

**Pluri-infestations et contrainte parasitaire: aspects
parasitologiques, immunologiques et
anatomopathologiques dans le modèle souris/
Filaire-Plasmodium**

Gregory Karadjian

► **To cite this version:**

Gregory Karadjian. Pluri-infestations et contrainte parasitaire: aspects parasitologiques, immunologiques et anatomopathologiques dans le modèle souris/ Filaire-Plasmodium. Parasitologie. 2011. <hal-01478748>

HAL Id: hal-01478748

<https://hal-ephe.archives-ouvertes.fr/hal-01478748>

Submitted on 28 Feb 2017

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

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

ECOLE PRATIQUE DES HAUTES ÉTUDES

Sciences de la Vie et de la Terre

MÉMOIRE

Présenté

Par

Monsieur Grégory KARADJIAN

Pour l'obtention du diplôme de l'École Pratique des Hautes Études

TITRE : Pluri-infestations et contrainte parasitaire: aspects parasitologiques, immunologiques et anatomopathologiques dans le modèle souris/ Filaire-*Plasmodium*.

soutenu le 12 septembre 2011 devant le jury suivant :

Prof. Thierry WIRTH – Président

Dr. Coralie MARTIN – Tuteur scientifique

Dr. Marc GODINOT – Tuteur pédagogique

Dr. Marie-Noëlle Ungeheuer – Rapporteur

Dr. Christiane Deregnacourt – Examineur

Mémoire préparé sous la direction de :

Dr Coralie MARTIN

Laboratoire de : UMR 7245 CNRS-MNHN *Molécules de Communication et Adaptation des Microorganismes*, 61 rue Buffon, 75005 Paris

Directeur : *Prof. Sylvie REBUFFAT*

et de

Dr. Marc GODINOT

Laboratoire de : UMR 7207 CR2P, 8 rue Buffon, 75005 Paris

Directeur : *Prof. Philippe JANVIER*

Résumé

Dans le cadre d'une interaction hôte-parasite, des adaptations réciproques sont mises en place par chacun des deux protagonistes, pour maximiser ou au contraire minimiser la réussite parasitaire. Le système immunitaire de l'hôte joue un rôle majeur dans ces mécanismes de régulation. Chez la souris *Mus musculus*, de nombreuses études ont été réalisées en laboratoire sur des mono-infestations expérimentales avec des parasites naturels ou non de la souris. Cependant, en conditions naturelles, un hôte est souvent infesté par plusieurs espèces de parasites. Des études expérimentales de multi-infestations reflèteraient ainsi mieux les conditions naturelles des interactions. Dans ce travail, nous avons réalisé des co-infestations contrôlées et simultanées d'une lignée consanguine de souris avec deux espèces de parasites : la filaire *Litomosoides sigmodontis* et l'apicomplexe *Plasmodium* spp. Du fait de la disponibilité d'un grand nombre de souches de *Plasmodium* dans les collections du Muséum National d'Histoire Naturelle, la première étape de cette étude a été de sélectionner des souches non létales de *Plasmodium* présentant un seul pic de parasitémie. Nous avons retenu *P. yoelii yoelii* clone 1.1 dans une première étude où des paramètres de la réponse immunitaire ont été étudiés, et *P. chabaudi chabaudi* 864VD dans une deuxième étude où une analyse préliminaire des lésions anatomopathologiques a été effectuée. Les paramètres immunologiques et phénotypiques pris en compte mettent en évidence des différences entre les mono- et les co-infestations. En situation de co-infection, nous montrons que les deux parasites sont capables de se développer en présence l'un de l'autre, mais chacun a un effet limitant sur l'autre; le pic de parasitémie plasmodial est plus bas et la charge filarienne réduite en situation de co-infection. Cette modification phénotypique est à associer avec des différences immunitaires aussi bien dans la voie Th2 (réponse IL-5 prépondérante dans l'infection filarienne, absente en co-infection) que dans la régulation immunitaire (l'IL-10 mesurée dans l'infection plasmodiale est immunorégulée par la présence concomitante de la filaire). La co-infection n'a cependant pas d'effet sur la splénomégalie induite par *Plasmodium*, et ceci quelle que soit la souche de *Plasmodium* utilisée. Enfin la caractérisation des lésions par une étude anatomopathologique pourrait contribuer à mieux définir les différentes souches de *Plasmodium* de rongeurs et aider à discriminer l'impact de l'infection filarienne sur les lésions dues à l'infection plasmodiale.

L'intérêt en immunologie et en anatomopathologie de ce modèle de pluri-infestation chez la souris consanguine est donc confirmé par cette étude préliminaire.

Mots clé:

Co-infection / *Plasmodium* / *Litomosoides sigmodontis* / Parasitémie / réponse immunitaire

Table des matières

Introduction	7
Avant-propos	7
1. Le paludisme	8
1.1. Problème de santé publique	8
1.2. Classification des <i>Plasmodium</i>	9
1.3. Agents du paludisme humain	9
1.4. Cycle du paludisme : exemple de <i>Plasmodium falciparum</i>	11
1.4.1. La phase <i>Anopheles</i>	11
1.4.2. Infestation par l'anophèle femelle	12
1.4.3. La phase hépatique	12
1.4.4. La phase érythrocytaire	12
1.4.4.1. Invasión du globule rouge par les mérozoïtes	13
1.4.4.2. Stade anneau	13
1.4.4.3. Stade trophozoïte	13
1.4.4.4. Stade schizonte	14
1.5. Espèces plasmodiales murines	14
1.6. Réponses immunitaires dans le paludisme humain et murin	16
1.6.1. Immunité acquise	16
1.6.2. Immunité contre les sporozoïtes	17
1.6.3. Immunité contre les antigènes exo-érythrocytaires	17
1.6.4. Immunité contre la phase érythrocytaire	18
1.6.5. Immunosuppression induite par <i>Plasmodium</i>	18
1.6.5.1. Suppression de la réponse humorale	18
1.6.5.2. Mécanismes de l'immunosuppression	19
2. Les filarioses	20
2.1. Les différentes filarioses humaines et leurs agents	21
2.1.1. Filarioses lymphatiques	21
2.1.2. L'onchocercose et le nodule onchocerquien	21
2.1.3. La loase	22
2.1.4. Les mansonelloses	22
2.2. Modèle expérimental de filariose	22
2.2.1. Le modèle murin <i>Litomosoides sigmodontis</i>	22
2.2.2. Cycle de <i>Litomosoides sigmodontis</i> chez la souris BALB/c	22
2.2.3. Réponses immunitaires induites par les filaires	24
2.2.3.1. Réponse immune à l'entrée des L3	24
2.2.3.2. La reconnaissance PAMP-PRR et l'immunité innée	25
2.2.3.3. L'immunité adaptative	26
2.2.3.4. Immunosuppression due aux filaires	27
3. Co-infections paludisme / helminthes	28
4. Objectifs	30
4.1. Objectif principal	30
4.2. Objectifs spécifiques	30

Liste des abréviations

- BSA : Bovine Serum Albumin
- CMH : Complexe Majeur d'Histocompatibilité
- CS : circumsporozoïte
- CTLA : Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen
- DMSO : diméthyl sulfoxyde
- ELISA: Enzyme Linked Immunosorbant Assay
- GITR: glucocorticoid-induced TNFR-related protein
- IFN : interféron
- IL : interleukine
- L. : *Litomosoides*
- LPS : lipopolysaccharide
- Mfs : microfilaires
- MNHN : Muséum National d'Histoire Naturelle
- MSP-1 : Merozoite Surface Protein-1
- NK : Natural Killer
- OMS : Organisation Mondiale de la Santé
- P. : *Plasmodium*
- PAMP : pathogen associated molecular pattern
- PBS : phosphate buffered saline
- PD : Programmed Death
- PleCs : cellules de l'exsudat pleural
- PRR : pattern recognition receptors
- TCR : T Cell Receptor
- TGF: Tumor Growth Factor
- TLR : Toll Like Receptor
- TNF: Tumor Necrosis Factor
- Treg : cellules T régulatrices
- WSP : *Wolbachia* Surface Protein
- WoLP : *Wolbachia* Lipoprotein

INTRODUCTION

Avant-propos

Les maladies parasitaires concernent une très grande partie de la population mondiale. Cependant, elles restent étudiées individuellement sans tenir compte des situations de polyparasitisme.

Depuis quelques années, l'intérêt s'est accru pour l'influence du polyparasitisme sur les réponses élicitées contre chaque parasite. En conséquence les voies thérapeutiques choisies pour soigner une parasitose ne sont pas forcément adaptées lors d'un contexte de co-infection.

Afin de mieux évaluer l'impact croisé de deux parasitoses chez un hôte, le travail présenté ici s'attache à décrypter certains aspects immunologiques, parasitologiques et anatomopathologiques dans un modèle murin de co-infection *Plasmodium*/filaire.

1. Le paludisme.

1.1 Problème de santé publique

La "Mal'aria" (ou « mauvais air ») a été citée pour la première fois en 1717, après observation post-mortem d'une pigmentation dans la rate et le cerveau (Lancisi 1717). Plus d'un siècle après la découverte de l'agent pathogène, le *Plasmodium* par Laveran en 1880, et de son vecteur, un culicidé femelle (Laveran 1880; Sergent 1880; Laveran 1897), le paludisme reste l'un des fléaux majeurs de l'humanité. Autrefois endémique en Europe, aux Etats-Unis et au Canada, le paludisme est aujourd'hui confiné aux régions à climats tropicaux et sub-tropicaux (Figure 1) (Hay, Guerra et al. 2004). Les rares cas déclarés dans les pays développés sont majoritairement des voyageurs ayant séjourné en zone d'endémie. Les zones à risque palustre regroupent plus de 40% de la population mondiale. L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) estime à 225 millions le nombre de cas cliniques annuels, et 781 000 le nombre de décès annuels (rapport OMS, 2009), dus aux infections à *Plasmodium falciparum*, particulièrement le paludisme cérébral. On estime qu'il y a plus de 2000 décès par jour, dont 90% sont localisés en Afrique sub-saharienne, où la mortalité touche essentiellement les

enfants de moins de 5 ans (Global_Malaria_Partnership 2011). La maladie affecte les populations les plus pauvres : les forts taux de morbidité et mortalité résultent du manque d'accès aux traitements et à l'information.

