

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT
SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

REPUBLIQUE DU MALI

UN PEUPLE - UN BUT - UNE FOI



U.S.T.T-B

**UNIVERSITE DES SCIENCES, DES
TECHNIQUES ET DES TECHNOLOGIES
DE BAMAKO**



FACULTE DE PHARMACIE

Année universitaire 2021-2022

N° :

TITRE

**DYNAMIQUE DES RÉPONSES SÉROLOGIQUES CONTRE
L'ANTIGÈNE *MEROZOITE SURFACE PROTEIN 11* (MSP-11) DE
PLASMODIUM FALCIPARUM CHEZ LES ENFANTS DE 0 À 15
ANS À SAMAKO, MALI.**

THESE

Présentée et soutenue publiquement le 04/06/2022
devant le jury de la Faculté de Pharmacie par :

Mlle Diessira DIABATE

Pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie

(DIPLOME D'ÉTAT)

Jury

PRESIDENT DU JURY : Professeur Amagana DOLO
MEMBRES DU JURY : Docteur Charles ARAMA
: Docteur Djénéba DABITAO
CO-DIRECTEUR DE THESE : Docteur Karamako NIARE
DIRECTEUR DE THESE : Professeur Ag. Bourèma KOURIBA

LISTE DES ENSEIGNANTS

LISTE DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTE DE PHARMACIE

FACULTE DE PHARMACIE

ANNEE UNIVERSITAIRE 2021-2022

ADMINISTRATION

DOYEN : M. Boubacar TRAORE -Professeur

VICE-DOYEN : M. Sékou BAH - Professeur

SECRETAIRE PRINCIPAL : M. Seydou COULIBALY, Administrateur principal

AGENT COMPTABLE : Ismaël Cissé, inspecteur des finances

PROFESSEURS HONORAIRES

Flabou BOUGOUDOGO Bactériologie-Virologie

Boubacar Sidiki CISSE Toxicologie

Bakary Mamadou CISSE Biochimie

Abdoulaye Dabo Malacologie-Biologie animale

Daouda DIALLO Chimie Générale et Minérale

Mouctar Diallo Parasitologie-mycologie

Souleymane DIALLO Bactériologie-virologie

Kaourou DOUCOURE Physiologie

Ousmane DOUMBIA Chimie thérapeutique

Boukassoum HAÏDARA Législation

Gaoussou KANOUTE Chimie analytique

Alou A. KEÏTA Galénique

Mamadou KONE Physiologie

Mamadou KOUMARE Pharmacognosie

Brehima KOUMARE Bactériologie/Virologie

Abdourahamane S MAÏGA Parasitologie

Saidou MAIGA Législation

Elimane MARIKO Pharmacologie

Mahamadou TRAORE Génétique

Sékou Fantamady TRAORE Zoologie

PROFESSEURS DECEDES

Mahamadou Cisse Biologie

Drissa DIALLO Pharmacognosie

Moussa HARAMA Chimie analytique

DER DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET MEDICALES

1 PROFESSEURS/DIRECTEUR DE RECHERCHE

M. Mounirou BABY Hématologie

M. Mahamadou DIAKITE Immunologie-Génétique

M. Alassane DICKO Santé Publique

M. Abdoulaye DJIMDE Parasitologie-Mycologie

M. Amagana DOLO Parasitologie-Mycologie

M. Akory Ag IKNANE Santé Publique/Nutrition

M. Ousmane KOITA Biologie-Moléculaire

M. Boubacar TRAORE Parasitologie-Mycologie

2 MAITRES DE CONFERENCES/MAITRE DE RECHERCHE

Aldjouma GUINDO Hématologie

Kassoum KAYENTA O Santé publique/Biostatistique

Bourèma KOURIBA Immunologie **Chef de DER**

Almoustapha Issiaka MAIGA Bactériologie-Virologie

Issaka SAGARA Bio-statistique

Mahamadou Soumana SISSOKO Bio-statistique

Ousmane TOURE Santé publique/ Santé environnement

3 MAITRES ASSISTANTS/CHARGE DE RECHERCHE

Mohamed AG BARAIKA Bactériologie-Virologie

Charles ARAMA Immunologie

Boubacar Tietie BISSAN Biologie Clinique

Djibril Mamadou COULIBALY Biologie Clinique

Seydou Sassou COULIBALY Biologie Clinique

Antoine DARA Biologie Moléculaire

Souleymane DAMA Parasitologie-Mycologie

Djeneba Koumba DABITAO Biologie Moléculaire

Laurent DEMBELE Biotechnologie Microbienne

Kletigui Casmir DEMBELE Biochimie Clinique

Seydina S. A. DIAKITE Immunologie

Yaya GOITA Biologie Clinique

Ibrahima GUINDO Bactériologie-Virologie

Aminatou KONE Biologie Moléculaire

Birama Apho LY Santé Publique

Amadou Birama NIANGALY Parasitologie-Mycologie

Dinkorma OUOLOGUEM Biologie Cellulaire

Fanta SANGHO Santé publique/Santé communautaire

Oumar SANGHO Epidémiologie

4 ASSISTANTS/ATTACHES DE RECHERCHE

Djénéba COULIBALY Nutrition/ Diététique

Issa DIARRA Immunologie

Fatou DIAWARA Epidémiologie

Merepen dit Agnes GUINDO Immunologie

Falaye KEITA Santé publique/Santé environnement

N'Deye Lallah Nina KOITE Nutrition

Djakaridia TRAORE Hématologie

DER DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

1. PROFESSEURS/ DIRECTEUR DE RECHERCHE

Mme Rokia SANOGO Pharmacognosie **Chef de DER**

2. MAITRE DE CONFERENCES/ MAITRE DE RECHERCHE

Néant - -

3. MAITRES ASSISTANTS/ CHARGE DE RECHERCHE

Loséni BENGALY Pharmacie hospitalière

Bakary Moussa CISSE Galénique

Yaya COULIBALY Législation

Issa COULIBALY Gestion

Balla Fatogoma COULIBALY Pharmacie hospitalière

Mahamane HAIDARA Pharmacognosie

Hamma Boubacar MAIGA Galénique

Adiaratou TOGOLA Pharmacognosie

4. ASSISTANTS/ ATTACHE DE RECHERCHE

Seydou Lahaye COULIBALY Gestion Pharmaceutique

Daouda Lassine DEMBELE Pharmacognosie

Adama DENOU Pharmacognosie

Sékou DOUMBIA Pharmacognosie

Assitan KALOGA Législation

Ahmed MAÏGA Législation

Aïchata Ben Adam MARIKO Galénique

Aboubacar SANGHO Législation

Bourama TRAORE Législation

Sylvestre TRAORE Gestion Pharmaceutique

Aminata Tiéba TRAORE Pharmacie hospitalière

Mohamed dit Sarmoye TRAORE Pharmacie hospitalière

DER DES SCIENCES DU MEDICAMENT

1. PROFESSEURS / DIRECTEUR DE RECHERCHE

M. Benoît Yaranga KOUMARE Chimie Analytique

M. Ababacar I. MAIGA Toxicologie

2. MAITRES DE CONFERENCES/ MAITRE DE RECHERCHE

M. Sékou BAH Pharmacologie **Chef de DER**

3. MAITRES ASSISTANTS/ CHARGE DE RECHERCHE

Dominique Patomo ARAMA Pharmacie Chimique

Mody CISSE Chimie thérapeutique

Ousmane DEMBELE Chimie thérapeutique

Tidiane DIALLO Toxicologie

Madani MARIKO Chimie Analytique

Hamadoun Abba TOURE Bromatologie

4. ASSISTANTS/ ATTACHE DE RECHERCHE

Mahamadou BALLO Pharmacologie

Dallaye Bernadette COULIBALY Chimie Analytique

Blaise DACKOOU Chimie Analytique

Fatoumata DAOU Pharmacologie

Abdourahamane DIARA Toxicologie

Aiguerou dit Abdoulaye GUINDO Pharmacologie

Mohamed El Béchir NACO Chimie Analytique

Mahamadou TANDIA Chimie Analytique

Dougoutigui TANGARA Chimie Analytique

Karim TRAORE Pharmacologie

DER SCIENCES FONDAMENTALES

1. PROFESSEURS / DIRECTEUR DE RECHERCHE

Néant--

2. MAITRES DE CONFERENCES/ MAITRE DE RECHERCHE

M. Lassana DOUMBIA Chimie appliquée

Boubacar YALCOUYE Chimie organique

3. MAITRES ASSISTANTS/ CHARGE DE RECHERCHE

Mamadou Lamine DIARRA Botanique-Biologie végétale

Abdoulaye KANTE Anatomie

Boureima KELLY Physiologie Médicale

4. ASSISTANTS/ ATTACHE DE RECHERCHE

Seydou Simbo DIAKITE Chimie Organique

Modibo DIALLO Génétique

Moussa KONE Chimie Organique

Massiriba KONE Biologie Entomologie

CHARGES DE COURS (VACATAIRES)

Cheick Oumar BAGAYOKO Informatique

Babou BAH Anatomie

Souleymane COULIBALY Psychologie

Yacouba M COULIBALY Droit commercial

Moussa I DIARRA Biophysique

Satigui SIDIBE Pharmacie vétérinaire

Sidi Boula SISSOKO Histologie-embryologie

Fana TANGARA Mathématiques

Djénébou TRAORE Sémiologie et Pathologie médicale

Mahamadou TRAORE Génétique

Boubacar ZIBEIROU Physique

**DEDICACES
ET
REMERCIEMENTS**

DÉDICACES

Au nom d'Allah le tout miséricordieux, le très miséricordieux, maître du jour de la rétribution, le seul que nous adorons et le seul dont nous implorons secours. Qu'il nous guide dans le droit chemin.

Gloire au Seigneur et à son prophète Mohamed (Paix et Salut sur lui) de nous avoir permis d'accomplir ce travail.

Je dédie ce travail :

A mon père Sékou DIABATE

Tu m'as comblé de tout ce qu'un enfant peut souhaiter de son père : éducation, conseil et amour. Tu m'as soutenu et réconforté dans les moments difficiles. Que le tout puissant te garde en vie très longtemps pour qu'à mon tour je puisse te prendre la main et t'accompagner. Ta patience, ton concept de la vie et ta modestie m'ont servi de repères et m'ont conduit à cette réussite. Merci papa, ce travail est aussi le tien.

A ma mère Fatimata SOW

Ce travail est le fruit de tes efforts consentis. Tu es une brave femme, qui a œuvré pour la réussite par ton amour, ton soutien, tous les sacrifices consentis et par tes précieux conseils. Tu m'as toujours soutenu dans toutes mes entreprises. Soit assurée de ma profonde affection. Tes conseils, tes encouragements, tes bénédictions et surtout ta patience m'ont permis d'atteindre ce résultat. Que Dieu t'accorde une longue vie afin que tu puisses jouir du fruit de tes peines. Reçois à travers ce travail toute ma reconnaissance et mon amour éternel.

A mon frère Morikè DIABATE et mes sœurs : Nana, Fatou et Maimouna DIABATE

Vous êtes et vous serez toujours mes premiers compagnons pour la vie. Je vous souhaite une longue vie et beaucoup de chance. Que ce travail soit pour vous un ciment de consolidation du lien de sang qui nous unit.

A ma tante Nene SOW

Ton amour, tes prières et tes encouragements m'ont été d'un grand soutien au cours de ce long parcours. Je suis sûre que tu es fière de moi aujourd'hui. Tu es pour moi une source inépuisable de sagesse. Il n'y a aucun mot qui suffit pour te dire merci, je t'aime énormément et je suis vraiment très fière d'être ta fille. J'implore Dieu qu'il te garde en bonne santé et qu'il nous permette de profiter de ta présence à nos côtés.

A l'ensemble de mes oncles et tantes

En témoignage de mon attachement et de ma grande considération. J'espère que vous trouverez à travers ce travail l'expression de mes sentiments les plus chaleureux. Que ce travail vous apporte l'estime et le respect que je porte à votre égard.

A ma grand-mère Kany CAMARA

Chère grand-mère, tes bénédictions et tes conseils ne m'ont jamais manquée. Retrouve dans ce travail, chère grand-mère toute ma profonde reconnaissance.

A la mémoire de mes grands-parents

J'aurais tant aimé que vous soyez avec moi pour cette occasion mais le destin en a décidé autrement. Dormez en paix, que le tout puissant vous accueille dans son paradis. Vous resterez à jamais dans mon cœur.

A mes cousins et cousines

Je vous dédie cette thèse tout en vous souhaitant une longue vie pleine de réussite, de santé et de bonheur.

A mes intimes amies Ouleymatou KEITA, Sira KANOUTE, Fatou NIARE, Ya SAMAKE et Korotoumou MALLE

Comme on a l'habitude de le dire : c'est dans les moments difficiles qu'on reconnaît les vrais amis. Moi, je vous ai reconnu, car vous étiez toujours là pour me soutenir dans les moments durs. Sachez qu'en aucun instant, je n'ai regretté votre compagnie. Merci pour votre affection et votre sincère fidélité. Que Dieu renforce davantage ce lien si sacré qui nous unit.

A ma camarade interne Oumou SISSOKO

Pour ta bonne collaboration.

A toute la promotion Pr Elimane MARIKO (Pharmacie 2014-2015)

En souvenir des moments merveilleux que nous avons passés. Un grand merci pour votre soutien, vos encouragements, votre aide. Avec toute mon affection et mon estime, je vous souhaite beaucoup de réussite et de bonheur, autant dans votre vie professionnelle que privée.

A Dr SANOGO et à tous mes collègues de la pharmacie KADIDIA SAMAKE

Je vous dédie ce travail en reconnaissance de l'amour que vous m'avez offert dans le travail, de tous les sacrifices que vous vous êtes imposés pour assurer ma compréhension. Vous restez pour moi le symbole d'un amour original et d'une parenté idéale.

REMERCIEMENTS

A tout le personnel du Malaria Research and Training Center (MRTC) du Département d'Epidémiologie des Affections Parasitaires (DEAP)

Pour les appuis matériels et techniques qui ont permis la réalisation de cette thèse.

A tout le corps professoral de la Faculté de Pharmacie

Pour la formation reçue.

A tout le personnel du Centre d'Infectiologie Charles Mérieux (CICM)

Pour ma formation pratique et pour les appuis matériels et techniques dans un cadre très convivial.

HOMMAGES AUX MEMBRES DU JURY

HOMMAGES AUX MEMBRES DU JURY

A NOTRE MAÎTRE ET PRÉSIDENT DU JURY

Pr Amagana DOLO

- ✓ **Professeur Titulaire de Parasitologie-Mycologie à la FAPH**
- ✓ **Directeur de l'Ecole Doctorale des Sciences et des Technologies du Mali (EDSTM)**
- ✓ **Enseignant-Chercheur à la FAPH.**
- ✓ **Investigateur dans les essais vaccinaux antipaludiques au Mali**

Cher maître,

Vous nous faites un grand honneur en acceptant de présider ce jury. Votre compétence et votre qualité scientifique font de vous un Maître admiré par tous les étudiants. Vos qualités de formateur sont connues de tous et en acceptant de présider ce jury, vous avez montré votre volonté de pérenniser le savoir par la formation de jeunes. Puisse des générations et des générations avoir la chance de profiter de votre savoir qui n'a d'égal que votre sagesse et votre bonté.

Veillez accepter, Cher Maître, l'expression de notre profonde reconnaissance et de notre profond respect.

A NOTRE MAÎTRE ET JUGE

Dr Charles ARAMA

- ✓ **Docteur en pharmacie**
- ✓ **Titulaire d'un PhD en Immunologie**
- ✓ **Spécialiste en Immunologie**
- ✓ **Maître-assistant à la Faculté de pharmacie**
- ✓ **Chercheur à l'Unité d'Immunologie Cellulaire et Moléculaire au MRTC/DEAP**

Cher Maître,

Vous avez consenti pour la bonne réalisation de ce travail. Vous nous avez marqués par votre attention, votre rigueur, votre honnêteté et votre souci du travail bien fait.

Cher Maître, recevez ici, dans ce modeste travail, l'expression de notre profonde reconnaissance.

A NOTRE MAÎTRE ET JUGE

Dr Djénéba DABITAO

- ✓ **Docteur en pharmacie**
- ✓ **Spécialiste en Biologie Moléculaire et en Immunologie**
- ✓ **Maître-assistante à la Faculté de Pharmacie**
- ✓ **Chef du laboratoire ImmunoCore du Centre Universitaire de Recherche Clinique (UCRC)**

Cher Maître,

Nous avons été honorés d'avoir fait votre connaissance. Vos qualités intellectuelles, humaines, votre simplicité et votre ouverture d'esprit font de vous un être apprécié de tous.

Permettez-nous, Cher Maître, de vous réitérer nos sincères remerciements.

A NOTRE MAÎTRE ET CO-DIRECTEUR DE THÈSE

Dr Karamoko NIARE

- ✓ **Docteur en pharmacie**
- ✓ **Docteur en parasitologie médicale**
- ✓ **Docteur en biologie moléculaire et cellulaire des maladies infectieuses**
- ✓ **Spécialiste en développement de vaccins et épidémiologie génomique**
- ✓ **Chercheur associé à Brown University, RI, USA.**

Vous nous avez honorés par votre confiance, en nous confiant cet excellent sujet de travail. Durant notre étude, nous avons apprécié la qualité de votre enseignement. Nous gardons de vous l'image d'un Maître simple, rigoureux et aimable.

Cher Maître, trouvez ici, le témoignage de notre profonde gratitude pour l'enseignement agréable et remarquable dont nous avons bénéficié auprès de vous. Puisse le Seigneur nous permettre de vous rendre hommage en ayant la force, le courage et la chance de suivre vos pas. Amen.

A NOTRE MAÎTRE ET DIRECTEUR DE THÈSE

Pr Bourèma KOURIBA

- ✓ **Maître de conférences agrégé en immunologie à la Faculté de Pharmacie ;**
- ✓ **Chef de l'Unité d'Immunologie Cellulaire et Moléculaire du MRTC/DEAP ;**
- ✓ **Directeur général du Centre d'Infectiologie Charles MÉRIEUX (CICM)**

Cher Maître,

Nous avons été émerveillés par la qualité de vos cours d'Immunologie en troisième année de pharmacie. En acceptant de nous accueillir dans votre unité vous avez fait preuve de votre volonté de transmettre votre savoir. Votre parcours professionnel, votre compétence incontestable, votre charisme et vos qualités humaines font de vous un grand professeur et nous inspirent une grande admiration et un profond respect.

Permettez-nous, Cher Maître, de vous exprimer notre profond respect et notre sincère gratitude pour avoir guidé les premiers pas de notre carrière.

