

Ministère de l'Education Nationale

République du Mali

Un Peuple – Un But – Une Foi

UNIVERSITE DU MALI

**FACULTE DE MEDECINE DE PHARMACIE ET
D'ODONTO-STOMATOLOGIE**

Année Universitaire 2001 - 2002

Thèse N° /...../

**Facteurs immunitaires et parasitaires impliqués
dans la Susceptibilité au paludisme dans deux groupes ethniques vivant en
sympatrie au Mali**

**Présentée et soutenue publiquement le 06 juillet 2002 devant la Faculté de Médecine de
Pharmacie et d'Odontostomatologie du Mali**

Par Mr Charles ARAMA

Pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie (DIPLOME D'ETAT)

EXAMINATEURS

Président : *Professeur Dapa A DIALLO*

Membres : *Professeur Anatole TOUNKARA*

Docteur Abdoulaye DJIMDE

Codirecteur : *Docteur Amagana DOLO*

Directeur : *Professeur Ogobara K DOUMBO*

Ce travail a bénéficié de l'appui financier du MRTC / DEAP.

**FACULTE DE MEDECINE, DE PHARMACIE ET D'ODONTO-
STOMATOLOGIE
ANNEE UNIVERSITAIRE 2001 - 2002**

ADMINISTRATION

DOYEN : MOUSSA TRAORE - PROFESSEUR

1^{ER} ASSESSEUR : MASSA SANOGO - MAITRE DE CONFERENCES

2^{EME} ASSESSEUR : GANGALY DIALLO - MAITRE DE CONFERENCES AGREGE

SECRETAIRE PRINCIPAL : YENIMEGUE ALBERT DEMBELE - MAITRE DE CONFERENCES AGREGE

AGENT COMPTABLE : YEHIHA HIMINE MAIGA - CONTROLEUR DE TRESOR

LES PROFESSEURS HONORAIRES

Mr Alou BA

Mr Bocar SALL

Secourisme

Mr Souleymane SANGARE

Mr Yaya FOFANA

Mr Mamadou L. TRAORE

Mr Balla COULIBALY

Mr Mamadou DEMBELE

Mr Mamadou KOUMARE

Mr Mohamed TOURE

Mr Ali Nouhoum DIALLO

Mr Aly GUINDO

Ophtalmologie

Orthopédie - Traumatologie

Pneumo-phtisiologie

Hématologie

Chirurgie Générale

Pédiatrie

Chirurgie Générale

Pharmacognosie

Pédiatrie

Médecine interne

Gastro-Entérologie

LISTE DU PERSONNEL ENSEIGNANT PAR D.E.R. & PAR GRADE

D.E.R. CHIRURGIE ET SPECIALITES CHIRURGICALES

1. PROFESSEURS

Mr Abdel Karim KOUMARE

Mr Sambou SOUMARE

Mr Abdou Alassane TOURE

Chef de D.E.R.

Mr Kalilou OUATTARA

Chirurgie Générale

Chirurgie Générale

Orthopédie - Traumatologie,

Urologie

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Amadou DOLO	Gynéco-Obstétrique
Mr Djibril SANGARE	Chirurgie Générale
Mr Abdel Kader TRAORE Dit DIOP	Chirurgie Générale
Mr Alhousseyni Ag MOHAMED	O.R.L.
Mr Abdoulaye DIALLO	Anesthésie - Réanimation
Mr Gangaly DIALLO	Chirurgie Viscérale

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mme SY Aïssata SOW	Gynéco-Obstétrique
Mr Salif DIAKITE	Gynéco-Obstétrique

4. MAITRES ASSISTANTS

Mme DIALLO Fatimata S. DIABATE	Gynéco-Obstétrique
Mr. Mamadou TRAORE	Gynéco-Obstétrique
Mr Sadio YENA	Chirurgie Générale
Mr Filifing SISSOKO	Chirurgie Générale

5. ASSISTANTS CHEF DE CLINIQUE

Mr Abdoulaye DIALLO	Ophtalmologie
Mr Mamadou L. DIOMBANA	Stomatologie
Mr Sékou SIDIBE	Orthopédie. Traumatologie
Mr Abdoulaye DIALLO	Anesthésie - Réanimation
Mr Tiéman COULIBALY	Orthopédie Traumatologie
Mme TRAORE J. THOMAS	Ophtalmologie
Mr Nouhoum ONGOIBA	Anatomie & Chirurgie Générale
Mr Zanafon OUATTARA	Urologie
Mr Zimogo Zié SANOGO	Chirurgie Générale
Mr Adama SANGARE	Orthopédie -
Traumatologie	
Mr Youssouf COULIBALY	Anesthésie - Réanimation
Mr Samba Karim TIMBO	ORL
Mme TOGOLA Fanta KONIPO	ORL
Mr Sanoussi BAMANI	Ophtalmologie
Mr Doulaye SACKO	Ophtalmologie
Mr Issa DIARRA	Gynéco-obstétrique
Mr Ibrahim ALWATA	Orthopédie -
Traumatologie	

D.E.R. DE SCIENCES FONDAMENTALES

1. PROFESSEURS

Mr Daouda DIALLO	Chimie Générale &
Minérale	
Mr Bréhima KOUMARE	Bactériologie-Virologie
Mr Siné BAYO	Anatomie-Pathologie-
Histoembryologie	
Mr Gaoussou KANOUTE	Chimie analytique
Mr Yéya T. TOURE	Biologie
Mr Amadou DIALLO	Biologie
Mr Moussa HARAMA	Chimie Organique
Mr Ogobara DOUMBO	Parasitologie – Mycologie
Chef de D.E.R.	

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Yénimégué Albert DEMBELE	Chimie Organique
Mr Anatole TOUNKARA	Immunologie
Mr Amadou TOURE	Histoembryologie
Mr. Flabou Bougoudogo	Bactériologie-Virologie

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Bakary M. CISSE	Biochimie
Mr Abdrahamane S. MAIGA	Parasitologie
Mr Adama DIARRA	Physiologie
Mr Mamadou KONE	Physiologie
Mr.Massa SANOGO	Chimie Analytique

4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Mahamadou CISSE	Biologie
Mr Sékou F.M. TRAORE	Entomologie médicale
Mr Abdoulaye DABO	Malacologie, Biologie
Animale	
Mr Abdrahamane TOUNKARA	Biochimie
Mr Ibrahim I. MAIGA	Bactériologie - Virologie
Mr Benoît KOUMARE	Chimie Analytique
Mr Moussa Issa DIARRA	Biophysique
Mr Amagana DOLO	Parasitologie
Mr Kaourou DOUCOURE	Biologie

5. ASSISTANTS

Mr Mounirou BABY
Mr Mahamadou A. THERA

Hématologie
Parasitologie

D.E.R. DE MEDECINE ET SPECIALITES MEDICALES

1. PROFESSEURS

Mr Abdoulaye Ag RHALY
Mr Mamadou K. TOURE
Mr Mahamane MAIGA
Mr Baba KOUMARE
Mr Moussa TRAORE
Mr Issa TRAORE
Mr Mamadou M. KEITA
Mr Hamar A. TRAORE
Mr Dapa Aly DIALLO

Médecine Interne
Cardiologie
Néphrologie
Psychiatrie, Chef de DER
Neurologie
Radiologie
Pédiatrie
Médecine Interne
Hématologie

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Toumani SIDIBE
Mr Bah KEITA
Mr Boubacar DIALLO
Mr Somita KEITA
Mr Moussa Y. MAIGA
Mr Abdel Kader TRAORE

Pédiatrie
Pneumo-Phtisiologie
Cardiologie
Dermato-Leprologie
Gastro-entérologie
Médecine Interne

3. MAITRES ASSISTANTS

Mr Mamadou DEMBELE
Mr Mamady KANE
Mme Tatiana KEITA
Mr Diankiné KAYENTAO †
Mme TRAORE Mariam SYLLA
Mr Siaka SIDIBE
Mr Adama D. KEITA
Mme SIDIBE Assa TRAORE

Médecine Interne
Radiologie
Pédiatrie
Pneumo-Phtisiologie
Pédiatrie
Radiologie
Radiologie
Endocrinologie

4. ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Mr Bou DIAKITE	Psychiatrie
Mr Bougouzié SANOGO	Gastro-entérologie
Mr Saharé FONGORO	Néphrologie
Mr Bakoroba COULIBALY	Psychiatrie
Mr Kassoum SANOGO	Cardiologie
Mr Seydou DIAKITE	Cardiologie
Mme Habibatou DIAWARA	Dermatologie
Mr Mamadou B. CISSE	Pédiatrie
Mr Arouna TOGORA	Psychiatrie

5. ASSISTANT

Mr Cheick Oumar GUINTO	Neurologie
------------------------	------------

D.E.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

1. PROFESSEUR

Mr Boubacar Sidiki CISSE	Toxicologie
--------------------------	-------------

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Arouna KEITA †	Matière Médicale
Mr Ousmane DOUMBIA	Pharmacie Chimique

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Boulkassoum HAIDARA	Législation
Mr Elimane MARIKO	Pharmacologie, Chef de D.E.R.

4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Drissa DIALLO	Matières Médicales
Mr Alou KEITA	Galénique
Mr Ababacar I. MAIGA	Toxicologie
Mr Yaya KANE	Galénique

D.E.R. DE SANTE PUBLIQUE

1. PROFESSEUR

Mr Sidi Yaya SIMAGA Santé Publique, Chef de D.E.R.

2. MAITRE DE CONFERENCES AGREGE

Mr Moussa A. MAIGA Santé Publique

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Sanoussi KONATE Santé Publique

4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Bocar G. TOURE Santé Publique

Mr Adama DIAWARA Santé Publique

Mr Hamadoun SANGHO Santé Publique

Mr Massambou SACKO Santé Publique

CHARGES DE COURS & ENSEIGNANTS VACATAIRES

Mr N'Golo DIARRA Botanique

Mr Bouba DIARRA Bactériologie

Mr Salikou SANOGO Physique

Mr Bokary Y. SACKO Biochimie

Mr Boubacar KANTE Galénique

Mr Souléyman GUINDO Gestion

Mme DEMBELE Sira DIARRA Mathématiques

Mr Modibo DIARRA Nutrition

Mme MAIGA Fatoumata SOKONA Hygiène du Milieu

Mr Arouna COULIBALY Mathématiques

Mr Mahamadou TRAORE
Mr Souleymane COULIBALY
Mr Yaya COULIBALY

Génétique
Psychologie Médicale
Législation

ENSEIGNANTS EN MISSION

Pr. Doudou BA
Pr. Babacar FAYE
Pr. Eric PICHARD
Pr. Mounirou CISS
Pr. Amadou Papa DIOP

BROMATOLOGIE
PHARMACODYNAMIE
PATHOLOGIE INFECTIEUSE
HYDROLOGIE
BIOCHIMIE

DEDICACES

REMERCIEMENTS

DEDICACES

Je dédie ce modeste travail :

A ma grand-mère Assa Micheline ARAMA (Paix à son âme)

A mon père Antandou Jean ARAMA (Paix à son âme)

Serviteur de Dieu (catéchiste), tu m'as appris à faire mes prières dès ma petite enfance.

Bien que tu nous aies quittés très tôt (je venais d' avoir ma 1^{ère} communion à 10 ans), nous nous souvenons encore des moments intimes de communion avec le Seigneur tous les soirs après le dîner. Tu disais ceci « vivez à l'image de notre sauveur le Christ ». Ce travail est l'accomplissement de la mission que le Seigneur t'a confiée. Dors en paix cher père chez l'Eternel.

A ma mère Eryen Véronique SOMBORO

Tu as été une mère aimable et compréhensive. Tu t'es investie de toutes tes forces pour la réussite tant scolaire que sociale de tes enfants. Ce travail est le fruit de ta bravoure, de ton courage et surtout de ta rigueur pour l'éducation de tes enfants. Rassures toi chère maman tes attentes seront comblées et que le Seigneur te prête longue vie à nos côtés.

A mes frères et sœurs : Thérèse, Catherine, Odette, Dieudonné, Marthe, Marie-Claire et Moïse ARAMA.

Soucieux de la réussite de votre frère, vous m'avez soutenu et entouré de votre affection fraternelle. Soyez rassurés de ma profonde reconnaissance. Puisse ce travail vous apporter une satisfaction légitime et puisse le Seigneur consolider chaque jour nos liens fraternels. **Ainsi soit-il Amen !**

Aux orphelins et aux victimes de l'injustice du monde entier. Soyez courageux pour affronter tous les obstacles qui vous accablent. Ce travail est le vôtre.

Aux victimes du paludisme, particulièrement les enfants et les femmes enceintes.

REMERCIEMENTS

Je te rends grâce Seigneur de m' avoir donné la faculté d'accomplir cette œuvre selon ta volonté.

Mes remerciements s'adressent:

A **Georges Anou SOMBORO** et sa famille.
Merci pour tout ce que tu as consenti pour moi en m'offrant l'hospitalité. Tes conseils et soutiens ne m'ont jamais fait défauts. A travers ce modeste travail, je voudrais te témoigner mon profond attachement.
Merci à mes neveux et nièces : Micheline, Emmanuel, Laurence, Jean-Luc et Bernard SOMBORO.

A mes oncles : Sylvain SOMBORO et famille à Bafo, Moise SOMBORO et famille à Sévare.
Je vous dis merci pour votre affection filiale et recevez ici ma profonde reconnaissance.

A mes oncles et tantes de Sama, de Ségué, de Boul et de Timissa. Merci pour tout et recevez ici toute ma gratitude.

A mes cousins et cousines. Je ne citerai pas de nom au risque d'en oublier certains. Je vous dis simplement merci pour votre affection.

A la famille N'DAO Moussa à Kalaban Koro.
Vous m'avez adopté comme les siens. Que le seigneur vous gratifie de sa bonté infinie.

A la famille Issa ARAMA, Emile ARAMA et à la famille de feu Cyr Mathieu TRAORE à Korofina Nord.

Aux Frères du Sacré Cœur de Bandiagara (Frères : Henri, Basile TEMBELY, Donat DENA)
Vous vous êtes investis pour ma formation tant scolaire que spirituelle. Puisse le Seigneur vous donner santé et longue vie pour accomplir sa mission.

A la communauté des sœurs «Filles du Cœur Immaculé de Marie» de Tomikorobougou.
Merci pour vos conseils.

A tous les membres du groupe « M » de Ségué. Votre amitié a été sans faille dans notre vie quotidienne et merci pour votre compréhension.

A mes amis et camarades de promotion de la FMPOS : Madame Ouattara Hassiatou, Blaise Dakouo, Claudette Yala, Moussa Kouyaté, Moussa K Fofana, Karim Tembely, Oumar Guindo, Mamadou Mounkoro, Garba Mahamane Nassirou, Mamadou Keita, Ousmane Guindo, Hawa Traoré, Djelika Diabaté, Mariam Diarra, Aboubacar A. Oumar.

A la famille Coulibaly Mamoutou au point « G ».

A mes amis : Honoré A A Somboro, David Somboro, Alphonse Fonghoro, Romain Somboro, Basile Fonghoro, Alou Touré, Mamadou K Touré, Benoît B Saria, Issa Diarra, Modibo Daou, Ibrahim A Nouhou, David Arama, Moussa Arama.

Merci pour votre sympathique collaboration.

Aux populations de Mantéourou (Dogon et Peulh), Naye (Dogon et Peulh), Dinsogou, Binédama et Anakédié pour votre participation, votre générosité et votre hospitalité (particulièrement les différents chefs de villages qui n'ont ménagé aucun effort pour la réalisation de ce travail)

A la Famille Bapégnéré Doumbo. Merci pour l'hospitalité.

Aux aides-soignants de la case de santé de Mantéourou : Amaïnguéré, Yanogo et Hawa Doumbo.

Votre contribution à la réalisation de ce travail a été sans faille. Recevez ici l'expression de ma sincère reconnaissance et mes encouragements.

Aux prêtres (Abbés : **Léopold Diendiéré, Michel Dougou, Abel Kassogué**) et au personnel du centre de santé de Barapireli. Mes sincères remerciements pour votre collaboration.

Au personnel du centre de santé de Madougou. Merci pour votre collaboration.

Au club «**Viet Vo Dao Vovinam** » de la FMPOS.

Au **Docteur Bakary MAIGA**. Tu as été un frère avant tout. Ton souci du travail bien fait m'a beaucoup éclairé dans la réalisation de ce travail qui est aussi le tien. Saches que par ton expérience et ton savoir-faire, je suis allé à l'école de la vie. Reçois cher « oncle » l'expression de mes vifs et sincères remerciements et ma profonde reconnaissance.

Au **Docteur Amagana DOLO**. Votre rigueur scientifique, votre humilité, votre simplicité, votre abord facile, votre grand humanisme, votre air jovial et votre impartialité font de vous un maître exemplaire et digne d'inspiration pour vos élèves. Recevez cher maître l'expression de mon profond respect et de ma sincère reconnaissance.

Au **Docteur Amed OUATTARA**. Tu m'as encadré dès les premières années de mon cycle universitaire. Ta contribution a été inestimable pour mon arrivée au DEAP. Ta générosité, ton humanisme, ta rigueur scientifique et ton endurance dans le travail bien fait m'ont beaucoup inspirés. Je voudrais par ce travail qui est aussi le tien te témoigner ma profonde gratitude et mon attachement affectueux.

Au **Docteur Abdoulaye DABO**. Vos conseils, votre disponibilité, vos qualités humaines, votre amour pour le travail font de vous un maître exemplaire. Trouvez ici mes remerciements les plus sincères.

Au **Docteur Boureima KOURIBA**. Votre contribution à la réalisation de ce travail a été inestimable. Vos qualités humaines et votre enseignement m'ont comblé. Mes sincères remerciements pour tout ce que vous avez fait.

A tous nos maîtres du DEAP : **Dr Daouda Minta, Dr Abdoulaye Djmdé, Dr Mahamadou Thera, Dr Fanta Traoré, Dr Moctar Diallo, Dr Mahamadou Diakité, Dr Alassane Dicko, Dr Belco Poudiougou, Dr Abdoul Habib Beavogui, Mr Mamadou Bâ, Mr Ousmane Touré, Mr Mamadou Welé.**

Mes vifs remerciements pour vos enseignements et vos encadrements.

A tous les chercheurs du DEAP. Je ne citerai pas de nom au risque d'en oublier certains. Merci pour votre collaboration, votre contribution et pour votre esprit d'équipe.

A tout le personnel du DEAP (informaticiens, gestionnaires, chauffeurs et secrétaires).

J'aimerais vous remercier pour votre disponibilité et pour votre collaboration.

Au Professeur Marita Troye-Blomberg Directrice du Département d'Immunologie de l'Université de Stockholm et à son assistant le Docteur Salah. Nous vous remercions pour votre franche collaboration et pour notre formation sur les techniques Elispot.

A tout le corps professoral de la FMPOS : Je voudrais vous témoigner mes sincères remerciements pour l'enseignement reçu et pour vos encadrements.

AUX MEMBRES DU JURY

A notre Maître et Président du jury

Professeur Dapa A DIALLO

Professeur d'Hématologie à la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie.

Chef de service d'Hémato-oncologie de l'Hôpital du Point « G ».

Cher Maître, vous nous faites un grand honneur de présider ce jury malgré vos multiples occupations. Nous avons été très séduit par votre amour et l'intérêt que vous accordez à notre formation . Nous avons beaucoup admiré vos qualités scientifiques et pédagogiques. Votre simplicité, votre disponibilité font de vous un grand maître digne d'admiration.

C'est un grand Honneur que vous nous faite en acceptant de présider ce jury.

Soyez assuré, cher Maître de notre reconnaissance.

A notre Maître et juge

Professeur Anatole TOUNKARA

Maître de Conférence agrégé d'Immunologie à la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie.

Chef du Centre National de Transfusion Sanguine du Mali.

Nous nous réjouissons de votre disponibilité en acceptant de siéger dans ce jury malgré vos multiples occupations.

Vous demeurez pour nous un modèle de dévouement et de persévérance dans le travail bien-fait.

Veillez trouver ici, cher Maître, l'expression de notre grande reconnaissance et notre profond respect.

A notre Maître et juge

Docteur Abdoulaye DJIMDE

PhD en Microbiologie et Immunologie.

Chercheur au DEAP de la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie.

Nous sommes particulièrement sensibles de l'honneur que vous nous faites en acceptant de juger ce travail.

Homme de science et chercheur émérite, le regard critique que vous avez apporté à ce travail nous a été d'une aide précieuse.

Permettez-nous, cher Maître, de vous témoigner de notre profonde gratitude.

A notre Maître et co-directeur de thèse

Docteur Amagana DOLO

Maître assistant de Parasitologie à la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie.

Nous avons beaucoup admiré vos qualités humaines et pédagogiques.

Votre simplicité, votre humilité, votre disponibilité constante et permanente, votre rigueur, votre dynamisme font de vous un maître digne d'admiration.

Nous sommes très honoré pour votre confiance en nous proposant ce travail.

Nous voudrions vous réitérer, cher Maître, l'expression de notre profonde gratitude et notre indéfectible disponibilité.

A notre Maître et Directeur de Thèse

Professeur Ogobara K DOUMBO

Professeur de Parasitologie-Mycologie à la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie.

Cher Maître, nous vous remercions de la confiance que vous nous avez accordée en nous acceptant avec gentillesse dans votre service.

Votre assiduité, votre rigueur, vos qualités humaines et votre éloquence dans la transmission de vos connaissances ont toujours suscité notre admiration.

C'est un grand honneur de nous compter parmi vos élèves.

Veillez accepter, cher Maître, le témoignage de notre sincère et profonde gratitude et l'assurance de notre indéfectible attachement.

