

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT
SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

REPUBLIQUE DU MALI

UN PEUPLE - UN BUT - UNE FOI



UNIVERSITE DES SCIENCES, DES
TECHNIQUES ET DES TECHNOLOGIES
DE BAMAKO



FACULTE DE PHARMACIE

Année universitaire 2020-2021

N° :

TITRE

**DYNAMIQUE ET IMPACT DE LA RÉPONSE SÉROLOGIQUE À
L'ANTIGÈNE MÉROZOITE SURFACE PROTEIN-3 (MSP-3) DE
PLASMODIUM FALCIPARUM CHEZ LES ENFANTS DE 0- 15
ANS À SAMAKO, MALI.**

THESE

Présentée et soutenue publiquement le 15/11/2021 devant le jury de la
Faculté de Pharmacie

Par Mme. Oumou SISSOKO

Pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie

(DIPLOME D'ÉTAT)

Jury

PRESIDENT DU JURY : Professeur Boubacar TRAORE

MEMBRES DU JURY : Docteur Charles ARAMA
: Docteur Antoine DARA

CO-DIRECTEUR DE THESE : Docteur Karamako NIARE

DIRECTEUR DE THESE : Professeur Agrégé Bouréma KOURIBA

**LISTE DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTÉ DE PHARMACIE
ANNÉE UNIVERSITAIRE : 2020-2021**

ADMINISTRATION

DOYEN : BOUBACAR TRAORE / PROFESSEUR

VICE-DOYEN : SEKOU BAH / MAITRE DE CONFERENCES

SECRETAIRE PRINCIPAL : SEYDOU COULIBALY,
ADMINISTRATEUR CIVIL

AGENT COMPTABLE : ISMAËL CISSE, CONTROLEUR DES
FINANCES.

PROFESSEURS HONORAIRES

N°	PRÉNOMS	NOM	SPÉCIALITÉS
1	Flabou	BOUGOUDOGO	Bactériologie-Virologie
2	Boubacar Sidiki	CISSE	Toxicologie
3	Bakary Mamadou	CISSE	Biochimie
4	Mahamadou	CISSE	Biologie
5	Daouda	DIALLO	Chimie Générale et Minérale
6	Souleymane	DIALLO	Bactériologie-virologie
7	Kaourou	DOUCOURE	Physiologie
8	Ousmane	DOUMBIA	Chimie thérapeutique
9	Boukassoum	HAÏDARA	Législation
10	Gaoussou	KANOUTE	Chimie analytique
11	Alou A.	KEÏTA	Galénique
12	Mamadou	KONE	Physiologie
13	Mamadou	KOUMARE	Pharmacognosie
14	Brehima	KOUMARE	Bactériologie/Virologie
15	Abdourahamane S	MAÏGA	Parasitologie
16	Saidou	MAIGA	Législation
17	Elimane	MARIKO	Pharmacologie
18	Mahamadou	TRAORE	Génétique
19	Sékou Fantamady	TRAORE	Zoologie

DER : SCIENCES BIOLOGIQUES ET MÉDICALES

1. PROFESSEURS/ DIRECTEUR DE RECHERCHE

N°	PRÉNOMS	NOM	SPÉCIALITÉS
1	Mounirou	BABY	Hématologie
2	Abdoulaye	DABO	Biologie-parasitologie
3	Mahamadou	DIAKITE	Immunologie-Génétique
4	Alassane	DICKO	Santé Publique
5	Abdoulaye	DJIMDE	Biologie / Parasitologie
6	Amagana	DOLO	Parasitologie-Mycologie
7	Akory Ag	IKNANE	Santé publique/ Nutrition
8	Ousmane	KOITA	Biologie moléculaire
9	Boubacar	TRAORE	Parasitologie-Mycologie

2. MAITRES DE CONFÉRENCES/MAITRE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOMS	SPECIALITE
1	Aldjouma	GUINDO	Hématologie
2	Kasssoum	KAYENTAO	Santé publique/Bio statistique
3	Bourèma	KOURIBA	Immunologie chef de DER
4	Issaka	SAGARA	Bio-statistique
5	Mahamadou soumana	SISSOKO	Bio-statistique
6	Ousmane	TOURE	Santé publique/ Santé environnement

3. MAITRES ASSISTANTS/ CHARGE DE RECHERCHE

N°	PRÉNOMS	NOM	SPÉCIALITÉS
1	Mohamed	AG BARAIKA	Bactériologie-Virologie
2	Charles	ARAMA	Immunologie
3	Boubacar Tietie	BISSAN	Biologie Clinique
4	Djibril Mamadou	COULIBALY	Biologie Clinique
5	Seydou Sassou	COULIBALY	Biologie Clinique
6	Antoine	DARA	Biologie Moléculaire
7	Souleymane	DAMA	Parasitologie-Mycologie
8	Djeneba Koumba	DABITAO	Biologie Moléculaire
9	Laurent	DEMBELE	Biotechnologie Microbienne
10	Kletigui Casmir	DEMBELE	Biochimie Clinique
11	Seydina S. A.	DIAKITE	Immunologie
12	Yaya	GOITA	Biologie Clinique
13	Ibrahima	GUINDO	Bactériologie-Virologie
14	Aminatou	KONE	Biologie Moléculaire
15	Birama Apho	LY	Santé Publique
16	Almoustapha Issiaka	MAIGA	Bactériologie-Virologie
17	Dinkorma	OUOLOGUEM	Biologie Cellulaire
18	Fanta	SANGHO	Santé publique/Santé communautaire
19	Oumar	SANGHO	Epidémiologie

4. ASSISTANTS/ ATTACHE DE RECHERCHE

N°	PRÉNOMS	NOM	SPÉCIALITÉS
1	Djénéba	COULIBALY	Nutrition/ Diététique
2	Issa	DIARRA	Immunologie
3	Fatou	DIAWARA	Epidémiologie
4	Merepen dit Agnes	GUINDO	Immunologie
5	Falaye	KEITA	Santé publique/Santé environnement
6	N'Deye Lallah Nina	KOITE	Nutrition
7	Amadou Birama	NIANGALY	Parasitologie-Mycologie
8	Djakaridia	TRAORE	Hématologie

DER : SCIENCES PHARMACEUTIQUES

1. PROFESSEURS/ DIRECTEUR DE RECHERCHE

N°	PRÉNOMS	NOM	SPÉCIALITÉS
1	Drissa	DIALLO	Pharmacognosie
2	Rokia	SANOGO	Pharmacognosie Chef de DER

2. MAITRES DE CONFÉRENCES/ MAITRE DE RECHERCHE

N°	PRÉNOMS	NOM	SPÉCIALITÉS
	- Néant - -		

3. MAITRES ASSISTANTS/ CHARGÉ DE RECHERCHE

N°	PRÉNOMS	NOM	SPÉCIALITÉS
1	Loséni	BENGALY	Pharmacie hospitalière
2	Bakary Moussa	CISSE	Galénique
3	Yaya	COULIBALY	Législation
4	Issa	COULIBALY	Gestion
5	Balla Fatogoma	COULIBALY	Pharmacie hospitalière
6	Mahamane	H Aidara	Pharmacognosie
7	Hamma Boubacar	MAIGA	Galénique
8	Moussa	SANO GO	Gestion
9	Adiaratou	TOGOLA	Pharmacognosie

4. ASSISTANTS/ ATTACHÉ DE RECHERCHE

N°	PRÉNOMS	NOM	SPÉCIALITÉS
1	Seydou Lahaye	COULIBALY	Gestion Pharmaceutique
2	Daouda Lassine	DEMBELE	Pharmacognosie
3	Adama	DENOU	Pharmacognosie
4	Sékou	DOUMBIA	Pharmacognosie
5	Assitan	KALOGA	Législation
6	Ahmed	MAÏGA	Législation
7	Aïchata Ben Adam	MARIKO	Galénique
8	Aboubacar	SANGHO	Législation
9	Bourama	TRAORE	Législation
10	Karim	TRAORE	Sciences Pharmaceutique
11	Sylvestre	TRAORE	Gestion Pharmaceutique
12	Aminata Tiéba	TRAORE	Pharmacie hospitalière
13	Mohamed dit Sarmoye	TRAORE	Pharmacie hospitalière

DER : SCIENCES DU MEDICAMENT

1. PROFESSEURS/ DIRECTEUR DE RECHERCHE

N°	PRÉNOMS	NOM	SPÉCIALITÉS
1	Benoit Yaranga	KOUMARE	Chimie Analytique
2	Ababacar I.	MAÏGA	Toxicologie

2. MAITRES DE CONFÉRENCES/ MAITRE DE RECHERCHE

N°	PRÉNOMS	NOM	SPÉCIALITÉS
1	Sékou	BAH	Pharmacologie, Chef de DER

3. MAITRES ASSISTANTS/ CHARGE DE RECHERCHE

N°	PRÉNOMS	NOM	SPÉCIALITÉS
1	Dominique Patomo	ARAMA	Pharmacie Chimique
2	Mody	CISSE	Chimie thérapeutique
3	Ousmane	DEMBELE	Chimie thérapeutique
4	Tidiane	DIALLO	Toxicologie
5	Madani	MARIKO	Chimie Analytique
6	Hamadoun Abba	TOURE	Bromatologie

4. ASSISTANTS/ ATTACHÉ DE RECHERCHE

N°	PRÉNOMS	NOM	SPÉCIALITÉS
1	Mahamadou	BALLO	Pharmacologie
2	Dallaye Bernadette	COULIBALY	Chimie Analytique
3	Blaise	DACKOUCO	Chimie Analytique
4	Fatoumata	DAOUCO	Pharmacologie
5	Abdourahamane	DIARA	Toxicologie
6	Aiguerou dit Abdoulaye	GUINDO	Pharmacologie
7	Mohamed El Béchir	NACO	Chimie Analytique
8	Mahamadou	TANDIA	Chimie Analytique
9	Dougoutigui	TANGARA	Chimie Analytique

DER : SCIENCES FONDAMENTALES

1. PROFESSEURS/DIRECTEUR DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOMS	SPECIALITE
1	Mouctar	DIALLO	Biologie/ Chef de DER

2 MAITRES DE CONFERENCE/ MAITRE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOMS	SPECIALITES
1	Lassana	DOUMBIA	Chimie Appliqué

3. MAITRES ASSISTANTS /CHARGE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOMS	SPECIALITE
1	Mamadou Lamine	DIARRA	Botanique-Biologie végétale
2	Abdoulaye	KANTE	Anatomie
3	Boureima	KELLY	Physiologie Médicale

4. ASSISTANTS/ATTACHE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOMS	SPECIALITE
1	Seydou Simbo	DIAKITE	Chimie Organique
2	Modibo	DIALLO	Génétique
3	Moussa	KONE	Chimie Organique
4	Massiriba	KONE	Biologie Entomologie

CHARGES DE COURS (VACATAIRES)

N°	PRENOMS	NOMS	SPECIALITE
1	Cheick Oumar	BAGAYOKO	Informatique
2	Babou	BAH	Anatomie
3	Souleymane	COULIBALY	Psychologie
4	Yacouba	COULIBALY	Droit commercial
5	Bouba	DIARRA	Bactériologie
6	Moussa I	DIARRA	Biophysique
7	Babacar	DIOP	Chimie

8		Aboubacary	MAIGA	Chimie organique
9		Massambou	SACKO	SCMP/SIM
10		Modibo	SANGARE	Anglais
11		Satigui	SIDIBE	Pharmacie Vétérinaire
12		Sidi Boula	SISSOKO	Histologie-embryologie
13		Fana	TANGARA	Mathématiques
14		Djénébou	TRAORE	Sémiologie et Pathologie médicale
15		Mamadou B	TRAORE	Physiologie
16		Boubacar	ZIBEIROU	Physique

DEDICACES ET REMERCIEMENTS

DEDICACES ET REMERCIEMENTS

Je rends grâce à Dieu, le tout puissant, le miséricordieux, l'omniprésent, omnipotent, l'omniscient et à son bien aimé le prophète Muhammad (paix et salut sur lui).

Gloire à Dieu qui m'a donné le courage et la force pour réaliser cette thèse.

Je dédie ce travail :

A mon père, MAMADOU SISSOKO

Père, ton affection et ton soutien sans cesse ont fait de moi ce que je suis. Cher papa ce travail modeste qu'il soit, est le fruit de ta rigueur dans le travail et l'éducation que nous avons reçu de toi. Que le tout puissant t'accorde une longue vie, dans la santé et dans le bonheur.

A mes chères et tendres mères, Assétou SISSOKO, Assétou SANGARE et Mariam KEITA,

Votre générosité et votre affection pour l'autrui font de vous des femmes sages et exceptionnelles, vous nous avez toujours assisté avec vos sagesses de mère de famille. Ce travail est la consécration de tous les efforts que vous avez déployés pour mes frères, mes sœurs et moi. Les mots me manquent pour exprimer ma gratitude envers vous. Que Dieu le Miséricordieux puisse vous prêter longue vie pleine de bonheur et de santé.

A mon tendre époux Dr Bilaly SISSOKO

Ce travail est l'expression de notre attachement à conjuguer nos efforts pour mieux réussir et savoir progresser, alors continuons ensemble notre chemin. Qu'Allah nous accorde un bon foyer et bénisse nos progénitures.

A mes enfants : Moussa SISSOKO, Coumba SISSOKO

Mes chers enfants je vous dédie ce modeste travail tout en vous exprimant la joie que vous m'aviez apporté dans cette vie. Que Dieu vous donne une très longue vie dans la santé et dans le bonheur tout en vous bénissant.

A mon homonyme Oumou KAGNASSI,

Chère homonyme, votre amour, patience, amitié ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui. Merci d'avoir été toujours là comme une mère, que Dieu vous donne une très longue vie dans la santé.

A toutes mes tantes : Fily DIALLO, Hawa DIALLO, Ina DIALLO, Assan DIALLO, Ami KEITA, Vous m'aviez assisté avec respect et spontanéité, je vous en suis chaleureusement reconnaissante.

A mon Oncle Moussa SISSOKO,

Cher oncle je ne pourrais terminer ce travail, sans vous montrez ma gratitude, merci beaucoup pour tout mon oncle.

A tous mes tontons

Plus précisément à Boubacar DIALLO, je ne pourrais clôturer ce travail sans vous montrez ma gratitude, tonton merci d'avoir cru en moi.

A mes cousins et cousines

Chers tontons, cousins ; cousines et oncle je ne pourrais terminer ce travail, sans vous montrer ma gratitude, merci beaucoup pour tout.

A mes sœurs et frères : Moussa Baly, Mohamed, Modibo, Sidiki, Assitan, Djeneba, Adiarratou, Lidy, Fatoumata,

Vous avez tous de près ou de loin contribué à la réalisation de ce travail. Je ne me suis jamais senti abandonné, même aux moments les plus difficiles au cours de cette longue étude. Je vous souhaite un avenir brillant en rappelant que le travail est libérateur. <<Allah ka Balen maya to>>

A mes amies : Rokiatou DIARRA, Djénéba TRAORE, Zenabou TRAORE, Sirantou DEMBELE, Sitan Lafia COULIBALY,

Mes sincères remerciements à vous toutes, je n'oublierai jamais le moment que nous avons passés ensemble durant ce cursus universitaire.

A mes collègues de promotion plus précisément à

Dr Koné Bakary franchement le mot me manque pour te remercier. Je ne pourrais terminer ce travail sans pourtant vous montrez ma gratitude, merci beaucoup et bonne carrière professionnelle

A mes aînés Dr Keita Tounko, Dr Traore El Cheick Oumar, Dr Coulibaly Yaya,

Je ne pourrais terminer ce travail sans vous montrez ma plus profonde gratitude car vous m'aviez tendue main fort dans mes moments les plus difficiles.

A mon frère Feu Boman Sissoko j'aurais souhaité que cet instant solennel soit fait à ta présence mais c'est le tout puissant qui décide de tout, qu'il t'accueille dans son paradis tout en vous donnant un repos éternel.

A la Pharmacie Koumba je ne pourrais terminer ce travail sans vous montrer ma plus profonde gratitude.

REMERCIEMENTS

Au Directeur du Malaria Resaerch and Training Center- Parasitologie (MRTC), des Facultés de Médecine et d'Odontostomatologie (FMOS) et de Pharmacie (FAPH).

A tous les chercheurs et personnel du MRTC- Parasitologie

A tous les participants à cette étude à Samako

Au Centre d'Infectiologie Charles Mérieux- Mali de Bamako (CICM-Mali)

HOMMAGES AUX MEMBRES DU JURY

HOMMAGES AUX MEMBRES DU JURY

A NOTRE MAITRE, PRESIDENT DU JURY ;

Pr Boubacar TRAORE

- **Professeur titulaire de Parasitologie-Mycologie à la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-stomatologie (FMPOS)/USTTB,**
- **Doyen de la Faculté de Pharmacie (FAPH)/USTTB**
- **Chef de l'unité du laboratoire Immunogénétique (LIG) au Malaria Research and Training Center (MRTC),**
- **Enseignant-chercheur,**
- **Membre fondateur de la SOPAMYM et de la SOMI.**

Cher Maître

Vous nous faites un grand honneur en acceptant de présider ce jury de thèse malgré vos multiples occupations. Votre simplicité et votre modestie font de vous un homme admirable. Votre rigueur dans le travail et vos qualités d'homme de science, de culture, de chercheur aguerri font de vous un exemple à suivre.

Veillez accepter cher maître, nos sentiments d'estime et de profond respect.

