhibés, l'état général du malade pourrait s'améliorer sans pour autant éliminer les parasites. Par ailleurs, l'étude des mécanismes de la trypanotolérance, capacité de certains animaux à vivre et à produire malgré l'infection parasitaire, a permis d'identifier une réponse immune particulière, à savoir une expression précoce et importante d'immunoglobulines G spécifiques à des cystéine protéases. Cette propriété a, par la suite conduit à l'hypothèse de travail suivante : essayer de reproduire cette expression humorale spécifique, propre aux animaux résistants à la trypanosomose, chez des animaux trypanosensibles.

La première partie de ce document présente les principales données relatives à la trypanosomose bovine et à la trypanotolérance. Ensuite, une étude comparative entre l'immunité des animaux trypanosensibles et trypanotolérants pose les principales hypothèses explicatives de ce phénomène de tolérance à la maladie. Enfin, la dernière partie traite des actuelles voies de recherche axées sur le nouveau concept de vaccin anti-maladie, de l'identification des facteurs parasitaires pathogènes aux essais d'immunisation.

I QUELQUES GENERALITES SUR LES TRYPANOSOMOSES ET LA TRYPANOTOLERANCE ASSOCIEE

1.1. Généralités sur les trypanosomoses

1.1.1 Trypanosomes et leurs pathologies associées.

Les trypanosomoses humaines et animales sont des parasitoses dues à des protozoaires flagellés du genre *Trypanosoma*. De nombreuses espèces de trypanosomes existent et peuvent, selon la réceptivité de l'hôte et leur propre pathogénicité, provoquer des tableaux cliniques variés. Les trypanosomes sont essentiellement des parasites intra-vasculaires et extra-cellulaires mais peuvent avoir un tropisme plus large que le sang (système nerveux, choroïde, cavités articulaires,...).

Plus communément appelée maladie du sommeil, la trypanosomose humaine est largement répandue sur le continent africain (figure 1) et est principalement due à *T. brucei gambiense* (Afrique de l'Ouest) et *T. brucei rhodesiense* (Afrique de l'Est). L'espèce *T. cruzi* donne la maladie de Chagas en Amérique latine. Les principaux agents pathogènes des trypanosomoses animales sont représentés par *T. congolense*, *T. vivax* et *T. brucei brucei*. *T. congolense* demeure le premier responsable des trypanosomoses bovines, *T. vivax* présente un pouvoir pathogène variable et *T. brucei brucei* ne devient préoccupant que lors d'infection mixte (*T. congolense* et/ou *T. vivax*) (16).

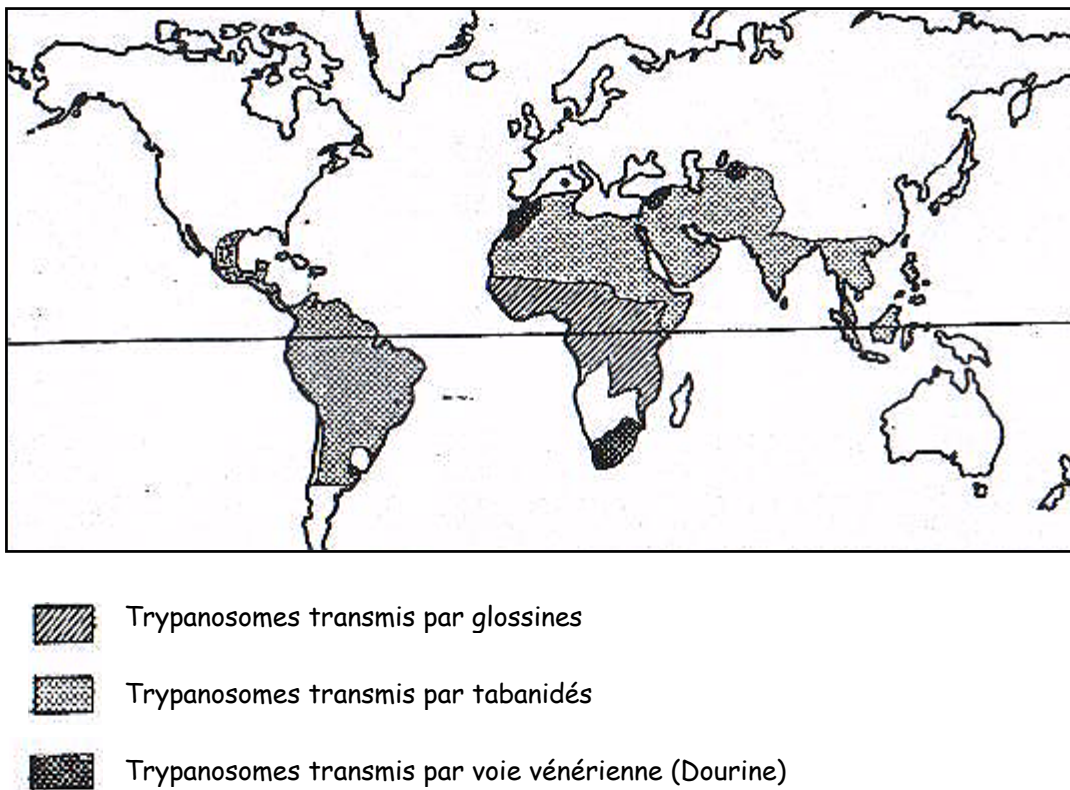


Figure 1 : Répartition géographique des trypanosomes
D'après G. Duvallet, 1987

1.1.2 Cycle parasitaire des trypanosomes

La transmission des trypanosomes à l'hôte définitif est réalisée généralement par un insecte hématophage (figure 2). Celui-ci peut être un simple vecteur mécanique (tabanides, stomoxes,...) mais le plus souvent la transmission passe par un vecteur biologique (telles que les glossines) chez lequel le parasite accomplit une évolution cyclique plus ou moins complexe de différenciation - multiplication avant d'être injecté à l'hôte définitif (13). Par exemple après ingestion par la glossine, *T. congolense* se différencie en forme procyclique non infectieuse dans les intestins de l'insecte. Puis au niveau des pièces buccales, les trypanosomes se différencient en formes épimastigotes à multiplication active. Au terme de cette phase multiplicative, une dernière transformation les conduit au stade de formes métacycliques infectieuses. Ces formes sont ensuite inoculées à l'hôte définitif au cours d'un repas sanguin de la glossine. La répartition de la trypanosomose suit ainsi celle de ses vecteurs.

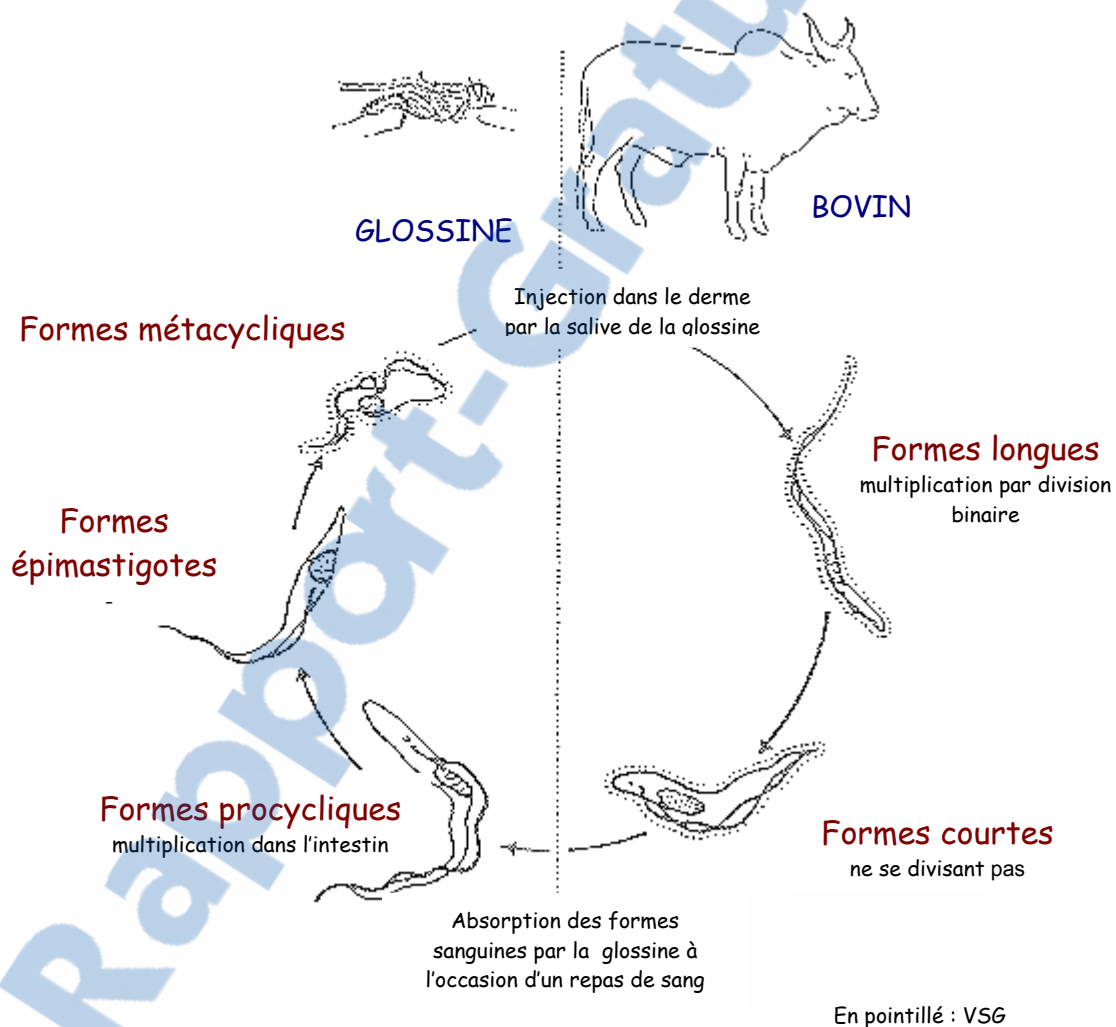


Figure 2 : Le cycle parasitaire de la trypanosomose bovine
D'après E. Authié, 1993

1.1.3 Trypanosomoses et tableaux cliniques et lésionnels associés

La gravité de l'infection est variable selon le nombre de trypanosomes infectants, l'hôte et la pathogénie de la souche. L'évolution peut aller de quelques jours (forme aiguë) à plusieurs mois. La forme chronique avec parasitémie intermittente est la plus fréquente chez les bovins africains. Les symptômes débutent avec une phase d'hyperthermie correspondant au premier pic de parasitémie. Puis l'animal montre un amaigrissement rapide, un certain abattement et une anémie, d'abord régénérative puis arégénérative (27). A ce stade, l'animal répond très mal au traitement trypanocide (39). Le tableau clinique est souvent complété par une baisse générale des productions, une cachexie et enfin la mort à plus ou moins long terme.