SOMMAIRE

SOMMAIRE

1.	Introduction
.....	1
2. Objectifs	3
3. Généralités	4
3-1. Immunologie du paludisme	4
3-1-1. Immunité naturelle	4
3-1-2. Immunité acquise	6
3-1-3. Rôle de la rate	8
3-2. Epidémiologie génétique sur la susceptibilité ou la résistance au paludisme dans les populations humaines	8
3-3. Généralité sur l'antigène de surface du mérozoïte (MSP 1)..	9
3-4. La résistance à la chloroquine <i>in vitro</i> : <i>PfCRT</i> (<i>Plasmodium falciparum</i> chloroquine resistance transporter)	10
4. Méthodologie	13
4-1. Lieu d'étude	13
4-2. Période d'étude.....	17
4-3. Type d'étude	17
4-4. Recensement de la population – Echantillonnage	17
4-5. Personnel d'étude	17
4-6. Organisation du travail.....	18
4-7. Technique d'étude	19
4-7-1. Evaluation clinique et traitement	19
4-7-2. Etudes parasitologiques	20
4-7-3. Etude immunologique	21
4-7-4. Etude entomologique	23
4-7-5. Etude du polymorphisme de la MSP 1	24
4-7-6. Etude de la chloroquino-résistance	27
4-7-7. Evaluation du prurit à la chloroquine	35
4-7-8. Etude de la résistance à la sulfadoxine-pyriméthamine...	35
4-8. Les variables mesurées	36
4-9. Considérations éthiques	36
4-10. Gestion et analyse des données	37

5. Résultats	38
5-1. Passage	transversal
.....	38
5-1-1. Résultats socio-démographiques	38
5-1-2. Résultats entomologiques	39
5-1-3. Résultats cliniques	43
5-1-4. Résultats parasitologiques	43
5-1-5. Résultats immunologiques	46
5-1-6. Résultats du polymorphisme de la MSP 1.....	47
5-2. Suivi longitudinal	47
5-2-1. Surveillance clinique	47
5-2-2. Résultats de la choroquino-résistance	50
5-2-3. Résultats de la résistance à la sulfadoxine-pyriméthamine	56
6. Discussion	58
7. Conclusion – Recommandation	64
8. Bibliographie	65
9. Résumé	
Annexes	

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN = Acide désoxyribonucléique
AMA = Apical Merozoite Antigen
BCIP/NBT = Bromo-Chloro-Indonyl Phosphate, Nitro Bleu de Tétrazolium
BET = Bromure d'Ethidium
BSA = Bovin Serum Albumin
C.R.M.T = Centre Régional de Médecine Traditionnelle
CSP = Circum Sporozoite Protein
CTL = Cytotoxic T Lymphocyte
DEAP = Département d'Epidémiologie des Affections Parasitaires
EDTA = Ethylène Diamine Tetra-Acétique
ELISA = Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay
Elispot = Enzyme Linked Immuno-Spot
E.T = Echec Thérapeutique
E.T.P = Echec Thérapeutique Précoce
E.T.T = Echec Thérapeutique Tardif
FCS = Fœtal Calf Serum
FMPOS = Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie.
G.E = Goutte Epaisse
G.I.E = Groupement d'Intérêt Economique.
GIS/GPS = Geographic Information System / Global Position System
G-6 PD = Glucose-6 Phosphate Déshydrogénase
Hb = Hémoglobine
HLA = Human Leucocyte Antigen
I.D.A = International Dispensary Association
IFN γ = Interféron gamma
Ig E = Immunoglobuline E
Ig G = Immunoglobuline G
IL = Interleukine
I.P = Indice Plasmodique
I.S = Indice Splénique
KDa = Kilo dalton
LSA = Liver Stage specific Antigen
mA = milli-Ampère
MRTC = Malaria Research and Training Center
MSP1 = Major Surface Protein 1
NPP = Nitro-Phenyl-Phosphate de sodium
OMS = Organisation Mondiale de la Santé
O.R.L = Oto-Rhino-Laryngologie
PBS = Phosphate Buffer Saline
PCR = Polymerase Chain Reaction
PfCRT = *Plasmodium falciparum* Chloroquino-Resistance Transporter
PIB = Produit Intérieur Brut
RCS = Réponse Clinique Satisfaisante

RESA = Ring-infected Erythrocyte Surface Antigen
R I = Résistance de type I
R II = Résistance de type II
R III = Résistance de type III
S.P = Sulfadoxine-pyriméthamine
S.R.O = Sel de Réhydratation Oral
TBE = Tris Borate EDTA
TH = T Helper
TNF = Tumor Necrosis Factor
TRAP = Thrombospondin Related Adhesion Protein
UMPP = Usine Malienne des Produits Pharmaceutiques

INTRODUCTION

1- INTRODUCTION

Le paludisme demeure de nos jours la première parasitose la plus redoutable, menaçant ainsi la vie des enfants et des femmes enceintes.

En effet, le paludisme pose aujourd'hui un problème de santé publique dans plus de 90 pays, représentant au total quelque 2,4 milliards de personnes, soit 40% de la population mondiale (OMS, 1998). L'incidence mondiale de la maladie est estimée à 300- 500 millions de cas clinique par année.

Le paludisme est endémique dans 101 pays dont 45 pays en Afrique (OMS, 1998). Plus de 90% des cas mondiaux de paludisme surviennent en Afrique subsaharienne. La mortalité due au paludisme est estimée à 1 million de morts par an.

Le paludisme tue un enfant toutes les 30 secondes dans le monde (OMS, 1998).

Une grande majorité de ces décès surviennent chez les enfants en Afrique.

Le coût que le paludisme occasionne aux pays se compose du coût de lutte et de celui des journées perdues, évalué à 1-5% du P.I.B en Afrique (OMS, 1998). Pour les individus le coût inclut le prix du traitement et de la prévention et le manque à gagner. Chez les enfants, il est une cause d'absentéisme scolaire chronique et parfois d'une baisse des facultés d'apprentissage.

Un autre groupe à risque est constitué par les femmes enceintes (surtout les primigestes), les immigrants et les voyageurs des zones non endémiques

Au Mali les quatre espèces plamodiales inféodées à l'homme sont retrouvées. Il s'agit de *P. falciparum*, *P. malariae*, *P. ovale* et *P. vivax*. L'espèce *P falciparum* qui représente 85 à 95% de la formule parasitaire, est la plus redoutable car responsable du neuropaludisme.

La lutte contre le paludisme passe nécessairement par une meilleure compréhension de la relation hôte-parasite.

De nombreuses études ont été effectuées dans des laboratoires spécialisés et ont permis d'établir qu'il existe une relation entre les facteurs génétiques de l'hôte et la susceptibilité ou la résistance au paludisme (Miller 1988). Les études ont montré que les porteurs de

certaines hémoglobinopathies avaient une protection naturelle contre le paludisme (**Agarwal et al 2000, Allen et al 1997**).

Des études récentes effectuées au Burkina Faso au sein de groupes ethniques sympatriques (Mossi, Rimaïbé, Peulh) ont montré une différence de susceptibilité au paludisme. Les Peulh étaient moins parasités, moins affectés par la maladie et présentaient de fortes réponses immunitaires contre les antigènes palustres (**Modiano et al 1995, 1996**). Ces groupes ethniques étaient soumis aux mêmes conditions environnementales et d'inoculum de sporozoïtes.

Des études similaires menées au Mali entre des groupes ethniques (Dogon, Peulh et Rimaïbé) ont montré des résultats comparables à ceux de Modiano et al. Les Peuhl avaient un indice plasmodique bas, un indice splénique élevé et leurs taux d'anticorps anti-plasmodiaux étaient plus élevés que chez les Dogon (**Dolo et al 2000**).

Ces résultats sont en faveur de l'existence de facteurs immunogénétiques impliqués dans cette différence de susceptibilité au paludisme.

Le but de notre travail était d'étudier la différence de susceptibilité au paludisme entre les Dogon et les Peulh deux ethnies vivant en sympatrie au Mali et les facteurs immunogénétiques et parasitaires impliqués dans cette différence.

OBJECTIFS

2- OBJECTIFS

2-1. Objectif général

Etudier la différence de susceptibilité au paludisme au sein de groupes ethniques vivant en sympatrie en zone sahélienne au Mali.

2-2. Objectifs spécifiques

- Ø Déterminer le niveau de transmission du paludisme dans la localité d'étude par des paramètres entomologiques, parasitologiques et cliniques.
- Ø Mesurer par une surveillance longitudinale la morbidité liée au paludisme et celle due aux autres affections rencontrées dans la localité.
- Ø Etudier et comparer le niveau d'immunité des différents groupes ethniques par le dosage des anticorps anti-plasmodiaux.
- Ø Comparer les taux d'échecs cliniques et de résistances parasitologiques *in vivo* et des mutants résistants à la chloroquine et à la sulfadoxine-pyriméthamine dans la population des sujets symptomatiques.
- Ø Décrire le polymorphisme allélique du bloc 2 de la MSP1 des souches de *P.falciparum* rencontrées dans la population d'étude.

GENERALITES

3. GENERALITES

3-1. Immunologie du paludisme

Au cours d'une infection palustre l'organisme humain réagit selon deux types de mécanismes immunitaires:

- ▼ l'immunité naturelle ou résistance innée
- ▼ l'immunité acquise qui est une réponse spécifique d'espèces, de souches et de stade de développement du parasite, impliquant la réponse humorale et cellulaire, et se développant après plusieurs expositions en zone d'endémie.

3-1-1. L'immunité naturelle

La résistance innée au paludisme se traduit chez l'Homme par un état réfractaire au parasite dès le premier contact.

Cette résistance naturelle résulte soit de la présence chez l'homme d'une substance non propice au développement du parasite (hémoglobine anormale, déficit en G-6-PD) ou de l'absence de récepteur impliqué dans la pénétration du parasite dans les cellules hôtes (antigène Duffy).

Les mécanismes qui déterminent cette résistance innée impliquent essentiellement les facteurs liés au stade érythrocytaire.

La résistance innée peut affecter l'habilité du parasite à envahir les érythrocytes ou à inhiber son développement intra-érythrocytaire.

3-1-1-1. Les facteurs liés à la membrane des érythrocytes

L'invasion des érythrocytes par les mérozoïtes nécessite leur adhérence à la surface des érythrocytes par l'intermédiaire des récepteurs ou des antigènes spécifiques.

Les personnes n'ayant pas l'antigène Duffy (les mélanodermes) ne sont pas infectées par *P. vivax* (Miller et al, 1978).

Certains variants des glycophorines (récepteurs de surface des érythrocytes) peuvent empêcher l'invasion érythrocytaire par les mérozoïtes de *P. falciparum* (Miller et al 1977).

La relation entre la susceptibilité des globules rouges à l'infection et l'âge métabolique des érythrocytes a été également observée. Par exemple *P. vivax* et *P. ovale* ont une affinité marquée pour les érythrocytes jeunes ; *P. malariae* envahit préférentiellement les hématies mûres, alors que *P. falciparum* peut parasiter les types de globules rouges avec cependant une préférence pour les érythrocytes adultes.

La déformation des globules rouges lors de la pénétration du mérozoïte est aussi un important facteur de résistance innée. Du fait de leur cytosquelette altéré, les ovalocytes résistent à l'invasion de *P.falciparum*.

3-1-1-2. Les facteurs intra-érythrocytaires

Les principaux facteurs intra-érythrocytaires de résistance innée chez l'homme sont d'origine génétique et concernent les déficits enzymatiques notamment le déficit en glucose- 6-phosphate déshydrogénase (G6PD), des modifications structurales de l'hémoglobine (hémoglobine S, C, E) ou des déficits quantitatifs dans la synthèse des chaînes de l'hémoglobine (thalassémies).

Les études cas/témoins réalisées en Gambie et au Kenya ont montré que le polymorphisme G6PD A- (le plus fréquemment retrouvé dans les déficits en G6PD en Afrique) était associé à une réduction d'environ 50% du risque de développer un paludisme sévère chez les femmes hétérozygotes et les hommes hémizyotes (*Ruwende C. et al, 1995*)

Une étude récente a confirmé l'effet protecteur de l' α^+ -thalassémie à l'état homozygote chez des enfants vivant en Papouasie Nouvelle-Guinée, une région où cette hémoglobinose touche 90% de la population (*Allen S.J. et al, 1997*).

Modiano et al ont observé en étudiant une cohorte de 4348 Mossi que le portage de l'Hb C est associé à une réduction de 29% du risque de développer le paludisme chez les individus hétérozygotes Hb AC et de 93% chez les individus homozygotes HbC (*Modiano et al 2001*).

Agarwal et al en 2000 ont observé que les porteurs d'HbC chez les Dogon du Mali étaient protégés contre le neuropaludisme.

Parmi les facteurs nutritionnels, le rôle préventif du déficit en vitamine E et de l'hypoprotidémie a été évoqué dans la littérature. Il en est de même pour les effets du régime lacté strict qui entraîne une carence en acide para-amino-benzoïque qui constitue un facteur de croissance pour *P. falciparum*.

Trois hypothèses ont été avancées pour expliquer le mécanisme de résistance au paludisme :

- Inhibition de la pénétration des parasites.
- Obstacle au développement intra-érythrocytaire du *Plasmodium*.
- Destruction et élimination plus faciles des hématies parasitées par les phagocytes mononucléées.
- Développement d'un état de pré-munition (anticorps, cellules spécifiques).

3-1-2. L'immunité acquise

L'acquisition de la réponse immunitaire antipaludique nécessite une longue période d'exposition à des infections répétées. L'installation de l'immunité acquise est d'autant plus précoce que la transmission est intense et stable ; son maintien dépend de la durée d'exposition.

Cette immunité se manifeste par deux types de réponses :

- La réponse humorale (anticorps plasmodiaux).
- La réponse cellulaire qui implique les monocytes, les lymphocytes T, les polynucléaires.

A chaque stade du cycle de développement du parasite correspond une réponse immune spécifique.

3-1-2-1. La réponse immune dirigée contre les formes pré-érythrocytaires

Les anticorps dirigés contre les sporozoïtes sont capables d'altérer leur revêtement de surface, d'inhiber leur pénétration dans les hépatocytes ou de ralentir leur développement intra-hépatocytaire.

a- Blocage de l'invasion des hépatocytes

Les anticorps anti-TRAP (Thrombospondin Related Adhesion Protein) inhibent *in vitro* l'invasion des hépatocytes par les sporozoïtes (Miller *et al* 1993).

Les travaux récents ont montré que les « Liver Stage Antigen-3 » (LSA-3) exprimés à la surface des sporozoïtes induisent une réponse humorale spécifique (Aidoo *et al* 2000).

b- Réponse à médiation cellulaire contre les formes exo-érythrocytaires

L'immunité à médiation cellulaire fait intervenir des cellules effectrices qui agissent directement (lymphocytes T cytotoxiques) ou indirectement par production de substances cytolytiques (monoxyde d'azote) et de cytokines (IFN γ , IL 1, IL 2, TNF α) produites par les cellules T helper (Th1, Th2) et d'autres cellules immunes.

Des études sur le modèle animal ont montré que juste après l'invasion de l'hépatocyte, de nombreux sporozoïtes meurent en libérant les antigènes sporozoïtaires (surtout la circum sporozoite protein : CSP) dans le cytoplasme des hépatocytes. A ce niveau les molécules d'antigènes sont réduites en peptides (épitopes) qui s'associent aux molécules HLA de classe I. Ces épitopes associés aux molécules HLA de classe I sont

exprimés à la surface des hépatocytes. Ce complexe est reconnu par les récepteurs des lymphocytes T.

Cette reconnaissance entraîne une stimulation des cellules T qui prolifèrent et produisent des cytokines (*Suhrbier, 1990, 1991*).

Des travaux récents ont montré que 84% des individus vivant en zone d'endémie palustre (Afrique de l'Ouest) développent une réponse cellulaire proliférative induite par le complexe HLA B53 – LSA-3 (*Aidoo et al, 2000*).

3-1-2-2. La réponse immune dirigée contre les formes érythrocytaires

Au cours de la schizogonie érythrocytaire l'organisme réagit en mettant en place une défense immunitaire.

Celle-ci s'effectue principalement par des anticorps anti-plasmodiaux dirigés contre les mérozoïtes. Ce sont des immunoglobulines G (Ig G) cytophiliques qui activent les fonctions effectrices cytotoxiques et phagocytaires des neutrophiles et des monocytes (*Perlmann et al, 2000*).

L'infection plasmodiale implique aussi une production élevée d'immunoglobuline E (Ig E). Le complexe immun Ig E-antigène est impliqué dans l'activation des monocytes qui produisent du monoxyde d'azote qui est toxique pour les mérozoïtes.

Cependant les études attestent que ce complexe immun peut contribuer à la pathogénie de l'infection palustre. La surproduction locale du Tumor Necrosis Factor (TNF α) par les monocytes activés est un facteur pathogénique majeur de l'infection à *P. falciparum* (*Troye-Blomberg et al, 1999*).

Les travaux d'expérimentation sur le modèle animal, selon Miller, ont montré que les antigènes AMA-1 (Apical Merozoite Antigen 1) induisent une réponse immune de type humorale qui bloque la pénétration des mérozoïtes dans les globules rouges.

Les mêmes travaux ont montré que les Merozoite Surface Antigens (MSP 1) sont très immunogènes et induisent une réponse de type humorale (*Saul et Miller 2001*).

Aucan et *al* (2000) ont établi une corrélation entre la protection contre l'infection palustre le taux élevé d'immunoglobuline G2 (IgG2) et le taux bas d'immunoglobuline G4 (IgG4).

Les cellules T impliquées dans la réponse immune du stade érythrocytaire sont essentiellement les cellules CD4+, Th1 et Th2 qui produisent des cytokines (IL 2, IFN γ , lymphotoxine, IL 4, IL 5, IL 6, IL 10, IL 13) intervenant dans la protection contre l'infection palustre.

3-1-3. Rôle de la rate

La rate joue un rôle crucial dans la protection contre l'infection palustre par l'élimination des globules rouges parasités. Des études histologiques sur le modèle animal et sur l'homme ont montré qu'elle est un important site d'élimination des hématies parasitées au cours des infections aiguës.

Les expérimentations sur les animaux de laboratoire ont montré que la rate est un important site de phagocytose et de production d'anticorps au cours de l'infection plasmodiale (Miller *et al*, 1979).

Il apparaît que la phagocytose et l'hypertrophie splénique observées au cours de l'infection palustre, entraînent l'élimination des parasites et des débris de globules rouges de la circulation sanguine.

3-2. Epidémiologie génétique sur la susceptibilité ou la résistance au paludisme dans les populations humaines

La pathogénie de l'infection palustre résulte des interactions entre le parasite et le système de défense de l'hôte. Il existe une très grande variabilité de réponse à l'infection palustre entre les individus vivant dans les mêmes zones d'endémie (L. ABEL, 1999).

L'inapplicabilité des modèles expérimentaux chez l'homme font que l'observation d'agrégations familiales et / ou l'information apportée par les marqueurs génétiques sont les principaux outils de l'épidémiologie génétique pour déterminer la part des facteurs génétiques et identifier la nature de ces facteurs génétiques en cause (carte du génome humain, typage des Marqueurs génétiques).

Les stratégies adoptées sont : l'identification des gènes et la recherche des régions chromosomiques susceptibles d'être impliquées dans le contrôle des phénotypes cliniques et biologiques de l'infection palustre.

L'avènement de l'immunogénétique moléculaire a ouvert une nouvelle ère dans la compréhension des facteurs génétiques impliqués dans la susceptibilité ou la résistance au paludisme. Dans le paludisme, les études d'épidémiologie génétique les plus nombreuses ont concerné la recherche des facteurs génétiques impliqués dans les formes graves de l'infection à *Plasmodium falciparum* (neuropaludisme, anémies sévères).

Les premiers polymorphismes dont le rôle a été suggéré dans la survenue des paludismes sévères sont les anomalies génétiques touchant les globules rouges (hémoglobinopathies, déficits enzymatiques).

En outre ceux qui sont liés à des anomalies génétiques du globule rouge, les polymorphismes qui ont été les plus étudiés dans la survenue des formes graves du paludisme sont situés au niveau du complexe HLA-TNF du chromosome 6p21 (*Abel L, 1999*). Ces études concernaient surtout les travaux de *Hill AVS et al (1991)* menés en Gambie sur le rôle protecteur d'un antigène de Classe I, HLA-B-53, dont la fréquence était plus basse parmi les cas de paludisme sévère (15,7%).

Les études de polymorphisme situé au niveau du promoteur du gène codant le TNF α (Tumor Necrosis Factor) ont montré que ce gène candidat est fortement associé avec la susceptibilité au neuropaludisme (*KWIATKOWSKI D et al, 1990 ; McGUIRE W et al, 1994*).

Les autres travaux plus récents en épidémiologie génétique du paludisme ont mis l'accent sur l'étude de phénotypes biologiques reflétant soit les niveaux d'infection par le parasite, soit la réponse immunitaire (taux d'anticorps ou de cytokines spécifiques ou non de certains antigènes).

C'est ainsi que les études menées au Cameroun et au Burkina Faso ont mis en évidence, puis confirmé le rôle de la région *5q31-q33* dans le contrôle des niveaux d'infection par *Plasmodium falciparum* (*Garcia et al 1998 ; Rihet et al 1998*).

Cette région contient plusieurs gènes codant pour des molécules immunologiques telles que l'interleukine-4 et l'interleukine-12 qui sont impliquées dans la régulation de la balance des lymphocytes T auxiliaires: Th1 et Th2.

Gaia et al (2001) ont montré que l'allèle *IL4-524T* est fréquent chez la plupart des Peulh (75%) qui sont moins susceptibles au paludisme que les Mossi et les Rimaïbé.

La présence de cet allèle est corrélée à une forte réponse immunitaire anti-CSP et anti Pf322 antigen.

Des travaux récents de polymorphisme du gène *HLA* classe I ont montré que l'allèle HLA-B53 associé à l'antigène LSA-3 induit une réponse à médiation cellulaire de type CTL (cytotoxique T lymphocytes); (*Aidoo et al, 2000*).

D'autres études de polymorphisme ont montré que les porteurs de l'allèle HLA classe I H131 avaient une forte production d'immunoglobuline G2 anti-RESA (Ring Erythrocyte Surface Antigen) qui est associée à la résistance contre l'infection palustre (*Aucan et al, 2000*).

3-3. Généralités sur l'antigène de surface du mérozoïte (MSP 1)

Le mérozoïte est la forme invasive de la phase asexuée des espèces de Plasmodium. A l'heure actuelle plusieurs glycoprotéines ont été identifiées à la surface de l'espèce *P. falciparum*.

La plus décrite est la protéine majeure de surface du mérozoïte (MSP 1) qui a un poids moléculaire de 190 KDa. Cette protéine serait impliquée dans l'invasion de l'érythrocyte par le parasite en se fixant aux résidus d'acide sialique situés à la surface du globule rouge.

La MSP 1 a été largement étudiée chez *P. falciparum* et décrite sous différents noms telles que p190, MSA 1, PMMSA (precursor to the major merozoite surface antigen).

L'immunisation des singes à l'aide de préparations stérilisées de MSP 1 a montré la potentialité de cette protéine dans le développement d'un vaccin.

Le gène qui code pour la MSP 1 est situé sur le chromosome 9. Ce gène a été cloné et séquencé. Il est subdivisé en 17 blocs de séquences conservées, semi-conservées ou variables (TANABE *et al*, 1987).