LISTE DES TABLEAUX ET DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Candidats vaccins antipaludiques

Tableau II : Caractéristiques de base des participants

Tableau III : Niveau d'association des IgG anti-MSP11 avec la protection contre la survenue des épisodes cliniques du paludisme

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Schéma du mérozoïte

Figure 2 : L'invasion de l'érythrocyte par le mérozoïte

Figure 3 : Cycle biologique des plasmodies

Figure 4 : Résumé des principales réponses immunitaires contre le paludisme

Figure 5 : Cycle biologique avec les différentes approches de développement de vaccins

Figure 6 : Carte montrant l'emplacement du site de l'étude

Figure 7 : Diagramme de l'étude

Figure 8 : Principales étapes du test des anticorps sériques par ELISA

Figure 9 : Image d'une plaque d'ELISA

Figure 10 : Analyse des effets de lot

Figure 11 : Variation saisonnière des réponses sérologiques IgG anti-MSP11

Figure 12 : Fréquence du portage de l'infection palustre selon la visite

Figure 13 : Fréquence du portage de l'infection palustre selon le groupe d'âge

Figure 14 : Fréquence du portage des IgG anti-MSP11 en fonction du groupe d'âge et de la visite

Figure 15 : Comparaison des taux d'IgG anti-MSP11 selon les visites et le groupe d'âge

Figure 16 : Réponses sérologiques et protection contre le paludisme

LISTE DES ABREVIATIONS

LISTE DES ABREVIATIONS

Ac : Anticorps

ADCC : Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity (Cytotoxicité Cellulaire Dépendante des Anticorps)

ADCI : Antibody-Dependent Cellular Inhibition (Inhibition Cellulaire Dépendante des Anticorps)

Ag : Antigène

AMA-1 : Apical Membrane Antigen-1

AMM : Autorisation de mise sur le marché

ARNr : Acide Ribonucléique ribosomique

AS/AQ : Artésunate/Amodiaquine

AS/MQ : Artésunate/Méfloquine

CMH-I : Complexe Majeur d'Histocompatibilité classe I

Cp : Comprimé

CPS : Chimio-prévention du Paludisme Saisonnier

CSP : Circumsporozoite protein

CTA : Combinaison Thérapeutique à base d'Artémisinine

CyRPA : Cysteine-Rich Protective Antigen

DBL : Duffy Binding-Like

DEAP : Département d'Epidémiologie des Affections Parasitaires

DEET : N, N-Diéthyl-3-méthylbenzamide

DO : Densité Optique

EBA-140 EBA-175 : Erythrocyte Binding Antigen-175

ELISA : Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

Fc: Fragment cristallisable

FcR : Fc Receptor

FcγRIIα : Fc gamma Receptor IIa

GAMA : GPI-anchored Micronemal Antigen

GLURP : Glutamate Rich Protein

GPI : Glycosyl Phosphatidylinositol

GR : Globule Rouge

Hb : Hémoglobine

H₂SO₄ : Acide Sulfurique

HRP2 : Histidine-rich Protein 2

IFA : Immunofluorescence Assay

IFN- γ : Interféron gamma

Ig : Immunoglobuline

IgG1, 2a, 3, 4 : Immunoglobuline 1 ; 2 ; 2a ; 3 et 4

IL-4, 5, 10, 12 : Interleukine 4 ; 5 ; 10 et 12

IM : Intramusculaire

IR3535 : Butylacetylaminopropionate d'éthyle

IV : Intraveineuse

LDH : Lactate deshydrogenase

LSA-1 LSA-3 : Liver Stage Antigen 1, 3

LT CD4+, CD8+ : Lymphocyte T

MIG : Malaria-specific Immunoglobulin

MII : Moustiquaires imprégnées d'insecticides

MILD : Moustiquaires imprégnées d'insecticides à longues durées d'actions

Mg : Magnésium

MRTC : Malaria Research and Training Center

MSP : Merozoite Surface Protein

MSPDBL-2 : Merozoite Surface Protein Duffy Binding-Like 2

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

OPD : Ortho-phenylenediamine Dihydrochloride

PAM : Paludisme Associé à la Grossesse

PBS : Phosphate Buffered Saline

PBST : Phosphate Buffered Saline + Tween 20

PCR : Polymerase Chain Reaction

Pf12, 38, 92 : *Plasmodium falciparum* 12, 38 et 92

PfCyrpa : *Plasmodium falciparum* Cysteine-rich protective antigen

PfEMP-1 : *Plasmodium falciparum* Erythrocyte Membrane Protein 1

PfRHs : *Plasmodium falciparum* Reticulocyte homologues

PID : Pulvérisation Intra Domiciliaire

PNLP : Programme National de Lutte contre le Paludisme

pvLDH : *Plasmodium vivax* Lactate-déshydrogénase

QBC : Quantitative Buffy Coat

RAMA : Rhoptry Associated Membrane Antigen

RESA : Ring-infected Erythrocyte Surface Antigen

RON : Rhoptry Neck protein

RTS, S : Antigène de surface de l'hépatite B seul (S) fusionné avec un fragment de protéine circumsporozoite de *Plasmodium falciparum* contenant ses répétitions centrales et des épitopes de cellules T (RTS)

SALSA : Sporozoites And Liver Stage Antigen

SERA : Serin-Rich-Antigen

STARP : Sporozoite Threonine and Asparagine Rich Protein

TCR : T-Cell Receptor

TDR : Test de Diagnostic Rapide

TGF- β : Transforming Growth Factor beta

Th1/2 : T helper 1/2

TNF- α : Tumor Necrosis Factor alpha

TPI : Traitement Préventif Intermittent

TRAP : Thrombospondin-Related Anonymous Protein

WHO : World Health Organization

TABLE DES MATIERES

TABLE DES MATIÈRES

1	INTRODUCTION :	1
2	OBJECTIFS :	6
2.1	Objectif général :	6
2.2	Objectifs spécifiques :	6
3	GENERALITES :	8
3.1	Paludisme :	8
3.1.1	Définition :	8
3.1.2	Agent pathogène :	8
3.1.2.1	Taxonomie :	8
3.1.2.2	Biologie des stades parasitaires :	8
3.1.2.3	Vecteurs :	13
3.1.2.4	Cycle biologique du parasite :	14
3.1.3	Distribution géographique :	16
3.1.4	Physiopathologie :	18
3.1.5	Diagnostic biologique :	19
3.1.6	Traitement :	22
3.1.7	Prévention :	23
3.1.8	Immunité antipaludique :	24
3.1.8.1	Immunité cellulaire :	25
3.1.8.2	Immunité humorale :	26
3.1.9	Vaccins antipaludiques :	28
3.1.9.1	Vaccins contre les stades pré-érythrocytaires :	29
3.1.9.2	Vaccins contre les stades érythrocytaires :	30
3.1.9.3	Vaccins bloquant la transmission :	31
3.1.10	Antigènes en cours d'étude :	31
3.1.10.1	Protéines de surface mérozoïte :	31
3.1.10.2	Merozoïte Surface Protein 11 :	32
4	MATERIELS ET METHODES :	35
4.1	Site de l'étude :	35
4.2	Type et période de l'étude :	36
4.3	Population d'étude :	36
4.4	Méthodes d'étude :	36

4.4.1	Schéma de l'étude :	36
4.4.2	Diagnostic du paludisme :	37
4.4.3	Techniques de laboratoire :	38
4.5	Variables mesurées :	41
4.6	Saisie et analyse statistique des données :	42
4.7	Considérations éthiques :	42
5	RÉSULTATS :	44
5.1	Caractéristiques de bases :	44
5.2	Réactivité des antigènes MSP11 au cours du suivi :	46
5.3	Réponses IgG et âge :	48
5.4	Réponses anticorps et protection contre la survenue des accès cliniques du paludisme :	50
6	DISCUSSION :	53
6.1	Méthodologie :	53
6.2	Caractéristiques des participants :	53
6.3	IgG anti-MSP-11 et âge et saisonnalité :	53
6.4	IgG anti-MSP-11 et protection contre le paludisme :	55
7	CONCLUSION :	59
8	RECOMMANDATIONS :	59
9	REFERENCES :	61
	Résumé / Abstract :	70
	Serment de Galien :	71

INTRODUCTION

1 INTRODUCTION

Le paludisme est un problème majeur de santé publique. Malgré les progrès accomplis pour réduire le fardeau lié au paludisme, près de 40% de la population mondiale demeurent à risque de cette infection (1).

Le paludisme est causé par six espèces de parasites protozoaires appartenant au genre *Plasmodium* (2). L'infection palustre est l'une des principales causes de mortalité en Afrique sub-saharienne, surtout chez les enfants âgés de moins de 5 ans. Ces ravages sont principalement dus à l'espèce *Plasmodium falciparum*, qui est responsable des formes cliniques les plus sévères et mortelles de la maladie (3).

L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) estime à 241 millions le nombre de cas annuels de paludisme dans le monde. Le nombre de décès dû au paludisme s'élève à 627000 en 2020 (4). Plus de 93% des cas surviennent en Afrique sub-Saharienne ; 3% dans la région de l'Asie du Sud-Est et 2,3% dans la région Méditerranée orientale (4). L'espèce *P. falciparum* était responsable des 99,7% des décès enregistrés (4).

Les enfants âgés de moins de 5 ans sont les plus touchés par le paludisme avec 80% des décès (OMS, 2021). En plus des enfants, les femmes enceintes sont aussi très vulnérables au paludisme. En Afrique subsaharienne, plus de 30 millions de femmes enceintes sont à risque de développer un paludisme associé à la grossesse chaque année (5). Le paludisme associé à la grossesse est une cause majeure d'anémie maternelle et fœtale, de retard de croissance fœtale, d'accouchement prématuré et d'insuffisance pondérale à la naissance.

Au Mali, selon l'annuaire des statistiques 2012 publié par le Ministère de la Santé, le paludisme est la première cause de morbidité et de mortalité dans les groupes les plus vulnérables, à savoir les enfants de moins de 5 ans et les femmes enceintes (6).

Pour contrôler et éliminer cette endémie, le gouvernement du Mali s'est doté du Programme National de Lutte contre le Paludisme depuis 1993 (7 ; 8). Ce programme recommande l'utilisation de moustiquaires imprégnées d'insecticides à longue durée d'action, les pulvérisations intra domiciliaires, le traitement préventif intermittent, la chimioprévention du paludisme saisonnier, pour la prévention. Le traitement des cas diagnostiqués doit se faire avec les combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine.

En plus des pertes en vies humaines, le paludisme coûte cher en termes de dépenses effectuées dans la prise en charge pour les ménages et pour les pays endémiques. C'est un facteur d'aggravation de la pauvreté et constitue un frein au développement socio-économique

(6). Il est l'une des causes des taux d'absentéisme scolaire élevés et des heures de travail perdues dus aux manifestations morbides et aux hospitalisations.

Avec la circulation des parasites et des moustiques résistants aux médicaments et aux insecticides, respectivement, le développement de nouvelles approches pour lutter contre le paludisme est aujourd'hui nécessaire. Le vaccin serait un outil idéal pour éliminer le paludisme du fait de son très bon rapport coût-efficacité (9). Actuellement, le RTS, S est le seul vaccin antipaludique qui a réussi à passer toutes les phases du développement clinique (10). Ce vaccin a été approuvé par l'OMS et se trouve actuellement en phase d'implémentation pilote sponsorisée dans trois pays africains à savoir le Ghana, le Malawi et le Kenya. Malheureusement, l'efficacité du RTS, S chez les enfants est très limitée et ne dure pas longtemps (11). Le développement de nouveaux vaccins plus efficaces et d'effet durable en combinaison avec les outils de contrôle actuels pourra permettre d'obtenir l'élimination du paludisme.

Un certain nombre d'antigènes de surface ou sécrétés par le mérozoïte sont considérés comme des cibles privilégiées pour la mise au point de vaccins efficaces. Certains d'entre eux ont montré des résultats relativement encourageants dans les essais cliniques. C'est au niveau de la phase de schizogonie érythrocytaire du cycle biologique du *Plasmodium* que les manifestations cliniques du paludisme surviennent. Il est donc utile d'identifier les antigènes des stades sanguins du parasite pour le développement de vaccins afin de prévenir les symptômes de la maladie (10). En 1961, Cohen *et al.* ont démontré que les anticorps extraits des adultes vivant en zone d'endémie palustre étaient capables de guérir les enfants impaludés admis à l'hôpital (12). En effet, le transfert passif de ces anticorps avait engendré une réduction drastique de la parasitémie du stade sanguin et de la fièvre palustre. Cette étude montre que les anticorps sont des effecteurs de l'immunité protectrice naturellement acquise contre le paludisme. Elle explique aussi la corrélation de la prévalence et de la sévérité du paludisme en fonction de l'âge et du niveau d'endémicité (12). Les cibles moléculaires de ces anticorps protecteurs sont considérées comme des candidats vaccins prometteurs mais ne sont pas encore toutes identifiées. Parmi celles-ci, certaines interviennent dans l'invasion du globule rouge par le mérozoïte. Des études ont montré le rôle d'une protéine de la surface du mérozoïte appelée *merozoïte surface protein 11* (MSP-11), dans l'invasion du globule rouge (13, 14) et suggèrent que cet antigène pourrait être une cible importante des anticorps associés à la protection contre le paludisme, d'où un potentiel candidat vaccin. Cependant, MSP-11 est une protéine qui a été très étudiée et les données sur la séroprévalence et

l'impact des réponses immunitaires qu'elle induit chez les individus vivant dans les zones d'endémie palustre sont rares.

Dans cette étude, nous, nous sommes proposés d'évaluer la réponse anticorps contre la protéine *MSP-11* chez les enfants exposés à l'infection palustre dans une zone hyper endémique au Mali.

OBJECTIFS

2 OBJECTIFS

2.1 Objectif général

Evaluer la variation saisonnière des réponses anticorps induites par la protéine MSP-11 chez les enfants résidant dans une zone d'endémie palustre.

2.2 Objectifs spécifiques

- 1 Déterminer les taux d'IgG totales anti-MSP-11 chez les enfants de 0 à 15 ans à Samako.
- 2 Mesurer la cinétique des taux d'IgG anti-MSP-11 chez les enfants de 0 à 15 ans à Samako au cours d'une saison de haute transmission.
- 3 Mesurer la corrélation entre les taux d'anticorps anti-MSP-11 et l'âge.
- 4 Mesurer la corrélation entre les taux d'anticorps anti-MSP-11 et la protection contre les accès palustres.

GENERALITES

3 GENERALITES

3.1 Paludisme

3.1.1 Définition

Le paludisme est une parasitose fébrile et hémolytique potentiellement mortelle due aux protozoaires du genre *Plasmodium* transmis à l'homme par la piqûre infestante des anophèles femelles.

3.1.2 Agent pathogène

3.1.2.1 Taxonomie

Les agents pathogènes qui provoquent le paludisme sont des parasites unicellulaires intracellulaires classifiés selon le schéma taxonomique suivant :

Règne : Protistes

Sous-règne : Protozoaires

Embranchement : *Apicomplexa*

Classe : *Aconoidasida*

Ordre : *Haemosporida*

Famille : *Plasmodiidae*

Genre : *Plasmodium*

Espèces : *P. falciparum*, *P. malariae*, *P. vivax*, *P. ovale walikeri*, *P. ovale curtisi*, *P. knowlesi*.

3.1.2.2 Biologie des stades parasitaires

Divers stades parasitaires sont rencontrés au cours du cycle biologique des plasmodies. Ces stades sont : le sporozoïte ; le mérozoïte ; le trophozoïte ; le schizonte ; les gamétocytes ; l'ookinète et l'oocyste. Le sporozoïte mesurant entre 12 et 15 μm est un stade qui a la particularité d'évoluer dans deux habitats très différents, l'insecte et l'humain et d'y jouer des rôles essentiels. Il possède un complexe apical composé de micronèmes et de rhoptries. Le mérozoïte d'une longueur de 1,5 μm possède une forme ovoïde mais polarisée rappelant celle d'un avocat. Sa particularité est son complexe apical composé de trois organes sécrétoires : les rhoptries, les micronèmes et les granules denses. Le trophozoïte est le stade le plus fréquemment observé. Il a une taille variable dans la cellule hôte et on observe couramment deux chromatines chez *P. falciparum*. Le trophozoïte est la forme adulte du parasite. Le schizonte provient de la multiplication successive du noyau du trophozoïte en plusieurs petits noyaux dont chacun s'entoure de cytoplasme. Il se fragmente pour donner des mérozoïtes futurs. Le schizonte mûr est appelé « corps en rosace ». Le gamétocyte est la forme asexuée de *Plasmodium* qui assure la transmission du parasite de l'homme vers le moustique

anophèle. L'ookinète est une forme invasive et motile retrouvée seulement chez le moustique femelle. Ils diffèrent des autres stades invasifs du fait qu'il ne possède ni rhoptries ni granules denses à son pôle apical. Il ne renferme qu'un seul type d'organite sécrétoire spécialisé : les micronèmes. Le rôle principal de l'oocyste est la production de sporozoïtes. Contrairement aux formes invasives, il ne possède pas de pôle apical ni d'organites habituellement impliqués dans le processus d'invasion.

Les différences entre les espèces pathogènes résident au niveau de leur morphologie à la phase sanguine, des variations mineures du cycle biologique, de la possibilité de séquestration des globules rouges infectés dans la microcirculation vasculaire et de leurs préférences en type de globule rouge pour l'invasion.

Plasmodium falciparum : est l'espèce plasmodiale la plus virulente. Il donne de nombreux trophozoïtes en forme de "bague à chaton" ou "d'écouteurs". Les gamétocytes falciformes. Le schizonte renferme 16 à 32 mérozoïtes. Les hématies infectées contiennent des taches de Maurer, reliquat de la vacuole digestive parasitaire. *P. falciparum* n'a pas de préférence spécifique d'hôte parasitaire.

Plasmodium vivax : il est, après *P. falciparum*, l'espèce la plus répandue. Les trophozoïtes sont d'aspect amiboïde avec un noyau fragmenté et les gamétocytes sont arrondis. Les schizontes contiennent 12 à 24 mérozoïtes. Les hématies infectées contiennent de nombreuses fines granulations de Schüffner intra cytoplasmiques. *P. vivax* préfère envahir les réticulocytes (érythrocytes jeunes de grande taille).

Plasmodium ovale : il donne des trophozoïtes d'allure globuleuse associées à de nombreuses granulations de Schüffner intra érythrocytaires. Les gamétocytes sous forme arrondie, produisent un pigment malarique, aussi dénommé hémozoïne, fruit de la digestion de l'hémoglobine dispersé dans l'hématie parasité. Il y a peu de mérozoïtes (8 à 12) dans les schizontes.

Plasmodium malariae : sévit de manière beaucoup plus sporadique dans les régions tropicales des continents africain, américain et asiatique. Chez *P. malariae*, les trophozoïtes d'allure parallélépipédiques disposés en bande équatoriale à l'intérieur d'une hématie de petite taille et donnant l'impression d'un "Drapeau" *P. malariae* préfèrent infecter les érythrocytes sénescents.

Plasmodium knowlesi : est un parasite courant des singes macaques dans les zones forestières d'Asie du Sud-Est. Ses trophozoïtes sont en bande équatoriale, ils renferment fréquemment deux chromatines. Ses schizontes et gamétocytes sont très semblables à ceux de

P. malariae. Les schizontes renferment en général 16 mérozoïtes contre 12 chez *P. malariae*. Les érythrocytes infectés ont une taille identique aux érythrocytes non infectés. L'hémozoïne est présente en quantité importante et les granulations intracytoplasmiques sont rares.

3.1.2.2.1 Le mérozoïte

Le mérozoïte (Figure 1) est le stade parasitaire qui est libéré après la rupture des plasmodies dans le foie ou des schizontes dans le sang. Il envahit les érythrocytes où il se divise pour produire de nombreux mérozoïtes qui sont libérés lorsque la cellule hôte éclate.

De forme ovoïde, il a une longueur de 1,5 μm et une largeur de 1 μm . Sa pellicule est constituée d'une seule membrane externe et d'une double membrane interne sous lesquelles se trouvent 51 microtubules s'étendant longitudinalement (15). Les organites et inclusions cytoplasmiques caractéristiques sont présents : rhoptries ; micronèmes ; noyau ; mitochondries ; complexe de golgi ; granules de polysaccharide ; réticulum endoplasmique. La couche de surface fibrillaire est en grande partie composée de protéines ancrées GPI (Glycosyl phosphatidyl Inositol) ; avec des protéines membranaires intégrales et des protéines de surface associées en périphérie.