1.2 Classification des *Plasmodium*

Domaine : Eukaryota

Règne : Chromalveolata

Division : Alveolata

Embranchement : Apicomplexa

Classe : Aconoidasida

Ordre : Haemosporida

Famille : Plasmodiidae

Genre : *Plasmodium*

1.3 Agents du paludisme humain

Il existe quatre espèces de *Plasmodium* susceptibles d'infecter l'homme : *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium ovale* et *Plasmodium malariae*. Il faut inclure maintenant *Plasmodium knowlesi*, cinquième espèce découverte récemment chez l'homme, essentiellement trouvée en Malaisie, et très proche morphologiquement de *Plasmodium ovale*.

Chaque espèce présente des caractères parasitaires et infectieux différents (Tableau 1). Néanmoins le cycle biologique se déroule toujours de la même manière, avec deux hôtes successifs : un hôte vertébré où se passent les phases de multiplication asexuée (ou schizogonique), et un hôte invertébré où se passe la phase de multiplication sexuée (ou sporogonique). Dans le paludisme humain, le vecteur (ou hôte définitif) est l'*Anopheles* femelle (diptère de la famille des Culicidés), l'hôte intermédiaire est l'homme. Soixante espèces connues de Culicidés sont capables de transmettre la maladie dans les régions chaudes et humides du globe, chacune ayant une niche écologique bien délimitée.

Des études moléculaires ont montré que *Plasmodium falciparum* est proche génétiquement de *Plasmodium reichenowi* et *Plasmodium gaboni* (*Plasmodium gorA* et *Plasmodium gorB*) qui sont des espèces retrouvées chez les chimpanzés et les gorilles (Prugnolle, Durand et al. 2010). De même, *Plasmodium falciparum* a été retrouvé chez des chimpanzés et l'étude moléculaire indique que *Plasmodium falciparum* serait une descendance de *Plasmodium reichenowi* (Perkins 2008; Prugnolle, Durand et al. 2010). Cela révèle que la barrière d'espèces est fragile : la transmission réciproque des parasites pathogènes entre les humains et les primates a été mise en évidence de nombreuses fois (Schmidt, Greenland et al. 1961; Vythilingam, Noorazian et al. 2008; Duval, Nerrienet et al. 2009).

1.4 Cycle du paludisme : Exemple de *Plasmodium falciparum*.

1.4.1 La phase *Anopheles*

Au cours d'un repas sanguin sur un individu infecté, l'anophèle femelle ingère les différentes formes sanguines du parasite. Celles de la phase asexuée sont digérées et seuls les gamétocytes (Figure 2, 3[h]), formes sexuées mâles et femelles, vont poursuivre leur développement. Sous les effets du nouvel environnement (température, pH,...) le gamétocyte femelle se transforme en macrogamète, immobile. Le gamétocyte mâle « exflagelle » pour devenir un microgamète (Figure 2, 4[i]). La fécondation du macrogamète par le microgamète forme un zygote devenant mobile : l'ookinète (Figure 2, 4[j]). Il traverse la paroi stomacale et forme alors l'oocyste (Figure 2, 4[k]). Il subit alors une mitose réductionnelle puis des mitoses équationnelles formant des masses haploïdes appelées sporoblastes. Ceux-ci vont générer des milliers de sporozoïtes (Figure 2, 4[l]) qui migrent vers les glandes salivaires en 24 heures.

1.4.2 Infestation par l'anophèle femelle

Lors d'un nouveau repas sanguin, l'anophèle injecte par sa salive les sporozoïtes présents dans ses glandes salivaires. Ces cellules infestantes vont rapidement atteindre la circulation sanguine et pénétrer dans les cellules hépatiques. Des travaux récents ont montré

que certains sporozoïtes auraient la capacité de se développer dans la peau (Gueirard, Tavares et al. 2010).

1.4.3 La phase hépatique

Le sporozoïte se développe dans les cellules parenchymateuses du foie, utilisant leurs réserves pour se nourrir, s'arrondir et se transformer en trophozoïte. Il devient alors soit un hypnozoïte, chez *Plasmodium vivax* et *Plasmodium ovale*, forme quiescente responsable des rechutes, soit il peut aller jusqu'à maturité et former un schizonte hépatique (Figure 2, 1[b]). Chez *Plasmodium falciparum*, les schizontes hépatiques peuvent libérer de 20 000 à 40 000 mérozoïtes dits « exo-érythrocytaires » (Figure 2, 1[c]), qui sont les formes infestantes.

1.4.4 La phase érythrocytaire

Le stade invasif, mérozoïte, est extra-cellulaire. Après la pénétration du mérozoïte dans l'érythrocyte, il va se développer en 48 à 72 heures. Pour *Plasmodium falciparum*, ce développement s'effectue en 48 heures, ce qui est désigné comme fièvre tierce (Tableau 1). Trois stades vont se succéder : le jeune trophozoïte (plus communément appelé « anneau ») (0 à 20h), le trophozoïte (20 à 36h) et le schizonte (36 à 48h).

1.4.4.1 Invasion du globule rouge par les mérozoïtes

En microscopie électronique sont décrits dans la partie antérieure du mérozoïte trois types d'organites appelés : rhoptries, micronèmes et granules denses. Une protéine de surface, MSP-1 (Merozoite Surface Protein-1), initie le contact avec le globule rouge. Après réorientation, la partie apicale est en contact avec le globule rouge et une jonction serrée des deux membranes se crée. Le contenu des micronèmes et des rhoptries est libéré pour modifier la membrane de l'érythrocyte. Cette membrane « hybride » (la membrane parasitophore) va alors envelopper le mérozoïte en progressant de la partie antérieure à la partie postérieure du parasite (Aikawa, Miller et al. 1978). Le parasite se trouve à l'intérieur d'un espace délimité par la membrane parasitophore. C'est l'espace (ou la vacuole) parasitophore.

1.4.4.2 Stade « anneau ».

Ce nom est associé à son apparence caractéristique en « bague à chaton » sur frottis sanguin, coloré au Giemsa (Figure 2, 2[d]). Cela est dû au fait que tous les organites majeurs (noyau, mitochondries, apicoplaste, reticulum endoplasmique, ribosomes) sont en périphérie, et que le centre du disque, très fin, ne contient plus que le cytosol (phase liquide dans laquelle baignent les organites). A ce stade, le parasite commence à se nourrir de l'hémoglobine de la cellule hôte et va se transformer en une forme plus arrondie : le trophozoïte (Figure 2, 2[e]).

1.4.4.3 Stade trophozoïte

Morphologiquement, il se différencie du stade anneau essentiellement par sa taille. Son activité métabolique s'accroît fortement. Le volume du cytoplasme, et la taille des mitochondries et de l'apicoplaste augmentent. Le parasite continue à se nourrir de l'hémoglobine, et transforme l'hème, toxique, en pigment inerte d'hémozoïne qu'il accumule dans sa vacuole digestive. Le parasite va modifier progressivement la membrane du globule rouge en exportant à sa surface diverses protéines, en particulier par les « fentes de Maurer », extensions de la membrane parasitophore. Certaines des protéines exportées interviennent dans les modifications de l'adhésivité du globule rouge, et ont été impliquées, chez *Plasmodium falciparum*, dans la séquestration des trophozoïtes et des schizontes dans les capillaires profonds, notamment dans le cerveau et le placenta.

1.4.4.4 Stade schizonte

Il s'agit d'un stade de divisions nucléaires répétitives (Figure 2, 2[f]), suivies de divisions cytoplasmiques. La digestion de l'hémoglobine se poursuit jusqu'à la fin de ce stade qui s'agglomère en une masse dense. Au cours de la biogénèse des mérozoïtes, l'acquisition des organites spécifiques de l'embranchement des apicomplexes (rhoptries, micronèmes et granules denses) s'effectue. L'éclatement des schizontes mûrs termine le premier cycle schizogonique érythrocytaire en libérant dans le sang les mérozoïtes « érythrocytaires » (Figure 2, 2[g]) capables d'infecter d'autres globules rouges.

1.5 Espèces plasmodiales murines

Toutes les espèces de *Plasmodium* murins utilisées en laboratoire ont été isolées à partir d'un rongeur nocturne sauvage: *Thamnomys rutilans*, présent dans différentes régions africaines. Chez celui-ci, le parasite est peu virulent, et la parasitémie persiste sous forme chronique tout au long de la vie. À l'heure actuelle, toutes les souches et les clones parasitaires utilisés en laboratoire sont issus de ces espèces plasmodiales et ont été adaptés aux rongeurs de laboratoire, souris et rats. L'infection de ces rongeurs est habituellement aiguë soit avec une évolution mortelle, soit spontanément régressive avec élimination des parasites. Ces souches murines ont l'inconvénient de ne pas pouvoir être maintenues *in vitro*.

Les espèces humaines, en particulier *P. falciparum*, n'ont pas pu être adaptées aux rongeurs. La pathologie chez les rongeurs présente des différences par rapport à la pathologie humaine, mais le déroulement des cycles hépatique et érythrocytaire est sensiblement le même. Il existe 4 espèces de *Plasmodium* de rongeurs, incluant 10 sous-espèces.

Les espèces plasmodiales murines ne produisent pas le même nombre de mérozoïtes érythrocytaires; elles infectent préférentiellement les érythrocytes ou les réticulocytes, globules rouges immatures (voir annexe I). Elles n'ont pas toutes un cycle schizogonique synchrone, ni la même synchronicité (Tableau 2).

La parasitémie chez la souris peut atteindre des pourcentages importants (80 % d'hématies parasitées). En moins de 24 heures, la souris peut spontanément se déparasiter et devenir résistante à toute réinfection par le même parasite. La survie et la charge parasitaire sont différentes selon la souche de souris infectée.

Pour étudier le paludisme cérébral, deux modèles murins ont principalement été utilisés. Le premier modèle de paludisme cérébral fut *Plasmodium yoelii yoelii* souche 17XL sur des souris CF1 et A/J (Yoeli and Hargreaves 1974). Il s'agit d'une souche qui a muté spontanément à partir de la souche 17XNL. Cette dernière ne provoque pas de paludisme cérébral. Par ailleurs, le clone 1.1 a été obtenu à partir de la souche 17XNL. Le deuxième modèle est *Plasmodium berghei* (Vincke and Lips 1950). En 1966, Vincke décrit la souche ANKA. Elle fut isolée au Katanga, puis envoyée au laboratoire des maladies infectieuses d'Anvers, d'où son nom : ANKA pour Antwerp-Katanga (Vincke, Bafort et al. 1966; Killick-Kendrick 1974). Des souris consanguines C57BL/6 qui sont infectées par *Plasmodium berghei* ANKA meurent à plus de 80% de paludisme cérébral (Greenberg and Kendrick 1957). Il en est de même pour les souris consanguines CBA et BALB/c (Neill and Hunt 1992). La souche 67 de *Plasmodium vinckei* est létale pour 78 % des souris NMRI inoculées et 80% des GIF/TB (Baford 1969).