Une des caractéristiques du gène est la présence de répétitions en tandem de certains nucléotides. Ces répétitions sont variables en taille et cette caractéristique est utilisée pour typer les souches. Du bloc 5 au bloc 16, le gène présente un dimorphisme alors que les blocs 1 et 17 sont relativement conservés. La séquence du bloc 2 du gène présente un polymorphisme accentué. Ce polymorphisme a permis de décrire trois allotypes qui sont K1, MAD20 et RO33.

Les allèles K1 et MAD20 ont au niveau des protéines des tripeptides répétitifs tandis que l'allèle RO33 se caractérise par une perte de ces tripeptides (PETERSON *et al*, 1988).

L'existence de deux groupes révélée par des versions différentes de MSP 1 suggère un dimorphisme de la protéine. Ce dimorphisme se traduit au niveau génique par une variation de seulement deux bases. Des variations ont été révélées au niveau des blocs 4, 8 et 11 de RO33.

Le bloc 3 a été décrit comme point de cassure du gène au moment des croisements entre les chromosomes.

L'étude phylogénique a montré que les souches K1 et MAD20 proviendraient de RO33 (JOGWUTIWES S *et al*, 1992).

L'une des particularités du dimorphisme de la MSP 1 est la possibilité de crossing-over entre allèles. Ce crossing-over concerne généralement le bloc 2 à 5 chez *P. falciparum* et se traduit en général par une délétion ou une insertion de bases.

**3-4. La résistance à la chloroquine *in vitro* : PfcRT
(Plasmodium falciparum chloroquine resistance transporter)**

L'émergence des souches chloroquino-résistantes de *Plasmodium falciparum* est entrain de compromettre de plus en plus l'efficacité de la chloroquine. Cela a pour conséquence l'accroissement des échecs thérapeutiques.

Au cours de ces dix dernières années, de nombreux génotypes associés à la résistance de *Plasmodium falciparum* à la chloroquine ont été identifiés.

A l'heure actuelle, le marqueur moléculaire qui permet de mieux appréhender le phénomène de la chloroquino-résistance semble être le gène *Pfcrt*.

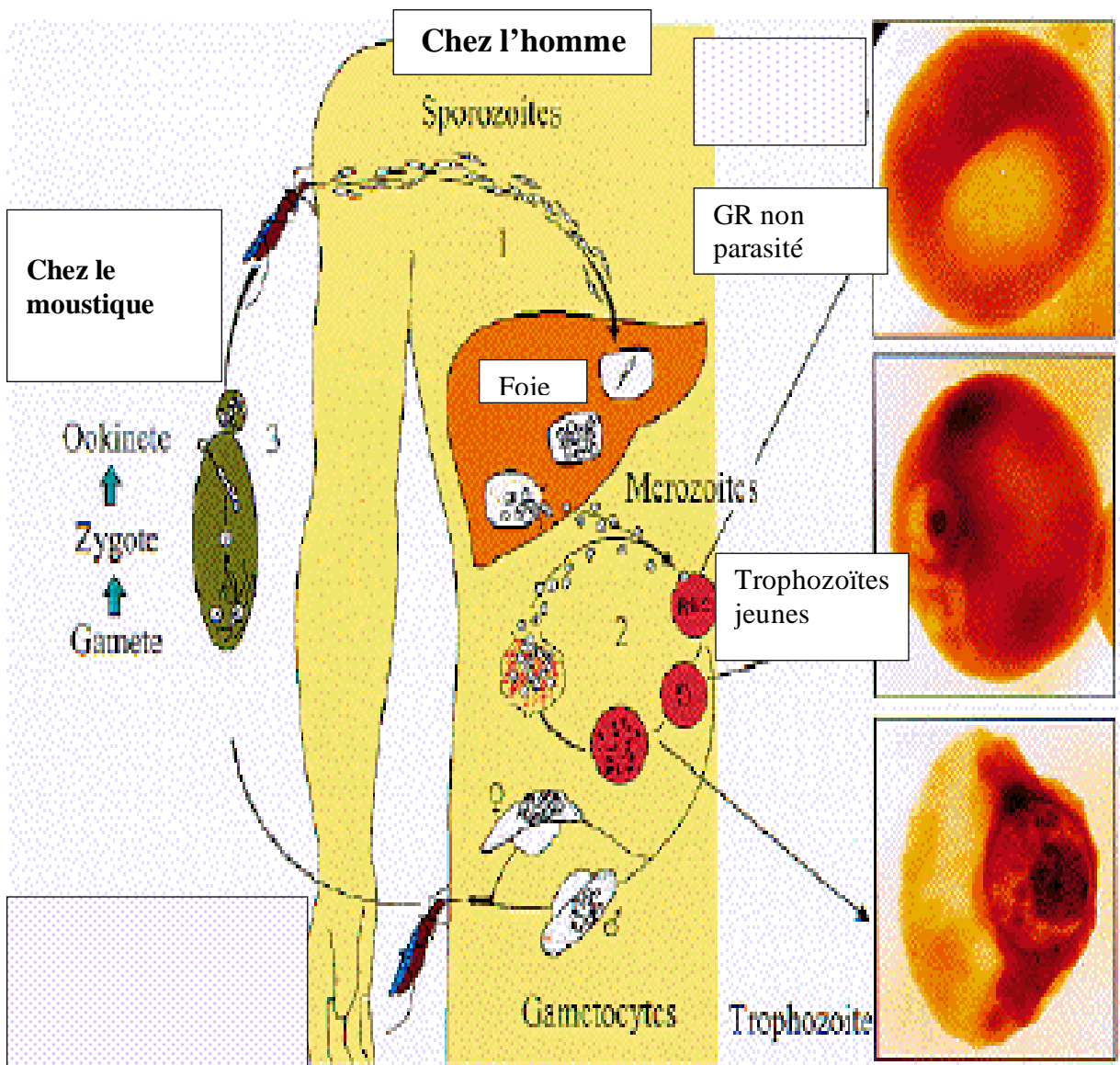
L'équipe de Wellems vient de montrer dans une étude parue dans « Molecular Cell » qu'une mutation au niveau de ce gène *pfcr*t codant pour une protéine trans-membranaire (PfCRT) de la vacuole digestive de *Plasmodium falciparum* est responsable de la résistance à la chloroquine (FIDOCK *et al* 2000).

Cette étude a montré que les souches résistantes d'Asie et d'Afrique ont un des deux variants «PfCRT» qui diffère du gène sensible à la chloroquine par 7 ou 8 mutations ponctuelles. Les mutations spécifiques K76T et A220S sont les variants « PfCRT » les plus fréquemment rencontrés.

Ces même travaux ont permis de mettre en évidence que la mutation d'un unique gène présent sur le chromosome 7 de *Plasmodium falciparum* conférait la résistance à la chloroquine.

En poursuivant les travaux, l'équipe de Wellems a pu convertir une souche sensible à la chloroquine en une souche résistante en lui introduisant le gène muté «*pfcr*t K76T».

Une autre étude réalisée sur terrain et adoptant le protocole de l'OMS 1996 a montré que tous les parasites présents après traitement à la chloroquine présentaient le gène muté (DJIMDE *et al* 2001).



Source : Centre optique pour les rayons X et Division des Sciences de la Vie

Figure n° 1 : cycle biologique de *P. falciparum*.

Trophozoïte
jeune



METHODOLOGIE

4 - METHODOLOGIE

4-1. Lieu d'étude

Notre étude a été menée dans quatre villages de l'arrondissement de Madougou dans le cercle de Koro (région de Mopti). Il s'agissait des villages de Mantéourou (Dogon et Peulh), de Naye (Dogon et Peulh), de Binédama et de Anakédié. Ces villages sont situés à environ 850 Km au Nord-Est de Bamako. Les coordonnées géographiques de ces villages sont 14°3 latitude Nord et 3°3 longitude Ouest.

Mantéourou Dogon est situé à 12 Km de Madougou ; Mantéourou Peulh est à 1 Km de Mantéourou Dogon. Naye Peulh est situé à 6 Km de Mantéourou ; Naye Dogon est à 500 mètres de Naye Peulh. Dinsogou qui relève de Naye Dogon est situé à 1,5 Km de ce dernier. Anakédié est situé à 3 Km de Dinsogou. Binédama est à 1,5 Km de Anakédié.

4-1-1. Historique

Mantéourou Dogon

Originaires de Yougo Dogourou (arrondissement de Sangha), les Doumbo descendirent de la falaise à la recherche de terres propices à l'agriculture et à l'élevage. Ils fondèrent Mantéourou il y a environ 59 ans (communication orale du chef de village).

Mantéourou Peulh

Les habitants sont des Peulh venus de Binédama.

Naye Dogon

Trois frères Dougnon (Amategué, Balougo et Laya) venant de Levekandé fondèrent Naye Dogon, il y a environ deux siècles et demi. Les habitants de Naye Dogon viennent de Ireli (communication orale du chef de village).

Dinsogou

Les Dara venus de Koundou (arrondissement de Sangha) demandèrent l'hospitalité aux habitants de Naye qui acceptèrent volontiers. Ainsi Dinsogou fut fondé, il y a environ 67 ans.

Naye Peulh

Les Peulh venus de Kindé (arrondissement de Diankabou) à la recherche de terres propices à l'élevage ont fondé Naye Peulh il y'a environ deux siècles. Les habitants de Naye Peulh sont originaires de la zone de Guimbala (Darifitiga dans l'arrondissement de N'Gouma, cercle de Douentza ; communication orale du chef de village).

Anakédié

Fondé, il y a 75 ans par Toniama Doumbo, Anakédié signifie le lieu qui accueille les étrangers. Les habitants de Anakédié sont originaires de Yougo (arrondissement de Sangha) qu'ils ont quitté en raison de la

sécheresse et de l'insuffisance de terres cultivables (communication orale du chef de village).

Binédama

Les habitants de Binédama ont la même origine que ceux de Naye Peulh (Darifitiga dans l'arrondissement de N'Gouma, cercle de Douentza). C'est le plus ancien village. Il a été fondé il y a environ trois siècles (communication orale du notable : le guide de Binédama).

4-1-2. Relief

Le relief est constitué d'une vaste plaine (plaine du Gondo) sablonneuse avec quelques dunes parsemées.

4-1-3. Climat et végétation

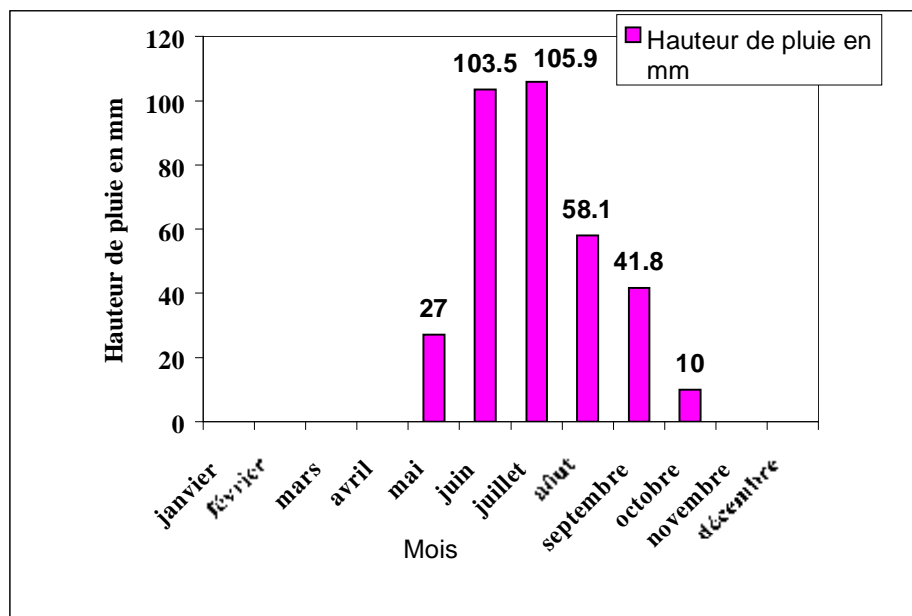
Le climat est de type sahélien avec deux saisons :

- Une saison sèche longue qui s'étend d'octobre à mai ;
- Une saison des pluies courte: de juin à septembre.

Les précipitations annuelles ne dépassent pas 500 mm de pluies.

La végétation est pauvre. Elle est constituée de petits arbres épineux et d'un maigre tapis herbacé. Les arbres fréquemment retrouvés sont : *Acacia albida* (balazan), *Adansonia digitata* (baobab), *Zizyphus micronata* (Jujubier), *Phoenix dactylifera* et *Calotropis procera*.

Il a été enregistré 346,3 mm de pluie à Madougou de mai à octobre 2001.



Source : Service Météorologie, Madougou 2001.

Figure n° 2 : Pluviométrie enregistrée à Madougou en 2001

4-1-4. Hydrographie

Ces villages ne possèdent pas de cours d'eaux. Cependant à la saison des pluies chaque village dispose d'au moins une mare alimentée par les eaux de ruissellement.

4-1-5. Population

Les Dogon, les Peulh et les Rimaïbé sont les principales ethnies rencontrées dans ces villages. Ils représentent environ 3350 habitants et vivent en sympatrie.

▼ Coutumes locales

La grande majorité des Dogon pratique l'animisme. On rencontre cependant des musulmans et des chrétiens.

La plus grande fête traditionnelle est le «bouro» ou «kögnon kanda».

Les Peulh et les Rimaïbé pratiquent la religion islamique.

Les habitudes alimentaires sont constituées par la consommation quotidienne : de têt, de bouillie de mil ou de lait (frais, caillé).

▼ Habitat

Les maisons sont en grande majorité rectangulaires en banco. Il existe aussi des maisons rondes en banco avec des toitures en chaume et des cases rondes entièrement en paille.

4-1-6. Activités économiques

L'agriculture est la principale activité des Dogon. Les Peulh pratiquent essentiellement l'élevage, quant aux Rimaïbé, ils pratiquent l'artisanat, l'élevage et le commerce.

4-1-7. Infrastructures socio-sanitaires

Seul Mantéourou Dogon dispose d'une case de santé tenue par deux aides-soignants et une matrone.

4-1-8. Raisons du choix de ce site

Nous avons choisi ce site pour les réalités suivantes :

- C'est une zone d'endémie palustre où les enfants payent un lourd tribut à cette maladie.

- La zone est idéale pour étudier la différence de susceptibilité au paludisme, car c'est une zone où il n'y a pas de brassage biologique entre les Peulh et les Dogon.
- C'est aussi une zone où le DEAP effectue depuis 1999 des études sur la susceptibilité au paludisme des groupes ethniques.

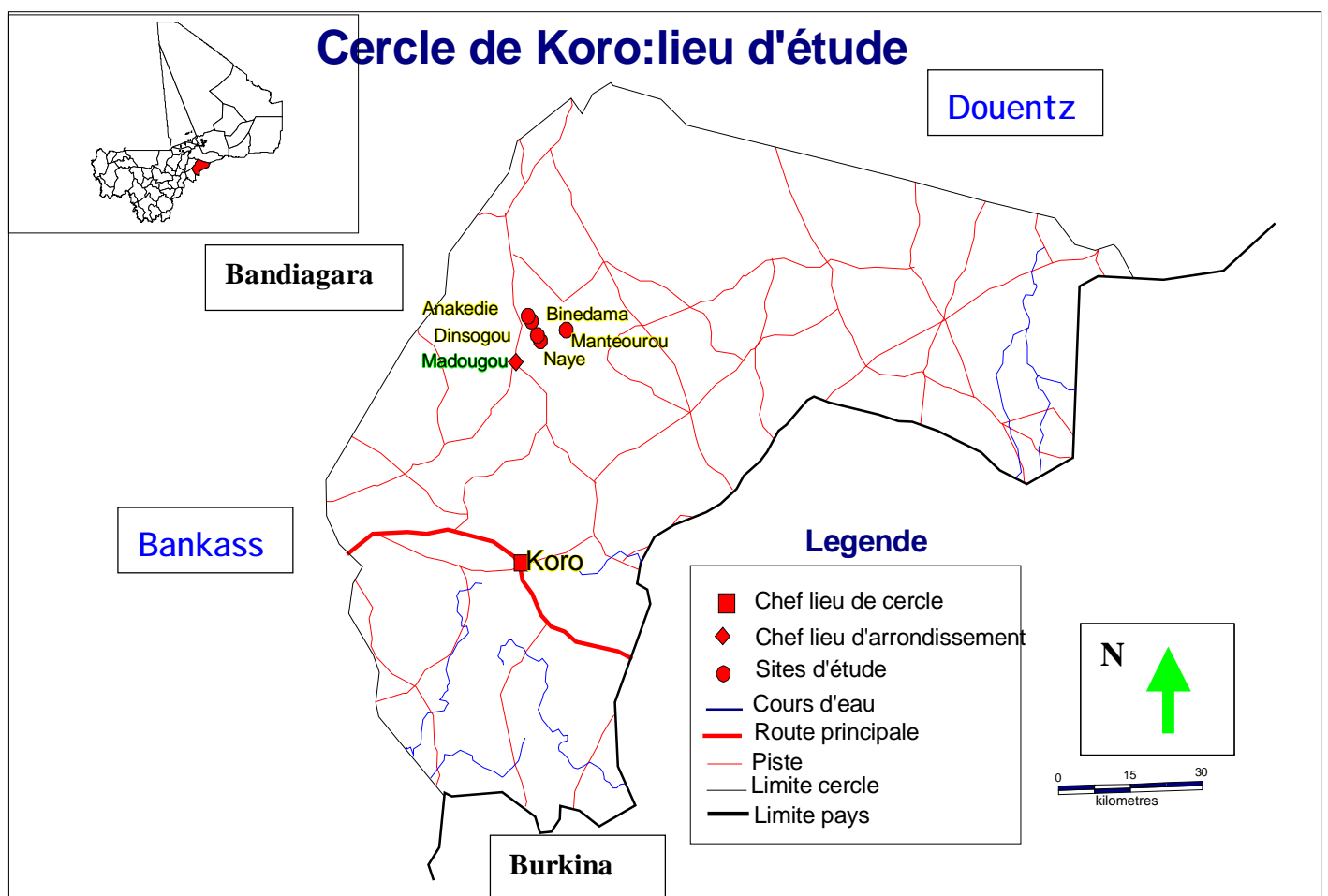


Figure n° 2 : carte du cercle de Koro

4-2. Période d'étude

Notre étude s'est déroulée d'août à décembre 2001. Nous avons effectué un suivi longitudinal du 30 août au 29 décembre et deux passages transversaux :

Le premier passage s'est déroulé du 15 au 30 septembre 2001.

Le deuxième passage s'est déroulé du 6 au 16 novembre 2001.

4-3. Type d'étude

IL s'agissait d'un suivi longitudinal de 5 mois (août à décembre), couplé à deux passages transversaux.

Le suivi longitudinal a pour but d'observer la dynamique de la chimiorésistance dans la population d'étude et d'enregistrer toutes les affections rencontrées dans la localité.

Les passages transversaux avaient pour but d'établir les indicateurs paludométriques dans la localité d'étude.

4-4. Recensement de la population d'étude, échantillonnage

Un recensement exhaustif de l'ensemble de la population des quatre villages a été effectué. Il a été attribué un numéro d'ordre et un numéro d'identification à chaque individu vivant dans ces quatre villages. L'existence de carnet de famille a facilité le recensement.

L'échantillonnage était exhaustif au cours des enquêtes transversales ; l'étude longitudinale a concerné toutes les populations vivant dans la localité d'étude. Tous les cas d'accès palustres simples et graves et tous les cas d'affections rencontrées dans la population d'étude ont été enregistrés.

4-5. Personnel d'étude

Le personnel de l'étude était composé de :

- un parasitologue,
- un médecin généraliste,
- un interne en pharmacie,
- une équipe d'entomologistes,
- deux aides-soignants locaux,
- un chauffeur,
- deux guides,
- une cuisinière.

Pour le passage de novembre en plus de ce personnel, il y avait deux immunologistes et deux pharmaciens biologistes.

4-6. Organisation du travail

4-6-1. Passages transversaux

▼ Passage transversal de septembre 2001

Le personnel était réparti entre trois postes :

- le poste I : pour l'identification,
- le poste II : pour la clinique,
- le poste III : pour la parasitologie.

Chaque poste avait une liste de recensement des habitants du village concerné. A chaque individu était attribué un numéro d'identification pour garder l'anonymat.

Entre les trois postes il y'avait une fiche de liaison (en général une carte individuelle).

▼ Passage transversal de novembre 2001

Le personnel était réparti entre deux postes :

- Le poste I était basé sur le site d'étude. Il s'occupait de l'identification (administration du consentement éclairé), de la clinique, du prélèvement de sang veineux et de l'acheminement des échantillons prélevés au laboratoire.
- Le poste II était basé au laboratoire du C.R.M.T (Centre Régional de Médecine Traditionnelle) de Bandiagara. A ce niveau, le personnel s'occupait du traitement des échantillons de sang (lympho-séparation, culture cellulaire et dosage des cytokines).

4-6-2. Le suivi longitudinal

Le suivi longitudinal a été mené par le médecin et l'interne en pharmacie basés tous les deux à Mantéourou Dogon ; ils étaient aidés dans chaque village par des guides locaux.

Deux passages par semaine étaient effectués dans chaque village pour dépister et traiter les cas de paludisme et les autres affections.

Les malades venaient seuls ou accompagnés de leurs parents pour les enfants. Parfois l'équipe se déplaçait à la recherche des patients (dépistage actif). Le médecin effectuait un examen physique complet avec interrogatoire, mesure de la température, du poids, de la tension artérielle, palpation de la rate, recherche de signes d'anémie, d'infection pulmonaire. En cas de fièvre une goutte épaisse était confectionnée, et un antipaludique était administré (en général la chloroquine).

Ceux qui avaient un antécédent de prurit à la chloroquine, étaient traités par la sulfadoxine-pyriméthamine.

Les autres affections courantes comme la toux, la dysenterie, les otites, les helminthiases étaient également traitées.

Un ou deux membres de l'équipe assuraient le suivi des sujets inclus pour l'étude de la chloroquino-résistance les trois jours suivants pour l'administration des doses de J₁, J₂ et pour la goutte épaisse de contrôle à J₃, J₇ et J₁₄.

4-7. Technique d'étude

4-7-1. Evaluation clinique et traitement

▼ Matériel

- balance (pèse personne) ;
- appareil à tension (brassard, stéthoscope)
- thermomètre électronique ;
- un stock de médicaments essentiels ;
- matériel de petite chirurgie ;
- un registre de consultation ;
- la liste de recensement de toute la population ;
- fiches de suivi clinique ;
- bureau de consultation (table, tabourets) ;
- écritaires (crayons, bics) ;
- gants.

▼ Prise de la température axillaire

La mesure de la température axillaire était effectuée avec un thermomètre électronique placé sous l'aisselle. Toute température $\geq 37,5$ °C était considérée comme un cas fébrile.