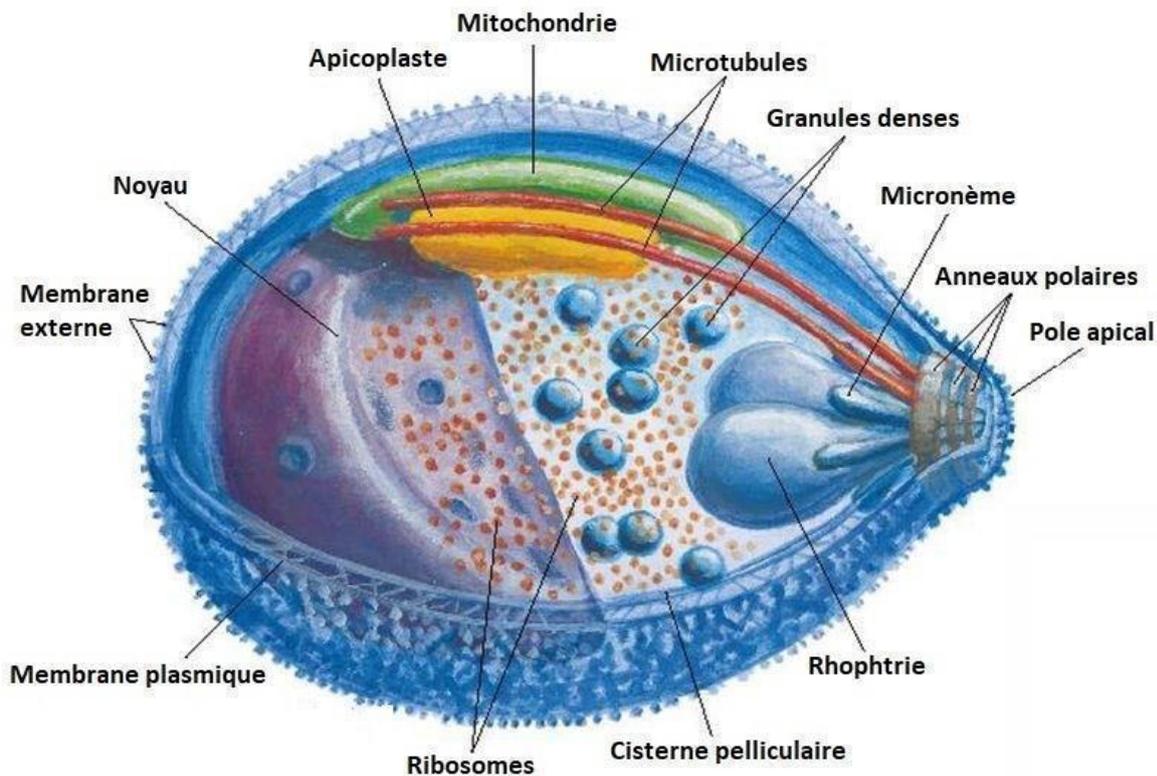


Figure 1 : Morphologie du mérozoïte. Organisation tridimensionnelle d'un mérozoïte de *Plasmodium falciparum* avec la pellicule partiellement découpée pour montrer la structure interne. Source : Bannister LH *et al*, 2000 (16).

3.1.2.2 Invasion des érythrocytes par le mérozoïte

Le processus d'attachement, d'invasion et d'établissement du mérozoïte dans le globule rouge est rendu possible par les organites sécrétoires apicales spécialisées du mérozoïte, appelées micronèmes, rhoptries et granules denses (10 ; 13).

Une fois libérés dans la circulation hépatique, les mérozoïtes envahissent les érythrocytes dans un processus actif et rapide afin d'échapper au système immunitaire de l'hôte. Ce processus est composé de 3 étapes principales (17) : - Attachement au globule rouge et réorientation du mérozoïte- Formation d'une jonction serrée et internalisation- Fermeture de la membrane érythrocytaire et échinocytoses

La fixation initiale nécessite des interactions de faible affinité entre la couche de surface des protéines de surface du mérozoïte (MSP) et les récepteurs de l'hôte à la surface des globules rouges. Certaines MSP telles que MSP-1, MSP-6, MSP-7 et MSP DBL1-2 forment un complexe à la surface du mérozoïte permettant la première interaction avec les globules rouges (18). La protéine MSP-1 se lie à la glycophorine A, qui forme un complexe avec la bande 3, suggérant un rôle de cette protéine dans la reconnaissance des globules rouges (19).

Le parasite se réoriente ensuite en présentant son extrémité apicale vers les globules rouges. Cette réorientation apicale nécessite une interaction de plus haute affinité. Ce sont les protéines d'invasion secrétées par les micronèmes et les rhoptries à l'extrémité apicale qui permettraient cette interaction. Parmi ces protéines d'invasion, on peut citer PfRH5 (homologue de liaison aux réticulocytes de *Plasmodium falciparum* 5) (rhoptrie), PfRipR (protéine interagissant avec PfRH5) (micronème) et PfCYRPA (antigène protecteur riche en cystéine) (micronème). Elles forment un complexe protéique essentiel à l'invasion liant la basigine à la surface du globule rouge (20). EBA-175 (antigène de liaison aux érythrocytes 175) dont la liaison avec son récepteur, la glycophorine A, déclenche la libération d'autres protéines d'invasion importantes par les rhoptries dont AMA-1 (Antigène membranaire apicale).

L'antigène PfRH5 se lie à son récepteur, la basigine dans une interaction précoce clé nécessaire à l'invasion des mérozoïtes. Une jonction serrée irréversible se forme lorsque l'antigène 1 (AMA-1) de la membrane apicale protéique sécrétée par un micronème se lie au complexe protéique du col de rhoptrie (RON) qui est intégré sur la membrane des globules rouges. La formation de cette jonction déclenche la libération du contenu des rhoptries, fournissant protéines et lipides nécessaires à la formation de la vacuole parasitophore et de sa membrane. Ceci permet d'établir l'espace dans lequel le mérozoïte pourra se développer suite à son internalisation (17). Cette internalisation est permise par des protéines TRAP (protéine anonyme liée à la thrombospondine), l'aldolase et le moteur d'actinomyosine parasitaire (21). L'entrée du parasite est alimentée par le moteur actine-myosine qui propulse le mérozoïte à l'intérieur de l'érythrocyte. On pense que la signalisation du calcium et la phosphorylation par les kinases jouent un rôle clé dans le contrôle de la séquence d'événements nécessaires à l'invasion pendant cette période (22).

La membrane vacuole fusionne derrière le parasite envahissant formant une vacuole parasitophore. Peu de temps après l'internalisation, une grande proportion de globules rouges se déforme temporairement dans un processus connu sous le nom d'échinocytose. L'échinocytose provoque le rétrécissement de l'érythrocyte et la formation de saillies pointues. Ce serait dû à l'influx de Ca^{2+} dans l'érythrocyte lors de l'interaction du complexe PfRH5 avec la basigine (20).

Une fois que le parasite pénètre dans le globule rouge de l'hôte, il exporte des centaines de protéines dans le cytoplasme de ce dernier et à sa surface afin de permettre l'acquisition de nutriments, l'adhésion et la séquestration cellulaires dans les tissus.

Il élimine les déchets d'hémoglobine potentiellement toxiques en les cristallisant en hémozoïne biologiquement inerte et il entreprend sa différenciation au sein de la vacuole parasitophore.

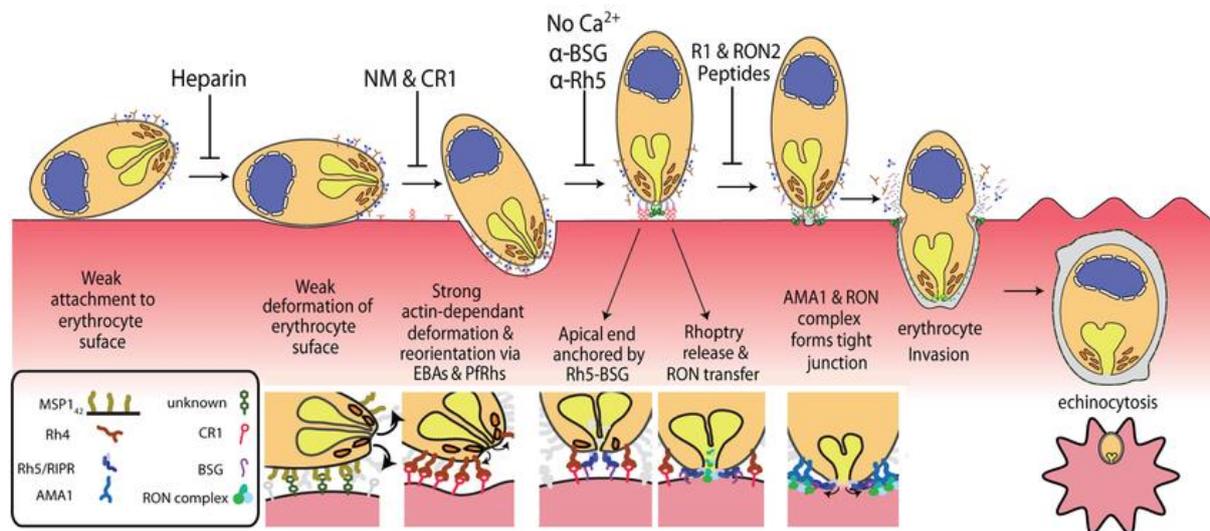


Figure 2 : mécanisme de l'invasion de l'érythrocyte par le mérozoïte. Diagramme d'un mérozoïte envahissant montrant l'ordre et la fonction des principales interactions récepteur-ligand étudiées ici. Au-dessus de ce schéma sont montrées des interactions moléculaires sélectionnées critiques pour l'invasion. Ce modèle intègre pour la première fois une hiérarchie séquentielle d'étapes récepteur-ligand distinctes pendant la pré-invasion. MSP1 (protéine de surface du mérozoïte 1) ; Rh4 (homologue de liaison aux réticulocytes 4) ; (Rh5 homologue de liaison aux réticulocytes 5) ; RIPR (protéine interagissant avec RH5) ; AMA1 (Antigène membranaire apicale 1) ; CR1 (complement receptor 1) ; BSG (basigine) ; RON (complexe protéique du col de rhoptrie). Source : Weiss GE *et al*, 2015 (23).

3.1.2.3 Vecteurs

Le vecteur est un moustique culicidé du genre *Anophèles*. Il existe 450 espèces d'*Anophèles* dont 80 sont vectrices de différents *Plasmodium* et dont une cinquantaine sont capables de transmettre le paludisme à l'homme (24). Les espèces les plus dangereuses sont les **espèces anthropophiles** (préférence pour effectuer leur repas sanguin sur l'Homme) et les **espèces endophiles** (qui se reposent à l'intérieur des maisons). Les moustiques anophèles se reproduisent dans les eaux propres et ensoleillées. Jusqu'à 52 espèces d'anophèles ont été signalées dans le pays à ce jour, dont 16 reconnues comme vecteurs principaux ou secondaires (25). Six de ces espèces sont parmi les vecteurs les plus compétents en Afrique subsaharienne, à savoir : *A. gambiae* (s.s), *A. coluzzi*, *A. arabiensis*, *A. funestus*, *A. nili* et *A.*

moucheti (26). Au Mali, ce sont les membres du complexe *Anopheles gambiae* et *Anopheles funestus* qui transmettent le paludisme, ceci généralement entre 18 heures et 6 heures du matin, leur durée de vie moyenne est d'un mois (27).

L'anophèle adulte mesure 5 à 20 mm. Il possède une morphologie particulière qui le rend rapidement reconnaissable, même pour les non-spécialistes. Il est fusiforme à pattes allongées et grêles avec une paire d'ailes. Il comporte trois parties bien distinctes : la tête, le thorax et l'abdomen. Les principales espèces vectrices sont nombreuses et d'autant plus redoutables qu'elles ont une affinité pour l'homme (espèces anthropophiles).

Le vol de l'anophèle est silencieux et seule la femelle hématophage assure la transmission en piquant la nuit. Le jour, elle se dissimule dans les endroits retirés et sombres. Sa piqûre est indolore par opposition aux piqûres beaucoup plus prurigineuses des autres genres de moustiques (28). La transmission est plus intense aux endroits où les moustiques ont une durée de vie plus longue (ce qui permet au parasite d'achever son cycle de développement dans le moustique) et où ils préfèrent piquer les êtres humains plutôt que les autres mammifères. L'homme est le principal réservoir.

3.1.2.4 Cycle biologique

3.1.2.4.1 Phase de développement chez *Homo sapiens*

Dans l'organisme humain, le cycle présente deux phases distinctes de multiplication asexuée (29) :

- La phase pré- ou exo-érythrocytaire, qui a lieu dans le foie correspond à la phase d'incubation cliniquement asymptomatique ;
- La phase érythrocytaire au niveau du sang correspond à la phase clinique de la maladie.
- **Phase pré-érythrocytaire**

L'infection de l'homme se fait par inoculation des sporozoïtes dans l'organisme par la piqûre de l'anophèle femelle au cours de son repas sanguin. Les sporozoïtes inoculés restent pendant une trentaine de minutes maximum dans la peau, la lymphe et le sang, puis envahissent les hépatocytes en quelques minutes. Le sporozoïte finit par constituer une masse multinucléée appelée plasmode ou corps bleu. Les plasmodes libèrent les mérontes qui sont remplis de mérozoïtes dans les vaisseaux sanguins. Après quelques jours de maturation, ces mérontes éclatent et libèrent des mérozoïtes dans la circulation sanguine. La phase hépatique constitue la phase d'incubation interne de la maladie sans aucun symptôme apparent. Dans les infections à *P. vivax* et à *P. ovale*, on peut observer les formes dormantes appelées

hypnozoïtes (29 ; 30). Ces hypnozoïtes libèrent dans le sang des mérozoïtes plusieurs mois après l'infection, expliquant les rechutes tardives observées avec les deux espèces.

Cependant, aucun hypnozoïte n'a été mis en évidence pour *P. malariae* malgré l'existence de rechutes tardives, ni pour *P. knowlesi*. L'infection à *P. falciparum* en est également dépourvue.

L'ensemble de la phase pré-érythrocytaire dure environ 5–16 jours selon l'espèce parasitaire : en moyenne 5-6 jours pour *P. falciparum*, 8 jours pour *P. vivax*, 9 jours pour *P. ovale*, 13 jours pour *P. malariae* et 8-9 jours pour *P. knowlesi* (31 ; 32).

- Phase érythrocytaire

Les mérozoïtes libérés lors de la rupture des mérontes hépatiques vont débiter le cycle sanguin asexué de prolifération en infectant les érythrocytes (la schizogonie érythrocytaire). Le mérozoïte pénètre grâce à un processus parasitaire actif et se différencie en anneau, puis en trophozoïte, stade à partir duquel une intense phase répllicative commence. Il donne alors naissance au schizonte qui, entraînant la destruction des globules rouges et la libération de nouveaux mérozoïtes. Ces mérozoïtes vont rapidement réinfecter d'autres érythrocytes sains et commencer un nouveau cycle de réplication. Certains mérozoïtes subissent une maturation accompagnée d'une différenciation sexuée et se transforment en gamétocytes mâle et femelle.

Les mérozoïtes libérés par le foie reconnaissent, se fixent et pénètrent dans les globules rouges (GR) par de multiples interactions récepteur-ligand en aussi peu que 60 secondes (20). Cette disparition rapide de la circulation dans les globules rouges minimise l'exposition des antigènes à la surface du parasite, protégeant ainsi ces formes parasitaires de la réponse immunitaire de l'hôte. L'invasion des mérozoïtes dans les globules rouges est facilitée par des interactions moléculaires entre des ligands distincts sur le mérozoïte et des récepteurs hôtes sur la membrane érythrocytaire (22). *P. vivax* envahit uniquement les globules rouges positifs au groupe sanguin de Duffy, en utilisant la protéine de liaison de Duffy et la protéine d'homologie des réticulocytes, que l'on trouve principalement sur les réticulocytes.

La phase de schizogonie érythrocytaire correspond à la phase clinique de l'infection palustre, les symptômes sont d'intensités variables en fonction du profil immunitaire de la personne infectée.

3.1.2.4.2 Phase de développement chez *Anopheles spp*

Lorsque le moustique prend son repas sanguin sur un individu infecté, il prélève des gamétocytes mâles et femelles qui migrent dans l'estomac du moustique (15).

De là, les gamètes mâles vont subir une exflagellation pour donner huit (8) micro gamètes et les gamètes femelles augmentent de taille pour donner des macro gamètes. Un micro gamète féconde une macro gamète pour donner un œuf libre, mobile, dénommé ookinète. Cet ookinète quitte la lumière du tube digestif, se fixe ensuite à la paroi externe de l'estomac et se transforme en oocyste. Les cellules parasites se multiplient à l'intérieur de cet oocyste, produisant des centaines de sporozoïtes qui migrent ensuite vers les glandes salivaires du moustique. Ces sporozoïtes sont les formes métacycliques infectantes, prêtes à être inoculées avec la salive du moustique lors d'un repas sanguin sur un hôte vertébré.

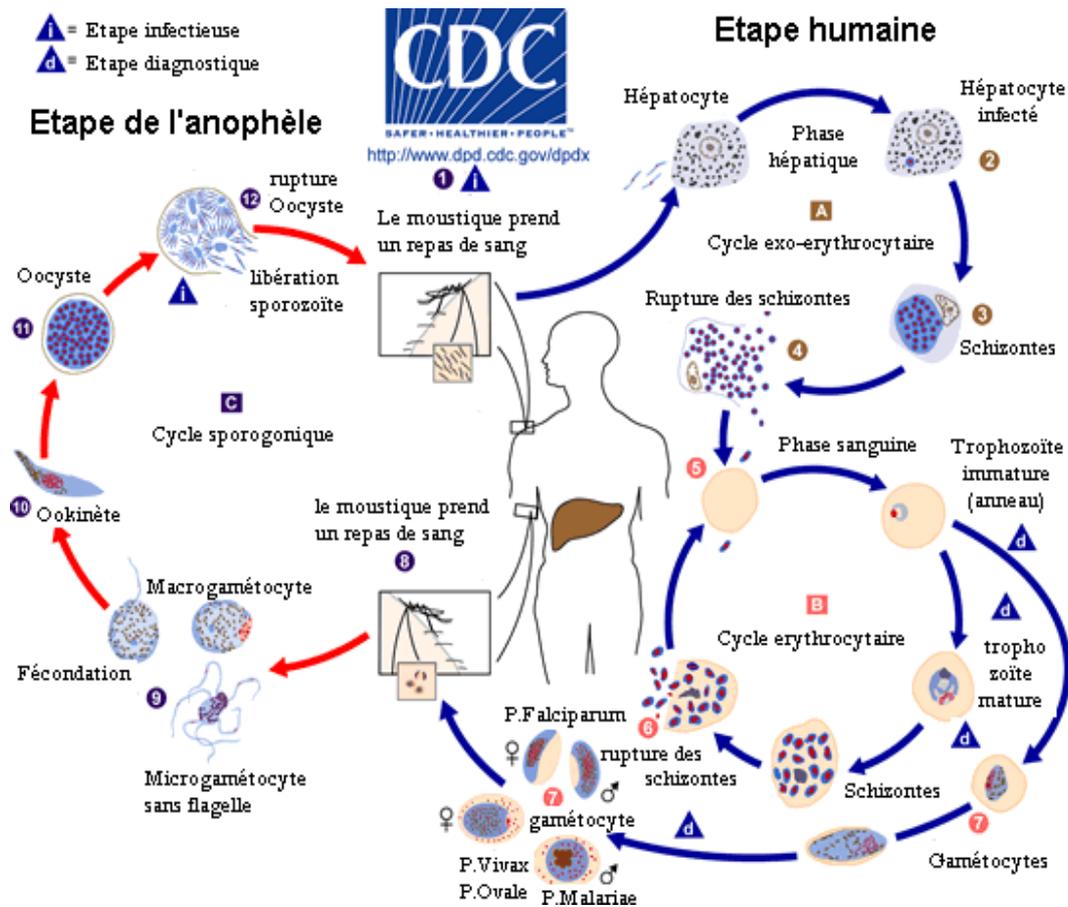


Figure 3 : Cycle biologique des plasmodies. Source : United States Centers for Disease Control and Prevention

3.1.3 Distribution géographique

Le paludisme sévit dans la plupart des pays tropicaux et subtropicaux, notamment en Afrique subsaharienne, en Asie du Sud-Est, dans le Pacifique, en Amérique latine (33). La répartition géographique du paludisme est extrêmement hétérogène et variable d'une zone géographique à une autre. Ceci, en raison des nombreux facteurs influençant l'épidémiologie (caractéristiques biologiques des différentes espèces de *Plasmodium*, distribution et capacité

vectorielle des anophèles). En effet, elle fluctue d'un continent à l'autre d'un pays à l'autre, d'une région à une autre, d'un village à un autre voire même parfois au sein d'un même village.