La trypanosomose ne présente pas de lésion pathognomonique. L'injection des formes infectantes lors de la piqûre provoque un chancre d'inoculation passant souvent inaperçu. Les parasites s'y multiplient puis envahissent le système sanguin et lymphatique. A la phase initiale d'hypertrophie des organes lymphoïdes secondaires succède une phase d'hypoplasie dans les formes chroniques. Une atteinte cardiaque mortelle (myocardite dégénérative) est fréquente dans les cas chroniques.

1.1.4 Physiopathologie des trypanosomoses

La physiopathologie de la trypanosomose est complexe et il existe encore actuellement des mécanismes inconnus. Selon le concept traditionnel, les événements pathologiques résultent de facteurs parasitaires directs ou libérés suite à chaque vague de parasitémie et des immuns complexes se déposant sur différents tissus. Selon un concept plus récent, ces mêmes phénomènes résultent de l'interaction initiale entre le parasite et le système immunitaire qui bouleverse l'équilibre du réseau des cytokines (activité pléiotrope en cascade : fièvre, fonte musculaire,...) (12, 40). Les deux concepts ne sont pas exclusifs.

L'anémie est un des principaux signes de la trypanosomose et elle semble être corrélée au degré de chute de productivité. De nombreuses recherches ont donc été menées pour en comprendre le mécanisme. L'anémie apparaît deux à trois semaines après la piqûre infectante et atteint des degrés de gravité variable. L'hématocrite chute, se stabilise et fluctue autour de valeurs basses (15-20 %). Une large érythrophagocytose par le système phagocytaire a été observée mais on n'en connaît actuellement pas la cause exacte. Des macrophages activés phagocytent les hématies matures ou pas, les neutrophiles et les plaquettes. L'attaque phagocytaire semble être sélective, les lymphocytes ne semblent pas touchés. La phagocytose pourrait être favorisée par la présence sur certains types cellulaires d'altérations membranaires provoquées par des facteurs parasitaires, des immuns complexes ou des lésions secondaires. Ainsi, le dépôt à la surface des globules rouges de molécules produites par l'hôte ou le parasite pourrait être une cause d'élimination des cellules sanguines. Puis en cas de chronicité, intervient un défaut d'érythropoïèse qui aggrave considérablement le degré de l'anémie. Un déséquilibre dans le réseau des cytokines jouerait un rôle déterminant dans cette dysérythropoïèse.

La physiopathologie de la trypanosomose est loin d'être totalement connue, sa compréhension permettrait de lutter non seulement contre les actions parasitaires directes mais aussi contre le bouleversement de l'équilibre des systèmes internes de l'hôte.

1.1.5 Méthodes de lutte contre les trypanosomoses

Dès 1920, la lutte contre la trypanosomose s'est organisée en Afrique de l'Est par des débroussaillages extensifs et par destruction du gibier. Plus tard, la lutte anti-vectorielle s'est considérablement développée par la découverte des insecticides organochlorés, d'abord à longue (DDT) puis à courte (endosulfan) rémanence. Les pulvérisations manuelles ont été les plus largement répandues mais ne permettent pas de traiter des zones de façon exhaustive et ne couvrent qu'un territoire limité. Les pulvérisations aériennes (avion, hélicoptère) ont permis une couverture géographique plus importante des zones à traiter mais leur coût a nettement restreint l'utilisation de telles méthodes. D'une façon générale, l'impact sur l'environnement, le coût et le non contrôle des réinfestations des zones traitées ont rapidement limité l'usage des produits chimiques anti-vectoriels.

Dans les années 70, l'utilisation des pièges et écrans imprégnés de pyréthroïdes de synthèse a largement amélioré la lutte anti-vectorielle. Le rapport coût/ bénéfice intéressant ainsi que le respect de l'environnement ont fait des pièges biconiques puis pyramidaux (figure 3), une méthode de lutte contre les vecteurs encore actuellement très utilisée (2, 10, 11, 13).

Des essais de lâchers de glossines mâles stériles ont certes permis une réduction des populations de glossines mais demeurent, par leur coût, inapplicables à grande échelle. Enfin, des chimioprophylaxies basées sur l'administration d'insecticides en bain ou en « pour-on » existent mais demeurent économiquement inabordables pour la majorité des éleveurs. Des traitements trypanocides permettent un certain contrôle de la pathologie chez les bovins : l'acéturate de diminazène curatif (Bérénil), le chlorure d'isométymidium préventif et curatif (Trypamidium), etc. Cependant, l'usage excessif et inapproprié de ces deux spécialités ainsi que des phénomènes génétiques spontanés sont à l'origine de l'apparition de résistances trypanosomiennes.



Cliché M.Desquesnes



Cliché I.Kabore

Figure 3 : Exemple d'un piège biconique

Figure 4 : Exemple d'un piège pyramidal



1.2 Antigénicité des trypanosomes

Au moins deux types d'antigènes provoquent chez l'hôte définitif une réponse immunitaire conséquente : les antigènes variables de surface ou VSG (Variant Surface Glycoprotein) et les antigènes invariants.

Tout d'abord, les VSG sont des glycoprotéines de surface qui présentent une grande variabilité des structures primaires protéiques, notamment au niveau des parties externes. La structure tridimensionnelle montrerait que seule une petite partie de la protéine est exposée à la surface du parasite, la portion amine terminale (4). Les deux tiers de cette portion N-terminale sont très variants, contrairement au tiers de la zone C-terminale, qui, enchâssée dans la membrane cytoplasmique, représente la zone constante. Le rôle de ce manteau pourrait donc être en partie de masquer les antigènes membranaires invariants du trypanosome en présentant des antigènes variables immunodominants aux défenses immunitaires de l'hôte (29). L'infection est ainsi caractérisée par une succession de populations croissantes puis décroissantes, avec des poussées tous les 7 à 10 jours (15). L'hôte produit effectivement des anticorps contre la première population rencontrée mais le temps que la réponse immunitaire de l'hôte soit effective, de nouveaux variants sont apparus et échappent à la lyse. Ainsi, par ce mécanisme d'échappement à la réponse immunitaire de l'hôte, la parasitémie de l'animal infecté est constituée de successions de vagues séparées par des rémissions où la détection du parasite est difficile. Une population donnée de trypanosomes ayant les mêmes domaines antigéniques forme un sérodème ou VAT (variant antigenic type). Ces composants de l'enveloppe externe du trypanosome ne sont présents que chez les formes infectieuses au niveau de l'hôte définitif (formes métacycliques après piqûre de la mouche puis formes sanguines). Ces glycoprotéines de surface étant la cible principale de l'immunité humorale et les anticorps émis étant protecteurs, des immunisations ont été tentées mais la protection obtenue n'est que très partielle. Des essais de vaccination classique ont échoué face à une infection hétérologue et il est impossible de vacciner contre tous les sérodèmes existants d'une région donnée (4). Ainsi, il n'y a guère de chance pour qu'un vaccin conventionnel, anti-infectieux, puisse être mis au point dans un proche avenir.

Par ailleurs, d'autres composants du parasite induisent naturellement une réponse immune au cours d'une infection. Des protéines du cytosquelette ainsi que certaines molécules du métabolisme parasitaire (enzymes, récepteurs,...) ont été identifiées comme participant à la réponse immune. Certains constituants protéiques localisés au niveau de la poche flagellaire du protozoaire semblent ainsi être impliqués dans les phénomènes immunologiques et constituent une voie de recherche actuelle (31). Enfin, une autre catégorie d'antigènes invariants suscite un intérêt récent par leur implication dans les phénomènes pathologiques observés. Les trypanosomes africains relâchent effectivement dans le milieu vasculaire certains de leurs composants (protéines de structure, produits du métabolisme) de leur vivant ou lors des accès trypanolytiques. Certains d'entre eux ont des effets toxiques sur l'organisme animal et contribuent à la gravité du tableau clinique. Ces facteurs invariants des trypanosomes ayant un contact répété et fréquent avec le système immunitaire de l'hôte, il est apparu intéressant d'essayer de protéger les individus en améliorant le blocage de l'activité de ces toxines par une réponse immunitaire adaptée. Un nouveau concept est alors apparu : celui du vaccin « anti-maladie » par opposition aux vaccins traditionnels « anti-agents pathogènes ».

Les difficultés de la lutte anti-vectorielle, l'apparition et la progression rapide des résistances aux médicaments et l'échec des essais de vaccination conventionnelle ont réorienté les recherches vers l'étude de la capacité relative de certains animaux à limiter le développement de parasites et leurs effets pathologiques : la trypanotolérance (14).