1.6 Réponse immunitaire dans le paludisme humain et murin

Le *Plasmodium* est un micro-organisme qui provoque chez l'hôte des réponses immunes complexes pour contrôler l'infection (Troye-Blomberg 2002).

1.6.1 Immunité naturellement acquise.

Les effets protecteurs de la réponse immune innée se traduisent par la capacité de l'hôte à contrôler la maladie et la charge parasitaire (nombre de parasites par volume de sang) (Doolan, Dobano et al. 2009). L'immunité adaptative (spécifique et de mémoire) permet d'éliminer le parasite. Elle est appelée « non-stérile » car les personnes infectées peuvent toujours réacquérir l'infection et avoir des symptômes cliniques même s'ils ne souffrent pas de pathologies sévères. Deux explications ont été avancées : la première se base sur la résistance acquise en présence de plusieurs variants successifs de *Plasmodium* stimulant en

permanence le système immunitaire ; la deuxième explication propose l'intervention de réponses immunes intrinsèques (Doolan, Dobano et al. 2009). Les mécanismes cellulaires et moléculaires impliqués dans l'induction de la réponse immune adaptative contre *Plasmodium* sont encore mal connus et leur étude est cruciale pour le développement de vaccins. Néanmoins nous savons que la résolution de l'infection dépend de la balance entre cytokines pro-inflammatoires et cytokines anti-inflammatoires. Plusieurs études ont montré que les macrophages, les cellules endothéliales, les cellules dendritiques et les cellules NK (Natural Killer) sont les principales cellules du système immunitaire inné à réguler la balance des cytokines pendant l'infection (Stevenson and Riley 2004). Les cytokines pro-inflammatoires telles que Tumor Necrosis Factor α (TNF- α), l'interleukine 6 (IL-6), l'interleukine 12 (IL12), l'interleukine 1 (IL-1) et l'interféron γ (IFN- γ) sont impliquées dans la réduction de la parasitémie (Malaguarnera and Musumeci 2002; Hunt and Grau 2003; Stevenson and Riley 2004). L'IFN- γ induit la production d'IL-6, d'IL-12, du TNF- α , et les intermédiaires de l'oxyde nitrique par les macrophages (Clark, al Yaman et al. 1997; Malaguarnera and Musumeci 2002). Les cellules NK jouent un rôle également important, lorsqu'elles sont activées par l'IL-12, en produisant l'IFN- γ . Ces cellules augmentent la production d'IL-12 par les cellules dendritiques et promeuvent la sécrétion de l'IFN- γ par les cellules T CD4+ (Ing and Stevenson 2009). Une étude a montré que l'interleukine 2 (IL-2) induit la production d'IFN- γ , sans que le récepteur des lymphocytes T (TCR) soit activé (Kimura, Miyakoda et al. 2010). Les forts niveaux de cytokines pro-inflammatoires génèrent chez l'hôte les symptômes cliniques. Les cytokines anti-inflammatoires Tumor Growth Factor β (TGF- β), l'interleukine 10 (IL-10) et l'interleukine 4 (IL-4) semblent être nécessaires pour la protection de l'hôte (Artavanis-Tsakonas, Tongren et al. 2003). Ainsi, le TGF- β joue un rôle important dans la transition de la réponse de type Th1 (pro-inflammatoire) vers une réponse de type Th2 (anti-inflammatoire) durant la phase aigüe et la phase de résolution de l'infection (Tsunawaki, Sporn et al. 1988). L'IL-10 est la cytokine qui inhibe l'activation des macrophages, en supprimant la production de TNF- α , IL-6 et IFN- γ (Akdis and Blaser 1999).

1.6.2 Immunité contre les sporozoïtes.

La migration des sporozoïtes de l'intestin aux glandes salivaires du moustique augmente leur capacité d'infection. L'expression de la protéine du circumsporozoïte (CS), antigène spécifique à leur surface, est augmentée au cours de cette étape. Les anticorps contre la protéine CS bloquent la motilité des sporozoïtes, nécessaire à l'infection des hépatocytes de l'hôte (Kierzenbaum 1993). Des études ont démontré que la partie C terminal de la protéine CS partage une homologie avec la trombospondine (molécule d'adhésion), ce qui suggère que cette protéine pourrait fonctionner comme ligand d'un récepteur cellulaire dans le foie (Pancake, Holt et al. 1992).

1.6.3 Immunité contre les antigènes exo-érythrocytaires.

Les modèles expérimentaux ont fourni la plupart des informations concernant la réponse immune contre les formes exo-érythrocytaires. Les cellules T CD8+ y jouent un rôle prépondérant, et l'élimination des hépatocytes infectés par les cellules T CD8+ semble être dirigée par les molécules du Complexe Majeur d'Histocompatibilité (CMH) de classe I, lesquelles lient des antigènes dérivés des parasites intracellulaires ou des sporozoïtes (Weiss, Mellouk et al. 1990). Les cellules T peuvent également bloquer le développement de l'étape exoérythrocytaire par la sécrétion des cytokines, comme l'IFN- γ (Schofield, Villaquiran et al. 1987). L'IFN- γ a la capacité d'inhiber le développement des formes exo-érythrocytaires dans les hépatocytes *in vitro* et en absence d'autres cellules; de plus, l'IFN- γ active l'oxyde nitrique synthétase, enzyme qui catalyse la production d'oxyde nitrique, impliqué dans la destruction des protozoaires intracellulaires (Nardin and Nussenzweig 1993).

1.6.4 Immunité contre la phase érythrocytaire.

Les cellules T CD4+ jouent un rôle très important dans l'élimination des parasites intra-érythrocytaires à travers la sécrétion de cytokines. L'IL-12 produite par les cellules dendritiques et les macrophages activés stimulent une réponse de type Th1, qui est aussi favorisée par la production d'IFN- γ par les cellules NK (Natural Killer) (Wipasa, Elliott et al. 2002). Des souris défectueuses dans la production d'IFN- γ ont une réponse prédominante de type Th2, associée à une susceptibilité accrue à *Plasmodium chabaudi*, ce qui suggère que l'IFN- γ est un élément clé dans la résistance au parasite (Wipasa, Elliott et al. 2002). Le TNF- α protège en augmentant la capacité phagocytaire des monocytes mais possède aussi des effets pathologiques, étant associé entre autres à la splénomégalie (augmentation du volume de la rate), à la perte de poids et à l'anémie. La neutralisation du TNF- α augmente la survie des souris infectées. Au début de la maladie, la présence de TNF- α dans la rate confère une protection contre l'infection par *Plasmodium chabaudi* AS chez les souris C57BL/6, alors que chez les souris NI la concentration de TNF- α augmente dans le sérum et le foie à la fin de l'infection (Jacobs, Radzioch et al. 1996).

1.6.5 Immunosuppression induite par *Plasmodium*

1.6.5.1 Suppression de la réponse humorale.

L'immunosuppression est une caractéristique prépondérante des infections par *Plasmodium*. Différentes études ont démontré une suppression, pendant l'infection, de la réponse anticorps dirigée contre plusieurs antigènes non malariques. La réponse immune acquise semble donc être inhibée, ainsi que le développement de l'hypersensibilité retardée (Stevenson and Skamene 1986). En utilisant des modèles murins, il a été démontré que des

animaux infectés ne développent pas une réponse anticorps normale lorsqu'ils sont immunisés avec des antigènes T dépendants ou T indépendants (Weidanz 1982). L'effet immunosuppresseur des infections par *Plasmodium* sur la réponse anticorps est plus prononcé lorsque l'antigène est injecté dans la phase aiguë de la parasitémie, et il est associé à une induction défectueuse de la mémoire immunologique (Greenwood, Playfair et al. 1971). Ces observations ont été mises en évidence par Orjih et Nusseenzweig (1979); les chercheurs ont injecté des sporozoïtes irradiés de *P.berghei* chez des souris, et ils ont démontré que la réponse humorale était réduite d'une manière proportionnelle à l'inoculat. En utilisant des modèles murins de malaria, des diminutions des niveaux d'anticorps contre la transferrine sérique humaine, contre l'albumine sérique bovine (BSA), contre des antigènes thymus-dépendants (qui nécessitent la participation des cellules Th2) et, contre le polivinylpyrrolidone, un antigène thymus-indépendant, ont été observées chez les souris infectées. Cette dernière observation suggère que l'infection par *Plasmodium* peut avoir un effet direct sur les cellules B et pas nécessairement sur les cellules T (Goumard, Vu Dac et al. 1982). De plus, l'infection inhibe des réponses anticorps préexistantes. Finalement, il a été suggéré que l'infection par *Plasmodium* peut aussi modifier l'avidité d'anticorps pour certains antigènes (Steward and Voller 1973).

Les infections par *Plasmodium* ne diminuent pas seulement la réponse contre des antigènes hétérologues. (Wykes *et al.* 2005), ont démontré que des vaccins contenant la protéine de surface du mérozoïte (MSP) génèrent des cellules B-mémoire et des cellules plasmatisques de longue vie qui diminuent la capacité de l'hôte à répondre lors d'une infection par *Plasmodium*. Dans cette étude, une augmentation de 6 fois de l'apoptose des cellules B-mémoire (CD19+;CD27+) a été mesurée et suggère que soit ces cellules reçoivent des signaux pro-apoptotiques durant leur activation, soit elles n'ont pas été activées (Wykes, Zhou et al. 2005).