Le paludisme a été éradiqué en Europe. Des réintroductions temporaires peuvent se produire et des cas isolés surviennent (paludisme des aéroports). Mais c'est essentiellement le paludisme d'importation (paludisme des voyageurs) qui y sévit (25). Le paludisme existe faiblement en Afrique du Nord, où l'on rencontre les espèces *P. vivax* et *P. malariae*. Il est largement répandu dans toute l'Afrique intertropicale où coexistent *P. falciparum*, *P. ovale* et, pour une moindre part, *P. malariae*. Dans certaines zones d'Afrique de l'Est, on rencontre aussi *P. vivax*. La transmission est intense à Madagascar, où les quatre espèces coexistent.

Toute l'Asie du Sud-Est est touchée par une transmission due à *P. falciparum* (avec présence, dans certaines régions de souches multi résistantes) et à *P. vivax* (25). Les autres régions et la péninsule indienne sont atteintes par *P. vivax* et *P. falciparum* mais sont relativement moins concernées par le phénomène de multi résistance. A la différence de l'Afrique, où la transmission est beaucoup plus homogène, la transmission en Asie se fait sous forme de foyers disséminés en milieu rural dans les zones de collines boisées. Toutes les grandes villes asiatiques sont indemnes (sauf les villes indiennes) (34).

L'Amérique du Nord est indemne de paludisme. En revanche, celui-ci existe en Amérique centrale (*P. vivax* surtout) mais les Caraïbes sont indemnes à l'exception d'Haïti (35). Il n'existe pas de transmission dans les Petites Antilles : Guadeloupe, Martinique. En Amérique du Sud existent d'importants foyers dus à *P. falciparum* (résistants aux amino-4-quinoléines) et à *P. vivax*. Le paludisme sévit toujours en Guyane française mais essentiellement au bord des fleuves et dans la forêt. D'une manière générale toutes les régions américaines sont indemnes sauf l'Amazonie (34).

La transmission du paludisme en Océanie est hétérogène (25). Certaines îles sont atteintes (Nouvelle Guinée, Iles Salomon, Vanuatu) ; d'autres en sont totalement dépourvues (Polynésie Françaises, Nouvelle-Calédonie, Wallis...). L'Australie et la Nouvelle Zélande sont indemnes (25 ; 34).

3.1.4 Physiopathologie

Le paludisme se manifeste dans la plupart des cas par des épisodes fébriles aigus accompagnés de : frissons, maux de tête, maux de dos, douleurs musculaires, transpirations abondantes, nausées, vomissements, diarrhées et toux. En l'absence de traitement efficace et approprié, elle peut évoluer en paludisme dit « sévère », plus fréquents chez les enfants de

moins de 5 ans. Dans ces cas, elle se manifeste par une anémie sévère ; des convulsions ; un coma ; des troubles du comportement ; des difficultés respiratoires ; une hypoglycémie (insuffisance du taux de sucre dans le sang) ; une émission des urines de couleur foncée (36).

L'anémie résulte avant tout de la lyse des hématies parasitées. Des hématies saines peuvent également être détruites, surtout dans les infections à *P. falciparum*, sans doute par un mécanisme immunologique (37).

La fièvre est due à l'éclatement des schizontes qui libèrent dans le torrent circulatoire du pigment malarique qui se comporte comme une substance pyrogène (28). L'hémoglobine libérée par l'hémolyse provoque une surcharge rénale et est transformée en bilirubine dans le foie. L'excès est éliminé dans les urines entraînant une hémoglobinurie.

La rate est hypertrophique, molle et congestive. Sa couleur caractéristique, rouge foncée, parfois brune est due à l'accumulation du pigment internalisé par les phagocytes. L'augmentation de volume est provoquée par l'hypertrophie de la pulpe blanche (lymphocytes, cellules réticulaires, macrophages). La schizogonie exo-érythrocytaire ne produit aucune lésion inflammatoire. La destruction par les schizontes d'un certain nombre de cellules parenchymateuses passe inaperçu. On observe une hyperplasie des cellules de Küpffer chargées de la phagocytose des débris cellulaires et de l'hémozoïne.

Le paludisme à *P. falciparum* du sujet non immun (jeune enfant en zone d'endémie, femme enceinte, expatrié, voyageur) est potentiellement mortel. Il est fondamental de connaître les critères de gravité du paludisme à *P. falciparum* pour identifier les patients qui justifient d'une hospitalisation en urgence, si nécessaire dans une **unité de soins intensifs**. Un paludisme grave peut donc prendre différentes formes cliniques dont la plus importante est **l'atteinte cérébrale**. L'OMS a défini des critères de gravité du paludisme. La présence d'un seul de ces critères, clinique ou biologique, associé à la présence de *P. falciparum* dans le sang, fait porter le diagnostic d'accès palustre grave : troubles de la conscience, convulsions répétées, prostration (extrême faiblesse ou chez l'enfant : « impossibilité, de tenir assis pour un enfant en âge de le faire, ou de boire pour un enfant trop jeune pour tenir assis »), détresse respiratoire, ictère clinique ou biologique, hémoglobinurie macroscopique, urines rouges foncées ou noires, hémoglobinurie ou myoglobinurie à la bandelette, absence d'hématurie microscopique, collapsus circulatoire, oedème pulmonaire, anémie grave, hypoglycémie, acidose métabolique, hyperlactatémie, hyperparasitémie, insuffisance rénale

Le neuropaludisme et l'anémie sont les complications majeures du paludisme à *P. falciparum* (38). Les plus à risque de développer un accès palustre grave sont les personnes aux âges extrêmes de la vie, les femmes enceintes, les patients splénectomisés ou immunodéprimés et les voyageurs.

3.1.5 Diagnostic biologique

3.1.5.1 Titre d'orientation biologique non spécifique

Certaines modifications de l'hémogramme sont très évocatrices du paludisme :

- Anémie hémolytique
- Leucopénie qui est habituellement fréquente lors des accès palustres
- Thrombopénie (< 150000 plaquettes / μ L)
- Perturbation des facteurs de coagulation

Autres paramètres peuvent être indicateurs des accès palustres :

La C protéine réactive qui peut s'élever de façon très importante lors des accès palustres.

Une hyper bilirubinémie qui est principalement secondaire à une hémolyse intravasculaire et rarement à une atteinte hépatique.

3.1.5.2 Examens microscopiques

Un cas suspect cliniquement de paludisme doit faire en urgence l'objet d'une confirmation parasitologique.

Le diagnostic parasitologique permet :

- Un diagnostic sûr et une confirmation de l'espèce en cause.
- Une meilleure et adéquate prise en charge selon l'espèce en cause.
- Un suivi post-thérapeutique.
- La recherche d'autres étiologies dans le cas où le résultat est négatif
- L'éviction de prise médicamenteuse inutile

Le diagnostic parasitologique se fait par les méthodes suivantes :

3.1.5.2.1 La goutte épaisse

C'est la technique de référence qui est basée sur la micro concentration de l'échantillon. Elle consiste à examiner environ 6 μ L de sang après hémolyse des globules rouges et coloration selon la méthode de Giemsa. C'est une technique relativement facile et rapide mais qui nécessite un microscopiste expérimenté pour donner un résultat fiable. Le diagnostic d'espèce n'est pas toujours facile. L'estimation de la parasitémie est exprimée par le nombre de trophozoïtes par microlitre de sang et cela en fonction du nombre de leucocytes.

3.1.5.2.2 Le frottis mince

La lame est colorée selon la méthode de May-Grunwald ou par du Giemsa après fixation à l'alcool. Les parasites colorés en rouge (noyau) et bleu (cytoplasme) sont retrouvés à l'intérieur des globules rouges (pas d'hémolyse dans cette technique). Cette technique a l'avantage de permettre l'identification d'espèces et la quantification de la parasitémie sous forme de pourcentage (nombre d'hématies parasitées / nombre d'hématies totales 100). Cependant le frottis doit être préparé correctement car la précision du diagnostic dépend de la qualité du film sanguin et de l'expérience du technicien.

3.1.5.2.3 La technique *Quantitative Buffy Coat*

Il s'agit d'une technique basée sur une centrifugation en tube capillaire et un marquage non spécifique des parasites par un fluorochrome (acridine orange). C'est une technique de concentration, donnant une sensibilité équivalente à celle de la goutte épaisse. En revanche, elle nécessite un matériel spécifique (microscope à fluorescence, filtre de longueur d'onde spécifique de l'acridine orange, centrifugeuse et capillaires) et les réactifs sont difficilement disponibles. De plus, elle ne permet pas d'identifier l'espèce plasmodiale ni de déterminer la parasitémie.

3.1.5.3 Techniques immunologiques

3.1.5.3.1 La détection d'antigène par test de diagnostic rapide

Il s'agit des kits de détection prêts à l'emploi qui permettent en quelques minutes et sans matériel particulier de mettre en évidence la présence du *Plasmodium*. La détection d'antigène parasitaire se fait par immunocapture à l'aide des bandelettes réactives sensibilisées par des anticorps monoclonaux spécifiques : HRP2 (protéine 2 riche en histidine), pLDH (lactate déshydrogénase du plasmodium), Anticorps anti-aldolase (39). Cet outil, simple d'utilisation et d'interprétation ne doit jamais être utilisé isolément. En effet, les TDR (tests de diagnostic rapide) ne sont pas en mesure de déterminer toutes les espèces de *Plasmodium* ou de quantifier les parasites du paludisme.

3.1.5.3.2 Tests sérologiques

Plusieurs techniques peuvent être utilisées pour déceler la présence d'anticorps anti palustres dans le sang. Ainsi on peut citer :

- Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)
- Western blot

Ces différentes techniques ne sont pas utilisées pour un diagnostic d'urgence.

La sérologie est surtout utilisée sur le plan épidémiologique et pour le diagnostic de certaines formes cliniques tel le paludisme viscéral évolutif, au cours duquel le taux d'anticorps est très élevé (25).

3.1.5.4 Techniques moléculaires

La PCR (*Polymerase chain reaction*) classique ou en temps réel, permet de déterminer avec certitude l'espèce plasmodiale et guider le traitement. La sensibilité et la spécificité sont proches de 100% (30).

Cette méthode permet de distinguer les deux sous-espèces de *P. ovale* : *P. ovale curtisi* et *P. ovale wallikeri* en se basant sur l'amplification du gène de la sous-unité 18S de l'ARNr.

Sur le plan de la spécificité, la PCR, de par sa nature, est un outil très performant lorsqu'elle est correctement utilisée. Comparée aux techniques conventionnelles, la PCR a des performances très supérieures pour l'identification des espèces. La variante qPCR permet de quantifier la parasitémie de façon sensible et précise. Cette méthode est particulièrement très utile dans les études épidémiologiques car permet de détecter les cas d'infections sub-microscopiques (pauci-parasitisme) et asymptomatiques.

3.1.6 Traitement

Le paludisme est une maladie qui peut être complètement prévenue et traitée. L'objectif principal du traitement est d'assurer l'élimination rapide et complète du parasite *Plasmodium* du sang du patient, dans le but d'éviter la progression vers la forme compliquée du paludisme (40).

Le paludisme est traité avec des médicaments antipaludiques, mais ceux qui sont choisis dépendent du type et de la gravité de la maladie (33).

Le paludisme non compliqué est traité avec des médicaments administrés par voie orale. Les artémisinines en combinaison avec d'autres antipaludiques (amodiaquine, luméfántrine, méfloquine ou sulfadoxine / pyriméthamine), connus sous le nom de Combinaison Thérapeutique à base d'Artémisinine (CTA) est le traitement le plus efficace actuellement contre l'infection avec *P. falciparum* (28). Une autre association est la dihydroartémisinine et la pipéraquline.

La CTA est efficace pour environ 90% des cas, lorsqu'elle est utilisée pour le traitement du paludisme sans complications (24). Pour traiter le paludisme chez la femme enceinte l'OMS recommande l'utilisation de la quinine au début de la grossesse (1^{er} trimestre) et de CTA dans les phases avancées (2^{ème} et 3^{ème} trimestre) (25). Au Mali, le PNLP recommande : au 1^{er} trimestre de la grossesse du sel de quinine comprimé en raison de 10mg/kg toutes les 8

heures pendant 7 jours au 2^{ème} et 3^{ème} trimestre de la grossesse, les CTA. En cas de paludisme grave, on administrera sans tarder par voie parentérale des antipaludiques, quel que soit le stade de la grossesse et sans réduire la dose. L'artésunate constitue le traitement de choix.

Le paludisme sévère et compliqué provoque des urgences médicales qui produisent des taux élevés de mortalité (33). Le paludisme cérébral est la forme du paludisme sévère et compliqué avec les plus graves symptômes neurologiques (41). Le traitement recommandé pour le paludisme sévère est l'utilisation intraveineuse de médicaments antipaludiques (30). Pour le paludisme sévère l'artésunate parentéral a une efficacité supérieure à la quinine chez les enfants et les adultes (28). D'autres études montrent que les dérivés de l'artémisinine (artemether et arteether) sont également efficaces comme la quinine dans le traitement du paludisme cérébral chez les enfants (24).

Il est essentiel que dans le traitement initial du paludisme sévère soit administré des doses complètes de traitement antipaludique efficaces par voie parentérale (ou rectale pour les enfants de moins de 6 ans). Cela doit être suivi d'une dose complète (administration de 3 jours) de CTA efficace par voie orale si le patient peut tolérer le médicament. Deux classes de médicaments sont disponibles pour le traitement parentéral du paludisme sévère : les dérivés d'artémisinine (artésunate ou artéméther) et les alcaloïdes *Cinchona* (quinine et quinidine) (42). L'artésunate parentéral (intraveineuse ou intramusculaire) est le traitement à choisir pour tous les cas de paludisme sévère avec *P. falciparum*. Il a montré une réduction importante du taux de mortalité en comparaison avec la quinine parentérale (28).

3.1.7 Prévention

Aucun moyen préventif n'assure à lui seul une protection totale (40). Il convient donc d'associer les méthodes de protection contre les piqûres de moustiques à la chimioprophylaxie.

La lutte vectorielle a pour but de réduire le contact homme-vecteur. Trois outils ont fait la preuve de leur efficacité : la moustiquaire imprégnée de pyréthrinoïdes, la protection vestimentaire avec le port de vêtements imprégnés de perméthrine et l'application d'un répulsif sur les zones cutanées découvertes.

L'utilisation de moustiquaire imprégnée d'insecticide est le moyen de lutte antivectorielle le plus couramment utilisé. Son usage est recommandé pendant le sommeil, quel que soit l'âge. Cette mesure est à privilégier chez l'enfant éveillé. Le port de vêtements imprégnés est recommandé à tout âge. Après une imprégnation par trempage, l'efficacité disparaît au-delà de 5 lavages. Après pulvérisation, l'efficacité disparaît après un ou deux lavages.

Au niveau européen, l'utilisation des répulsifs arrive à son terme. L'usage du DEET et celui de l'IR3535 ont été validés et les produits contenant l'une de ces molécules commencent à faire l'objet d'une autorisation de mise sur le marché (AMM) pour leur commercialisation.

Il est possible d'utiliser de façon ponctuelle des produits insecticides en aérosol. Les insecticides diffusibles d'intérieur ont une efficacité là aussi modérée mais sont un appoint utile notamment pour les voyageurs ou les séjours prolongés.

Le Traitement préventif intermittent du paludisme consiste en un protocole thérapeutique antipaludique complet administré lors de visites prénatales systémiques, dans le but de prévenir l'infestation palustre. L'OMS recommande trois doses ou plus de TPIp par sulfadoxine-pyriméthamine (SP) de qualité contrôlée.

La Chimio-prévention du paludisme saisonnier consiste en une administration intermittente de protocole thérapeutique antipaludique complet aux enfants pendant la saison de transmission du paludisme. L'objectif est de prévenir l'infection palustre pendant la période où le risque de transmission est le plus élevé. L'OMS recommande le recours à la CPS de la **sulfadoxine-pyriméthamine** et de l'**amodiaquine** dans les zones où la transmission du paludisme est fortement saisonnière.

3.1.8 Immunité antipaludique

L'immunité naturelle au paludisme est acquise de manière progressive, à l'issue d'expositions répétées à l'infection palustre. Elle s'acquiert plus rapidement vis-à-vis des formes graves de la maladie (43). Il y a donc une corrélation négative entre l'immunité contre les symptômes et la parasitémie et cela varie en fonction du degré d'endémicité du paludisme.

L'immunité acquise naturellement contre le paludisme est robuste et protectrice contre la diversité des souches (44). Elle offre une protection solide contre la morbidité et la mortalité sévères. Les adolescents et les adultes dans les zones endémiques développent rarement les formes compliquées potentiellement mortelles du paludisme (45).

Après plusieurs années d'infections répétées, l'homme peut acquérir une immunité, appelée prémunition. Cette immunité n'est pas stérilisante car il n'élimine pas complètement la parasitémie. Elle est aussi labile car la prémunition disparaît en l'absence de contacts fréquents entre l'être humain et le parasite (46) à travers les piqûres infestantes des moustiques. Elle disparaît après que le sujet quitte la zone d'endémie.

La mise en œuvre des interventions préventives actuellement disponibles influe sur la chronologie de cette immunité naturelle, une prévention efficace étant susceptible de retarder l'acquisition de l'immunité naturelle.

La grande majorité des travaux sur l'immunité anti-palustre a été menée sur des modèles murins ou d'échantillons prélevés sur des individus naturellement exposés (47). Les modèles murins permettent une dissection minutieuse des réponses immunitaires dans tous les organes, à des stades d'infection bien définis et dans le contexte de différentes manifestations de la maladie selon la combinaison de la souche parasitaire et de l'hôte murin (48).

On peut distinguer une immunité dirigée contre les stades pré-érythrocytaires visant à empêcher l'invasion et la croissance du parasite au sein des hépatocytes, et une immunité dirigée contre les stades érythrocytaires, visant à bloquer l'invasion et la croissance du parasite au sein des globules rouges (49).

Ces mécanismes immunitaires font intervenir différents acteurs cellulaires et solubles des réponses immunitaires innée et adaptative qui coopèrent tout au long de l'infection.

3.1.8.1 Immunité cellulaire

Les réponses immunitaires adaptatives cellulaires et humorales sont essentielles pour limiter la réplication du parasite *Plasmodium* et la gravité du paludisme (50).

Les lymphocytes T CD8⁺ jouent un rôle crucial dans l'immunité contre les stades pré-érythrocytaires de l'infection palustre qui sont activés par les lymphocytes Th1 (50). Cela, de par leur interaction avec les différents acteurs de l'immunité innée et adaptative via la production de cytokines. En effet, ces cellules T auxiliaires sont capables d'orienter la réponse immunitaire vers une réponse de type Th1 en sécrétant des cytokines induisant une réponse cellulaire telles que l'interféron γ (IFN), le facteur de nécrose tumorale α (TNF- α), l'interleukine 12 (IL-12) ou vers une réponse de type Th2 en sécrétant des cytokines telles que l'IL-4, l'IL-5, l'IL-6, l'IL-10 (51).

Les premières études utilisant des modèles expérimentaux ont clairement démontré que l'immunité protectrice contre les infections induites par les sporozoïtes nécessite des lymphocytes T CD8⁺ spécifiques de l'antigène (52). Certains de ces lymphocytes T CD8⁺ spécifiques d'épitopes de la protéine Circumsporozoite (CSP) inhibent le développement de parasites au stade hépatique (53).