▼ Prise de poids

La pesée était effectuée à l'aide d'une balance; le poids était exprimé en kilogramme.

▼ Palpation de la rate

Elle s'effectuait chez un sujet debout et permettait de classer les splénomégalies en 5 stades selon la classification de HACKETT :

Rate 0 : rate normale non palpable même en inspiration profonde ;

Rate I : rate palpable sur la ligne mammelonnaire gauche en inspiration profonde.

Rate II : rate palpable sur la ligne mammelonnaire gauche mais ne dépassant pas une ligne horizontale passant à égale distance entre le rebord costal et l'ombilic.

Rate III : rate dépassant cette ligne sans atteindre l'ombilic.

Rate IV : rate dépassant l'ombilic sans franchir l'horizontale passant à égale distance entre l'ombilic et la symphyse pubienne.

Rate V : rate dépassant cette ligne

▼ Traitement des accès palustres simples et graves

Les accès fébriles étaient systématiquement traités. La chloroquine était le médicament de première intention devant les cas d'accès palustres simples. Elle était administrée à la dose de 25 mg/kg répartie sur trois jours (10 mg/kg les deux premiers jours et 5 mg/kg le troisième jour).

Les sels de quinine ont été utilisés dans les cas d'accès graves et compliqués à la posologie de 25 mg/kg repartis en trois doses à 8 heures d'intervalle pendant trois jours.

4-7-2. Etudes parasitologiques

▼ Matériel

- coton hydrophile ;
- alcool 90° ;
- gants en polyvinyle ;
- lames porte-objet ;
- vaccinostyle ;
- boîte de collection OMS ;
- solution de giemsa à 3% ;
- comprimé tampon (pH = 7,2) ;
- eau distillée ;
- papier hygiénique ;
- râtelier ;
- bac de coloration ;
- marqueur indélébile ;
- microscope optique ;
- groupe électrogène ;
- huile d'immersion ;
- poubelle.

▼ Mode opératoire

Le troisième ou le quatrième doigt d'une des mains à partir du pouce (de préférence la main gauche) était désinfecté avec un tampon d'alcool. Une ponction capillaire était effectuée à l'aide d'une lancette stérile. La première goutte est essuyée avec du coton sec, la deuxième est

déposée au centre d'une lame porte-objet propre et portant le numéro d'ordre du sujet. A l'aide de l'angle d'une autre lame, nous procédions à la défibrination mécanique par un mouvement circulaire de manière à étaler le sang sur un cercle d'environ un centimètre de diamètre.

Les lames étaient gardées dans des boîtes de collection OMS pour séchage et pour les mettre à l'abri de la poussière et des mouches.

▼ Coloration des lames

Les lames étaient rangées dans un bac de coloration. La solution de giemsa à 3% préalablement préparée était versée dans le bac de coloration jusqu'à ce que toutes les lames soient complètement immergées. Les lames étaient laissées dans le colorant pendant 30 à 45 mn ; après les lames étaient rincées à l'eau potable, puis séchées sur le râtelier.

Les lames du suivi longitudinal ont été lues sur place et les résultats portés dans le cahier de parasitologie et sur les fiches de suivi clinique.

Les lames des passages transversaux étaient classées par ordre croissant dans les paquets de 75 et lues au D.E.A.P à Bamako par deux microscopistes expérimentés.

4-7-3. Etude immunologique

La technique ELISA a été utilisée pour le dosage des anticorps.

La technique ELISA (Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay).

▼ Principe

C'est une technique immunoenzymatique qui permet le dosage des anticorps. La technique repose sur l'utilisation d'anticorps marqué qui est un deuxième anticorps est couplé à un marqueur enzymatique.

L'anticorps (serum) à doser est ajouté dans le puits contenant l'antigène fixé. L'ajout de l'anticorps marqué lié au complexe [Ac-Ag] est alors visualisé par addition du révélateur.

▼ Matériel

- Incubateur ;
- Réfrigérateur ;
- Plaque de microtitration ;
- Pipettes multicanaux ;
- Pipettes pasteur ;
- Embouts pour pipette ;
- Tubes ependorf ;
- Gants ;
- Poubelles.

▼ Préparation des solutions tampons

- Tampon carbonate (coating buffer)

Na₂CO₃ 1,59 g
NaHCO₃ 2,93 g
NaN₃ (20%)----- 1ml
Q.S.P ----- 1 litre

- P.B.S 10X (phosphate buffered saline)

Na₂HPO₄, 12 H₂O ----- 40g
NaCl ----- 81g
NaN₃ (20%)----- 1 ml
Q.S.P -----1 litre

- Solution de blocage

PBS 10X -----100 ml
BSA ----- 5g
Tween 20 ----- 0,5 ml
NaN₃ (20%) -----1 ml
QSP ----- 1 litre

- Solution de lavage

NaCl ----- 45g
Tween 20 ---- 2,5 ml
QSP ----- 5 litres

- Solution tampon diéthanolamine

Diéthanolamine ----- 97 ml
NaN₃ (20%) ----- 1 ml
MgCl₂, H₂O ----- 101 mg
Ajuster le pH à 9,8 avec une solution d'HCl 1N.

- Substrat

Dissoudre 1 comprimé de NPP (4 nitrophenylphosphate de sodium) dans 5 ml de solution tampon de diéthanolamine ; garder à l'obscurité.

- 0,15M Tris – tampon Hank (pH = 7,2)

Tris HCl -----211 g
Tris base ----- 0,2 g
NaCl ----- 7,88 g
Dissoudre dans 1 litre d'eau distillée.
Mélanger 1 volume du tampon Tris + 1 volume du tampon Hank + 0,02% de NaN₃.

- Antigène : c'est un sonicat de trophozoïtes et de schizontes de *P. falciparum*.

▼ Mode opératoire

- Diluer l'antigène à la concentration de 10 μ g / ml avec le tampon carbonate pour sensibiliser la plaque (coating). Répartir 50 μ l de cette dilution dans chaque puits d'une plaque de microtitration. Laisser incuber pendant une nuit à 4° C.
- Répartir dans chaque puits 100 μ l du tampon de blocage et incuber pendant 3 heures à 37° C
- Rejeter le tampon de blocage.
- Laver 4 fois la plaque avec la solution de lavage.
- Répartir 50 μ l par puits du premier anticorps (sérum à tester) dilué au 1/1000 dans la solution de blocage, incuber pendant 1 heure à la température ambiante (chambre humide).
- Laver la plaque 4 fois.
- Mettre dans chaque puits 50 μ l du conjugué anticorps de chèvre anti Ig humaine (deuxième anticorps) couplé à la phosphatase alcaline, ou d'anticorps de chèvre anti-IgG humaine biotinylé dilué au 1/5000 avec du PBS. Incuber pendant 1 heure à la température ambiante.
- Laver 4 fois la plaque.
- Si l'anti- Ig biotinylé a été préalablement utilisé, ajouter 50 μ l de streptavidine phosphatase alcaline diluée au 1/2000 dans du PBS-tween et laisser incuber pendant 1 heure à 37° C ; puis laver 4 fois la plaque.
- Répartir dans chaque puits 50 μ l de la solution de substrat.
- Recouvrir la plaque avec une feuille d'aluminium et incuber la plaque à la température ambiante pendant 20 à 30 mn.
- Effectuer la lecture de la plaque au spectrophotomètre à 405nm.

NB : pour le dosage des Ig E incuber pendant 24 heures après l'ajout du conjugué.

4-7-4. Etude entomologique

La densité de la population vectrice, leur agressivité et le taux d'infection ont été déterminés à la fois par capture de nuit sur appât humain et par capture de jour dans les habitations humaines (vaporisation d'insecticide).

▼ Capture nocturne

Deux séances de capture nocturne ont été organisées dans deux quartiers (Dogon et Peulh) de chaque village. Au cours de chaque séance deux postes de captures ont été choisis avec deux captureurs (1 à l'intérieur et l'autre à l'extérieur) dans chaque poste. Pour chaque séance 8 captureurs ont été recrutés soit au total 16 captureurs par quartier.

La dissection pour la détermination de la parité s'est déroulée dans la matinée. La parité a été déterminée par observation du degré d'enroulement des trachéoles (méthode de Detinova). La durée du cycle gonotrophique a été déterminée dans un quartier de chaque village. Chaque moustique disséqué fournit les renseignements suivants :

- le taux de parité par l'observation de l'ovaire ;
- le taux d'infection déterminée par ELISA sur la portion tête-thorax.

Les moustiques non disséqués ont été conservés dans le silicagel et sont traités plus tard à l'ELISA.

▼ Capture de jour (spray catch)

Pour les captures de la faune résiduelle 30 cases ont été prospectées par quartier dans chaque village. Après vaporisation de chaque case, le nombre de sujets dormant dans la case, le nom du propriétaire de la case et de la concession ont été relevés. Les moustiques récoltés ont été classés par espèce et par état de réplétion. Les ovaires semi-gravides ont servi à la détermination des formes chromosomiques par la méthode cytogénétique. Les portions tête-thorax de tous les moustiques capturés ont été traités à l'ELISA pour la détermination du taux d'infection. Les parties de l'abdomen des moustiques gorgés et des sémi-gravides ont été traitées à l'ELISA pour la détermination du taux d'anthropophilie.

▼ Prospection des gîtes larvaires

Une séance de prospection des gîtes larvaires s'est déroulée dans chaque village au cours de chaque passage. Tous les gîtes larvaires ont été identifiés et localisés pour chaque village.

4-7-5. Etude du polymorphisme de la MSP1 (Merozoite Surface protein 1)

Un groupe de 85 confettis du passage transversal de septembre 2000 ont été sélectionnés de façon aléatoire pour étudier la distribution du polymorphisme allélique (K1, Mad 20, RO 33) de la MSP 1 chez *Plasmodium falciparum* dans la localité.

4-7-5-1. Extraction de l'ADN plasmodial par la méthode au Chelex-100

Les spots de confettis imbibés de sang sont découpés à l'aide de ciseaux et introduits dans des tubes Ependorf de 1,5 ml (Robbins Scientific-Sunnyvale, CA). Un ml de saponine (Sigma-St Louis, MO) à 1% dans de l'eau distillée était ajouté et incubé à 4° C pendant au moins 10 heures. La saponine dissout la double couche phospholipidique du globule rouge. Cette altération détruit la membrane de l'hématie et libère le parasite. L'incubation à 4° C a pour effet l'inhibition des enzymes libérées par la lyse des hématies.

Le papier filtre était ensuite lavé à l'aide du PBS 1X (Sigma – St Louis, MO) 3 fois. Le PBS est un détergent qui enlève l'hémoglobine et le reste de la saponine présent dans la solution. Une fois la dernière solution de lavage éliminée, 200 µl de Chelex-100 (Bio-Rad – Hercules, CA) à 5% dans de l'eau distillée sont ajoutés et chauffés à 56° C pendant 15 mn dans un bain-marie. L'ADN se trouve normalement lié aux ions Mg^{2+} et Ca^{2+} qui sont des cofacteurs. Le Chelex-100 permet de chélater ces cations polyvalents et libère l'ADN. Le papier filtre est ensuite trituré à l'aide d'embout de pipette et le tube centrifugé à 12000g pendant 3 mn dans une centrifugeuse Ependorf (Robbins Scientific).

L'échantillon est porté à ébullition à 100° C pendant 8 mn. Après avoir trituré une dernière fois le papier filtre est rejeté. La centrifugation à 12000g pendant 3 mn permet le dépôt du Chelex au fond du tube tandis que le surnageant qui contient l'ADN est recueilli et conservé à -20° C.

4-7-5-2. Amplification *in vitro* de l'ADN : Polymerase Chain Reaction (PCR).

▼ Principe

Il consiste à utiliser de courtes séquences d'ADN (oligonucléotides) comme amorces et une enzyme (*Taq polymerase*) pour répliquer en copies multiples une portion d'ADN dont les séquences aux extrémités 3'et 5'sont connues. Les deux nucléotides doivent avoir une séquence complémentaire des extrémités de chacun des deux brins d'ADN. La synthèse à partir des deux amorces a lieu simultanément et aboutit à la duplication de la séquence matrice initiale.

▼ Matériel :

Gants stériles
Tubes de 0.5 ml, 1.5ml, 15ml et de 50 ml
Ciseaux
Pipettes de 2 µl, 10 µl, 20µl, 200µl, 1000µl
Embouts de 2 µl, 10µl, 20µl, 200µl, 1000µl
Agitateur

Chronomètre
Congélateur
Box de conservation
Marqueur indélébile
Cuve pour migration
Cuve pour gel
Peignes pour gel
Hotte
Scotch pour papier
Cahier de paillasse
Bics
Balance pèse produit
Erlenmeyer
Racks pour les tubes.
Robocycler
Appareil photo UV
Film polaroid
Centrifugeuse
Paraffine
Mouchoir

▼ Préparation des mélanges réactionnels

La préparation du mélange réactionnel est fonction du nombre d'échantillon à traiter. Le volume réactionnel est de 45 µl et sa préparation doit respecter les normes ci-après :

Réactifs	Concentrations finales	Volume par réaction en ml
H ₂ O distillée		33,25
10X PCR Buffer		5
MgCl ₂	50 mM	2
4x dNTP	10 mM	4
Amorces 5'+3'	1 µM	0,50
Taq polymerase	5 U	0,25
Total		45

▼ Mode opératoire

- Repartir dans chaque tube à PCR (Robbins Scientific Sunnyvale, CA) 45µl de MIX, ajouter 5 µl d'ADN dans chaque tube correspondant au numéro d'ADN.
- Ajouter une goutte d'huile minérale (Sigma – FC).
- Placer les tubes bien fermés dans la machine à PCR « Robocycler 40 » (Stratagene, La Jolla, CA).

▼ Programme d'amplification de la MSP 1

La dénaturation initiale est effectuée à 95° C pendant 2 mn 10 s puis suivent 35 cycles d'amplification. Chaque cycle comprend les étapes suivantes :

- dénaturation à 94° C pendant 30 secondes
- hybridation à 57° C pendant 40 secondes
- extension à 72° C pendant 70 secondes.

▼ Préparation du gel à 2%

On pèse 2 g d'agarose ultra pure (Gibco, Life Technologies) puis on le verse dans un erlenmeyer de 250 ml. Ensuite 80 ml de TBE 0,1X (Gibco, Life Technologies) sont ajoutés et le mélange est porté à 100° C pendant 3 mn. Après chauffage, 26 µl de bromure d'ethidium à 0,1 mg/ ml sont ajoutés. La préparation ainsi obtenue est coulée dans un support de gel avec un peigne à 15 dents. La polymérisation du gel a lieu en 30 mn.

▼ Révélation des produits amplifiés

Treize microlitres du produit d'amplification mélangés à 2 µl de « Dye » (Quality Biological Inc, Gaithersburg, MD) sont logés dans les différents puits du gel d'agarose à 2% placé dans un bac de migration contenant 700 ml de Tris Borate EDTA, 0,5X (Gibco) et de 210 µl de BET (Gibco). Une tension de 90 volts (200 mA) est appliquée pendant 45 mn. Au niveau du premier puits sont déposés 13 µl de marqueur de poids moléculaire (Boehringer Mannheim, Indianapolis IND). Après l'arrêt de la migration le gel était photographié sous UV à l'aide d'une caméra photo (FOTODYNE®). L'image du gel est ainsi marquée et conservée pour interprétation.

4-7-6. Etude de la chloroquino-résistance

Le test *in vivo* standard de l'OMS de 14 jours a été utilisé pour évaluer la sensibilité thérapeutique de *P. falciparum* à la chloroquine.

4-7-6-1. Critère d'inclusion à l'étude longitudinale

Etaient incluses toutes personnes résidentes dans un des villages de l'étude, ayant une température axillaire non corrigée supérieure ou égale à 37,5 °C, une G.E positive à *P. falciparum* à J₀ ; dont le consentement (ou l'assentiment) éclairé a été obtenu. Les sujets inclus étaient répartis en deux groupes :

- ~ les sujets de 0 à 9 ans pour le test *in vivo*
- ~ les sujets de plus de 9 ans pour la réponse clinique.

4-7-6-2. Critère de non-inclusion

Les critères de non-inclusion étaient :

- le refus de participer à l'étude ;
- personnes ayant des vomissements répétés après la prise de la chloroquine à J₀ ;
- personnes ayant un antécédent de prurit à la chloroquine ;
- autres causes évidentes de fièvre (bronchite, otites suppurées).

4-7-6-3. Les pertes de vue

Il est difficile de suivre tous les malades qui participent à l'étude d'efficacité thérapeutique jusqu'à la fin du suivi, surtout en milieu rural pendant la saison des pluies à cause des travaux champêtres, ménagers et des pâturages.

On définit comme perte de vue, tout malade qui abandonne l'étude au cours de la période de suivi, sans que des critères de non-inclusion apparaissent, même s'il satisfait à tous les critères d'inclusion.

4-7-6-4. Méthode de suivi

Le suivi a été effectué selon le schéma suivant :

Ø J₀ : prise de la température, palpation de la rate, confection de G.E + confettis et administration de la première dose de chloroquine (10mg/kg de poids corporel).

Ø J₁ : examen physique, prise de la température, administration de la deuxième dose de chloroquine (10mg/kg de poids corporel).

Ø J₂ : examen physique, prise de la température, administration de la troisième dose (5mg/kg de poids corporel).

Ø J₃ : examen physique, prise de la température, confection de G.E pour le contrôle de la parasitémie, administration de la vitamine C.

Ø J₇ : examen physique, prise de la température, confection de G.E pour le contrôle de la parasitémie, administration de la vitamine C.

Ø J₁₄ : examen physique, prise de la température, confection de G.E + confettis, administration de la vitamine C.

La vitamine C était utilisée comme médicament d'appoint et administrée à la dose d'un comprimé de 250mg à chaque confection de G.E pour le contrôle de la parasitémie à J₃, J₇ et J₁₄.

4-7-6-5. Mode d'administration de la chloroquine

La chloroquine que nous avons utilisée était du phosphate de chloroquine dosé à 100 mg de base en comprimés sécables de l'U.M.P.P et du G.I.E «IDA» santé pour tous.

La chloroquine était administrée aux enfants par nous-mêmes après avoir estimé leur poids et après le prélèvement de sang à la posologie de 25mg/kg répartie sur 3 jours soit : 10mg/kg à J₀ et J₁ et 5mg/kg à J₂.

Aux tout petits (0 à 5 ans), nous prenions soin d'écraser la dose à administrer dans une cuillère contenant un peu d'eau potable ou du S.R.O à l'aide d'une deuxième cuillère.

Pour les grands enfants et les adultes, l'administration du produit ne posait généralement pas de problème majeur.

On gardait certains enfants pendant au moins 30mn, notamment ceux qui ont eu des nausées ou qui ont vomi avant la prise du médicament.

On laissait les enfants aller chez eux dès que possible avec des consignes aux parents.

4-7-6-6. Evaluation des échecs thérapeutiques

Les réponses cliniques ont été classées en 3 groupes :

- Echec thérapeutique précoce (E.T.P) ;
- Echec thérapeutique tardif (E.T.T) ;
- Réponse clinique satisfaisante (R.C.S).

Définitions des ETP, ETT et RCS.

La réponse au traitement est classée échec thérapeutique précoce (E.T.P) si le malade présente l'un des signes suivants au cours des trois premiers jours de suivi :

Ø Apparition des signes de danger ou d'un paludisme grave les jours 1, 2 ou 3, en présence d'une parasitémie ;

Ø Température axillaire supérieure ou égale à 37,5 °C le jour 2 avec une parasitémie supérieure à celle du jour 0 ;

Ø Température axillaire supérieure ou égale à 37,5 °C le jour 3 en présence d'une parasitémie ;

Ø Parasitémie supérieure ou égale à 25% de celle du jour 0.

La réponse au traitement est classée échec thérapeutique tardif (E.T.T) si le malade présente l'un des signes suivants pendant les jours 4 à 14 de la période de suivi :

Ø Apparition de signes de danger ou d'un paludisme grave en présence d'une parasitémie n'importe quel jour entre le jour 4 et le jour 14, sans que le malade ait auparavant répondu aux critères d'échec thérapeutique précoce ;

Ø Température axillaire supérieure ou égale à 37,5 °C en présence d'une parasitémie n'importe quel jour entre le jour 4 et le jour 14, sans que le malade ait auparavant répondu aux critères d'échec thérapeutique précoce.

La réponse clinique satisfaisante se définit par :

Ø Une absence de parasitémie le jour 14 quelle que soit la température axillaire, sans que le malade ait auparavant répondu aux critères d'échec thérapeutique précoce ou tardif ;

Ø Une température axillaire inférieure à 37,5 °C avec ou sans parasitémie, sans que le malade ait auparavant répondu aux critères d'échec thérapeutique précoce ou tardif.

4-7-6-7. Résistances parasitologiques

Selon l'O.M.S une souche de *P. falciparum* est dite sensible :

Lorsque les parasitémies aux jours 3, 7 et 14 sont nulles ou lorsque la parasitémie à J₃ est inférieure à 25% de celle du J₀ et que les parasitémies des jours 7 et 14 sont nulles.

Une souche de *P. falciparum* est dite résistante si elle n'est pas sensible. On distingue trois types de résistances :

- **La résistance R I**

Une souche de *P. falciparum* est dite résistante de type I lorsque la parasitémie est nulle à J₂ et ré-apparaît entre J₇ et J₁₄.

- **La résistance R II**

Une souche de *P. falciparum* est dite résistante de type II lorsque la parasitémie à J₂ est inférieure à 25% de la parasitémie initiale en présence d'une parasitémie positive à J₇.

- **Résistance R III**

Une souche de *P. falciparum* est dite résistante de type III lorsque la parasitémie à J₂ est supérieure ou égale à 25% de la parasitémie à J₀ ou lorsque la parasitémie augmente progressivement de J₀ à J₁₄.

4-7-6-8. Etude de la chloroquino-résistance par la Polymerase Chain Reaction (PCR)

PfCRT-K76T PCR nichée : Méthode de digestion

▼ Principe

Le principe consiste à faire le diagnostic de la mutation ponctuelle *pfcr-t-K76T* par une PCR nichée. Au cours de cette technique, le produit issu d'une première PCR est de nouveau amplifié à l'aide d'un second couple d'amorces, qui s'hybride à une partie interne (nichée) de la séquence amplifiée.

En mélangeant le couple d'amorces avec de l'ADN de *P. falciparum* dans des conditions d'hybridation, elles se positionnent en face de leurs séquences complémentaires respectives. Puis, en faisant agir une ADN

polymerase (*Taq polymerase*), chaque amorce est allongée dans le sens 5' =>3' d'une séquence exactement complémentaire du brin recopié.

