

**Ministère des Enseignements Secondaire,
Supérieur et de la Recherche Scientifique**

République du Mali

Un Peuple

Un But

Une foi



UNIVERSITE DE BAMAKO

**Faculté de Médecine de Pharmacie et
d'Odonto-Stomatologie**



Année Universitaire 2008/2009

Thèse N°...../2009

TITRE :

**Rôle potentiel des cellules gamma /delta et T régulatrices
dans la protection contre le paludisme dans deux groupes
ethniques (Peulh & Dogon) vivant en sympatrie au Mali.**

THESE

Présentée et soutenue publiquement le...13 /02/09 à.....heures
Devant la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie
De l'Université de Bamako

**Par Mr Abdoulaye S TAPILY
Pour obtenir le grade de
Docteur en Pharmacie (Diplôme d'Etat)**

Jury :

Président : Professeur Ogobara K DOUMBO

Membre : Docteur Boubacar TRAORE

Co-directeur : Docteur Bakary MAIGA

Directeur : Professeur Ag. Amagana DOLO

CE TRAVAIL A BENEFICIE DE L'APPUI FINANCIER DE MIM /DTR

FACULTE DE MEDECINE, DE PHARMACIE ET D'ODONTO-STOMATOLOGIE
ANNEE UNIVERSITAIRE 2008-2009

ADMINISTRATION

DOYEN: ANATOLE TOUNKARA – PROFESSEUR

1^{er} ASSESSEUR: DRISSA DIALLO – MAÎTRE DE CONFERENCE AGREGÉ

2^{ème} ASSESSEUR: SEKOU SIDIBE – MAÎTRE DE CONFERENCES

SECRETAIRE PRINCIPAL: YENIMEGUE ALBERT DEMBELE – PROFESSEUR

AGENT COMPTABLE: MADAME COULIBALY FATOUMATA TALL- CONTROLEUR DES FINANCES

PROFESSEURS HONORAIRES

Mr Alou BA	Ophthalmologie
Mr Bocar SALL	Orthopédie Traumatologie – Secourisme
Mr Souleymane SANGARE	Pneumo-phtisiologie
Mr Yaya FOFANA	Hématologie
Mr Mamadou L. TRAORE	Chirurgie Générale
Mr Balla COULIBALY	Pédiatrie
Mr Mamadou DEMBELE	Chirurgie Générale
Mr Mamadou KOUMARE	Pharmacognosie
Mr Ali Nouhoum DIALLO	Médecine interne
Mr Aly GUINDO	Gastro-entérologie
Mr Mamadou M. KEITA	Pédiatrie
Mr Sinè BAYO	Anatomie-Pathologie-Histoembryologie
Mr Sidi Yaya SIMAGA	Santé Publique
Mr Abdoulaye Ag RHALY	Médecine interne
Mr Boulkassoum HAIDARA	Législation
Mr Boubacar Sidiki CISSE	Toxicologie
Mr Massa SANOGO	Chimie Analytique

LISTE DU PERSONNEL ENSEIGNANT PAR D.E.R. & PAR GRADE
D.E.R. CHIRURGIE ET SPECIALITES CHIRURGICALES

1. PROFESSEURS

Mr Abdel Karim KOUMARE	Chirurgie Générale
Mr Sambou SOUMARE	Chirurgie Générale
Mr Abdou Alassane TOURE	Orthopédie Traumatologie
Mr Kalilou OUATTARA	Urologie
Mr Amadou DOLO	Gynéco-Obstétrique
Mr Alhousseini Ag MOHAMED	ORL
Mme SY Assitan SOW	Gynéco-Obstétrique
Mr Salif DIAKITE	Gynéco-Obstétrique
Mr Abdoulaye DIALLO	Anesthésie-Réanimation
Mr Gangaly DIALLO	Chirurgie viscérale
Mr Djibril SANGARE	Chirurgie Générale Chef de D.E.R.
Mr Abdoul Kader TRAORE dit DIOP	Chirurgie Générale

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Abdoulaye DIALLO	Ophthalmologie
Mr Mamadou TRAORE	Gynéco-Obstétrique
Mr Sadio YENA	Chirurgie thoracique
Mr Youssouf COULIBALY	Anesthésie-Reanimation

Mr Zimogo Z SANOGO

Chirurgie Générale

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Filifing SISSOKO	Chirurgie Générale
Mr Sekou SIDIBE	Orthopedie-Traumatologie
Mr Abdoulaye DIALLO	Anesthésie-Reanimation
Mr Tieman COULIBALY	Orthopedie-Traumatologie
Mme TRAORE J THOMAS	Ophthalmologie
Mr Mamadou L. DIOMBANA	Stomatologie
Mme DIALLO Fatimata S. DIABATE	Gynéco-Obstétrique
Mr Nouhoum ONGOÏBA	Anatomie & Chirurgie Générale

4. MAÎTRES ASSISTANTS

Mr Issa DIARRA	Gynéco-Obstétrique
Mr Samba Karim TIMBO	ORL
Mme TOGOLA Fanta KONIPO	ORL
Mme Djeneba DOUMBIA	Anesthésie Réanimation
Mr Zanafon OUATTARA	Urologie
Mr Adama SANGARE	Orthopédie- Traumatologie
Mr Sanoussi BAMANI	Ophthalmologie
Mr Doulaye SACKO	Ophthalmologie
Mr Ibrahim ALWATA	Orthopédie - Traumatologie
Mr Lamine TRAORE	Ophthalmologie
Mr Mady MAKALOU	Orthopedie-Traumatologie
Mr Aly TEMBELY	Urologie
Mr Niani MOUNKORO	Gynécologie/ Obstétrique
Mr Tiémoko D. COULIBALY	Odontologie
Mr Souleymane TOGORA	Odontologie
Mr Mohamed KEITA	ORL
Mr Boureima MAIGA	Gynéco-Obstétrique
Mr Youssouf SOW	Chirurgie Générale
Mr Djibo Mahamane DIANGO	Anesthésie-réanimation
Mr Moustapha TOURE	Gynécologie
Mr Mamadou DIARRA	Ophthalmologie
Mr Boubacary GUINDO	ORL
Mr Moussa Abdoulaye OUATTARA	Chirurgie générale
Mr Birama TOGOLA	Chirurgie générale
Mr Brehima COULIBALY	Chirurgie générale
Mr Adama Konoba KEITA	Chirurgie générale
Mr Adégné TOGO	Chirurgie générale
Mr Lassana KANTE	Chirurgie générale
Mr Mamby KEITA	Chirurgie Pédiatrique
Mr Hamady TRAORE	Odonto-Stomatologie
Mme KEITA Fatoumata SYLLA	Ophthalmologie
Mr Drissa KANIKOMO	Neuro-Chirurgie
Mme Kadiatou SINGARE	ORL
Mr Nouhoum DIANI	Anesthésie-Réanimation
Mr Aladji Seydou DEMBELE	Anesthésie-Réanimation
Mr Ibrahima TEGUETE	Gynéco-Obstétrique
Mr Youssouf TRAORE	Gynéco-Obstétrique
Mr Lamine Mamadou DIAKITE	Urologie

D.E.R. DE SCIENCES FONDAMENTALES

1. PROFESSEURS

Mr Daouda DIALLO	Chimie Générale & Minérale
Mr Amadou DIALLO	Biologie
Mr Moussa HARAMA	Chimie Organique
Mr Ogobara DOUMBO	Parasitologie-Mycologie
Mr Yénimégué Albert DEMBELE	Chimie Organique
Mr Anatole TOUNKARA	Immunologie
Mr Bakary M. CISSE	Biochimie
Mr Abdourahmane S. MAÏGA	Parasitologie
Mr Adama DIARRA	Physiologie
Mr Mamadou KONE	Physiologie

2. MAÎTRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Amadou TOURE	Histoembryologie
Mr Flabou BOUGOUDOGO	Bactériologie – Virologie
Mr Amagana DOLO	Parasitologie – Mycologie Chef de D.E.R.
Mr Mahamadou A THERA	Parasitologie – Mycologie

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Mahamadou CISSE	Biologie
Mr Sékou F. M. TRAORE	Entomologie médicale
Mr Abdoulaye DABO	Malacologie – Biologie Animale
Mr Ibrahim I. MAÏGA	Bactériologie – Virologie

4. MAÎTRES ASSISTANTS

Mr Lassana DOUMBIA	Chimie Organique
Mr Mounirou BABY	Hématologie
Mr Moussa Issa DIARRA	Biophysique
Mr Kaourou DOUCOURE	Biologie
Mr Bouréma KOURIBA	Immunologie
Mr Souleymane DIALLO	Bactériologie/ Virologie
Mr Cheick Bougadari TRAORE	Anatomie pathologie
Mr Guimogo DOLO	Entomologie-Moléculaire Médicale
Mr Mouctar DIALLO	Biologie/ Parasitologie
Mr Abdoulaye TOURE	Entomologie-Moléculaire Médicale
Mr Boubacar TRAORE	Parasitologie - Mycologie
Mr Bakary Maïga	Immunologie

5. ASSISTANTS

Mr Mangara M. BAGAYOKO	Entomologie-Moléculaire Médicale
Mr Djbril SANGARE	Entomologie-Moléculaire Médicale
Mr Bokary Y. SACKO	Biochimie
Mr Mamadou BA	Biologie, Parasitologie Entomologie Médicale
Mr Moussa FANE	Parasitologie /Entomologie

D.E.R. DE MEDECINE ET SPECIALITES MEDICALES

1. PROFESSEURS

Mr Mamadou K. TOURE	Cardiologie
Mr Mahamane MAÏGA	Néphrologie
Mr Baba KOUMARE	Psychiatrie- Chef de D.E.R.
Mr Moussa TRAORE	Neurologie
Mr Issa TRAORE	Radiologie
Mr Hamar A. TRAORE	Médecine Interne
Mr Dapa Aly DIALLO	Hématologie
Mr Moussa Y. MAIGA	Gastro-entérologie-Hépatologie
Mr Somita KEITA	Dermato-Léprologie
Mr Boubacar DIALLO	Cardiologie
Mr Toumani SIDIBE	Pédiatrie

2. MAÎTRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Bah KEITA	Pneumo-Phtisiologie
Mr Abdel Kader TRAORE	Médecine Interne
Mr Siaka SIDIBE	Radiologie
Mr Mamadou DEMBELE	Médecine Interne
Mme SIDIBE Assa TRAORE	Endocrinologie
Mr Daouda K. MINTA	Maladies infectieuses
Mme Mariam SYLLA	Pédiatrie

3. MAITRES DE CONFEERENCES

Mr Mamady KANE	Radiologie
Mr Sahare FONGORO	Néphrologie
Mr Bakoroba COULIBALY	Psychiatrie
Mr Bou DIAKITE	Psychiatrie
Mr Bougouzié SANOGO	Gastro-entérologie
Mr Adama D. KEITA	Radiologie
Mr Soungalo Dao	Maladies infectieuses

4- MAITRES ASSISTANTS

Mme Habibatou DIAWARA	Dermatologie
Mr Kassoum SANOGO	Cardiologie
Mr Seydou DIAKITE	Cardiologie
Mr Arouna TOGORA	Psychiatrie
Mme DIARRA Assétou SOUCKO	Médecine interne
Mr Boubacar TOGO	Pédiatrie
Mr Mahamadou TOURE	Radiologie
Mr Idrissa A. CISSE	Dermatologie
Mr Mamadou B. DIARRA	Cardiologie
Mr Anselme KONATE	Hépatogastro-entérologie
Mr Moussa T. DIARRA	Hépatogastro-entérologie
Mr Souleymane DIALLO	Pneumologie

Mr Souleymane COULIBALY
Mr Cheick Oumar GUINTO

Psychologie
Neurologie

D.E.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

1. PROFESSEUR

Mr Gaoussou KANOUTE
Mr Ousmane DOUMBIA
Mr Elimane MARIKO

Chimie Analytique **Chef de D.E.R**
Pharmacie Chimique
Pharmacologie

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Drissa DIALLO
Mme Rokia SANOGO

Pharmacognosie
Pharmacognosie

3. MAITRES DE CONFERENCE

Mr Alou KEITA
Mr Benoît Yaranga KOUMARE
Mr Ababacar I. MAÏGA

Galénique
Chimie analytique
Toxicologie

4. MAÎTRES ASSISTANTS

Mr Yaya KANE
Mr Saibou MAIGA
Mr Ousmane KOITA
Mr Yaya COULIBALY
Mr Loséni BENGALY
Mr Sékou BAH

Galénique
Législation
Parasitologie Moléculaire
Législation
Pharmacie Hospitalière
Pharmacologie

D.E.R. SANTE PUBLIQUE

1. PROFESSEUR

Mr Sanoussi KONATE Santé Publique

2. MAÎTRE DE CONFERENCES AGREGES

Mr Moussa A. MAÏGA Santé Publique

3. MAITRE DE CONFERENCES

Mr Mamadou Souncale TRAORE Santé Publique
Mr Massambou SACKO Santé Publique
Mr Samba DIOP Anthropologie Médicale
Mr Seydou DOUMBIA Epidémiologie
Mr Alassane A. DICKO Santé Publique

4. MAÎTRES ASSISTANTS

Mr Adama DIAWARA Santé Publique
Mr Hamadoun SANGHO Santé Publique
Mr Akory AG IKNANE Santé Publique
Mr Hammadoun Aly SANGO Santé Publique

5. ASSISTANTS

Mr Oumar THIERO Biostatistique
Mr Seydou DIARRA Anthropologie Médicale

CHARGES DE COURS & ENSEIGNANTS VACATAIRES

Mr N'Golo DIARRA Botanique
Mr Bouba DIARRA Bactériologie
Mr Salikou SANOGO Physique
Mr Boubacar KANTE Galénique
Mr Souleymane GUINDO Gestion
Mme DEMBELE Sira DIARRA Mathématiques
Mr Modibo DIARRA Nutrition
Mme MAÏGA Fatoumata SOKONA Hygiène du Milieu
Mr Mahamadou TRAORE Génétique
Mr Lassine SIDIBE Chimie Organique

ENSEIGNANTS EN MISSION

Pr. Doudou BA Bromatologie
Pr. Babacar FAYE Pharmacodynamie
Pr. Mounirou CISS Hydrologie
Pr Amadou Papa DIOP Biochimie.
Pr. Lamine GAYE Physiologie

DEDICACES

Au nom d'ALLAH, le créateur, le Tout Puisant, le clément, le très Miséricordieux.