Durant la phase exo-érythrocytaire, les hépatocytes infectés vont présenter des antigènes parasitaires à leur membrane sous forme de complexes avec le CMH-I, complexes reconnus par le TCR (T-cell receptor) des LT CD8⁺(54). Cette reconnaissance va induire la destruction des cellules infectées par cytotoxicité. D'autre part, ces LT cytotoxiques sécrètent de l'IFN γ , qui active l'oxyde nitrique synthétase à l'origine de la production d'oxyde nitrique, impliqué dans la destruction des parasites.

Durant la phase érythrocytaire, l'immunité à médiation cellulaire fait intervenir une réponse Th1. Cette réponse Th1 est stimulée par l'IFN γ sécrété par diverses cellules et diminue au fur et à mesure que la parasitémie décroît. La production d'IFN γ active les macrophages et stimule l'activité des LT CD8⁺ (phase de l'infection). *In vivo*, il a été montré que les souris présentant une faible sécrétion d'IFN γ succombaient à l'infection car une réponse Th2 précoce se met en place au détriment de la voie Th1 (55). Les lymphocytes Th1 sont impliqués dans l'augmentation de la production d'anticorps par les LB, permettant l'opsonisation et la phagocytose des cellules infectées. Les lymphocytes Th2 promeuvent la production d'IgG4 chez l'Homme, et d'IgG1 chez la souris.

Les cytokines produites au cours de l'infection permettent également l'activation d'autres cellules effectrices, comme les NK, actives dans l'élimination des parasites. Cette élimination se fait de manière directe par cytotoxicité, ou de manière indirecte, *via* la production de cytokines. D'autre part, il a été montré chez la souris que les Lymphocytes T CD4⁺ peuvent à eux seuls conférer une protection contre la parasitémie en absence de Lymphocyte B (56).

3.1.8.2 Immunité humorale

Les réponses humorales (réponses anticorps) ont été largement étudiées dans le contexte de l'immunité antiparasitaire et de la protection clinique contre le paludisme (57). Ces recherches sont basées sur le postulat que l'induction d'anticorps spécifiques au parasite bloquerait d'importants processus parasitaires et, en tant que telle, la réplication cyclique des parasites sera soit empêchée ou enchainée.

Les anticorps sont déterminants dans l'initiation des réponses effectrices de l'immunité humorale anti-palustre. En effet, le transfert passif de gammaglobulines provenant d'adultes africains chez des enfants hospitalisés à cause du paludisme était capable d'éliminer les parasites et les manifestations fébriles (15). Les anticorps sériques interviennent dans la protection en agissant principalement contre les parasites des stades sanguins asexués qui causent les symptômes cliniques du paludisme.

Au cours de l'infection palustre, les anticorps produits sont constitués essentiellement par des immunoglobulines M et G (IgM et IgG) mais aussi d'autres types d'immunoglobulines telles que les IgE et IgA.

L'IgG est la plus importante parmi les isotypes d'anticorps. Chez les individus protégés, les sous-classes cytophiliques IgG1 et IgG3 ont été fréquemment rencontrées.

Cependant, l'augmentation de la concentration d'IgG peut être associée à une diminution du risque d'infection palustre.

Le rôle protecteur des IgM dans le cas du paludisme reste à être élucidé.

Les anticorps pourraient potentiellement agir contre le mérozoïte libre avant qu'il n'envahisse l'érythrocyte, ou contre le globule rouge infecté avant sa cytoadhésion aux parois endothéliales. Ceci, en activant le complément par la voie classique ou par des mécanismes de cytotoxicité à médiation cellulaire dépendante des anticorps (ADCC), d'inhibition cellulaire dépendante des anticorps (ADCI) et de phagocytose réduisant ainsi la densité parasitaire et les symptômes cliniques (17 ; 53). La phagocytose est faite par les monocytes/macrophages, les neutrophiles et les cellules dendritiques. Ces fonctions effectrices sont médiées par le fragment cristallisable de l'anticorps Fc (58). Parmi les quatre sous-classes d'IgG, les IgG1 et IgG3 peuvent fortement favoriser la liaison des composants du complément. Ils peuvent également se lier avec une grande affinité aux récepteurs Fc (FcR) sur les cellules phagocytaires, notamment les récepteurs FcγRIIa et FcγRIIIa (59). Ils sont donc appelés anticorps cytophiles. Chez les individus naturellement protégés contre le paludisme, la réponse IgG dirigée contre les antigènes du mérozoïte implique principalement les IgG1 et IgG3 cytophiles, ce qui confirme que les fonctions d'anticorps médiées par la région Fc sont importantes pour l'immunité antipaludique (60).

Après sélection et expansion clonale, une partie des Lymphocytes B se différencie en lymphocytes B mémoires et une autre partie constitue un pool de plasmocytes sécréteurs d'Anticorps. Lorsque les anticorps spécifiques reconnaissent l'antigène (Ag), ils peuvent former un complexe immun qui sera internalisé puis détruit par les cellules phagocytaires (18).

De plus, les modèles murins du paludisme ont permis d'établir que la déplétion en Lymphocyte B induit des recrudescences chroniques (51).

Les mécanismes impliqués dans l'acquisition de l'immunité naturelle ne sont pas entièrement connus.

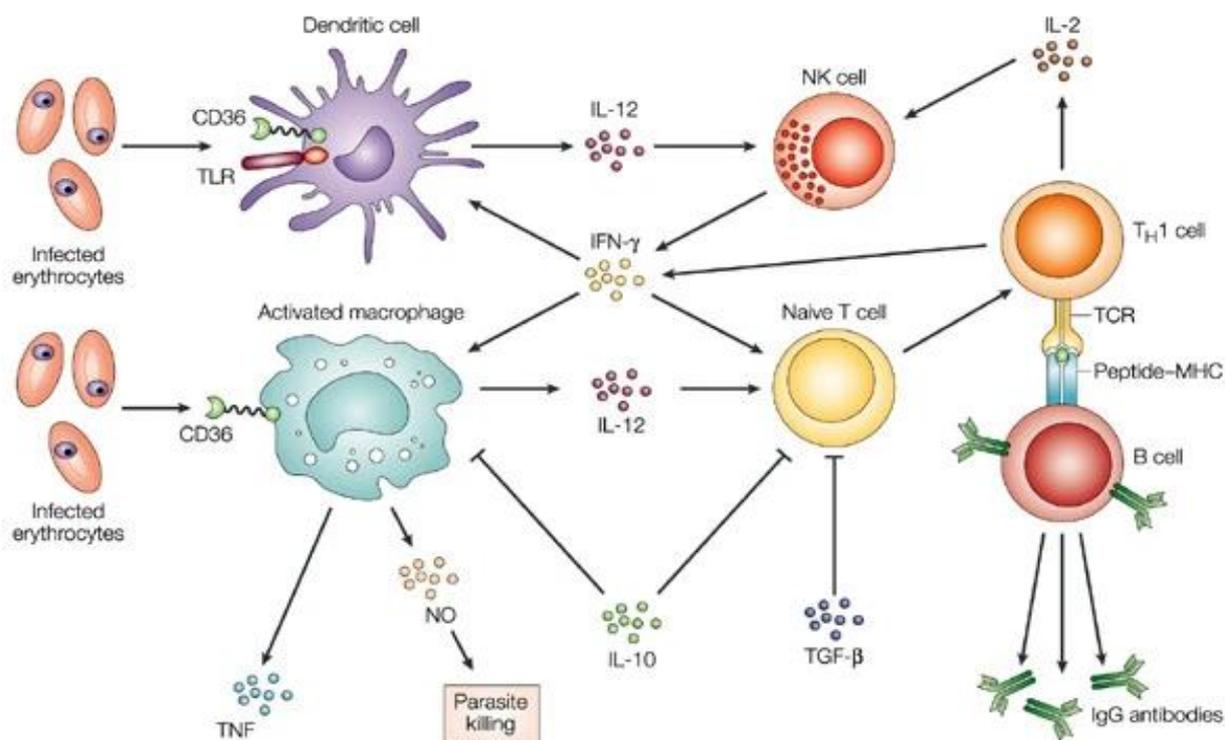


Figure 4 : Principales réponses immunitaires contre le paludisme. Régulation possible de l'immunité adaptative au paludisme au stade sanguin par les cytokines produites par les cellules de la réponse immunitaire innée. Récepteur Toll-like (TLR) ; Interféron- (IFN) ; Cellules Dendritiques (CD) ; Interleukine-12 (IL-12) ; cellules tueuses naturelles (NK) ; cellules T helper (Th1) ; facteur de croissance transformant- (TGF-) ; récepteur des cellules T (TCR) ; facteur de nécrose tumorale (TNF) ; monoxyde d'azote (NO). Source : Stevenson M Riley, 2004 (61).

3.1.9 Vaccins antipaludiques

Plusieurs vaccins candidats contre le paludisme à *P. falciparum* sont en phase d'évaluation clinique ou préclinique avancée. Des approches utilisant des antigènes protéiques recombinants et ciblant différentes phases du cycle de vie parasitaire sont en cours d'élaboration. Seul le vaccin RTS, S/AS01, un vaccin du stade pré-érythrocytaire constitué d'un fragment de protéine circumsporozoite de *P. falciparum* (CSP) fusionné avec l'antigène de surface de l'hépatite B (S) a achevé l'évaluation de phase III et obtenu un avis réglementaire favorable (62).

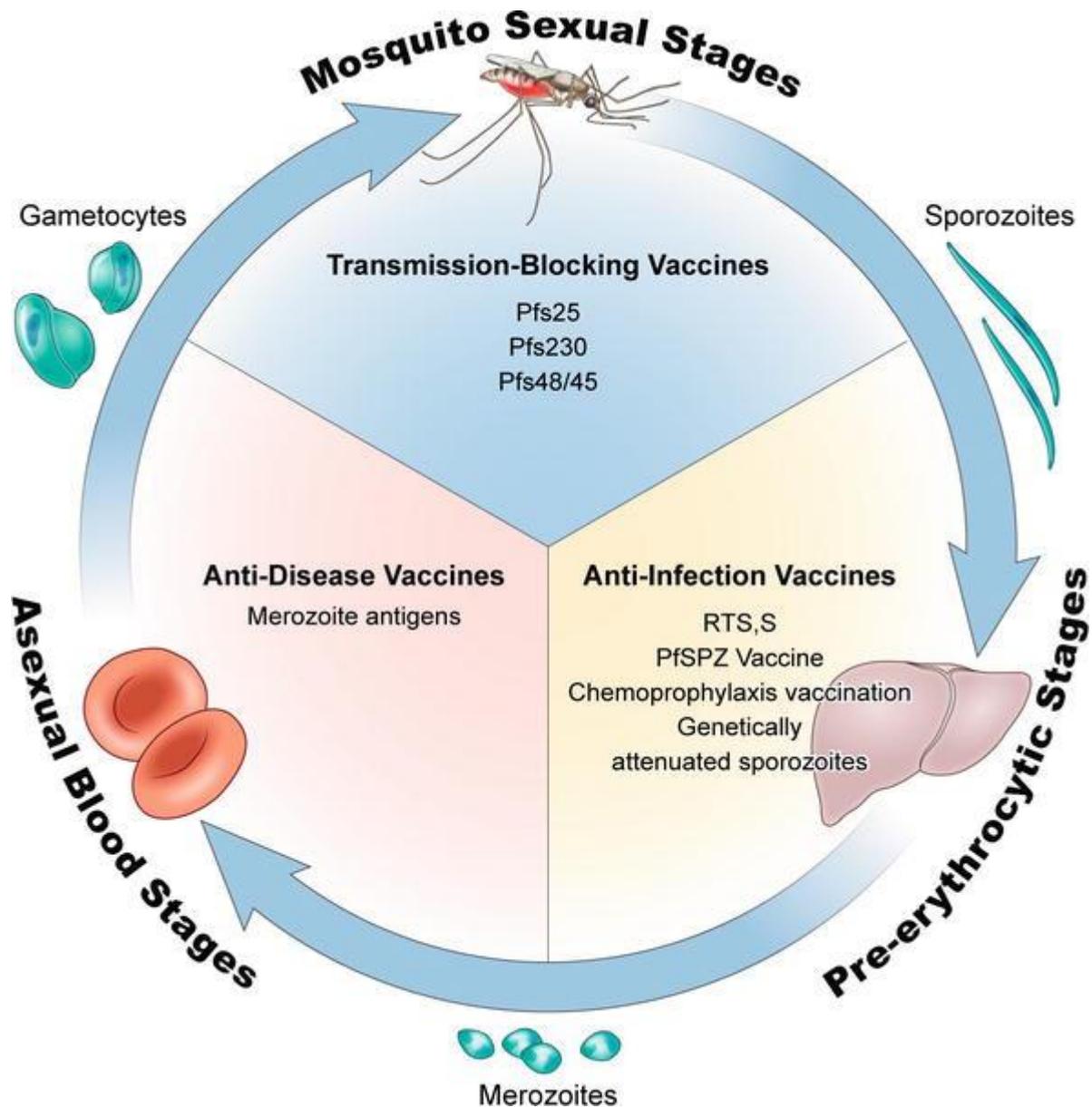


Figure 5 : Cycle biologique avec les différentes approches de développement de vaccin.

PfSPZ : Sporozoïtes entiers de *Plasmodium falciparum* ; RTS, S : Antigène de surface de l'hépatite B seul (S) fusionné avec un fragment de protéine circumsporozoïte de *Plasmodium falciparum* contenant ses répétitions centrales et des épitopes de cellules T (RTS) ; Pfs25, 230, 48/45 : Protéine de surface du stade sexuel de *Plasmodium falciparum*. Source : Doumbo *et al*, 2018 (63).

3.1.9.1 Vaccins antipaludiques contre les stades pré-érythrocytaires

Les vaccins dirigés contre le stade pré-érythrocytaire ont pour objectif de prévenir l'infection des hépatocytes et/ou de détruire les hépatocytes infectés (64). Les mécanismes immunitaires effecteurs comprennent des anticorps contre la surface du sporozoïte et l'interféron produit par des cellules T CD4⁺ CD8⁺.

Les bénéficiaires principaux sont les enfants des zones endémiques, les voyageurs et les résidents non immuns de zones à faible transmission. Un vaccin de ce type appelé RTS, S/AS01 est en cours de développement.

Le RTS, S/AS01 est composé de particules protéiques comprenant 19 copies de la portion répétée centrale de la CSP et d'une partie (épitope T) de sa région carboxy-terminale fusionnées à l'antigène S du virus de l'hépatite B, et d'un adjuvant complexe, l'AS01. Ce vaccin se présente sous la forme d'une formulation liquide-solide à deux flacons. Un flacon contient l'antigène lyophilisé (RTS, S) qui doit être reconstitué avec le contenu du deuxième flacon, le système adjuvant AS01 sous forme liquide.

En 2019, trois pays (Ghana, Kenya et Malawi) ont déployé la vaccination antipaludique RTS, S dans des zones sélectionnées par le biais d'un programme pilote coordonné par l'OMS. Des essais cliniques rigoureux ont montré que le vaccin permettait de réduire à 4 sur 10 les cas de paludisme chez les jeunes enfants. Dès le mois d'Octobre 2020, près d'un demi-million d'enfants ont reçu leur première dose de vaccin dans trois pays africains. Le programme de vaccination RTS, S a été déployé en partenariat avec les ministères de la Santé des trois pays, PATH et GSK, le fabricant du vaccin. Ce programme est financé par des contributions de l'Alliance mondiale pour les vaccins et la vaccination (GAVI), du Fonds mondial et United.

Un autre candidat vaccin à base de CSP fusionné avec HBsAg combiné à l'adjuvant Matrix M dénommé R21 a montré une bonne efficacité en phase II et est en cours d'évaluation en phase III en Afrique (65).

D'autres vaccins CSP ou contre les antigènes de stades pré-érythrocytaires sont en cours de développement (65). Ils incluent un ou plusieurs antigènes comme : TRAP (thrombospondin-related adhesive protein) ; LSA-1 (Liver stage antigen 1) ; LSA-3 ; SALSA (Sporozoite and liver stage antigen) ; STARP (Sporozoite threonine and asparagine rich protein) ou EXP-1 (Exported antigen 1).

3.1.9.2 Vaccins antipaludiques contre les stades sanguins asexués

A ce jour il n'y a que des candidats vaccins en développement. Un vaccin contre les stades érythrocytaires asexués viserait soit à empêcher l'invasion des hématies et donc à contrôler les densités plasmodiales circulantes, soit à empêcher l'évolution des infections vers les formes cliniques et potentiellement graves de la maladie.

La principale cible des vaccins contre les stades sanguins asexués est le mérozoïte, la forme du parasite qui envahit les hématies. Leurs bénéficiaires seraient les enfants des zones

endémiques. Un exemple de ce type de vaccin est celui basé sur la protéine de surface MSP-1 développé à l'institut Pasteur de Paris.

Les candidats vaccins contre les stades érythrocytaires asexués comprennent les antigènes : AMA-1 (Apical membrane antigen – 1) ; GLURP (glutamate rich protein) ; HRP-1 ; MSP-1 (merozoite surface protein - 1) ; MSP-2 ; MSP-3 ; RAP-2 (rhoptry-associated protein) ; RESA (ring infected erythrocyte surface antigen) ; SERA (serine-repeat antigen) ; PfEMP-1 (*Plasmodium falciparum* erythrocyte membrane protein-1) (25).

3.1.9.3 Vaccins antipaludiques bloquant la transmission

Des anticorps dirigés contre des antigènes des stades sexués du parasite peuvent bloquer le développement du parasite dans son vecteur. Elle ne visait pas à protéger l'individu vacciné mais à empêcher la transmission des parasites de l'homme au vecteur et plus tard du vecteur à l'homme. Ce type de vaccin serait utile en combinaison avec des vaccins ciblant d'autres stades de développement du parasite (66). Les candidats vaccins bloquant la transmission en développement comprennent les antigènes : Pfs230 ; Pfs48/45 ; Pfs28 ; Pfs25 (67).

3.1.9.4 Famille des protéines de surface du mérozoïtes (MSP)

De nombreuses protéines de surface mérozoïte ancrées au GPI ont été identifiées. Il s'agit notamment de protéines connues sous le nom de MSP (Protéines de Surface Mérozoïte) : MSP-1, MSP-2, MSP-4, MSP-5, MSP-10, MSP-11 et de protéines possédant le domaine 6-cysteine (Pf92, Pf38, Pf12). Les MSP sont en général impliquées dans le contact initial et aléatoire entre le globule rouge et le mérozoïte. D'autres protéines sont ancrées à travers une molécule de GPI. Il s'agit de RAMA (Antigène membranaire associé au rhoptrie), CYRPA (Antigène protecteur riche en cystéine) et GAMA (Antigène micronemal à ancrage GPI). Ces protéines migrent vers la surface du mérozoïte à partir des organites avant ou pendant l'invasion des globules rouges. Les protéines de type DBL (Duffy Binding Like) proviennent des micronèmes et comprennent : EBA-140 et EBA-175. Les *PfRh*s (*P. falciparum* Reticulocyte-binding homologues) proviennent des rhoptries et comprennent : *PfRh1*, *PfRh2a*, *PfRh2b*, *PfRh4* et *PfRH5*. La protéine intégrale AMA1 (Antigène membranaire apical 1) initie la formation d'une jonction serrée en se liant au complexe RON (Protéines du cou rhoptrie).

Les protéines de surface mérozoïte (MSP) sont considérées comme des candidats vaccins prometteurs contre le paludisme au stade sanguin. Elles joueraient un rôle important dans le processus d'invasion des globules rouges. Elles sont en général immunogènes selon les études immuno-épidémiologiques (13). MSP-3 a longtemps été évaluée pour sa

candidature au vaccin, cependant, la candidature d'autres membres de la famille MSP3 est insuffisamment caractérisée (14). Ici nous avons étudié MSP-11, un membre de la famille MSP3 pour son potentiel en tant que candidat vaccin au stade sanguin.