▼ Matériel :

Gants stériles
Tubes de 0.5 ml, 1.5ml, 15ml et de 50 ml
Ciseaux
Pipettes de 2 µl, 10 µl, 20µl, 200µl, 1000µl
Embouts de 2 µl, 10µl, 20µl, 200µl, 1000µl
Agitateur
Chronomètre
Congélateur
Box de conservation
Marqueur indélébile
Cuve pour migration
Cuve pour gel
Peignes pour gel
Hotte
Scotch pour papier
Cahier de pailleasse
Bics
Balance pèse produit
Erlenmeyer
Racks pour les tubes.
Thermocycler
Appareil photo UV
Film polaroid
Centrifugeuse
Paraffine
Mouchoir

▼ Réactifs:

Méthanol
Agarose ultra pure GIBCO BRL
Bromure d'Ethidium (Sodium)
Amorces
 Première amplification : *P1* : CCGTTAATAATAAATACACGCAG
 P2 : CGGATGTTACAAAACCTATAGTTACC

 Deuxième amplification : *D1* : TGTGCTCATGTGTTTAAACTT
 D2 : CAAAACCTATAGTTACCAATTTTG
dNTP: Desoxy Nucléotide Tri phosphate
10X PCR - Buffer
2.5 mM Chlorure de Magnésium

Taq polymerase
Eau dé-ionisée

Préalable : Porter des gants stériles et nettoyer l'aire de travail ainsi que les pipettes avec de l'alcool à 70 % ou la DNase

▼ Première amplification

1 - Identifier les tubes nécessaires pour la réaction PCR envisagée.
2 – Ensuite, préparer la mixture (mélange réactionnel) en fonction du nombre total d'échantillons à traiter (maximum de 60 tubes dont 55 échantillons, 2 témoins positifs : 1 mutant et 1 sensible et 3 témoins négatifs : eau utilisée pour l'extraction, mélanges réactionnels des 1^{ère} et 2^{ème} amplifications) selon le tableau ci – après.

Préparation du MIX de la première amplification pour un volume final de 20ml.

Composants	Concentrations finales	Volume / réaction en ml
H ₂ O		12,125
5X PCR Buffer 2,5mM	1X	5
10XdNTP 0,2mM	1X	2,5
100X Amorces P1+P2	0,1X	0,25
Taq polymerase	0,05	0,125
Total		20

- Repartir dans chaque tube 20µl de MIX.
- Ajouter 5 µl d'ADN dans chaque tube correspondant au numéro d'ADN
- Placer les tubes bien fermés dans le thermocycler pour la première amplification en utilisant le programme ci-dessous

Programme d'amplification PfCRT-K76T

Dénaturation initiale à 94°C pendant 3 minutes

Puis 45 cycles de:

- . dénaturation à 94°C pendant 30 secondes
 - . hybridation à 56°C pendant 30 secondes
 - . extension à 60°C pendant 1minute
 - . extension finale à 60°C pendant 3 minutes.
 - . Conservation à +4° C pendant un temps indéterminé
- Sortir les tubes et les garder au réfrigérateur à +4 °C

▼ Deuxième amplification

- Identifier les tubes pour la 2^{ème} amplification en reportant les numéros précédents.
- Préparer le MIX pour la 2^{ème} amplification en fonction du nombre d'échantillons à traiter (maximum 55 échantillons) par réaction selon le tableau suivant (24 µl par échantillon).

Préparation du MIX de la deuxième amplification

Composants	Concentrations finales	Volume / réaction en ml
H ₂ O		16,125
5X PCR Buffer 2,5 mM	1X	5
10XdNTP'S 0,5 mM	1X	2,5
100X AmorcesD1+D2	0,1X	0,25
Taq polymerase	0,05	0,125
Total		24

- Repartir dans chaque tube 24 µl de MIX
- Ajouter 1µl du produit de la 1^{ère} amplification dans chaque tube correspondant
- Placer les tubes dans le thermocycler pour la 2^{ème} amplification suivant le programme ci-après

Programme d'amplification Pf CRT-K76T

- . Dénaturation initiale à 95°C pendant 5 minutes
- . dénaturation à 92°C pendant 30 secondes
- . hybridation à 48°C pendant 30s
- . extension à 65°C pendant 1minute
25-30 cycles
- . extension finale à 65°C pendant 3 minutes
4° C pendant durée illimitée

▼ Révélation

- Préparer le moule à gel contenant les peignes en fonction du nombre d'échantillons à traiter
- Préparer un gel d'agarose à 2 % comme suit :
 - * Dissoudre 2 g d'agarose dans 100 ml de TBE à 0,5X
 - * Faire bouillir ce mélange dans un four à micro-onde pendant 3mn
 - * Ajouter 3µl de BET à 10mg/ml dans l'agarose bouillie.
- Couler le gel dans le moule et attendre sa solidification

- Enlever les peignes et placer le gel avec le moule dans la cuve de migration contenant le TBE à 0,5X. Le gel doit être entièrement immergé.
- Découper le papier parafilm
- Placer sur le parafilm 1 µl de Dye pour chaque échantillon à migrer.
- Placer 5µl du marqueur de poids moléculaire dans le 1^{er} puits.
- Mélanger 5 µl de chaque échantillon au Dye puis loger dans les puits les échantillons.
- Faire migrer à 100 V pendant 20 –30mn
- Sortir le gel du moule et le placer sur l'appareil à UV pour la photographie.
- Annoter la photo en marquant devant chaque puits le numéro de l'échantillon correspondant.

▼ Interprétation de la photographie

Une bonne réaction se traduit par la présence de bandes. Dans ce cas, il faut apprécier la conformité de la taille du produit attendu, ainsi que la taille des témoins positifs et négatifs.

▼ Digestion des produits d'amplification

- Identifier les tubes avec les numéros précédents
- Préparer le MIX pour la digestion (le volume dépend du nombre de réactions)

Composition du MIX de digestion

REACTIFS	VOLUME PAR REACTION
5X BUFFER N°3	2 µl
BSA	0,2 µl
ENZYME (Apo 1)	0,25 µl
H2O	12,55 µl
TOTAL	15 µl

- Mettre dans chaque tube 15 µl de MIX
- Ajouter 5 µl du produit de la 2^{ème} amplification dans les tubes correspondants.
- Mettre les tubes bien fermés dans le thermocycler à 50°C pendant 6 heures.
- Enlever les tubes du thermocycler et les placer à + 4°C dans le réfrigérateur.

Interprétation de la photographie

Les échantillons avec des bandes de même taille que le témoin sensible correspondent aux souches sensibles à la chloroquine. Par contre ceux avec des bandes de même taille que le témoin résistant correspondent aux souches résistantes à la chloroquine.

Un échantillon est considéré mixte quand il présente à la fois une bande correspondant au témoin sensible et une bande correspondant au résistant.

4-7-7. Evaluation du prurit à la chloroquine

Les déclarations des parents (pour les petits enfants) ou celles des grands enfants (enfants d'âge scolaire) et les adultes ont servi d'outil de collecte pour cette variable.

A la consultation, on recherchait des signes en faveur du prurit : faciès sommeilleux et amimique, peau parcourue de lésions de grattage, ongles des doigts brillants, pleurs inexplicables sans raison apparente quelques heures après l'administration de la chloroquine.

Pour des raisons d'éthiques, tout sujet ayant présenté un prurit à la chloroquine au cours de l'étude recevait un antipaludique de remplacement (sulfadoxine-pyriméthamine).

4-7-8. Etude de la résistance à la sulfadoxine-pyriméthamine

Les sujets qui avaient un antécédent de prurit à la chloroquine étaient suivis à la sulfadoxine-pyriméthamine (S.P) pendant 14 jours.

Le suivi a été effectué selon le schéma suivant :

Ø **J₀** : prise de la température, palpation de la rate, confection de G.E + confettis et administration de la sulfadoxine-pyriméthamine à une dose unique équivalente à 1,25mg de pyriméthamine par kg de poids corporel (soit 3 comprimés de S.P pour les adultes).

Ø **J₁** : examen physique, prise de la température, administration d'une dose de paracétamol en cas de fièvre (1/4 de comprimé pour les enfants de 0 à 3 ans, un demi-comprimé pour les enfants de 4 à 9 ans et 2 comprimés pour les adultes).

Ø **J₂** : examen physique, prise de la température, administration d'une dose de paracétamol en cas de fièvre (1/4 de comprimé pour les enfants de 0 à 3 ans, un demi-comprimé pour les enfants de 4 à 9 ans et 2 comprimés pour les adultes).

Ø **J₃** : examen physique, prise de la température, confection de G.E pour le contrôle de la parasitémie, administration de la vitamine C.

Ø **J₇** : examen physique, prise de la température, confection de G.E pour le contrôle de la parasitémie, administration de la vitamine C.

Ø **J₁₄** : examen physique, prise de la température, confection de G.E + confettis, administration de la vitamine C.

La vitamine C était utilisée comme placebo et administrée à la dose d'un comprimé de 250mg à chaque confection de G.E pour le contrôle de la parasitémie à J₃, J₇ et J₁₄.

4-8. Les variables mesurées

4-8-1. Variables socio-démographiques

Age, sexe, ethnie, activités professionnelles.

4-8-2. Variables cliniques

- La température axillaire
- La taille de la rate
- Le poids

4-8-3. Variables parasitologiques

- Indice splénique
- Indice plasmodique
- Densité parasitaire.

4-8-4. Variables immunologiques

- Taux d'Ig G et d'Ig E,

4-8-5. Variables entomologiques

- Densité et agressivité anophélienne,
- Taux d'infection anophélienne,
- Taux de parité anophélienne,
- Taux d'inoculation entomologique
- Taux d'anthropophilie.

4-9. Considérations éthiques

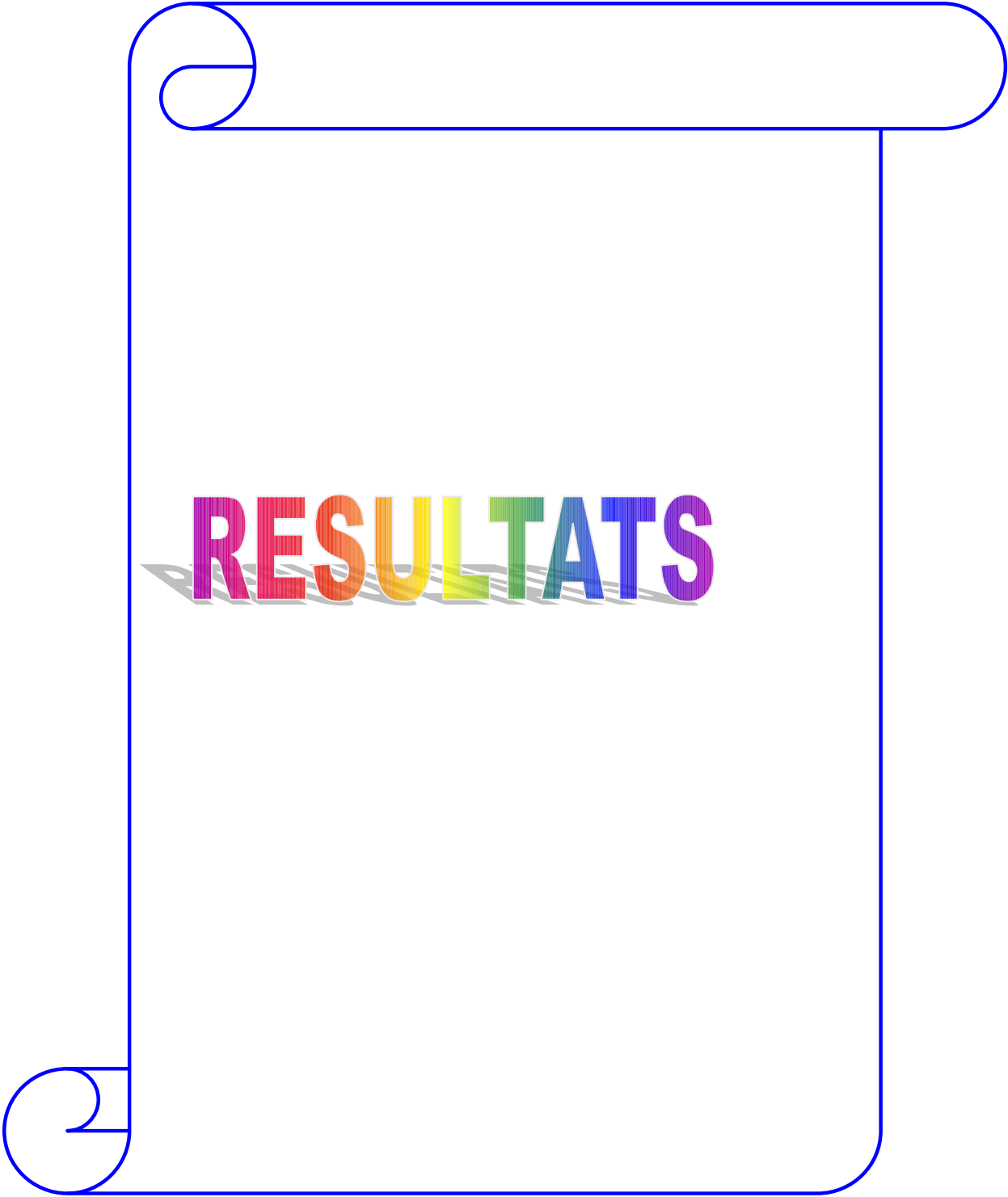
Ce travail a été mené après l'approbation du comité d'éthique de la F.M.P.O.S du Mali.

Tous les cas d'affections (paludisme et autres) étaient systématiquement pris en charge.

Les cas chirurgicaux étaient référés sur le centre socio-sanitaire du cercle de Koro. Les prélèvements étaient effectués avec le consentement éclairé des sujets concernés ou l'assentiment éclairé des parents pour les enfants.

4-10. Gestion et analyses des données

Les données ont été enregistrées sur des fiches standards, saisies et analysées avec le logiciel EPI-INFO 2000.
Le test de khi carré et de probabilité exacte de Fisher ont été utilisés pour la comparaison des variables qualitatives. L'odds ratio et le risque relatif ont permis de rechercher les facteurs de risque ou de protection.
Le test de Student a été utilisé pour la comparaison des moyennes.
Pour l'analyse les Rimaïbé ont été exclus pour raison de faible taille d'échantillon.



RESULTATS

5. RESULTATS

5-1. Passage transversal

5-1-1. Résultats socio-démographiques

Tableau I : Répartition de la population étudiée selon l'ethnie

Ethnie	Effectifs des participants	Pourcentage(%)
Dogon	1334	75,7
Peulh	383	21,7
Rimaïbé	45	2,6
Total	1762	100

L'ensemble de la population étudiée était composée de 75,7% de Dogon, 21,7% de Peulh et 2,6% de Rimaïbé.

Tableau II : Répartition par groupe d'âge de la population d'étude selon l'ethnie.

Ethnie	0 à 9 ans	> 9 ans
Dogon	613	721
Peulh	165	218
Rimaïbé	23	22
Total	801	961

P = 0,4

Le nombre de participants des sujets de plus de 9 ans était comparable (961 soit 54,5%) à celui de moins de 9 ans (801 soit 45,5%).

La moyenne d'âge entre les deux groupes d'ethnie (Dogon et Peulh) était comparable, soit 19,71 ans pour les Dogons et 19,25 ans pour les Peulh.

Tableau III : Répartition de la population d'étude selon le sexe

Sexe	Effectif	Pourcentage
Masculin	763	43,3
Féminin	999	56,7
Total	1762	100

P < 10⁻⁶

Les sujets de sexe féminin sont significativement plus représentés (56,7%) que ceux de sexe masculin (43,3%).

Tableau IV : Distribution de la population étudiée selon les villages.

Village	Effectif	Pourcentage
Mantéourou Dogon	749	42,5
Naye Peulh	185	10,5
Naye Dogon – Dinsogou	322	18,3
Mantéourou Peulh	133	7,5
Binédama	116	6,6
Anakédié	257	14,6
Total	1762	100,0

5-1-2. Résultats entomologiques

5-1-2-1. Composition de la population vectrice du paludisme dans la localité d'étude.

Tableau V: Fréquences relatives d'*An. gambiae s.s* et d'*An. arabiensis* dans la localité d'étude en septembre 2001.

Ethnies	Villages	Espèces				Total
		<i>An.gambiae s.s.</i>		<i>An.arabiensis</i>		
		N	%	N	%	
Dogon	Mantéourou	31	72,1	12	27,9	43
	Naye-Dinsogou	36	66,7	18	33,3	54
	Anakédié	64	67,4	31	32,6	95
	Total	131	68,2	61	31,8	192
Peulh	Mantéourou	24	63,2	14	36,8	38
	Binédama	83	60,1	55	39,9	138
	Naye	47	81,0	11	19,0	58
	Total	154	65,8	80	34,2	234

En milieu Dogon *An. gambiae s.s.* représentait 68,2 % contre 65,8 % en milieu Peulh.

Les distributions d'*An. gambiae s.s.* et d'*An. arabiensis* sont comparables entre les milieux Dogon et Peulh (khi carré = 0,18 et P=0,67).

5-1-2-2. Estimation de la densité et de l'agressivité

a. Agressivité estimée à partir des captures de nuit

Tableau VI: Agressivité d'*An.gambiae s.l.* estimée par ethnie à partir des captures de nuit en septembre 2001.

Ethnies	Nombre de captureurs	TMC	Ma : p / h / n
Dogon	12	129	10,75
Peulh	12	160	13,33

P = 0,6

L'agressivité moyenne (nombre de moustiques capturés/nombre total de captureurs) est de 10,75 piqûres par homme et par nuit en milieu Dogon contre 13,33 piqûres par homme et par nuit en milieu Peulh. Nous n'avons pas observé de différence statistique du taux d'agressivité ($p = 0,6$) entre milieu Peulh et milieu Dogon.

b. Densité estimée à partir des captures de jour

Tableau VII : Densité d'*An.gambiae s.l.* estimée à partir des captures de jour en septembre 2001

Ethnies	NCV	TMC	DC
Dogon	90	1938	21,5
Peulh	90	2057	22,8

P = 0,1

N.B : NCV = Nombre de Cases Visitées
 N.D. = Nombre de dormeurs
 TMC = Total moustiques capturés
 DC = Densité par case
 Ma = Agressivité

La densité moyenne de moustiques observée en milieu Dogon (21,5 moustiques par case) était comparable à celle observée en milieu Peulh (22,8 moustiques par case). P = 0,1

5-1-2-3. Taux d'infection

Tableau VIII : Taux d'infection pour *An. gambiae s.l.* dans la localité d'étude en septembre 2001

Ethnies	Total traité	Total positif	Taux (%)
Dogon	611	71	11,62
Peulh	626	58	9,26

$$\text{Chi}^2 = 1,49 \quad p = 0,2$$

Le taux d'infection moyen pour *An. gambiae s.l.* en milieu Dogon (11,62 %) était comparable à celui observé en milieu Peulh (9,26 %) en septembre 2001. $\text{Chi}^2 = 1,49 \quad p = 0,2$

5-1-2-4. Taux de parité à partir des captures de nuit

Tableau IX : Le taux de parité moyen d'*An. gambiae s.l.* selon le milieu dans la localité d'étude en septembre 2001

Ethnies	Total moustiques disséqués	Total pares	Taux de parité (%)
Milieu Dogon	113	100	88,5
Milieu Peulh	157	140	89,2

$$P = 0,9$$

Le taux de parité (nombre de femelles estimées avoir fait au moins une ponte/nombre total de moustiques disséqués) est de 88,5 % en milieu Dogon contre 89,2 % en milieu Peulh. Nous n'avons pas observé de différence statistiquement significative de taux de parité entre le milieu Dogon et Peulh (p = 0,9).

5-1-2-5. Taux d'anthropophilie

Tableau X : Le taux moyen d'anthropophilie d'*An. gambiae s.l* en milieu Dogon et Peulh en septembre 2001

Ethnies	Total moustiques Traités	Total humain	Taux de parité (%)
Milieu Dogon	105	90	85,7
Milieu Peulh	96	77	80,2

Le taux d'anthropophilie (nombre de femelles estimées avoir pris du sang humain sur nombre total de moustiques traités) est de 85,7 % en milieu Dogon contre 80,2 % en milieu Peulh.

5-1-2-6. Taux d'inoculation entomologique (TIE)

Tableau XI: Taux d'inoculation entomologique pour *An. gambiae s.l.* en septembre 2001 obtenu à partir des captures de jour

Ethnies	Ma (p/h/n)	IAS (%)	TIE (p.inf/h/n)
Milieu Dogon	3,30	11,62	0,3835
Milieu Peulh	4,14	9,26	0,3834

Taux d'inoculation entomologique moyen observé pour *An. gambiae s.l.* à partir des captures de jour était de 0,3835 piqûre infectée/homme/nuit en milieu Dogon contre 0,3834 en milieu Peulh. Il n'existe pas de différence significative entre le taux d'inoculation entomologique observé en milieu Dogon et celui du milieu Peulh.

5-1-3. Résultats cliniques

Tableau XII : Répartition des sujets fébriles par ethnie au cours du passage transversal de septembre 2001.

Ethnie	Effectif	Sujets fébriles	Pourcentage
Dogon	1334	64	4,8
Peulh	383	19	5,0
Total	1717	83	4,8

P = 0,4

Les sujets fébriles entre les deux ethnies sont comparables, soit 4,8% chez les Dogon et 5.0% chez les Peulh (p = 0,4).

Le taux des sujets fébriles dans la population d'étude était de 4,8% au cours du passage transversal.

Tableau XIII : Répartition de l'indice splénique (IS) entre les deux groupes ethniques en fonction des groupes d'âge.

Ethnie	Total examiné	0 à 9 ans		> 9 ans		IS global (%)
		Rate +	IS (%)	Rate +	IS (%)	
Dogon	1328	193	31,5	38	5,3	17,4
Peulh	382	101	61,2	46	21,2	38,5
Total	1710	294	37,8	84	9,0	22,1

$\text{Khi}^2 = 77,87 \quad p < 10^{-6}$

Les Peulh avaient un indice splénique significativement plus élevé (38,5%) que les Dogon (17,4%). Chez les sujets de 0 à 9 ans l' indice splénique était statistiquement plus élevé chez les Peulh (61,2%) que chez les Dogon (31,5%). La même tendance est observée chez les sujets de plus de 9 ans.

5-1-4. Résultats parasitologiques

Tableau XIV: Distribution de l'indice plasmodique (IP) entre les deux groupes ethniques en fonction des groupes d'âge.