Louange et Gloire à Dieu, le clément qui nous a permis de mener à bien ce travail.

Je dédie ce travail :

A mon père Souleymane Tapily

Le sage, l'honnête, le religieux, le rigoureux, ton soutien sur tous les plans m'a été d'un grand secours, tu as su m'inculquer les règles de bonne conduite. Je prie le tout puissant de te donner une longue vie et pour que je fasse ta fierté. *Amen !*

A ma mère Awa Tapily

Tu es pour moi une mère exemplaire. Merci pour tout ce que tu m'as donné en commençant par la vie. Ton affection, tes conseils et ton dévouement pour la réussite de tes enfants n'ont jamais fait défaut. Ce travail est le fruit de ta bravoure. Je prie Dieu pour que tes souffrances endurées ne soient pas vaines et que qu'il te prête longue vie et une santé fer afin que tu puisses continuer à nous conseiller, à nous consoler comme tu l'as toujours fait. Maman tes attentes seront comblées. *Amen !*

A mon oncle Korko Tapily (Paix à son âme)

Bien que nous t'ayons perdu prématurément, nous nous souviendrons de tes efforts consentis sur tous les plans pour notre éducation.

Dors en paix cher oncle. *Amen !*

A mes frères et sœurs : Aissata, Fatoumata, Amadou, Ibrahim, Hamidou, Boubacar, et Soumaïla,

Vous n'avez pas manqué de m'entourer de la chaleur familiale nécessaire durant ces longues années d'étude.

Trouver ici tout mon attachement fraternel.

Aux victimes du paludisme, particulièrement les enfants et les femmes enceintes qui payent un lourd tribut à cette maladie.

Aux chercheurs et Hommes de science, je formule des vœux de franche collaboration, ceci permettra des échanges fructueux et l'atteinte de nos objectifs.

REMERCIEMENTS

A ALLAH

Le tout puissant, le miséricordieux pour m'avoir donné la santé et la force de réaliser ce travail.

A mon Père Moussa Tapily

Merci pour tout ce que tu as consenti pour moi.

A mon oncle Nouhoum Tapily

Homme de droit, patriote dévoué pour la construction de son pays. Ton slogan « la vie est une lutte perpétuelle de tous les jours », restera à jamais gravé dans ma mémoire.

Vous m'avez toujours soutenu dans mes moments de joies et de peines. Que Dieu fasse que je ne vous oublie jamais et vous garde longtemps parmi nous.

A travers ce modeste travail, je voudrais vous témoigner mon profond attachement.

A ma Tante Oumou Yalcouyé

Je vous dis tout simplement merci car les mots ne sont pas forts pour exprimer ma satisfaction pour tout ce que vous avez fait pour moi.

Ce travail est aussi le votre, soyez en remerciée infiniment.

Que Dieu vous prête longue vie et santé. Amen

Au Dr Mantala Sangaré et tout le personnel de la << PHARMACIE COURA>>, je vous dis grand merci.

A mes oncles

Amadou Yalcouyé, Hamidou Yalcouyé et Capitaine Harouna Traoré.

Merci pour vos encouragements et vos conseils sans faille.

Que Dieu vous guide dans tous vos projets respectifs.

A mes amis d'enfance de Kayes, Sikasso, Bamako, Mopti, Koro

Je ne citerai pas de nom, tellement la liste est longue. Je ne vous oublierai jamais. Je vous dis tout simplement merci.

Aux familles Traoré, Togo, Djiguiba, Tapily, Tembely à Bamako, et Koro. Merci pour l'affection dont j'ai reçu durant mon séjour.

A mes amis Dr Kasmir Dembélé, Lambert Poudiougou, Gana Djiguiba, Seydou Arama, Dr Moïse Somboro, Dr Sanoussi Koné, Yamoussa Keita, Souleymane Ongoïba, Drissa Koné, Aminata Dalla Sissoko, Moussa Diakité, Coumba Doumbo, Moussa Tapily.

Aujourd'hui, vous êtes plus que mes amis. Vous m'avez donné l'affection et les conseils nécessaires au cours de mes études à la FMPOS.

A mes cousins Kandabara Tapily (Vieux) et Aly Tapily (Dédé), Souleymane Yalcouyé le chemin est long et difficile. Donc courage, patience persévérance et rigueur.

A mes cousins Missiri, Sékou, Alfousseini, Amadi ;
A mes cousines Tandou Fatoumta dite Gogo Tapily, Mariam Tapily, Diaratou, Fatim, Awa, et Amaga, merci pour tout et croyez à mon attachement profond.

A ma tante Awa Kodio : merci pour tout chère tante.

Aux populations de Mantéourou, Naye, Dinsogou, Anakédié et Binédama pour leur pleine participation et leur générosité.

A Monsieur Mamadou BA

Nous avons bénéficié de votre formation en microscopie palustre dans la réalisation de ce travail. Soyez en remercié. Nous vous souhaitons bonne chance dans votre carrière universitaire.

A tous les internes du DEAP.

A mes aînés du DEAP : Drs, Amadou Tapily, saïbou Doumbia, Amadou Niangaly, Moussa Djimdé, Souleymane Dama, Jacob Dara, Golou Togo, Antoine Dara, Younouss Koné.

A toute l'équipe du laboratoire GLP: Drs Renion Saye, Agnès Guindo, Ousmane Kanté, Moussa L Diakité, Moussa Boniface Dembélé, Sintry Sanogo et Sékou Keita.

Votre collaboration, votre enthousiasme et vos conseils ont été précieux dans l'élaboration de ce travail. Permettez moi de vous exprimer ici ma profonde gratitude et de mon indéfectible respect.

A ceux qui ont participé à l'élaboration de cet travail, particulièrement :

- Pr Amagana Dolo, chercheur principal ;
- l'équipe sur le terrain : Dr Bacary Maïga, Dr Charles Arama, Dr Modibo Daou, Mr Victor Dara ; aides soignants de la case Santé de Mantéourou : Yanogo et Amaïguéré Doumbo, aux guides ;
- l'équipe du laboratoire de Bandiagara : Dr Issa Diarra, Mr Yamoussa Keita, Mr Seydou Arama ;
- l'équipe du laboratoire d'hématologie moléculaire dirigée par le Dr Aldiouma Guindo ;
- l'équipe du laboratoire d'immunologie parasitaire : Dr Boubacar Traoré,

Trouvez ici cher maître l'expression de ma profonde gratitude et de mon attachement affectueux.

Aux informaticiens : Ousmane Touré, Sidi Soumaré, Amadou Abathina, Mr Diallo, Mr Diarra, et Sally.

A Cheick Coulibaly et Sékou Doumbo.

A mes Frères et Sœurs de **Guinna Dogon FMPOS**

Remerciements aux membres du jury:

A notre maître et Président du jury

Professeur Ogobara K Doumbo

Professeur Titulaire de Parasitologie - Mycologie à la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-stomatologie.

Directeur du Pôle d'Excellence de Recherche sur le paludisme du Malaria Research and Training Center (MRTC)

Membre correspond de l'Académie Nationale de Médecine de France,
Membre Honoraire de la « Alpha Omega Alpha Honor Medical Society »
des Etats-Unis d'Amérique

Permettez nous de vous remercier cher maître de la confiance que vous nous avez faite en nous acceptant à vos côtés

Votre rigueur scientifique, votre persévérance et votre dévouement constant pour un travail bien fait, font de vous un chercheur émérite.

C'est un honneur pour nous d'être cité parmi vos élèves.

Veillez accepter le témoignage de notre sincère et profonde gratitude.

A notre Maître et juge

Dr Boubacar Traoré

Maitre - Assistant de Parasitologie – Mycologie à la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie.

Responsable de l'unité Paludisme et grossesse & Immuno-pathologie du MRTC.

Cher maître, c'est un grand honneur que vous nous faites en acceptant de siéger à ce jury malgré vos multiples occupations.

Permettez nous de vous exprimer notre profonde gratitude et notre grand respect.

A notre maître et co-directeur de thèse

Dr Bakary Maïga

Maitre - Assistant d'Immunologie à la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie.

Permettez nous de vous exprimer notre profonde gratitude et mes remerciements pour toutes les directives et conseils reçus au cours de la réalisation de ce travail.

A notre maître et Directeur de thèse

Professeur Amagana Dolo

Maître de conférences Agrégé de Parasitologie-Mycologie à la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie.

Chef de DER des Sciences Fondamentales à la FMPOS,

Permettez-nous de vous remercier cher maître de la confiance que vous nous avez faite en nous proposant ce travail.

Nous avons beaucoup admiré vos immenses qualités humaines, sociales et scientifiques tout au long de ce travail. Vous avez cultivé en nous, le sens du travail bien fait.

Votre simplicité, votre disponibilité constante, votre rigueur, votre dynamisme font de vous un maître apprécié de tous.

Trouvez ici, cher maître l'expression de notre profonde gratitude et de notre indéfectible disponibilité.

LISTE DES ABREVIATIONS

APC= Cellules présentatrices d'antigène.

CD= Classe de différenciation.

DEAP= Département de d'Epidémiologie et des Affections Parasitaires.

MRTC= Malaria Research and training Center.

Foxp3= marqueur intracellulaire.

FMPOS= Faculté de Médecine, de Pharmacie et Odonto-stomatologie.

GIS = Geographic informing System.

GITR= Glucocorticoid induced tumor necrosis factor receptor.

G6PD= Glucose-6-phosphate Deshydrogenase.

GPS= Geographic Positioning System.

HbA= L'hémoglobine A.

HbS= L'hémoglobine S.

HbC= L'hémoglobine C

IFN γ = interferon gamma.

IP= indice plasmodique.

IS= indice splénique.

OMS= Organisation Mondiale de la santé.

MIM/TDR= Multilateral Initiative for Malaria/Tropical Diseases Resarch.

PBMC= Peripheral-blood mononuclear cells.

PCR= Polymerase-chain reaction.

TCR= T cells receptors.

T regs= lymphocytes T régulateurs.

$\gamma\delta$ T= Lymphocytes gamma /delta T.

SOMMAIRE	Pages
1. Introduction	1
2. Objectifs	4
3. Généralités	5
3.1 Immunité antipalustre.....	5
3.2 Cellules gamma delta T.....	7
3.3 Cellules T régulatrices.....	10
4. Matériel et méthode	12
4.1 Lieu d'étude.....	12
4.2 Période d'étude.....	17
4.3 Type d'étude.....	17
4.4 Critères de recrutement et échantillonnages.....	17
4.5 Variables mesurées	18
4.6 Personnel et organisation du travail.....	19
4.7 Technique d'étude.....	20
4.7.1 Evaluation clinique et traitement.....	20
4.7.2 Evaluation parasitologique.....	21
4.7.3 Etude hématologique.....	24
4.8 Etude immunologique.....	32
4.9 Considération éthique.....	34
5. Gestion et analyse des données.....	35
6. Résultats	36
6.1 Population d'étude.....	36
6.2 Résultats parasito-cliniques.....	37
6.3 Résultats hématologique.....	39
6.4 Résultats immunologiques.....	42
7. Discussion	51
8. Conclusion et recommandations	57
9. Résumé	58
10. Références	59

1. INTRODUCTION

Le paludisme est une érythrocytopathie fébrile et hémolysante due à la présence et au développement dans le foie puis dans le sang d'un hématozoaire du genre *Plasmodium*. Il est transmis à l'homme par la piqûre infestante d'un moustique : l'anophèle femelle. Quatre espèces sont inféodées à l'homme : *Plasmodium falciparum*, *P. malariae*, *P. vivax* et *P. ovale* [23]. Les travaux récents ont mis en évidence la possibilité de *P. knowlesi* d'infester l'homme [15].

Il demeure de nos jours la première parasitose la plus redoutable, menaçant ainsi la vie des enfants de moins de 5 ans et les femmes enceintes dans le monde particulièrement en Afrique subsaharienne.

Dans le monde entier, en 2004, 107 pays et territoires comptaient des zones où il y avait un risque de transmission du paludisme, soit 3,2 milliards de personnes vivant dans les zones à risque [35]. On estime à 350-500 millions le nombre d'épisodes palustres cliniques qui se produit chaque année. Le paludisme à *P. falciparum* est le plus redoutable car il tue chaque année plus d'un million de personnes qui sont en majorité des enfants de moins de 5 ans [35].

L'Afrique représente 60% des cas de paludisme qui surviennent dans le monde. Approximativement 75% des cas sont dus à *P. falciparum* et plus de 80% des décès liés au paludisme se produisent en Afrique subsaharienne et 18% de ces cas de décès surviennent chez les enfants de moins de 5 ans [35].

Le paludisme à *P. falciparum* est aussi une cause fréquente de l'anémie chez les femmes enceintes et les enfants. Il est responsable du faible poids à la naissance, de la prématurité et de la mortalité infantile. Il est à l'origine de 25-35% des consultations ambulatoires, 20-45% des hospitalisations et de 15-35% des décès [35].

Au Mali, le paludisme constitue 48% des motifs de consultations dans les centres de santé [29]. Il demeure la première cause de morbidité (83,3%) et de mortalité (65,8%) chez les enfants de 0 à 14 ans dans le service de pédiatrie de l'hôpital régional de Sikasso [14].

Il est responsable de 16,7% des hospitalisations pédiatriques [8].

Il est à l'origine de 49% de convulsions fébriles de l'enfant et du nourrisson à Bamako [9].