3.1.9.5 Merozoïte Surface Protein-11 (MSP-11)

MSP-11 est une protéine longue de 405 acides aminés sans site d'ancrage GPI ou de domaines transmembranaires (13). Il contient :

- Un peptide signal à son extrémité N-terminale ;
- Une région acide qui est susceptible d'interagir avec les molécules chargées positivement ;
- Une séquence de type leucine-zipper comme pour médier les interactions protéine-protéine.

Ces caractéristiques soutiennent une interaction possible de MSP-11 avec le globule rouge pendant l'invasion ou d'autres protéines de surface du mérozoïte (MSP-3 et MSP-4) pour former un complexe moléculaire (19). Les paralogues de MSP-11 sont MSP-3 et MSP-6.

Il a été récemment démontré que la partie C-terminale de MSP 11 est fortement antigénique. Les anticorps provenant des patients hyper-immuns contre cette partie réagissent de manière croisée avec MSP3 et d'autres paralogues (68). Ceci montre que l'homologie existant entre ces deux protéines pourrait être responsable d'une telle réactivité.

Un essai d'immunofluorescence (IFA) a révélé que la protéine MSP-11 se localise probablement sur la partie apicale du mérozoïte chez les schizontes matures (14). Après l'invasion, il s'est localisé dans la vacuole parasitophore et ensuite dans les taches de Maurer des trophozoïtes selon la même étude (14).

Un test d'inhibition de la croissance *in vitro* a révélé que les anticorps de lapin anti-MSP 11 inhibent l'invasion des érythrocytes par les mérozoïtes (14).

Tableaux I : Candidats vaccins antipaludiques et leur développement clinique.

Cible biologique	Nom du candidat vaccin	Phase de développement
Stades pré-érythrocytaires		
CSP	RTS, S/AS01	En implémentation pilote actuellement
	R21/MM	Phase III
	NYVAC-Pf7	Phase IIa
	PfCS102	Phase IIa
TRAP/SSP2	ChAd63/MVA ME-TRAP	Phase IIb
Sporozoite entier	PfSPZ	Phase IIb
	SPf66	Phase III
Stade érythrocytaire		
MSP1	Combinaison B	Phase I
	PfCP-2.9	Phase I
MSP2	MSP2-C1	Phase I
SERA	BKSE36	Phase I
MSP3	GMZ2	Phase II
Stade gaméocytaire		
P25	Pfs25M-EPA/AS01	Phase I
	Pfs25/Montanide ISA 51	Phase I
	Pfs25-EPA/Alhydrogel	Phase I
P230	Pfs230D1M-EPA	Phase I
P48/45	Pvs48/45	Préclinique
P28	Pfs28	Préclinique

CSP : protéine circumsporozoite, TRAP/SSP2 : protéine anonyme liée à la thrombospondine / protéine de surface 2 du sporozoïte), MSP1 : protéine de surface du mérozoïte 1, MSP-2 : protéine de surface du mérozoïte 2, SERA : antigène riche en sérine, MSP-3 : protéine de surface du mérozoïte 3, P25, P230, P48/45, P28 : protéines de surface du stade sexuel de *Plasmodium falciparum*

MATERIELS ET METHODES

4 MATÉRIELS ET MÉTHODES

4.1 Site de l'étude

Cette étude a été menée à Samako, un village d'environ 3000 habitants situé dans la zone de savane soudanaise de la vallée du Haut Niger (district de Kati) à environ 70 km au sud-ouest de Bamako, la capitale du Mali. Samako est à 5 km de Bancoumana où le Malaria Research and Training Center (MRTC) a établi un site de recherche sur le paludisme depuis 2000. L'espèce *P. falciparum* est la plus prédominante dans cette région et représente plus de 95% des cas de paludisme (69). La transmission est principalement saisonnière de juin à décembre. La zone d'étude a été précédemment décrite comme une zone hyper-endémique du paludisme (69).

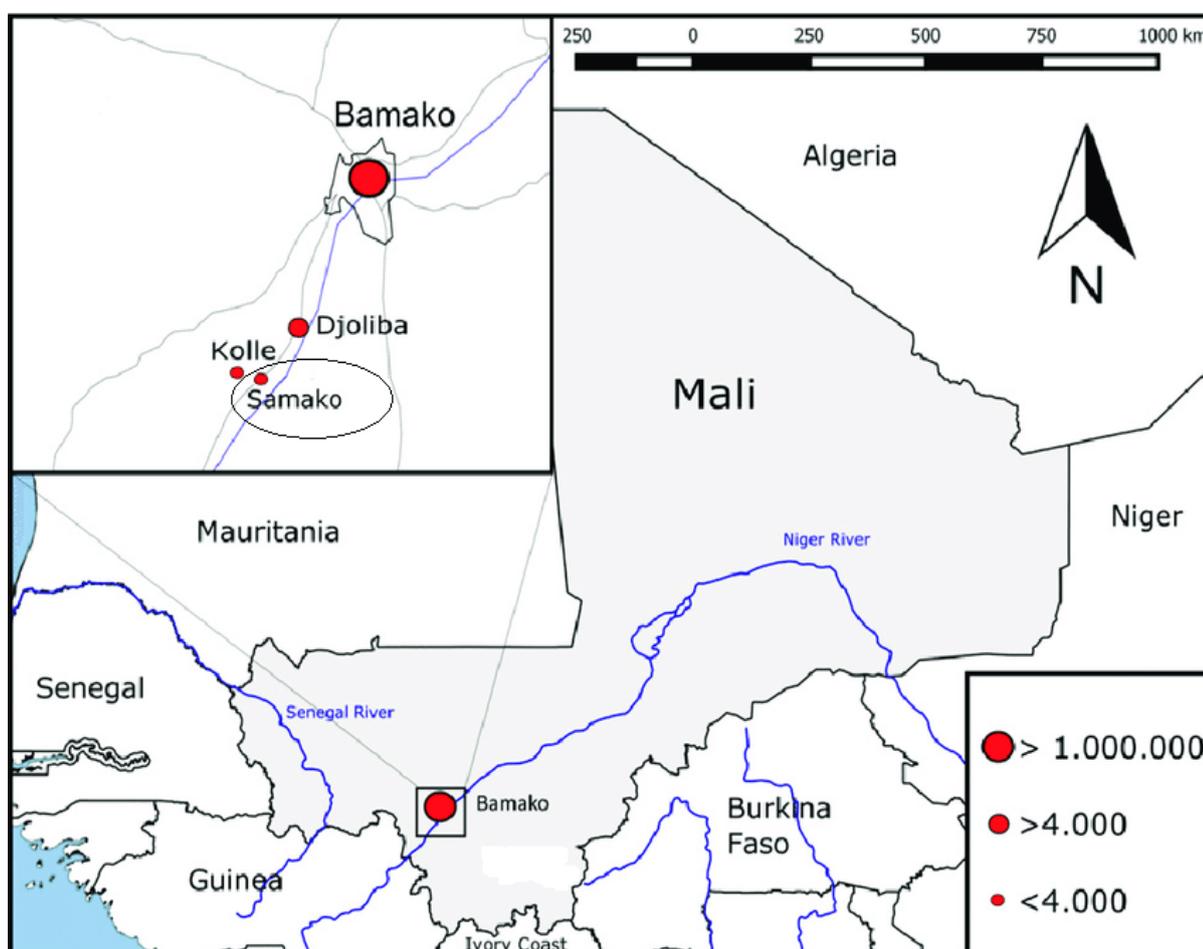


Figure 6 : Carte montrant l'emplacement du site d'étude. La taille des points rouges indique le nombre approximatif relatif d'habitants. Source : Nabet *et al*, 2016

4.2 Type et période d'étude

Il s'agit d'une étude de cohorte. Elle s'est déroulée d'Août 2011 à Juillet 2012 selon un suivi de quatre visites actives et des visites passives.

4.3 Population d'étude

La population d'étude était constituée d'enfants de la tranche d'âge de 0 à 15 ans résidant à Samako durant la période de l'étude.

- Critères d'inclusion

Les critères d'inclusion étaient les suivants :

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

- Critères de non inclusion

Les critères de non inclusion étaient :

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

- Échantillonnage et détermination de la taille de l'échantillon

Elle a été calculée en assumant une prévalence du paludisme de 20% sur le site de Samako. La taille minimum de l'échantillon requise était de 113 après avoir utilisé une puissance de 80% et un risque α de 5%. En considérant un risque de perdre 5% des échantillons lors des expériences de laboratoire, la taille minimum totale de l'étude était de $113 + (113) \times 0,05 = 119$. Nous avons effectué un échantillonnage aléatoire simple.

4.4 Méthodes d'étude

4.4.1 Schéma de l'étude

En 2011, nous avons effectué trois visites : la 1^{ère} visite a lieu en Août, la 2^{ème} en octobre et la 3^{ème} en décembre. Nous avons fait la 4^{ème} visite en juillet 2012.

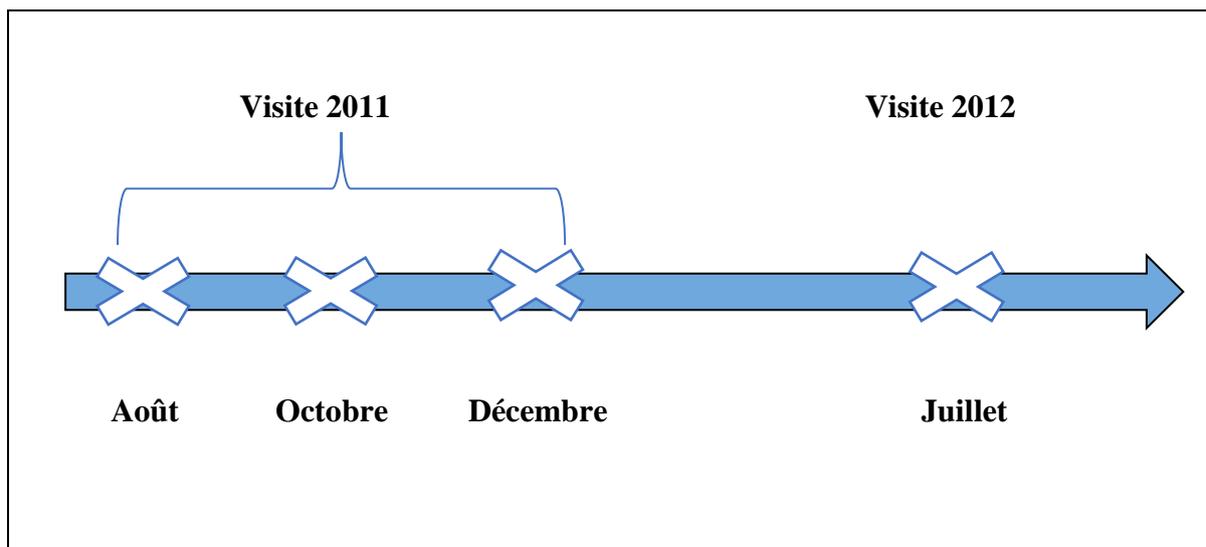


Figure 7 : Diagramme de l'étude

4.4.2 Diagnostic du paludisme

Les cas de paludisme ont été dépistés de façon passive et active. Le dépistage actif des cas a été réalisé pendant quatre visites actives. Un examen clinique et une goutte épaisse et frottis mince étaient réalisés chez chaque enfant au cours de ces visites. Le passage passif consistait à examiner tous les enfants de la cohorte venu au centre de santé pour des raisons médicales en dehors des jours de visites actives pendant la durée de l'étude.

Le diagnostic du paludisme était basé sur la goutte épaisse et le frottis mince. Les parasitémiés étaient évaluées sur la base du nombre de parasites sur 300 leucocytes et rapportées à 7500 leucocytes / μ l.

L'accès palustre simple était défini par la présence d'une parasitémie de 2500 trophozoïtes/ μ l de sang, associée à une fièvre (température axillaire $>37.5^{\circ}\text{C}$)

Le paludisme grave était défini selon les critères de l'OMS : présence de formes asexuées de *P. falciparum* à l'examen microscopique du sang périphérique, associée à une ou plusieurs des manifestations suivantes :

- Neuropaludisme (coma de stade II ou plus),
- Crises convulsives ($> 1/24$ h),
- Anémie grave (hématocrite $< 15\%$ et Hb $< 5\text{g/dl}$)
- Insuffisance rénale (diurèse < 400 ml ou créatinine $> 265\mu\text{mol/l}$)
- Œdème pulmonaire,
- Hypoglycémie ($< 2,2$ mmol/l ou 0,4g/l)
- Collapsus circulatoire,

- Hémorragie diffuse,
- Hémoglobinurie massive,
- Acidose sanguine

4.4.3 Techniques de laboratoire

Nous avons effectué des tests d'ELISA avec un protocole de 3 jours pour quantifier les titres des IgG totales. Nous avons utilisé des contrôles positif (pool des sera de sujets hyper-immuns) et négatif (sera des sujets naïfs, suédois). Nous avons utilisé une courbe de titrage par lot d'expériences.

- Principe de l'ELISA

La technique ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) est un test immuno-enzymatique, le plus souvent quantitatif, utilisé pour doser une molécule dans un échantillon biologique à l'aide des réactions antigène-anticorps.

- Préparation de la solution de lavage

La solution de lavage est composée de « *Phosphate Buffered Saline (PBS)* » et de Tween 20. Un volume de 500 µL de Tween 20 est mis dans 100 ml de PBS 10X + 900 ml d'eau distillée. La solution obtenue est la solution de lavage : PBS1X + 0,05% Tween 20 (PBST).

- Préparation de la solution de blocage

La solution de blocage a été obtenue à partir de la solution de lavage PBST et du lait écrémé. On mélange 1 g de lait écrémé dans 100 ml de PBST, la solution de saturation est composée donc de : PBST + 1% de lait écrémé.

- Préparation de la solution de fixation

Cette solution est obtenue à partir du Carbonate-bicarbonate. Dans 100 ml d'eau distillée, on met 1 comprimé de carbonate-bicarbonate.

- Préparation de la solution d'arrêt

Cette solution est préparée à partir de l'acide sulfurique (H₂SO₄). On ajoute 22 ml d'acide dans 178 ml d'eau distillée. La solution d'arrêt est donc l'acide sulfurique à 2M.

Le test d'ELISA a été réalisé avec les plaques 96 puits Maxisorp®, Nunc (Falcon) sur lesquelles sont notées le type d'antigène et la date de la manipulation. Sur chaque plaque, ont été systématiquement utilisés les sérums d'individus naïfs comme témoins négatifs et le sérum hyper-immun comme témoins positifs. Chaque échantillon a été testé dans deux puits différents sur la plaque. Les différentes étapes du test sont :

- **Fixation des antigènes dans les plaques :** 100 µL/puits de l'antigène MSP11 dilué à 1 µg/mL dans la solution de fixation. Les plaques ont été incubées à 4°C pendant une nuit.
- **Lavages des plaques :** Après avoir sorti les plaques du réfrigérateur, 5 lavages ont été effectués avec 200 µL de PBST pour éliminer l'excès d'antigènes. Les plaques sont ensuite vidées et tapotées sur du papier absorbant pour les sécher.
- **Blocage des plaques :** Les sites non spécifiques ont été saturés avec 200 µL de la solution de saturation. Les plaques saturées ont été recouvertes avec des papiers adhésifs et incubées à 37°C pendant 5 heures. Après cette incubation, les plaques sont retirées, vidées et lavées avec du PBST. Cinq lavages ont été nécessaires.
- **Incubation des sérums :** Les échantillons de sérum à tester, les témoins positif et négatif ont été dilués au 1/500^{ème} à partir de la solution de blocage. Un volume de 100 µL de chaque échantillon dilué et les témoins positifs et négatifs ont été distribués dans les puits en duplicata. Le tout est mis en incubation à 4°C pendant une nuit.
- **Incubation du conjugué (anti-immunoglobuline G couplée à la peroxydase) :** Après cette incubation, 5 lavages sont faits avec 200 µL de PBST. Après ces lavages, 100 µL de l'anti-human IgG dilué au 1/2500^{ème} dans la solution de blocage sont distribués dans chaque puits. Les plaques ont été ensuite incubées à 37°C pendant 3 heures à l'obscurité.
- **Révélation :** Après cette incubation, 5 lavages sont faits avec 200 µL de PBST. Dans chaque puits, sont transférées 200 µL de la solution d'OPD (Ortho-phenylenediamine dihydrochloride). L'apparition d'une coloration bleue est stoppée par la solution d'arrêt (25 µL/puits).
- **Lecture et analyse des résultats :** Les densités optiques (DO) ont été mesurées par spectrophotométrie à 450 nm.

Un pool de sera recueillis chez les sujets hyper-immuns a été utilisé comme témoin positif et a permis la validation inter-essai des résultats. Une gamme de dilution d'immunoglobuline G extrait d'une personne infectée (MIG) était réalisée par lot d'expérience afin de tracer une courbe de titrage pour voir la variance. Dilution commençant par une concentration de MIG de 10,7 µL.

– **Validation des données**

Nous avons réalisé une gamme de dilution d'immunoglobuline G extrait d'une personne infectée (MIG) par lot d'expériences. Après avoir revêtit 72 puits de notre plaque de nos

échantillons, les 24 puits restants ont été remplis avec 100 μ L de MIG titrés en série pour servir d'étalons. Nous avons fait une dilution d'une gamme de 11 en commençant par un volume de 10.7 μ L de MIG.

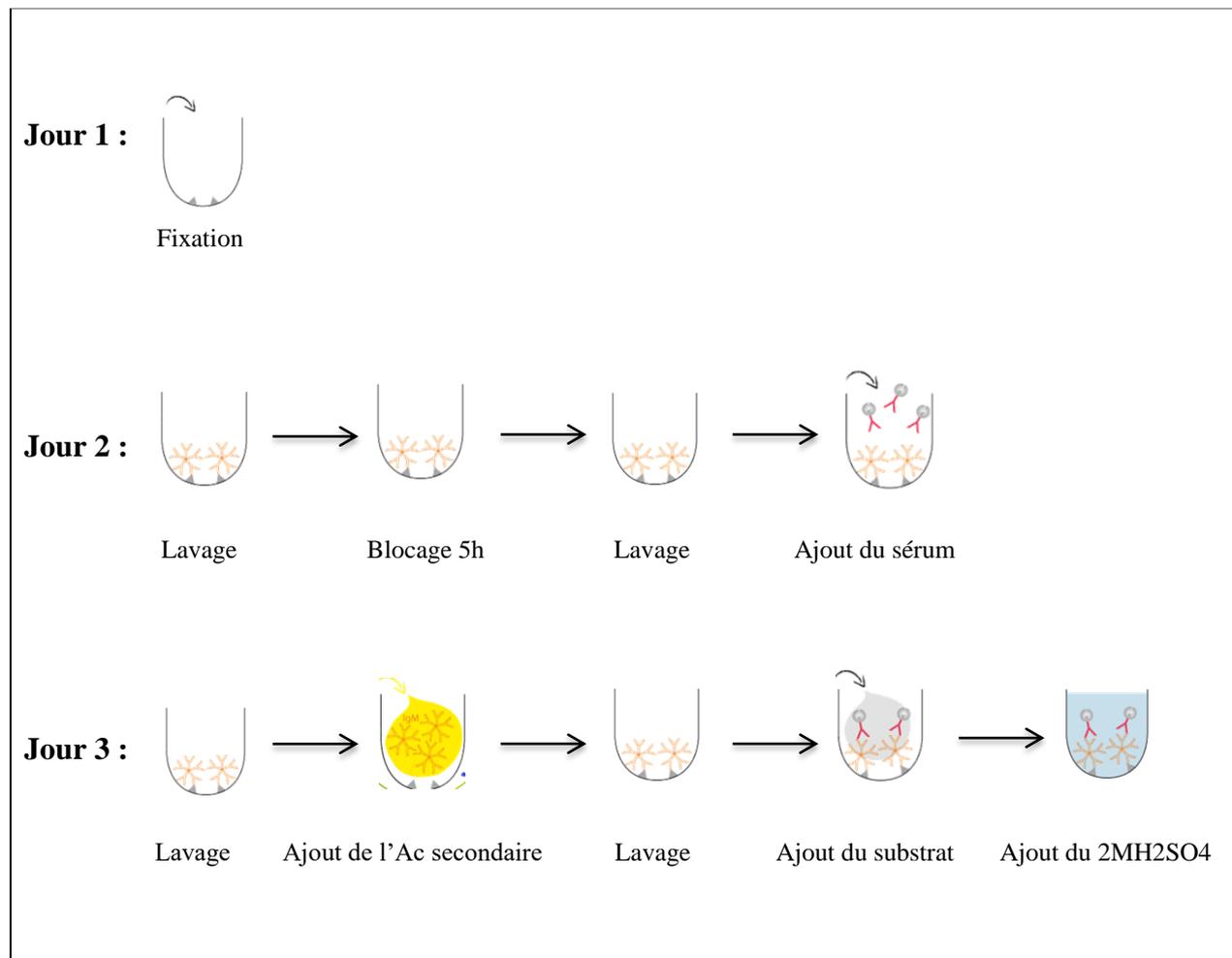


Figure 8 : Principales étapes du test des anticorps sériques par ELISA



Figure 9 : Image d'une plaque d'ELISA

4.5 Variables mesurées

- l'âge (ans),
- la fièvre (T 37,5°C)
- l'accès palustre : présence d'une parasitémie ≥ 2500 trophozoïtes/ μ l de sang, associée à une fièvre (température axillaire $>37,5^\circ$ C)
- Le paludisme grave était défini selon les critères de l'OMS : présence de formes asexuées
- la parasitémie,
- le titre d'anticorps IgG : la quantité d'anticorps IgG présente dans le sérum est déterminée par titrage de celui-ci en dilution limite (dilution la plus élevée du sang auquel des anticorps ne peuvent plus être trouvés).
- Séroprévalence : elle est calculée en divisant le nombre de cas atteints par le nombre total de cas et en multipliant ce résultat par 100.