Ethnie	Total examiné	0 à 9 ans		> 9 ans		IP global (%)
		GE +	IP (%)	GE +	IP (%)	
Dogon	1334	203	35,6	78	11,4	21,1
Peulh	383	50	33,7	11	5,3	15,9
Total	1717	253	35,2	89	10,0	19,9

$\text{Khi}^2 = 24,63 \quad p = 0,00005$

Les Dogon avaient un indice plasmodique plus élevé (21,1%) que chez les Peulh (15,9%). $p = 0,00005$

L'indice plasmodique global dans la population était de 35,2% chez les sujets de moins de 9 ans et 10% chez les sujets de plus de 9 ans

Tableau XV: Formule parasitaire

Espèce	Fréquence	Formule parasitaire (%)
<i>P. falciparum</i>	344	95
<i>P. malariae</i>	13	4
<i>P. f + P. m</i>	6	1
Total	363	100

Deux espèces de Plasmodium ont été retrouvées dans la population étudiée : *Plasmodium falciparum* et *Plasmodium malariae*.

L'espèce *P. falciparum* était plus fréquente avec 95% contre 4% pour *P. malariae*. L'association *P. falciparum* et *P. malariae* étaient de 1%.

Tableau XVI : Distribution de la parasitémie selon les deux groupes ethniques.

Ethnie	Effectif	Moyenne	Variance	Médiane
Dogon	276 (16%)	9211	3,9	3000
Peulh	57 (3,3%)	4302	6,4	1675

$n = 1717$

Test de Kruskal – Wallis = 7,6 ; $p = 0,005$.

La densité parasitaire était significativement plus élevée chez les Dogon (16%) que chez les Peulh (3,3%).

Tableau XVII : Distribution des cas fébriles en fonction de la densité parasitaire.

Densité	0	1-1000	1001-5000	>5000	Total
Fièvre +	38	5	15	27	85
Fièvre -	1256	86	114	106	1562
Fréquence	2,9%	5,5%	11,6%	20,6%	5,2%
Total	1294	91	129	133	1647
RR		1,81	3,40	5,34	

RR = risque relatif

$$\text{Khi}^2 = 90,93 \quad p < 10^{-6}$$

Ce tableau et la figure n° 3 illustrent que l'incidence de la fièvre augmente avec la densité parasitaire dans les deux groupes ethniques. Nous n'avons pas observé de différence quant à la survenue de la fièvre entre les Dogon et les Peulh.

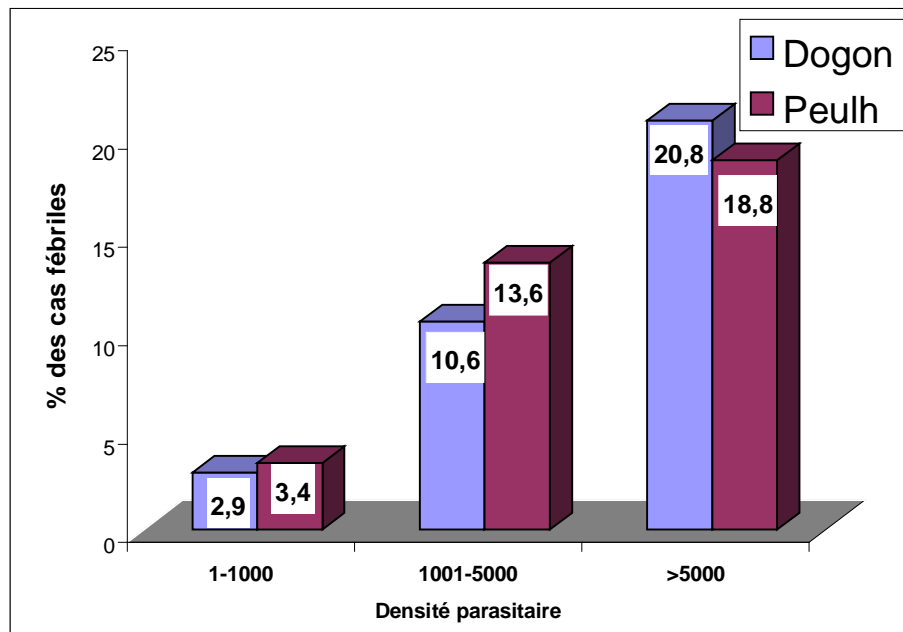


Figure n° 3: Distribution des cas fébriles en fonction la densité parasitaire chez les Peulh et les Dogon.

5-1-5. Résultats immunologiques

Tableau XVIII : Moyenne géométrique du taux des Ig G anti-plasmodiales par ethnie.

Groupes ethniques	Effectif	Malaria-IgG ($\mu\text{g/ml}$)
Dogon	47	59,41
Peulh	38	73,48
Dogon/Peulh (ttest)		0,364

La moyenne géométrique du taux des Ig G anti-plasmodiales était plus élevée chez les Peulh que chez les Dogon.

Tableau XIX: Moyenne géométrique du taux des Ig E anti-plasmodiales et des Ig E totaux par ethnie.

Groupes ethniques	Effectif	Total IgE	Malaria IgE(ng/ml)
Dogon (n=47)	47	31,15	0,54
Peuhl (n=38)	38	100,12	1,22
Dogon/peulh (ttest)		$P < 10^{-3}$	$P < 10^{-3}$

La moyenne géométrique du taux d'Ig E anti-plasmodiale était significativement plus élevée chez les Peulh que chez les Dogon.

5-1-6. Résultats du polymorphisme de la MSP1

Tableau XX: Distribution des différents allotypes de *P.falciparum* chez les Dogon et les Peulh.

Allotypes	Dogon		Peulh	
	N	%	N	%
K1	1	2,3	3	7,3
MAD20	0	0	1	2,4
K1 + MAD20	1	2,3	2	4,9
K1 + RO33	15	34,1	17	41,5
MAD20 + RO33	2	4,5	1	2,4
K1 + MAD20 + RO33	25	56,8	17	41,5
Total		44		41

La répartition des différents allotypes de *P. falciparum* en fonction du polymorphisme de la MSP1 était comparable entre les Dogon et les Peulh.

5-2. Résultats du suivi longitudinal

5-2-1. Surveillance clinique : paludisme et autres affections

5-2-1-1. Résultats cliniques.

Du mois d'août à décembre 1665 consultations ont été effectuées ; les patients de 0 à 9 ans constituaient la majorité des sujets consultés (56,3%). Les sujets de sexe féminin étaient plus représentés avec 954 patients soit 57,3%.

Tableau XXI: Répartition des consultations selon l'ethnie.

Ethnie	Effectif	Pourcentage (%)
Dogon	1311 (n=2059)	63,7
Peulh	302 (n=1066)	28,3
Total	1613 (n=3341)	48,3

La majorité des patients consultés étaient les Dogon avec 63,7 %.

Nous avons enregistré le plus grand nombre de consultation les mois de septembre et d'octobre.

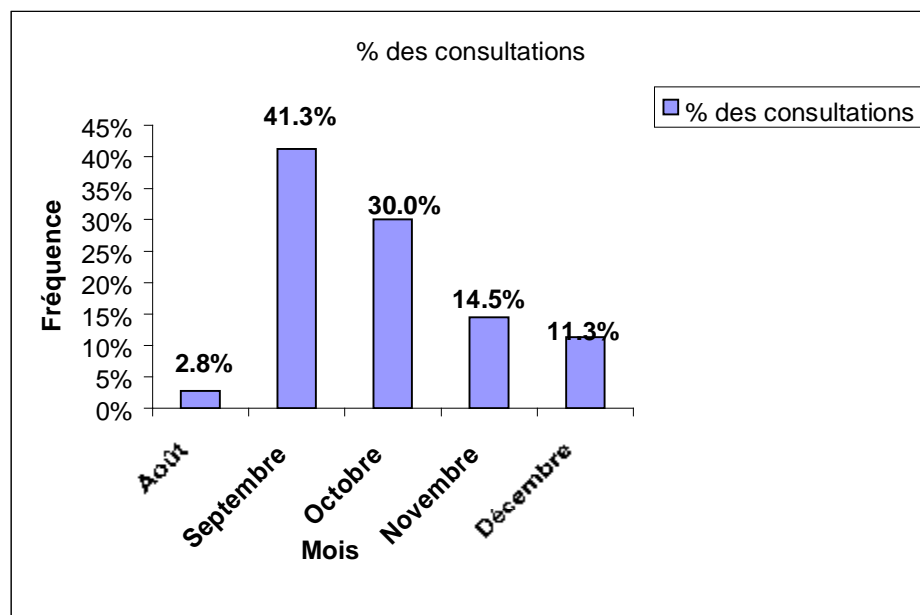


Figure n° 4 : Répartition des consultations selon les mois

Tableau XXII : Répartition des consultations selon les villages.

Villages	Fréquence	Pourcentage (%)
Mantéourou Dogon	714	22,8
Naye Peulh	149	4,8
Naye Dogon + Dinsogou	326	10,4
Mantéourou Peulh	88	2,8
Binédama	120	3,8
Anakédié	268	8,6
Total	1665	53,3

N = 3125

Au cours de la surveillance clinique 53,3 % de la population ont été consultés. Mantéourou Dogon a enregistré la plus grande participation avec 22,8 %.

5-2-1-2. Résultats de morbidité

Tableau XXIII : Répartition des différentes affections rencontrées dans la population.

Affections	Fréquence (n = 3341)	Pourcentage (%)
Paludisme simple	661	19,8
Paludisme grave	1	0,03
Affections respiratoires	254	7,6
Diarrhées	134	4,0
Affections génito-urinaires	35	1,0
Affections traumatologiques	90	2,7
Parasitoses intestinales	13	0,4
Affections stomatologiques	33	1,0
Affections ORL	75	2,2
Affections ophtalmologiques	129	3,9
Affections dermatologiques	45	1,3

L'accès palustre simple était l'affection la plus fréquemment rencontrée au cours du suivi longitudinal soit 19,8%. Les affections respiratoires avec 7,6% venaient en deuxième position. Les autres affections les plus rencontrées étaient les diarrhées (4,0%), les affections ophtalmologiques (3,9%), traumatologiques (2,7%) et ORL (2,2%).

Tableau XXIV : Répartition des différentes affections rencontrées dans la population d'étude selon les groupes ethniques.

Affections	Dogon (n = 2059)		Peulh (n = 1066)		Total
		%		%	
Paludisme simple	547	26,6	94	8,8	641
Paludisme grave	1	0,05			1
Affections respiratoires	211	10,2	38	3,6	249
Diarrhées	111	5,4	18	1,7	129
Affections génito-urinaires	29	1,4	5	0,5	34
Affections traumatologiques	58	2,8	30	2,8	88
Parasitoses intestinales	8	0,4	4	0,4	12
Affections stomatologiques	25	1,2	6	0,6	31
Affections ORL	55	2,7	17	1,6	72
Affections ophtalmologiques	94	4,6	33	3,1	127
Affections dermatologiques	32	1,5	11	1,0	43
Autres	140	6,8	46	4,3	186
Total	1311		302		1613

Les Dogon (26,6%) ont fait plus d'accès palustres que les Peulh. Un cas de paludisme grave a été observé chez les Dogon.

Tableau XXIII : Répartition des différentes affections rencontrées dans la population chez les enfants de moins de 6 ans et de 6 à 9 ans.

Affections	< 6 ans		6 à 9 ans	
Paludisme simple	346	10,4%	146	4,4%
Paludisme grave	1	0,03%		
Affections respiratoires	143	4,3%	31	0,9%
Diarrhées	71	2,1%	6	0,2%
Affections génito-urinaires	3	0,09%	1	0,03%
Affections traumatologiques	6	0,2%	3	0,09%
Parasitoses intestinales	5	0,1%	2	0,06%
Affections stomatologiques	6	0,2%	2	0,06%
Affections ORL	17	0,5%	7	0,2%
Affections ophtalmologiques	67	2%	11	0,3%
Affections dermatologiques	12	0,4%	2	0,06%

n = 3341

L'incidence palustre chez les enfants de moins de 6 ans était de 10,43 % et 4,4 % chez les enfants de 5 à 9 ans.

5-2-2. Résultats de la chloroquino-résistance

5-2-2-1. Résistances cliniques

Tableau XXV : Fréquence des porteurs de splénomégalie à l'inclusion par ethnie.

Ethnie	Effectif	Rate +	Fréquence (%)
Dogon	384	125	32,5
Peulh	66	33	50
Total	450	158	35,1

$$\text{Khi}^2 = 17,72 \quad p = 0,001$$

Les porteurs de splénomégalie étaient significativement plus fréquents chez les Peulh (50%) que chez les Dogon (32,5%) à l'inclusion (J_0).

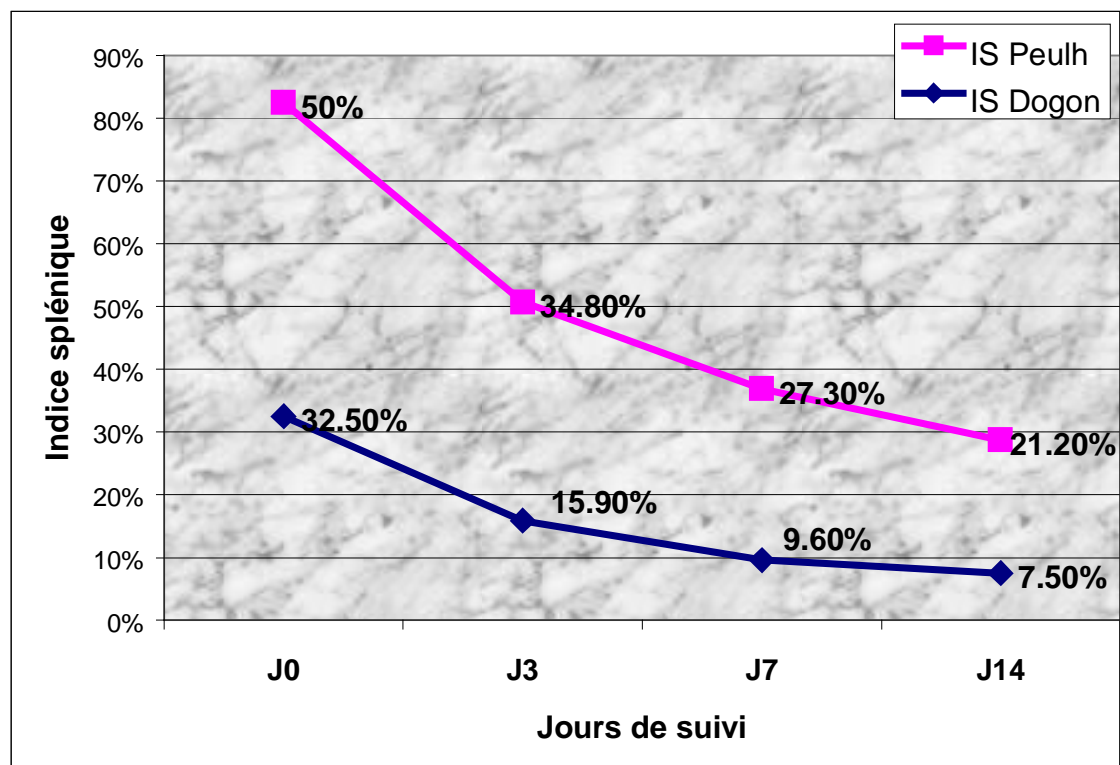


Figure n° 5: Evolution de l'indice splénique au cours du suivi selon l'ethnie.

Le taux de réduction de la splénomégalie de J₀ à J₁₄ était de 25,3 % chez les Dogon et 28,8 % chez les Peulh.

Tableau XXVI : Distribution des réponses cliniques selon l'ethnie des cas de suivi.

Réponse	Dogon	%	Peulh	%	Total	%
RCS	291	91,2	44	97,8	335	92,0
ETP	2	0,6	0	0	2	0,6
ETT	26	8,2	1	2,2	27	7,4
Total	319		45		364	

P = 0,1

Le taux global de RCS était de 92,0%. Deux cas d'ETP ont été observés chez les Dogon et aucun cas chez les Peulh. Le taux d'ETT était de 8,2% chez Dogon et 2,2% chez les Peulh.

Tableau XXVII: Distribution des réponses cliniques selon l'ethnie chez les sujets de 0 à 9 ans.

Réponse	Dogon	%	Peulh	%	Total	%
RCS	236	78,1	33	64,7	269	76,2
ETP	2	0,6	0	0	2	0,5
ETT	26	8,6	1	1,9	27	7,6
Total	302		51		353	

P = 0,3

Dans le groupe des sujets de 0 à 9 ans, le taux de RCS était de 76,2%. Deux cas d'ETP ont été observés chez les enfants Dogon et aucun cas chez les enfants Peulh.

Tableau XXVIII: Distribution des réponses cliniques selon l'ethnie chez les sujets de plus de 9 ans.

Réponse	Dogon	%	Peulh	%	Total	%
RCS	55	100	11	100	66	100
ETP	0	0	0	0	0	0
ETT	0	0	0	0	0	0
Total	55		11		66	

Dans le groupe des cas de suivi de plus de 9 ans, le taux de RCS était de 100%. Aucun cas d'échec thérapeutique n'a été observé dans les deux groupes ethniques.

5-2-2-2. Résistances parasitologiques.

Le taux global de résistance parasitologique était de 18,4%. Aucun cas de résistance parasitologique n'a été observé chez les sujets de plus de 9 ans.

Tableau XXIX: Distribution des cas de résistance parasitologique au sein des deux groupes ethniques en 2001.

Résistances	Dogon	%	Peulh	%	Total	%
Sensibles	254	79,6	43	95,5	297	81,6
R I	58	18,2	2	4,4	60	16,5
R II	3	0,9	0	0	3	0,8
R III	4	1,2	0	0	4	1,1
Total	319		45		364	

Ce tableau montre que le taux de sensibilité était de 81,6%. Les résistances de type I étaient plus fréquentes (16,5%).

Aucun cas de résistance R II et R III n'a été observé chez les Peulh.

Tableau XXX: Distribution des cas de résistance parasitologique au sein des deux groupes ethniques chez les sujets de 0 à 9 ans en 2001.

Résistances	Dogon	%	Peulh	%	Total	%
Sensibles	199	75,3	32	94,1	231	77,5
R I	58	21,9	2	5,9	60	20,1
R II	3	1,1	0	0	3	1,0
R III	4	1,5	0	0	4	1,3
Total	264		34		298	

P = 0,1

Dans cette tranche d'âge le taux de résistance était de 22,4%. Le taux de sensibilité était comparable ($p = 0,1$) entre les Dogon (75,3%) et les Peulh (94,1%).

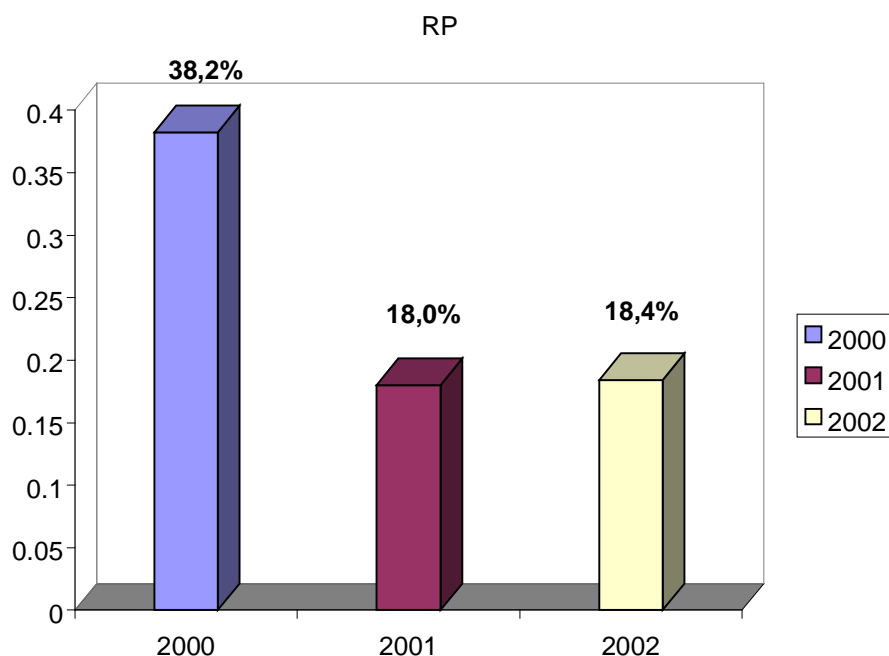


Figure n° 6: Distribution de la résistance parasitologique au cours des trois années d'étude.

5-2-2-3. Evaluation moléculaire de la chloroquino-résistance

Tableau XXXI : Distribution des mutants résistants de *P.falciparum* chez les 2 groupes ethniques déterminés par l'utilisation de la PfCRT (Chloroquino-Resistant- Transportor)

CRT	Dogon	%	Peulh	%
Sensible	115	50,4	13	39,4
Résistant	78	34,2	12	36,4
Mixte	35	15,4	8	24,2

Total	228	33
-------	-----	----

$\text{Khi}^2 = 2,14 \quad p = 0,34$

La répartition des mutants résistants était comparable entre les 2 groupes ethniques.

5-2-2-4. Résultats du prurit à la chloroquine

Tableau XXXII : Distribution du taux de prurit chez les cas de suivi

Prurit	Fréquence	Pourcentage (%)
Prurit +	40	8,9
Prurit -	410	91,1
Total	450	100,0

Le taux de prurit à la chloroquine était de 8,9% chez les cas de suivi. Aucun cas de prurit n'été observé chez les Peulh.

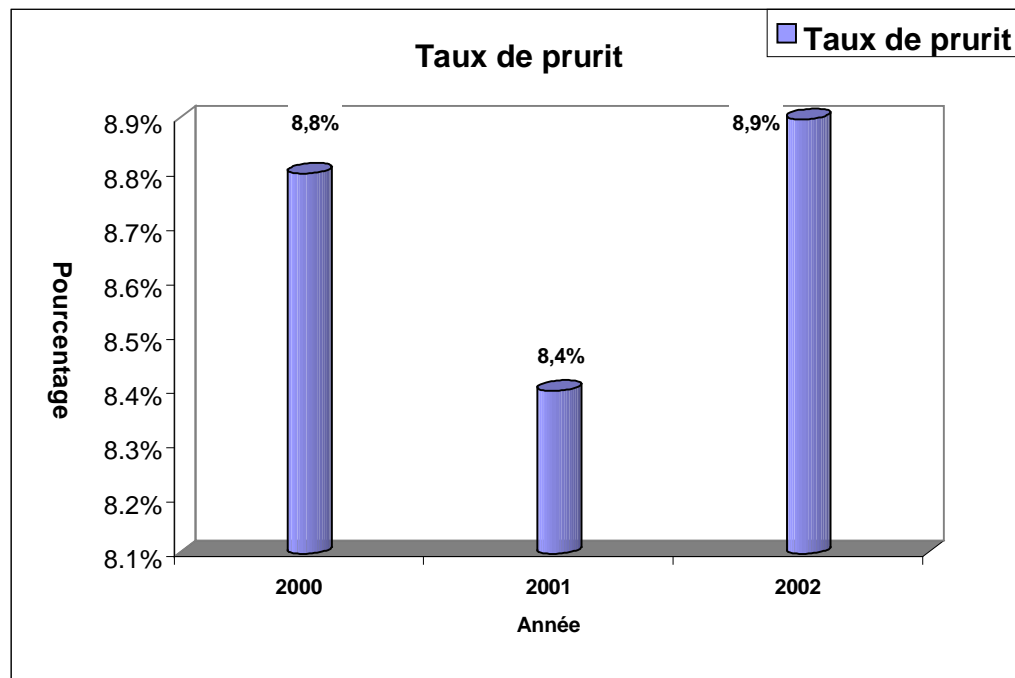


Figure n° 7 : Distribution du taux de prurit au cours des trois années d'étude

5-2-3. Résultats de résistance à la sulfadoxine-pyriméthamine

5-2-3-1. Résistances cliniques

Tableau XXXIII : Distribution de la réponse clinique selon l'âge.