1.6.5.2 Mécanismes de l'immunosuppression

Plusieurs recherches ont suggéré que les cellules dendritiques, ainsi que les macrophages, sont les principales cellules impliquées dans l'immunosuppression due à *Plasmodium* (Weidanz 1982). Plusieurs observations ont été rapportées : une inhibition de la maturation et de la fonction des cellules dendritiques, un apprêtement et une présentation inefficace des antigènes par les macrophages, ainsi que la production de facteurs suppressifs solubles par ces derniers (Austyn 2000). L'hémozoïne (pigment malarique) est impliquée dans l'inhibition de la fonction des cellules dendritiques et des macrophages (Scorza, Magez et al. 1999; Urban and Todryk 2006). D'autre part, la présence d'une forte concentration d'antigènes exprimés par les globules rouges infectés semble empêcher des réponses immunes contre des antigènes hétérologues, comme par exemple les vaccins et d'autres pathogènes (Millington, Di Lorenzo et al. 2006; Urban and Todryk 2006). L'état de maturation des cellules dendritiques

contrôle leur capacité à induire et à réguler une réponse immune acquise (Oldenhove, de Heusch et al. 2003; Becker, Stoll et al. 2006). Les études réalisées sur les cellules dendritiques sont contradictoires, et semblent indiquer que certains paramètres tels que l'espèce de *Plasmodium*, l'inoculum et le type de cellule ciblée pourraient influencer leur effet sur l'immunité (Stevenson and Urban 2006; Stevenson and Zavala 2006).

En plus de l'immunosuppression, le parasite possède entre autres deux stratégies pour éviter d'être reconnu et éliminé par le système immunitaire. La première est la diversité antigénique: des changements dans les antigènes de surface à chaque étape du cycle biologique (Plebanski and Hill 2000; Troye-Blomberg 2002; Zambrano-Villa, Rosales-Borjas et al. 2002). La seconde est la variation antigénique: les protéines de surface du globule rouge infecté spécifiques sont polymorphiques. L'existence de régions répétitives au sein de ces protéines, régule la maturation et la production d'anticorps de haute affinité, en agissant comme « super antigènes » des cellules B et en induisant une réponse humorale polyclonale (Zambrano-Villa, Rosales-Borjas et al. 2002).

2. Les filarioses.

Les filaires sont des nématodes, vers ronds, recouverts d'une cuticule, et dotés d'un tube digestif, d'un système reproducteur, d'un système nerveux et d'un système d'excrétion-sécrétion.

Les filaires appartiennent à la famille des Onchocercidae. Leur cycle biologique passe par quatre stades larvaires (L1, L2, L3, L4) jusqu'au stade adulte, sexué. Les filaires sont hétéroxènes, c'est-à-dire qu'elles ont besoin d'un hôte intermédiaire, un arthropode hématophage, et un hôte définitif, un vertébré. Les mues 1 (passage de L1 à L2) et 2 (passage de L2 à L3) s'effectuent dans l'arthropode vecteur, pour donner les formes infestantes (L3) de l'hôte vertébré. L'hôte vertébré est infecté lors d'un repas sanguin du vecteur hématophage et les stades infestants transmis vont se développer en stade 4 puis en adultes mâles et femelles. Les femelles pondent des œufs embryonnés, entourés d'une gaine déformable renfermant la L1, ou microfilaire (Mf), capable de migrer dans le sang, la lymphe ou le derme (Bain, Casiraghi et al. 2008). Certaines espèces de filaires possèdent une bactérie endosymbiote, *Wolbachia*, retrouvée à chaque stade, et impliquée dans le développement, la reproduction et la mue (Hoerauf, Nissen-Pahle et al. 1999). Elle pourrait être également une cible thérapeutique (Hoerauf, Specht et al. 2008; Martin and Gavotte 2010).

2.1 Les différentes filarioses humaines et leurs agents.

2.1.1 Les filarioses lymphatiques.

Les filarioses lymphatiques sont dues à *Wuchereria bancrofti* (Cobbold, 1877), *Brugia malayi* (Brug, 1927) et *Brugia timori* (Cross, 1977). Sur 120 millions de personnes

infectées au monde, deux tiers ne présentent pas de symptômes. Le dernier tiers développe un hydrocèle (gonflement du scrotum), des lymphœdèmes ou des éléphantiasis (gonflements des membres) (Babu, Bhat et al. 2009). Les vaisseaux lymphatiques sont altérés, conséquences de la présence des filaires et de la réaction inflammatoire de l'hôte contre elles, leurs produits excrétés-sécrétés, *Wolbachia* et d'autres pathogènes s'introduisant dans les tissus altérés (Figueredo-Silva, Noroes et al. 2002).

2.1.2 L'onchocercose et le nodule onchocerquien.

L'agent pathogène est *Onchocerca volvulus* (Leukart, 1893). Cette filaire infecte environ 37 millions de personnes dont 99% en Afrique centrale. Elle est transmise par une mouche (simulie). Chez la simulie, après ingestion de microfilaires, celles-ci muent deux fois en 7 jours pour arriver au stade infestant (L3). Après piqûre, les L3 muent en L4 en deux jours, puis en adultes en 50 à 100 jours (Allen, Adjei et al. 2008). Les femelles restent dans le tissu sous-cutané et des nodules se forment autour d'elles, contenant ou non des mâles. Elles peuvent y vivre plus de 10 ans (Plaisier, van Oortmarsen et al. 1991). Les microfilaires sont pondues dans cet environnement nodulaire, peuvent utiliser le système lymphatique pour rejoindre le derme (Attout, Hoerauf et al. 2009) puis migrent vers la peau, la cornée et la rétine. Cela crée une réaction inflammatoire provoquant l'opacification de la cornée ou des lésions rétinienne pouvant aboutir à une cécité. Les dermatoses peuvent aboutir à une dépigmentation ou une atrophie de la peau.

2.1.3 La loase.

La loase a pour agent pathogène la filaire *Loa loa* (Guyot, 1778) dont le vecteur est un tabanidé du genre *Chrysops*. On la retrouve uniquement en Afrique centrale. Elle se manifeste par l'œdème de Calabar, dû à la présence de filaires dans les tissus sous-cutanés du visage et des membres supérieurs. Des complications cardiaques, rénales et neurologiques ont été recensées (Padgett and Jacobsen 2008).

2.1.4 Les mansonelloses.

Les mansonelloses sont des filarioses provoquées par *Mansonella ozzardi* (Manson, 1897) et *Mansonella perstans* (Manson, 1891) et sont presque toujours asymptomatiques.

2.2 Modèle expérimental de filariose

2.2.1 Le modèle murin *Litomosoides sigmodontis*

Il existe un modèle murin permettant d'étudier tous les stades de la filaire et les mécanismes immunologiques associés: la filaire *Litomosoides sigmodontis*, et son hôte naturel le rat du coton, *Sigmodon hispidus* (Chandler, 1931). Néanmoins, au début des années 1990, la filaire a été adaptée aux souris de laboratoire (consanguines) et à la gerbille, *Meriones unguilatus*. (Petit, Diagne et al. 1992; Bain, Wanji et al. 1994; Le Goff, Marechal et al. 1997). *L. sigmodontis* a pour avantage d'être étroitement liée aux filaires humaines par ses caractères phylogénétiques. Elles sont de la même sous-famille : les Onchocercinae (Anderson R.C. 1976), elles partagent quelques caractères biologiques, comme une migration intra-lymphatique (Bain, Wanji et al. 1994) et des similitudes génétiques (Allen, Daub et al. 2000; Bain, Casiraghi et al. 2008). De plus, comme pour presque toutes les filaires humaines, *L. sigmodontis* est l'hôte de la bactérie endosymbiote *Wolbachia* (Casiraghi, Bain et al. 2004).

2.2.2 Cycle de *Litomosoides sigmodontis* chez les souris BALB/c.

L'inoculation des stades infectants (L3) se fait par vecteur hématophage, l'acarien *Ornithonyssus bacoti*, dans lequel se font les mues 1 et 2, ou par injection sous-cutanée, ce qui permet de contrôler le nombre de L3 inoculées à la souris (Figure 3). 80% des L3 vont être détruites dans la peau par la réponse inflammatoire et les autres vont s'échapper par les vaisseaux lymphatiques puis migrer vers la cavité pleurale qui est leur localisation définitive (Wenk 1967; Marechal, Le Goff et al. 1996). Elles l'atteignent en 4 à 6 jours. La mue 3 (passage de L3 à L4) s'effectue 8 à 9 jours après inoculation. Le stade L4 a une forte croissance qui continue au stade adulte. La mue 4 (passage de L4 à adulte) a lieu 27 à 30 jours après inoculation. Les femelles arrivent à maturité et pondent les microfilaires qui sont détectables dans le sang environ 55 jours après inoculation.

2.2.3 Réponses immunitaires induites par les filaires

En général, les nématodes induisent une réponse de type Th2 par laquelle l'hôte est capable de contrôler l'infection. Cela paraît néanmoins un peu plus complexe pour les filaires

puisque'une réponse de type Th1 est également induite. Ceci pourrait être dû à la bactérie endosymbiote mutualiste des filaires: *Wolbachia*. En effet, des études ont montré que des humains ou des souris préalablement infectés par des filaires sont capables de développer une réponse immunitaire contre des extraits de filaire contenant *Wolbachia* ou contre des molécules isolées de *Wolbachia* comme la protéine de surface majeure (WSP) ou les lipoprotéines (WoLP) en produisant du TNF_α ou de l'IL-1_α (Hoerauf, Satoguina et al. 2005; Turner, Langley et al. 2009). Les deux types de réponses, Th1 et Th2, contribuent à l'inflammation et aux mécanismes effecteurs et peuvent être synergiques (Saeftel, Arndt et al. 2003). Ils limitent ainsi l'invasion du parasite mais peuvent également conduire à des pathologies. Les réponses Th1 et Th2 doivent être régulées pour prévenir des dommages tissulaires. De plus, chaque filaire humaine peut subsister pendant 10 ans dans son hôte, ce qui suggère que le nématode peut moduler le système immunitaire de son hôte et y échapper.