1.3 A propos de la trypanotolérance

1.3.1 Races concernées.

La trypanotolérance est définie comme l'aptitude présentée par certaines races bovines à vivre et à produire dans des zones infestées par des glossines (35). Cette propriété se trouve essentiellement chez les taurins sans bosse et de petite taille (*Bos taurus*) alors que les zébus à bosse (*Bos indicus*) sont généralement très sensible à la trypanosomose. Les taurins (figure 5) ont été domestiqués dans ces zones à glossines il y a environ 7000 ans alors que les zébus n'ont envahi ces territoires que lors des invasions arabes, vers le 8^{ème} siècle (4). La coexistence plus longue des taurins avec les différents agents de la trypanosomose est très certainement à la base d'une sélection naturelle plus aboutie d'individus résistants à la maladie. L'ensemble de ces races trypanotolérantes ne représentent que 5 % du cheptel bovin total et même dans les zones infestées, les éleveurs préfèrent les zébus pour leur format et pour leur apparente plus grande productivité. Des populations de bovins métis (produit du croisement trypanosensible * trypanotolérant) présentent des degrés de trypanotolérance intermédiaires et comptent pour 30 % du cheptel trypanotolérant. Un métissage excessif entre les animaux sensibles et tolérants pourrait mettre en péril ce phénomène de résistance.



Cliché D.Belemsaga



Cliché M.Desquesnes

Figure 5 : Bovins trypanotolérants de race N'Dama (à gauche) et Baoulé (à droite)

1.3.2 Caractérisation du bétail trypanotolérant

De nombreuses études ont porté sur le phénomène de trypanotolérance chez les taurins africains. Des comparaisons d'infections entre zébus et taurins sous conditions naturelles puis expérimentales ont permis d'apporter les premiers éléments de compréhension de ce phénomène. Tout d'abord, zébus et taurins expriment des différences de sensibilité à la trypanosomose en conditions naturelles et en infections expérimentales.

Il apparaît de plus que lors d'une primo-infection, il n'existe pas de différence majeure dans la fréquence et le niveau des parasitémiés entre les zébus et les taurins. La chute de l'hématocrite est également identique mais les taurins recouvrent plus rapidement des valeurs correctes et stables que les zébus. De façon constante, l'anémie est moins sévère chez les taurins.

Lors de réinfections homologues, les taurins montrent des parasitémiés de faible intensité comparées à celles des zébus et ils semblent déclarer une anémie beaucoup moins sévère. Chez les taurins, l'aptitude à contrôler très efficacement les réinfections homologues pourrait être expliquée par une meilleure activation ou réponse de l'immunité acquise. Une variation individuelle a pu être mise en évidence dans la réponse aux réinfections parasitaires chez les taurins, la résistance à la trypanosomose semble être largement influencée par les infections trypanosomiennes antérieures (22). La réponse immunitaire acquise joue certainement un rôle prépondérant mais d'autres phénomènes, non immunologiques, sont également incriminés dans la trypanotolérance.

Ainsi, une meilleure aptitude à limiter l'ampleur et la fréquence des parasitémiés, associée à un meilleur contrôle de l'anémie et une sensibilité réduite aux effets pathogènes des trypanosomes semble caractériser les individus trypanotolérants lors de réinfections (27). La trypanotolérance est beaucoup moins nette lors de primo-infection. Les mécanismes impliqués dans ce phénomène ont été l'objet de nombreuses études. Il serait effectivement très intéressant de comprendre les bases biologiques de cette résistance, non seulement pour renforcer la capacité des animaux trypanotolérants mais également pour l'appliquer aux autres races. Pour cela, entre autres, des marqueurs pratiques de trypanotolérance ont été recherchés afin de mieux identifier les populations trypanotolérantes.

1.3.3 Recherche de marqueurs de la trypanotolérance

Certains marqueurs génétiques héréditaires présentent un haut polymorphisme qui permet de mieux définir la spécificité biochimique d'un individu, d'une race ou d'une espèce. Différentes études ont été menées principalement sur le polymorphisme de protéines sanguines des bovins, en comparant l'expression des molécules chez des individus trypanosensibles et trypanotolérants (32, 34).

Parmi les marqueurs génétiques sanguins du polymorphisme biochimique des bovins, l'hémoglobine (Hb) représente l'un des systèmes dont la découverte est la plus ancienne. Son principal intérêt réside dans la simplicité des déterminations qui permet une analyse de la génétique des populations des races bovines. Trois phénotypes A, B et AB représentent la quasi totalité des phénotypes rencontrés. Les travaux ont donc porté sur les différences éventuelles entre les phénotypes des animaux sensibles et tolérants. Les races trypanosensibles étudiées étaient comparables entre elles avec un phénotype prédominant Hb(B/B). Les races trypanotolérantes étaient comparables entre elles avec le type le plus fréquent Hb(A/A) (33). Cependant, il semble que ce marqueur Hb(A/A) soit plutôt un marqueur de races (les taurins) que de trypanotolérance (4).

Des études similaires ont porté sur l'albumine (27), la glucose-6-phosphate déshydrogénase érythrocytaire (32), la phosphoglucomutase 3 et la purine nucléoside phosphorylase (22). Finalement l'association Hb(A/A)/ Alb(F/F) serait utilisable pour la sélection de taurins de race pure où l'on peut espérer le plus haut degré de résistance (4).

Enfin, des travaux comparatifs entre le CMH (Complexe Majeur d'Histocompatibilité) d'individus sensibles et tolérants ont abouti à la même conclusion : l'identification des différents variants de CMH relève plutôt de marqueurs de races (taurins ou zébus) que de trypanotolérance.

Actuellement, il n'existe donc pas de marqueurs phénotypiques de trypanotolérance (4).

1.4 Mécanismes non immunologiques de la trypanotolérance

La trypanotolérance est probablement un phénomène à déterminisme multifactoriel complexe et semble appeler des mécanismes à la fois immunologiques et non immunologiques (4, 30). Déterminer si la trypanotolérance est due à une immunité acquise contre les trypanosomes plus performante de certains bovins ou si elle se base sur des propriétés innées, propres à certains individus, a été une question de débats et de discussions pendant de nombreuses années. Des observations en conditions expérimentales et naturelles ont amené à penser que la composante principale de la trypanotolérance était d'ordre immunologique mais que d'autres éléments pouvaient intervenir.

1.4.1 Etat physiologique et adaptation

Tout d'abord, le degré de résistance chez les taurins est variable. Il est directement corrélé à l'état physiologique des individus ; le surmenage, la malnutrition, les maladies intercurrentes, le stade physiologique sont autant de facteurs qui peuvent favoriser le développement de la pathologie. Ensuite, les taurins sont probablement encore mieux adaptés aux conditions du milieu tropical que les zébus : meilleure tolérance à l'humidité, meilleure utilisation des aliments, thermorégulation plus efficace,...(26, 30).

1.4.2 Le contact hôte-parasite

Chaque espèce de glossine se nourrit préférentiellement sur un hôte donné mais ce choix peut être modifié sous l'influence de nombreux facteurs environnementaux. L'attraction exercée sur les glossines est fonction de la couleur de la robe, de l'épaisseur cutanée, de la taille, des mouvements et des odeurs de l'hôte (38).

Une hypothèse supposait que les animaux trypanotolérants recevaient moins de piqûres que les trypanosensibles (18). Cependant, les mouches d'élevage peuvent être nourries indifféremment sur des taurins et sur des zébus. Le comportement des glossines infectées est différent de celui des mouches saines mais on ignore actuellement quelle action peut avoir le parasite sur le choix de l'hôte. Les mouvements migratoires interviennent par contre fortement sur le contact hôte-glossines.

1.4.3 Implication possible de facteurs sériques trypanolytiques

Des facteurs sériques trypanolytiques de nature protéique et lipoprotéique ont été mis en évidence chez l'homme, notamment contre les trypanosomes du bétail. Le buffle et l'élan posséderaient un facteur trypanolytique susceptible d'agir sur les formes infectieuses du parasite dès leur pénétration dans le derme. Chez les bovins, l'activité sérique élevée de la PAO (PolyAmine Oxydase) aurait pu favoriser l'élimination des parasites mais les quantités libérées au moment des pics de parasitémie semblent trop faibles pour jouer un rôle significatif dans la trypanotolérance (37).

1.4.4 Intervention hypothétique de facteurs agissant sur le pléomorphisme des formes parasitaires

Les glossines injectent à l'hôte définitif des formes métacycliques courtes se différenciant rapidement en formes longues. Celles-ci se multiplient activement, puis chaque vague de parasitémie s'accompagne de modifications morphologiques avec des formes courtes prédominantes (4). Les formes longues monomorphes produisent des infections fulminantes chez la souris alors que les formes pléomorphes du même variant antigénique sont responsables d'infections chroniques. La différenciation en formes courtes est nécessaire pour qu'apparaissent des anticorps neutralisants. La différenciation parasitaire modifierait l'évolution de l'infection de deux manières : en ralentissant la croissance du parasite et en stimulant la réponse immune. Des facteurs sériques de l'hôte réguleraient ce passage de formes longues en formes courtes et indirectement les vagues de parasitémie. Ces nouveaux produits de différenciation de l'hôte sont en voie d'identification.

Certains de ces mécanismes non immunologiques sont encore mal connus mais il est certain qu'ils interviennent pour une part non négligeable dans la résistance de certains animaux. Par ailleurs, les observations réalisées au cours d'infections expérimentales ou en conditions naturelles montrent qu'une composante importante de la trypanotolérance est d'origine immunologique.