A NOTRE MAITRE ET MEMBRE DU JURY

Dr Charles ARAMA

- **Docteur en Pharmacie ;**
- **Titulaire d'un Master en Immunologie**
- **Spécialiste en Immunologie**
- **Maitre-Assistant à la Facultés de Pharmacie**
- **Chercheur à l'unité PACEMI au MRTC/DEAP**

Cher Maître

Nous sommes très touchés par la spontanéité avec laquelle vous avez accepté de siéger à ce jury. Cela dénote de tout l'intérêt que vous accordez à ce travail. Vos remarques et suggestions ont beaucoup contribué à l'amélioration de la qualité de ce travail. Soyez en rassuré de notre respect et de notre profonde reconnaissance.

A NOTRE MAITRE ET MEMBRE DU JURY

Dr Antoine DARA

- **Docteur en Pharmacie ;**

- **PhD en Microbiologie moléculaire et Immunologie à
l'Université du Maryland, USA ;**

- **Maitre-assistant en Biologie Moléculaire à la FAPH ;**

- **Responsable du Laboratoire de génomique en Malaria
Research and Training Center.**

Cher Maître,

Nous avons été séduits par la spontanéité avec laquelle vous avez accepté de nous guider dans ce travail et par la tolérance que vous avez eu à notre regard.

Permettez-nous de vous exprimer notre profonde gratitude et notre profond respect.

A NOTRE MAITRE ET CO-DIRECTEUR DE THESE

Dr Karamoko NIARE

- **Docteur en Pharmacie.**
- **Docteur en Parasitologie médicale.**
- **Docteur en Biologie Moléculaire et Cellulaire des Agents Infectieux.**
- **Spécialiste en développement de vaccins et Epidémiologie génomique.**
- **Chercheur associé à Brown University, RI, USA.**

Cher maitre,

Vous avez non seulement initié ce travail, mais vous l'avez aussi codirigé. Votre rigueur, vos qualités de chercheur et de soucis de travail bien fait nous ont permis de réaliser ce travail. Trouvez ici, l'expression de notre plus profonde gratitude et notre reconnaissance totale.

A NOTRE MAITRE ET DIRECTEUR DE THESE

Pr Bouréma KOURIBA

- **Maître de conférences Agrégé en Immunologie à la Faculté de Pharmacie.**

- **Chef de l'Unité d'Immunologie Cellulaire et Moléculaire du MRTC/DEAP.**

- **Directeur Général du Centre d'Infectiologie Charles MERIEUX (CICM).**

Nous sommes très sensibles à l'honneur que vous nous avez fait en acceptant de diriger ce travail. Permettons-nous de vous remercier cher maître, pour la confiance que vous nous avez accordée en nous acceptant dans votre équipe. Nous gardons de vous l'image d'un homme de sciences rigoureux, appliqué et attaché au travail bien fait. Ces qualités couplées à votre simplicité et votre générosité font de vous un maître respectueux. Tout au long de cette étude, nous avons été permanemment animés par le souci de produire un travail à la hauteur de vos attentes. Malgré vos multiples occupations vous avez été disponible pour nous tout au long de ce travail. Cher maître, vous resterez pour nous une référence et un bel exemple à suivre.

LISTE DES FIGURES ET DES TABLEAUX

LISTE DES FIGURES ET DES TABLEAUX :

Liste des figures :

Figure 1: Schéma de l'ultrastructure du mérozoïte de Plasmodium falciparum.	12
Figure 2: Schéma ultrastructure de l'invasion du mérozoïte	13
Figure 3: Cycle biologique des plasmodies.	11
Figure 4: Distribution géographique du paludisme.....	14
Figure 5: Localisation de Samako sur la carte du Mali	29
Figure 6: Schéma de l'étude à Samako.....	31
Figure 7: Image d'une plaque d'ELISA.....	35
Figure 8: Réponses des IgG anti-MSP3 en fonction des saisons	39
Figure 9: Variations temporelle de l'étendue de la réponse anticorps à anticor.....	40
Figure 10: Comparaison des taux moyens d'IgG anti-MSP-3 selon les visites et le groupe d'âge.....	41
Figure 11: Distribution des cas de paludisme selon la tranche d'âge. ...	42
Figure 12: Courbe de survie du paludisme clinique en fonction du taux d'IgG anti-MSP-3	43
Figure 13: Comparaison des taux médians d'IgG anti-MSP-3 chez les enfants impaludés et sains en fonction du groupe d'âge et de la saison.	44

Liste de tableau :

Tableau I : Caractéristiques des participants	
l'étude.....	35

LISTE DES ABREVIATIONS

LISTE DES ABREVIATIONS :

ADCI : Antibody Dependent Cell mediated Inhibition

ADN : Acide Désoxyribonucléique

CTA : Combinaison Thérapeutique à Base d'Artémisinine

DC : Cellule Dendritique

EXP-1 : *Exported antigen1*

ELISA: *Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay*

H2SO4: Acide Sulfurique

IgG : Immunoglobine G

MSPs : *Merozoite Surface Proteins*

MSP1 : *Merozoite Surface Protein-1*

MSP4 : *Merozoite Surface Protein-4*

MSP5 : *Merozoite Surface Protein-5*

MSP8 : *Merozoite Surface Protein-8*

MSP10 : *Merozoite Surface Protein-10*

MSP3 : *Merozoite Surface Protein-3*

MSP6 : *Merozoite Surface Protein-6*

MSP7 : *Merozoite Surface Protein-7*

MSP9: *Merozoite Surface Protein-9*

MGG: May Grunwald Giemsa

NK : *Natural killer* (Cellule Tueuse Naturelle)

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PCR: *Polymerase Chain Reaction*

Pfmc-2TM: *Maurer's cleft Two transmembrane*

PfEMP-1 : *Plasmodium falciparum Erythrocyte Membrane Protein1*

PBST: *Phosphate Buffered Saline + Tween 20*

Rifin: *Repetive Interspersed Family*

RON: *Rhoptry neck protein*

SB1-5: Sous-blocs 5

Stevor: Subtelomeric variable open reading frame

TDR: Test de Diagnostic Rapide

TRAP: *Thrombospondin-related adhesive protein*

TLRs: *Toll Like Receptors*

TLR1: *Toll Like Receptor 1*

TLR2: *Toll Like Receptor 2*

TLR4 : *Toll Like Receptor 4*

TCD4+ : Lymphocytes T auxiliaires

TCD8+ : Lymphocytes T cytotoxiques

OPD : Ortho Phenylène Diamine

TABLES DE MATIERES

TABLES DE MATIERES

1.	Introduction	2
2.	Objectifs.....	6
2.1.	Objectif général.....	6
2.2.	Objectifs spécifiques.....	6
3.	Généralités	8
3.1.	Epidémiologie du paludisme	8
3.1.1.	L'agent pathogène.....	8
3.1.1.1.	Taxonomie	8
3.1.1.2.	Génome	8
3.1.1.3.	Cycle biologique.....	9
3.1.1.4.	Distribution géographique	14
3.2.	Manifestations cliniques.....	15
3.3.	Diagnostic biologique.....	16
3.3.1.	Goutte épaisse	16
3.3.2.	Frottis mince.....	17
3.3.3.	Les tests de diagnostic rapide (TDR)	17
3.3.4.	La PCR (<i>Polymérase chain reaction</i>)	18
3.4.	Traitement.....	19
3.4.2.	Traitement du paludisme grave	19
3.5.	Immunologie du paludisme	20
3.5.1.	Immunité naturellement acquise.....	20
3.5.2.	Les réponses cellulaires	21
3.5.3.	Les réponses humorales	22
4.	Methodologie	27
4.1.	Site d'étude.....	28
4.2.	Type et période de l'étude	29
4.3.	Population d'étude	29
5.	Résultats.....	38
6.	Discussion	45
7.	Conclusion et recommandations.....	53
8.	Référence	55

INTRODUCTION

1. INTRODUCTION

Le paludisme est une infection potentiellement mortelle causée par des parasites du genre *Plasmodium* qui sont généralement transmis à l'homme par des piqûres de l'anophèle femelle infecté. Il peut être exceptionnellement transmis par la voie transfusionnelle et par transplantation d'organe. C'est la parasitose la plus répandue dans le monde et particulièrement dans les régions d'Afrique subsaharienne, d'Amérique latine, d'Asie et de l'Océanie où les conditions climatiques sont favorables au développement des moustiques vecteurs. Au Mali, le paludisme constitue 32% des motifs de consultation (Journal Scientifique et Technique du Mali). Il existe cinq espèces de *Plasmodium* reconnues responsables du paludisme chez l'homme à savoir : *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium ovale* (dont deux sous espèces : *P. ovale curtisi* et *P. ovale walikerii*) et *Plasmodium knowlesi*. L'espèce *P. falciparum* est la plus virulente et provoque les formes sévères et mortelles de la maladie. En 2020 l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a publié 229 millions de cas de paludisme occasionnant près de 409000 décès dans le monde dont les régions d'Afrique subsaharienne supportent le plus lourd fardeau avec plus de 90 % des cas cliniques. Malheureusement 94% des cas cliniques et 67% des décès dus au paludisme ont enregistré dans la région de l'Afrique subsaharienne chez les enfants de moins de 5 ans(1). En plus des enfants, les femmes enceintes constituent aussi une couche vulnérable. En 2019, les taux de prévalence de l'exposition à l'infection palustre durant la grossesse étaient les plus élevés en Afrique Centrale (40%), suivies de l'Afrique de l'Ouest (39%) (1). Chez les enfants, 872 000 cas de faible poids à la naissance liés au paludisme (soit 16% des taux de naissance) ont été enregistrés en 2019. En outre près de 24 millions d'enfants impaludés étaient exposés à un risque élevé d'anémie

grave en Afrique subsaharienne. Pour lutter contre le paludisme, plusieurs stratégies de prévention et de traitement ont été mises en œuvre dans les pays endémiques. L'élimination du paludisme serait difficile sans un vaccin efficace. Cependant, le développement d'un vaccin antipaludique est loin d'être une tâche facile, car le cycle biologique du parasite est très complexe et ce dernier possède une grande diversité génétique. Il est aussi difficile d'induire une immunité efficace durable contre le paludisme(2)(3)(4)(5). Les protéines de surface du mérozoïte sont considérées comme des candidats privilégiés pour le développement de vaccins efficace contre le paludisme, car il fut démontré que les anticorps contre celles-ci sont fonctionnels et associés avec la protection contre le paludisme (6)(7)(8). En général, ces protéines jouent un rôle essentiel dans l'invasion des globules rouges par le parasite et la schizogonie intra-érythrocytaire. Certaines d'entre elles sont des ligands pour des récepteurs connus situés à la surface des hématies (3). Une partie de ces protéines appartient à la famille des *Merozoïtes Surfaces Proteins* (MSPs) tels que MSP-1, MSP-4, MSP-5, MSP-8, et MSP-10 qui sont attachées à la membrane du parasite à travers le glycosylphosphatidylinositol (GPI) (6). Quelques membres de cette famille forment des complexes moléculaires fonctionnels à la surface du parasite tels que MSP-3, MSP-6, MSP-7 et MSP-9 (9). Parmi celles-ci la MSP-3 présente un intérêt particulier comme candidat vaccin car elle est l'une des molécules les plus abondantes à la surface du mérozoïte. Elle est aussi capable d'induire des anticorps fonctionnels qui inhibent la croissance parasitaire selon les tests d'inhibition cellulaire dépendante des anticorps (ADCI :Antibody Dependent Cell mediated Inhibition)(10). Le gène qui code pour cette protéine se trouve sous une sélection en balance qui serait due à la pression immunitaire(11,12). Le

gène *msp3* est aussi essentiel pour *P. falciparum* selon les études de manipulation génétique récente (13).

Les enfants constituant l'une des couches les plus affectées par le paludisme, il est donc important d'analyser chez eux les caractéristiques et l'impact des réponses anticorps à l'exposition naturelle à cet antigène. Plus précisément, la cinétique saisonnière des titres d'immunoglobulines G (IgG) contre cet antigène chez les enfants peut être un indicateur important dans son choix comme candidat vaccin prometteur. Cependant, les données robustes sur le profil des réponses sérologiques annuelles contre la protéine MSP-3 dans les zones d'endémie palustre sont rares. C'est pour combler ce manque de données que nous avons conduit cette étude qui a pour but d'évaluer la dynamique des IgG contre la variante 3D7 de la MSP-3 et pose un problème sur la protection contre les épisodes palustres dans une population d'enfants au Mali.

OBJECTIFS

2. OBJECTIFS

2.1. Objectif général

Analyser la dynamique et l'impact de la réponse IgG contre la protéine de surface du mérozoïte MSP-3 chez les enfants de 0-15 ans à Samako au Mali.

2.2. Objectifs spécifiques

- 1) Déterminer la variation saisonnière des IgG totales contre l'antigène MSP-3.
- 2) Mesurer la corrélation des réponses sérologiques contre MSP-3 avec l'âge.
- 3) Comparer les réponses des anticorps anti-MSP-3 entre enfants sains et malades du paludisme.
- 4) Déterminer l'association entre l'infection et l'âge.

GENERALITES

3. GENERALITES

3.1. Epidémiologie du paludisme

3.1.1. L'agent pathogène

3.1.1.1. Taxonomie

Règne : Protistes,

Embrassement : *Protozoa*,

Sous-phylum : *Apicomplexa*,

Classe : *Haemosporidea*,

Sous-classe : *coccidia*,

Ordre : des *Haemospprida*

Sous-ordre : *Haemosporina*

Famille : *Plasmodidae*

Genre : *Plasmodium*.

Espèces : *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium ovale* (dont deux sous-espèces : *curtisi* et *walikerii*), *Plasmodium knowlesi*.

3.1.1.2. Génome

Le génome de *P. falciparum* (clone 3D7) comprend près de 23 millions de paires de bases étalées sur 14 chromosomes, la mitochondrie et l'apicoplaste. Le génome du *Plasmodium* a près de 5590 gènes (14). Les extrémités chromosomiques de *P. falciparum* sont très complexes et sont constituées de 5 sous-blocs uniques (SB1-5) qui exercent différentes fonctions pendant le cycle de développement du parasite. Les quatre familles de gènes variants (*var*, *rif*, *stevor* et *Pfmc-2TM*) qui sont très fortement impliquées dans la variation antigénique de *P. falciparum* et sont fréquemment localisées dans cette région chromosomique. Ces familles de gènes codent respectivement pour les protéines PfEMP-1 (*Plasmodium falciparum Erythrocyte Membrane Protein 1*), Rifin (*Repetitive interspersed family*), Stevor (*subtelomeric variable open*

reading frame), et *Pfmc-2TM* (*Maurer's cleft two transmembrane*). Il existe environ 60 gènes var, 149 gènes rif, 28 gènes *stevor* et 11 gènes *Pfmc-2TM* (15)(16). La protéine de surface du mérozoïte (MSP-3) de *P. falciparum* est codée par un locus unique sur le chromosome 10 du parasite (Pf10_0345)(2). Le gène *msp3* est hautement polymorphique et classé sur deux types allèles qui sont 3D7 et K1 (17). La région C-terminale de MSP-3 a 196-379 acides aminés dans la séquence de l'allèle K1)(17).

3.1.1.3. Cycle biologique

Le cycle biologique des plasmodies se déroule successivement sur deux hôtes à savoir : l'anophèle femelle (vecteur et l'hôte définitif) et l'homme (l'hôte intermédiaire). Le cycle comporte deux types de reproductions qui sont : la reproduction asexuée et la reproduction sexuée, la première chez l'homme et la seconde chez l'anophèle femelle. Dans l'organisme humain, la reproduction asexuée présente deux phases distinctes : la phase pré ou exo-érythrocytaire ou la phase hépatique ou la schizogonie pré-érythrocytaire (se déroule dans le foie) qui initie l'infection, cette phase n'induit pas une immunité naturelle et la phase érythrocytaire ou la schizogonie érythrocytaire (se déroule dans le sang) qui correspond aux manifestations cliniques de la maladie. La reproduction sexuée qui est suivie de sporogonie a lieu chez le moustique. L'infection est entamée chez l'homme par l'inoculation des sporozoïtes dans l'organisme par la piqûre infectante de l'anophèle femelle au cours de son repas sanguin, qui injecte de la salive pour faciliter sa prise de sang, laisse les sporozoïtes sous la peau de l'homme et celle-ci permet la transmission de la maladie à l'homme. Certains de ces sporozoïtes inoculés sous la peau sont détruits par les macrophages mais d'autres parviennent à gagner le foie via la circulation sanguine ou lymphatique au bout d'une trentaine de minutes. Les sporozoïtes vont envahir les

hépatocytes où ils terminent sa course dans un hépatocyte, cet hépatocyte infecté augmente de taille pour donner de plasmodes en schizontes. Ces schizontes subissent des maturations pour donner de corps bleus ou rosettes, la rupture de la membrane des schizontes libère les mérozoïtes dans la circulation sanguine. C'est une véritable technique de cheval de Troie qui est utilisée ici pour passer des cellules hépatiques aux cellules sanguines (les érythrocytes).

Les jeunes mérozoïtes libérés vont envahir les érythrocytes et c'est le début du cycle de réplication érythrocytaire asexuée, ainsi il y'a la différenciation des gamétocytes mâles et femelles qui restent dans la circulation sanguine. Lorsque le moustique prend ce sang infecté chez homme au cours de son repas sanguin ingère les gamétocytes mâles et femelles qui migrent dans l'estomac du moustique et de là les gamètes mâles vont subir une exflagellation pour donner huit (8) microgamètes et les gamètes femelles augmentent de tailles pour donner des macro gamètes. Un microgamète féconde une macro gamète pour donner un zygote, ce zygote se transforme en ookinète (œuf mobile). Cet ookinète quitte la lumière du tube digestif, se fixe ensuite à la paroi externe de l'estomac et se transforme en oocyste. Les cellules parasitaires se répliquent à l'intérieur de cet oocyste pour donner de sporozoïtes et ceux-ci vont envahir la glande salivaire du moustique après la rupture de la membrane de l'oocyste dans l'hémolymphe et le moustique devient infectant et au cours d'un repas sanguin chez l'homme inocule ces sporozoïtes dans l'organisme de l'homme et recommence un nouveau cycle de vie.

