



**HAL**  
open science

# Le rôle du microbiote des moustiques lors de l'infection parasitaire par Plasmodium

Estelle Chabanol

► **To cite this version:**

Estelle Chabanol. Le rôle du microbiote des moustiques lors de l'infection parasitaire par Plasmodium. Lemag' - La revue numérique de la Fondation de l'Université de Guyane Edition n°11 - Septembre 2023, 2023, pp.10-15. hal-04575014

**HAL Id: hal-04575014**

**<https://univ-guyane.hal.science/hal-04575014>**

Submitted on 21 May 2024

**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.

Copyright

A detailed 3D illustration of malaria parasites (plasmodia) and red blood cells. The parasites are shown in various stages of development, from small, oval-shaped gametocytes to larger, more complex forms with internal structures visible. They are set against a background of blue, wavy water, suggesting a natural habitat. The overall composition is dynamic, with parasites and cells scattered across the frame.

# LA SANTÉ ET ÉCOLOGIE DE LA SANTÉ EN MILIEU TROPICAL

Cellules sanguines et plasmodium provoquant le paludisme.  
Illustration : Christoph Burgstedt/stock.adobe.com

# DOSSIER

# MALADIES PARASITAIRES ET INFECTIONS MULTIPLLES

**L'écosystème amazonien de Guyane est caractérisé par la circulation de nombreux agents infectieux tels que les parasites Plasmodium, Leishmania et Toxoplasma. Mieux comprendre la transmission de ces pathogènes, ainsi qu'étudier l'impact des co-infections et les réponses immunes de l'hôte, est primordial afin de mieux prévenir et lutter contre les maladies parasitaires.**



# LE RÔLE DU MICROBIOTE\* DES MOUSTIQUES LORS DE L'INFECTION PARASITAIRE PAR PLASMODIUM

par Estelle Chabanol

**Si on sait que les bactéries du microbiote ont un impact majeur sur le développement et le métabolisme du moustique, le rôle de ces bactéries lors de la transmission de parasites tels que Plasmodium n'est pas encore bien défini. Les travaux menés par Estelle Chabanol combinent recherche en laboratoire et sur le terrain afin de consolider les connaissances à ce sujet.**

“

**L'étude de ces communautés bactériennes, de leur composition ainsi que de leur métabolisme peut permettre de mieux comprendre, voire maîtriser, les mécanismes de transmission des pathogènes.**

”

\*Microbiote : Le microbiote est l'ensemble des micro-organismes – bactéries, microchampignons, protistes – vivant dans un environnement spécifique chez un hôte ou une matière. Ces micro-organismes peuvent être présents sans impact sur leur hôte ou entrer en interaction étroite avec lui

Les moustiques peuvent être vecteurs de parasites ou de virus responsables de maladies chez l'homme, telles que le paludisme, la fièvre jaune ou la dengue. Le paludisme est causé par un parasite du genre Plasmodium. Il est transmis par des moustiques du genre Anopheles. L'Organisation Mondiale de la Santé estime aujourd'hui que la moitié de la population planétaire est exposée au risque palustre, avec 84 pays dans lesquels la maladie est endémique 📍. Les diverses espèces d'anophèles sont réparties sur une majeure partie du globe, en particulier dans la zone intertropicale, et la Guyane ne fait pas exception. Initialement, la lutte antivectorielle consistait surtout à éliminer les moustiques, notamment grâce aux insecticides, ce qui a eu une efficacité indéniable mais a malheureusement également abouti à la sélection de gènes de résistance parmi les populations de moustiques. Il est donc maintenant nécessaire de mieux comprendre la biologie des anophèles afin de trouver de nouvelles alternatives de lutte contre le paludisme, à l'échelle locale et internationale.