II IMMUNITE ET TRYPANOSOMES

2.1 La réaction cutanée

La première confrontation entre les trypanosomes et le système immunitaire de l'hôte a lieu dans le tissu dermique au site d'inoculation. Fréquemment, les bovins présentent une réaction inflammatoire locale, le chancre, dont la taille et l'intensité d'induration sont variables en fonction du nombre de parasites injectés, de l'état immunitaire de l'hôte et de la souche inoculée (1, 17). Il s'y produit une intense multiplication des parasites avant dissémination dans l'organisme et la variation antigénique des trypanosomes débute à ce niveau. L'examen histologique du chancre montre une réaction inflammatoire initiale avec afflux de neutrophiles puis de plasmocytes. Les taurins semblent développer des chancres moins intenses que les zébus avec des neutrophiles ainsi que des parasites en plus faible quantité. Certains ruminants sauvages, tels que le buffle ou le kob (*Kobus defassa*), contrôlent l'infection au niveau cutané et montrent des chancres quasi inexistantes avec très peu de parasites au site de piqûre (25).

Aucun des facteurs intervenant dans l'établissement de l'infection au niveau cutané n'est actuellement connu. Le déclenchement de la cascade inflammatoire locale ainsi que les réactions cellulaires de la peau aux ganglions sont autant de paramètres encore inconnus.

2.2 Immunité humorale

2.2.1 L'hypergammaglobulinémie

C'est un des phénomènes les plus anciennement observés lors de trypanosomoses (24, 28). Le taux d'immunoglobulines (Ig) M sériques augmente très rapidement et ce, d'une façon concomitante à l'apparition de la parasitémie. Ceux-ci sont majoritairement dirigés contre les VSG des trypanosomes. L'augmentation des IgG est plus tardive et plus modérée, ceux-ci sont principalement dirigés contre les antigènes internes des parasites. Il apparaît ainsi des anticorps dirigés contre les antigènes du parasite (VSG ou antigènes invariants) mais également contre des antigènes non-apparentés et des auto-anticorps.

Tout d'abord en ce qui concerne les antigènes VSG, le premier niveau de neutralisation se réalise grâce aux anticorps anti-M-VATs dirigés contre les formes métacycliques présentes dans le chancre. Puis, les anticorps anti-B-VATs sont synthétisés face aux formes sanguines des trypanosomes. Ainsi, soit les premiers anticorps neutralisent les parasites sous leur forme métacyclique (cas rares) soit les trypanosomes passent sous leur forme sanguine et rencontrent des anticorps anti-M-VATs lors du premier pic de parasitémie. Les anticorps anti-B-VATs apparaissent au second pic. Ainsi plus la primo-infection est longue, plus le nombre de B-VATs exprimés et reconnus est élevé et meilleure est la protection vis-à-vis d'une réinfection homologe. Les anticorps anti-VSG sont protecteurs car ils contribuent à l'élimination des parasites en formant avec des antigènes visibles des complexes immuns prêts à se déposer ou à être phagocytés. Les mécanismes effecteurs sont au moins de deux natures : opsonisation directe des trypanosomes par les anticorps anti-VSG et activation du complément par le couple trypanosome- anticorps.

Ensuite, l'hôte produit des anticorps dirigés contre les antigènes invariants des parasites, ce sont principalement des IgG qui forment des complexes immuns pouvant se fixer dans les tissus et activer les cascades inflammatoires. Les anticorps dirigés contre les antigènes invariants ne contribuent pas directement à l'élimination des trypanosomes puisqu'ils reconnaissent des particules souvent internes ou cachées des parasites, libérées au moment des phases trypanolytiques. Par contre, ils interviennent dans la neutralisation de facteurs parasitaires probablement impliqués dans la pathogénie de la trypanosomose.

Enfin, des anticorps hétérophiles reconnaissant les antigènes parasitaires ou des antigènes quelconques sont synthétisés. Les mécanismes d'une activation polyclonale en cause sont actuellement inconnus mais correspondraient avec l'augmentation massive des IgM sériques. Des auto-anticorps semblent également être produits et réagiraient avec de nombreux tissus. Leur présence est cependant inconstante et la plupart des auteurs ne leur accorde qu'un rôle minime dans la maladie (22).

2.2.2 Immunité humorale comparée des bovins trypanosensibles et trypanotolérants

L'aptitude des animaux trypanotolérants à mieux contrôler la parasitémie pourrait tenir à une efficacité plus grande de leur immunité anti-VSG protectrice. Lors de primo-infection, il apparaît finalement que les anticorps anti-VSG ne contribuent pas au phénomène de trypanotolérance (4). Inversement, lors de réinfections homologues, la réponse immune secondaire contre les VSG des taurins trypanotolérants est nettement supérieure à celle des animaux sensibles (persistance des anticorps anti-M-VATs, nombre d'anticorps anti-B-VATs plus important). Les mécanismes de la résistance sont plus difficiles à analyser en primo-infection. En outre, il semblerait exister des facteurs immunosuppresseurs qui affecteraient les réponses en anticorps anti-VSG.. La supériorité de la réponse immune secondaire des taurins contribue certainement pour une large part au phénomène de trypanotolérance. Face à ce constat, de nombreuses équipes ont essayé de mettre en place un vaccin utilisant les variants antigéniques les plus fréquemment retrouvés. Malheureusement, il est impossible de vacciner contre toutes les infections hétérologues existantes et de prédire quels seront les sérodimés des trypanosomes infectants ultérieurs. Ainsi, la variation antigénique des VSG empêche tout espoir vaccinal traditionnel.

La réponse en anticorps dirigés contre les antigènes invariants est à l'étude depuis moins longtemps car cette immunité était considérée comme non protectrice de l'infection. Des études ont alors porté sur ces antigènes peu connus et la réaction immune qu'ils pouvaient développer. Il a été montré que suite à une réinfection à *T. congolense* le taux d'IgG1 était élevé et persistant chez les N'Dama (trypanotolérants) alors qu'il était faible et transitoire chez les zébus (14). Il semblerait donc que la principale caractéristique immunologique des bovins trypanotolérants connue pour l'instant soit leur capacité à produire des réponses en IgG élevées et durables contre les antigènes des trypanosomes. Certains de ces anticorps sont dirigés contre les épitopes exposés (VSG) mais les autres pourraient neutraliser des facteurs parasitaires impliqués dans la pathogénie, contribuant ainsi à augmenter la résistance à la maladie. Il est alors devenu intéressant d'essayer d'identifier les antigènes qui provoquaient la production d'IgG spécifiques et propres aux animaux trypanotolérants. Les résultats de cette nouvelle voie de recherche seront présentés dans la troisième partie.

Enfin, il est reconnu que la réponse immune peut être modifiée selon la teneur en zinc. Une carence provoque une altération de la réponse immune alors qu'un excès de zinc interfère avec la présentation antigénique. Chez les trypanotolérants, la teneur en zinc est normale alors qu'elle est élevée chez les animaux sensibles. La signification de cette observation reste encore à établir.

2.3 Immunité cellulaire

Il existe une prolifération de lymphocytes T en début d'infection mais aucune activité trypanolytique n'a été trouvée associée à ces cellules. Cette prolifération est variable selon les individus et aucun lien n'a été établi entre cette variation individuelle de la réponse lymphocytaire et le phénomène de trypanotolérance (13).

Puis, les bovins trypanosomés développent une pancytopenie, c'est-à-dire, une anémie complétée d'une thrombocytopénie et d'une leucopénie. Des études ont notamment montré l'existence d'une immunosuppression concomitante avec l'infection parasitaire (19, 20) pouvant résulter d'une activation des lymphocytes T suppresseurs ou d'un blocage des cellules accessoires présentant l'antigène. Certaines études ont également incriminé un défaut de synthèse d'interleukine 2 qui, directement ou indirectement, bloquerait les réponses lymphocytaires (21). L'immunosuppression, d'intensité variable selon les individus, toucherait principalement la synthèse d'anticorps mais également les réactions cellulaires. Un rôle important des cytokines est fortement suspecté (notamment IL2) mais les connaissances limitées du système immunitaire bovin ne permettent pas d'affirmer cette dernière hypothèse. Une moindre sensibilité aux facteurs immunosuppresseurs pourrait contribuer à déterminer la trypanotolérance.

Enfin, l'activation macrophagique est une composante régulière des phénomènes immunologiques de la trypanosomose. Celle-ci, en plus de son action phagocytaire des produits cibles, induit la sécrétion d'interleukines et du Tumor Necrosis Factor (TNF) qui déclenchent la synthèse de protéines inflammatoires. La production de ces derniers composants est identique chez les animaux sensibles et tolérants mais semble plus précoce chez les N'Damas (4).

2.4 Hypocomplémentémie

2.4.1 Rôle du complément dans la trypanosomose

Le complément est un complexe protéique qui participe largement aux premières lignes de défense de l'organisme contre les agents infectieux, notamment la fraction C3b. Le système du complément possède deux mécanismes d'amplification dont l'un fait intervenir le clivage de C3 en C3b qui active une formation de C3 convertase amplifiée, augmentant elle-même la libération de C3 et les actions de lyse associées. Les cellules de l'hôte contiennent des molécules inhibant cette boucle d'amplification en rendant le C3b inactif (36).