Réponses	0 à 9 ans	%	> 9 ans	%	Total	%
RCS	15	93,8	14	100	29	96,7
ETT	1	6,2	0	0	1	3,3
Total	16		14		30	

Le taux de RCS était de 96,7% ; un cas d'ETT a été observé chez les sujets de 0 à 9 ans.

Tableau XXXIV : Distribution de l'indice splénique au cours du suivi.

Jours de suivi (n =35)	Rate +	IS (%)
J0	11	31,4
J3	3	8,6
J7	0	0

J14	1	2,8
-----	---	-----

A l'inclusion l'indice splénique était de 31,4% ; à J14 il était de 2,8%.

5-2-3-2. Résistances parasitologiques

Tableau XXXV : Distribution de la résistance parasitologique selon l'âge.

Résistance	0 à 9 ans	%	> 9 ans	%	Total	%
Sensible	14	87,5	13	92,8	27	90
R I	1	6,2	1	7,1	2	6,7
R II	1	6,2	0	0	1	3,3
Total	16		14		30	

Le taux de sensibilité était de 90%. Nous avons observé un taux de résistance global de 10% avec 6,7% pour le type I et 3,3% pour le type II. Par contre nous n'avions pas observé de R III dans les deux groupes d'âge.

DISCUSSION

6. DISCUSSION

Le but de ce travail était d'étudier la différence de susceptibilité au paludisme des deux groupes ethniques (Dogon et Peulh) vivant en sympatrie au Mali et de déterminer les facteurs immunogénétiques qui seraient impliqués dans la résistance ou la susceptibilité au paludisme. Pour ce faire nous avons choisi la localité de Mantéourou dans le cercle de Koro qui réunissait les conditions pour mener à bien ce travail. En effet deux populations ethniques : Dogon et Peulh y vivent en sympatrie.

Les facteurs socio-économiques, comportementaux et environnementaux étaient similaires dans les deux groupes ethniques, les niveaux de transmission du paludisme dans les sites l'étaient également.

6-1. Méthodologie

Un passage transversal (septembre 2001) a été réalisé pour la détermination des paramètres paludométriques dans la population générale. Un autre passage transversal (novembre 2001) a été effectué pour tester le statut et le niveau d'immunité antipaludique entre les deux groupes ethniques. Le suivi longitudinal nous a permis de déterminer le taux d'incidence des accès palustres (simples et graves) et la chloroquino-résistance (résistance clinique, parasitologique et moléculaire). Nous avons utilisé le test *in vivo* standard de l'OMS de 14 jours pour évaluer les résistances parasitologiques et cliniques. Le protocole OMS (1996) a été adopté pour la détermination des échecs thérapeutiques.

Pour l'évaluation moléculaire de la chloroquino-résistance nous avons utilisé la technique de la PCR pour identifier les souches mutantes au gène *pfcr1*. La technique de la PCR a été également utilisée pour l'étude du polymorphisme allélique de la MSP1.

Pour l'étude immunologique nous avons utilisé la technique ELISA pour le dosage des anticorps anti-plasmodiaux. Toutes les techniques utilisées ont été mises au point, validées et sont reproductibles.

6-2. Résultats

6-2-1. Aspects socio-démographiques

Le taux de participation est assez bon dans l'ensemble, ce qui a facilité le suivi longitudinal et le prélèvement de sang pour les études immunologiques.

Les quelques difficultés rencontrées sont inhérentes à toutes études populationnelles et n'ont pas eu d'impact significatif.

6-2-2. Aspects entomologiques

En milieu Dogon *An. gambiae s.s.* représentait 68,2 % contre 65,8 % en milieu Peulh. Les distributions d'*An. gambiae s.s.* et d'*An. arabiensis* sont comparables entre les milieux Dogon et Peulh (khi carré = 0,18 et P=0,67).

Nos résultats sont similaires à ceux de Daou (en 2001) qui a observé la même tendance.

L'agressivité moyenne d'*An. gambiae s.l.* observée en milieu Dogon (3,30 piqûres par homme et par nuit) était comparable à celle observée en milieu Peulh (4,14 piqûres par homme et par nuit).

Nous n'avons pas observé de différence statistiquement significative de taux d'infection entre le milieu Dogon et Peulh.

Le taux d'anthropophilie (nombre de femelles estimées avoir pris du sang humain sur nombre total de moustiques traités) est de 85,7 % en milieu Dogon contre 80,2 % en milieu Peulh. Nous avons observé une différence statistiquement significative de taux d'anthropophilie entre le milieu Dogon (85,7 %) et Peulh (80,2 %). Cela pourrait s'expliquer par la présence permanente d'animaux en milieu Peulh sur lesquels les moustiques peuvent se gorger.

Le taux moyen d'inoculation entomologique observé pour *An. gambiae s.l.* à partir des captures de jour était de 0,3835 piqûre infectée/homme/nuit en milieu Dogon contre 0,3834 en milieu Peulh. Nous n'avons pas observé de différence significative entre le taux d'inoculation entomologique en milieu Dogon et celui du milieu Peulh.

Le degré d'exposition aux piqûres infectées d'*An.gambiae s.l.* est donc comparable pour les deux groupes ethniques.

6-2-3. Aspects cliniques

Le paludisme avec 19,8% représentait la première cause de morbidité, ensuite venaient les affections respiratoires avec 7,6%. Nos résultats sont comparables à ceux de Daou en 2001 et Maïga en 2000 en ce qui concerne l'ordre d'importance du paludisme par rapport aux autres affections. Cependant les taux obtenus au cours de cette étude sont inférieurs à ceux de Daou et Maïga. En effet Daou en 2001 et Maïga en 2000 obtinrent respectivement 22,87 %, 47 % pour le paludisme et 13,75 %, 10,3 % pour les affections respiratoires. Cette diminution progressive de la prévalence du paludisme est probablement due à l'impact de cette étude.

Le taux d'incidence du paludisme grave était très faible (un seul cas). En 2001 Daou a eu un taux comparable avec 0,032%. Cependant Maïga a obtenu un taux plus élevé en 2000 (1,3%) dans la même population. Ce faible taux pourrait s'expliquer par le fait qu'une surveillance clinique est effectuée depuis 3 ans pendant chaque saison de transmission. La population a également compris l'intérêt de la prise en charge rapide des cas d'accès fébriles, ce qui contribue à réduire significativement les cas graves de paludisme. Le seul cas grave observé, était due à la mauvaise observance des parents qui avaient voyagé avec l'enfant avant que le traitement ne s'achève.

Nous avons observé une différence statistiquement significative ($p < 10^{-6}$ $\text{Khi}^2 = 141,15$) quant à l'incidence du paludisme entre les Dogon (26,6 %) et les Peulh (8,8 %).

L'indice splénique était de 22,1% dans notre population d'étude en septembre 2001 et nous avons observé une différence inter-ethnique entre les Dogon (17,4%) et les Peulh (38,5%). $P < 10^{-6}$ $\text{Khi}^2 = 77,87$. Nos résultats sont similaires à ceux de Maïga (2000) et de Daou (2001) qui ont observé une différence inter-ethnique.

La prévalence de la fièvre était de 5,2 % dans notre population d'étude au cours du passage transversal. Nous n'avons pas observé de différence inter-ethnique.

6-2-4. Aspects parasitologiques

La formule parasitaire obtenue dans notre site d'étude indique une prédominance de *P. falciparum* (95%) comme dans les études de Maïga en 2000 et de Daou en 2001.

L'indice plasmodique était faible avec 19,92% dans la population. Ce résultat est comparable à celui de Daou qui a obtenu un indice plasmodique de 20,7%. Par ailleurs nous avons observé que les Dogon (21,1%) avaient un I.P plus élevé que chez les Peulh (15,9 % ; $p = 0,00005$). Le faible I.P pourrait s'expliquer par le fait que le site d'étude est situé dans une zone méso-endémique où l'I.P ne dépasse pas 50%.

6-2-5. Aspects immunologiques

Les moyennes géométriques des taux d'IgG et d'IgE anti-plasmodiales étaient significativement plus élevées chez les Peulh que chez les Dogon. Cette tendance a été également observée par Daou en 2001 dans la même localité.

Ces résultats sont en concordance avec les observations des paramètres paludométriques qui sont en faveur d'une plus faible susceptibilité des Peulh au paludisme par rapport aux Dogon.

Nos résultats confirment les travaux de Modiano et al (1995, 1996) qui ont observé que les Peulh étaient moins parasités et présentaient

une plus forte réponse immunitaire contre les antigènes palustres par rapport aux Mossi et aux Rimaïbé.

Plusieurs travaux ont démontré le rôle protecteur des Ig G au cours de l'infection palustre. C'est ainsi que Aucan et al (2000) ont montré qu'un taux élevé des Ig G2 et des Ig G3 est corrélé à la résistance contre le paludisme.

Le rôle des Ig E dans la pathogénie ou la résistance est encore peu clair. Cependant les travaux de Troye-Blomberg et al (1999) ont contribué à mieux comprendre le rôle de ces Ig E et leur mécanisme d'action. Par exemple une augmentation locale des Ig E peut induire une surproduction du TNF α qui est un facteur pathogénique majeur de l'infection palustre (Troye-Blomberg et al 1999).

Une étude approfondie sur le polymorphisme des gènes *HLA* serait nécessaire pour mieux comprendre cette différence de susceptibilité au paludisme entre les Dogon et les Peulh.

6-2-6. Polymorphisme de la MSP1

La répartition des différents allèles de la MSP1 était comparable dans les deux groupes ethniques.

Nous avons observé une prédominance de l'association des allotypes K1 + MAD20 + RO33 (56,8% chez les Dogon et 41,5% chez les Peulh) dans la population de parasites rencontrés. Par contre Ouattara et al en 1998 ont observé une prédominance de la souche RO33 (46,5% en juin et 40,9% en août) à Bancoumana.

6-2-7. Etude de la chloroquino-résistance

6-2-7-1. Echecs thérapeutiques

Le taux global de la réponse clinique satisfaisante était de 92,0%, le taux d'échec thérapeutique était 8 % (0,6 % d'E.T.P et 7,4 % d'E.T.T). Dans le même site Daou a observé en 2001 un taux d'échec thérapeutique de 7,5 % et Maïga en 2000 a observé 18,4 %.

Chez les enfants de 0 à 9 ans le taux de la réponse clinique satisfaisante était de 76,2% et celui des échecs thérapeutiques de 8,1%. Notre taux d'E.T était comparable à celui de Daou qui avait observé un taux de 9% pour cette tranche d'âge ; Par contre ce taux diffère de celui de Maïga qui avait obtenu un taux plus élevé que le nôtre.

Chez les sujets de plus de 9 ans nous n'avons pas constaté d'échec thérapeutique ; par contre nous avons observé un taux d'exclusion élevé (30,5%). Cela s'explique par le fait qu'ils constituent la masse active de

la population et une fois qu'ils sentent une amélioration de leur état de santé ; ils deviennent introuvables à cause des travaux champêtres et de pâturages.

6-2-7-2. Résistances parasitologiques

Le taux global de sensibilité parasitologique était de 81,6%, celui des résistances de 18,4% avec 16,5% de R I ; 0,8% de R II et 1,1% de R III. Les études de Daou en 2000 attestent des résultats similaires (18% pour le taux de résistance et 82% pour le taux de sensibilité). Notre taux global de résistance était plus faible que celui obtenu par Maïga en 1999 (38,2%).

Nous n'avons pas observé de résistance de type II et III chez les Peulh âgés de plus de 9 ans.

Notre taux de résistance parasitologique, comparé aux études antérieures menées au Mali était relativement plus élevé que ceux observés :

~ à Bandiagara en 1998 par Coulibaly (12,9%) ;

~ à Sotuba en 1999 (12,8%) et Donéguébougou (11,9%) par Sogoba.

Cependant à Bancoumana Guindo a observé des taux similaires avec 19,3% en 1996 et 21,5% en 1997.

Des études récentes effectuées à Kollé par Tékété et *al* en 2001 ont montré une résistance parasitologique de 28,7%, ce qui était plus élevé que le nôtre. Par contre il a observé un taux plus faible (9,8%) que le nôtre à Bancoumana.

Le taux de résistance de type I observé dans notre population d'étude est supérieur à ceux rapportés en Côte d'Ivoire par Henry et *al* en 1998 (5,4%) et au Sénégal par Sokhna et *al* 1997 (6%).

6-2-7-3. Aspect moléculaire de la chloroquino-résistance

La répartition des mutants résistants au PfCRT était 34,2% chez les Dogon et 36,4% chez les Peulh. Nous n'avons pas observé de différence dans cette répartition des mutants résistants ($p = 0,34$) entre Dogon et les Peulh.

Tékété et *al* (2001) ont observé un taux de mutants résistants plus élevé que le nôtre à Kollé (67,2%) et à Bancoumana (64,4%).

6-2-7-4. Prurit à la chloroquine

Le prurit est un effet secondaire consécutif à la prise de la chloroquine essentiellement observé sur la peau noire. Il constitue de ce fait un facteur non négligeable parmi les causes de la mauvaise observance du traitement à la chloroquine.

Le taux de prurit à la chloroquine était de 8,9% dans notre population d'étude. Notre taux de prurit était comparable à celui observé par Daou en 2001 (8,42%) et par Maïga en 2000 (8,8%).

Il a été rapporté 1,2% de prurit à Bancoumana et 2,1% à Kollé par Tékété en 2001. Par contre Coulibaly a observé un taux de prurit (20,7%) plus élevé que le nôtre en 1998.

Aucun cas de prurit n'a été observé dans la population Peulh, ce qui confirme les observations de Daou qui n'avait pas enregistré de cas prurit chez les Peulh en 2000.

6-2-8. Etude de la résistance à la sulfadoxine-pyriméthamine

Le taux de sensibilité était de 90%. Nous avons observé un taux de résistance global de 10% avec 6,7% pour le type I et 3,3% pour le type II. Par contre nous n'avons pas observé de R III dans les deux groupes d'âge.

Nos résultats sont similaires à ceux de Daou en 2001 qui avait observé un cas d'ETT et un cas de résistance de type RI dans la même localité. Par contre, il n'a pas observé de résistance de type RII et RIII.

Ces résultats sont cependant différents de ceux observés à Bancoumana par Guindo et *al* (1998) qui n'avaient pas observé d'échec thérapeutique, ni de résistance parasitologique à la sulfadoxine-pyriméthamine.



**COCLUSION -
RECOMMANDATIONS**

7. CONCLUSION – RECOMMANDATIONS

7-1. conclusion

Au terme de cette étude nous avons observé que :
L'indice splénique était significativement plus élevé chez les Peulh que chez les Dogon. L'indice plasmodique était plus bas chez les Peulh que chez les Dogon.

Les taux d'Ig E et d'Ig G anti-plasmodiales étaient plus élevés chez les Peulh que chez les Dogon.

Ces observations nous permettent d'affirmer que les Peulh sont moins susceptibles au paludisme que les Dogon dans la localité où les deux ethnies vivent en sympatrie.

Nous n'avons pas observé de différence inter-ethnique quant à la chloroquino-résistance *in vivo*. La répartition des mutants résistants au *PfCRT* était comparable entre les Peulh et les Dogon.

La répartition des différents allotypes (K1, MAD20, RO33) de *P.falciparum* en fonction du polymorphisme de la MSP1 était comparable entre les 2 groupes ethniques sympatriques selon un échantillon tiré de façon aléatoire.

Le prurit lié à la prise de la chloroquine a été observé uniquement chez les Dogon, avec un taux de 8,9%.

La résistance à la sulfadoxine-pyriméthamine a été observée uniquement chez les Dogon avec un taux de 10%.

7-2. Recommandations

Au regard de ces résultats certaines recommandations s'imposent :

Ø Poursuivre la recherche des facteurs immunogénétiques et parasitaires qui pourraient être impliqués dans cette différence de susceptibilité au paludisme entre les Dogon et les Peulh.

Ø Effectuer une étude similaire entre d'autres groupes ethniques vivant en sympatrie.



BIBLIOGRAPHIE

8. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. ABEL L. Apport de l'épidémiologie génétique pour l'étude de la susceptibilité/ résistance au paludisme dans les populations humaines. *Bull. Soc. Patho. Exot.* 1999 ; **92** (4) : 256-260.
2. AIDOO M, LALVANI A, GILBERT SC, TING HU J, DAUBERSIES P, HURT N, WHITTLE HC, DRUIHLE P, HILL AVS. Cytotoxic T-Lymphocyte Epitopes for HLA-B53 and other HLA Types in the Malaria Vaccine Candidate Liver-Stage Antigen 3. *Infection and Immunity* 2000 ; **68** : 227-232.
3. AGARWAL A, GUINDO A, TAULOR JG, COULIBALY D, KONE A, KAYENTAO K, DJIMDE A, PLOWE C, DOUMBO O, WELLEMS T, DIALLO D. Hemoglobin C associated with protection from severe malaria in the Dogon of Mali, a West African population with a low prevalence of hemoglobin S. *Blood* 2000 ; **96** : 2358-2362.
4. ALLEN SJ, O'DONNELL A, ALEXANDER NDE, ALPERS MP, PETOTEA. α^+ -Thalassemia protects children against disease caused by other infections as well as malaria. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1997 ; **94** : 14736-14741.
5. AUCAN C, TRAORE Y, TALL F, NACRO B, TRAORE-LEROUX T, FUMOUX F, RIHET P. High Immunoglobulin G2(IgG2) and low IgG4 levels are associated with human resistance to *Plasmodium falciparum* malaria. *Infection and Immunity* 2000 ; **68** : 1252-1258.
6. BOLAD A, BERZINS K. Antigenic diversity of *Plasmodium falciparum* and antibody-mediated parasite neutralization. *Scand. J. Immunol.* 2000 ; **52** : 233-239.
7. BRANCH OH, UDHAYAKUMAR V, HIGHTOWER AW, OLOO AJ, HAWLEY WA, NAHLEN BL, BLOLAND P, KASLOW DC, LAL AA. A longitudinal investigation of IgG and IgM antibody responses to the merozoite surface protein-1 19-kilodalton domain of *Plasmodium falciparum* in pregnant women and infants : association with febrile illness, parasitemia and anemia. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1998 ; **58** (2) : 211-219.
8. COULIBALY D. Epidémiologie clinique du paludisme dans la ville de Bandiagara et le niveau de sensibilité de *Plasmodium falciparum* à la chloroquine. *Thèse Médecine FMPOS* 1998, n° 57

9. DAOU M. Susceptibilité au paludisme dans des groupes ethniques vivant en sympatrie au Mali : épidémiologie, immunité humorale et types d'hémoglobine. *Thèse Pharmacie FMPOS 2001 n° 47*

10. DJIMDE A, DOUMBO OK, CORTESE JF, KAYENTAO K, DOUMBO S, DIOURTE Y, DICKO A, SU XZ, NOMURA T, FIDOCK DA, WELLEMS TE, PLOWE CV. A molecular marker for chloroquine-resistant *falciparum* malaria. *N. Engl. J. Med.* 2001 ; **344** : 257-263.

11. DODOO D, STAALSOE T, GIHA H, KURTZHALS JAL, AKANMORI BD, KORAM K, DUNYO S, NKRUMAH FK, HVIID L, THEANDER TG. Antibodies to variant antigens on the surfaces of infected erythrocytes are associated with protection from malaria in Ghanaian children. *Infection and Immunity* 2001 ; **69** (6) : 3713-3718.

12. FIDOCK DA, NOMURA T, TALLEY AK, et al. Mutation in the *Plasmodium falciparum* digestive vacuole transmembrane protein PfCRT and evidence for their role in chloroquine resistance. *Mol. Cell.* 2000 ; **6** : 861-871.

13. GARCIA A, MARQUET S, BUCHETON B, HILLAIRE D, COT M, FIEVET N, DESSEIN AJ, ABEL L. Linkage analysis of blood *Plasmodium falciparum* levels : interest of the 5q31-q33 chromosome region. *Am. J. Trop. Med. Hyg* 1998 ; **58** (6) : 705-709.

14. GUIGUEMDE RT, GBARY RA, COULIBALY CO, OUEDRAGO JB. Comment réaliser et interpréter les résultats d'une épreuve de chimiorésistance de *Plasmodium falciparum* chez les sujets malades en zone tropicale. *Cahiers Santé* 1996 ; **6** : 187-191.

15. GUINDO H. Epidémiologie du paludisme et dynamique de la chloroquino-résistance dans une zone de savane soudano-guinéenne au Mali. *Thèse Pharmacie FMPOS 1998 n° 24*

16. HENRY MC, KONE M, GUILLET P, MOUCHET J. Chloroquino-résistance et lutte antipaludique en Côte d'Ivoire. *Cahier de Santé* 1998 ; **8** : 287-291.

17. HILL AVS, ELVIN J, WILLIS AC, AIDOO M, ALLSOPP CEM, GOTCH FM, GAO XM, TAKIGUCHI M, GREENWOOD BM, TOWNSEND ARM, McMICHAEL AJ, WHITTLE HC. Molecular analysis of the association of HLA-B53 and resistance to severe malaria. *Nature* 1992 ; **360** : 434-439.