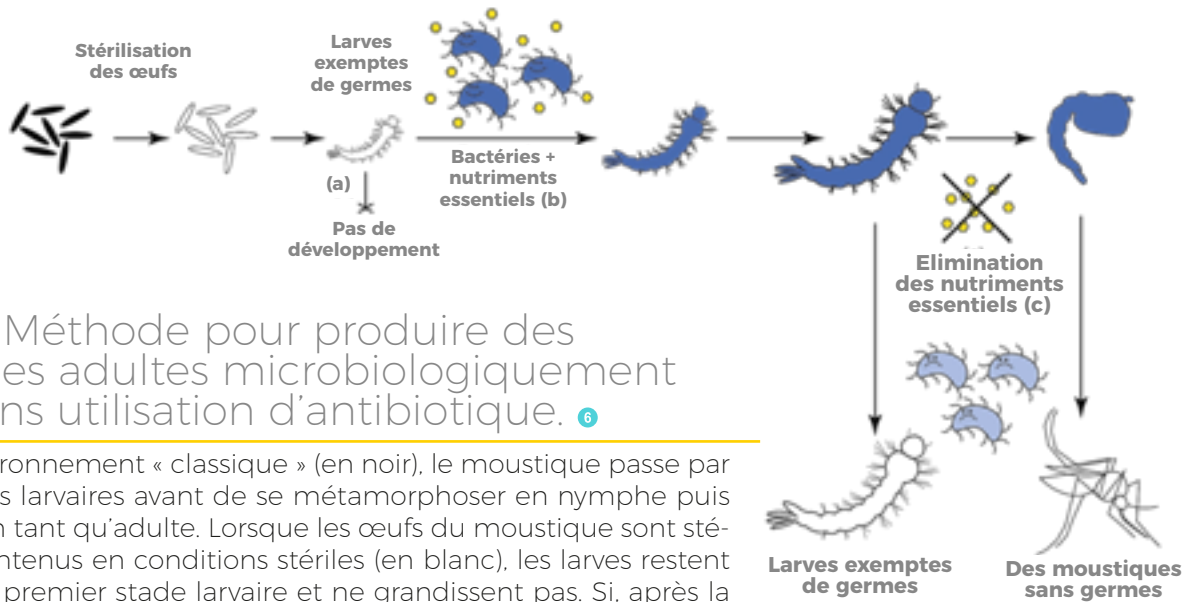


FIGURE 1 Méthode pour produire des moustiques adultes microbiologiquement stériles sans utilisation d'antibiotique. 6

Dans un environnement « classique » (en noir), le moustique passe par quatre stades larvaires avant de se métamorphoser en nymphe puis d'émerger en tant qu'adulte. Lorsque les œufs du moustique sont stérilisés et maintenus en conditions stériles (en blanc), les larves restent bloquées au premier stade larvaire et ne grandissent pas. Si, après la stérilisation des œufs, une bactérie est ajoutée dans le milieu d'élevage, le développement est sauvé. La technique mise au point consiste donc à ajouter une bactérie ayant des besoins nutritifs particuliers (en bleu) et de supprimer ces apports alimentaires spécifiques afin de l'éliminer naturellement après qu'elle a permis de soutenir le développement larvaire du moustique. Les adultes produits sont alors microbiologiquement stériles.



FIGURE 2 : Localisation des missions de terrain en Guyane Française

Les missions se sont déroulées sur quatre années consécutives, de 2018 à 2021, et dans cinq localités distinctes : La Césairie (CE), Le Galion (GA), Cacao (CA), Trois Palétuviers (TP) et Blondin (BL). Source :

## Etudier l'effet de la présence des bactéries sur le métabolisme de l'anophèle...

La transmission est assurée par les femelles qui sont les seules à piquer l'homme : les mâles et les femelles se nourrissent habituellement de nectar de fleurs, mais les femelles ont besoin de nutriments supplémentaires, présents dans le sang, afin de produire leurs œufs. Pour pouvoir transmettre le pathogène à l'homme, la femelle moustique doit d'abord elle-même en être porteuse. Lorsqu'une femelle saine prend un repas de sang sur un être humain infecté, le pathogène entre dans le système digestif du moustique. Après cela, dans un processus durant une semaine à dix jours, le pathogène passe la barrière intestinale du moustique, se multiplie et migre vers les glandes salivaires. Le moustique devient alors vecteur, il est capable de transmettre le pathogène lors de ses futurs repas de sang et tout au long de sa vie.