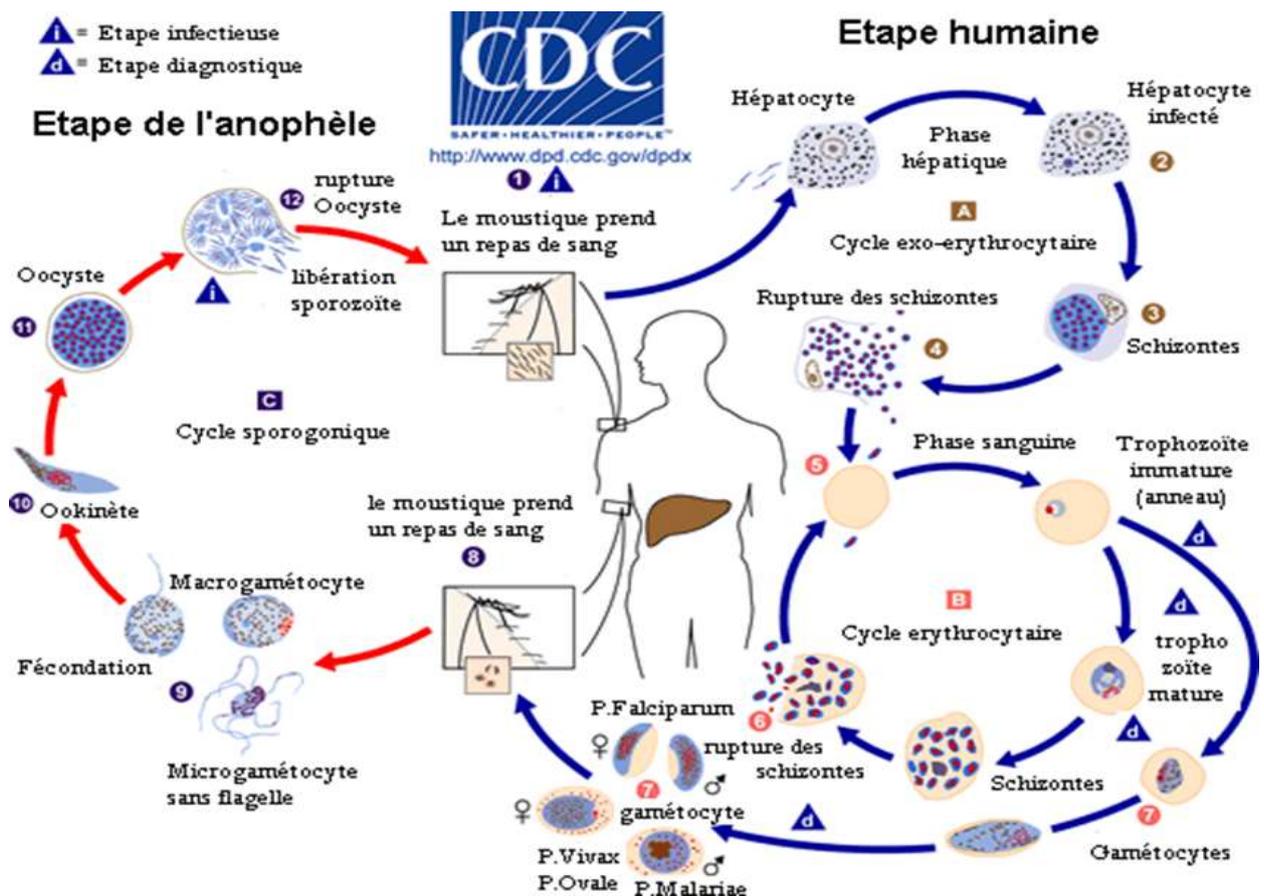
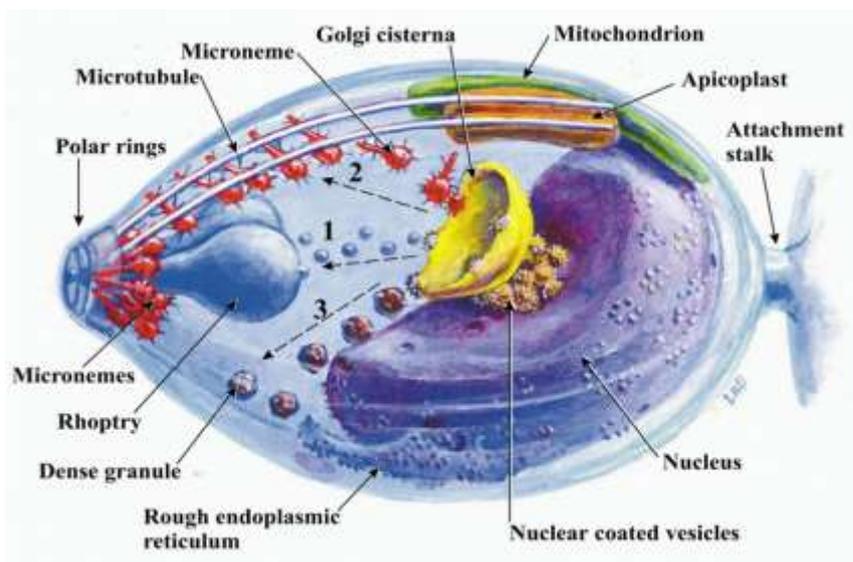


Figure 1: Cycle biologique des plasmodies. Source: CDC (*Centers for diseases control and prevention*), <http://paludisme-tpe.e-monsite.com/pages/i-le-plasmodium/g.html>

3.1.1.3.1. Invasion des erythrocytes



- Mitochondrie ● Apicolaste ● Microneme ● Microtubule
- Vésicules à revêtement nucléaire ● Appareil de golgi ● Noyau

Figure 2: Schéma de l'ultrastructure du mérozoïte de Plasmodium falciparum. Source : jcs.biologists.org

L'extrémité apicale du mérozoïte contient des organites et des structures, y compris des micronèmes et des rhoptries, qui facilitent l'invasion au contact des érythrocytes. Les micronèmes contiennent des adhésines impliquées dans la liaison des érythrocytes, tandis que les rhoptries sont libérées après l'engagement initial de la cellule hôte pour faciliter le processus d'invasion et former la vacuole parasitophore où les mérozoïtes se répliquent et forment des cellules filles

Dans le sang, le mérozoïte s'accroche à la surface de la membrane de l'érythrocyte où il se réoriente sur sa partie apicale et fait face à la membrane du globule rouge, il aura une formation d'une jonction sérieuse. Cette jonction sérieuse est formée grâce à des complexes moléculaires y compris AMA1 et RON2 (*Rhoptry neck protein*), qui crée une ouverture à l'intérieure de la membrane plasmique du globule rouge

comme il y eu cette ouverture le parasite va forcer en pénétrant. Donc en pénétrant il va se débarrasser de son revêtement antigénique grâce à l'action de certaine enzymes telle que le serine protéase qui vont raser la surface du mérozoïte et ces antigènes libérés vont induire une réponse immunitaire aux anticorps qui vont réagir et lorsque le parasite se trouve à l'intérieur du globule rouge (GR), il aura formation d'une vacuole parasitophore autour du parasite et c'est à l'intérieure de cette vacuole parasitophore que le parasite se développe à travers plusieurs stades tel que le stade ring (anneau), le stade de trophozoïtes immatures, de trophozoïtes matures et le stade de schizontes, quand ça arrive au stade de schizontes matures la membrane du globule rouge se rompt car elle ne pourra plus contenir les jeunes mérozoïtes.

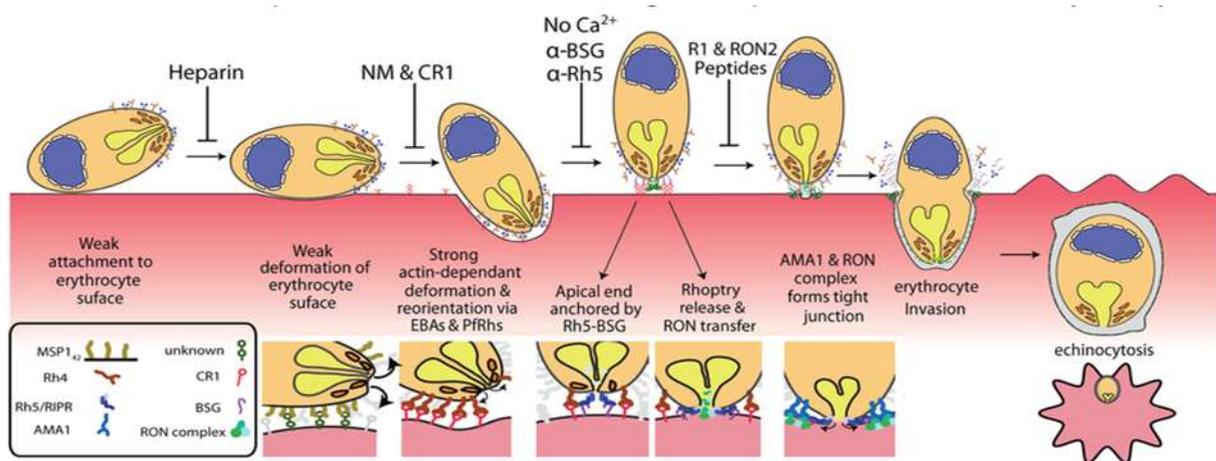


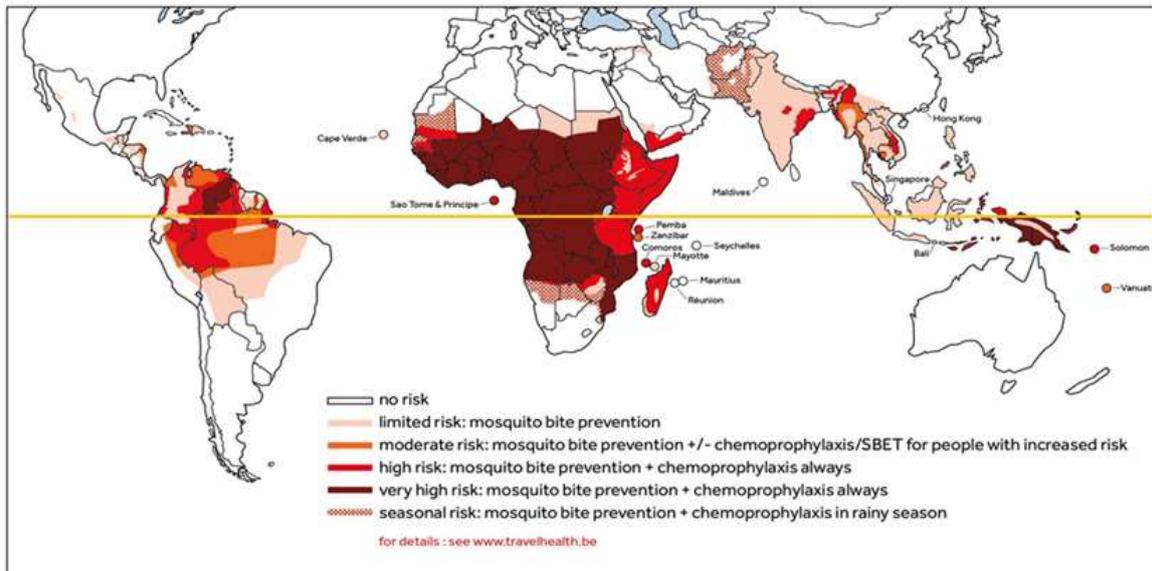
Figure 3: Schéma ultrastructure de l'invasion du mérozoïte

Source :

<https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fopeni.nlm.nih.gov>

A ce niveau le parasite utilise hémoglobine comme source d'acides aminés. La pénétration du mérozoïte dans l'érythrocyte et sa maturation en trophozoïte puis schizonte prend 24 heures pour *P. knowlsie*, 72 heures pour *P. malaria* et 48 heures pour *P. falciparum*, *P. ovale* et *P. vivax*.

3.1.1.4. Distribution géographique



- Zone non risque
- Zone à risque limité
- Zone à risque modéré
- Zone à risque élevé
- Zone à risque très élevé
- ★ Zone à risque saisonnier

Figure 4: *Distribution géographique du paludisme (WHO 2019, World Malaria Report 2018)*

Le paludisme pose un problème de santé publique dans le monde en général surtout dans les régions d’Afrique subsaharienne en particulier, la région d’Asie du Sud-est et la région Méditerranée orientale, dont la majorité du problème se situe dans les régions d’Afrique subsaharienne (19 pays) et inde constituaient quasiment 85% du nombre total de cas de paludisme, la région Méditerranée orientale (2,1%). Six pays, à eux seuls, ont enregistrés plus de la moitié des cas: le Nigéria (25 %), la République démocratique du Congo (12 %), l’Ouganda (5 %), ainsi que la Côte d’Ivoire, le Mozambique et le Niger (4 % chacun). Au niveau mondial, l’incidence du paludisme a reculé entre 2010 et 2018, passant de 71 cas pour 1 000 habitants exposés au risque de paludisme à 57 pour 1 000. Dans la région Asie du Sud-est de l’OMS,

l'incidence du paludisme continue à baisser, de 17 cas pour 1 000 habitants exposés au risque de paludisme en 2010 à 5 pour 1 000 en 2018 (soit une baisse de 70 %). De même l'incidence du paludisme a diminuée dans la région Afrique subsaharienne, avec 294 cas pour 1 000 en 2010 contre 229 en 2018 (-22 %). Toutes les autres régions de l'OMS ont enregistré des progrès très modestes, voire une hausse de l'incidence. Dans la région Amériques de l'OMS, l'incidence du paludisme a augmenté, principalement à cause d'une transmission accrue au Venezuela (République bolivarienne). L'espèce *P. falciparum* est la plus virulente et provoque les cas sévères et mortels avec 99,7% de cas en Afrique subsaharienne, de 50 % des cas dans la Région de l'Asie du Sud-est, de 71 % dans la Région de la Méditerranée orientale et de 65 % dans la Région du Pacifique occidental (WHO 2019).

3.2. Manifestations cliniques

Les manifestations cliniques du paludisme sont souvent diverses à savoir : l'accès palustre de primo-invasion à *P. falciparum*, l'accès palustre à fièvre périodique, le paludisme grave et des formes de complications directes et indirectes du paludisme comme l'atteinte cérébrale ou encore regroupe sous le nom de neuro-paludisme (accès perniciosus ou cerebral malaria chez les Anglo-Sang-Saxons), la splénomégalie palustre hyper réaction et la fièvre bilieuse hémoglobinurique. La manifestation clinique la plus fréquente du paludisme est l'accès palustre à fièvre périodique qui est caractérisé par une fièvre avec des symptômes comme : céphalées, frissons, sueurs, nausées, vomissements ou diarrhées. Le paludisme peut s'avérer asymptomatique chez les adultes en zone endémique. Les formes graves du paludisme sont causées par l'espèce *P. falciparum* qui sont le neuro-paludisme, l'anémie hémolytique, le syndrome de détresse

respiratoire, l'insuffisance rénale aiguë, l'acidose métabolique et l'hypoglycémie. La splénomégalie palustre peut rarement se compliquer en rupture et exceptionnellement d'infarctus de la rate. L'OMS a défini des critères de gravité du paludisme comme suite : Troubles de la conscience, convulsions répétées, prosternation, détresse respiratoire, ictère, hémoglobinurie macroscopique, collapsus circulation, œdème pulmonaire, saignement anormal, anémie, hypoglycémie, la présence d'un seul de ces critères, clinique ou biologique (sauf l'hyparasitémie isolée), associé à la présence de *P. falciparum* dans le sang fait porter le diagnostic d'accès palustre grave(18).

3.3. Diagnostic biologique

Le diagnostic biologique du paludisme est confirmé par la mise en évidence du parasite dans le sang circulant. Il doit être réalisé avant tout traitement antipaludique et immédiatement sans attendre un pic thermique(19). Il y a plusieurs tests de diagnostic qui sont actuellement utilisés à savoir l'examen microscopique de la goutte épaisse(GE) et du frottis sanguins qui sont la technique de référence préconisée par l'OMS (Gold Standard)(20). En plus des deux tests il existe d'autre moyen de diagnostic biologique qui est le TDR (test de diagnostic rapide) et la PCR (Polymérase Chain Réaction).

3.3.1. Goutte épaisse

La goutte épaisse consiste à prélever et à examiner quelques µl de sang sur une lame après hémolyse des globules rouges et coloration selon la méthode de Giemsa.

Cette technique, très ancienne reste la méthode de référence du 1^{er} choix. C'est une excellente technique mais de réalisation un peu délicate et qui nécessite une bonne expérience à la lecture. Elle est la technique sensible qui détecte des parasitémies plus faible de l'ordre de 10 à 20

parasites/ μ l(21).La GE ne permet pas le diagnostic de certitude des espèces plasmodiales.

3.3.2. Frottis mince

Le frottis mince c'est une technique de référence de 2eme choix. Il a une bonne sensibilité et une bonne spécificité pour la détection du Plasmodium(19).C'est un examen peu coûteux en moyens et en réactifs et demeure la technique la plus utilisée. Cependant, ses performances en termes de sensibilité et de fiabilité dépendent directement de l'expérience du microscopiste et du niveau de la parasitémie du sujet infecté(22). Le Frottis mince permet également d'identifier l'espèce plasmodiale en cause à partir des critères morphologiques des parasites et des hématies parasitée (23). Ceci permet de juger l'évolution potentielle et de la gravité de la maladie et d'autre part pour instaurer le traitement adéquat (24).