La pathogénicité de l'infection résulte des interactions entre le parasite et le système de défense de l'hôte [20], et il existe une très grande variabilité de réponses à l'infection entre les individus vivant dans les mêmes zones d'endémie. Le rôle des facteurs immunogénétiques régulant, d'une part la sévérité de l'infection palustre et, d'autre part, les niveaux d'immunisation par certains antigènes parasitaires ont été démontrés.

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 [19].

Les études ont montré que les porteurs de certaines hémoglobinopathies avaient une protection contre le paludisme [1, 2].

Des études récentes effectuées au Burkina Faso au sein de groupes ethniques sympatriques (Mossi, Rimaibé, 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 [21].

Au Mali, des études similaires de susceptibilités au paludisme ont été effectuées chez les Dogon et les Peulh [11]. Ces deux ethnies vivaient dans les conditions éco-climatiques identiques où les taux d'inoculation entomologique, l'alimentation de base, le recours aux soins modernes et traditionnels, l'usage des moustiquaires étaient comparables.

Les données actuelles semblent être en faveur de l'existence de facteurs immunogénétiques impliqués dans cette différence de susceptibilité au paludisme.

Dans le même contexte épidémiologique, la présence de groupe ethnique caractérisé par une réponse immunologique plus accrue au paludisme, montre la nécessité d'étudier les mécanismes immunologiques qui pourraient être impliqués dans la différence de susceptibilité au paludisme.

Les lymphocytes de phénotypes gamma delta et les cellules T régulatrices pourraient être impliqués dans cette susceptibilité au paludisme. En effet les études *in vitro* ont montré l'inhibition de la croissance des parasites en présence des cellules gamma delta.

Le but de notre étude est d'évaluer le rôle des cellules gamma delta et T régulatrice dans la protection contre le paludisme chez des populations ayant des susceptibilités clinique et parasitologique différentes.

L'hypothèse de ce présent travail est de tester l'existence d'une différence de production des cellules gamma delta T ($\gamma\delta$ T) et T régulatrices (T-reg) au cours de l'infection palustre au sein des groupes ethniques Dogon et Peulh vivant en sympatrie au Mali.

2. Objectifs

2.1 Objectif général

Evaluer le rôle des cellules $\gamma\delta$ T et T-reg dans la protection contre le paludisme chez les populations Peulh et Dogon ayant une susceptibilité différente au paludisme.

2.2 Objectifs spécifiques

1. Comparer la proportion des cellules $\gamma\delta$ T et T-reg entre les deux groupes ethniques.
2. Estimer le nombre de cellules gamma delta produisant l'interféron gamma dans les deux groupes ethniques.
3. Déterminer l'éventuel rôle des types d'hémoglobines (HbS et HbC) dans la différence de susceptibilité au paludisme entre les Peul et les Dogon.
4. Déterminer l'éventuel rôle du déficit en Glucose 6 phosphate déshydrogénase (G6PD) dans la différence de susceptibilité au paludisme entre les Peulh et les Dogon.

3. GENERALITES

3.1 Immunité antipalustre

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

- ❖ 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. Elle se développe 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 G6PD) 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 à l'hôte et au parasite.

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

3.1.2 L'immunité acquise

L'acquisition de la réponse immunitaire antipaludique nécessite une longue période d'exposition à des infections répétées et est fonction de l'âge, des états physiologiques et des co-infections. 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 dont les effecteurs sont les lymphocytes B et les plasmocytes qui produisent les différents isotopes: IgM, IgA, IgG, IgE, et IgD.

Deux mécanismes d'action des anticorps anti - plasmodiaux sont connus **[13]** :

1-GIA (Growth Inhibition Assay)

2- ADCI (Antibody Dependant Cell Inhibition)

-La réponse cellulaire impliquant la production des substances solubles telles que les cytokines (Th1 et Th2).

A chaque stade du cycle de développement du parasite correspond une réponse immunitaire spécifique à ce stade.

Les mécanismes de protection contre le paludisme sont complexes et non encore clairement élucidés. Plusieurs études ont été menées afin d'élucider la contribution fonctionnelle des cellules T au cours du paludisme **[32]**.

Dans les zones d'endémie palustre, la particularité de l'acquisition de la réponse immunitaire contre l'infection palustre suggère que des lymphocytes spécifiques seraient dotés de mécanismes de régulation pour induire une réponse immunitaire efficace **[28]**. Les lymphocytes T jouent un important rôle dans la protection immunitaire contre le paludisme notamment les cellules gamma delta et les T régulatrices.

3.2 Les cellules gamma delta T

Les cellules T expriment des récepteurs antigéniques à la surface de leur membrane. Ces récepteurs T (TCR) sont spécifiques des déterminants antigéniques (épitopes) exprimés et présentés par les molécules du Complexe Majeur d'Histocompatibilité présentes à la surface des cellules présentatrices d'antigènes (APC). Il existe deux types de récepteurs de cellules TCRs : la plus grande majorité de lymphocytes du sang périphérique (>90%) exprime les récepteurs alpha bêta ($\alpha\beta$ TCR) tandis qu'une minorité (6-8%) exprime les récepteurs gamma/delta des cellules T ($\gamma\delta$ TCR).

Comparaison entre les cellules gamma delta et les cellules alpha beta.

Tableau: 1

Caractéristiques	Cellules $\gamma\delta$	Cellules $\alpha\beta$
Type d'immunité	Innée	Adaptative
Ontogénie	Développement précoce	Développement tardif
Phylogénie	Ancienne cellule	Jeune
TCR	CD3+ $\gamma\delta$	CD3+ $\alpha\beta$
Phénotype	Très souvent CD4-CD8- Rarement CD8+	CD4+ ou CD8+
Restriction par CMH	Non	Oui
Reconnaissance d'antigène	Protéique et non protéique	Peptide + CMH
Distribution	Epithélium, tissu lymphoïde, muqueuses	Sang, tissu lymphoïde, muqueuses
Fréquence dans le sang	0 – 10 %	75 – 90%

Les gamma delta apparaissent au cours de la vie foetale et leur taux diminue après la naissance tandis que le taux des alpha beta augmente jusqu'après la naissance et ensuite diminue (Fig : 1).

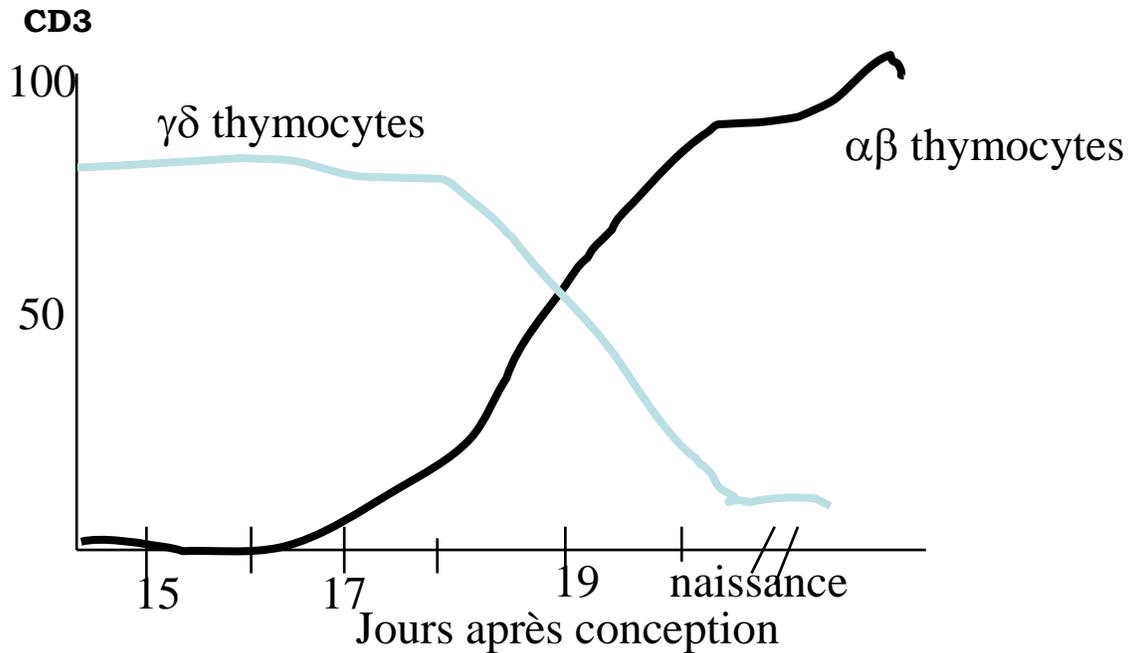


Figure 1 : Ontogenèse des cellules $\alpha\beta$ et $\delta\gamma$

Source: Immunology, 5 ème Edition, Kuby.

Les gamma delta T sont la première lignée de lymphocyte T à apparaitre et peuvent se développer en l'absence du thymus.

Maturation des lymphocytes T

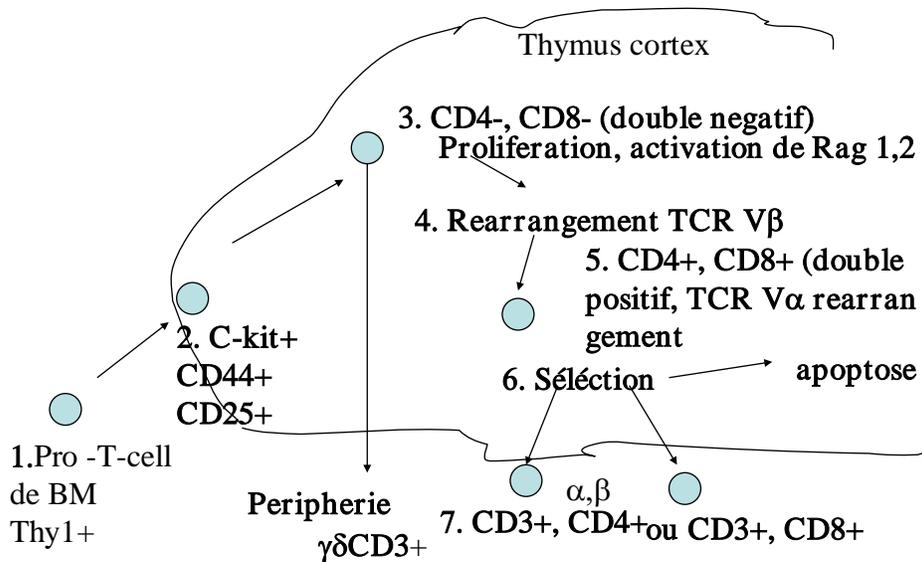


Figure : 2

Source: Immunology, 5 ème Edition, Kuby.

On les rencontre au niveau de la peau, l'utérus, le vagin et la langue mais sont prédominants au niveau de l'épithélium.

Les cellules gamma delta peuvent reconnaître les molécules non classiques du complexe majeur d'histocompatibilité.

On assiste à la diminution de leur taux au cours de plusieurs infections.

Les cellules T gamma delta sont définies par l'utilisation des mêmes gènes variables, Gamma 9 et Delta 2 (>90% dans le sang). Il a été rapporté chez l'homme, une augmentation remarquable du nombre de cellules gamma delta dans le sang périphérique au cours de l'infection palustre et qui demeure élevée plus d'un mois après traitement [10].

Les cellules gamma delta inhibent *in vitro* la croissance des formes asexuées de *Plasmodium falciparum* par une voie cytotoxique [32].

La régulation négative de la réponse immunitaire, observée pendant la phase aiguë de l'infection palustre, est caractérisée par une diminution

de la fonction de présentation antigénique des cellules dendritiques et de la production de cytokines pro-inflammatoires en anti-inflammatoires [22, 28].

3.3 Cellules T régulatrices :

La connaissance des T-regs comme une entité cellulaire aurait engendré des débats scientifiques en l'absence de marqueurs fiables, l'ambiguïté dans la base moléculaire des phénomènes suppressifs, le manque d'évidence suffisante pour leurs rôles dans les maladies auto-immunes et même la nature évasive de quelques phénomènes suppressifs.

Les T-reg sont un groupe distinct de lymphocyte T avec des propriétés immunosuppressives qui servent normalement à empêcher des réactions auto-immunes nocives. Cependant, les T-regs peuvent également interférer sur le déroulement normal de certaines réponses immunitaires telles que l'immunité antitumorale antivirale chez l'homme et des rongeurs.

Les T-regs sont identifiées par l'expression à leur surface des marqueurs CD25+CD4+.

Récemment, il a été suggéré que les cellules T régulatrices joueraient un rôle de médiateurs dans le contrôle de l'équilibre immunologique entre l'hôte et le parasite [18]. Les T-regs qui maintiennent la tolérance immunologique chez l'individu, sont caractérisés par l'expression des facteurs intranucléaires de transcription, Fox-p3 et GITR, et ont un large répertoire antigénique qui identifie divers antigènes du soi et du non soi [25, 26].

Dans une étude longitudinale de l'infection naturelle par *P falciparum*, il a été démontré que les cellules T-regs ont un effet immuno-régulateur sur le stade érythrocytaire du parasite *in vivo* [33].

Il est probable que les cellules gamma/delta T pourraient jouer un rôle obligatoire dans l'élimination des parasites et/ou de la régulation de la

réponse immune à l'infection par *P. falciparum* tandis que les cellules T regs pourraient induire une réponse immune délétère.