2.2.3.1 Réponse immune à l'entrée des L3

La première barrière contre l'entrée des L3 est la peau. La réponse immunitaire innée détruit les deux tiers des L3 en quelques heures dans le tissu cutané (Allen, Adjei et al. 2008). Cela implique une induction précoce des défenses de l'hôte, en particulier des recrutements et des activations cellulaires. Très rapidement après l'inoculation de L3, les neutrophiles sont fortement mobilisés et ils se concentrent au point d'injection (Le Goff, Martin et al. 2000; Porthouse, Chirgwin et al. 2006). Après stimulation par les L3, les mastocytes de la peau vont fortement dégranuler, en libérant entre autres de l'histamine, ce qui va augmenter la perméabilité vasculaire et faciliter l'échappement des larves vers le système lymphatique. Cette dégranulation est régulée par la chimiokine CCL17 qui est produite suite à l'activation des récepteurs Toll Like Receptor 2 (TLR2) : des souris déficientes en CCL17 présentent une dégranulation exacerbée des mastocytes et ont une charge parasitaire 4 fois plus importante; ceci ne se produit pas si les souris sont aussi déficientes en récepteurs TLR2. (Specht, Frank et al. 2011). Les L3 exercent aussi un effet sur les cellules de Langerhans en diminuant leur capacité d'activation des cellules T CD4⁺ ce qui contribue à la survie des larves (Semnani and Nutman 2004). Enfin chez des souris vaccinées, le mécanisme de défense contre les L3 est associé à une cytotoxicité cellulaire anticorps dépendante mettant en œuvre l'IL-5, les éosinophiles et les cellules B produisant des anticorps. En effet, les éosinophiles infiltrés dans le tissu sous cutané vacciné ne peuvent pas dégranuler et contribuer à la destruction des L3 si les souris sont déficientes en lymphocytes B (Martin, Al-Qaoud et al. 2000; Martin, Saeftel et al. 2001).

2.2.3.2 La reconnaissance PAMP-PRR et l'immunité innée.

Le système immunitaire inné, commun à tous les animaux, permet de détecter les

micro-organismes pathogènes principalement grâce à une famille de récepteurs, les récepteurs Toll. Ces récepteurs contrôlent en aval l'expression de molécules qui vont s'opposer aux agents infectieux, soit directement soit en permettant le recrutement et l'activation de cellules effectrices. En particulier, l'activation du système immunitaire adaptatif, qui est présent exclusivement chez les vertébrés, est contrôlée par les récepteurs Toll via la réponse innée. Les macrophages, les cellules dendritiques et les cellules NK qui opèrent en première ligne de la réponse innée sont activés par des motifs moléculaires conservés au sein de différents types de micro-organismes, motifs baptisés PAMP (pathogen associated molecular pattern) par Charlie Janeway, et reconnus par des PRR (pattern recognition receptors).

Des extraits de filaires mais aussi de leur bactérie mutualiste *Wolbachia* peuvent stimuler les TLRs. Ainsi, pour *Wolbachia*, la protéine de surface majeure (WSP) ou des lipoprotéines (WoLP) sont des initiateurs de la réponse innée (Brattig, Bazzocchi et al. 2004; Turner, Langley et al. 2006; Hise, Daehnel et al. 2007; Turner, Langley et al. 2009). Les TLR2, 4 et 6 et la molécule adaptatrice Myd88 semblent être impliqués dans la reconnaissance et la réponse à la bactérie. Pour autant chez des souris déficientes en ces molécules, la survie des filaires (nombre de filaires ayant atteint la cavité pleurale) n'est pas modifiée. Néanmoins, chez des souris C3H/HeJ présentant une mutation naturelle du TLR4 leur procurant une déficience de la signalisation par le lipopolysaccharide (LPS), la fertilité intra-utérine des filaires femelles est meilleure et la microfilarémie sanguine plus élevées (Pfarr, Fischer et al. 2003).

Granulocytes et cellules NK

Des neutrophiles sont retrouvés dans les nodules onchocerquiens. Leur recrutement dépend de la présence de *Wolbachia* dans les filaires (Brattig, Buttner et al. 2001; Nfon, Makepeace et al. 2006; Hansen, Trees et al. 2010). En effet, autour des filaires dépourvues de bactéries (par un traitement antibiotique anti-*Wolbachia*), les neutrophiles laissent place aux éosinophiles qui dégranulent autour des filaires adultes et induisent sa destruction (Hansen, Trees et al. 2010). Ceci représente un effet leurre de la bactérie pour l'hôte vertébré qui produit une réponse "neutrophiles" inadéquate au lieu d'une réponse "éosinophiles". Néanmoins les neutrophiles ont un rôle effecteur contre les microfilaries (Mfs) (Saeftef, Volkmann et al. 2001). Cependant, dans le modèle *L. sigmodontis*, la délétion des neutrophiles ne modifie pas la suppression des Mfs (Simons, Gray et al. 2010). Les éosinophiles ont un rôle à différents stades larvaires et à différents endroits dans l'hôte (Babayan, Read et al. 2010), et essentiellement dans la protection vaccinale (Martin, Le Goff et al. 2000; Babayan, Attout et al. 2005; Babayan, Attout et al. 2005).

Concernant les basophiles, leur déplétion dans les souris infestées par *L. sigmodontis* amène à une sous production d'IgE et une diminution du nombre d'éosinophiles et de cellules T CD4+, mais sans avoir d'effet sur la charge parasitaire (Mitre and Nutman 2006). Les basophiles orientent la réponse vers un type Th2, ce qui pourrait avoir un rôle dans les

mécanismes de défense contre le parasite, bien qu'un rôle protecteur ne soit pas démontré (Torrero, Hubner et al. 2010).

Les cellules Natural Killer (NK) participent aussi à la réponse immune innée par cytotoxicité directe et production de cytokines. Chez des souris BALB/c, infectées par *L. sigmodontis*, le nombre de NK chute dans la cavité thoracique, mais pas dans le sang ni la rate, et leur déplétion est associée à une augmentation du nombre de parasites (Korten, Volkmann et al. 2002).

2.2.3.3 L'immunité adaptative

La réponse Th2 protectrice est bien caractérisée dans les filarioses humaines, animales et expérimentales (Allen, Adjei et al. 2008). Ainsi, une forte réponse Th2 est associée à une microfilarémie plus faible dans l'onchocercose (Brattig, Lepping et al. 2002). Expérimentalement, l'élimination des filaires est réduite lorsque les souris sont déficientes en cellules T CD4+ ou en déplaçant les cytokines de type Th2, principalement l'IL-4 et l'IL-5. Chez des souris déplétées en IL-4 ou en IL-5, la microfilarémie augmente fortement (Volkmann, Bain et al. 2003). De plus, l'IL-5 mais aussi le récepteur de l'IL-4 (IL-4R α) semblent aussi contrôler la survie des filaires adultes (Al-Qaoud, Pearlman et al. 2000; Martin, Al-Qaoud et al. 2000; Allen, Adjei et al. 2008). Les souris IL-4R α développent alors une réponse de type Th1 pro-inflammatoire capable d'éliminer le parasite. En effet, les microfilaires induisent une réponse Th1 qui n'est pas microfilaricide et qui pourrait être la conséquence de l'exposition de *Wolbachia* à l'environnement vertébré suite à la dégénérescence d'une partie de la population des microfilaires. L'importance de la réponse Th1 contre les filaires est aussi soutenue par l'observation de souris déficientes en IFN- γ (cytokine importante de la voie Th1) qui présentent une infection filarienne plus importante (SAEFTEL 2002). Cela confirme que la réponse de type Th1 peut avoir une action antifilarienne. Finalement il est essentiel de prendre en compte les cellules T régulatrices qui peuvent contrôler à la baisse les réponses Th1 et Th2 et pourraient être impliquées dans la survie des filaires. L'IL-10 a ainsi un rôle immunosuppresseur important et l'IL-17 pourrait aussi avoir cette fonction (Babu, Bhat et al. 2010).

2.2.3.4 Immunosuppression due aux filaires

Il est nécessaire pour la filaire et pour l'hôte de réguler la réaction immunitaire. Chez l'homme, la production d'IL-10 va stimuler les cellules B pour qu'elles produisent des IgG4. Des niveaux élevés en IgG4 ont été rapportés dans des cas d'infestations à helminthes asymptomatiques et à réponse immunitaire faible (Adjobimey and Hoerauf 2010). Contrairement aux autres sous classes d'IgG, les IgG4 ne sont pas capables d'activer le système du complément ou d'induire une toxicité dépendante des anticorps. Le taux de

mortalité du parasite et le relargage d'antigènes consécutifs à la mort parasitaire sont donc amoindris. Ce phénotype est associé à la présence de cellules T régulatrices (Treg), un type de cellules T helper CD25+, capables comme les cellules B de produire de l'IL-10 (Satoguina, Mempel et al. 2002). De plus, elles produisent spécifiquement une molécule immunosuppressive, Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4 (CTLA-4).

La déplétion des cellules Treg chez des souris BALB/c infectées par *L. sigmodontis* induit une baisse du nombre de filaires adultes (Taylor, LeGoff et al. 2005). Les Treg sont accompagnées de cellules CD4+ répondant faiblement et exprimant des taux élevés de glucocorticoid-induced TNFR-related protein (GITR), CTLA-4 et Programmed Death 1 (PD-1). Le GITR est nécessaire pour activer la réponse Th2 qui ne change pas la survie du parasite, alors que le blocage de la voie de PD-1 conduit à la mort du parasite. GITR et PD-1 ont donc deux rôles différents dans la réponse anti-helminthique (Taylor, LeGoff et al. 2005; Taylor, Harris et al. 2007). Dans l'infection filarienne, l'induction des cellules Treg est accompagnée d'un recrutement de macrophages au site de l'infection, qui ont été activés par les cytokines de type Th2, d'IL-4 et d'IL-13 (Loke, Nair et al. 2002). Ces macrophages sont capables de stopper la prolifération des cellules T (Taylor, Harris et al. 2006). Il faut aussi noter que les macrophages activés par les cytokines de type Th2 sont connus pour réguler la réponse immunitaire et faciliter la réparation des tissus.

3. Co-infections paludisme / helminthes

Chez l'homme, en milieu tropical, le polyparasitisme est une situation fréquente, en particulier la combinaison *Plasmodium*, agent du paludisme, et helminthes.

Les mécanismes immunitaires impliqués dans le paludisme et les helminthiases sont radicalement différents: dans le paludisme intervient une réponse essentiellement de type Th1, alors que les helminthiases favorisent une réponse de type Th2, puis de type Th1. De plus, une réponse d'anticorps à majorité IgG1 et IgG3 se développe chez les individus infectés par *P. falciparum* alors que ce sont les sous-classes IgG2 et IgG4 qui sont induites par les helminthes. La cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps, qui nécessite la liaison des sous-classes cytophiliques IgG1 et IgG3 aux récepteurs aux Fc des monocytes, est nécessaire pour diminuer la parasitémie sanguine de *Plasmodium*. Or, dans les régions du globe où les co-infections *Plasmodium*/helminthes sont répandues, on observe que les sous-classes non cytophiliques IgG2 et IgG4 dominent initialement et qu'il faut de nombreuses années pour que cette réponse IgG1 et IgG3 se développe.