3.3.3. Les tests de diagnostic rapide (TDR)

Ils reposent sur le principe de l'immuno-chromatographie en utilisant des bandelettes à base d'anticorps monoclonaux spécifiques détectant des antigènes plasmodiaux (25). Ils sont réalisés avec une goutte de sang déposée sur une bandelette et ne nécessitent aucun appareillage. Ils existent plusieurs types de TDR.

-Détection de l'Ag *histidine riche en protéine2* (HRP2)

Cette glycoprotéine spécifique de l'espèce *P. falciparum* est produite par tous les stades érythrocytaires asexués du parasite. Ces tests ont d'une sensibilité supérieure 96%(25).

-Détection des lactates déshydrogénases parasitaires (LDH)

Ce sont des enzymes glycolytiques qui présentent l'avantage d'être communes aux 4 espèces plasmodiales, détectées à tous les stades sexués et asexués du parasite(25). Les LDH ont un seuil de détection identique à celui de l'HRP2, leur clairance est par contre plus rapide

faisant qu'ils ne persistent pas dans le sang après disparition du Plasmodium, d'où leur intérêt dans la surveillance des patients traité [15,26]. Les TDR sont à l'exécution rapide et de lecture facile pouvant être réalisés par un personnel non qualifié. Ils sont indiqués particulièrement dans les structures non spécialisées lorsque l'examen microscopique n'est pas disponible (27). Leurs performances dépendent essentiellement de la parasitémie(26). Ils sont également moins performants avec les espèces autres que *P. falciparum*, particulièrement *P. ovale* (28). Les TDR doivent être considérés comme un complément des autres méthodes diagnostiques. Leurs résultats doivent être vérifiés et complétés si possible par l'examen microscopique. Leur positivité permet une prise en charge adéquate et rapide des patients. En revanche, leur négativité ne doit pas écarter le diagnostic (27). En 2019 412 millions de TDR ont été vendu dans le monde, 259 millions pour les Programmes Nationales de Lutte contre le paludisme, dont 64% livrés en Afrique subsaharienne.

3.3.4. LA PCR (*Polymérase chain reaction*)

Le diagnostic moléculaire par la PCR (Polymerase chain reaction) qui est basée sur l'amplification génomique du plasmodium. La PCR est la technique la plus utilisée. C'est la technique la plus sensible qui permet de détecter la parasitémie de l'ordre de 0.3 parasite/ μ l de sang avec une possibilité de quantification de l'ADN plasmodial en utilisant la PCR quantitative (18)(30). La PCR a également une excellente valeur prédictive négative avec une spécificité absolue si elle est réalisée dans de bonne condition (29).L'amplification du gène codant pour la petite sous unité 18S de l'ARN ribosomal permet aussi l'identification des espèces plasmodiales en cause en utilisant une "Nested" PCR (31).

3.4. Traitement

3.4.1. Paludisme non compliqué

L'OMS recommande les combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine (CTA) pour lutter contre le paludisme non compliqué. Actuellement cinq CTA sont recommandés par les agences internationales de régulation des médicaments. Le choix des CTA se fonde sur les résultats des études d'efficacité cliniques des artémisinines et des molécules partenaires, des recherches sur les marqueurs moléculaires et les tests in vitro et varie d'un pays à un autre. Il s'agit :

- Artémether + Luméfantrine,
- Dihydroartémisinine +Pipéraquline,
- Artémether +Méfloquine,
- Artésunate + amodiaquine,
- Artésunate +sulfadoxine /pyriméthamine,
- Artesunate +Pyronaridine.

3.4.2. Traitement du paludisme grave

Le traitement du paludisme grave est basé sur l'administration parentérale de l'artésunate (par voie intraveineuse) ou l'artémether (par voie intramusculaire) pendant au moins 24 heures, suivi de l'utilisation d'une CTA en 3 jours si la voie orale peut être envisagée. Lorsque le traitement injectable ne peut être administré, les enfants âgés de <moins de 6 ans atteints de paludisme grave doivent recevoir un traitement d'artésunate par voie rectale avant d'être orientés immédiatement vers un centre pouvant leur dispenser un traitement parentéral complet. Il n'est pas recommandé d'utiliser les artémisinines en monothérapie *per os* bien que des études ont montrées l'efficacité de ces traitements pendant dans un schéma de 7 jours.

Cette mesure permet de garantir une guérison complète et de prévenir contre le développement d'une résistance aux dérivés d'artémisinine.

3.5. Immunologie du paludisme

3.5.1. Immunité naturellement acquise

Les études épidémiologiques ont montré que les adultes vivant en zone d'endémie acquièrent une immunité naturelle qui les protège contre les symptômes cliniques du paludisme (immunité anti-maladie) mais n'empêche pas l'infection. Cette immunité protectrice s'appelle la prémunition(32). La prémunition est un état de protection naturellement acquise par les individus exposés à plusieurs reprises à l'infection de *P. falciparum*(33)(34)(35). Cet état d'immunité non stérilisante dont la médiation est principalement due à l'IgG qui permet de maintenir les charges parasitaires à de faibles niveaux (35)(36). Il a été montré que les anticorps d'individus ayant atteint un état de prémunition (protégé contre le paludisme) n'avaient pas d'effet direct majeur sur l'invasion parasitaire et la croissance des globules rouges, mais agissaient plutôt indirectement par un effet d'inhibition cellulaire dépendant des anticorps (ADCI) médié par les monocytes sanguins (37)(38). La pertinence de l'ADCI pour la protection clinique a été en outre confirmée lorsque des expériences de transfert passif d'immunité chez l'homme au moyen d'IgG ont été répétées (36). Les études in vitro ont pu être réalisées en utilisant le matériel biologique recueilli pendant le transfert passif in vivo; cela montrait clairement que les IgG cliniquement efficaces agissaient en coopérant avec les monocytes sanguins(39). Cet état de prémunition est partiel car les individus certes ne manifestent les symptômes graves de la maladie mais peuvent devenir des porteurs de parasites et labile. Cette immunité est non stérile et la mise en place est d'autant plus précoce lorsque la transmission est forte et stable. Toutefois, l'immunité est très précaire et disparaît après un ou deux ans passés hors de la

zone d'endémie. En zone d'endémie où les mères sont généralement immunes, les anticorps maternels transmis passivement aux fœtus protégeraient les nouveau-nés pendant quelques semaines à quelques mois contre les infections plasmodiales et les accès palustres. Des expériences de transfert passif d'immunoglobulines purifiées d'adultes hyper-immuns à des enfants ont montré que les réponses anticorps participaient à l'immunité acquise naturellement contre les stades sanguins de *P. falciparum* (5),(40),(41)

3.5.2. Les réponses cellulaires

Certaines des réponses immunitaires de l'hôte contre le parasite contribuent à la fois à la pathogénèse de la maladie et à l'immunité protectrice. Les études dans plusieurs régions ont démontrés que l'infection palustre induit l'activation des récepteurs Toll-like (TLRs), tel que TLR1, TLR2, TLR4 et TLR9(42)(43). Les produits du métabolisme du parasite tels que le glycosylphosphatidylinositol parasitaire et hémozoïne peuvent activer l'expression des cytokines à travers les TLRs ou autres voies de l'immunité innée. Les cellules du système immunitaire inné telles que les cellules tueuses naturelles (NK), les cellules dendritiques(DC), les cellules NKT sont impliquées dans la clairance des parasites circulants et des érythrocytes infectés et dans l'élimination des hépatocytes infectés. Cependant, les cellules DC et les cellules NK peuvent aussi déclencher ou inhiber la réponse inflammatoire en fonction de l'hôte ou des souches parasitaires examinées, la différence de croissance et la charge antigénique, l'activation de différentes cellules accessoires dans divers modèles de système et lignées de cellules devant être étudiées (par exemple, la moelle osseuse contre les cellules DC dérivées du monocyte ; l'homme contre la souris). Les cellules NKT peuvent aussi aider à réguler les réponses au *Plasmodium* de la DC et des cellules T. L'activation du complément et sa fonction pendant

l'infection palustre ont été étudiées, bien qu'aucun consensus clair n'ait émergé concernant sa fonction dans la réponse immunitaire protectrice ou dans la pathogenèse de la maladie. Il est clair qu'une meilleure compréhension de la réponse immunitaire innée au *Plasmodium* est nécessaire pour mieux comprendre la pathogenèse de la maladie et l'immunité protectrice. Par exemple, on connaît peu du profil des cytokines associées à la survenue du paludisme sévère et avec la grande mortalité observée chez certains patients. En plus l'élucidation de la fonction de l'immunité innée en régulant la réponse immunitaire adaptative à l'infection plasmodiale peut conduire à de nouvelles thérapies ou au développement de nouveaux adjuvants pour vaccins. Les cellules T CD4+ et CD8+ sont importantes pour la protection contre le paludisme(5). *P. falciparum* active les macrophages pour produire des cytokines pro-inflammatoires, des chimiokines et de l'oxyde nitrique et améliore la maturation des DC myéloïdes humains(44).

3.5.3. Les réponses humorales

L'infection palustre induit à la fois une réponse des cellules B thymo-indépendantes et dépendantes. Les études précoces dans les années 1960 démontraient que les anticorps peuvent conférer une protection contre le paludisme : les enfants qui recevaient un transfert passif d'anticorps sériques provenant d'adultes vivant en zone d'endémie palustre étaient capables de contrôler la parasitémie et la fièvre mais étaient incapables d'éliminer l'infection(35). Les études ont aussi démontré que les cellules B et les anticorps sont impliqués dans le contrôle de la parasitémie, bien que les anticorps protecteurs ayant une excellente spécificité protectrice chez l'homme ne soient pas bien définis. L'infection plasmodiale altère la fonction des cellules B chez l'homme(45).

3.6. Etat d'avancement de la vaccination antipaludique

Le vaccin contre le paludisme est considéré comme l'outil indispensable pour le contrôle et l'éradication de cette maladie. A ce jour aucun vaccin antipaludique n'est commercialisé. Les candidats vaccins se distinguent par les stades parasitaires auxquels les antigènes sont exprimés. Il existe près de 94 candidats vaccins antipaludiques, dont d'une vingtaine ont fait l'objet d'essais (46). Ces molécules en développement ont pu donner des résultats encourageants, mais aucune d'elles ou de leurs combinaisons n'a permis d'induire une protection suffisante. À ce jour, il existe plusieurs types candidats vaccin :

3.6.1. Candidat vaccin des stades pré-érythrocytaires

A ce niveau il existe plusieurs candidats vaccins pré-érythrocytaire dont le plus avancé en développement clinique est le RTS, S / AS01 qui a comme cible la protéine circumsporozoïte pré-érythrocytaire (CSP) de *P. falciparum*. La CSP contient une région de répétition centrale qui déclenche des réponses d'anticorps, flanquée de chaque côté de régions non répétitives contenant des épitopes de lymphocytes T. Les anticorps dirigés contre la région centrale répétée provoquent la desquamation de l'enveloppe protéique et bloquent l'invasion [35]. Les trois pays pilotent pour l'essai de RTS, S/AS01 sont à savoir : le Ghana, le Kenya et le Malawi ont commencé à introduire le vaccin en 2019 dans des hépatocytes, ce qui suggère que les anticorps induits par le vaccin pourraient prévenir l'infection. Le RTS / S est le seul vaccin antipaludique ayant atteint la phase III d'essai clinique. Son utilisation lors d'essais cliniques à grande échelle chez des enfants avec l'administration dans les zones déterminées où la transmission du paludisme est modérée ou élevée mais l'efficacité du vaccin était inférieure à 50% chez les enfants et les nourrissons (47). Le vaccin était administré dans le cadre du programme élargi de vaccination de chaque pays.

3.6.2. Candidat vaccins du stade érythrocytaire

La plupart des vaccins candidats contre le paludisme au stade sanguin sont basés sur des antigènes qui recouvrent la surface des mérozoïtes invasifs et / ou son implication dans le processus d'invasion érythrocytaire. L'espoir est que la vaccination avec ces antigènes générera des anticorps qui bloquent l'invasion et réduisent la réplication du parasite dans le sang, réduisant ainsi le risque ou la gravité de la maladie clinique. Les antigènes candidats sont : AMA-1, MSP-1, MSP-3, PfEMP1 etc... Pour le moment aucun de ces candidats vaccins n'a atteint la phase 3 de développement clinique. Au Mali de nombreux essais cliniques ont été effectués avec les candidats vaccins MSP-1, AMA-1 et MSP-3 (48)(49)(50)(51)(52).

3.6.3. Candidat vaccins bloquant la transmission

Vaccins spécifiquement destinés à bloquer les molécules cibles de transmission qui sont propres aux gamétocytes ou aux stades ultérieurs des moustiques. Les anticorps dirigés contre de telles cibles sont capables de bloquer le développement des stades du moustique, interrompant ainsi la transmission. Plusieurs candidats vaccins ont été développés dont 7 ont montré qu'ils induisaient une immunité bloquant la transmission. Ce sont Pfs25, Pfs 28, HAP2, Pfs48/45, Pfs230, Pf77 et PfMDV-1. Seulement 4 ont fait l'objet d'un essai clinique avec des résultats encourageants (53).

Au Mali Pfs230 a fait l'objet d'un essai de phase 2 dont les résultats semblent prometteurs (données MRTC, non publiées).

En plus de ces candidats vaccins des différents stades, il existe des candidats vaccins multi-stades et multi-antigènes et les vaccins contre tout le parasite entier (54).

3.7. MEROZOITE SURFACE PROTEIN 3 (MSP3)

La protéine MSP-3 est une molécule de surface du mérozoïte dont la fonction reste inconnue (9)(55). La protéine n'a pas de domaine transmembranaire ou un signal d'attachement pour une ancre lipidique glycoposphatidylinositol.

La protéine MSP-3 contient une région globulaire de 96 acides aminés, identifiée par une complexité élevée en acides aminés à l'aide du programme séquence (56). Étant donné que la protéine MSP-3 est exprimée à la surface du mérozoïte lorsque le parasite est exposé au système immunitaire de l'hôte. La MSP-3 est immunogénique, et les anticorps anti-MSP-3 sont capables de médier l'inhibition de la croissance des parasites in vitro (55). Un vaccin basé sur le fragment N-terminal de MSP-3 a fait déjà l'objet d'essais cliniques (44)(57). En plus d'être un candidat vaccin potentiel, deux autres caractéristiques: 1) la MSP-3 bien qu'une protéine soluble, forme des oligomères, et 2) elle peut se lier à l'hème, bien que la signification de ces caractéristiques ne soit pas bien comprise (10)(58). Au cours de son développement au stade sanguin, le parasite dépend de façon cruciale de la dégradation de l'hémoglobine pour qu'il utilise comme source majeure d'acides aminés nécessaires à sa propre synthèse protéique(58). Une grande quantité d'hème est ainsi libérée. Cette molécule est hautement toxique pour le parasite (56). La plupart de l'hème libéré lors de la dégradation de l'hémoglobine est convertie par polymérisation en hémozoïne (forme non toxique), dans une vacuole alimentaire dans l'érythrocyte infecté (59)(60). De plus, il y a une certaine quantité d'hème qui est toujours libérée de l'hémoglobine non transformée lors de la sortie du mérozoïte (56)(61). Le parasite produit plusieurs protéines liant ces molécules hème libres qui peuvent assurer la détoxification de l'hème en parallèle avec la formation d'hémozoïne. Bien que la liaison à l'hème de MSP-3 ait

été décrite, le mode et la mesure dans lequel il se lie à l'hème restent flous non élucidés(62). La protéine MSP-3 localisée à la surface du mérozoïte ne présente aucune caractéristique structurelle, c'est-à-dire une teneur élevée en histidine / cystéine, etc., ce qui expliquerait ses propriétés de liaison à l'hème(55). Cependant, MSP-3 contient trois domaines de répétitions d'alanine, une région riche en acide glutamique et un motif de type fermeture éclair de leucine C-terminal(63).

La présence d'une séquence spécifique de 40 résidus d'acides aminés dans la région de la fermeture éclair de leucine a été impliquée dans la formation de dimères et tétramères de MSP-3 (64)(65). Selon les études séroépidémiologiques les anticorps anti-MSP-3 sont associés à la protection contre le paludisme clinique(66)(55)(7) (67). La région C terminale de MSP-3 est impliquée dans l'activité de liaison des érythrocytes et dans le trafic de MSP-9 (68). La protéine MSP-3 a un rôle crucial dans la liaison au globule rouge de l'hôte, mais aussi dans la protection du parasite contre l'hème qui est libéré lors de son éradication (69).

METHODOLOGIE

4. METHODOLOGIE

4.1. Site d'étude

Notre étude s'est déroulée à Samako, une localité située à environ 60 Km au Sud-Ouest de Bamako, la capitale du Mali et à 15 Km de la route nationale 5. Il relève de la sous-préfecture de Siby (à 15 km) et de la commune rurale de Bancoumana. Le village est situé entre les monts mandingues au nord et le fleuve Niger au sud. Samako compte plus de 2500 d'habitants constitués essentiellement de Malinkés, de peuls et de Bambaras. On y rencontre une uniformité de coutumes, l'habitat et de mode de vie. L'islam est la religion dominante bien que certaines pratiques ancestrales persistent encore. Le climat de Samako est caractérisé par 2 types de saisons. La saison sèche allant de novembre à avril, se subdivise en périodes froide et chaude au cours de laquelle on peut enregistrer des températures allant jusqu'à 38°C à l'ombre. Compte tenu des aléas climatiques, la pluviométrie est souvent capricieuse et varie entre 650 mm et 1200 mm annuelle. La saison des pluies suit le déplacement du front intertropical de convergence de part et d'autre de l'équateur. Deux vents y soufflent : l'harmattan de l'Est vers l'Ouest en saison sèche et la mousson du sud vers l'Ouest en saison des pluies. Le relief du village de Samako est monotone et caractérisé par des étendues de plaines jalonnées de part et d'autre des marigots Faraniba et Kouloumou Farani. Samako est un village monotone et caractérisé par des étendues de plaine jalonnées de part et d'autre des marigots Faraniba et Kouloumou Farani.