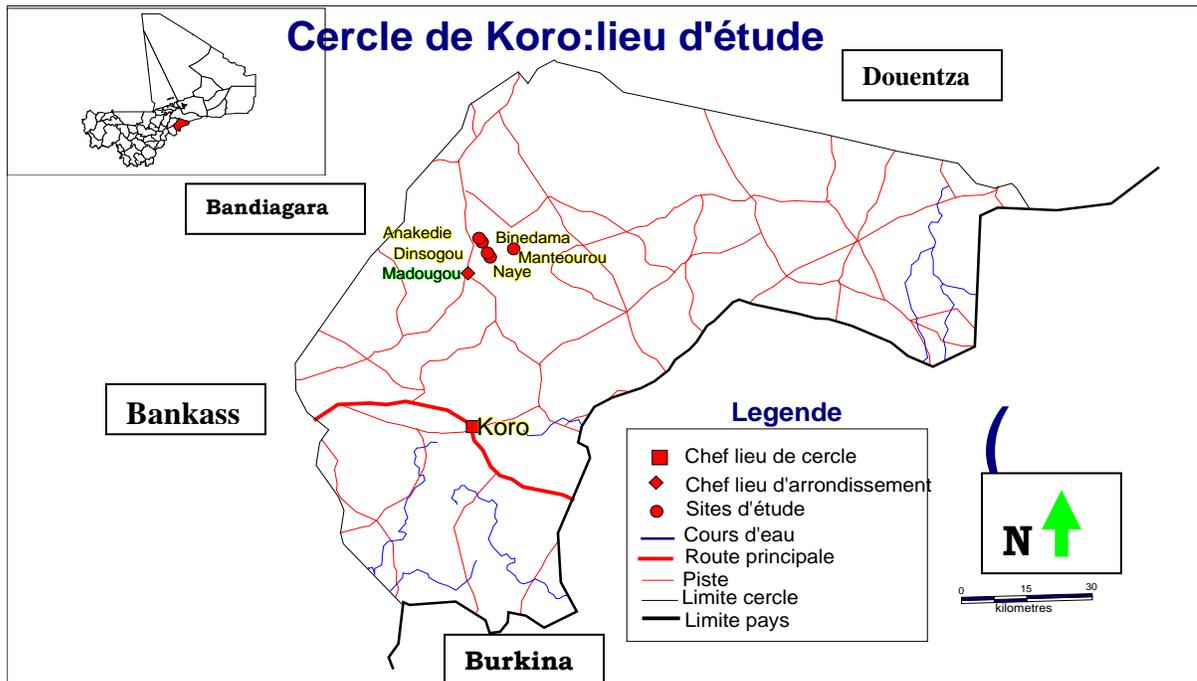
4. MATERIEL ET METHODES

4.1 Lieu d'étude : notre étude a été menée dans quatre villages : Mantéourou (Dogon et Peulh), Naye (Dogon et Peulh), Binédama (village Peulh), Anakédié (village Dogon).

Ces villages sont de la commune rurale de Madougou, préfecture de Koro, région de Mopti. Ils se trouvent environ à 850 Km du Nord- Est de Bamako. Les coordonnées de ces villages sont 14°3 latitude Nord et 3°3 de longitude Ouest. Ces villages sont distants les uns des autres par quelques Kilomètres. Ainsi Mantéourou Dogon est situé à 12 km de Madougou et Mantéourou Peulh est à 1 km de Mantéourou Dogon.

Naye Peulh est à 6 km de Mantéourou Dogon et Naye Dogon est à environ 300 m de Naye Peulh. Dinsogou relève de Naye Dogon et est situé à 1,5 km de ce dernier. Anakédié est situé à 3 km de Dinsogou. Binédama est situé à 1,5 km d'Anakédié.

Figure 3 : Carte du cercle de Koro



4.1.1 Historique

➤ **Mantéourou Dogon**

Il a été fondé il y a environ 63 ans par les Doumbo. Les habitants de ce village sont originaires de Youga Dogourou (sous-préfecture de Sangha). Ils descendirent de la falaise pour la recherche de terres cultivables et l'élevage (communication orale du chef de village).

➤ **Mantéourou Peulh :**

Ces habitants sont venus de Binédama à la recherche de terre pour l'élevage (communication orale du chef de village).

➤ **Naye Dogon**

Trois frères Dougnon (Amategué, Balougo, et Laya) venant de Lèwèkandé fondèrent Naye Dogon il y a environ deux siècles et demi. Les habitants

de ce village sont originaires d'Iréli (communication orale du chef de village).

➤ **Dinsogou**

Les Dara venant de Koundou (sous-préfecture de Sangha) demandèrent de l'hospitalité aux habitants de Naye Dogon qui acceptèrent volontiers. Ainsi Dinsogou fut fondé il y a environ 72 ans (communication orale du chef de village).

➤ **Naye Peulh**

Les Peulh de Kindé (sous-préfecture de Diankabou) à la recherche des terres propices pour l'élevage ont fondé Naye Peulh il y a environ deux siècles. Les Peulh de Naye sont venus de la zone de Guimbala (préfecture de Douentza).

➤ **Anakédié**

Fondé il y a environ 75 ans par Toniamama Doumbo, Anakédié signifie l'hospitalité réservée aux étrangers. Les habitants d'Anakédié sont des Doumbo originaires de Youga Dougourou, venus à la recherche de terres pour l'agriculture (communication orale du chef de village).

➤ **Binédama**

Les Peulh de Binédama ont la même origine que ceux de Naye Peulh. Il a été fondé il y a environ 3 siècles ; par conséquent ce village est le plus ancien des villages de notre étude.

4.1.2 Climat et Végétation

➤ **Le Climat** : il est du type sahélien avec une saison sèche longue

qui s'étend d'octobre à mai et une saison des pluies courtes de juin à septembre. La précipitation annuelle moyenne de l'année 2007 a été de 381,5 mm. (Service Météorologie de Madougou). L'harmattan souffle avec un air sec durant la saison sèche.

La transmission du paludisme est saisonnière et méso-endémique à Mantéourou [16]. *Plasmodium falciparum* est la principale espèce plasmodiale rencontrée dans cette région, avec 95% de la formule parasitaire, contre 4% pour *P. malariae* et l'association *Plasmodium falciparum* et *Plasmodium malariae* était de 1% [3].

➤ **La Végétation** : est pauvre, cependant elle est constituée par quelques arbres et arbustes, parmi lesquels on peut citer : *Acacia albida* (Balanza), *Andosonia digita* (baobab), *Zizyphus micronata* (jujubier), *Phoenix dactylifera*, *Guiera senegalensis* (le guiera de Sénégal), *Balanites aegyptiaca* (dattier), *Acacia nilotica* (gommier rouge), *Tamarindus indica* (tamarinier), *Azadirachta indica* (nime).

4.1.3 Hydrographie

Ces villages d'étude cités ci-dessus ne disposent d'aucun cours d'eau. Cependant des mares sont alimentées par les ruissellements des eaux de pluie. Par ailleurs on y trouve la rivière de Bamba en période de bonne pluviométrie.

4.1.4 Population

Notre population d'étude était constituée essentiellement de Peulh et de Dogon. L'ensemble de la population était estimée à 3.016 habitants d'après le recensement national de 1998.

Coutumes

Dans ces différents villages Dogon de notre étude la religion traditionnelle pratiquée est l'animisme. Cependant il existe des musulmans et chrétiens dans ces villages. Les Peulh pratiquent essentiellement la religion musulmane.

Les habitudes alimentaires sont comparables chez les deux populations: le tô, la bouillie de mil, le lait (frais ou caillé) sont les aliments les plus consommés. Les Peulh consomment plus de lait que les Dogon.

Habitat

Les Dogon habitent dans des maisons rectangulaires battues en banco et lesquelles sont entourées de haies mortes (tiges de mil séchées) qui constituent les murs. Quant aux Peulh, ils habitent généralement dans des cases rondes construites en banco et d'un toit en chaume ou dans des huttes. Leurs cases sont aussi entourées par des tiges de mil séchées.

4.1.5 Activités économiques :

L'agriculture et l'élevage sont les principales activités économiques pratiquées respectivement par les deux communautés.

A la fin de la saison des pluies la population Dogon effectue des activités génératrices de revenus.

4.1.6 Infrastructures socio –sanitaires

Seul Mantéourou dispose d'une case de santé tenue par deux aides-soignants et une matrone, d'une école fondamentale 1^{er} cycle.

4.1.7 Raisons du choix du site

Ce site a été choisi pour les raisons suivantes :

- Une zone d'endémie palustre à transmission saisonnière courte ;
- Exclusion socio-culturelle de mariage interethnique entre les deux groupes ethniques ;
- Disponibilité de données épidémiologiques depuis 1998 ;
- Bonne entente entre la population du site et l'équipe du MRTC/DEAP.

4.2 Période d'étude

L'étude a été réalisée en deux étapes :

- Le « screening » de septembre 2007 qui a duré 2 semaines pour dépister les sujets à inclure
- L'investigation de l'immunité cellulaire a eu lieu d'octobre à novembre 2007, période à laquelle les « boostings » immunologiques sont plus élevés en fin de saison de transmission intense.

4.3 Types d'études

Nous avons effectué une étude transversale pour comparer le niveau des cellules gamma/delta et des cellules T régulatrices entre les deux groupes ethniques.

4.4 Critères de recrutement et échantillonnage

➤ **Critères d'inclusion :**

- Age supérieur ou égal 20 ans.
- Etre de l'éthnie Dogon ou Peulh.
- Résider dans l'un des villages : Mantéourou, Naye, Dinsogou, Anakédié, et Binédama.
- _Etre en bonne santé clinique apparente.

_Donner son consentement éclairé.

➤ **Critères de non-inclusion :**

- Refus de consentement
- Maladies.

4.5 Variables mesurées

➤ **Paramètres socio-démographiques**

Age, sexe, ethnie

➤ **Paramètres hématologiques**

- Types d'hémoglobine
- Génotype de G6PD

➤ **Paramètres cliniques**

- La température
- La rate
- Le poids

➤ **Paramètres parasitologiques**

- L'indice plasmodique
- Espèce plasmodiale
- Stade

➤ **Paramètres immunologiques**

- INF γ
- Treg
- Gamma/delta T

4.6 Personnel et organisation du travail :

- **Le personnel était constitué de :**

Un parasitologue

Un médecin chercheur

Un pharmacien chercheur

Un interne en médecine

Un interne en pharmacie

Deux aides-soignants

Une matrone

Deux chauffeurs

Une cuisinière

- **Organisation du travail**

- ✓ Screening :

Le personnel était reparti en :

-poste d'identification : tous les sujets ont été identifiés à ce niveau.

-poste clinique : le médecin chercheur et l'interne en médecine ont effectué l'examen clinique complet des patients.

-poste de biologie : les examens biologiques (la goutte épaisse, les confettis) ont été effectués à ce niveau.

- ✓ Investigation immunologique :

la collecte des données a été effectuée par un médecin chercheur, deux thésards : l'un en médecine et l'autre en pharmacie aidés par deux aides-soignants et une matrone tous basés à Mantéourou. Le personnel était réparti en différents postes :

- Poste d'identification : il était tenu par les aides-soignants, la matrone et facilitaient la communication entre la population et notre équipe.

Ils identifiaient les sujets, établissaient des fiches de liaison sur lesquelles étaient mentionnées le numéro d'étude, nom et prénom du sujet, prénom du chef de famille.

- Poste clinique : l'interne en médecine et le médecin chercheur s'occupaient de l'examen clinique complet : l'accueil, l'interrogatoire, prise de température, de poids. Ils effectuaient la palpation de la rate, cherchaient les autres pathologies couramment rencontrées dans la localité. Tous les sujets étaient traités à ce niveau par ces cliniciens.
- Poste de biologie : l'interne en pharmacie confectionnait la goutte épaisse et les confettis sur papier buvard s'occupait aussi des prélèvements.

4.7 Technique d'étude

4.7.1 Evaluation Clinique et traitement

➤ **Matériel clinique :**

- balance pèse –personne
- appareil à tension (brassard + stéthoscope)
- thermomètre électronique
- un stock de médicaments essentiels
- fiches cliniques
- le registre de recensement de la population
- un registre de consultation.

➤ **Prise de la température :** la température était mesurée à l'aide d'un thermomètre électronique en le plaçant sous l'aisselle, elle était exprimée en degré Celsius. Toute température supérieure ou égale 37,5° Celsius était considérée comme cas de fièvre.

➤ **Prise de poids :** elle était faite par une balance pèse-personne.

Le poids était exprimé en kilogramme.

➤ **La palpation de la rate :** elle a été faite chez un sujet debout et permet de classer les splénomégalies selon la classification de HACKET en 5 stades :

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

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

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

Rate III : rate dépassant cette ligne sans dépasser 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 : la rate dépassant cette ligne.

4.7.2 Evaluation parasitologique

➤ **Le matériel**

Blouses et gants

Coton hydrophile

Alcool 70°

Pisette

Vaccinostyles stériles

Lames

Boîte OMS

Marqueur indélébile

Solution de Giemsa

Eprouvette

Comprimé tampon (Buffer, PH=7,2)

Eau distillée

Bac de coloration

Pot de rinçage des lames

Chronomètre

Râtelier

Microscope optique binoculaire

Housse de protection de microscope

Huile d'immersion

Papier hygiénique

Groupe électrogène

Poubelle

Crayon

Stylos

Cahier de parasitologie

Savon

Compteur manuel, table, tabouret

4.7.2.1 Technique de la goutte épaisse :

➤ **Principe :**

Consiste à un étalement épais de sang circonscrit dans un cercle d'environ un centimètre de diamètre sur une lame porte objet. Elle a permis la quantification des parasites aux différents stades de développement dans le sang périphérique, de déterminer l'espèce plasmodiale. Cette procédure décrit la technique de confection, de coloration et de lecture de la goutte épaisse.

➤ **Confection :**

le doigt d'une main (de préférence troisième ou quatrième doigt de la main gauche) est désinfecté avec un tampon d'alcool. Avant de piquer le doigt ainsi choisi, se rassurer qu'il n'existe aucune trace d'alcool. Le doigt choisi ne doit pas être infecté, ni œdémateux, ni cyanosé. A l'aide d'un vaccinostyle stérile piquer d'un seul coup à l'extrémité latérale du doigt. La première goutte ainsi obtenue est essuyée par un tampon de coton sec, la deuxième déposée au centre d'une lame porte objet propre et portant le numéro d'étude du sujet. A l'aide de l'angle d'une autre lame, procéder à une défibrination mécanique par un mouvement circulaire de façon à étaler le sang sur un cercle d'environ un centimètre de diamètre. Après ce geste les lames étaient gardées dans les boîtes de collection de type O.M.S pour séchage. Ainsi elles étaient mises à l'abri de la poussière et des mouches. Après le séchage nous avons procédé à leur coloration.