Les helminthiases chroniques stimulent des cellules T régulatrices, qui diminuent l'inflammation Th1-dépendante et Th2-dépendante. Cette réponse T régulatrice pourrait induire préférentiellement la production d'IgG4 (Adjobimey and Hoerauf 2010), favorisant les *Plasmodium*. L'interféron γ et le TNF limitent la parasitémie de *Plasmodium*, mais ils sont aussi associés chez l'homme à une anémie grave et aux accès cérébraux.

Il a été proposé que l'environnement immunosuppresseur induit par les helminthes puisse conduire les macrophages et les cellules T régulatrices à produire de l'interleukine 10 permettant ainsi d'équilibrer le processus inflammatoire.

Des études épidémiologiques et cliniques de plus en plus nombreuses analysent l'impact des helminthiases - essentiellement dues aux helminthes intestinaux, plus rarement tissulaires (schistosomiase, filarioses), - sur le paludisme (gravité de la pathologie, réponse immunitaire de l'hôte, dissémination du parasite...) avec des résultats souvent contradictoires: en Afrique la présence d'helminthes (*Ascaris*, *Ankylostomes*, *Trichures*) exacerberait la gravité du paludisme (Spiegel, Tall et al. 2003), alors que les infections par *Trichures* en Thaïlande ou par *Ascaris* à Madagascar la diminueraient (Nacher, Singhasivanon et al. 2001; Brutus, Watier et al. 2007). Cependant, de nombreux facteurs comme l'âge des individus, la durée de l'exposition, et la fréquence des transmissions peuvent affecter les charges parasitaires rendant difficile la clarification des mécanismes mis en jeu.

Les études expérimentales apparaissent donc indispensables pour résoudre ces controverses. Néanmoins, à ce jour, peu d'études ont été réalisées. En effet, il est difficile de maintenir au laboratoire le cycle d'un parasite. Il est donc encore plus compliqué d'en maintenir deux. Ceci étant, des études sur modèles murins avec *Plasmodium chabaudi chabaudi* clone AS ont montré un abaissement de la parasitémie et une amélioration de la survie des souris en présence d'helminthes (Helmsby, Kullberg et al. 1998; Yoshida, Maruyama et al. 2000; Su, Segura et al. 2005; Tetsutani, Ishiwata et al. 2009). A l'inverse, une étude avec *Plasmodium yoeli* 17XNL, en présence de *Schistosoma mansoni* a montré une exacerbation de la charge parasitaire et une diminution du nombre de souris survivantes (Tetsutani, Ishiwata et al. 2009). Des essais de co-infestations *Plasmodium*/filaire ont aussi donné des résultats controversés. Certains ont conduit à une meilleure résistance vis-à-vis du *Plasmodium* (Yan, Inuo et al. 1997; Fernandez Ruiz, Dubben et al. 2009; Specht, Ruiz et al. 2010), d'autres ont montré au contraire une forte aggravation du paludisme (Graham, Lamb et al. 2005). Il semblerait qu'il s'agisse à chaque fois d'une action immunomodulatrice liée à la présence du ver qui modifie l'infection paludéenne. De plus, il semble que l'immunomodulation ne soit pas la même d'un helminthe à un autre, notamment en ce qui concerne la sécrétion de l'interleukine10 (IL-10). En effet la coinfection *Plasmodium berghei*/*Schistosoma mansoni* chez des souris C57BL/6, a révélé un taux d'IL-10 au sixième jour d'infection plus bas que chez les souris infectées avec *Plasmodium* seul, alors que chez les mêmes souris la coinfection de *Plasmodium berghei*/*Litomosoides sigmodontis* a conduit à l'observation inverse (Specht, Ruiz et al. 2010; Bucher, Dietz et al. 2011).

Les efforts de santé publique pour éliminer les helminthes, en changeant l'équilibre des réactions immunitaires pro- et anti-inflammatoires vis-à-vis du paludisme, pourraient être responsables d'un phénomène immunomodulateur important, bénéfique pour l'agent du paludisme mais néfaste pour les patients.

4. Objectifs

4.1 Objectif principal

L'objectif principal de cette étude est de déterminer expérimentalement les conséquences réciproques d'une co-infection entre un protozoaire sanguin (*Plasmodium*) et un helminthe tissulaire (un Onchocercidae) chez la souris, d'un point de vue parasitologique et immunologique.

4.2 Objectifs spécifiques

1. Réactivation et standardisation des stocks de *Plasmodium* de rongeurs des collections du Muséum National d'Histoire Naturelle
2. Choix d'un modèle de co-infection : déterminer les souches de *Plasmodium* qui seront inoculées simultanément à la filaire *L. sigmodontis* chez des souris consanguines
3. Analyse des conséquences parasitaires (charge parasitaire, développement) de la co-infection sur le statut de chaque parasite
4. Analyse de paramètres immunologiques essentiels dans les mono-infections plasmodiales ou filariennes ; conséquence de la co-infection sur ces paramètres
5. Evaluation préliminaire des lésions anatomopathologiques observées en mono-infection plasmodiale; comparaison en situation de co-infection

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Adjobimey, T. and A. Hoerauf (2010). "Induction of immunoglobulin G4 in human filariasis: an indicator of immunoregulation." *Ann Trop Med Parasitol* **104**(6): 455-464.
- Aikawa, M., L. H. Miller, et al. (1978). "Erythrocyte entry by malarial parasites. A moving junction between erythrocyte and parasite." *J Cell Biol* **77**(1): 72-82.
- Akdis, C. A. and K. Blaser (1999). "IL-10-induced anergy in peripheral T cell and reactivation by microenvironmental cytokines: two key steps in specific immunotherapy." *FASEB J* **13**(6): 603-609.
- Al-Qaoud, K. M., E. Pearlman, et al. (2000). "A new mechanism for IL-5-dependent helminth control: neutrophil accumulation and neutrophil-mediated worm encapsulation in murine filariasis are abolished in the absence of IL-5." *Int Immunol* **12**(6): 899-908.
- Allen, J. E., O. Adjei, et al. (2008). "Of mice, cattle, and humans: the immunology and treatment of river blindness." *PLoS Negl Trop Dis* **2**(4): e217.
- Allen, J. E., J. Daub, et al. (2000). "Analysis of genes expressed at the infective larval stage validates utility of *Litomosoides sigmodontis* as a murine model for filarial vaccine development." *Infect Immun* **68**(9): 5454-5458.
- Anderson R.C., B. O. (1976). CIH keys to the nematode parasites of vertebrates. No. 3. Keys to genera of the order of Spiriruda; Part 3. Diplotriaenoidea, Aproctoidea and Filarioidea. C. A. G. a. W. S. Anderson R.C., eds. **57**: 777-780.
- Artavanis-Tsakonas, K., J. E. Tongren, et al. (2003). "The war between the malaria parasite and the immune system: immunity, immunoregulation and immunopathology." *Clin Exp Immunol* **133**(2): 145-152.
- Attout, T., A. Hoerauf, et al. (2009). "Lymphatic vascularisation and involvement of Lyve-1+ macrophages in the human onchocerca nodule." *PLoS One* **4**(12): e8234.
- Austyn, J. M. (2000). "Antigen-presenting cells. Experimental and clinical studies of dendritic cells." *Am J Respir Crit Care Med* **162**(4 Pt 2): S146-150.
- Babayan, S., T. Attout, et al. (2005). "Increased early local immune responses and altered worm development in high-dose infections of mice susceptible to the filaria *Litomosoides sigmodontis*." *Med Microbiol Immunol* **194**(3): 151-162.
- Babayan, S. A., T. Attout, et al. (2005). "The subcutaneous movements of filarial infective larvae are impaired in vaccinated hosts in comparison to primary infected hosts." *Filaria J* **4**: 3.
- Babayan, S. A., A. F. Read, et al. (2010). "Filarial parasites develop faster and reproduce earlier in response to host immune effectors that determine filarial life expectancy." *PLoS Biol* **8**(10): e1000525.
- Babu, S., S. Q. Bhat, et al. (2010). "Regulatory T cells modulate Th17 responses in patients with positive tuberculin skin test results." *J Infect Dis* **201**(1): 20-31.
- Babu, S., S. Q. Bhat, et al. (2009). "Filarial lymphedema is characterized by antigen-specific Th1 and th17 proinflammatory responses and a lack of regulatory T cells." *PLoS Negl Trop Dis* **3**(4): e420.
- Baford, J. (1969). "[Biological cycle of *Plasmodium v. vinckei* Rodhain 1952]." *Ann Soc Belges Med Trop Parasitol Mycol* **49**(6): 533-628.
- Bain, O., M. Casiraghi, et al. (2008). "The nematoda Filarioidea: critical analysis linking molecular and traditional approaches." *Parasite* **15**(3): 342-348.
- Bain, O., S. Wanji, et al. (1994). "Larval biology of six filariae of the sub-family Onchocercinae in a vertebrate host." *Parasite* **1**(3): 241-254.
- Bajer, A., J. M. Behnke, et al. (2005). "Medium-term temporal stability of the helminth component community structure in bank voles (*Clethrionomys glareolus*) from the Mazury Lake District region of Poland." *Parasitology* **130**(Pt 2): 213-228.
- Becker, C., S. Stoll, et al. (2006). "Regulatory T cells: present facts and future hopes." *Med*