4.6 Saisie et analyse statistique

Les données étaient saisies dans Excel et sauveées sous forme de fichier csv. Elles ont été analysées avec R Studio et permis d'estimer les séroprévalences par saison et par groupe d'âge. Nous avons analysé la magnitude des réponses immunitaires qui était la moyenne des densités optiques des deux puits par échantillons. Nous avons utilisé le modèle de régression de Poisson modifié pour calculer le risque ratio de l'incidence des épisodes palustres entre séropositifs et séronégatifs. Nous avons également effectué l'analyse de survie basée sur le modèle de Cox pour comparer l'évolution de l'incidence des épisodes palustres entre individus séropositifs et séronégatifs au cours du suivi. Toute valeur de $p < 0.05$ était considérée comme statistiquement significative.

4.7 Considérations éthiques

Le protocole a été approuvé par le comité d'éthique des facultés de médecine, de pharmacie et d'odontostomatologie de l'Université des sciences, techniques et technologies de Bamako. Un consentement éclairé et libre était obtenu des parents ou tuteurs légaux. En plus, un formulaire d'assentiment éclairé était administré aux adolescents de l'étude (à partir de 12 ans). Tous les cas de paludisme étaient traités selon les recommandations en vigueur.

RESULTATS

5 RÉSULTATS

5.1 Caractéristiques de base

Au total 119 enfants ont été sélectionnés dans notre étude. L'âge médian des participants était de 7 ans avec un intervalle interquartile de 7 ans. Les patients de sexe masculin étaient les plus nombreux avec un sexe ratio de 1.16.

Tableau II : Caractéristiques des participants à l'inclusion

Caractéristiques	Cas d'accès palustre	Cas asymptomatiques	Total
Age (ans) : médiane \pm IQR	6 \pm 7	7,5 \pm 7	7 \pm 7
Sexe ratio (M/F)	0,95	1,29	1,16
Infection au jour 0 % (n/N)	31,7% (13/41)	34,6% (27/78)	33,6% (40/119)
Taille	41	78	119

IQR : intervalle interquartile ; M/F : masculin/féminin ; n : nombre

La figure 10 montre une similitude entre les deux courbes d'étalonnage, ce qui signifie qu'il n'y avait pas un effet de lot significatif dans nos expériences.

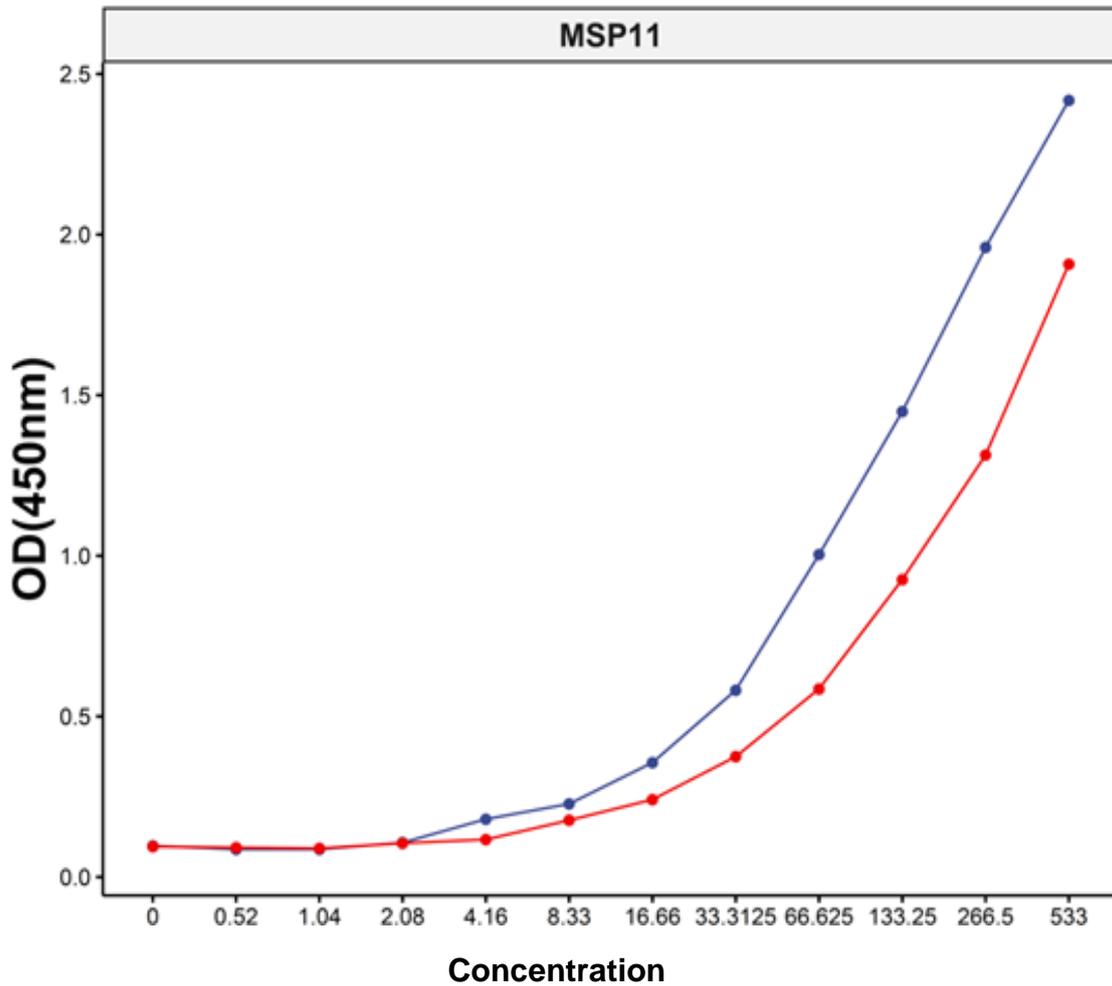


Figure 10 : Analyse des effets de lot. Courbe en bleu= 1^{er} et 2^{ème} passage ;
Courbe en rouge= passages 3 et 4

5.2 Réactivité des IgG a l'antigène MSP11 au cours du suivi

Les concentrations des anticorps IgG contre MSP-11 étaient significativement plus élevées en août comparé à décembre où ils étaient faibles et presque équivalents à ceux observés chez les personnes naïves (non exposées au paludisme). Cependant en octobre et juillet les concentrations d'IgG étaient comparables et légèrement plus élevées qu'en décembre (figure 11).

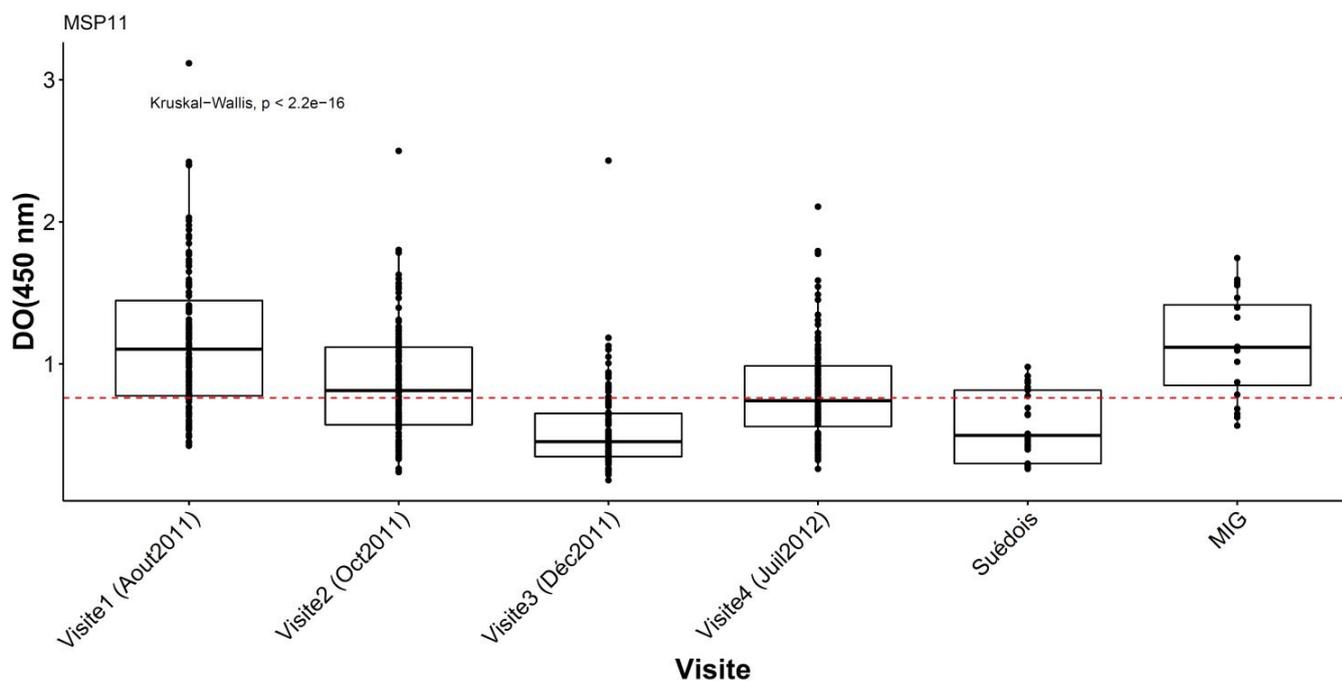


Figure 11 : Variation saisonnière des taux d'IgG anti-MSP-11. Le diagramme en boîte MIG (malaria-specific Immunoglobulin) représente le contrôle positif et le Suédois représente le contrôle négatif. Le pointillé rouge représente le seuil de séropositivité (moyenne de densité optique + 2 écart-types chez les sujets naïfs).

La fréquence des porteurs d'anticorps anti-IgG MSP-11 (séropositivité, définie comme toute valeur supérieure à la moyenne + 2 écart-types des densités optiques chez les sujets naïfs) étaient globalement plus élevée en août, octobre et juillet comparés au mois de décembre (Figure 12).

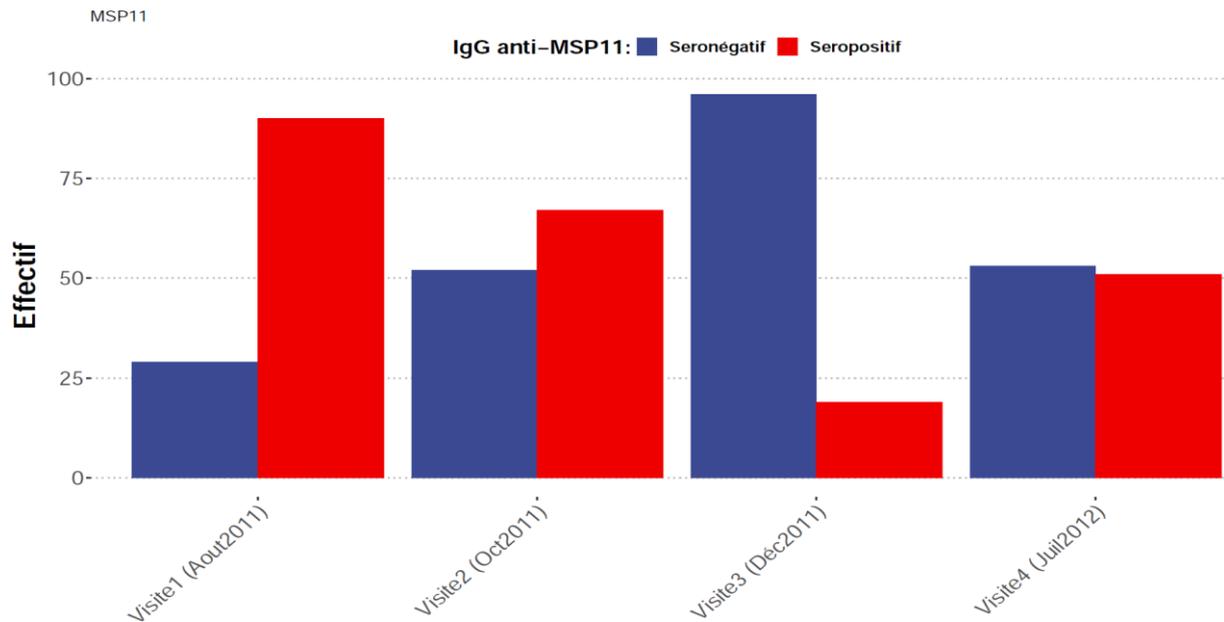


Figure 12 : Fréquence du portage de l'infection palustre selon la visite. Le diagramme en bleu représente les personnes séronégatives et le diagramme en rouge représente les séropositifs.

5.3 Réponses IgG et âge

Nous avons d'abord analysé la survenue de l'infection palustre en fonction de l'âge en catégorisant les sujets en 0-5 ans, 6-10 ans et 11-15 ans. Les enfants de 0-5 ans et 6-10 ans présentaient une fréquence plus élevée d'infection palustre que ceux de 11-15 ans (Figure 13)

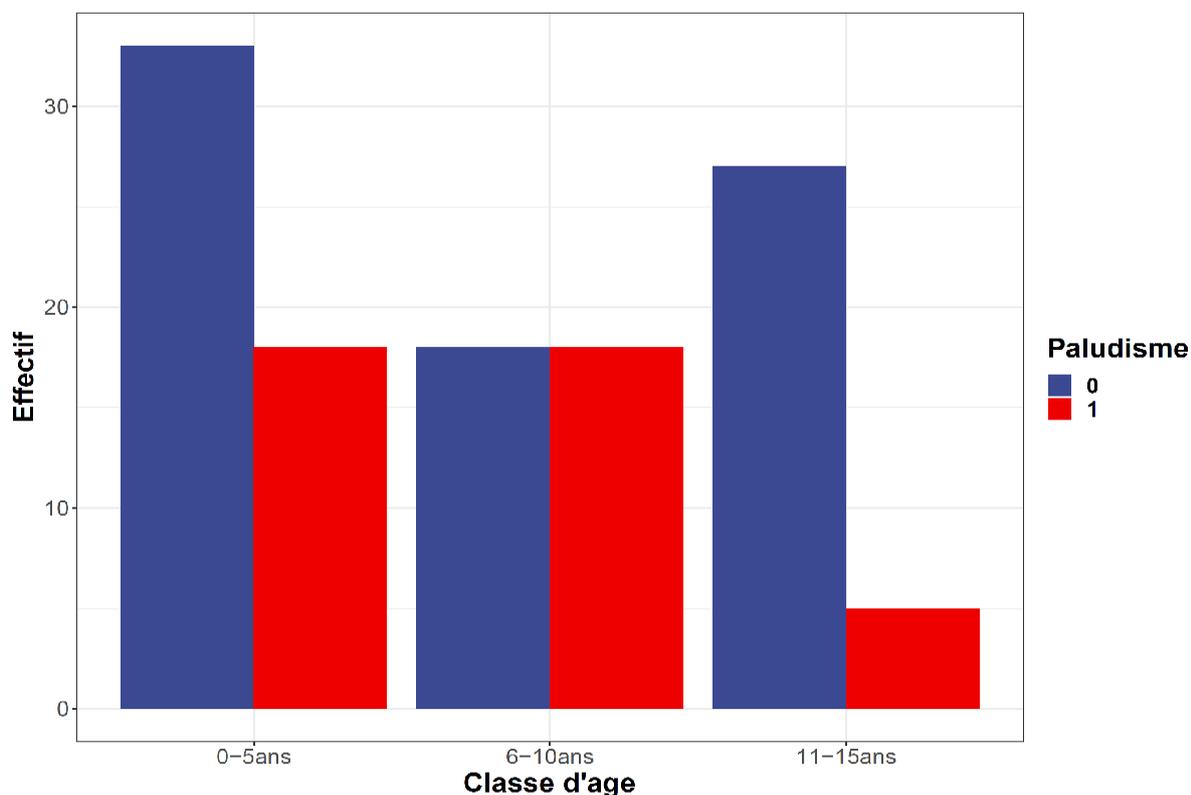


Figure 13 : Fréquence du portage de l'infection palustre selon l'âge. Cette figure représente l'effectif des enfants impaludés et sains. 0) (diagramme en bleu) = absence de paludisme. 1 (diagramme en rouge) : présence de paludisme.

Le portage des IgG anti-MSP-11 était plus fréquent chez les grands enfants comparés aux plus petits en Août, Octobre et décembre. Cette différence n'était pas observée en juillet (Figure 14).

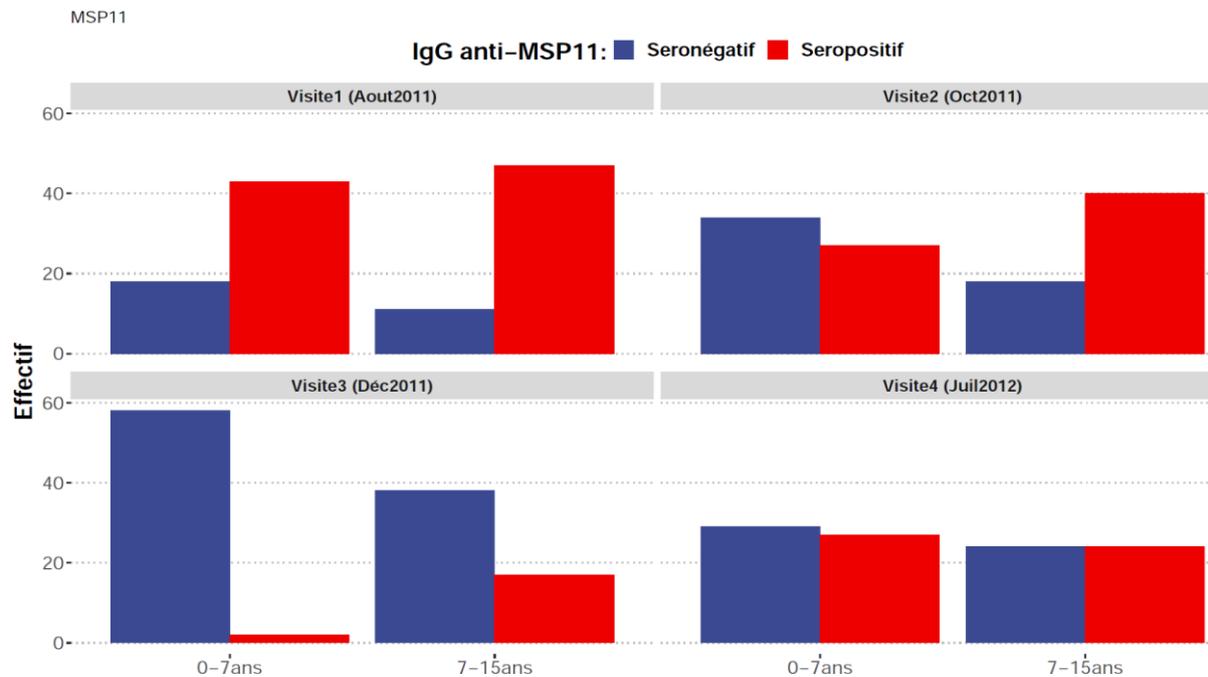


Figure 14 : Fréquence du portage des IgG anti-MSP-11 en fonction des groupes d'âge et de la visite. Le diagramme en bleu représente les enfants non porteurs des IgG anti-MSP-11 et celui en rouge représente ceux porteurs des IgG.