➤ **Coloration des lames :**

La technique de coloration au Giemsa à 3% a été choisie. La durée de coloration des lames était de 45 minutes. Après 45 minutes les lames étaient rincées à l'eau propre afin de chasser les écumes sur la lame. Ensuite nous avons procédé au séchage sur un râtelier à l'abri de la poussière. Après la coloration, les lames du passage étaient classées

dans les boîtes et celles du suivi longitudinal étaient lues par l'interne en pharmacie sur le terrain et les résultats ont été portés sur les fiches de suivi et dans le cahier de parasitologie.

NB : - les étalements trop minces ou trop épais ne se colorent pas bien
- ne jamais fixer une goutte épaisse.

4.7.2.2 Lecture de la goutte épaisse (quantification leucocytaire)

Elle consiste à identifier et quantifier par champ microscopique les différents stades parasitaires sur 300 leucocytes.

La lecture de la goutte a été faite à l'aide d'un microscope optique binoculaire à immersion à l'objectif 100, la parasitémie était quantifiée suivant la méthode quantitative leucocytaire. Les parasites étaient comptés en même temps que les leucocytes sur la lame. Lorsque le nombre de 300 leucocytes était atteint, le compte était arrêté.

La parasitémie est obtenue par la formule suivante :

$$P = N \times 7.500 / 300 \quad \text{avec } P = 25 \times N \text{ parasites}$$

P= la parasitémie

N est le nombre de parasites comptés au microscope, 300 est le nombre de leucocytes comptés et 7.500 est la moyenne leucocytaire par mm³ de sang chez l'adulte au Mali.

NB : une lame est négative si aucun parasite n'a été identifié à la lecture de toute la goutte épaisse.

4.7.3 Etude hématologique

4.7.3.1 Extraction de l'ADN humain par le Kit QIAamp® (QIAGEN)

Principe

Le principe de l'extraction de l'ADN par le Kit QIAGEN est basé sur la libération, la cristallisation, le lavage et enfin la récupération de l'ADN.

Matériels et composition du Kit QIAamp® (QIAGEN)

- ✓ Ciseaux
- ✓ Gants stériles
- ✓ Pipettes de 20 µl, 200 µl, 1000 µl
- ✓ Embouts de 20 µl, 200 µl, 1000 µl
- ✓ Agitateur
- ✓ Chronomètre
- ✓ Congélateur
- ✓ Box de conservation
- ✓ Marqueur indélébile
- ✓ Plaque chauffante
- ✓ Racks pour les tubes
- ✓ Centrifugeuse
- ✓ Mouchoir
- ✓ Thermomètre
- ✓ Tube Ependorf de 1,5ml
- ✓ Tube de 2ml
- ✓ Colonne Qiagen munie de filtre
- ✓ Ethanol absolu (96-100%)
- ✓ Kit QIAGEN
- ✓ Le Kit QIAGEN est composé de :
- ✓ Buffer ATL
- ✓ Buffer AL

- ✓ Buffer AW1
- ✓ Buffer AW2
- ✓ Buffer AE
- ✓ Protéinase K

Procédure

- Découper les spots de confettis imbibés de sang à l'aide de ciseaux et les introduire dans les tubes Eppendorf de 1,5 ml,
- Ajouter 180 µl de Buffer ATL, incuber à 85°C pendant 10 minutes,
- Centrifuger et ajouter 20 µl de protéinase K, mélanger à l'aide d'un Vortex,
- Incuber les tubes et leur contenu à 56°C pendant une heure
- Centrifuger brièvement les tubes pour faire descendre le liquide suspendu à leur paroi,
- Ajouter 200 µl de Buffer AL dans chaque tube, et les agiter à l'aide d'un vortex,
- Incuber les tubes à 70°C pendant 10 minutes,
- Centrifuger les tubes, et ajouter 200 µl d'éthanol absolu (96 -100%) dans chaque tube,
- Agiter les tubes à l'aide d'un vortex puis centrifuger brièvement les tubes,
- Transférer doucement tout le contenu des tubes dans des colonnes Qiagen munie de filtre,
- Fermer la colonne et la centrifuger à 8000 tours par minute pendant une minute,
- Jeter le tube contenant le filtrat et placer la colonne sur un autre tube de 2 ml,
- Mettre 500 µl de Buffer AW1 dilué avec de l'éthanol (19 ml de Buffer AW1 plus 25 ml de l'éthanol) dans la colonne,
- Centrifuger à 8000 tours par minute pendant une minute,

- Jeter le tube contenant le filtrat et placer la colonne sur un autre tube de 2 ml
- Mettre 500 µl de Buffer AW2 dilué avec de l'éthanol (13 ml de Buffer AW2 plus 30 ml de l'éthanol) dans la colonne,
- Centrifuger à 14000 tours par minute pendant 3 minutes.
- Jeter le tube contenant le filtrat et placer la colonne sur un tube eppendorf 1,5 ml.
- Mettre 150 µl de Buffer AE dans la colonne et à ~~incuber~~ incuber température ambiante de la salle pendant une minute,
- Centrifuger à 8000 tours par minute pendant une minute,
- Jeter la colonne et garder le filtrat contenu dans le tube eppendorf 1.5 ml à + 4°C (Ce filtrat contient l'ADN extrait et purifié)

4.7.3.2 Génotypage de la G6PD par la technique de polymérase Chain Réaction-Restriction enzyme Analysis (PCR-REA)

Principe

Le principe consiste à faire le diagnostic de la mutation ponctuelle au niveau du gène de la G6PD 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'amorce, qui s'hybride à une partie interne (nichée) de la séquence amplifiée

En mélangeant le couple d'amorce avec l'ADN de l'homme dans des conditions d'hybridation, ils se positionnent en face de leurs séquences complémentaires respectives. Puis en faisant agir une ADN polymérase (Taq polymérase), chaque amorce est allongée dans le sens 5'=>3' d'une séquence exactement complémentaire du brin copié.

Matériels

- ✓ Gants stériles
- ✓ Tubes de 0.2ml, 1.5ml,
- ✓ Pipettes de 2µl, 10 µl, 20 µl, 200 µl, 1000 µl

- ✓ Embouts de 2 µl, 10 µl, 20 µl, 200 µl, 1000 µl
- ✓ Marqueur indélébile
- ✓ Chambre à PCR
- ✓ Racks pour les tubes
- ✓ Thermocycler
- ✓ Réfrigérateur
- ✓ Bain marie
- ✓ Balance
- ✓ Erlenmeyer
- ✓ Moule
- ✓ Micro onde
- ✓ Eprouvette graduée 100ml
- ✓ Peignes pour gel
- ✓ Bac de migration
- ✓ Appareil photo UV
- ✓ Film polaroid
- ✓ Parafilm
- ✓ Générateur
- ✓ Source de lumière UV

Réactifs :

✓ Les Amorces : Deux paires d'amorces sont utilisés :
A2 : GTCTTCTGGGTCAGGGAT et B2 : GGAGAAAGCTCTCTCTCC pour la première amplification, NA4: CCTGTTCCCTCTGCCACA et NB4: GGGGGTCTCAAGAAGTAC pour la deuxième amplification

- ✓ Platinum supermix
- ✓ Eau pour biologie moléculaire
- ✓ Solution de buffer K 10X
- ✓ Solution de BSA 10X
- ✓ Enzyme Hsp92II
- ✓ Agarose ultra pure GIBCO BRL

- ✓ Solution de Bromure d'Ethidium (Sodium)
- ✓ TBE 0.5X
- ✓ Dye (buffer de chargement)
- ✓ Marqueur de poids moléculaire

Procédure de la PCR :

- ❖ Déterminer le nombre N d'échantillon à traiter
- ❖ Prendre un tube eppendorf 1.5 ml
- ❖ Mettre (N+1) x 22.5 µl de platinum supermix,
- ❖ Ajouter (N+1) x 0.1 µl de chacun des amorces A2 et B2 pour la première amplification ou NA4 et NB4 pour la deuxième amplification
- ❖ Bien mélanger,
- ❖ Distribuer ce mélange dans les tubes PCR 0.2 ml déjà identifiés en raison de 22.7 µl de mélange par tube PCR
- ❖ Mettre dans chacun des tubes PCR 2.5 µl d'ADN de l'échantillon correspondant pour la première amplification (1µl du produit de la première amplification de l'échantillon pour la deuxième amplification)
- ❖ Placer les tubes PCR dans la machine de PCR et mettre en marche le programme A pour la première amplification (le programme B pour la deuxième amplification.)

Programme de la première amplification :

- ✚ Dénaturation initiale à 95°C pendant 2 minutes

Puis 45 cycles de :

- ✚ Dénaturation à 95°C pendant 30 secondes
- ✚ Hybridation à 60°C pendant 45 secondes
- ✚ Extension à 72°C pendant 1 minute
- ✚ Extension finale à 74°C pendant 5 minutes
- ✚ Conservation à + 4°C pendant un temps indéterminé

- ✚ Sortir les tubes et les garder au réfrigérateur à 4°C.

Programme de la deuxième amplification :

- ✚ Dénaturation initiale à 94°C pendant 2 minutes

Puis 35 cycles de :

- ✚ Dénaturation à 95°C pendant 30 secondes
- ✚ Hybridation à 60°C pendant 1 minute
- ✚ Extension à 72°C pendant 45 secondes
- ✚ Extension finale à 74°C pendant 5 minutes
- ✚ Conservation à 4°C pendant une durée illimitée

Digestion enzymatique :

- ❖ Déterminer le nombre N d'échantillon à traiter,
- ❖ Prendre un tube eppendorf 1.5 ml,
- ❖ Mettre Nx13 µl d'eau pour Biologie moléculaire
- ❖ Ajouter Nx3 µl de la solution buffer K 10X
- ❖ Ajouter Nx3 µl de la solution de BSA 10X
- ❖ Ajouter Nx1 µl de l'enzyme Hsp92II
- ❖ Bien mélanger
- ❖ Ajouter 20 µl de mélange sur chacun des produits de la deuxième amplification dans les tubes PCR.
- ❖ Incuber l'ensemble à 37°C pendant au moins 2 heures.

Préparation du gel de migration : Gel à 1.5%

- ❖ Peser 1.5 g de poudre d'agarose et le mettre dans une fiole (erlenmeyer)
- ❖ Ajouter 100 ml de solution de TBE 0.5X
- ❖ Bouillir dans le micro onde pendant 3 minutes
- ❖ Laisser refroidir un peu, puis ajouter 3 µl de bromure d'Ethidium
- ❖ Couler le gel dans une moule mise en place à cet effet.
- ❖ Laisser le gel se refroidir et prendre en masse.

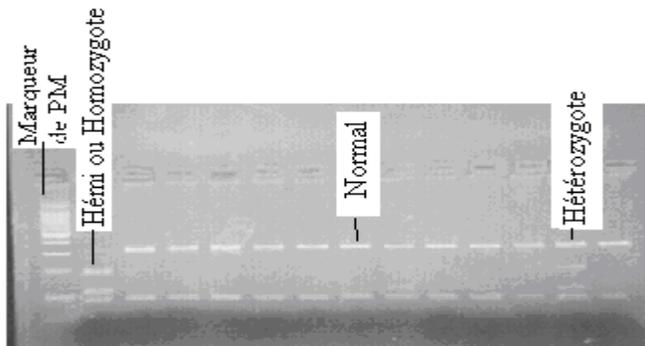
La migration :

- ❖ Placer le gel préparé dans le bac à migration contenant la solution de TBE 0.5X (la solution de TBE doit submerger le gel)
- ❖ Mélanger 10 µl du produit de la digestion avec 3 µl du buffer de chargement (dye)
- ❖ Mettre ces mélanges dans les puits du gel
- ❖ Faire la migration pendant 25 minutes à 500 mA sous un voltage constant de 200 V
- ❖ Voir les bandes d'ADN à la lumière UV
- ❖ Faire la photo du gel à l'aide d'une camera polaroid.
- ❖ Numéroté les bandes.

Interprétation de la photographie

Après digestion et la migration, les allèles mutés sont coupés en deux bandes de petite taille (environ 100 à 200 bp), alors que les allèles normaux ont une taille plus grande d'environ 300 bp.

FIGURE 4: photographie d'une bande d'ADN de la G6PD après digestion



4.7.3.3 Phénotypage de l'Hémoglobine :

Il a été réalisé par la méthode de chromatographie en phase liquide haute performance. (**D-10 Bio-Rad**). Cette méthode est très efficace et

rapide, Elle permet de déterminer les différents types d'hémoglobine et leur proportion dans un échantillon.

4.7.3.3.1-Principe de la procédure du D-10 :

Le D-10 Dual Program repose sur le principe de la séparation des analytes par chromatographie liquide à haute performance (HPLC) par échange d'ions. Les échantillons sont automatiquement dilués dans le système D-10, puis injectés dans la cartouche analytique. Le système D-10 envoie un gradient programmé de tampon de force ionique croissante dans la cartouche ; les molécules d'hémoglobines sont alors séparées en fonction de leur interaction ionique avec le matériau contenu dans la cartouche. Les molécules d'hémoglobine séparées traversent ensuite la cellule à circulation du photomètre filtre où sont mesurés les changements d'absorbance à 415 nm.

Le logiciel D-10 intègre les données brutes recueillies lors de chaque analyse. Un étalonnage à deux niveaux est employé pour déterminer les valeurs de HbA2/F/A1c. Un compte-rendu d'analyse et un chromatogramme sont générés pour chaque échantillon. La surface de l'HbA1c est calculée à l'aide d'un algorithme gaussien exponentiellement modifié (EMG) qui permet d'exclure la surface des pics dus à l'HbA1c labile et à l'hémoglobine carbamylée de la surface du pic A1c.