L'entrée dans le système digestif du moustique ainsi que le passage de la barrière intestinale sont des étapes clés pour le pathogène, où celui-ci est particulièrement vulnérable. De plus, l'intestin du moustique est peuplé de communautés bactériennes qui influencent l'infection par le pathogène. Les bactéries peuvent interagir avec le pathogène de manière directe, en produisant des composés toxiques, ou indirecte, en activant l'immunité basale du moustique qui

se défendra plus efficacement lors de l'infection <sup>2</sup>. Des interactions au niveau métabolique, notamment des compétitions nutritives entre le microbiote et un agent infectieux, ont aussi été décrites chez d'autres hôtes mais ont très peu été étudiées chez le moustique. Des traitements antibiotiques ont montré que les bactéries limitent généralement l'infection parasitaire, mais des variations ont été mises en évidence selon les bactéries étudiées. L'étude de ces communautés bactériennes, de leur composition ainsi que de leur métabolisme, peut permettre de mieux comprendre, voire maîtriser, les mécanismes de transmission des pathogènes.

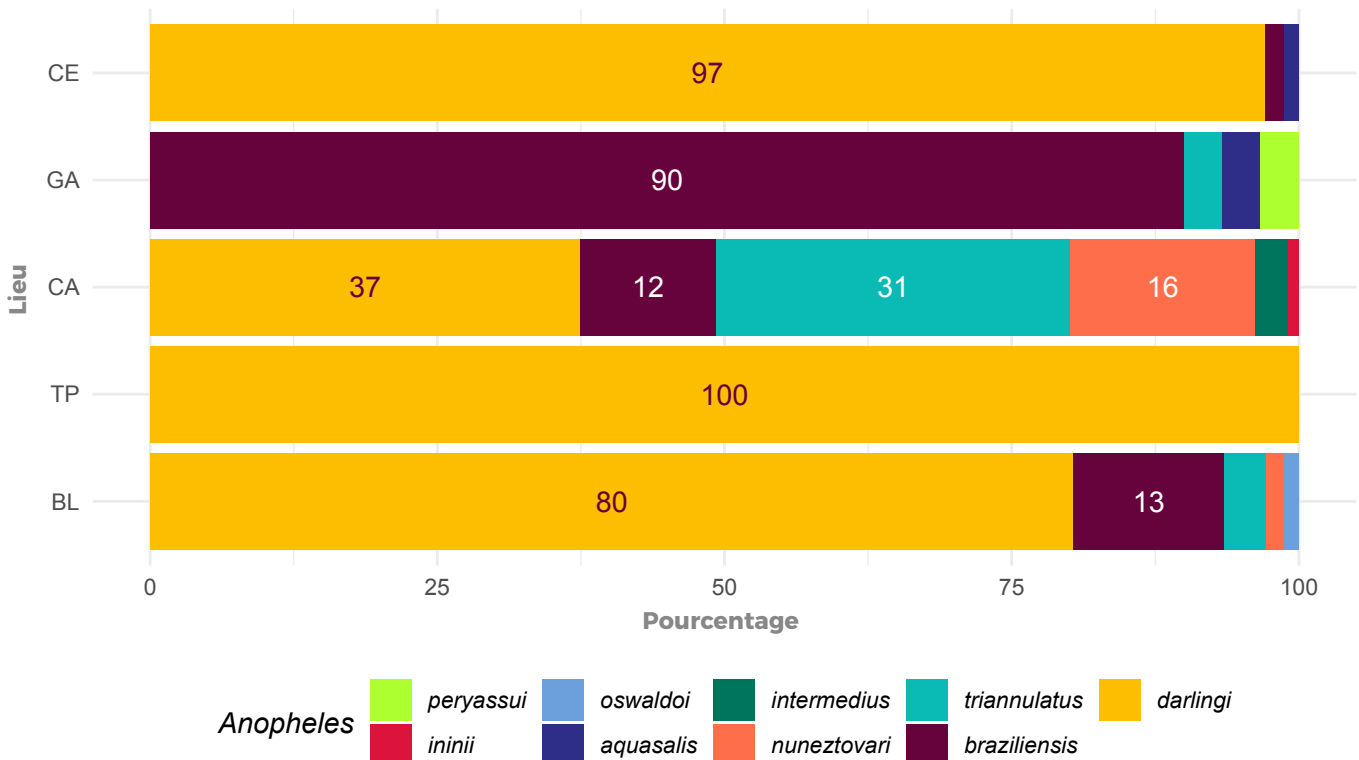
Notre projet vise d'une part à étudier l'effet de la présence des bactéries sur le métabolisme de l'anophèle et d'autre part à déterminer si la composition du microbiote est fixée de façon aléatoire ou si des compositions typiques peuvent être mises en évidence. Dans une optique de contrôle vectoriel, il est en effet important d'identifier les communautés bactériennes limitant ou non la transmission du pathogène.