Le complément intervient de plusieurs manières dans la lutte contre les trypanosomes. Tout d'abord, il intervient dans le contrôle de la parasitémie par l'opsonisation des parasites et la présentation aux cellules phagocytaires. L'intervention de C3 n'est pas indispensable à l'élimination des trypanosomes mais contribue à l'efficacité de leur phagocytose. Par ailleurs, le système du complément peut directement lyser les parasites mais cette action est de fréquence moindre. Parallèlement, le système du complément joue un rôle majeur dans le contrôle de la pathogénie par l'élimination des complexes immuns. Il permet effectivement la solubilisation des complexes immuns circulants et par une fixation aux globules rouges via un récepteur complément spécifique, il organise le transport des parasites vers le foie ou la rate où ceux-ci sont libérés puis éliminés. Enfin, les produits de clivage du complexe protéique du complément (C5a, C3a, C4a) sont à la base de réactions inflammatoires importantes. Ainsi, les fragments biologiquement actifs du système du complément sont soit fixés sur les membranes où ils facilitent la coopération entre les différentes composantes du système phagocytaire soit à l'état soluble où ils facilitent l'élimination des complexes immuns.

2.4.2 Hypocomplémentémie et ses causes possibles

Les microorganismes pathogènes ont développé des mécanismes d'échappement à la lyse par le système du complément et même dans certains cas utilisent le complément pour augmenter leur pathogénicité. Chez les trypanosomes, certaines formes infectieuses parasitaires ont développé un système adaptatif de résistance par la production de facteurs qui empêchent la formation des C3-convertases et donc qui bloquent la séquence d'activation du complément. De plus, les VSG, en masquant les molécules sous-jacentes, jouent un rôle non négligeable dans la protection contre le complément.

L'hypocomplémentémie observée est concomitante à la chute de l'hématocrite, le taux de complément chute puis fluctue autour de valeurs basses tant que dure l'infection. Un déficit en facteur C3, le plus largement diminué, induirait alors un manque de solubilisation des immuns complexes qui déclencherait la stimulation polyclonale de lymphocytes rapportée. Finalement, un déficit en complément permet non seulement l'installation de pathologies infectieuses intercurrentes mais aussi de pathologies liées au dépôt excessif d'immuns complexes au niveau tissulaire. De plus, le système du complément intervient de façons diverses et variées dans la réponse immune ; sa déplétion déprime les réponses T-dépendante, T-indépendante et la mémoire immune. Cependant, l'importance de l'hypocomplémentémie dans l'immunosuppression caractéristique des animaux trypanosomés est encore mal connue.

En ce qui concerne les causes de l'hypocomplémentémie, il est possible que le nombre massif d'immuns complexes libérés au cours des vagues trypanolytiques consomme une large part des facteurs du complément présents. Puis, certains facteurs parasitaires tels que des protéases, des lipopolysaccharides ou même les VSG, activent le complément et diminuent ainsi la quantité de facteurs complémentaires disponibles. Il est également supposé que certains fragments du complément soient endocytés au niveau de la poche flagellaire des trypanosomes. Enfin, les facteurs du complément sont synthétisés à 90 % au niveau hépatique et le reste au niveau des cellules du système des monocytes et macrophages. Un défaut de synthèse, quoique minime, viendrait aggraver l'hypocomplémentémie (4). Le déterminisme de l'hypocomplémentémie est donc multifactoriel et fait encore l'objet de recherches.

2.4.3 Hypocomplémentémie et trypanotolérance

L'activité hémolytique du complément a d'abord été comparée entre individus sains. Cette comparaison inter-raciale a mis en évidence des fluctuations saisonnières additionnées de variations selon l'état nutritionnel, l'âge, le sexe, etc. Zébus et taurins présentent donc une activité hémolytique du complément significativement différente (environ 20 %).

Puis, la comparaison a été effectuée entre bovins trypanotolérants et trypanosensibles et il semblerait que les N'Damas maintiennent une activité hémolytique et un taux de complément supérieurs aux animaux sensibles au cours des infections. Il existe cependant des variations individuelles chez les N'Damas. Les taurins trypanotolérants auraient soit une meilleure capacité de synthèse des facteurs d'activation du complément soit une moindre sensibilité de ces facteurs à la dégradation. La trypanotolérance semble donc associée à une capacité de maintenir le taux de complément au cours des infections (14).

2.5 Immunosuppression

C'est un phénomène associé de façon caractéristique à la trypanosomose. Ses mécanismes sont encore actuellement mal compris. Elle affecte surtout les réponses anti-VSG et entraîne une sensibilité accrue aux autres agents infectieux. Une moindre sensibilité aux facteurs immunosuppresseurs pourrait contribuer à déterminer la trypanotolérance.

Globalement, peu de différences explicatives ont été mises en évidence entre les animaux sensibles et les tolérants. Une tendance à des réponses plus précoces et plus marquées contre les antigènes invariants, une réponse immunitaire secondaire dirigée contre les VSG supérieure, un système phagocytaire plus efficace et enfin une tendance à maintenir un taux de complément constant sont autant d'éléments qui interviennent dans les mécanismes de la trypanotolérance.

La troisième partie traite de résultats de travaux plus récents portant sur les antigènes invariants des trypanosomes et la réponse immune qu'ils peuvent induire. Une nouvelle voie de recherche s'oriente non plus vers la lutte contre les agents infectieux mais vers les effets pathogènes qu'ils peuvent provoquer.

III QUELQUES ORIENTATIONS DE RECHERCHE AXEES SUR LA LUTTE ANTI-MALADIE

Certains antigènes invariants des trypanosomes peuvent induire une réponse immune mais peu d'entre eux ont été identifiés. Les plus aptes à induire une réponse immune détectable sont des protéines à structure répétitive à fort pouvoir immunogène. Certains antigènes ne provoquent effectivement pas la synthèse d'anticorps en quantité suffisante pour être détectable, soit parce qu'ils sont présents à trop faible concentration, soit à cause de la compétition antigénique. Les meilleurs candidats sont ainsi soit les molécules accessibles par les anticorps soit les molécules intervenant dans le métabolisme parasitaire à turn-over important (enzymes, récepteurs, transporteurs,...).

3.1 Réponse humorale d'animaux trypanotolérants et trypanosensibles face aux antigènes invariants des trypanosomes

Des infections expérimentales à *T. congolense* ont été menées sur des animaux N'Damas (taurins trypanotolérants) et des Borans (zébus trypanosensibles). Les réponses humorales ont été particulièrement suivies et de fortes réponses en IgM et IgG ont été notées. Les taux d'IgG1 dirigés contre les antigènes invariants de *T. congolense* ont toujours été plus élevés chez les N'Damas que chez les Borans malgré des parasitémiées transitoires et une moindre charge antigénique. Une meilleure mémoire immunitaire à la suite d'infections a été supposée chez les N'Damas. A l'inverse, les Borans ont présenté des taux d'IgM dirigés contre ces mêmes antigènes plus élevés que les N'Damas (6). Les Borans pourraient donc présenter au cours de la trypanosomose, un défaut du « switch » isotypique IgM/IgG, aggravé par le déficit en C3.

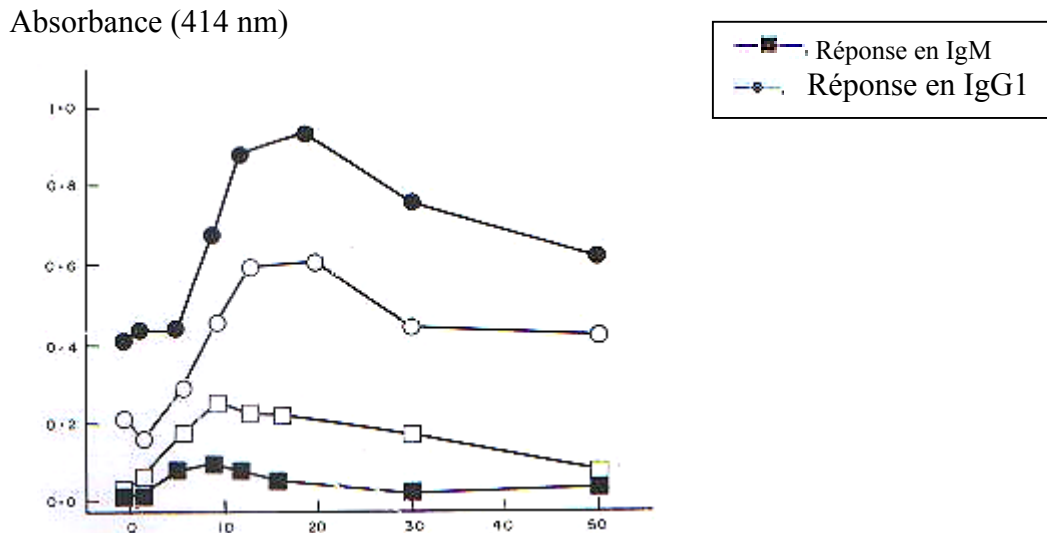


Figure 6 : Cinétique de la réponse spécifique IgG1, IgM suivant une réinfection à *T. congolense* IL 13-E3 chez des animaux N'Dama (symboles pleins) et chez des animaux Boran (symboles vides)
D'après Authié et al., 1993 (6)

Cependant, les anticorps dirigés contre les antigènes invariants ne contribuent pas de façon significative au taux élevé d'IgM qui serait principalement causé par les stimulations répétées par les VSG et par l'activation polyclonale rapportée. La réponse humorale anti-antigènes invariants est quantitativement peu importante devant la réponse dirigée contre les VSG, mais elle demeure intéressante par ses différences qualitatives qui apportent un complément d'information sur la trypanotolérance et qui surtout permettent un espoir dans la recherche de traitement contre la trypanosomose.

Trois antigènes majeurs, à la base de ces réponses humorales, ont été identifiés par les méthodes de Western Blotting et Elisa : l'antigène 23 kD (kiloDalton), l'antigène 69 kD et l'antigène 33 kD (6).

3.2 Identification des antigènes invariants majeurs des trypanosomes

3.2.1 Antigène 23 kD

Cet antigène a été reconnu de façon identique par les deux groupes d'animaux et a induit la synthèse d'IgG1. Sa reconnaissance n'a pas été associée à des niveaux de parasitémie ou d'anémie différents.