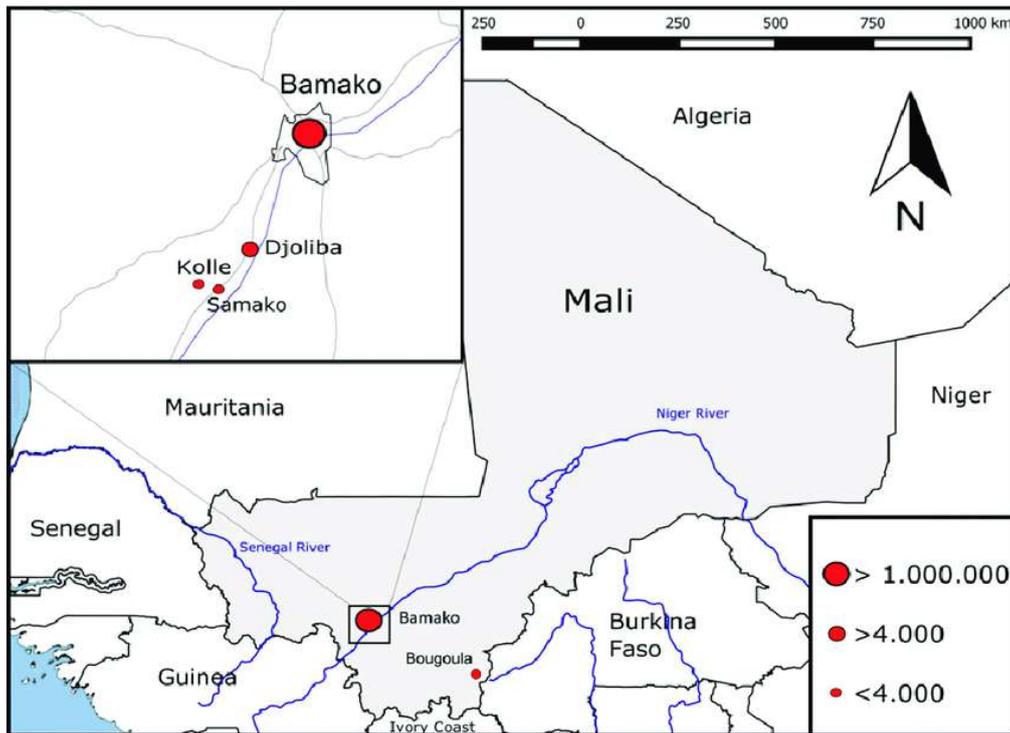


Figure 5: Localisation de Samako sur la carte du Mali

Source : <http://www.solidarité-samako.com>

4.2. Type et période de l'étude

Nous avons utilisé une étude de cohorte d'août 2011 à juillet 2012.

4.3. Population d'étude

Notre étude concernait les enfants résidents du village de Samako âgés de 0 à 15 ans pendant la durée de l'étude.

4.3.1. Critères d'inclusion et de non-inclusion

- **Critères d'inclusion étaient les suivants :**

- Avoir donné l'assentiment ou l'obtention du consentement des parents ou tuteurs.
- Etre âgé de 0 à 15ans.
- Etre disponible pendant la durée de l'étude.
- Etre résidant connu du village de Samako.
- Etre disposé à fournir les informations demandées et les échantillons biologiques.

-

- **Critères de non-inclusion :**

- Présenter un état physique altéré qui ne pourra pas permettre de réaliser les procédures de l'étude.
- Etre participant à un essai de vaccin antipaludique durant la période de l'étude.

4.3.2. Taille de l'échantillon

Nous avons utilisé 119 échantillons Cryo conservés provenant d'enfants âgés de 0-15 ans pendant les quatre premières visites, notamment en aout 2011, octobre 2011, décembre 2011 et juillet 2012 (Figure 6). Nous avons couvert la période de haute transmission du paludisme dans la zone en 2011 (aout – octobre).

4.4. Méthodes d'études

4.4.1. Suivi des participants

Le présent travail était niché au sein d'une grande étude de cohorte financée par The European and Developing Countries Clinical Trials Partnership (EDCTP). Cette étude comprenait au total six (6) visites transversales mais nous avons utilisé les échantillons Cryo conservés prélevés pendant les quatre premières visites, notamment en août 2011, octobre 2011, décembre 2011 et juillet 2012 (Figure 6). Nous avons couvert la période de haute transmission du paludisme dans la zone en 2011 (août – octobre). En plus des visites actives programmées, les participants avaient la possibilité de voir l'équipe médicale pour des suivis passifs au cours desquels les procédures normales de l'étude étaient appliquées.

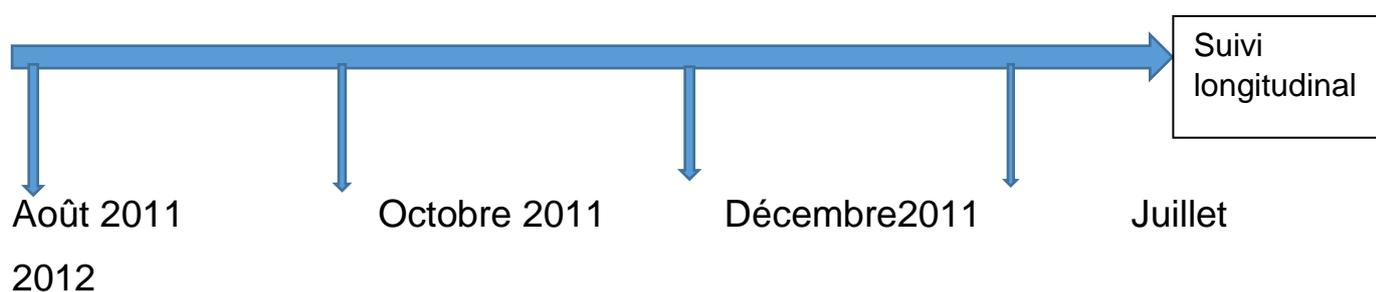


Figure 6: Schéma de l'étude à Samako.

4.4.2. Collecte des données

A chaque visite active, les enfants de la cohorte subissaient un examen physique avec mesure du poids, de la température axillaire et le taux d'hémoglobine à l'aide de l'appareil HemoCue ®. Ensuite chacun subissait des prélèvements de sang pour la goutte épaisse, le frottis mince, la confection des confettis sur papiers buvards et la conservation du plasma à -80 °C. Huit ans après la fin de l'étude de terrain, nous avons utilisé les échantillons de plasma Cryo conservés pour mesurer les titres d'anticorps IgG par ELISA.

4.4.3. Diagnostic du paludisme

Le dépistage du paludisme a été effectué par la goutte épaisse et le frottis mince. Les prélèvements de sang veineux ont été effectués pour la réalisation de la goutte épaisse et du frottis sanguin (GE/FS) à l'inclusion pour la mise en évidence de la densité parasitaire et de l'espèce. La goutte épaisse et le frottis sanguin ont été réalisés à partir du sang capillaire, avant la réalisation de la goutte épaisse (GE) et du frottis sanguin (FS) au bout du doigt, une lame propre était étiquetée. La pulpe du majeur gauche du patient était désinfectée à l'aide d'un tampon alcoolisé. Après le séchage de l'alcool, le doigt était légèrement massé dans le sens de l'ongle pour ramener le sang au niveau de la pulpe du doigt sans toucher à la partie désinfectée. A l'aide du vaccinostyle, la partie de la pulpe du doigt désinfecté était piquée sur le côté, puis le sang était recueilli. Le doigt était déposé délicatement sur la lame étiquetée. Cette première goutte a servi de réaliser la goutte épaisse ; une seconde goutte sur la même lame a été nécessaire pour réaliser le frottis sanguin mince. Les gouttes épaisses et les frottis minces étaient bien séchés, puis avec un crayon le code anonyme, la date, le jour du suivi et l'heure de prélèvement étaient notés sur la lame du patient. Les lames étaient ensuite plongées pendant 20 à 30 minutes dans une solution de Giemsa 10% préparée extemporanément chaque jour. Elle était ensuite examinée pour le comptage des plasmodies sur la GE et l'identification de l'espèce plasmodiale avec le frottis sanguin mince.

Les gouttes épaisses et frottis sanguins ont été examinés à immersion au grossissement X100 pour identifier les espèces. La densité parasitaire (DP) était calculée selon la formule ci-dessous :

$$DP (\mu L) = N \times 7500 / X$$

DP : densité parasitaire

N : nombre de parasites comptés sur 300 leucocytes ;

X : nombre de leucocytes comptés = 300

L'étalement était considéré comme négatif lorsque l'examen de 1000 leucocytes ou 100 champs contenant au moins 10 globules blancs par champ ne mettait en évidence aucune forme asexuée de Plasmodium (OMS 2003).

4.4.4. Sérologie antipaludique : C'est la technique ELISA indirect (Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay)

Principe : L'ELISA est une technique immuno-enzymatique de détection qui permet de visualiser une réaction antigène-anticorps grâce à une réaction colorée produite par l'action sur un substrat d'une enzyme préalablement fixée à l'anticorps.

Réactifs

❖ Solution de fixation

La solution tampon de fixation contient, 1 comprimé de Carbonate + Bicarbonate dans 100ml d'eau distillée.

❖ Solution de blocage

La solution de blocage consiste à mélanger 100ml de PBST à 1g de lait écrémé PBST /1% de lait écrémé.

❖ L'antigène

Nous avons utilisé une protéine recombinante de MSP-3 de la souche 3D7 qui a été exprimées dans un système d'expression de cellules de mammifères (cellules Epi293 F HEK). C'est une protéine entière testée par dot blot, SDS-PAGE, western blot et ELISA pour vérifier son l'intégrité, sa spécificité et son immunogénicité avant son utilisation.

❖ Le conjugué était un anticorps monoclonal de chèvre anti-IgG humaine (SIGMA-Aldrich Cat#075-1006)

Procédure :

1^{er} jour :

L'antigène MSP-3 de la souche 3D7 de *P. falciparum* obtenu par génie génétique est dilué à 1µg/ml dans le tampon de fixation. Puis 100µl de l'antigène dilué est distribué dans chaque puits de la plaque et incubés à +4°C pendant une nuit.

2^{ème} jour :

La plaque est lavée avec le tampon PBST (Tampon Phosphate + Tween 20) pour éliminer les excès antigènes. Après le lavage 200µl du tampon de blocage est distribué dans chaque puits et incubés pendant 5h à la température ambiante. Après les 5 heures la plaque est lavée, 5 fois avec la solution de lavage PBST puis 100µl de sérum des volontaires (Anticorps primaires) dilués au 500^{ème} dans la solution de blocage à étaient distribués dans les puits de la plaque conformément au schéma préétabli. La plaque est recouverte de membrane adhésive et incubée à +4°C pendant une nuit.

3^{ème} jour :

La plaque était lavée 5 fois, puis, 100µl de l'anticorps secondaire dilués au 2500^{ème} étaient distribués dans chaque puits et incubés pendant 3h. Après une dernière série de 5 lavages, 200µl du substrat OPD étaient distribués et incubés pendant 20 minutes à l'obscurité. La réaction était arrêtée par l'ajout de 25 µl d'acide sulfurique (H₂SO₄ 2M) et la lecture était effectuée au spectrophotomètre à 450 nm.

Interprétation : Pour chaque plaque ELISA il y avait deux puits de contrôle négatif. Nous avons ensuite calculé la moyenne des DO de tous les contrôles négatifs des 12 plaques ELISA effectuées. Nous avons considéré tous sérum de volontaire positif lorsque sa DO était > à la moyenne des DO des contrôles négatifs plus 2 écart-types.

Tous échantillon dont la DO était inférieure ou égal à la moyenne des DO des contrôles négatifs plus 2 écart-types était considéré comme séronégatif.



Figure 7: Image d'une plaque d'ELISA

4.5. Variables mesurées

Variables sociodémographiques : âge, sexe, visite.

Variables cliniques : température corporelle (fièvre = $T > 37,5^{\circ}\text{C}$), accès palustre (Parasitémie > 2500 trophozoïtes/ mm^3 associée à la fièvre).

Variables biologiques : parasitémie, titre d'anticorps IgG.

4.6. Saisie et analyse statistiques

Les données ont été saisies sur Excel (version 10) et analysées avec le logiciel R version 4.0.2 (2020-06-22). Les tests de Chi carré et Fisher test ont été utilisés pour comparer les proportions. Le test de Kruskal-Wallis a été utilisé pour comparer les moyennes. Le seuil de significativité était fixé à $p < 0,05$.

4.7. Considérations éthiques

Le protocole a été soumis et approuvé par le comité d'éthique de la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie. L'étude qui a été conduite suivant les règles de bonnes pratiques cliniques et de laboratoires. La participation à l'étude a été volontaire. Le consentement éclairé d'un parent ou tuteur de chaque enfant a été demandé avant toute inclusion dans l'étude. Les participants étaient libres d'arrêter à tout moment leur participation à l'étude sans conséquence pour eux. Tous les enfants ont subi un examen physique et les cas de paludisme a été traités selon les recommandations du Programme National de Lutte contre le Paludisme.

RESULTATS

5. RESULTATS

Tableau I : Caractéristiques des participants à l'étude

Caractéristiques	Cas de paludisme	Non-cas de paludisme	Total
Age : médiane ± IQR	6±6	7,5±7	7±7
Sex-ratio (M/F)	0,95	1,29	1,16
Infection à jour 0 (n/N)	31,7% (13/41)	34,6% (27/78)	33,6% (40/119)
Effectif	41	78	119

Nous avons utilisé de manière rétrospective 119 échantillons de plasma cryoconservés provenant d'enfants âgés de 0 à 15 ans au cours de quatre visites actives. La médiane de L'âge était de 6±6 ans chez les enfants présentant le paludisme (n=41) contre 7.5±7 ans chez les non-cas (n=78) au début de l'étude. Le sex-ratio était de 0,95 chez les cas et 1,29 chez les non cas. Il est à noter que les non-cas comprenaient aussi des cas d'infections palustres mais qui étaient en deçà de la définition de cas selon l'étude. Au jour 0, 31,7 % des sujets chez les cas avaient une infection palustre selon la microscopie contre 34,6 % chez les non-cas.

Dans la figure ci-dessous (Figure8), le MIG (malaria-specific ImmunoGlobulin) représente le contrôle positif et les sérums provenant des Suédois représentent les contrôles négatifs. Le trait rouge en pointille représente est le seuil de séropositivité. A la visite 1 (Aout 2011) la moyenne du taux d'anticorps était en dessous du seuil, à la visite 2 (Octobre2011) la moyenne du taux d'anticorps était également en dessous du seuil mais supérieur à celle de la visite 1 ; à la visite 3 (Décembre 2011) la moyenne du taux d'anticorps était inférieure à celle des deux précédentes visites ; à la visite 4 (Juillet 2012) la moyenne du taux d'anticorps était au-dessus du seuil de l'infection. Nous pouvons dire que la magnitude de la réponse IgG spécifique de MSP-3 était plus élevée en début de la période de haute transmission (juillet) qu'au pic (aout-octobre) et en fin de saison (décembre).

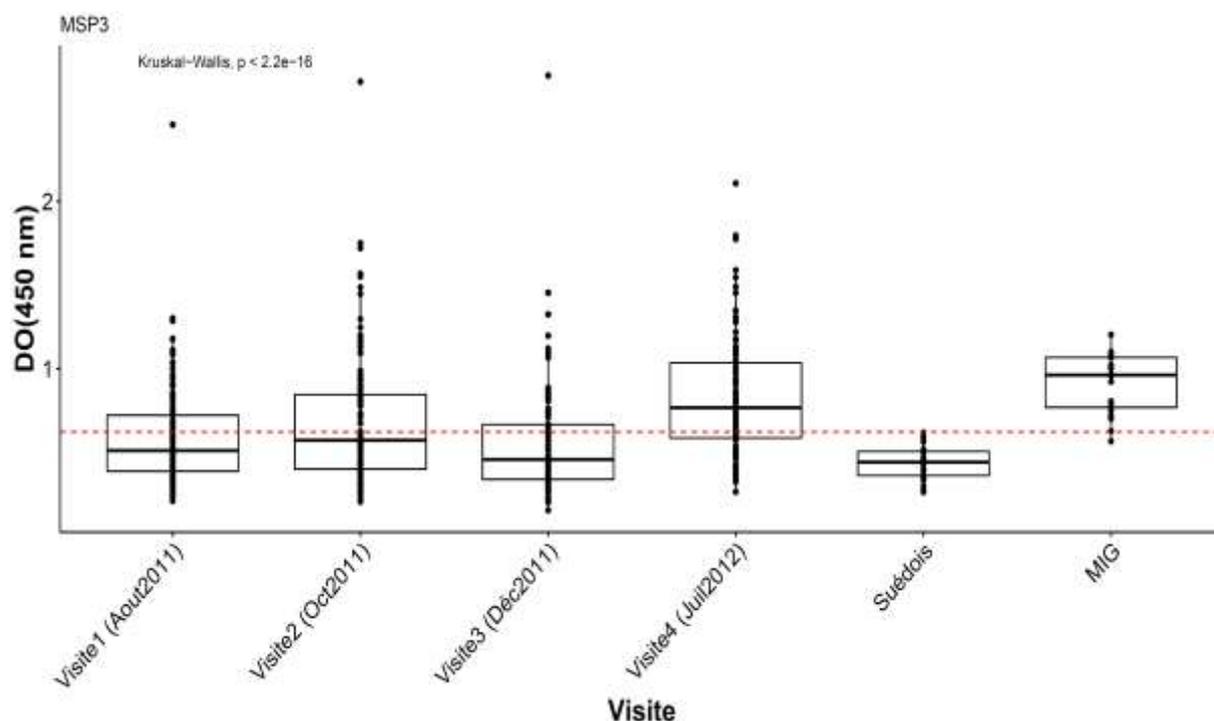


Figure 8: Réponses des IgG anti-MSP3 en fonction des saisons

Dans le diagramme ci-dessous (Figure 9) ; les diagrammes en bleu représentent les personnes séronégatives et les diagrammes rouge représentent les personnes séropositives. En visite 1, 2, 3 nous avons observé plus de personnes séronégatives que de séropositives. Cependant en visite 4 nous avons observé plus de personnes séropositives que de séronégatives. Nous pouvons dire que pour la totalité des échantillons testés au cours des quatre (04) visites ; la séroprévalence est plus élevée en pleine saison (en juillet 2012) que pendant tout le reste de la période de transmission.