### ... en éliminant le microbiote par l'utilisation d'antibiotiques...

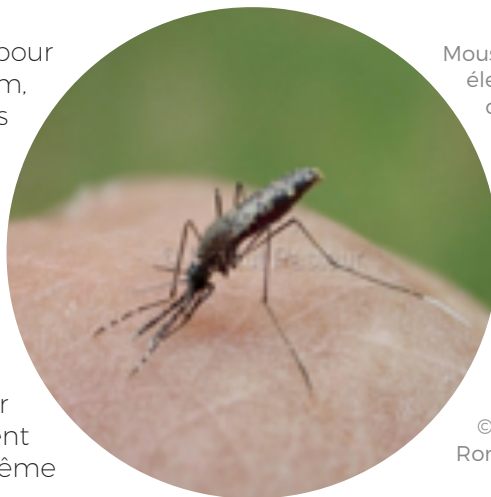
Dans un premier temps, nous avons mené une étude sur des anophèles femelles adultes, traitées ou non avec un cocktail d'antibiotiques <sup>3</sup>. Nous avons comparé le métabolisme des femelles traitées, dans lesquelles le microbiote avait donc été éliminé, et celui de femelles non traitées, colonisées par un microbiote conventionnel. Nous avons constaté que certaines

FIGURE 3

Distribution des espèces d'anophèles collectées au cours des missions de terrain.



molécules d'intérêt, qui sont connues pour aider le développement de Plasmodium, sont présentes en quantités plus élevées lorsque les bactéries sont absentes. Cette observation pourrait expliquer pourquoi l'absence de bactéries favorise l'infection du moustique par Plasmodium. Cependant, l'utilisation d'antibiotiques pour cette étude, bien que permettant d'éliminer le microbiote, a pu impacter le métabolisme du moustique et on ne peut pas écarter la possibilité que certains résultats soient dus à l'effet de l'antibiotique en lui-même plutôt qu'à la déplétion des bactéries.



Moustique *Anopheles darlingi* femelle élevée au Vectopôle de l'Institut Pasteur de la Guyane.

*Anopheles darlingi*, le principal vecteur du paludisme en Guyane, est un moustique selvatique, sortant majoritairement la nuit et au lever du jour, avec une saisonnalité marquée, plutôt présent en début de saison sèche. Les larves d'anophèles locales se développent de façon saisonnière dans des grandes retenues d'eau en bordure de fleuve.

© Institut Pasteur de la Guyane - photo Romuald Carinci 2017/02/07

### ... et en produisant des moustiques sans microbiote

Pour pallier ce problème, une solution consiste à produire des moustiques sans microbiote : en stérilisant des œufs et en maintenant les larves dans un environnement contrôlé <sup>4</sup>. Toutefois, alors qu'un moustique adulte peut vivre dans un environnement stérile, une larve ne peut grandir sans bactérie, elle reste bloquée au premier stade de développement. Une méthode mise au point dans notre laboratoire consiste alors à introduire une souche bactérienne particulière dans l'eau des larves : cette bactérie a des besoins métaboliques spécifiques et peut être éliminée en retirant simplement de la nourriture du moustique le complément alimentaire auquel elle est dépendante. Lorsque la bactérie est maintenue durant le développement larvaire puis éliminée au stade nymphal (pendant la métamorphose), les adultes résultant du processus sont dépourvus de microbiote (Figure 1). Pour les besoins expérimentaux, les adultes peuvent ensuite rester microbiologiquement stériles, en tant que contrôles, ou peuvent être colonisés par les bactéries que l'on souhaite étudier.

Alors que cette technique existait pour d'autres moustiques, j'ai réussi pendant ma thèse à l'adapter aux anophèles. Nous menons actuellement une nouvelle étude afin de conclure de manière moins ambiguë (par rapport aux résultats avec un traitement antibiotique) quant au rôle global du microbiote sur le métabolisme de l'anophèle, et afin d'identifier des molécules influencées par le microbiote pouvant avoir un effet sur Plasmodium. Pour aller plus loin, il sera intéressant d'infecter expérimentalement les anophèles par Plasmodium et de tester l'effet de différentes bactéries, individuelles ou combinées, ou des molécules d'intérêt sur le résultat de l'infection.