3.2.2 Antigène 69 kD

Il a été reconnu par tous les animaux infectés et a provoqué des réponses IgM et IgG. Les Borans ont synthétisé plutôt des IgM anti-69 kD alors que les N'Damas ont présenté une réponse forte en IgG1 anti-69 kD (6).

Cet antigène présente une grande homologie avec les molécules HSP70 des mammifères qui jouent un rôle important dans le repliement des protéines nouvellement synthétisées et dans l'élimination des protéines anormales. Le rôle de la 69 kD demeure inconnu chez les trypanosomes. Cet antigène, détecté dans le plasma des animaux infectés, est impliqué dans la régulation de la réponse immune et dans les mécanismes physiopathologiques. Il représente donc un des antigènes invariants majeurs reconnus par le système immunitaire des bovins mais sa proximité antigénique avec des molécules de l'hôte entrave largement les recherches et travaux d'essais d'immunisations.

Les antigènes 23 kD et 69 kD suscitent la formation d'anticorps chez tous les individus infectés et pourraient éventuellement participer à des méthodes de sérodiagnostic.

3.2.3 Antigène 33 kD

Cet antigène 33 kD a suscité une production variable d'IgM tous impliqués dans la formation des immuns complexes et d'IgG1 libres. La reconnaissance de cet antigène, lors de réinfections a été variable selon les différents niveaux de pathologie. Les N'Damas participant à l'étude ont tous exprimé des anticorps anti-33 kD alors que seuls les Borans retrouvant des valeurs d'hématocrite correctes ont présenté ces anticorps anti-33 kD. Les autres Borans qui n'ont pas reconnu cet antigène, ont atteint un degré d'anémie sévère et ont nécessité un traitement trypanocide pour éviter la mort (5).

3.3 Identification de la congopaïne et essais d'immunisation

3.3.1 Identification de la congopaïne

Dans le même temps, une protéase lysosomiale de *T. congolense* a été caractérisée. D'un poids moléculaire voisin de 30 kD, cette enzyme n'est exprimée que chez les formes parasitaires infectieuses des mammifères et présente une activité de type cathepsine. Il a été démontré que l'antigène 33 kD reconnu par les N'Dama trypanotolérants et cette cystéine protéase identifiée chez les formes infectieuses étaient bien la même molécule (3).

Le clonage et le séquençage du gène de *T. congolense* codant pour cette protéine ont mis en évidence une structure génétiquement proche de celle du groupe des papaïnes. Ayant été identifié chez *T. congolense*, cette protéase a été baptisée congopaïne (7). La congopaïne présente une forte homologie avec les cystéine protéases de *T. brucei* et *T. cruzi*. Quatre domaines ont pu être identifiés (figure 7): 1) une séquence signal hydrophobe 2) suivie d'une pro-région hydrophile, 3) un domaine central contenant des séquences, dont celles du site actif, hautement conservées et 4) enfin une extension C-terminale reliée au domaine central par une liaison riche en proline. L'extension C-terminale est caractéristique des cystéines protéases de trypanosomes, elle n'est effectivement pas présente chez les cathepsines de mammifères. Cette extrémité à pouvoir immunogène très important pourrait être associée en partie au domaine central actif afin de provoquer chez l'animal une immunisation suffisante et inhibitrice de l'activité enzymatique de ces cystéine protéases (9).

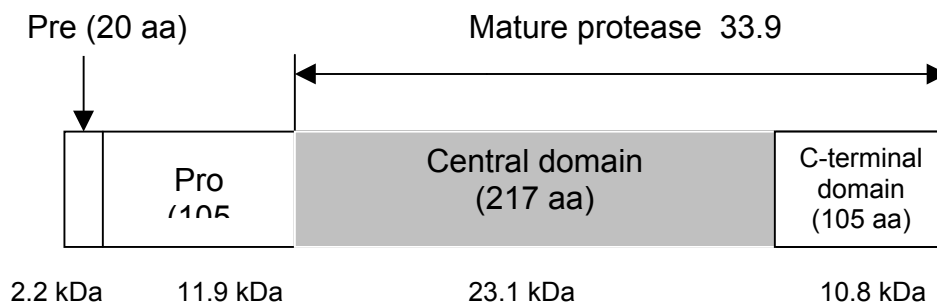


Figure 7 : Représentation schématique de la structure primaire de la cystéine protéase (congopaïne) de *Trypanosoma congolense* (d'après Fish et al., 1993) aa : acide aminé.

Après identification de cette protéase, l'association entre la trypanotolérance et les niveaux d'IgG1 anti-congopaïne a été évaluée sur des effectifs plus conséquents d'animaux (5). Les sérums de 70 bovins de races trypanotolérantes (N'Dama, Baoulé), trypanosensibles (zébu Boran, zébu WA et frisonne) et métis (N'Dama*Boran) ont été comparés sur leur réponse anti-congopaïne 40 à 48 jours suivant une infection à *T. congolense* (figure 8). Cette durée correspond à la période limite où certains animaux ont nécessité des traitements trypanocides mais est restée suffisante pour obtenir une réponse immune bien établie. Une association entre le degré de résistance à la trypanosomose et les niveaux d'IgG1 anti-congopaïne atteints à ce moment a été mise en évidence. Les races N'Dama et Baoulé ont montré des concentrations d'IgG1 anti-congopaïne significativement plus élevées que les zébus. Les animaux métis ont montré des taux intermédiaires entre ceux des animaux trypanotolérants et des zébus.

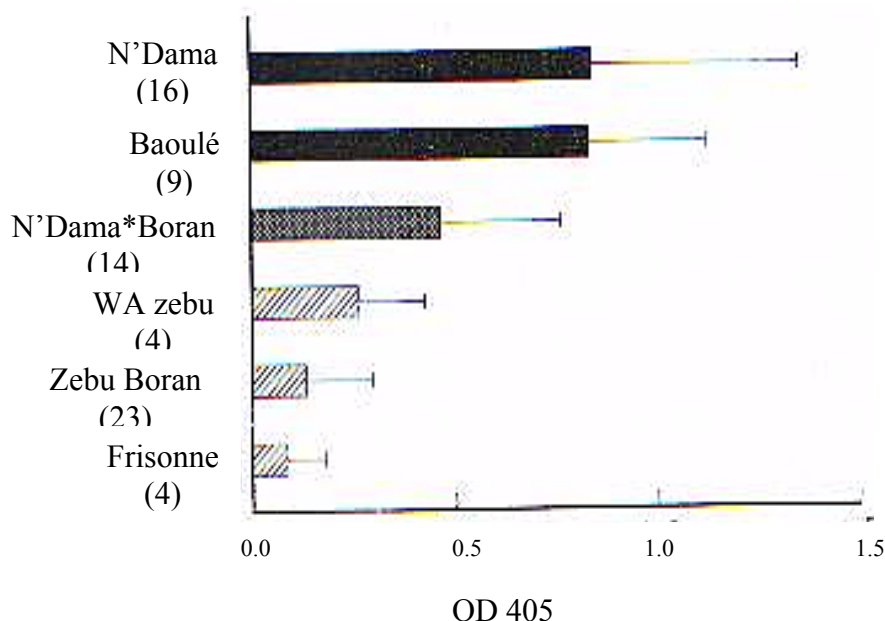


Figure 8 : Représentation des niveaux d'IgG anti-congopaïne mesurés 40 à 48 jours post infection à *T. congolense* chez des animaux de race trypanosensibles, trypanotolérants et métis.
D'après Authié et al., 1993 (5)

La principale différence reconnue entre les animaux trypanotolérants et les animaux trypanosensibles est cette production d'IgG1 anti-congopaïne post infection, concomitante à l'amélioration de l'état général. Essayer de produire cette réponse immune chez des animaux sensibles ou de la renforcer sur des populations tolérantes afin d'aider l'animal à lutter contre la pathologie a été l'hypothèse de travail suivante.

3.3.2 Essais d'immunisation avec deux formes de cystéine protéases

Des essais d'immunisations à partir de cystéines protéases suivis d'infections répétées à *T. congolense*, ont été menés afin d'étudier la réponse immune d'animaux trypanotolérants et trypanosensibles ainsi que l'évolution de leur état clinique (8).

Deux formes de cystéines protéase (CP1 et CP2) ont été décrites. Ces deux protéines ont à 90 % les mêmes séquences génétiques ; cependant leurs caractéristiques fonctionnelles différeraient au niveau de la relation hôte-parasite (9). Ne connaissant toujours pas les différences fonctionnelles entre ces deux cystéine protéases, il a été décidé de procéder à des essais d'immunisation avec ces deux candidats vaccins. Des protéines recombinantes de CP1 et CP2, respectivement nommées C1 et C2, ont alors été exprimées par les systèmes à baculovirus (9) et ont été utilisées pour immuniser le bétail (un groupe C1, un groupe C2, un groupe C1+C2 et un groupe témoin à l'albumine). Un mois après la dernière immunisation, les animaux ont été infectés par *T. congolense* (8).

La période prépatente et la parasitémie ont été identiques chez les animaux immunisés et témoins. L'anémie et la chute de l'hématocrite ont été semblables durant les deux premiers mois de l'infection chez tous les animaux. Les animaux immunisés ont présenté, deux mois post-infection, un retour progressif à des valeurs presque normales de façon plus rapide et plus efficace que les animaux non immunisés (figure 9). Par ailleurs, les animaux immunisés avec C1 et C1+C2 ont présenté un gain de poids significativement plus important que les autres animaux (figure 10). Enfin, les animaux immunisés avec C2 ont développé une réponse immune précoce et massive contre les antigènes immunisants, la congopaine et les antigènes VSG alors que cette réponse est beaucoup plus lente et modérée chez les animaux immunisés au C1 (figures 11 et 12).