Prélèvement et manipulation des échantillons

Type d'échantillon

Le sang total a été utilisé.

Précautions relatives au prélèvement des échantillons

Traiter toute substance d'origine humaine comme potentiellement infectieuse et manipuler en appliquant les procédures de biosécurité d'usage.

Additifs et agents de conservation des échantillons

Les échantillons de sang total doivent être recueillis dans un tube sous vide contenant de l'EDTA.

Conservation des échantillons

Les échantillons de sang total peuvent être conservés jusqu'à 4 jours entre 2 et 8 °C.

4.8. Etude immunologique

Nous avons réalisé la séparation des cellules mononuclées du sang périphérique en utilisant la méthode de Ficoll à Bandiagara.

➤ **Séparation des lymphocytes à partir du sang total : méthode du Ficoll.**

Réactifs et matériels

- Ficoll,
- RPMI, ou PBS,
- Sérum foetal de veau (FCS),
- Gentamicine,
- Glutamine,
- Hepes 10nm,
- Diméthyle sulfoxide (DMSO),
- Tube de 15 ou 50 ml,
- Centrifugeuse,
- Hood,
- Pipette de 10 ou 5 ml,
- Embout de 10, 100 ou 1000.

Mode opératoire

- Mettre du sang dans le tube de 15 ou 50ml.
- Diluer avec du RPMI à volume égal.
- Transférer le sang dilué dans un autre tube contenant le ficoll.

- Mettre en centrifugation le sang sur du ficoll à 1700 g pendant 30mn.
- Récupérer la couche lymphocytaire dans un autre tube de 15 ou 50 ml.
- Laver 2 fois les cellules avec du RPMI à 1500 g.
- Verser le surnageant et resuspendre le culot dans du milieu complet (RPMI, 50% FCS, Gentamicine, Hepes, Glutamine).
- Compter les cellules et congeler les avec 10% de DMSO dans un Revco de -70 degré.

➤ **Technique de marquage**

Réactifs et matériels

- Anti-gamma delta FITC,
- Anti-CD3 PE,
- Buffer frais (PBS, 2% FCS, 0,2% NaN₃),
- Facs tubes
- Centrifugeuse,
- Aspirateur.
- Anti CD25-, T-reg.

Mode opératoire

- Transférer la solution contenant les cellules dans les tubes Facs, puis centrifuger à 800 g pendant 7 mn.
- Aspirer le surnageant délicatement.
- Resuspendre le culot dans 50 µl de solution PBS avec 1%FCS et du Anti-gamma delta dilué au 1/50 et incubé au frais pendant 20 mn.
- Mettre en incubation et au frais dans l'obscurité pendant 20 mn.
- Ajouter 1 ml de la solution fraîche (PBS avec 2% FCS, 0,2% NaN₃) et centrifuger à 800 g pendant 5 mn.
- Aspirer le surnageant délicatement.

- Ajouter 1 ml de la solution fraîche (PBS avec 2% FCS, 0,2% NaN₃) et centrifuger à 800 g pendant 5 mn.
- Verser le surnageant.
- Resuspendre les cellules dans 250 µl de PBS.
- Ajouter 250 µl PBS 2% de formaldéhyde et faire la lecture au FACS.

4.9 Considérations éthiques

Cette étude a été menée après l'approbation du comité d'éthique de la F.M.P.O.S du Mali (N° 32 / FMPOS, 30 mai 2006).

Tous les cas d'affections (paludisme et autres) étaient systématiquement pris en charge gratuitement par l'équipe du MRTC/DEAP.

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.

5. Gestion et Analyse des données

L'analyse des données a été réalisée en utilisant le logiciel SPSS (version 12) et Epi-info.

Les données ont été enregistrées sur un cahier ou des fiches individuelles avant d'être saisies, et à la fin de chaque journée un contrôle de qualité était effectué pour déceler d'éventuelle erreur. Nous avons procédé à une double saisie avec réconciliation des fichiers.

Les lames de GE ont été relues au laboratoire du MRTC/DEAP pour un contrôle de qualité.

La saisie a été faite au logiciel ACCES. L'analyse a été effectuée en utilisant le logiciel SPSS (version 12) et Epi-info pour le calcul de Khi carré. La valeur $p \leq 0,05$ a été considérée comme statistiquement significative.

6. RESULTATS

6.1- Caractéristique de la population d'étude.

6.1.1- Caractéristiques sociodémographiques de la population d'étude.

Tableau I : répartition des sujets étudiés en fonction de l'ethnie.

Ethnie	Effectif	Fréquence(%)
Dogon:	90	68,2
Peulh :	42	31,8
Total:	132	100

Les Dogon étaient plus représentés avec 68,2% contre 31,8% de Peulh.

Tableau II : répartition de la population d'étude selon le sexe.

Sexe	Effectif	Fréquence (%)
Masculin:	64	48,5
Féminin:	68	51,5
Total:	132	100

Le sexe ratio était de 1,06 en faveur du sexe féminin.

6.2-Résultats parasito-cliniques

6.2.1 Résultats cliniques

Tableau III : distribution des cas fébriles en fonction de l'ethnie.

		Température		Total
		< 37,4	≥ 37,5	
Ethnie	Dogon n(%)	84 (93,3%)	6 (6,7%)	90
	Peulh n(%)	40 (95,2%)	2 (4,8%)	42
Total		124	8	132

La fréquence de la fièvre entre les deux ethnies était comparable (p-value = 0,6).

Tableau IV : indice splénique(IS) selon l'ethnie.

Splénomégalie		
	Effectif	IS
Ethnie		
Dogon	90	1(1,1%)
Peulh	42	3(7,1%)
Total	132	4

L'indice splénique était plus élevé dans la population Peulh (7,1%) versus Dogon (1,1%) p-value = 0,048.

6.2.2-Résultats parasitologiques

Tableau V : indice plasmodique(IP) de la population d'étude.

GE	Effectif	IP (%)
Positive:	10	7,6
Total:	132	100

L'indice plasmodique était de 7,6%.

Tableau VI : l'indice plasmodique(IP) selon l'ethnie.

GE		
Ethnie	Effectif	IP
Dogon	90	5 (5,6%)
Peulh	42	5 (11,9%)
Total:	132	10

L'IP était comparable entre les deux ethnies (p-value = 0,07).

6.3-Résultats hématologiques:

Tableau VII : répartition des sujets étudiés en fonction du type d'hémoglobine.

Type d'hémoglobine	Effectif	Fréquence(%)
AA	116	87,9
AC	13	9,8
AS	3	2,3
Total	132	100

L'hémoglobine de type AA était majoritaire dans notre population d'étude avec une fréquence de 87,9 %, suivi respectivement de AC 9,8 % et de AS 2,3 %. Nous n'avons pas observé les formes SS, CC et de SC dans notre échantillon.

Tableau VIII : répartition des sujets étudiés en fonction du type d'hémoglobine et du sexe.

	Types d'hémoglobine			Total
	AA	AC	AS	
Masculin n(%)	59 (92,2%)	4 (6,3%)	1 (1,6%)	64
Sexe				
Féminin n(%)	57 (83,8%)	9 (13,2%)	2 (2,9%)	68
Total	116	13	3	132

Nous n'avons pas observé de différence statistiquement significative entre le type d'hémoglobine et le sexe (p-value= 0,33).

Tableau IX : répartition des sujets étudiés en fonction du type d'hémoglobine et de l'ethnie.

		Type d'hémoglobine			
		AA	AC	AS	Total
Ethnie	Dogon	75 (83,3)	12 (13,3)	3 (3,3)	90
	Peulh	41 (97,6)	1 (2,4)	-	42
Total		116	13	3	132

La fréquence de l'HbAC était plus élevée chez les Dogons que chez les Peulh ($p=0,025$). Nous n'avons pas trouvé d'HbS chez les Peulh.

Tableau X : fréquence du G6PD.

G6PD					
	Normal	Hétérozygote	Hemizygote	Non applicable	Total
Fréquence	121 91,7%	8 6,1 %	2 1,5 %	1 0,8%	132

La fréquence du déficit en G6PD était de 6,1% d'Hétérozygote et de 1,5% d'Hemizygote.

Tableau XI : fréquence du G6PD selon le sexe.

	G6PD				Total
	Normal	Hétérozygote	Hemizygote	Non Applicable	
Sexe Masculin	62 (96,8%)	-	1 (1,6)	1 (1,6)	64
Féminin	59 (86,8%)	8 (11,8%)	1 (1,5%)	-	68
Total	121	8	2	1	132

La fréquence d'Hétérozygote était de 11,8% (7/89) dans la population féminine et d'Hemizygote de 1,6 (1/64) dans la population masculine.

Tableau XII : répartition du G6PD selon l'ethnie.

	G6PD				Total
	Normal	Hétérozygote	Hemizygote	Non Applicable	
Ethnie Dogon	80 88,9%	7 7,8%	2 2,2 %	1 1,1 %	90
Peulh	41 97,6 %	1 2,4 %	-	-	42
Total	121	8	2	1	132

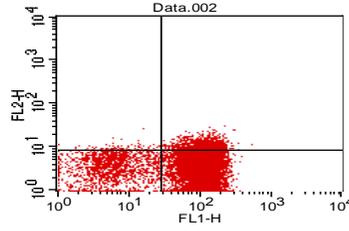
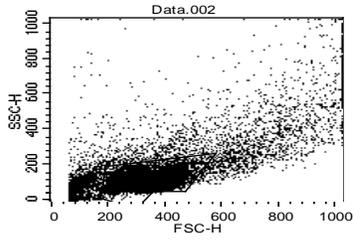
La fréquence d'Hétérozygote était de 7,8% (7/88) chez les Dogon et de 2,4% (1/42) chez les Peulh (p = 0,095). La fréquence d'Hemizygote était de 2,2 (2/90) chez les Dogon 0% chez les Peulh.

6.4. Evaluation du rôle des cellules gamma delta T et des cellules T régulatrices.

Tableau XIII : répartition de la moyenne des proportions des cellules gamma/delta T en fonction de l'ethnie.

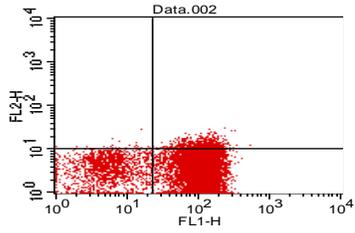
Ethnie	Effectif	Moyenne (%)	Ecart-type
Dogon	22	1,57	1,01
Peulh	21	1,91	1
Total	43	1,74	1.01

La moyenne des proportions des cellules gamma /delta T était comparable entre les ethnies (p-value >0,05).



File: Data.002 Sample ID: CD3 FITC
 Patient ID: Tube: Untitled
 Panel: GAMMA DELTA Acquisition Date: 18-Apr-08
 Gate: G1 X Parameter: FL1-H (Log)
 Y Parameter: FL2-H (Log)

Quad	Events	% Gated	% Tota
UL	119	1.15	0.80
UR	1215	11.70	8.17
LL	1630	15.69	10.96
LR	7425	71.47	49.91



File: Data.002 Sample ID: CD3 FITC
 Patient ID: Tube: Untitled
 Panel: GAMMA DELTA Acquisition Date: 18-Apr-08
 Gate: G1 X Parameter: FL1-H (Log)
 Y Parameter: FL2-H (Log)

Quad	Events	% Gated	% Tota
UL	32	0.31	0.22
UR	675	6.50	4.54
LL	1609	15.49	10.82
LR	8073	77.71	54.26

Fig 5: image gamma delta “T cells”

Tableau XIV: moyenne des proportions des cellules gamma/delta T en fonction de l'ethnie et du sexe.

Ethnie	Sexe	Effectif	Moyenne (%)	Ecart-type
Dogon	Masculin	8	1,48	0,75
	Féminin	14	1,62	1,16
	Total	22	1,57	1,01
Peulh	Masculin	15	1,77	1,08
	Féminin	6	2,28	0,69
	Total	21	1,91	1

La moyenne des proportions des cellules gamma /delta T était statistiquement plus élevée chez le sexe féminin par rapport au sexe masculin (p-value=0,03) dans les deux ethnies.

Tableau XV : moyenne des proportions des cellules gamma delta productrices de l'interféron gamma par ethnie.

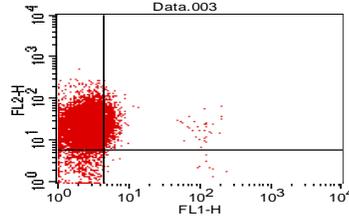
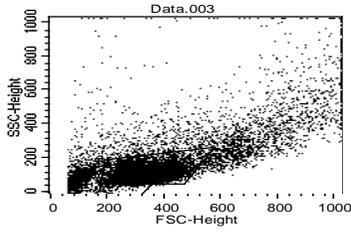
Ethnie	Effectif	Moyenne (%)	Ecart-type
Dogon	22	1,40	0,80
Peulh	21	1,66	0,90
Total	43	1,53	0,85

La moyenne des proportions des cellules productrices de l'interféron gamma était statistiquement plus élevée chez les Peulh par rapport aux Dogon (p-value=0,024).

Tableau XVI : moyenne des proportions des cellules gamma delta productrices de l'interféron gamma en fonction de l'ethnie du sexe.

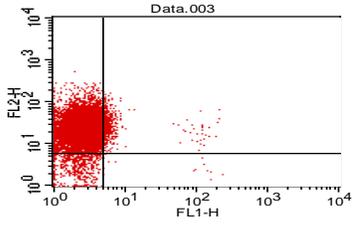
Ethnie	Sexe	Effectif	Moyenne (%)	Ecart-type
Dogon	Masculin	8	1,37	0,60
	Féminin	14	1,42	0,92
	Total	22	1,40	0,80
Peulh	Masculin	15	1,57	1,02
	Féminin	6	1,89	0,54
	Total	21	1,66	0,90

La moyenne des proportions des cellules productrices de l'interféron gamma était statistiquement plus élevée chez le sexe féminin par rapport au sexe masculin dans les deux ethnies (p-value=0,024).