## Recenser les souches bactériennes au sein des moustiques de Guyane

En parallèle, nous menons une étude de terrain sur la diversité et composition des communautés bactériennes naturellement présentes au sein des

anophèles de Guyane. Nous avons collecté plus de 770 anophèles sur quatre années successives et dans cinq localités différentes de Guyane et analysons la composition du microbiote de chacun de ces moustiques par séquençage (Figure 2). L'analyse de leur microbiote nous renseignera sur l'existence, ou non, de compositions typiques ainsi que sur leurs déterminants : type de paysage, saison, espèces de moustique, etc. Ces informations permettront de déterminer les bactéries pertinentes à tester dans notre modèle, dans le but d'être au plus proche des conditions du terrain en Guyane. Additionnellement, les missions de terrain nous ont aussi permis de recueillir des informations sur la répartition des espèces d'anophèles en Guyane (Figure 3) <sup>5</sup>.

Les missions de terrain ont permis de récupérer des anophèles afin d'étudier leur microbiote naturel, cependant ces missions ont aussi apporté des informations sur la répartition des espèces. *Anopheles darlingi*

## BIBLIOGRAPHIE

- <sup>1</sup> World malaria report 2022. Geneva: World Health Organization; 2022. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
- <sup>2</sup> Romoli O, Gendrin M. The tripartite interactions between the mosquito, its microbiota and Plasmodium. *Parasit Vectors*. 2018 Mar 20;11(1):200. doi: 10.1186/s13071-018-2784-x. PMID: 29558973; PMCID: PMC5861617.
- <sup>3</sup> Chabanol E, Behrends V, Prévot G, Christophides GK, Gendrin M. Antibiotic Treatment in *Anopheles coluzzii* Affects Carbon and Nitrogen Metabolism. *Pathogens*. 2020 Aug 21;9(9):679. doi: 10.3390/pathogens9090679. PMID: 32825534; PMCID: PMC7558193.
- <sup>4</sup> Romoli O, Schönbeck JC, Hapfelmeier S, Gendrin M. Production of germ-free mosquitoes via transient colonisation allows stage-specific investigation of host-microbiota interactions. *Nat Commun*. 2021 Feb 11;12(1):942. doi: 10.1038/s41467-021-21195-3. PMID: 33574256; PMCID: PMC7878806.
- <sup>5</sup> Chabanol E, Romoli O, Talaga S, Epelboin Y, Heu K, Prévot G, Gendrin M. A novel mosquito species identification method based on PCR and capillary electrophoresis. *Authorea*. March 21, 2023.
- <sup>6</sup> <https://microbiologycommunity.nature.com/posts/a-microbiota-off-switch-to-understand-mosquito-bacteria-interactions>





## ENCART METHODOLOGIQUE

### En pratique : moustiques de laboratoire et moustiques de terrain

Il est possible d'élever certaines espèces de moustiques en laboratoire. Le cycle de vie du moustique se fait en insectarium : en bassines pour le développement larvaire et le stade nymphal, et en cages pour les adultes. Les adultes sont nourris avec une solution sucrée pour assurer leur survie et un repas de sang est proposé aux femelles lorsqu'il est nécessaire d'obtenir des œufs. On parle de colonies lorsque les moustiques sont maintenus sur plusieurs générations.

Une colonie de laboratoire permet d'avoir des moustiques disponibles à tout moment de l'année, en nombre adaptable aux besoins expérimentaux. Les expériences faites sur des moustiques de laboratoire sont aussi plus facilement reproductibles car il est possible de contrôler précisément les conditions et paramètres de vie de ces moustiques : leur âge, l'accouplement et la reproduction, les repas de sang, etc. De plus, certaines colonies établies depuis plusieurs dizaines d'années sont partagées par des laboratoires du monde entier, ce qui fait de ces moustiques des « standards » pour l'expérimentation et facilite les collaborations ainsi que la comparaison des résultats. Malheureusement il n'est pas toujours possible d'établir des colonies, certaines espèces de moustiques sont très résistantes et demandent peu d'entretien mais d'autres sont plus délicates à élever avec des besoins spécifiques, difficiles à identifier.