- Microbiol Immunol **195**(3): 113-124.
- Brattig, N. W., C. Bazzocchi, et al. (2004). "The major surface protein of Wolbachia endosymbionts in filarial nematodes elicits immune responses through TLR2 and TLR4." J Immunol **173**(1): 437-445.
- Brattig, N. W., D. W. Buttner, et al. (2001). "Neutrophil accumulation around Onchocerca worms and chemotaxis of neutrophils are dependent on Wolbachia endobacteria." Microbes Infect **3**(6): 439-446.
- Brattig, N. W., B. Lepping, et al. (2002). "Onchocerca volvulus-exposed persons fail to produce interferon-gamma in response to O. volvulus antigen but mount proliferative responses with interleukin-5 and IL-13 production that decrease with increasing microfilarial density." J Infect Dis **185**(8): 1148-1154.
- Brutus, L., L. Watier, et al. (2007). "Confirmation of the protective effect of Ascaris lumbricoides on Plasmodium falciparum infection: results of a randomized trial in Madagascar." Am J Trop Med Hyg **77**(6): 1091-1095.
- Bucher, K., K. Dietz, et al. (2011). "Schistosoma co-infection protects against brain pathology but does not prevent severe disease and death in a murine model of cerebral malaria." Int J Parasitol **41**(1): 21-31.
- Casiraghi, M., O. Bain, et al. (2004). "Mapping the presence of Wolbachia pipientis on the phylogeny of filarial nematodes: evidence for symbiont loss during evolution." Int J Parasitol **34**(2): 191-203.
- Clark, I. A., F. M. al Yaman, et al. (1997). "The biological basis of malarial disease." Int J Parasitol **27**(10): 1237-1249.
- Combes, C. (1995). Interactions durables. Ecologie et évolution du parasitisme. Masson, Paris.
- Doolan, D. L., C. Dobano, et al. (2009). "Acquired immunity to malaria." Clin Microbiol Rev **22**(1): 13-36, Table of Contents.
- Duval, L., E. Nerrienet, et al. (2009). "Chimpanzee malaria parasites related to Plasmodium ovale in Africa." PLoS One **4**(5): e5520.
- Fernandez Ruiz, D., B. Dubben, et al. (2009). "Filarial infection induces protection against P. berghei liver stages in mice." Microbes Infect **11**(2): 172-180.
- Figueredo-Silva, J., J. Noroes, et al. (2002). "The histopathology of bancroftian filariasis revisited: the role of the adult worm in the lymphatic-vessel disease." Ann Trop Med Parasitol **96**(6): 531-541.
- Global_Malaria_Partnership. (2011). "Roll Back Malaria Partnership." from <http://www.rbm.who.int/>.
- Goumard, P., N. Vu Dac, et al. (1982). "Influence of malaria on a pre-existing antibody response to heterologous antigens." Ann Immunol (Paris) **133D**(3): 313-326.
- Graham, A. L., T. J. Lamb, et al. (2005). "Malaria-filaria coinfection in mice makes malarial disease more severe unless filarial infection achieves patency." J Infect Dis **191**(3): 410-421.
- Greenberg, J. and L. P. Kendrick (1957). "Parasitemia and survival in inbred strains of mice infected with Plasmodium berghei." J Parasitol **43**(4): 413-419.
- Greenwood, B. M., J. H. Playfair, et al. (1971). "Immunosuppression in murine malaria. I. General characteristics." Clin Exp Immunol **8**(3): 467-478.
- Gueirard, P., J. Tavares, et al. (2010). "Development of the malaria parasite in the skin of the mammalian host." Proc Natl Acad Sci U S A **107**(43): 18640-18645.
- Hansen, R. D., A. J. Trees, et al. (2010). "A worm's best friend: recruitment of neutrophils by Wolbachia confounds eosinophil degranulation against the filarial nematode Onchocerca ochengi." Proc Biol Sci.
- Hay, S. I., C. A. Guerra, et al. (2004). "The global distribution and population at risk of malaria: past, present, and future." Lancet Infect Dis **4**(6): 327-336.
- Helmbly, H., M. Kullberg, et al. (1998). "Altered immune responses in mice with concomitant

- Schistosoma mansoni and Plasmodium chabaudi infections." Infect Immun 66(11): 5167-5174.
- Hise, A. G., K. Daehnel, et al. (2007). "Innate immune responses to endosymbiotic Wolbachia bacteria in Brugia malayi and Onchocerca volvulus are dependent on TLR2, TLR6, MyD88, and Mal, but not TLR4, TRIF, or TRAM." J Immunol 178(2): 1068-1076.
- Hoerauf, A., K. Nissen-Pahle, et al. (1999). "Tetracycline therapy targets intracellular bacteria in the filarial nematode Litomosoides sigmodontis and results in filarial infertility." J Clin Invest 103(1): 11-18.
- Hoerauf, A., J. Satoguina, et al. (2005). "Immunomodulation by filarial nematodes." Parasite Immunol 27(10-11): 417-429.
- Hoerauf, A., S. Specht, et al. (2008). "Wolbachia endobacteria depletion by doxycycline as antifilarial therapy has macrofilaricidal activity in onchocerciasis: a randomized placebo-controlled study." Med Microbiol Immunol 197(3): 295-311.
- Hunt, N. H. and G. E. Grau (2003). "Cytokines: accelerators and brakes in the pathogenesis of cerebral malaria." Trends Immunol 24(9): 491-499.
- Ing, R. and M. M. Stevenson (2009). "Dendritic cell and NK cell reciprocal cross talk promotes gamma interferon-dependent immunity to blood-stage Plasmodium chabaudi AS infection in mice." Infect Immun 77(2): 770-782.
- Jacobs, P., D. Radzioch, et al. (1996). "A Th1-associated increase in tumor necrosis factor alpha expression in the spleen correlates with resistance to blood-stage malaria in mice." Infect Immun 64(2): 535-541.
- kierzenbaum. (1993). "PARASITIC INFECTIONS AND THE IMMUNE SYSTEM." East Lansing.
- Killick-Kendrick, R. (1974). "Parasitic protozoa of the blood of rodents: a revision of Plasmodium berghei." Parasitology 69(2): 225-237.
- Kimura, D., M. Miyakoda, et al. (2010). "Production of IFN-gamma by CD4(+) T cells in response to malaria antigens is IL-2 dependent." Int Immunol 22(12): 941-952.
- Korten, S., L. Volkman, et al. (2002). "Expansion of NK cells with reduction of their inhibitory Ly-49A, Ly-49C, and Ly-49G2 receptor-expressing subsets in a murine helminth infection: contribution to parasite control." J Immunol 168(10): 5199-5206.
- Lamb, T. J., A. L. Graham, et al. (2005). "Co-infected C57BL/6 mice mount appropriately polarized and compartmentalized cytokine responses to Litomosoides sigmodontis and Leishmania major but disease progression is altered." Parasite Immunol 27(9): 317-324.
- Lancisi, G. M. (1717). De noxiis paludum effluviis eorumque remediis.
- Landau, I. (1965). "[Description of Plasmodium Chabaudi N. Sp., Parasite of African Rodents]." C R Hebd Seances Acad Sci 260: 3758-3761.
- Landau, I. a. K.-K., R. (1966). Note préliminaire sur le cycle évolutif des deux Plasmodium du rongeur Thamnomys rutilans en République Centrafricaine, Comptes Rendues
- Hebdomadaire des Séances de l'Académie des Sciences. 262.
- Laveran. (1880). "Note sur un nouveau parasite trouvé dans le sang de plusieurs malades atteints de fièvre palustre." 1235-6.
- Laveran, A. (1897). Traité du paludisme.
- Le Goff, L., P. Marechal, et al. (1997). "Early reduction of the challenge recovery rate following immunization with irradiated infective larvae in a filaria mouse system." Trop Med Int Health 2(12): 1170-1174.
- Le Goff, L., C. Martin, et al. (2000). "Parasitology and immunology of mice vaccinated with irradiated Litomosoides sigmodontis larvae." Parasitology 120 (Pt 3): 271-280.

- Loke, P., M. G. Nair, et al. (2002). "IL-4 dependent alternatively-activated macrophages have a distinctive in vivo gene expression phenotype." *BMC Immunol* 3: 7.
- Malaguarnera, L. and S. Musumeci (2002). "The immune response to Plasmodium falciparum malaria." *Lancet Infect Dis* 2(8): 472-478.
- Marechal, P., L. Le Goff, et al. (1996). "The fate of the filaria Litomosoides sigmodontis in susceptible and naturally resistant mice." *Parasite* 3(1): 25-31.
- Martin, C., K. M. Al-Qaoud, et al. (2000). "IL-5 is essential for vaccine-induced protection and for resolution of primary infection in murine filariasis." *Med Microbiol Immunol* 189(2): 67-74.
- Martin, C. and L. Gavotte (2010). "The bacteria Wolbachia in filariae, a biological Russian dolls' system: new trends in antifilarial treatments." *Parasite* 17(2): 79-89.
- Martin, C., L. Le Goff, et al. (2000). "Drastic reduction of a filarial infection in eosinophilic interleukin-5 transgenic mice." *Infect Immun* 68(6): 3651-3656.
- Martin, C., M. Saftel, et al. (2001). "B-cell deficiency suppresses vaccine-induced protection against murine filariasis but does not increase the recovery rate for primary infection." *Infect Immun* 69(11): 7067-7073.
- Millington, O. R., C. Di Lorenzo, et al. (2006). "Suppression of adaptive immunity to heterologous antigens during Plasmodium infection through hemozoin-induced failure of dendritic cell function." *J Biol* 5(2): 5.
- Mitre, E. and T. B. Nutman (2006). "Basophils, basophilia and helminth infections." *Chem Immunol Allergy* 90: 141-156.
- Morgado, M. G., P. Cam, et al. (1989). "Further evidence that BALB/c and C57BL/6 gamma 2a genes originate from two distinct isotypes." *EMBO J* 8(11): 3245-3251.
- Nacher, M., P. Singhasivanon, et al. (2001). "Helminth infections are associated with protection from malaria-related acute renal failure and jaundice in Thailand." *Am J Trop Med Hyg* 65(6): 834-836.
- Nardin, E. H. and R. S. Nussenzweig (1993). "T cell responses to pre-erythrocytic stages of malaria: role in protection and vaccine development against pre-erythrocytic stages." *Annu Rev Immunol* 11: 687-727.
- Neill, A. L. and N. H. Hunt (1992). "Pathology of fatal and resolving Plasmodium berghei cerebral malaria in mice." *Parasitology* 105 (Pt 2): 165-175.
- Nfon, C. K., B. L. Makepeace, et al. (2006). "Eosinophils contribute to killing of adult Onchocerca ochengi within onchocercomata following elimination of Wolbachia." *Microbes Infect* 8(12-13): 2698-2705.
- Oldenhove, G., M. de Heusch, et al. (2003). "CD4+ CD25+ regulatory T cells control T helper cell type 1 responses to foreign antigens induced by mature dendritic cells in vivo." *J Exp Med* 198(2): 259-266.
- Padgett, J. J. and K. H. Jacobsen (2008). "Loiasis: African eye worm." *Trans R Soc Trop Med Hyg* 102(10): 983-989.
- Pancake, S. J., G. D. Holt, et al. (1992). "Malaria sporozoites and circumsporozoite proteins bind specifically to sulfated glycoconjugates." *J Cell Biol* 117(6): 1351-1357.
- Perkins, S. L. (2008). "Molecular systematics of the three mitochondrial protein-coding genes of malaria parasites: corroborative and new evidence for the origins of human malaria." *Mitochondrial DNA* 19(6): 471-478.
- Petit, G., M. Diagne, et al. (1992). "Maturation of the filaria Litomosoides sigmodontis in BALB/c mice; comparative susceptibility of nine other inbred strains." *Ann Parasitol Hum Comp* 67(5): 144-150.
- Pfarr, K. M., K. Fischer, et al. (2003). "Involvement of Toll-like receptor 4 in the embryogenesis of the rodent filaria Litomosoides sigmodontis." *Med Microbiol Immunol* 192(1): 53-56.
- Plaisier, A. P., G. J. van Oortmarsen, et al. (1991). "The reproductive lifespan of Onchocerca volvulus in West African savanna." *Acta Trop* 48(4): 271-284.