File: Data.003 Sample ID: INF-gamma
 Patient ID: Tube: tube #1
 Panel: GAMMA DELTA Acquisition Date: 18-Apr-06
 Gate: G1 X Parameter: FL1-H (Log)
 Y Parameter: FL2-H (Log)

Quad	Events	% Gated	% Total
UL	8963	86.52	61.06
UR	820	7.92	5.59
LL	557	5.38	3.79
LR	19	0.18	0.13



File: Data.003 Sample ID: INF-gamma
 Patient ID: Tube: tube #1
 Panel: GAMMA DELTA Acquisition Date: 18-Apr-06
 Gate: G1 X Parameter: FL1-H (Log)
 Y Parameter: FL2-H (Log)

Quad	Events	% Gated	% Total
UL	9368	90.43	63.82
UR	422	4.07	2.87
LL	557	5.38	3.79
LR	12	0.12	0.08

Fig 6: image interféron gamma

Tableau XVII : moyenne des proportions des cellules T régulatrices par ethnie.

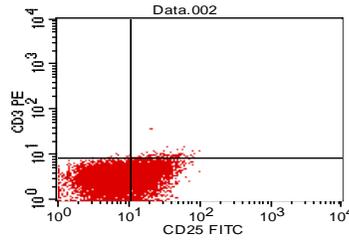
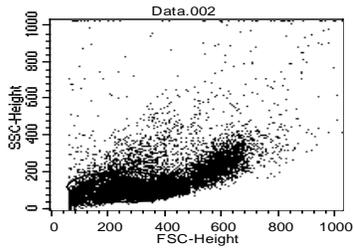
Ethnie	Effectif	Moyenne (%)	Ecart-type
Dogon	24	0,05	0,05
Peulh	23	0,08	0,08
Total	47	0,07	0,07

La moyenne des proportions des cellules T régulatrices était comparable entre les deux ethnies. (p-value=0, 07).

Tableau XVIII : moyenne des proportions des cellules T régulatrices par ethnie et par sexe.

Ethnie	Sexe	Effectif	Moyenne (%)	Ecart-type
Dogon	Masculin	10	0,07	0,05
	Féminin	14	0,03	0,03
	Total	24	0,05	0,05
Peulh	Masculin	17	0,09	0,08
	Féminin	6	0,07	0,1
	Total	23	0,08	0,08

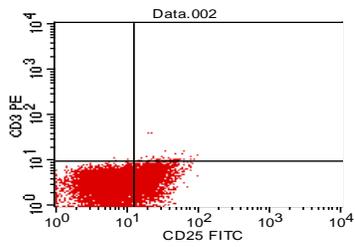
Nous n'avons pas observé de différence statistiquement significative dans la moyenne des proportions des cellules T régulatrices en fonction de l'ethnie et du sexe. (p-value=0,07).



File: Data.002 Sample ID: FL1
 Patient ID: Tube: tube #6
 Panel: T REG CD25 Acquisition Date: 18-Apr-08
 Gate: G1 X Parameter: CD25 FITC (Log)
 Y Parameter: CD3 PE (Log)

Quad	Events	% Gated	% Tota
UL	15	0.15	0.10
UR	134	1.37	0.92
LL	6555	66.94	44.88
LR	3088	31.54	21.14

Fig 7: image Treg



File: Data.002 Sample ID: FL1
 Patient ID: Tube: tube #6
 Panel: T REG CD25 Acquisition Date: 18-Apr-08
 Gate: G1 X Parameter: CD25 FITC (Log)
 Y Parameter: CD3 PE (Log)

Quad	Events	% Gated	% Tota
UL	5	0.05	0.03
UR	68	0.69	0.47
LL	7131	72.82	48.82
LR	2588	26.43	17.72

Tableau XIX : moyenne des lymphocytes CD4 en fonction de l'ethnie.

Ethnie	Effectif	Moyenne (%)	Ecart-type
Dogon	24	18,64	4,89
Peulh	23	21,21	8,34
Total	47	19,90	6,85

La moyenne des lymphocytes CD4 était statistiquement plus élevée chez les Peulh par rapport aux Dogon. (p-value=0,03).

Tableau XX : moyenne des lymphocytes CD4 en fonction de l'ethnie et du sexe.

Ethnie	Sexe	Effectif	Moyenne (%)	Ecart-type
Dogon	Masculin	10	17,32	3,74
	Féminin	14	19,58	5,50
	Total	24	18,64	4,89
Peulh	Masculin	17	21,36	8,27
	Féminin	6	20,79	9,34
Total		23	21,21	8,34

La moyenne des lymphocytes CD4 était statistiquement plus élevée chez le sexe féminin par rapport au sexe masculin dans les deux ethnies. (p-value=0,036).

7. DISCUSSION

Le but de ce travail était d'évaluer la susceptibilité au paludisme dans deux groupes ethniques (Dogon et Peulh) vivant en sympatrie au Mali et de déterminer d'éventuels facteurs immunologiques 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 étaient similaires dans les deux groupes ethniques, les niveaux de transmission dans les sites l'étaient également [16,11].

Deux passages, transversal en septembre 2007 qui a durée 2 semaines et d'investigation immunologique d'octobre à novembre 2007. Au cours de ces passages le dépistage moléculaire du déficit en G6PD érythrocytaire a été effectué grâce aux techniques de biologie moléculaire(PCR) déterminant ainsi le polymorphisme génétique de la G6PD. Les échantillons ont été recueillis à partir des confettis réalisés sur le site. Les types d'hémoglobine ont été déterminés par la méthode de chromatographie en phase liquide haute performance. C'est une méthode très fiable, très performante mais de coût très élevé. La détermination des types d'hémoglobine et le dépistage du déficit en G6PD ont été effectués au cours du screening pour les éliminer de l'étude immunologique ultérieure sur l'étude de l'éventuel rôle protecteur des cellules gamma delta et des cellules T régulatrices dans le paludisme ; ceci pour éviter des facteurs de confusion dans la protection contre le paludisme.

Aspects méthodologiques

Au cours de nos passages, l'examen clinique complet a été réalisé chez les sujets fébriles et la combinaison Sulfadoxine-pyriméthamine plus l'amodiaquine a été utilisée pour le traitement de l'accès palustre simple. La quinine était réservée au cas graves de paludisme. Nous avons réalisé des gouttes épaisses pour le diagnostic biologique du paludisme.

Le taux de participation est assez bon dans l'ensemble. Cependant les Dogon étaient majoritaires avec 68,2% contre 31,8% de Peulh. Le sexe ratio est de 1,06 en faveur du sexe féminin. Ce résultat est comparable à celui obtenu chez les Mossi et les Peulh le sexe ratio était de 1,36 en faveur des femmes [17]. Le calcul de la taille de l'échantillon prévoyait d'inclure 60 adultes dans chaque groupe ethnique pour les investigations d'immunologie cellulaire. Ainsi, au cours du screening, nous inclus 90 Dogons et 42 Peulh. Les quelques difficultés rencontrées sont inhérentes à toutes études populationnelles et n'ont pas eu d'impact significatif sur la réalisation du travail.

Compte tenu du coût très élevé nous n'avons pu faire des études d'immunologie cellulaire que chez 20 adultes dans chaque groupe. Mis à part les réactifs de séparation des lymphocytes (Ficoll, RPMI) et le matériel consommable (pipettes, tubes divers), les anticorps et réactifs de marquage ont coûté 10 000 dollars US, soit le quart du budget de l'étude. Nous avons eu une idée du rôle des cellules gamma delta et des cellules T régulatrices dans la protection contre le paludisme avec cet effectif réduit (20 dans chaque groupe ethnique).

Résultats cliniques et parasitologiques

Les sujets fébriles étaient comparables entre les deux ethnies ($p=0,6$). Ce résultat est comparable à celui obtenu par COULIBALY en 2003 dans la même localité avec $p=0,89$. L'indice splénique était significativement ($p=0,048$) plus élevé chez les Peulh (7,1%) que chez les

Dogon [1,1]. Bryceson et al en 1976 [5], Modiano et al 1995 [21] avaient obtenu des résultats similaires respectivement chez des femmes Peulh au Nigeria et chez des Peulh au Burkina Faso. Nous avons observé que l'indice plasmodique était comparable entre les deux ethnies cela pourrait être du au fait que notre étude a eu lieu en fin de saison de transmission à une période de très faible transmission palustre ; et aussi du fait que la population d'étude était adulte.

Anomalies de l'hémoglobine

L'hémoglobine de type AA était majoritaire dans notre population d'étude avec une prévalence de 87,9 %, suivi respectivement de AC 9,8 % et de AS 2,3 %. Nous n'avons pas observé les formes SS, CC et de SC dans notre échantillon. Cela pourrait s'expliquer par le fait que notre étude a été réalisée sur une population adulte ou par la méthode utilisée.

Nous n'avons pas observé de différence statistiquement significative entre le type d'hémoglobine et le sexe. La fréquence de l'HbAC était plus élevée 13,3% chez les Dogon que chez les Peulh (2,4%). Ce résultat est similaire à celui obtenu par Baby [4] chez les Dogon de Sangha. La faible prévalence du type d'hémoglobine anormal et de déficit en G6PD chez les Peulh par rapport aux Dogon ne nous permet pas d'affirmer la faible susceptibilité des Peulh par rapport aux Dogon au paludisme.

Le G6PD normal prédominait avec 91,7% ; ce résultat est comparable à celui obtenu par Traore K [31] à Bandiagara (83,6%) en 2004. Le déficit en G6PD a été observé dans une proportion de 16,5% dans notre étude ; il a été observé chez 13,3 % des sujets de sexe féminin contre 3,2% des sujets de sexe masculin. Traoré A en 2003 [30] avait trouvé une prédominance du sexe masculin avec 15,7% dans les zones malinkés, Duflo et al [12] en 1975 dans une étude hospitalière menée à

Bamako à l'HGT rapportaient la prédominance du sexe masculin avec 7,4% en 1975.

Cette proportion élevée du déficit chez les sujets de sexe féminin dans notre étude pourrait s'expliquer par le fait que nous avons utilisé la technique PCR qui détermine le trait déficitaire porté par le gène qui code pour la G6PD. Ce gène est porté par le chromosome X ; la femme ayant deux chromosomes X, est plus exposée au gène déficient mais la manifestation clinique de l'affection est beaucoup plus fréquente chez l'homme qui a un seul chromosome X. Pour la femme qui a deux chromosomes X, il faudrait que le gène déficient soit porté par les deux chromosomes X pour que l'activité enzymatique soit fortement réduite.

Les auteurs précités avaient tous utilisé la méthode biochimique mesurant l'activité de l'enzyme dans le globule rouge.

L'activité de G6PD était comparable entre les deux ethnies ($p=0,095$).

Cellules gamma delta

Il a été rapporté chez l'homme, une augmentation remarquable du nombre de cellules $\gamma\delta$ T dans le sang périphérique au cours de l'infection palustre et qui demeure élevée plus d'un mois après traitement [10]. Troye-Blomberg *et al* [32] ont montré que les cellules $\gamma\delta$ T inhibent *in vitro* la croissance des formes asexuées de *Plasmodium falciparum* par une voie cytotoxique.

Nous avons observé que la moyenne des proportions des cellules gamma/delta T était statistiquement plus élevée chez les Peulh par rapport aux Dogon (P-value=0,03). Cette différence pourrait être un facteur de la faible susceptibilité des Peulh par rapport aux Dogons dans le paludisme.

La moyenne des proportions des cellules gamma /delta T était statistiquement plus élevée chez le sexe féminin par rapport au sexe masculin (P-value=0,03) dans les deux ethnies. Cela pourrait s'expliquer par des facteurs hormonaux qui interviennent le plus chez la femme par rapport à l'homme.

Dans notre étude la moyenne des proportions des cellules productrices de l'interféron gamma était statistiquement plus élevée chez les Peulh par rapport aux Dogon (P-value=0,024). Nous avons également trouvé que la moyenne des proportions des cellules productrices de l'interféron gamma était statistiquement plus élevée chez le sexe féminin par rapport au sexe masculin dans les deux ethnies (P-value=0,024). Cela nous permet d'affirmer que l'immunité anti-palustre dépendant des cellules gamma/delta T est plus protectrice chez les Peulh par rapport aux Dogon.

Cellules T régulatrices

Dans une étude longitudinale de l'infection naturelle par *P. falciparum*, il a été démontré que les cellules T-regs ont un effet immuno-régulateur sur le stade érythrocytaire du parasite *in vivo* [34]. Il semble que les cellules T regs pourraient induire une réponse immune délétère dans l'élimination des parasites et/ou de la régulation de la réponse immune à l'infection par *P. falciparum*

Nous avons observé dans notre étude que la moyenne des proportions des cellules T régulatrices était comparable entre les deux

ethnies. Cependant, une étude similaire menée au Burkina Faso a montré une faible expression des gènes des cellules T régulatrices (CTA4 et FOXP3) chez les Peulh vivant en sympatrie avec les Mossi [17].

La compréhension des mécanismes qui sous-tendent le rôle potentiel de ces populations de cellules T (cellules $\gamma\delta$ T et les T reg) dans la susceptibilité et/ou la résistance au paludisme pourrait aider dans la lutte et le développement des outils de contrôle de cette endémie.

8. CONCLUSION- RECOMMANDATIONS

Conclusion

Au terme de cette étude nous pouvons conclure que:

- L'indice splénique était plus élevé chez les Peulh;
- L'indice plasmodique était plus élevé chez les Dogon;
- Les anomalies de l'hémoglobine (HbS, HbC, G6PD) étaient plus fréquentes chez les Dogons que les Peulh;
- Les cellules gamma delta seraient impliquées dans la protection contre le paludisme chez les Peulh, le rôle des cellules régulatrices n'est pas évident.