Le prélèvement de moustiques sur le terrain présente d'autres avantages. En effet, au laboratoire, les populations se standardisent aux dépens de la diversité génétique et les variations induites par l'environnement sont perdues. Notamment, la composition du microbiote intestinal d'un moustique de laboratoire peut différer grandement de celles d'un moustique de terrain, pour une même espèce. Ce facteur doit être pris en considération lorsqu'on cherche à étudier l'influence des bactéries sur la transmission vectorielle, car différentes souches bactériennes peuvent avoir

des effets variés. Baser sa recherche sur des moustiques de terrain permet donc d'être au plus près des conditions réelles dans lesquelles la transmission vectorielle se fait effectivement. Finalement, l'échantillonnage sur le terrain est aussi un moyen de surveiller la répartition et les dynamiques des populations de moustiques, vecteurs ou non.

Les deux approches, laboratoire et terrain, sont donc très complémentaires. Pour notre projet, la collecte d'anophèles dans plusieurs localités de Guyane va permettre de mieux connaître les espèces bactériennes présentes naturellement au sein de ces moustiques. Cette connaissance permettra de définir et d'utiliser des compositions bactériennes simplifiées afin d'établir un modèle d'anophèle en laboratoire, proche des conditions extérieures mais néanmoins contrôlé. Pouvoir combiner les deux approches est un atout inestimable dans un projet de recherche comme celui-ci, afin d'obtenir des résultats concrets et applicables plus directement au territoire de la Guyane.

### En pratique : où, quand et comment capturer les moustiques sur le terrain ?

Lorsqu'on s'intéresse aux moustiques du terrain, il est possible de collecter des larves ou des adultes, en fonction des besoins expérimentaux. Les larves peuvent être trouvées dans différents types de gîtes, naturels ou artificiels : flaques d'eau, bambous

et autres plantes, pots de fleurs non vidés, pneus laissés à l'abandon, etc. Récupérer des larves peut se faire avec une simple épuisette. Il y a environ 250 espèces de moustiques en Guyane, donc les gîtes larvaires sont divers et plus ou moins accessibles. Les larves d'anophèles locales sont généralement difficiles à collecter car elles se développent de façon saisonnière dans des grandes retenues d'eau en bordure de fleuve.

Collecter des moustiques adultes nécessite plus de matériel. Il existe des pièges lumineux et/ou à UV pour collecter les adultes attirés par la lumière. D'autres pièges comme le BG-Sentinel ou le Mosquito Magnet (Figure 4) attirent principalement les femelles en quête d'un repas de sang, en imitant les stimuli comme l'émission de CO<sub>2</sub>, de chaleur et/ou de molécules odorantes. Dans tous les cas, les moustiques sont piégés par un flux d'air les bloquant dans un filet qu'il est possible de détacher pour les récupérer.

Les lieux, saisons et horaires de capture vont dépendre de l'espèce de moustique recherchée : *Aedes aegypti* par exemple, vecteur de la dengue et autres arbovirus, est un moustique urbain et diurne, présent tout au long de l'année ; *Anopheles darlingi* quant à lui, vecteur du paludisme, est un moustique selvatique, sortant majoritairement la nuit et au lever du jour, avec une saisonnalité marquée, plutôt présent en début de saison sèche. Ces caractéristiques sont à connaître et prendre en compte pour préparer les missions de terrain.



Figure 4 : Photo d'un Mosquito Magnet déployé sur le terrain. [Crédit photo : Vectopôle, Institut Pasteur de la Guyane]. Le Mosquito Magnet est un piège permettant de capturer des moustiques adultes sur le terrain. La bombonne de gaz est utilisée par le dispositif pour émettre du CO<sub>2</sub> et produire de la chaleur. Une pastille avec une molécule attractante est ajoutée et son odeur est également diffusée par le système. Ces stimuli attirent les femelles en quête de repas de sang et lorsque ces dernières s'approchent, elles sont aspirées par un flux d'air les piégeant dans le filet au cœur de la machine. Ce filet peut être fermé et retiré pour récupérer les moustiques.