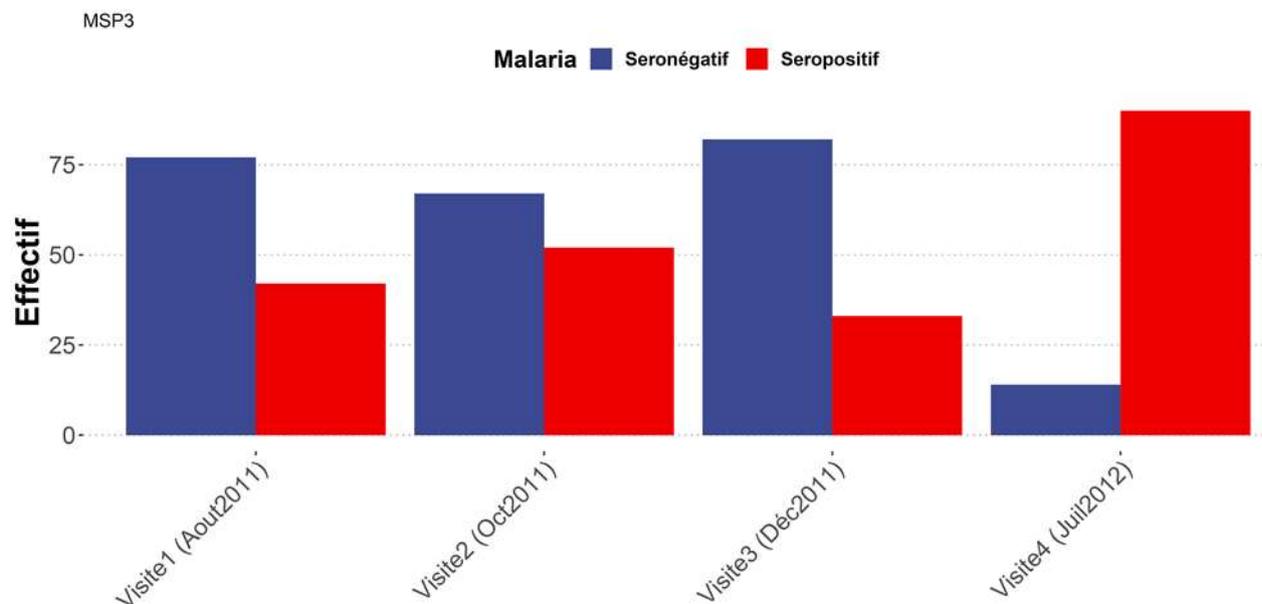


Figure 9: Variations temporelle de l'étendue de la réponse anticorps à anticorps

La figure 10 représente la magnitude des réponses sérologiques en fonction de l'âge et de la saison. Le trait rouge en pointille représente le seuil de séropositivité. En 2011 quel que soit les jours de visite, la différence des taux d'IgG anti-MSP-3 entre les catégories d'âge 0-5 ans, 6-10 ans et 11-15 ans étaient significative ($p < 0,05$). Les taux les plus élevés étaient observés chez les adolescents (11-15 ans) suivis des grands enfants (6-10 ans) comparé aux jeunes enfants de l'étude (0-5). Par contre en juillet 2012 qui correspond au début de la transmission du paludisme les taux d'IgG chez les trois groupes d'âge étaient comparables ($p = 0,12$).

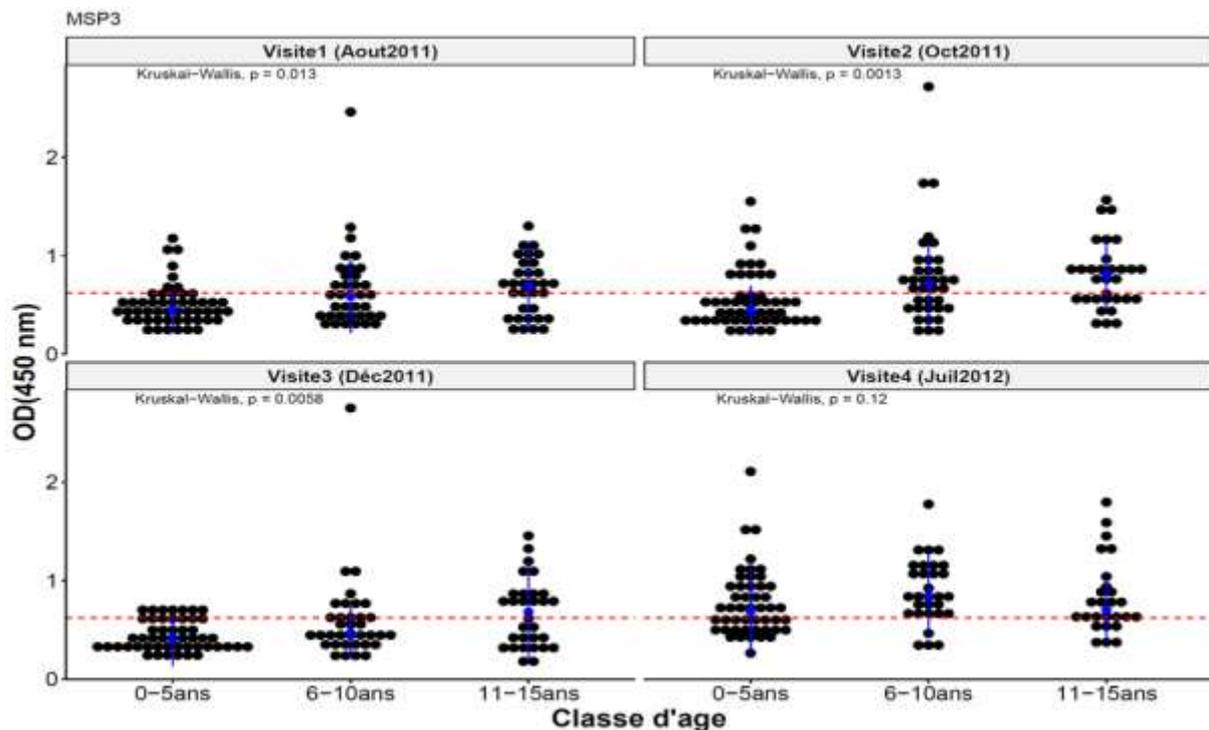


Figure 10: Comparaison des taux moyens d'IgG anti-MSP-3 selon les visites et le groupe d'âge

La figure 11 représente l'effectif des enfants impaludés et asymptomatiques. Les diagrammes en bleu représentent les enfants asymptomatiques et les diagrammes en rouge représentent les enfants impaludés.

Parmi les enfants de 0-5, 18 enfants étaient impaludés et 33 enfants au total 51 enfants. Les enfants de 6-10 ans avaient également 18 enfants impaludés et 18 enfants sains au total 36 enfants. Parmi les enfants de 11-15 ans, 5 enfants étaient impaludés et 27 enfants asymptomatiques au total 32 enfants. L'effectif total des enfants impaludés étaient 41 et 78 enfants asymptomatiques.

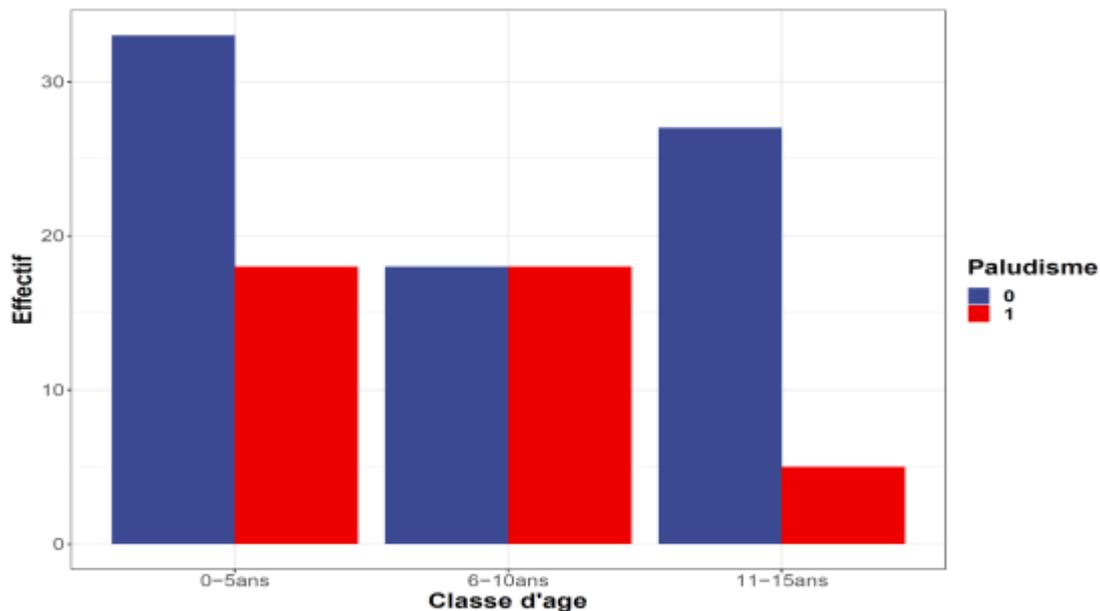


Figure 11: Distribution des cas de paludisme selon la tranche d'âge.

La courbe de survie montre qu'il n'y a pas de différence statistiquement significative entre les courbes de survie au paludisme des sujets selon l'intensité de la réponse IgG contre MSP-3 mesurée à la visite 1 (Aout 2011) ($p=0,11$). Sur les 39 enfants ayant un taux élevé d'IgG anti-MSP-3, il y a eu 7 cas de paludisme. Sur les 40 enfants qui avait un taux moyen d'IgG anti-MSP-3, il y avait 15 cas de paludisme et sur les 40 ayant un taux d'IgG faible il y a eu 11 cas de paludisme.

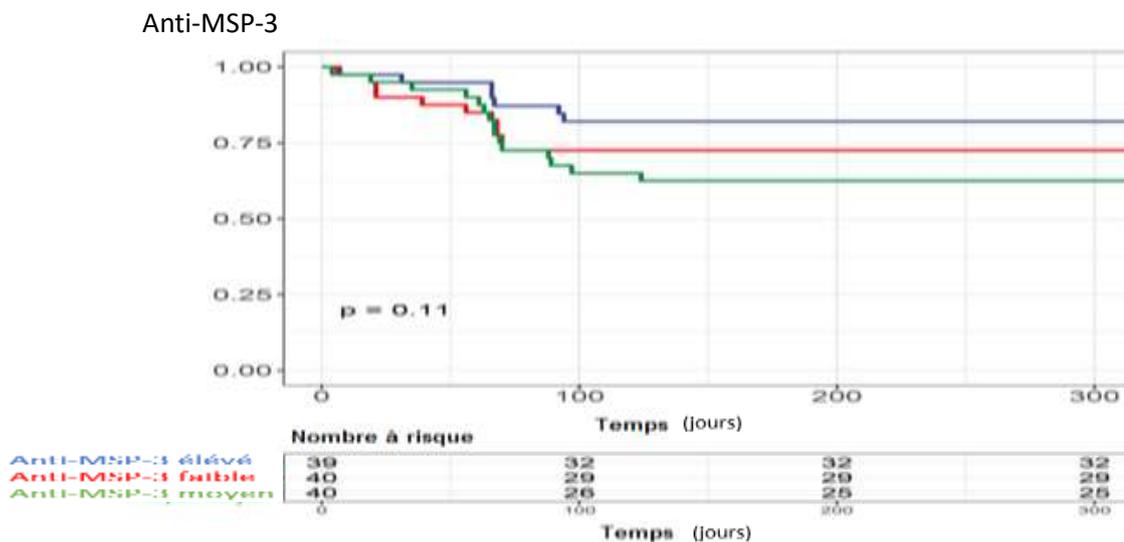


Figure 12: Courbe de survie du paludisme clinique en fonction du taux d'IgG anti-MSP-3

La figure 13 indique les taux médians d'IgG anti-MSP-3 qui étaient comparables entre les enfants ayant fait le paludisme et ceux asymptomatiques ($p > 0,05$) quel que soit le groupe d'âge et la période de visite. Zéro (0) indique les enfants sains et Un (1) les enfants malades du paludisme.

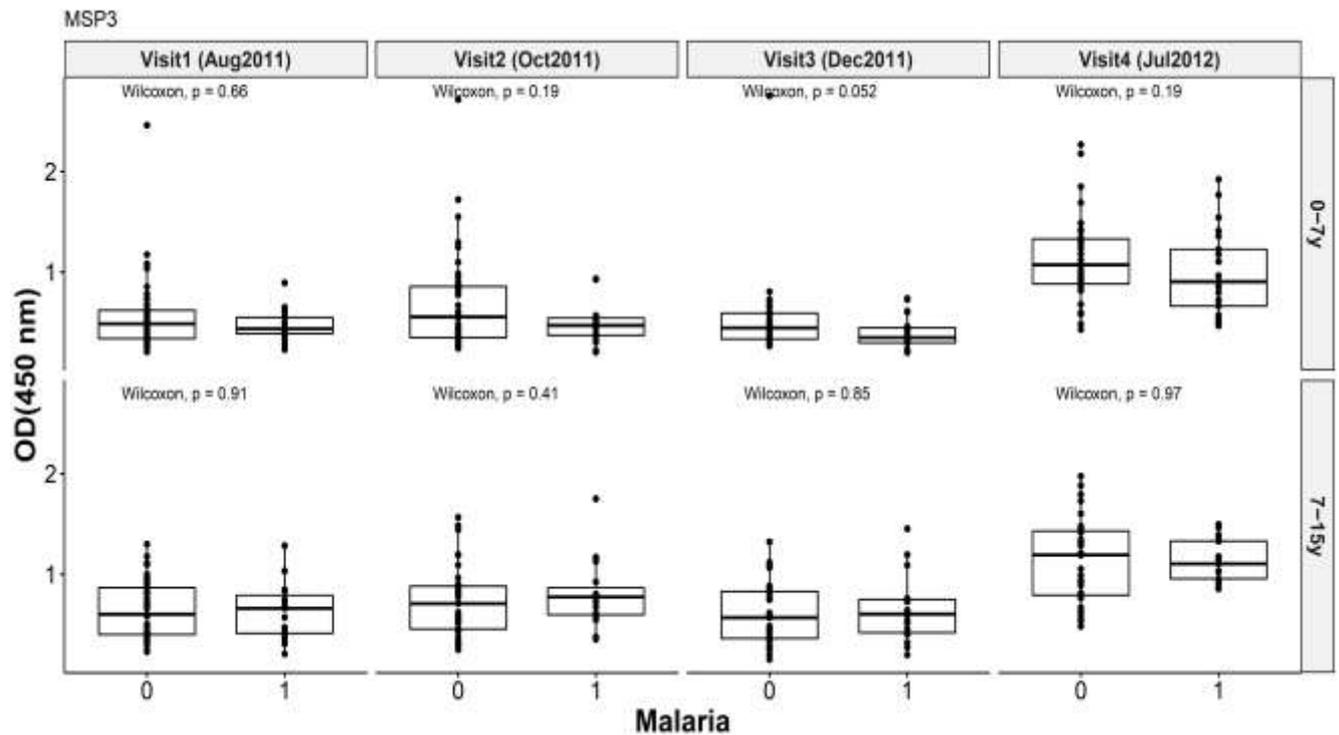


Figure 13: Comparaison des taux médians d'IgG anti-MSP-3 chez les enfants impaludés et asymptomatiques en fonction du groupe d'âge et de la saison.

DISCUSSION

6. Discussion

Nous avons effectué une étude de cohorte d'Aout 2011 à juillet 2012 pour comprendre la dynamique et l'impact de la réponse sérologique contre la protéine de surface du mérozoïte 3 (MSP-3) chez les enfants de 0-15 ans à Samako au Mali. Nous avons choisi le village de Samako parce qu'il est situé en zone d'hyper endémie. C'est donc un biotope qui se prête à une telle étude. Par ailleurs il aurait été utile de doser les sous classes d'IgG ce qui n'a pu s'effectuer pour des raisons de manque de ressources financières.