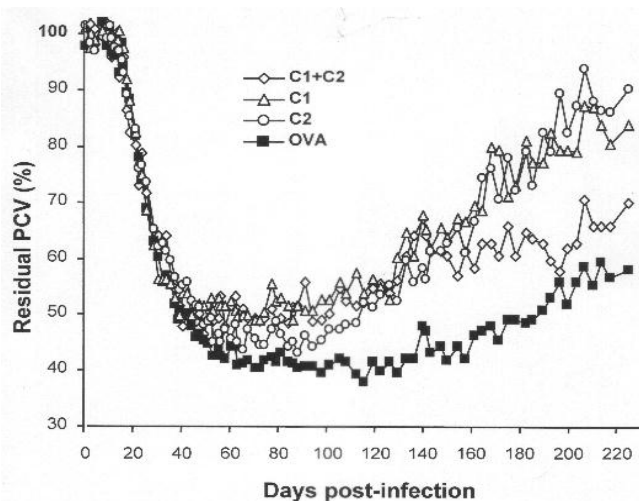


Figure 9 : Evolution du taux d'hématocrite des animaux immunisés (C1, C2, C1+C2) et des témoins après infection à *T. congolense*
D'après Authié et al., 2001

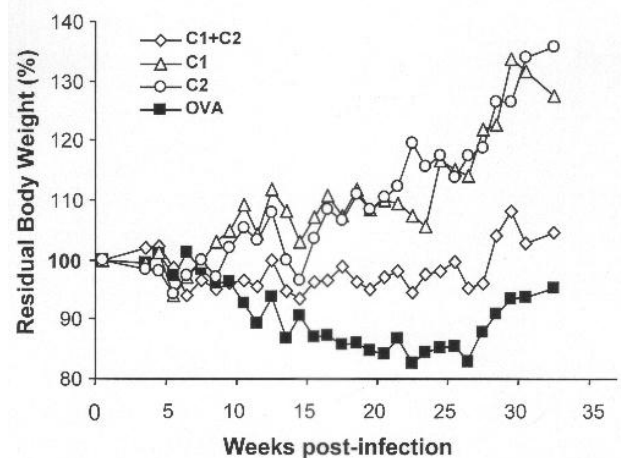


Figure 10 : Evolution du poids corporel des animaux immunisés (C1, C2, C1+C2) et des témoins après infection à *T. congolense*
D'après Authié et al., 2001

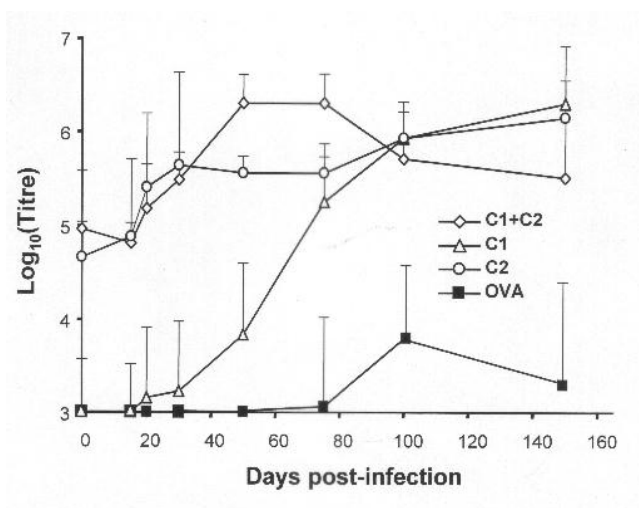


Figure 11 : Evolution des titres d'IgG spécifiques à la congopaine native chez les animaux immunisés (C1,C2,C1+C2) et chez les témoins après infection à *T. congolense*
D'après Authié et al., 2001

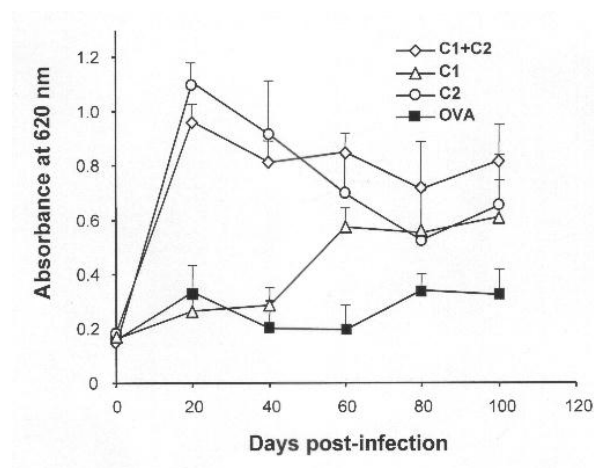


Figure 12 : Evolution des titres d'IgG spécifiques aux VSG chez les animaux immunisés (C1,C2,C1+C2) et les témoins après infection à *T. congolense*
D'après Authié et al., 2001

D'après cette étude, les deux familles de cystéines protéase CP1 et CP2 contribuent aux mécanismes de l'anémie post-infection alors que seule la protéase C2 (congopaine) semble intervenir de façon déterminante dans l'établissement de l'immunosuppression. L'inhibition de l'activité de la congopaine par des anticorps spécifiques naturellement produits par les animaux trypanotolérants durant l'infection ou artificiellement induits pour les autres conduit à une meilleure résistance à la maladie. Selon les résultats de cette étude, il semblerait donc envisageable d'augmenter la résistance à la trypanosomose chez des individus pourtant sensibles grâce à une immunisation contre certains facteurs pathogènes des trypanosomes.

CONCLUSION

La principale différence observée entre les animaux trypanotolérants et trypanosensibles a été l'expression importante d'IgG1 spécifiques, par la suite identifiées comme des IgG anti-congopaïne. L'identification de deux formes de cystéines protéases (C1 et C2) en tant que facteurs parasitaires intervenant dans l'établissement de l'anémie ainsi que de l'immunosuppression a permis la synthèse de protéines recombinantes à la base d'essais d'immunisation. Après immunisation avec C1 et C2 puis infection à *Trypanosoma congolense*, la période prépatente et la parasitémie initiale sont restées identiques entre animaux immunisés et animaux témoins. L'immunisation avec les deux formes C1 et C2 a permis aux animaux concernés de retrouver assez rapidement des valeurs hématologiques convenables. L'immunisation avec la congopaïne (représentant C2) a non seulement apporté ses effets hématologiques mais a également entraîné une meilleure réponse humorale anti-VSG, anti-immunisants et anti-congopaïne naturelle.

L'immunisation avec la congopaïne semble donc particulièrement prometteuse car elle permet la lutte contre l'anémie et l'immunosuppression inhérentes à la trypanosomose. Chez les animaux immunisés, non seulement l'amélioration de la réponse immune anti-VSG laisse imaginer un meilleur contrôle de la parasitémie mais en plus la réponse effective anti-congopaïne permet d'espérer l'inhibition de ce facteur parasitaire intervenant dans l'installation de l'anémie et de l'immunosuppression.

Ces différentes études ont été menées sur certaines races d'animaux trypanotolérants et sur des zébus, sous conditions contrôlées et à moyen effectif. Il reste à savoir si les effets escomptés de l'immunisation à la congopaïne seront homogènes sur des effectifs importants d'animaux de race tolérantes, sensibles ou métis et sur des conditions de terrain. De plus, la longévité de la réponse IgG anti-congopaïne est encore inconnue. Par ailleurs, il est certain que l'immunisation à la congopaïne seule n'empêchera pas le bétail de s'infecter, tout ou plus l'aidera-t-il à mieux supporter la maladie. Ce type d'immunisation pourra par contre s'avérer fort intéressant dans le cadre d'un « vaccin cocktail », c'est-à-dire d'un vaccin constitué d'un mélange d'antigènes. Les différentes équipes scientifiques multiplient les domaines de recherche pour lutter contre la trypanosomose. Certains continuent sur la voie du vaccin traditionnel anti-parasite en se basant sur des protéines invariantes de la poche flagellaire, d'autres travaillent sur un éventuel vaccin constitué d'antigènes d'intestins de mouches permettant à l'hôte de lutter contre les populations vectorielles, enfin des recherches de nouveaux facteurs parasitaires sont toujours en cours.