- Plebanski, M. and A. V. Hill (2000). "The immunology of malaria infection." Curr Opin Immunol 12(4): 437-441.
- Porthouse, K. H., S. R. Chirgwin, et al. (2006). "Inflammatory responses to migrating *Brugia pahangi* third-stage larvae." Infect Immun 74(4): 2366-2372.
- Prugnolle, F., P. Durand, et al. (2010). "African great apes are natural hosts of multiple related malaria species, including *Plasmodium falciparum*." Proc Natl Acad Sci U S A 107(4): 1458-1463.
- Rodhain, J. (1952). "[*Plasmodium vinckei* n. sp.; second plasmodium parasite of wild rodents at Katange]." Ann Soc Belg Med Trop (1920) 32(3): 275-279.
- Saeftef, M., M. Arndt, et al. (2003). "Synergism of gamma interferon and interleukin-5 in the control of murine filariasis." Infect Immun 71(12): 6978-6985.
- Saeftef, M., L. Volkmann, et al. (2001). "Lack of interferon-gamma confers impaired neutrophil granulocyte function and imparts prolonged survival of adult filarial worms in murine filariasis." Microbes Infect 3(3): 203-213.
- SAEFTTEL, S. V., HOERAUF. (2002). "Synergism between IFN-gamma and IL-5, antagonism between IL-4 and IL-10 : what a worm infection can tell us beyond the Th1, Th2 paradigm."
- Satoguina, J., M. Mempel, et al. (2002). "Antigen-specific T regulatory-1 cells are associated with immunosuppression in a chronic helminth infection (onchocerciasis)." Microbes Infect 4(13): 1291-1300.
- Schmidt, L. H., R. Greenland, et al. (1961). "The transmission of *Plasmodium cynomolgi* to man." Am J Trop Med Hyg 10: 679-688.
- Schofield, L., J. Villaquiran, et al. (1987). "Gamma interferon, CD8+ T cells and antibodies required for immunity to malaria sporozoites." Nature 330(6149): 664-666.
- Scorza, T., S. Magez, et al. (1999). "Hemozoin is a key factor in the induction of malaria-associated immunosuppression." Parasite Immunol 21(11): 545-554.
- Semnani, R. T. and T. B. Nutman (2004). "Toward an understanding of the interaction between filarial parasites and host antigen-presenting cells." Immunol Rev 201: 127-138.
- Sergent, E. (1880). La Découverte de Laveran : Constantine. Paris.
- Simons, J. E., C. A. Gray, et al. (2010). "Absence of regulatory IL-10 enhances innate protection against filarial parasites by a neutrophil-independent mechanism." Parasite Immunol 32(7): 473-478.
- Specht, S., J. K. Frank, et al. (2011). "CCL17 controls mast cells for the defense against filarial larval entry." J Immunol 186(8): 4845-4852.
- Specht, S., D. F. Ruiz, et al. (2010). "Filaria-induced IL-10 suppresses murine cerebral malaria." Microbes Infect 12(8-9): 635-642.
- Spiegel, A., A. Tall, et al. (2003). "Increased frequency of malaria attacks in subjects co-infected by intestinal worms and *Plasmodium falciparum* malaria." Trans R Soc Trop Med Hyg 97(2): 198-199.
- Stevenson, M. M. and E. M. Riley (2004). "Innate immunity to malaria." Nat Rev Immunol 4(3): 169-180.
- Stevenson, M. M. and E. Skamene (1986). "Modulation of primary antibody responses to sheep erythrocytes in *Plasmodium chabaudi*-infected resistant and susceptible mouse strains." Infect Immun 54(2): 600-602.
- Stevenson, M. M. and B. C. Urban (2006). "Antigen presentation and dendritic cell biology in malaria." Parasite Immunol 28(1-2): 5-14.
- Stevenson, M. M. and F. Zavala (2006). "Immunology of malaria infections." Parasite Immunol 28(1-2): 1-4.
- Steward, M. W. and A. Voller (1973). "The effect of malaria on the relative affinity of mouse antiprotein antibody." Br J Exp Pathol 54(2): 198-202.
- Su, Z., M. Segura, et al. (2005). "Impairment of protective immunity to blood-stage malaria by

- concurrent nematode infection." Infect Immun **73**(6): 3531-3539.
- Taylor, M. D., A. Harris, et al. (2007). "CTLA-4 and CD4+ CD25+ regulatory T cells inhibit protective immunity to filarial parasites in vivo." J Immunol **179**(7): 4626-4634.
- Taylor, M. D., A. Harris, et al. (2006). "F4/80+ alternatively activated macrophages control CD4+ T cell hyporesponsiveness at sites peripheral to filarial infection." J Immunol **176**(11): 6918-6927.
- Taylor, M. D., L. LeGoff, et al. (2005). "Removal of regulatory T cell activity reverses hyporesponsiveness and leads to filarial parasite clearance in vivo." J Immunol **174**(8): 4924-4933.
- Tetsutani, K., K. Ishiwata, et al. (2009). "Concurrent infection with *Heligmosomoides polygyrus* suppresses anti-*Plasmodium yoelii* protection partially by induction of CD4(+)CD25(+)Foxp3(+) Treg in mice." Eur J Immunol **39**(10): 2822-2830.
- Torrero, M. N., M. P. Hubner, et al. (2010). "Basophils amplify type 2 immune responses, but do not serve a protective role, during chronic infection of mice with the filarial nematode *Litomosoides sigmodontis*." J Immunol **185**(12): 7426-7434.
- Troye-Blomberg, M. (2002). "Genetic regulation of malaria infection in humans." Chem Immunol **80**: 243-252.
- Tsunawaki, S., M. Sporn, et al. (1988). "Deactivation of macrophages by transforming growth factor-beta." Nature **334**(6179): 260-262.
- Turner, J. D., R. S. Langley, et al. (2006). "Wolbachia endosymbiotic bacteria of *Brugia malayi* mediate macrophage tolerance to TLR- and CD40-specific stimuli in a MyD88/TLR2-dependent manner." J Immunol **177**(2): 1240-1249.
- Turner, J. D., R. S. Langley, et al. (2009). "Wolbachia lipoprotein stimulates innate and adaptive immunity through Toll-like receptors 2 and 6 to induce disease manifestations of filariasis." J Biol Chem **284**(33): 22364-22378.
- Urban, B. C. and S. Todryk (2006). "Malaria pigment paralyzes dendritic cells." J Biol **5**(2): 4.
- Vincke, I. H., J. Bafort, et al. (1966). "[Recent observations on the cyclic transmission of *Plasmodium berghei*]." Ann Soc Belges Med Trop Parasitol Mycol **46**(3): 327-336.
- Vincke, I. H. and M. Lips (1948). "Un nouveau plasmodium d'un rongeur sauvage du Congo: *Plasmodium berghei*." Ann Soc Belg Med Trop (1920) **28**(1): 97-104.
- Vincke, I. H. and M. Lips (1950). "[Cyclic transmission of *Plasmodium berghei*]." Ann Soc Belg Med Trop (1920) **30**(6): 1605-1611.
- Volkman, L., O. Bain, et al. (2003). "Murine filariasis: interleukin 4 and interleukin 5 lead to containment of different worm developmental stages." Med Microbiol Immunol **192**(1): 23-31.
- Vythilingam, I., Y. M. Noorazian, et al. (2008). "*Plasmodium knowlesi* in humans, macaques and mosquitoes in peninsular Malaysia." Parasit Vectors **1**(1): 26.
- Weidanz, W. P. (1982). "Malaria and alterations in immune reactivity." Br Med Bull **38**(2): 167-172.
- Weiss, W. R., S. Mellouk, et al. (1990). "Cytotoxic T cells recognize a peptide from the circumsporozoite protein on malaria-infected hepatocytes." J Exp Med **171**(3): 763-773.
- Wenk, P. (1967). "[The invasion route of the metacyclical larvae of *Litomosoides carinii* Chandler 1931 (Filariidae)]." Z Parasitenkd **28**(3): 240-263.
- Wipasa, J., S. Elliott, et al. (2002). "Immunity to asexual blood stage malaria and vaccine approaches." Immunol Cell Biol **80**(5): 401-414.
- Wykes, M. N., Y. H. Zhou, et al. (2005). "*Plasmodium yoelii* can ablate vaccine-induced long-term protection in mice." J Immunol **175**(4): 2510-2516.
- Yan, Y., G. Inuo, et al. (1997). "Down-regulation of murine susceptibility to cerebral malaria by inoculation with third-stage larvae of the filarial nematode *Brugia pahangi*." Parasitology **114** (Pt 4): 333-338.
- Yoeli, M. and B. J. Hargreaves (1974). "Brain capillary blockage produced by a virulent strain

- of rodent malaria." Science **184**(136): 572-573.
- Yoshida, A., H. Maruyama, et al. (2000). "Schistosoma mansoni infection cancels the susceptibility to Plasmodium chabaudi through induction of type 1 immune responses in A/J mice." Int Immunol **12**(8): 1117-1125.
- Zambrano-Villa, S., D. Rosales-Borjas, et al. (2002). "How protozoan parasites evade the immune response." Trends Parasitol **18**(6): 272-278.