Recommandations

Au regard de ces résultats nous formulons les recommandations suivantes :

1. Effectuer le même protocole sur un échantillonnage significatif ;
2. Poursuivre la recherche sur les facteurs immuno-génétiques qui pourraient être impliqués dans la différence de susceptibilité au paludisme entre les Dogon et les Peulh ;
3. Effectuer une étude intra-ethnique chez les Peulh pour déterminer d'éventuels facteurs génétiques impliqués dans leur résistance au paludisme.
4. Effectuer le même protocole sur une cohorte d'enfants pendant la saison de transmission pour évaluer le taux des cellules gamma/delta et T régulatrices au cours des accès palustres ou non.

9. Fiche signalétique

Nom: **TAPILY**

Prénom: **Abdoulaye S**

Nationalité: **Malienne**

Date de soutenance:

Ville de soutenance: **Bamako**

Titre: Rôle potentiel des cellules gamma /delta et T régulatrices dans la protection contre le paludisme dans deux groupes ethniques (Peulh & Dogon) vivant en sympatrie au Mali.

Lieu de dépôt: Bibliothèque de la faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie(F.M.P.O.S), Université de Bamako(UB), Mali.

Secteur d'intérêt : Parasitologie, Immunologie, Santé publique.

Résumé

Ce travail consistait à évaluer le rôle des cellules $\gamma\delta$ T et T-reg dans la protection contre le paludisme chez les populations Peulh et Dogon ayant une susceptibilité différente au paludisme. Nous avons mené un premier passage transversal parasito-clinique en septembre pour dépister les sujets à inclure. Le dépistage a porté sur 90 Dogon et 42 Peulh chez lesquels nous avons procédé à détermination moléculaire du déficit en G6PD érythrocytaire et la détermination du type d'hémoglobine ont été effectués. Les investigations immunologiques ont eu lieu au passage transversal d'octobre à novembre 2007 ; La lymphe-séparation a été effectuée chez 90 Dogon et 42 Peulh ; mais l'étude des cellules gamma delta et des cellules T régulatrices a porté sur vingtaine d'individus de chaque groupe ethnique.

Au terme de ce travail il ressort que :

- L'indice splénique était plus élevé chez les Peulh par rapport aux Dogon (P-value=0,048) ; mais l'indice plasmodique était comparable entre les deux ethnies.
- L'activité de G6PD était comparable entre les deux ethnies (p=0,095).
- La prévalence des hémoglobines anormales était faible chez les Peulh par rapport aux Dogon.
- La moyenne des proportions des cellules gamma/delta T et des cellules productrices de l'interféron gamma était plus élevée chez les Peulh par rapport aux Dogon (respectivement p=0,03 et p =0.02)
- La moyenne des proportions des cellules T régulatrices était comparable entre les deux ethnies.
- La moyenne des lymphocytes CD4 était statistiquement plus élevée chez les Peulh par rapport aux Dogon.

Nous retenons que les Peulh produisaient plus de cellules gamma/delta et moins susceptibles au paludisme. Donc des études ultérieures sont nécessaires pour mieux appréhender cette observation.

Mots clés : paludisme, cellules gamma delta T, cellules T régulatrices, interféron gamma, Peulh, Dogon, Mali.

10. Références bibliographiques :

1. AGARWAL A, GUINDO A, CISSOKO Y, TAYLOR JG, COULIBALY D, KONE A, KANYENTAO K, DJIMDE A, PLOWE CV, DOUMBO O, WELLEMS TE, 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 Oct 1; 96(7); 2358-63.

2. ALLEN S J, A O'DONNELL, ALEXENDER N.D.E, ALPERS T, PETO E.A, PETO T.E.A, CLEGG J.B, AND WEATHERALL D J.

α^+ -Thalassemia protects children against disease caused by other infections as well as malaria.

Proc Natl Acad Sci USA. 1997 Dec; 94(26):14736-41

3. ARAMA C.

Facteurs immunogénétiques et parasitaires impliqués dans la susceptibilité au paludisme dans deux groupes ethniques vivant en sympatrie au Mali. *Thèse de pharmacie, Bamako, 2002 N° 45.*

4. BABY M.

Approche pluridisciplinaire des hémoglobinopathies chez les Dogon de l'arrondissement de Sangha (MALI).

These : Pharm : Bamako 1991; 2.

5. BRYCESON AD, FLEMING AF, EDINGTON GM.

Splenomegaly in Northern Nigeria. *Acta Trop*. 1976; 33(3):185-214.

6. COULIBALY M.

Réponse humorale anti-AMA-1 et anti-MSP-1 de deux groupes ethniques vivant en sympatrie dans la région de Mopti au Mali. *Th : Ph Bamako, 2004,-74P, 66.*

7. DAOU M.

Susceptibilité au paludisme dans des groupes ethniques vivant en sympatrie au Mali : épidémiologie, immunité humorale et types d'hémoglobine. *These Pharmacie F MPOS 2001 N° 47*

8. DEMBELE G.

Place du paludisme dans les hospitalisations Pédiatriques de l'HGT.
Thèse de médecine Bamako, 1991 N°31

9. DIAWARA F.

Contribution à l'étude des convulsions fébriles de l'enfant et du Nourrisson à l'Hôpital Gabriel Touré. *Th. Méd, 1991, 121_91m07.*

10. DIELI F, TROYE-BLOMBERG M, FAROUK S. E, SRECIL G.AND SALERNO A. Biology of gamma delta T cells in tuberculosis and malaria. *Cur mol med 2001.1: 437-446.*

11. DOLO A, MODIANO D, MAIGA B, DAOU M, DOLO G, GUINDO H, BA M, MAIGA H, COULIBALY D, PERLMAN H, BLOMBERG MT, TOURE YT, COLUZZI M, DOUMBO O.

Difference in susceptibility to malaria between two sympatric ethnic groups in Mali. *Am J Trop Med Hyg. 2005 Mar ; 72(3) :243-8.*

12. DUFLO B, DIALLO, TOURE K, SOULA, G.

Glucose-6-phosphate déshydrogénase deficiency in Mali. Epidemiology and pathological aspects . *Hematology journal* 1975 May-Jun, 72(3):258-68.

13. DOUMBO OK, DJIMDE AA, THERA MA.

Development of anti-malarial vaccines and need for clinical trial in accordance with international standards in South Africa.
Bull. Soc. Pathol Exot. 2008, Jun ; 101 (3) : 249 -253.

14. GUINDO O.

Epidémiologie du paludisme dans la région de Sikasso : Formes graves et compliquées à l'Hôpital Régional de Sikasso; étude CAP et saisonnalité dans un village rural.

Thèse Médecine. Bamako, 2002, FMPOS.

15. JANET COX-SINGH J, DAVIS TM, LEE KS, SHAMSULL, MATUSOP A, RATNAM S, RAHMAN HA, CONWAY DJ, SINGH B.

Plasmodium knowlesi malaria in humans is widely distributed and potentially life threatening.

*Clin Infect Dis.*2008 Jan15;46(2):172-3.

16. MAIGA B. Susceptibilité au paludisme et groupes ethniques sympatriques dans le cercle de Koro (Mopti). *Thèse Médecine FMPOS* 2000 N° 105.

17. MARIA G. TORCIA, VERONICA SANTARLSCI, ANNARAIA CLEMENTE, BIENVENU SODIOMON SIRIMA, MARIO COLLUZZI AND DAVID MODIANO.

Functional deficit of T regulatory cells in Fulani, an ethnic group with low susceptibility to *Plasmodium falciparum* malaria.

646-651/PNAS/January15, 2008/vol.105/ N° 2.

18. MATSUYAMA T, TOMINAGA N, OHKUSU-TSUKADA K, UDONO H, ABE R, YUI K. Development of Th1 and not Th2 immune responses in mice lacking IFN-regulatory factor-4.

Int Immunol. 2003 Jan; 15(1):1-10.

19. MILLER L.H. Genetically determined human resistance factors.

In Malaria: Principles and Practice of Malariology, eds .Wernsdorfer, W.H & McGregor, Sir I. (Churchill Livingstone, Edinburgh), 1988, pp. 488-500

20. MILLER LH, BARUCH DI, MARSH K, DOUMBO OK. The pathogenic basis of malaria. *Nature. 2002 Feb 7; 415 (6872): 673-9.*

21. 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.*

22. OCANA-MORGNER, MOTA MM, RODRIGUEZ A. Malaria blood stage suppression of liver stage immunity by dendritic cells. *J exp Med.2003 Jan20, 197(2):137-41.*

23. PALU TROP.

Prise en charge du paludisme en Afrique, Manuel du prescripteur, *Impact Malaria*, septembre 2005.

24. PERLMANN P. TROYE-BLOMBERG M. Malaria blood-stage infection and its control the immune system. *Folia Biologica (Praha)* 2000; 46: 210-218.

25. SAKAGUCHI S, SAKAGUCHI N, SHIMIZU J, YAMAZAKI S, SAKIHAMA T, ITOH M, KUNIIYASU Y, TODA M AND TAKAHASHI T. Immunology tolerance maintained by CD25+ CD4+ regulatory T cells: their common role in controlling autoimmunity, tumor immunity, and transplantation. *Immunol Rev* 2001.**182**: 18-32.

26. SHEVACH E M COUTINHO A, CARAMALHO, SEIXAS, DEMENGEOT.

Thymic commitment of regulatory T cells is a pathway of TCR-dependent selection that isolates repertoires undergoing positive or negative selection.

Curr Top Microbiol Immunol 2005; 293:43-71.

27. SHEVACH E M, CD4+ CD25+. Suppressor T cells: more questions than answers. *Nat Rev Immunol* 2002.**2**: 389-400.

28. STRUIK, RILEY EM. Does malaria suffer from lack of memory? *Immunol Rev.*2004OCT; 201:268-90.

29. TRAORE A.M.

Analyse de la situation du paludisme au Mali et les stratégies de prise en charge des formes graves et compliquées dans le service de pédiatrie de l'HGT. *Th. Méd* 2001, 83PP_N° 01M121.

30. TRAORE AWA

Deficit en G6PD erythrocytaire: frequence, relation avec le paludisme dans une population agee de 3 mois a 20 ans des villages de Kangaba et Kela region de Koulikoro (Mali). *These : Pharmacie: Bamako, 2003.-34P*

31. TRAORE KARIM

Déficit en G6PD érythrocytaire et paludisme dans une population âgée de 3 mois a 20 ans de la ville de Bandiagara(Mali). *Th : Ph Bamako, 2005.-54P, 66.*

32. TROYE-BLOMBERG M, WORKU S, TANGTEERAWATA P, JAMSHAIID R, SODERSTON K, ELGHAZALI G, MORETTA L, HAMMARSTOM M, MINCHEVA-NILSON L. Human gamma delta T cells that inhibit the in vitro growth of the asexual blood stages of the *Plasmodium falciparum* parasite express cytolytic and proinflammatory molecules. *Scand. J. Immunol. 1999 : 50(6) : 642 -50.*

33. WALTHER M, GOOD MF. Identification of early cellular immune factors regulating growth of malaria parasites in humans. *Immunity. 2005 Sep; 23(3):241-2.*

34. WALTHER M, TONGREN JE, ANDREWS L, KORBEL D, KING E, FLETCHER H, ANDERSEN RF, BEJON P. Upregulation of TGF- β , FOXP3, CD4+CD25+ regulatory T cells correlates with more rapid parasite growth in human malaria infection. *Immunity. 2005, 23: 287-296*

35. WORLD MALARIA REPORT 2005.

http: //

w.w.w.rbm.who.int/wmr2005/html/exsummary_fr.htm65.Climent

Fiche signalétique

Nom: **TAPILY**

Prénom: **Abdoulaye S**

Nationalité: **Maliennne**

Date de soutenance:

Ville de soutenance: **Bamako**

Titre: Rôle potentiel des cellules gamma /delta T et T régulatrices dans la protection contre le paludisme dans deux groupes ethniques (Peulh & Dogon) vivant en sympatrie au Mali.

Lieu de dépôt: Bibliothèque de la faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie(F.M.P.O.S), Université de Bamako(UB), Mali.

Secteur d'intéret : Parasitologie, Immunologie, Sante publique.

Résumé

Le but de notre étude était d'évaluer la susceptibilité au paludisme dans deux groupes ethniques (Dogon et Peulh) vivant en sympatrie au Mali et de déterminer d'éventuels facteurs immunologiques impliqués dans la résistance ou la susceptibilité au paludisme. Nous avons mené deux passages en septembre 2007 qui a durée 2 semaines et d'investigation immunologique d'octobre à novembre 2007. Au cours de ces passages le dépistage moléculaire du déficit en G6PD érythrocytaire et la détermination du type d'hémoglobine ont été effectués.

Au terme de ce travail il ressort que :

- L'indice splénique était plus élevé chez les Peulh par rapport aux Dogon (P-value=0,048).
- L'indice plasmodique était comparable entre les deux ethnies.
- L'activité de G6PD était comparable entre les deux ethnies (p=0,095).
- La prévalence du type d'hémoglobine anormale
- La moyenne des proportions des cellules gamma/delta T était plus élevée chez les Peulh par rapport aux Dogon (P-value=0,03)
- La moyenne des proportions des cellules productrices de l'interféron gamma était plus élevée chez les Peulh par rapport aux Dogon (P-value=0,024).
- La moyenne des proportions des cellules T régulatrices était comparable entre les deux ethnies.
- La moyenne des lymphocytes CD4 était statistiquement plus élevée chez les Peulh par rapport aux Dogon.

Nous retenons que les Peulh produisaient plus de cellules gamma/delta et moins susceptibles au paludisme. Donc des études ultérieures sont nécessaires pour mieux comprendre cet aspect.

Mots clés : paludisme, gamma /delta T, T régulatrice, Peulh, Dogon, Mali.

SERMENT DE GALIEN

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

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

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

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

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

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

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