- 18. JACOBS P, RADZIOCH D, STEVENSON MM.** *In vivo* regulation of nitric oxide production by Tumor Necrosis Factor Alpha and Gamma Interferon, but not Interleukin-4, during blood stage malaria in Mice. *Infection And Immunity* 1996 ; **64** : 44-49.
- 19. JONGWUTIWES S et al.** Sequence variation in tripeptide repeats and T cell epitopes in P190 (MSA-1) of *P. falciparum* from field isolates. *Mol. Biochem. Parasitol.* 1992 ; **51** : 81-90.
- 20. KWIATKOWSKI D, HILL AVS, SAMBOU I, CASTRACANE J, MANOGUE KR.** TNF concentration in fatal cerebral, non-fatal cerebral and uncomplicated *Plasmodium falciparum* malaria. *Lancet* 1990 ; **336** : 1201-1204.
- 21. KULANE A, SIDDIQUE AB, PERLMANN H, AHLBORG N, ROUSSILHON C, TALL A, DIEYE A, PERLMANN P, TROYE-BLOMBERG M.** T- and B-cell response of malaria immune individuals to synthetic peptides corresponding to non-repeat sequences in the N-terminal region of the *Plasmodium falciparum* antigen Pf 155/RESA. *Acta Tropica* 1997 ; **68** : 37-51.
- 22. LUONI G, VERRA F, ARCA B, SIRIMA BS, TROYE-BLOMBERG M, COLUZZI M, KWIATKOWSKI D, MODIANO D.** Antimalarial antibody levels and IL4 polymorphism in the Fulani of West Africa. *Genes Immun.* 2001 ; **2** (7) : 411-414.
- 23. MAIGA B.** Susceptibilité au paludisme et groupes ethniques sympatriques dans le cercle de Koro (Mopti). *Thèse Médecine FMPOS* 2000 n° 105
- 24. MARSH K, OTOO L, HAYES RJ, CARSON DC, GREENWOOD BM.** Antibodies to blood stage antigens of *Plasmodium falciparum* in rural Gambians and their relation to protection against infection. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 1989 ; **83** : 293-303.
- 25. MAZIER D, NITCHEU J, IDRISSE-BOUBOU M.** Cerebral malaria and immunogenetics. *Parasite Immunology* 2000 ; **22** : 613-623.
- 26. McGUIRE W, HILL AVS, ALLSOPP CEM, GREENWOOD BM, KWIATKOWSKI D.** Variation in the TNF α promoter region associated with susceptibility to cerebral malaria. *Nature* 1994 ; **371** : 508-511.

- 27. MILLER LH, HAYNES JD, M_C AULIFE FM, SHIROISHI T, DUROCHER JR, M_C GINNISS MH.** Evidence for differences in erythrocyte surface receptors for the malarial parasites *P. falciparum* and *P. knowlesi*. *Journal of Experimental Medicine* 1977a ; **146** : 277-281.
- 28. MILLER LH, M_C GINNISS MH, HOLLAND PV, SIGMON P.** The Duffy blood group phenotype in American Blacks infected with *P. vivax* in Vietnam. *Am Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 1978 ; **27** :1069-1072.
- 29. MODIANO D, PETRARCA V, SIRIMA BS, NEBIE I, DIALLO D, COLUZZI M.** *Plasmodium falciparum* malaria in sympatric ethnic groups of Burkina Faso, West Africa. *Parasitologia* 1995 ; **37** : 255-259.
- 30. MODIANO D, CHICCHIUINI A, PETRARCA V, SIRIMA BS, LUOMI G, PERLMANN H, COLUZZI M, ESPOSITO F.** Humoral response to *Plasmodium falciparum* Pf155/Ring-infected erythrocyte surface antigen and Pf332 in three sympatric ethnic groups of Burkina Faso. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1998 ; **58** : 220-224.
- 31. MODIANO D, CHICCHIUINI A, PETRARCA V, SIRIMA BS, LUOMI G, ROGGERO MA, CORRADIN G, COLUZZI M, ESPOSITO F.** Interethnic differences in the humoral response to non-repetitive region of the *Plasmodium falciparum* circum-sporozoite protein. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1999 ; **61** : 663-667.
- 32. MODIANO D, LUONI G, SIRIMA BS, SIMPORE J, VERRA F, KONATE A, RASTRELLI E, OLIVIERI A, CALISSANO C, PAGANOTTI GM, D'URBANO L, SANOU I, SAWADOGO A, MODIANO G, COLUZZI M.** Haemoglobin C protects against clinical *Plasmodium falciparum* malaria. *Nature* 2001 ; **414** : 305-308.
- 33. OMS.** Grandes lignes du plan d'action de l'O.M.S pour la lutte contre le paludisme 1993-2000. Conférence ministérielle sur le paludisme, Amsterdam, 27 octobre 1992.
- 34. OMS.** Evaluation de l'efficacité thérapeutique des antipaludiques pour le traitement du paludisme à *Plasmodium falciparum* non compliqué dans les régions à transmission élevée. *WHO/MAL/96. 1077, 1996.*
- 35. OMS.** Le paludisme. *O.M.S aide mémoire* 1998.
- 36. OUATTARA A.** Diversité allotypique et morbidité palustre à *Plasmodium falciparum* à Bancoumana. *Thèse Pharmacie FMPOS* 1998 ; n°15

- 37. PERLMANN H, HELMBY H, HAGSTEDT M, CARLSON J, LARSSON PH, TROYE-BLOMBERG M, PERLMANN P.** IgE elevation and IgE anti-malarial antibodies in *Plasmodium falciparum* malaria : association of high IgE levels with cerebral malaria. *Clin. Exp. Immunol* 1994 ; **97** : 284-292.
- 38. PERLMANN P, PERLMANN H, FLYG BW, HAGSTEDT M, ELGHAZALI G, WORKU S, FERNADEZ V, RUTTA ASM, TROYE-BLOMBERG M.** Immunoglobulin E, a pathogenic factor in *Plasmodium falciparum* malaria. *Infection And Immunity* 1997 ; **65** : 116-121.
- 39. PERLMANN P, BJORKMAN A.** Malaria research : host-parasite interactions and developments in chemotherapy, immunology and vaccinology. *Infectious Diseases* 2000 ; **13** : 431-443.
- 40. PERLMANN P, PERLMANN H, LOOAREESUWAN S, KRUDSOOD S, KANO S, MATSUMOTO Y, BRITTENHAM G, TROYE-BLOMBERG M, AIKAWA M.** Contrasting functions of Ig G and Ig E antimalarial antibodies in uncomplicated and sever *Plasmodium falciparum* malaria. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2000 ; **62** (3) : 373-377.
- 41. PERLMANN P, TROYE-BLOMBERG M.** Malaria blood-stage infection and its control the immune system. *Folia Biologica (Praha)* 2000 ; **46** : 210-218.
- 42. PETERSON MG, COPPEL RL, MOLONEY MB, KEMP DJ.** Third form of the precursor to the major merozoite surface antigen of *P. falciparum*. *Mol. Cel. Biol.* 1988 ; 2662-2667.
- 43. RIHET P, TRAORE Y, ABEL L, AUCAN C, TRAORE-LEROUX T, FUMOUX F.** Malaria in humans : *Plasmodium falciparum* blood infection levels are linked to chromosome 5q31-33q. *Am. J. Hum. Genet* 1998 ; **63** : 498-505.
- 44. RUWENDE C, FHOO SC, SNOW RW, YATES SNR, KWIATKOWSKI D.** Natural selection of hemi- and heterozygotes for G6PD deficiency in Africa by resistance to severe malaria. *Nature* 1995 ; **376** : 246-249.
- 45. SAUL A, MILLER LH.** A robust neutralization test for *Plasmodium falciparum* malaria. *The Journal of Experimental Medicine* 2001 ; **193** : F51-4.

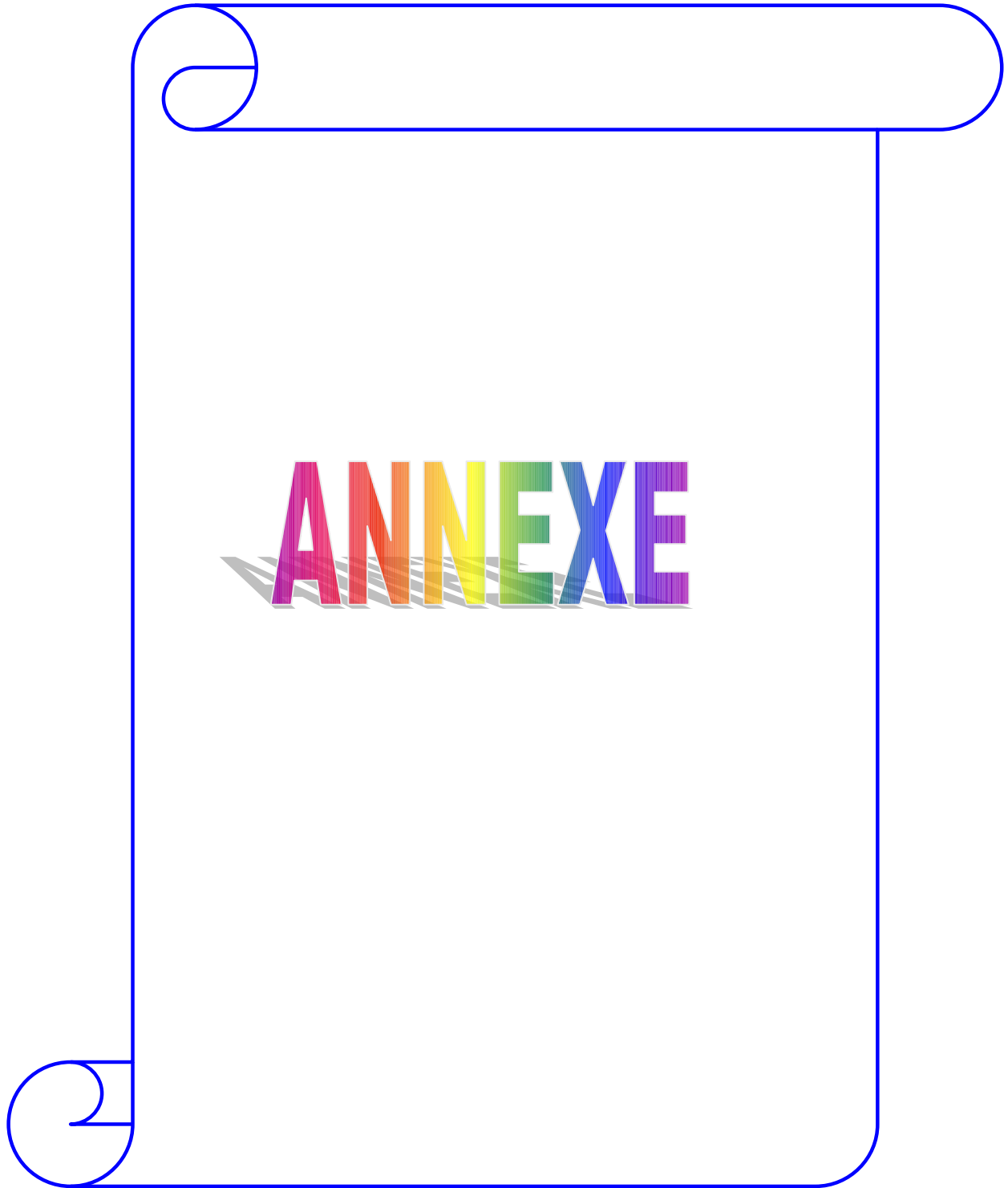
46. SOKHNA CS, MOLEZ JF, NDIAYE P, SANE B, TRAPE J. *In vivo* chemo-sensibility test of *P. falciparum* to chloroquine in Senegal : the development of resistance and assessment of therapeutic efficacy. *Bull Soc Path Ex* 1997 ; **90** : 83-89.

47. TANABE K, MACKKEY M, GOMAN M, SCAIFE J.
Allelic dimorphic in a surface antigen gene of *P. falciparum*.
J. Mol. Biol. 1987 ; **195** :273-287.

48. TAYLOR RR, ALLEN SJ, GREENWOOD BM, RILEY EM. IgG3 antibodies to *Plasmodium falciparum* merozoite surface protein 2 (MSP2) : increasing prevalence with age and association with clinical immunity to malaria. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1998 ; **58** (4) : 406-413.

49. TEKETE MM. Sensibilité de *P. falciparum* à la chloroquine dans deux villages de la savane malienne : Kollé et Bancoumana. *Thèse Pharmacie FMPOS 2001 n° 96*

50. TROYE-BLOMBERG M, PERLMANN P, NILSON ML, PERLMANN H. Immune regulation of protection and pathogenesis in *Plasmodium falciparum* malaria. *Parasitologia* 1999 ; **41** : 131-138.



FICHE DE SUIVI LONGITUDINAL (PALUDISME ET GROUPES SYMPATRIQUES MANTEOUROU-NAYE-BINEDAMA-ANAKEDIE)

No ID: _____ No D'ORDRE: _____ SEXE _____

NOM: _____ PRENOM: _____ AGE _____

Antécédent de fièvre : _____ Si oui précisez, la date du dernier accès : _____ Poids : _____

Observations	J0	J1	J2	J3	J7	J14
Date						
Température						
Céphalées						
Douleurs abdominales						
Vomissements						
Rate						
Pâleur conjonctivale						
Asthénie marquée						
Coma (score)						
Convulsions						
Troubles respiratoires						
Diagnostic clinique						
Traitement						
Parasitémie						
Autres observations						

Evolution clinique (guérison, amélioration, aggravation, abandon, décès) : _____

Evaluation des échecs thérapeutiques à la chloroquine (ETP, ETT, RCS, exclusion) :

**FICHE DE SUIVI LONGITUDINAL (PALUDISME ET GROUPES SYMPATRIQUES MANTEOUROU-NAYE-BINEDAMA-ANAKEDIE)
EFFICACITE IN VIVO DE LA SULFADOXINE-PYRIMETHAMINE PAR LE TEST DE 28 JOURS**

No ID: _____ No D'ORDRE: _____ SEXE _____

NOM: _____ PREMON: _____ AGE _____

Antécédent de fièvre : _____ Si oui précisez, la date du dernier accès : _____ Poids : _____

Observations	J0	J3	J7	J14	J21	J28
Date						
Température						
Céphalées						
Douleurs abdominales						
Vomissements						
Rate						
Paleur conjonctivale						
Asthénie marquée						
Coma (score)						
Convulsions						
Troubles respiratoires						
Diagnostic clinique						
Traitement						
Parasitémie						
Autres observations						

Nous offrirons à la population des soins gratuits du paludisme ou d'autres affections courantes rencontrées dans la population durant la durée de l'étude.

Pour ce qui concerne les informations individuelles nous vous assurons le respect de la stricte confidentialité.

Si vous avez des questions complémentaires ou d'autres préoccupations vous pouvez demander à discuter avec des membres de notre équipe, ou vous pouvez aussi demander à votre chef de quartier d'envoyer une lettre au Professeur Ogobara Doumbo, à la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontostomatologie au Point G, BP 1805, Tél/Fax: 22 81 09, Tél: 22 52 77, Bamako. Le personnel de la case santé de Mantéourou ou du dispensaire de Madougou pourront aussi vous aider à contacter rapidement, le Professeur Ogobara Doumbo.

Si vous êtes d'accord de participer à cette étude, veuillez apposer votre empreinte (ou votre signature) au bas de cette page (comme vous le faites quand vous partez chercher une carte d'identité).

_____		_____	_____
Empreinte digitale	- ou -	Signature de l'adulte	Date
		_____	_____
		Signature de l'investigateur	Date

FICHE D'ASSENTEMENT ECLAIRE PAR PATIENT

Consentement pour participation à une étude sur le paludisme : “contrôle génétique des anticorps totaux et des IgE anti-plasmodiaux dans des groupes ethniques vivant en sympatrie au Mali”

Investigateurs: _____

Site: _____

Nom de l'enfant _____

Prénom

Nom

Numéro d'Identification _- _- _- - _- _- _- _- _-

Age _____ années

Nom de l'adulte consentant _____

Prénom

Nom

Relation avec l'enfant _____

Nous invitons votre enfant à prendre part à une étude de recherche financée par l'Organisation Mondiale de la Santé”, exécutée grâce à la collaboration entre le Département d'Epidémiologie des Affections Parasitaires de la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odontostomatologie de l'Université du Mali et le Département d'Immunologie de l'Université de Stockholm (Suède). Il est extrêmement important que vous compreniez certains principes généraux qui s'appliquent à tous ceux qui prennent part à cette étude:

1. La participation de votre enfant à cette étude est entièrement volontaire.
2. Des bénéfices personnels de la participation de votre enfant à l'étude peuvent ne pas résulter immédiatement. Mais les connaissances acquises pourraient être bénéfiques pour vous et d'autres, dans l'avenir.
3. Vous pourrez décider de mettre fin à la participation de votre enfant à l'étude à tout moment.

Le paludisme est une maladie causée par de très petits parasites qui pénètrent dans l'organisme humain par la piqûre d'un moustique. Il peut causer de la fièvre, des maux de tête, des douleurs du corps et des vomissements. Il nécessite une consultation immédiate pour un traitement rapide.

Six à huit ml de prélèvements veineux seront effectués. Les échantillons seront traités dans le laboratoire du “Bandiagara Malaria Project” Nous conserverons une partie de ces prélèvements pour des analyses supplémentaires au laboratoire du Département d'Immunologie de l'Université de Stockholm. Vous avez le droit de demander à ce que

ces prélèvements ne soient pas conservés, et vous pouvez demander à tout moment de les détruire.

Les risques associés à cette étude sont minimes. Un examen clinique sera effectué avant le prélèvement. Nous utiliserons du matériel stérile à usage unique pour les prélèvements.

Nous offrirons à la population des soins gratuits du paludisme ou d'autres affections courantes rencontrées dans la population durant la durée de l'étude.

Pour ce qui concerne les informations individuelles de votre enfant, nous vous assurons le respect de la stricte confidentialité.

Si vous avez des questions complémentaires ou d'autres préoccupations vous pouvez demander à discuter avec des membres de notre équipe, ou vous pouvez aussi demander à votre chef de quartier d'envoyer une lettre au Professeur Ogobara Doumbo, à la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontostomatologie au Point G, BP 1805, Tél/Fax: 22 81 09, Tél: 22 52 77, Bamako. Le personnel de la case de santé de Mantéourou ou du dispensaire de Madougou pourront aussi vous aider à contacter rapidement, le Professeur Ogobara Doumbo.

Si vous êtes d'accord que votre enfant participe à cette étude, veuillez apposer votre empreinte (ou votre signature) au bas de cette page (comme vous le faites quand vous partez chercher une carte d'identité).

_____	_____	_____
Empreinte digitale	- ou -	Signature du parent
		Date
_____		_____
Signature de l'investigateur		Date



RESUME

Nom : ARAMA

Prénom : Charles

Nationalité : Malienne

Date de soutenance : le 06 juillet 2002

Ville de soutenance : Bamako

Titre : Facteurs immunitaires et parasitaires impliqués dans la susceptibilité au paludisme dans deux groupes ethniques vivant en sympatrie au Mali.

Lieu de dépôt : Bibliothèque de la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odontostomatologie.

Secteur d'intérêt : Epidémiologie, Parasitologie, Immunologie, biologie moléculaire.

Résumé

Nous avons effectué d'août à décembre 2001 une étude de la susceptibilité au paludisme des Peulh et des Dogon, deux groupes ethniques vivant en sympatrie dans la région de Mopti (Mali).

L'étude s'est déroulée dans quatre villages de l'arrondissement de Madougou cercle de Koro : Mantéourou (Dogon et Peulh), Naye (Dogon et Peulh), Binédama et Anakédié. Nous avons effectué deux passages transversaux (septembre 2001 et novembre 2001) et un suivi longitudinal de 5 mois. Toute la population de la localité était concernée dans cette étude.

Il ressort de ces travaux les observations suivantes :

Le paludisme est méso-endémique dans la localité.

L'IS était significativement plus élevé chez les Peulh (38,5%) que chez les Dogon (17,4%). $P \leq 10^{-6}$

L'IP et la densité parasitaire étaient significativement plus faibles chez les Peulh (IP= 15,9%) que chez les Dogon (IP= 20,7%). $P = 0,00005$.

Les taux des résistances parasitologiques et des échecs thérapeutiques étaient comparables entre les Peulh et les Dogon.

Le prurit à la chloroquine a été observé à un taux de 8,9 %, uniquement chez les Dogon.

Nous n'avons pas observé de différence dans la répartition de mutants résistants au PfCRT entre les Peulh (36,4%) et les Dogon (34,2%). $P= 0,3$

La répartition des différents allèles de la MSP1 était comparable dans les deux groupes ethniques.

Les moyennes géométriques des taux d'IgG et d'IgE anti-plasmodiales étaient significativement plus élevées chez les Peulh que chez les Dogon.

Ces résultats nous permettent d'affirmer que les Peulh sont moins susceptibles au paludisme que les Dogon dans cette localité.

Mots clé : paludisme, sympatrie, Dogon, Peulh, susceptibilité, résistance, MSP 1, PfCRT, Ig G, Ig E.

Name: ARAMA

First name: Charles

Nationality: Malian

Defense date: July, the 6 2002

Defense town: Bamako

Title: Immunologic and parasitic factors involved in malaria susceptibility in two ethnic sympatric groups in Mali.

In reserve at: Library of Faculty of Medicine, Pharmacy and Odonto-Stomatology.

Subject interest: Epidemiology, Parasitology, Immunology, Molecular biology.

Abstract

We carried from August to December 2001 a clinical surveillance to study malaria susceptibility between Fulani and Dogon, two sympatric ethnic groups in Mopti 's region (Mali).

The villages of Mantéourou (Fulani and Dogon), Naye (Dogon and Fulani), Binédama and Anakédié have been selected for this study. These villages are situated in the "circle" of Koro, in the district of Madougou. We performed a longitudinal follow up during 5 months (from August to December) and two crosses sectional study (September and November 2001). The study concerned of the population living in the study area.

We observed that:

Malaria was meso-endemic in this area.

The spleen rate was significantly higher in Fulani group (38,5%) compared to Dogon group (17,4%). $P \leq 10^{-6}$

The parasite rate and the parasite density were higher in Dogon group compared to Fulani group.

The parasitological resistance rate and the clinical therapeutic failure rate were similar between these ethnic groups.

The pruritis to chloroquine was observed only in Dogon ethnic group.

The distribution of *PfCRT* resistant genotypes and the MSP 1 polymorphism were similar between these two ethnic groups.

The Fulani had higher humoral antimalarial immunity (Ig E and Ig G levels) compared to Dogon.

These results have shown that the Fulani are less susceptible to malaria than the Dogon in this study area.

Key words: malaria, sympatric, Dogon, Fulani, susceptibility, resistance, MSP 1, PfCRT, Ig E, Ig G.

SERMENT DE GALIEN

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

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

D'exercer dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec confiance et 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 consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs, et favoriser les 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.