- **Les caractéristiques des participants selon l'âge**

Les participants à l'étude ayant fait au moins une infection palustre et ceux asymptomatiques présentaient des caractéristiques semblables notamment au niveau du portage de *P. falciparum* au début du suivi. Nous avons trouvé que l'âge moyen était de 6 ± 6 ans pour les cas d'accès palustres et $7,5 \pm 7$ pour les asymptomatiques. Ceci indique que les deux groupes d'enfants étaient comparables à l'inclusion. Cette situation permet d'observer un effet des anticorps anti-MSP-3 sur la protection contre le paludisme clinique en comparant la moyenne des taux d'IgG anti-MSP-3. Le sex-ratio était de 1,29 chez les asymptomatiques alors qu'il était de 0,95 chez les enfants ayant fait des accès palustres. Ceci n'est pas significatif car le sexe n'influence pas la capacité à produire les anticorps contre les antigènes. En effet aucune étude n'a à ce jour démontré que les taux d'anticorps contre MSP-3 sont influencés par le sexe. Au jour 0 nous avons eu 13 personnes qui présentaient des infections parmi les 41 porteurs symptomatiques tandis qu'il y avait 27 personnes infectées parmi les 78 porteurs symptomatiques donc il y avait plus d'enfants porteurs de parasites au jour 0 chez les asymptomatiques que ceux qui n'ont pas fait de paludisme clinique. Cette situation pourrait impacter notre analyse de la

réponse immunitaire. En effet la présence du parasite peut booster la réponse immunitaire et induire la production d'IgG.

Ce résultat concorde avec de nombreuses études réalisées en zone d'endémie qui montre que les enfants plus jeunes sont susceptibles au paludisme clinique que ceux plus âgés(5)(70) (71).En zone de transmission intense, les jeunes enfants payent le plus lourd tribut à la maladie, à partir de l'âge de 4 à 6 mois lorsque la protection maternelle transmise s'amenuise et jusqu'à 4 à 6 ans (72).

- **Réponses IgG totales contre l'antigène MSP-3 et leurs variations saisonnières.**

Le rôle des anticorps surtout les IgG dans la protection contre le paludisme a été bien établi à travers une multitude de travaux (73)(74)(75). Les taux d'IgG anti-MSP-3 variaient selon les visites (figure 8). Ces taux étaient plus élevés en Juillet 2012 qui correspond au début de la saison de transmission du paludisme. Ces taux étaient plus faibles en aout, octobre et décembre (fin de saison de transmission). Cette différence saisonnière de taux d'IgG anti-MSP-3 indique-t-elle une variation de la réponse aux différents antigènes de *P. falciparum* chez les enfants ? La réponse à cette question a été prise en charge dans le projet principal dans lequel cette étude était nichée. Des études en Papouasie nouvelle Guinée et au Kenya ont montré que la réactivité anticorps contre les antigènes de *P. falciparum* est faible chez les enfants comparés aux adultes et que la magnitude de la réponse anticorps contre plusieurs antigènes est plus protecteur contre le paludisme qu'une réponse anticorps contre un seul antigène(76)(77). Quand on compare les taux d'IgG anti-MSP-3 selon les périodes de visite et les groupes d'âge, il ressort que les moyennes d'IgG anti-MSP-3 étaient plus élevées chez les enfants de 11-15 ans que chez ceux de 6-10 ans et chez de 0-5 ans en Aout, Octobre et décembres en pleine

période de transmission du paludisme. Cependant en juillet début de transmission il n'y avait pas de différence statistiquement significative entre les groupes d'âge quant à la moyenne du taux d'IgG anti-MSP-3 (Figure 10).

Ce semble indiquer que pendant la période où le paludisme clinique est fréquent, les plus jeunes enfants sont vulnérables parce qu'ils ont moins d'IgG anti-MSP-3. Les taux anticorps selon les visites indiquent clairement une variation saisonnière âge dépendante.

- **Corrélation des réponses sérologiques contre MSP3 avec l'âge.**

Nous avons également mesuré la réponse des anticorps anti-MSP3 chez les enfants en fonction de la classe d'âge et nous avons trouvé que ces taux augmentaient significativement en fonction du groupe d'âge. Il est généralement démontré que la réponse IgG anti-MSP-3 est dépendant de l'âge en zone d'endémie ce qui corrobore nos résultats à Bamako. La tendance similaire à notre étude a été décrite chez les enfants au Burkina Faso par Cherif MK et al. en 2017(78). En général en zone d'endémie les taux d'anticorps contre multiples antigènes de *P. falciparum* sont plus élevés chez les adolescents que chez les plus jeunes enfants. En début de saison de transmission il n'y avait pas de différence entre les enfants quant à leurs taux d'IgG anti-MSP-3. Cependant les taux d'IgG étaient plus élevés chez les enfants quel que soit la classe d'âge en début de saison de transmission qu'en période de transmission intense. Ce résultat est comparable avec ceux décrits au Burkina Faso par Nebie et collaborateurs qui ont trouvé que les taux d'anticorps contre MSP-3 et plusieurs antigènes étaient plus élevés en période de faible transmission que pendant la forte transmission(79). Il a été suggéré qu'au-dessus d'un certain niveau de transmission, la décharge antigénique peut induire une perturbation de la réponse

humorale conduisant à des niveaux d'anticorps faibles, ce qui peut expliquer cette situation (80).

Comparaison des réponses des anticorps anti-MSP-3 entre enfants sains et malades du paludisme.

Nous avons évalué la prévalence du paludisme maladie en fonction de l'âge, nous avons eu une fréquence plus élevée chez les enfants de 0 à 5 ans comparativement à ceux les de 6 à 10 ans que ceux de 11 à 15 ans ; En plus la figure 10 montre que les IgG anti-MSP3 sont plus élevés chez les enfants de 11-15 ans comparé à ceux de 6-10 ans et chez de 0-5 ans indiquant que ces anticorps seraient protecteurs contre le paludisme. Plusieurs études sero-epidemiologiques en Afrique subsaharienne ont décrit que des niveaux élevés d'anticorps spécifiques aux parasites sont généralement associés à un faible risque de présenter les épisodes cliniques du paludisme à *P. falciparum* (78)(81)(36). Les IgG purifiées de sujets protégés sont efficaces dans l'inhibition cellulaire dépendante des anticorps (ADCI) et celles dirigées contre MSP-3 sont majoritairement cytophiles. En revanche, chez les individus non protégés, dont les anticorps ne sont pas efficaces dans l'inhibition cellulaire dépendante des anticorps (ADCI), les anticorps anti-MSP-3 sont majoritairement non cytophiles (55). Ce résultat est appuyé par une étude réalisée en 2013 en Côte d'Ivoire par Yao et al qui ont trouvé il semble que les anticorps maternels persistent jusqu'à 6 mois de vie pour la majeure partie des antigènes, laissant lentement place aux anticorps néo-synthétisés de l'enfant(82). Les réponses immunitaires acquises au paludisme ont été largement perçues comme de courte durée, les individus auparavant immunisés perdant leur immunité lorsqu'ils quittent les zones d'endémie palustre. Cependant, des réponses d'anticorps spécifiques à *Plasmodium falciparum* de longue durée pendant toute la vie d'un individu sont fréquemment observées dans les zones d'endémie

du paludisme. White et al ont décrit que les jeunes enfants sont moins capables de générer des cellules sécrétant des anticorps IgG (ASC) de longue durée de vie nécessaires pour maintenir les anticorps circulants qui peuvent fournir une protection contre la réinfection mais par contre les enfants plus âgés génèrent des cellules sécrétant des anticorps IgG (ASC) de longue durée de vie qui sont responsables de l'augmentation des titres d'anticorps après l'infection et maintenir une réponse humorale soutenue(83).

Une étude de Meraldi et collaborateur a montré que des taux d'IgG contre le peptide synthétique MSP-3₁₅₄₋₂₄₉ étaient plus élevés en début de saison de transmission et conféraient la protection contre le paludisme clinique (84).

- **MSP-3 comme candidat vaccin.**

MSP-3 est une protéine exprimée à la surface du mérozoïte et a été décrite comme jouant un rôle important dans l'invasion du globule rouge(85)(86). C'est plutôt une famille de molécules qui sont exprimées souvent simultanément à la surface du mérozoïte. MSP-3.1 est une protéine de 48 Kda décrite comme ayant une partie C-terminale conservée et induisant une réponse protectrice contre le paludisme faisant d'elle un bon candidat vaccin. En effet MSP-3 a ainsi fait l'objet de nombreuses études et surtout un développement clinique comme candidat vaccin antipaludique. Le peptide synthétique long de MSP-3 a été testé en phase I chez des enfants au Burkina Faso. Les résultats ont montré que ce candidat vaccin induit une forte réponse anticorps dominée par des IgG1 et IgG3 cytophiliques (87). Une analyse post essai a montré chez les enfants ayant reçu le MSP-3 une réduction des épisodes de paludisme comparé aux enfants qui avaient reçu le vaccin témoin (88). Ce candidat vaccin a par la suite fait l'objet de deux essais cliniques de phase II au Mali. Cependant les résultats n'ont pas encore

été publiés. Le développement clinique de MSP-3 comme candidat vaccin semble être arrêté à ce stade pour le moment en attendant la publication des résultats des phases 2. Il serait intéressant de combiner MSP-3 avec d'autres antigènes comme ceux dont les réponses IgG sont associées à la protection contre le paludisme car il a été démontré que la réponse protectrice contre le paludisme semble dépendre de l'exposition à plusieurs antigènes (54). La meilleure stratégie vaccinale contre le paludisme serait un vaccin à antigènes et variantes multiples comprenant MSP-3.

CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

7. CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

7.1. Conclusion

Au terme de cette étude de cohorte, nous pouvons conclure que la réponse anticorps IgG anti-MP-3 chez les enfants vivant à Samako est variable selon l'âge et la saison. La durée de cette réponse est relativement courte lorsque l'exposition aux piqûres infectantes du moustique devient moins fréquente. Les taux les plus élevés sont observés chez les grands enfants qui font moins d'accès cliniques et au début de la saison de transmission. Malgré ce constat, notre étude n'a pas permis de prédire l'association des anticorps contre la variante 3D7 de MSP3 que nous avons utilisée avec la protection contre les épisodes cliniques du paludisme. Il est donc important de considérer les aspects fonctionnels des anticorps et la diversité génétique du parasite et de l'hôte.

7.2. Recommandations

Au terme de cette étude et vu nos résultats, nous pouvons formuler les recommandations suivantes :

• Aux autorités sanitaires

- D'encourager la recherche vaccinale contre le paludisme au Mali ;
- De mettre à la disposition des chercheurs un financement conséquent de la recherche sur le paludisme.

• Aux chercheurs :

- De continuer cette étude avec une taille échantillon plus conséquente et dans d'autres localités au Mali dont les profils épidémiologiques sont différents.
- D'évaluer la réponse simultanée contre les antigènes de surface secrétés du mérozoïte et en considérant leurs variations de séquence selon une approche « omique ».
- Par ailleurs il aurait été utile de doser les sous classes d'IgG ce qui n'a pu s'effectuer pour des raisons de manque de ressources financières.
- Réaliser des tests fonctionnels avec les sérums d'enfants protégés contre le paludisme.

REFERENCE

8. Référence

1. WHO. World Malaria Report 2020. World Health Organization. World Health Organization. 2020.
2. Gardner MJ, Hall N, Fung E, White O, Berriman M, Hyman RW, et al. Genome sequence of the human malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *Nature*. 2002 Oct 3;419(6906):498–511.
3. Florens L, Washburn MP, Raine JD, Anthony RM, Grainger M, Haynes JD, et al. A proteomic view of the *Plasmodium falciparum* life cycle. *Nature*. 2002 Oct 3;419(6906):520–6.
4. Scherf A, Lopez-Rubio JJ, Riviere L. Antigenic variation in *Plasmodium falciparum*. *Annu Rev Microbiol*. 2008;62:445–70.
5. Langhorne J, Ndungu FM, Sponaas A-M, Marsh K. Immunity to malaria: more questions than answers. *Nat Immunol*. 2008 Jul;9(7):725–32.
6. Chauhan VS, Yazdani SS, Gaur D. Malaria vaccine development based on merozoite surface proteins of *Plasmodium falciparum*. *Hum Vaccin*. 2010 Sep 13;6(9).
7. Courtin D, Oesterholt M, Huismans H, Kusi K, Milet J, Badaut C, et al. The quantity and quality of African children's IgG responses to merozoite surface antigens reflect protection against *Plasmodium falciparum* malaria. *PLoS One*. 2009 Oct 27;4(10):e7590.
8. Oeuvray C, Bouharoun-Tayoun H, Gras-Masse H, Bottius E, Kaidoh T, Aikawa M, et al. Merozoite surface protein-3: a malaria protein inducing antibodies that promote *Plasmodium falciparum* killing by cooperation with blood monocytes. *Blood*. 1994 Sep 1;84(5):1594–602.
9. Gaur D, Mayer DCG, Miller LH. Parasite ligand-host receptor interactions during invasion of erythrocytes by *Plasmodium* merozoites. In: *International Journal for Parasitology*. 2004.

10. Burgess BR, Schuck P, Garboczi DN. Dissection of merozoite surface protein 3, a representative of a family of Plasmodium falciparum surface proteins, reveals an oligomeric and highly elongated molecule. *J Biol Chem*. 2005 Nov 4;280(44):37236–45.
11. Weedall GD, Conway DJ. Detecting signatures of balancing selection to identify targets of anti-parasite immunity. *Trends Parasitol*. 2010 Jul;26(7):363–9.
12. Rowa Y, Abuya TO, Mutemi WK, Ochola S, Molyneux S, Marsh V. Factors influencing implementation of the Ministry of Health-led private medicine retailer programmes on malaria in Kenya. *BMC Public Health*. 2010 Feb 24;10:93.
13. Feng M, Wang C, Zhang W, Zhang G, Xu H, Zhao Y, et al. Dataset of long term variation in species occurrence and abundance of tintinnid assemblages in Jiaozhou Bay, China. *Data Br*. 2018;
14. Diakité M. paludisme up to date 2nd edittion. 2nd ed. Bamako,Mali;
15. Lavazec C, Sanyal S, Templeton TJ. Expression switching in the stevor and PfmC-2TM superfamilies in Plasmodium falciparum. *Mol Microbiol*. 2007 Jun;64(6):1621–34.
16. Pasternak ND, Dzikowski R. PfEMP1: an antigen that plays a key role in the pathogenicity and immune evasion of the malaria parasite Plasmodium falciparum. *Int J Biochem Cell Biol*. 2009 Jul;41(7):1463–6.
17. Huber W, Felger I, Matile H, Lipps HJ, Steiger S, Beck HP. Limited sequence polymorphism in the Plasmodium falciparum merozoite surface protein 3. *Mol Biochem Parasitol*. 1997 Aug;87(2):231–4.
18. Porositoses et mycoses. 2010;979(2):294–70880.
19. Prise en charge et prevention du paludisme d'importation a Plasmodium falciparum : recommandations pour la pratique clinique 2007 (Revisions de la Conference de consensus 1999). Texte long.

- Réanimation. 2008;
20. Chen Q, Schlichtherle M, Wahlgren M. Molecular aspects of severe malaria. *Clin Microbiol Rev.* 2000 Jul;13(3):439–50.
 21. Delaunay P, Estran-Pomares C, Marty P. [Malaria diagnosis: thickdrop and bloodsmear examination, and rapid test]. *Med Mal Infect.* 2008 Jun;38 Suppl 2:S121-3.
 22. Makler MT, Palmer CJ, Ager AL. A review of practical techniques for the diagnosis of malaria. *Ann Trop Med Parasitol.* 1998 Jun;92(4):419–33.
 23. De Gentile L, Geneviève F. Le paludisme d'importation : Diagnostic au laboratoire. *Rev Fr des Lab.* 2000;
 24. Dorsey G, Gandhi M, Oyugi JH, Rosenthal PJ. Difficulties in the prevention, diagnosis, and treatment of imported malaria. *Arch Intern Med.* 2000 Sep 11;160(16):2505–10.
 25. Colin L, Mallié M, Bastide JM. Diagnostic rapide du paludisme par la recherche d'antigènes circulants. *Rev Fr des Lab.* 2000;
 26. Minodier P. Dépistage du paludisme: Tests rapides. *J Pediatr Pueric.* 2005;
 27. Hance P, Garnotel E, De Pina JJ, Vedy S, Ragot C, Chadli M, et al. Tests immunochromatographiques rapides de détection du paludisme, principes et stratégies d'utilisation. *Médecine Trop.* 2005;
 28. Grobusch MP, Hänscheid T, Zoller T, Jelinek T, Burchard GD. Rapid immunochromatographic malarial antigen detection unreliable for detecting *Plasmodium malariae* and *Plasmodium ovale*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2002 Nov;21(11):818–20.
 29. Hänscheid T, Grobusch MP. How useful is PCR in the diagnosis of malaria? *Trends Parasitol.* 2002 Sep;18(9):395–8.
 30. de Monbrison F, A/ngei C, Staal A, Kaiser K, Picot S. Simultaneous