Les nouvelles orientations de lutte anti-maladie représentent aujourd'hui un nouvel espoir pour l'amélioration de l'élevage de toutes ces zones infestées par les vecteurs de la trypanosomose.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1/ AKOL G.W.O., MURRAY. M. (1982). Early events following challenge of cattle with tsetse infected with *Trypanosoma congolense* : development of the local skin reaction. *Veterinary Record*, ed., Vol. 110, pp. 295-302.
- 2/ AUTHIE E., CUISANCE D., FORCE-BARGE P., FREZIL J.L., GOUTEUX J.P., JANNIN J., LANCIEN J., LAVEISSIERE C., LEMESRE J.L., MATHIEU-DAUDE F., NITCHEMAN S., NOIREAU F., PENCHENIER L., TIBAYRENC M., TRUC P., (1991). Some new prospects in epidemiology and fight against human african trypanosomiasis. In "Research and reviews in Parasitology", Vol. 51, pp. 29-46.
- 3/ AUTHIE E., MUTETI D. K., MBAWA Z.R., LONSDALE-ECCLES J.D., WEBSTER P., WELLS C.W., (1992). Identification of a 33-kilodalton immunodominant antigen of *Trypanosoma congolense* as a cysteine protease. In "Molecular and Biochemical Parasitology", Vol. 56, pp. 103-116. Elsevier Science Publishers B.V.
- 4/ AUTHIE E. (1993). Contribution à l'étude des mécanismes immunologiques impliqués dans la trypanotolérance des taurins d'Afrique., Thèse pour le Doctorat ès Sciences de la Vie, Biologie-Santé, Bordeaux : Université de Bordeaux II, FRANCE.
- 5/ AUTHIE E., DUVALLET G., ROBERTSON C., WILLIAMS D.J.L., (1993). Antibody responses to a 33 kDa cysteine protease of *Trypanosoma congolense*: relationship to "trypanotolerance" in cattle. In "Parasite Immunology", Vol. 15, pp. 465-474.
- 6/ AUTHIE E., MUTETI D. K., WILLIAMS D.J.L., (1993). Antibody responses to invariant antigens of *Trypanosoma congolense* in cattle of differing susceptibility to trypanosomiasis. In "Parasite Immunology", Vol. 15, pp. 101-111.
- 7/ AUTHIE E. (1994). Trypanosomiasis and trypanotolerance in cattle: a role for Congopain? In "Parasitology Today", Vol. 10, pp. 360-364.
- 8/ AUTHIE E., BOULANGE A., MUTETI D., LALMANACH G., GAUTHIER F., MUSOKE A.J., (2001). Immunisation of cattle with cysteine proteinases of *Trypanosoma congolense*: targeting the disease rather than the parasite. In "International Journal for Parasitology", Vol. 31, pp. 1429-1433.
- 9/ BOULANGE A., SERVEAU C., BRILLARD M., MINET C., GAUTHIER F., DIALLO A., LALMANACH G., AUTHIE E., (2001). Functional expression of the catalytic domains of two cysteine proteinases from *Trypanosoma congolense*. In "International Journal of Parasitology", Vol. 31, pp. 1435-1440.
- 10/ CHALLIER A., LAVEISSIERE C. (1973). Un nouveau piège pour la capture des glossines. Description et essais sur le terrain. In "Cahiers ORSTOM, Série Entomologie médicale et Parasitologie", Vol. 11, pp. 251-262.
- 11/ CIRDES (2001). "Diagnostic et contrôle des hémoparasitoses animales et leurs vecteurs," Marc DESQUESNES/Ed., Bobo-Dioulasso.
- 12/ CLARK I.A., CHAUDHRI G., COWDEN W.B., (1989). Roles of tumor necrosis factor in the illness and pathology of malaria. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, ed., Vol. 83, pp. 436-440.
- 13/ CUISANCE D. (2001-2002). "Glossines et trypanosomes," CIRAD, Montpellier, cours de DESS.

- 14/ D'ETEREN G.D.M., AUTHIE E., WISSOCQ N., MURRAY M., (1998). Trypanotolerance, an option for sustainable livestock production in areas at risk from trypanosomosis. In "Revue scientifique et technique de l'Office international des Epizooties", Vol. 17, pp. 154-175.
- 15/ DONELSON J.E., HILL K. L., EL-SAYED N.M.A., (1998). Multiple mechanisms of immune evasion by African trypanosomes. In "Mol. Biochem. Parasitol.", Vol. 91, pp. 51-66.
- 16/ DUVALLET G. (1987). Trypanosomoses humaine et animale en Afrique de l'Ouest. Recherches épidémiologiques et immunoparasitologiques., Thèse pour le Doctorat d'Etat, Université d'Orsay, FRANCE.
- 17/ DWINGER R.H., LAMB G., MURRAY M., HIRUMI H., (1987). Dose and stage dependency for the development of local skin reactions caused by *Trypanosoma congolense* in goats. In "Acta Tropica", Vol. 44, pp. 303-314.
- 18/ FILLEDIER F., DUVALLET G., MEROT P., (1988). Comparaison du pouvoir attractif des bovins Zébu et Baoulé pour *Glossina tachinoides* Westwood, 1850 et *Glossina morsitans submorsitans* Newstead, 1910 en savane soudano-guinéenne, Burkina Faso. In « Revue d'Elevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux », Vol. 41, pp. 191-196.
- 19/ FUMOUX F., QUEVAL R., TRAORE-LEROUX T., SIDIBE I., (1984). La réponse allogénique chez les bovins de l'Ouest africain. Modification dans la trypanosomose. In "Revue d'Elevage et de Médecine des Pays Tropicaux", Vol. 37, pp. 248-257. IEMVT.
- 20/ FUMOUX F., TRAORE-LEROUX T., QUEVAL R., PINDER M., ROELANTS G.E., (1985). High and low responsiveness of bovine lymphocytes to *Trypanosoma brucei* in vitro: lack of correlation with resistance to trypanosomiasis. In "Immunology", Vol. 54, pp. 195-203.
- 21/ FUMOUX F., PINDER M., QUEVAL R., ROELANTS G.E., (1985). Immunosuppression is caused by the inhibition of interleukin 2 production in mice and cattle infected with african trypanosomes. In "Veterinary Immunology and Immunopathology".
- 22/ FUMOUX F. (1987). Contribution à l'étude de la résistance naturelle des bovins aux trypanosomoses africaines., Thèse pour le Doctorat d'Etat-Sciences, Université d'Aix-Marseille II, Faculté des Sciences de Luminy, FRANCE.
- 23/ LORENZINI E., SCOTT J. R., PALING R.W., JORDT T., (1988). The effects of *Trypanosoma congolense* infection on the reproductive cycle of N'Dama and Boran heifers. In "The African Trypanotolerant Livestock Network" (ILCA/ILRAD, ed.), pp. 168-173.
- 24/ LUCKINS A.G. (1976). The immune response of Zebu cattle to infection with *Trypanosoma congolense* et *Trypanosoma vivax*. In "Annals of Tropical Medicine and Parasitology", Vol. 70, pp. 133-145.
- 25/ MURRAY M., MORRISON W. I., WHITELAW D.D., (1982). Host susceptibility to African trypanosomiasis : Trypanotolerance. In "Advances in Parasitology", Baker et Muller, ed., Vol. 21, pp. 1-68. Academic press, London.
- 26/ MURRAY M. (1987). Trypanotolerance, its criteria and genetic and environmental influences. ILCA/ILRAD, ed., pp. 133-145, Nairobi, Kenya.
- 27/ MURRAY M., DEXTER T. M. (1988). Anaemia in bovine African trypanosomiasis. In "Acta trop.", Vol. 45, pp. 389-432.

- 28/ MUSOKE A.J., NANTULYA V. M., BARBET A.F., KIRONDE F., McGUIRE T.C., (1981). Bovine immune response to African trypanosomes : specific antibodies to variable surface glycoproteins of *Trypanosoma brucei*. In "Parasite Immunology", Vol. 3, pp. 97-106.
- 29/ NANTULYA V.M., MUSOKE A. J., RURANGIRWA F.R., BARBET A.F., NGAIRA J.M., KATENDE J.M., (1982). Immune depression in African trypanosomiasis : the role of antigenic competition. In "Clin. Exp. Immunol.", Vol. 47, pp. 234-242.
- 30/ PAGOT J. (1974). Les races trypanotolérantes. In "Les moyens de lutte contre les trypanosomoses et leurs vecteurs", Institut d'Elevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux, pp. 235-248, Paris.
- 31/ PEARSON T.W., B. R. P., WELBURN S.C., RUEPP S., RODITI I., HWA K.Y., ENGLUND P.T., WELLS C.W., MURPHY N.B., (2000). The major cell surface glycoprotein procyclin is a receptor for induction of a novel form of cell death in African trypanosomes in vitro. In "Mol Biochem Parasitol", Vol. 111, pp. 333-49.
- 32/ QUEVAL R. (1982). La glucose-6-phosphate déshydrogénase érythrocytaire chez des races bovines trypanosensibles et trypanotolérantes de l'ouest africain. In "Revue d'Elevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux", Vol. 35, pp. 125-135. IEMVT.
- 33/ QUEVAL R., PETIT J. P. (1982). Polymorphisme biochimique de l'hémoglobine de populations bovines trypanosensibles, trypanotolérantes et de leur croisement dans l'Ouest africain. In "Revue d'Elevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux", Vol. 35, pp. 137-146.
- 34/ QUEVAL R., BAMBARA L. (1984). Le polymorphisme de l'albumine dans la race Baoulé et une population de zébus de type soudanien. In "Revue d'Elevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux", pp. 288-296. IEMVT.
- 35/ ROELANTS G.E. (1986). Natural resistance to African trypanosomiasis. In "Parasite Immunology", Vol. 8, pp. 1-10.
- 36/ ROITT, B., MALE, (1997). "Immunologie," DeBoeck University.
- 37/ TRAORE-LEROUX T., FUMOUX F., CHAIZE J. and ROELANTS G.E., (1987). *Trypanosoma brucei brucei* : Polyamine oxidase mediated trypanolytic activity in the serum of cattle naturally resistant to african trypanosomiasis. In "Experimental Parasitology", Vol. 64, pp. 401-409.
- 38/ VALE G.A. (1980). Field studies of the responses of tsetse flies (Glossinidae) and other Diptera to carbon dioxide, acetone and other chemicals. In "Bul. Entomol. Res.", Vol. 70.
- 39/ WELLDE B.T., PRESTON J. M., KOVATCH R.M., HIGGS J., CHUMO D.A., (1989). *Trypanosoma congolense*: erythrocyte indices, plasma iron turn-over and effects of treatment in infected cattle. In "Annals of Tropical Medicine and Parasitology", Vol. 83, pp. 201-206.
- 40/ ZWART D. (1989). Aspects of comparative pathology and pathogenesis of trypanosomal infections in Africa. In « Annales de la Société Belge de Médecine Tropicale, Vol. 69, pp. 105-112.