- identification of the four human Plasmodium species and quantification of Plasmodium DNA load in human blood by real-time polymerase chain reaction. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2003;97(4):387–90.
31. Kimura M, Kaneko O, Liu Q, Zhou M, Fumihiko K, Wataya Y, et al. Identification of the four species of human malaria parasites by nested PCR that targets variant sequences in the small subunit rRNA gene. *Parasitol Int.* 1997;
 32. SERGENT E. [Latent infection and premunition. Some microbiological and immunological definitions]. *Arch l'Institut Pasteur d'Algerie Inst Pasteur d'Algerie.* 1962 Mar;40:6–15.
 33. SERGENT E. [Definition of immunity and premunition]. *Arch l'Institut Pasteur d'Algerie Inst Pasteur d'Algerie.* 1950;28(4):429–40.
 34. Druilhe P, Bouharoun-Tayoun H. Natural immunities. *Res Immunol.* 1991 Oct;142(8):637–43.
 35. COHEN S, MCGREGOR IA, CARRINGTON S. Gamma-globulin and acquired immunity to human malaria. *Nature.* 1961 Nov 25;192:733–7.
 36. Sabchareon A, Burnouf T, Ouattara D, Attanath P, Bouharoun-Tayoun H, Chantavanich P, et al. Parasitologic and clinical human response to immunoglobulin administration in falciparum malaria. *Am J Trop Med Hyg.* 1991 Sep;45(3):297–308.
 37. Khusmith S, Druilhe P. Cooperation between antibodies and monocytes that inhibit in vitro proliferation of Plasmodium falciparum. *Infect Immun.* 1983 Jul;41(1):219–23.
 38. Lunel F, Druilhe P. Effector cells involved in nonspecific and antibody-dependent mechanisms directed against Plasmodium

- falciparum blood stages in vitro. *Infect Immun.* 1989 Jul;57(7):2043–9.
39. Bouharoun-Tayoun H, Attanath P, Sabchareon A, Chongsuphajaisiddhi T, Druilhe P. Antibodies that protect humans against *Plasmodium falciparum* blood stages do not on their own inhibit parasite growth and invasion in vitro, but act in cooperation with monocytes. *J Exp Med.* 1990 Dec 1;172(6):1633–41.
 40. Marsh K, Kinyanjui S. Immune effector mechanisms in malaria. *Parasite Immunol.* 2006;28(1–2):51–60.
 41. Gupta S, Snow RW, Donnelly CA, Marsh K, Newbold C. Immunity to non-cerebral severe malaria is acquired after one or two infections. *Nat Med.* 1999 Mar;5(3):340–3.
 42. Coban C, Ishii KJ, Horii T, Akira S. Manipulation of host innate immune responses by the malaria parasite. *Trends in Microbiology.* 2007.
 43. McCall MBB, Netea MG, Hermsen CC, Jansen T, Jacobs L, Golenbock D, et al. *Plasmodium falciparum* infection causes proinflammatory priming of human TLR responses. *J Immunol.* 2007 Jul 1;179(1):162–71.
 44. Audran R, Cachat M, Lurati F, Soe S, Leroy O, Corradin G, et al. Phase I malaria vaccine trial with a long synthetic peptide derived from the merozoite surface protein 3 antigen. *Infect Immun.* 2005 Dec;73(12):8017–26.
 45. Pierce SK. *Immunol Res.* 2009;43(1–3):85–97. Understanding B cell activation: from single molecule tracking, through Tolls, to stalking memory in malaria.
 46. Ballou WR, Arevalo-Herrera M, Carucci D, Richie TL, Corradin G, Diggs C, et al. Update on the clinical development of candidate malaria vaccines. In: *American Journal of Tropical Medicine and*

- Hygiene. 2004.
47. Gosling R, von Seidlein L. The Future of the RTS,S/AS01 Malaria Vaccine: An Alternative Development Plan. *PLoS Med.* 2016 Apr;13(4):e1001994.
 48. Thera MA, Coulibaly D, Kone AK, Guindo AB, Traore K, Sall AH, et al. Phase 1 randomized controlled trial to evaluate the safety and immunogenicity of recombinant *Pichia pastoris*-expressed *Plasmodium falciparum* apical membrane antigen 1 (PfAMA1-FVO [25-545]) in healthy Malian adults in Bandiagara. *Malar J.* 2016;15(1):442.
 49. Thera MA, Doumbo OK, Coulibaly D, Diallo DA, Kone AK, Guindo AB, et al. Safety and immunogenicity of an AMA-1 malaria vaccine in Malian adults: results of a phase 1 randomized controlled trial. *PLoS One.* 2008 Jan 23;3(1):e1465.
 50. Sagara I, Healy SA, Assadou MH, Gabriel EE, Kone M, Sissoko K, et al. Safety and immunogenicity of Pfs25H-EPA/Alhydrogel, a transmission-blocking vaccine against *Plasmodium falciparum*: a randomised, double-blind, comparator-controlled, dose-escalation study in healthy Malian adults. *Lancet Infect Dis.* 2018;18(9):969–82.
 51. Sagara I, Ellis RD, Dicko A, Niambele MB, Kamate B, Guindo O, et al. A randomized and controlled Phase 1 study of the safety and immunogenicity of the AMA1-C1/Alhydrogel + CPG 7909 vaccine for *Plasmodium falciparum* malaria in semi-immune Malian adults. *Vaccine.* 2009 Dec 9;27(52):7292–8.
 52. Sagara I, Dicko A, Ellis RD, Fay MP, Diawara SI, Assadou MH, et al. A randomized controlled phase 2 trial of the blood stage AMA1-C1/Alhydrogel malaria vaccine in children in Mali. *Vaccine.* 2009 May 18;27(23):3090–8.

53. Delves MJ, Angrisano F, Blagborough AM. Antimalarial Transmission-Blocking Interventions: Past, Present, and Future. *Trends Parasitol.* 2018;34(9):735–46.
54. Thera MA, Plowe C V. Vaccines for Malaria: How Close Are We? *Annu Rev Med* [Internet]. 2012 Feb 18;63(1):345–57. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22077719/>
55. Oeuvray C, Bouharoun-Tayoun H, Gras-Masse H, Bottius E, Kaidoh T, Aikawa M, et al. Merozoite surface protein-3: a malaria protein inducing antibodies that promote *Plasmodium falciparum* killing by cooperation with blood monocytes. *Blood.* 1994 Sep 1;84(5):1594–602.
56. Francis SE, Sullivan DJ, Goldberg DE. Hemoglobin metabolism in the malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *Annu Rev Microbiol.* 1997;51:97–123.
57. Sirima SB, Nébié I, Ouédraogo A, Tiono AB, Konaté AT, Gansané A, et al. Safety and immunogenicity of the *Plasmodium falciparum* merozoite surface protein-3 long synthetic peptide (MSP3-LSP) malaria vaccine in healthy, semi-immune adult males in Burkina Faso, West Africa. *Vaccine.* 2007 Mar 30;25(14):2723–32.
58. Huy NT, Serada S, Trang DTX, Takano R, Kondo Y, Kanaori K, et al. Neutralization of toxic heme by *Plasmodium falciparum* histidine-rich protein 2. *J Biochem.* 2003 May;133(5):693–8.
59. Schneider EL, Marletta MA. Heme binding to the histidine-rich protein II from *Plasmodium falciparum*. *Biochemistry.* 2005 Jan 25;44(3):979–86.
60. Pagola S, Stephens PW, Bohle DS, Kosar AD, Madsen SK. The structure of malaria pigment beta-haematin. *Nature.* 2000 Mar 16;404(6775):307–10.
61. Balla J, Vercellotti GM, Jeney V, Yachie A, Varga Z, Eaton JW, et

- al. Heme, heme oxygenase and ferritin in vascular endothelial cell injury. *Mol Nutr Food Res*. 2005 Nov;49(11):1030–43.
62. Spycher C, Klonis N, Spielmann T, Kump E, Steiger S, Tilley L, et al. MAHRP-1, a novel *Plasmodium falciparum* histidine-rich protein, binds ferriprotoporphyrin IX and localizes to the Maurer's clefts. *J Biol Chem*. 2003 Sep 12;278(37):35373–83.
63. McColl DJ, Silva A, Foley M, Kun JFJ, Favaloro JM, Thompson JK, et al. Molecular variation in a novel polymorphic antigen associated with *Plasmodium falciparum* merozoites. *Mol Biochem Parasitol*. 1994 Nov;68(1):53–67.
64. Campanale N, Nickel C, Daubenberger CA, Wehlan DA, Gorman JJ, Klonis N, et al. Identification and characterization of heme-interacting proteins in the malaria parasite, *Plasmodium falciparum*. *J Biol Chem*. 2003 Jul 25;278(30):27354–61.
65. Choi CYH, Cerda JF, Chu HA, Babcock GT, Marletta MA. Spectroscopic characterization of the heme-binding sites in *Plasmodium falciparum* histidine-rich protein 2. *Biochemistry*. 1999 Dec 21;38(51):16916–24.
66. Boyle MJ, Reiling L, Feng G, Langer C, Osier FH, Aspeling-Jones H, et al. Human antibodies fix complement to inhibit *Plasmodium falciparum* invasion of erythrocytes and are associated with protection against malaria. *Immunity*. 2015 Mar 17;42(3):580–90.
67. Singh S, Soe S, Weisman S, Barnwell JW, Pérignon JL, Druilhe P. A conserved multi-gene family induces cross-reactive antibodies effective in defense against *Plasmodium falciparum*. *PLoS One*. 2009;4(4):e5410.
68. Mills KE, Pearce JA, Crabb BS, Cowman AF. Truncation of merozoite surface protein 3 disrupts its trafficking and that of acidic-basic repeat protein to the surface of *Plasmodium falciparum*

- merozoites. *Mol Microbiol.* 2002 Mar;43(6):1401–11.
69. Imam M, Singh S, Kaushik NK, Chauhan VS. Plasmodium falciparum Merozoite Surface Protein 3. *J Biol Chem.* 2014;
70. Osier FHA, Fegan G, Polley SD, Murungi L, Verra F, Tetteh KKA, et al. Breadth and magnitude of antibody responses to multiple Plasmodium falciparum merozoite antigens are associated with protection from clinical malaria. *Infect Immun* [Internet]. 2008 May;76(5):2240–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18316390>
71. Riley EM, Allen SJ, Wheeler JG, Blackman MJ, Bennett S, Takacs B, et al. Naturally acquired cellular and humoral immune responses to the major merozoite surface antigen (PfMSP1) of Plasmodium falciparum are associated with reduced malaria morbidity. *Parasite Immunol.* 1992 May;14(3):321–37.
72. UMVF. Paludisme. 2014.
73. Osier FHA, Feng G, Boyle MJ, Langer C, Zhou J, Richards JS, et al. Opsonic phagocytosis of Plasmodium falciparum merozoites: mechanism in human immunity and a correlate of protection against malaria. *BMC Med* [Internet]. 2014 Jul 1;12:108. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24980799>
74. Drakeley CJ, Eling W, Teelen K, Bousema JT, Sauerwein R, Greenwood BM, et al. Parasite infectivity and immunity to Plasmodium falciparum gametocytes in Gambian children. *Parasite Immunol.* 2004;
75. Nebie I, Diarra A, Ouedraogo A, Soulama I, Bougouma EC, Tiono AB, et al. Humoral responses to Plasmodium falciparum blood-stage antigens and association with incidence of clinical malaria in children living in an area of seasonal malaria transmission in Burkina Faso, West Africa. *Infect Immun.* 2008;

76. Dent AE, Nakajima R, Liang L, Baum E, Moormann AM, Sumba PO, et al. Plasmodium falciparum Protein Microarray Antibody Profiles Correlate With Protection From Symptomatic Malaria in Kenya. *J Infect Dis* [Internet]. 2015 Nov 1;212(9):1429–38. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25883384>
77. Fowkes FJI, Boeuf P, Beeson JG. Immunity to malaria in an era of declining malaria transmission. *Parasitology*. 2016 Feb 7;143(2):139–53.
78. Cherif MK, Ouédraogo O, Sanou GS, Diarra A, Ouédraogo A, Tiono A, et al. Antibody responses to *P. falciparum* blood stage antigens and incidence of clinical malaria in children living in endemic area in Burkina Faso. *BMC Res Notes* [Internet]. 2017 Sep 8;10(1):472. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28886727>
79. Nebie I, Diarra A, Ouedraogo A, Soulama I, Bougouma EC, Tiono AB, et al. Humoral responses to Plasmodium falciparum blood-stage antigens and association with incidence of clinical malaria in children living in an area of seasonal malaria transmission in Burkina Faso, West Africa. *Infect Immun*. 2008 Feb;76(2):759–66.
80. Oeuvray C, Theisen M, Rogier C, Trape JF, Jepsen S, Druilhe P. Cytophilic immunoglobulin responses to Plasmodium falciparum glutamate-rich protein are correlated with protection against clinical malaria in Dielmo, Senegal. *Infect Immun*. 2000 May;68(5):2617–20.
81. Richards JS, Arumugam TU, Reiling L, Healer J, Hodder AN, Fowkes FJI, et al. Identification and prioritization of merozoite antigens as targets of protective human immunity to Plasmodium falciparum malaria for vaccine and biomarker development. *J Immunol*. 2013 Jul 15;191(2):795–809.

82. Stéphane YS. Reponses Des Anticorps Anti-Plasmodiaux Dirigees Contre Un Panel D'Antigenes Et Leur Effet a L'Issue Du Traitement Contre Le Paludisme Simple En. 2018;
83. White MT, Griffin JT, Akpogheneta O, Conway DJ, Koram KA, Riley EM, et al. Dynamics of the antibody response to Plasmodium falciparum infection in African children. *J Infect Dis.* 2014 Oct 1;210(7):1115–22.
84. Meraldi V, Nebié I, Tiono AB, Diallo D, Sanogo E, Theisen M, et al. Natural antibody response to Plasmodium falciparum Exp-1, MSP-3 and GLURP long synthetic peptides and association with protection. *Parasite Immunol.* 2004;26(6–7):265–72.
85. Oeuvray C, Bouharoun-Tayoun H, Grass-Masse H, Lepers JP, Ralamboranto L, Tartar A, et al. A novel merozoite surface antigen of Plasmodium falciparum (MSP-3) identified by cellular-antibody cooperative mechanism antigenicity and biological activity of antibodies. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1994;89 Suppl 2:77–80.
86. Yahata K, Treeck M, Culleton R, Gilberger TW, Kaneko O. Time-Lapse Imaging of Red Blood Cell Invasion by the Rodent Malaria Parasite Plasmodium yoelii. *PLoS One.* 2012;
87. Sirima SB, Tiono AB, Ouédraogo A, Diarra A, Ouédraogo AL, Yaro JB, et al. Safety and immunogenicity of the malaria vaccine candidate MSP3 long synthetic peptide in 12-24 months-old Burkinabe children. *PLoS One.* 2009 Oct 26;4(10):e7549.
88. Sirima SB, Cousens S, Druilhe P. Protection against Malaria by MSP3 Candidate Vaccine. *N Engl J Med.* 2011;365(11):1062–4.

ANNEXES

ANNEXES

FICHE SIGNALÉTIQUE

PRÉNOM : Oumou

NOM : SISSOKO

TITRE DE THÈSE : Dynamique et impact de la réponse sérologique à l'antigène Mérozoïte Surface Protein-3 (MSP-3) de *Plasmodium falciparum* chez les enfants à Samako, Mali

ANNÉE UNIVERSITAIRE : 2020-2021

VILLE DE SOUTENANCE : Bamako

NATIONALITÉ : Malienne

LIEU DE DÉPÔT : Bibliothèque de la Faculté de Médecine et d'odontostomatologie (FMOS) et de la faculté de pharmacie (FAPH)

SECTEUR D'INTÉRÊT : Immunologie, Paludisme.

Résumé

Le développement d'un vaccin antipaludique efficace est toujours un défi majeur. Les protéines à la surface du mérozoïte sont considérées comme de potentiels candidats vaccins antipaludiques. Certains antigènes de la famille des *merozoïte surface proteins* (MSPs) tels que MSP3, MSP1, et MSP2, font l'objet de plusieurs études et même d'essais cliniques. Les enfants constituant l'une des couches les plus affectées par le paludisme, il est important d'analyser leurs réponses immunitaires naturelle contre ces antigènes. C'est pourquoi nous avons mené cette étude dans le but d'analyser la dynamique des IgG totales contre MSP-3 et leur association avec la protection contre le paludisme dans une population d'enfants au Mali.

Il s'agissait d'une L'étude de cohorte conduite d'aout 2011 à décembre 2012 à Samako chez les sujets âgés de 0 à 15 ans. Au total nous avons analysées les échantillons de 4 visites actives qui couvraient la période de haute transmission du paludisme dans la zone. Nous avons utilisé la méthode ELISA indirect de trois (3) jours pour doser les IgG anti-MSP-3. A l'issue de cette étude, il ressort que la réponse IgG dirigé contre MSP-3 augmente avec l'âge et varie en fonction des saisons. Cette réponse n'avait pas de corrélation positive significative avec la protection contre le paludisme clinique. Ce qui serait dû à la taille relativement faible de notre échantillon.

Mots Clés : Paludisme, *Plasmodium falciparum*, IgG, MSP-3, Mali.

Abstract

The induction of an effective malaria vaccine is still a major challenge. Proteins on the surface of the merozoite are actively studied for vaccine development. Some of these proteins belonging to the merozoite surface protein (MSPs) family, such as MSP-3, MSP-1, and MSP-2, have been already tested in clinical trials. Since children are mainly affected by malaria, it is important to analyze their immune responses against malaria in the context of natural infection. Here we leveraged a cohort study conducted in Samako, Mali from August 2011 to July 2012, to evaluate the kinetics of total IgG titer against MSP-3 and tested its association with protection from clinical episodes of malaria in children aged between 0 and 15 years. We utilized clinical data and plasma samples from 4 active visits throughout the high transmission season of malaria in the area. We performed 3-day enzyme-linked immunosorbent assay to measure anti-MSP-3 IgG titers. Our findings show that anti-MSP3 IgG increases with age and varies throughout the seasons. However, we did not observe a statistical association of anti-MSP3 antibodies with protection from clinical malaria, more likely due to limited sample size.

Keywords: Malaria, *Plasmodium falciparum*, IgG, MSP-3, Mali.

SERMENT DE GALIEN

Je jure en présence des maîtres de la faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ;

En aucun cas, je ne consentirais à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels ;

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses !

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

Je le jure !