A la visite du mois d'Août, la moyenne des taux d'IgG anti-MSP-11 était significativement plus élevée chez les grands enfants que chez les plus petits ($p=0,019$). En octobre cette différence était encore plus marquée ($p=0,005$). En décembre la différence entre les grands enfants et ceux plus petits était toujours significative mais les moyennes étaient plus basses. Par contre en juillet les moyennes entre les groupes d'enfants étaient comparables ($p=0,14$) (figure 15).

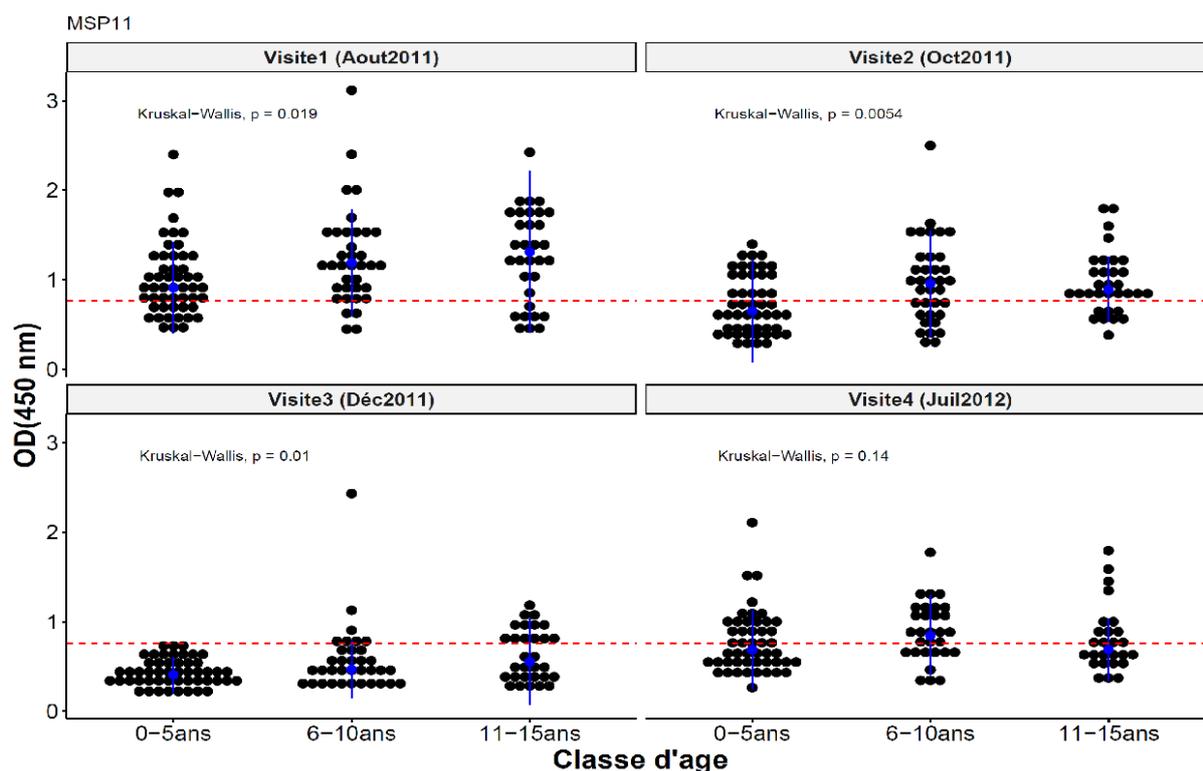


Figure 15 : Comparaison des taux moyens d'IgG anti-MSP-11 selon les visites et les groupes d'âge. Cette figure représente la magnitude des réponses sérologiques en fonction de la visite et de l'âge. Le trait en pointillé rouge représente le seuil de séropositivité.

5.4. Réponses anticorps et protection contre la survenue des accès cliniques du paludisme

Les enfants de 0 à 7 ans présentant des réponses anticorps globalement plus faibles et reconnaissant faiblement l'antigène MSP11 que les enfants de 7 à 15 ans, il a été ensuite vérifié si l'âge pouvait être un facteur déterminant de la protection contre le paludisme clinique. Chez les plus petits en début de transmission la différence est significative entre ceux qui ont le paludisme et ceux qui ne l'ont pas, ceci a tendance à disparaître avec le temps. Chez les plus grands, il n'y a pas assez de différence (figure 16).

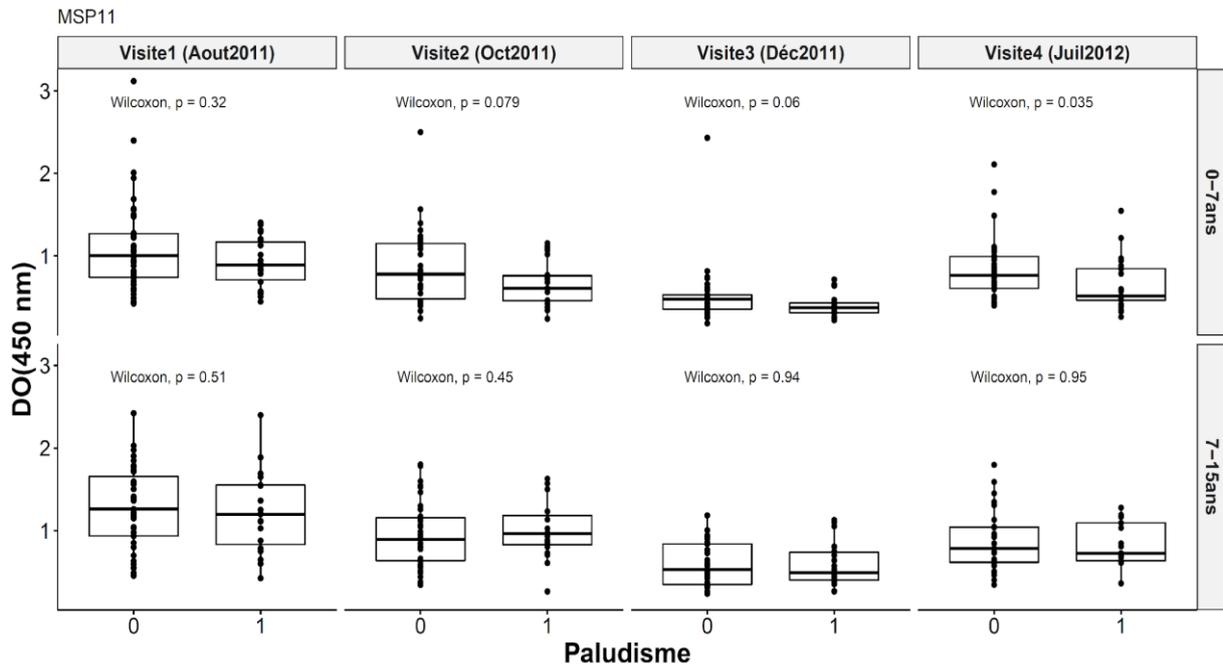


Figure 16 : Réponses sérologiques et protection contre le paludisme. (0) : non-cas de paludisme ; (1) : cas de paludisme.

Tableau III : Niveau d'association des IgG anti-MSP11 avec la protection contre la survenue des épisodes cliniques du paludisme

Anticorps	Risque relatif	IC95%	P-value	Coefficient de corrélation	Ajustement
IgG anti-MSP11	0.84	1.60 - 0.45	0.60	-0.17	Age et lot d'ELISA
IgG anti-MSP11	0.83	1.51 – 0.45	0.54	-0.19	Age
IgG anti-MSP11	0.75	1.38 – 0.41	0.36	-0.28	Lot d'ELISA
IgG anti-MSP11	0.75	1.34 – 0.42	0.33	-0.28	Néant

Selon le tableau, il y a pas d'association entre le portage des anticorps et la survenue des épisodes cliniques. Le risque de faire la maladie est plus élevé chez les non-exposés que chez les exposés. Le coefficient négatif signifie qu'il y a une diminution du risque de portage des anticorps, mais diminution pas statistiquement significative

DISCUSSION

6 DISCUSSION

6.1 Méthodologique

Cette étude visait à analyser la variation saisonnière et les impacts des anticorps anti-MSP-11 sur la protection contre le paludisme. Nous l'avons réalisé uniquement chez les enfants mais il aurait été intéressant d'explorer le même phénomène chez les adultes qui sont naturellement plus résistants au paludisme. Aussi la taille de notre échantillon était relativement faible.

Nous avons effectué une étude de cohorte qui était appropriée pour atteindre notre objectif. La cohorte était composée de 119 enfants de 0 à 15 ans vivant à Samako, au Mali. Ce site est situé dans une zone hyper-endémique avec une forte transmission saisonnière allant de Juin à Décembre. La réalisation de l'étude a été rendue possible par l'obtention de la permission communautaire et cela a permis leur adhésion à notre méthodologie de travail et aux objectifs de l'étude. La technique ELISA indirect a été utilisée pour doser les anticorps spécifiques de l'antigène. En effet, cette méthode a été standardisée dans le cadre du projet « Afro-Immuno Assay » sponsorisé par AMANET (70). Elle a été utilisée par huit institutions de recherche africaines et un même panel de réactifs a été fourni. L'utilisation d'une méthode standardisée par plusieurs laboratoires avait pour but de permettre une comparaison des résultats. MSP-11 est un antigène peu étudié ce qui fait qu'il y a peu de données sur la réponse immunitaire contre cet antigène. Nous avons utilisé la version 3D7 de cet antigène sous forme de protéine entière recombinante exprimée dans un système d'expression de cellules de mammifère (71).

6.2 Caractéristiques des participants

Les participants à l'étude ayant fait au moins une infection palustre et ceux asymptomatiques présentaient des caractéristiques semblables notamment au niveau du portage de *P. falciparum*. Nous avons trouvé que l'âge moyen était 6 ± 7 ans pour les cas d'accès palustres et $7,5\pm 7$ pour les asymptomatiques. Ceci indique que les deux groupes d'enfants étaient comparables à l'inclusion. Cette situation permet d'observer un effet des anticorps anti-MSP-11 sur la protection contre le paludisme clinique en comparant la moyenne des taux d'IgG anti-MSP-11. Le sexe ratio était de 1,29 chez les asymptomatiques alors qu'il était de 0,95 chez les enfants ayant fait des accès palustres. Ceci n'est pas significatif car le sexe n'influence pas la capacité à produire des anticorps contre les antigènes. En effet aucune étude n'a à ce jour démontré que les taux d'anticorps contre MSP-11 sont influencés par le sexe.

6.3 IgG anti-MSP-11, âge et saisonnalité

Les taux d'IgG anti-MSP-11 augmentaient progressivement de juillet à août pour diminuer significativement en décembre (figure 12). Cette évolution du taux d'IgG anti-MSP-

Il n'a pas été décrite chez les enfants. La variation saisonnière des réponses des anticorps IgG aux antigènes du parasite du paludisme a déjà été évaluée dans les contextes d'endémie, ou les réponses étaient influencées par les saisons (72). Dans notre étude actuelle, la même tendance a été observée avec le taux d'anticorps contre l'antigène MSP-11, suggérant que l'acquisition de l'immunité contre le paludisme dépend de l'intensité de la transmission du paludisme et que certains des enfants avaient développé un niveau d'immunité contre le paludisme symptomatique avant le pic de transmission.

Il y avait beaucoup plus de séropositifs en IgG anti-MSP-11 au mois d'août comparé aux mois d'octobre et de décembre. Il apparaît que les enfants produisaient les IgG anti-MSP-11 en pleine saison de pluie qu'en fin et début de saison de pluies. Ceci semble indiquer que les IgG anti-MSP-11 sont dépendants de l'exposition à l'infection par *P. falciparum*. Ceci montre aussi que la cinétique de disparition des IgG anti-MSP11 est rapide sans la présence d'un niveau élevé d'exposition à l'infection palustre. Les moyennes des taux d'IgG étaient plus élevées chez les enfants de 7 à 15 ans comparés aux enfants de 0 à 7 ans. Comme le montre cette étude, des études récentes avec des antigènes du stade sanguin menées dans des régions endémiques ont rapporté une augmentation des taux d'anticorps anti-IgG avec l'âge (73). Ceci est cohérent avec l'hypothèse selon laquelle l'immunité contre le paludisme est en grande partie développée lors d'une exposition à long terme aux parasites du paludisme. L'augmentation des taux d'IgG avec l'âge peut refléter une exposition cumulative plus élevée des enfants plus âgés aux parasites du paludisme, mais peut également être due à des enfants plus âgés ayant un système immunitaire acquis plus développé (73). En général, les taux d'IgG contre des antigènes qui sont associés avec la protection contre le paludisme sont positivement corrélés avec l'âge. Sur la base de ce constat, nos résultats montrent que l'antigène MSP11 doit faire l'objet d'études plus poussées dans le but d'identifier des candidats vaccins.

Les anticorps dirigés contre les antigènes de surface de globules rouges infectés constituent un composant important de réponse immunitaire contre les parasites du paludisme au stade érythrocytaire. Des études antérieures ont démontré clairement que le transfert passif des anticorps provenant des adultes vivant en zones endémiques peut réduire la morbidité et la densité parasitaire chez les patients atteints de paludisme (12). La protection contre le paludisme à *P. falciparum* est graduellement acquise après des infections répétées et elle dépend largement de l'intensité de l'exposition au *Plasmodium* (74). La gravité et la fréquence des épisodes palustres diminuent avec l'âge dans les zones de transmission élevée.

Néanmoins les parasites sont souvent détectés dans le sang de porteurs asymptomatiques et la prévalence de parasite est largement utilisée comme une mesure du niveau de transmission (12). Les mécanismes par lesquels l'immunité protectrice contre le paludisme est acquise et maintenue ne sont pas encore complètement élucidés (75).

L'évaluation de la prévalence de *P. falciparum* a révélé que certains enfants présentaient des affections asymptomatiques avant la saison de transmission maximale, ce qui confirme une précédente observation que les parasites du paludisme sont fréquents avant la saison de transmission (76). Il a été suggéré que l'hébergement des parasites avant la saison de transmission protège et prévient le paludisme symptomatique pendant le pic de transmission (77), car la parasitémie asymptomatique stimule le système immunitaire avant toute nouvelle infection. L'immunité naturellement acquise contre le paludisme est généralement spécifique des souches de *P. falciparum*. L'accumulation précédentes des expositions a plusieurs souches permet d'obtenir une immunité efficace contre la maladie durant la saison de haute transmission. A cet effet, la protection contre le paludisme dirigée contre les antigènes parasitaires au cours d'une saison reflète la diversité au sein des épitopes auxquels les individus ont été antérieurement exposés. Cet aspect de la diversité génétique des parasites n'a pas été analysé dans cette étude qui a uniquement utilisé l'allèle 3D7 du gène *mSP11* dont la prévalence réelle dans la population parasitaire circulante de Samako n'est pas connue.

Il a été prédit que l'immunité acquise naturellement contre le paludisme est un processus graduel qui serait induit par les formes asexuées du parasite et serait plus efficace contre un nombre croissant de clones (78). Nos données ont montré que la prévalence de l'infection était élevée pendant la saison de haute transmission.

Les résultats obtenus indiquent que les enfants de 0 à 7 ans étaient majoritairement atteints du paludisme. En zone d'endémie palustre, la mise en place de l'immunité labile se fait avec l'âge c'est-à-dire que les plus jeunes sont moins bien protégés que les adolescents ou les adultes (79). Ces plus jeunes enfants acquièrent cette immunité au cours des différents épisodes palustres (80). Dans cette étude, des enfants âgés de 0 à 15 ans ont été inclus. Une diminution du risque de paludisme clinique et une augmentation des réponses anticorps avec l'âge sont fréquemment rapportés.

6.4 IgG anti-MSP-11 et protection contre le paludisme

De nombreuses études ont démontré que l'acquisition d'anticorps contre les antigènes mérozoïtes de *P. falciparum* est en association avec l'exposition au paludisme, et certains ont

été associés à une immunité protectrice dans des études longitudinales (81). L'un des critères utilisés pour évaluer objectivement les antigènes mérozoïtes en tant que cibles de l'immunité protectrice est la démonstration d'associations protectrices entre les anticorps et le risque ultérieur de paludisme dans des études longitudinales (82). Bien que les associations avec la protection contre le paludisme puissent varier d'une étude à l'autre et être influencées par de multiples facteurs, une revue systémique a démontré, que dans l'ensemble, les anticorps dirigés contre plusieurs antigènes importants des mérozoïtes étaient associés à une immunité protectrice (82). Des études antérieures menées en Afrique sub-saharienne utilisant des sérums humains de personnes vivant dans des zones d'endémie palustre ont trouvé des preuves d'une association entre les niveaux d'IgG totales anti-MSP-11 et une réduction du risque ultérieur de paludisme clinique (83, 84). Ici, les taux d'IgG spécifiques étaient globalement faibles chez les enfants. La différence entre les moyennes de ces taux d'IgG entre les deux groupes d'enfants n'était pas significative. Nous avons constaté qu'il n'existe pas d'association statistiquement significative entre les anticorps IgG totaux et un risque plus faible de paludisme clinique dans la majorité de la population d'étude. Nous avons observé que les IgG contre MSP-11 n'étaient pas significativement corrélées à un risque réduit de paludisme clinique. Des études antérieures menées dans le même domaine ont montré que MSP-11 est immunogène chez l'homme et que les anticorps anti-MSP-11 peuvent contribuer, au moins en partie, à l'immunité protectrice naturellement acquise (14). Dans l'infection naturelle à *P. falciparum*, la MSP-11 est une cible des anticorps protecteurs chez les résidents des zones hyper-endémiques.

Dans cette étude, nous avons montré que les réponses anticorps contre MSP-11 n'étaient pas significativement associées à une incidence clinique réduite du paludisme. En effet, il est important de souligner que notre étude présentait des limites qui peuvent influencer la mesure de l'association avec la protection à savoir entre autres : i) la taille de l'échantillon qui était faible, ii) l'utilisation d'une seule variante de la protéine MSP-11, iii) l'absence de données sur la mesure de l'exposition aux piqûres infestantes des moustiques, iv) le manque de données sur la diversité génétique des parasites retrouvés chez les sujets infectés. Actuellement, il n'a pas été introduit dans des formulations de vaccins antipaludiques pour les essais cliniques chez l'homme. Cet antigène n'offre pas assez de perspectives pour un vaccin car les données épidémiologiques et de laboratoire suggèrent que les réponses immunitaires ciblant cet antigène ne sont pas associées à un risque réduit de paludisme clinique dans de nombreux domaines avec différentes endémicités du paludisme. Ici, nous avons dosé les IgG

totaux et ceux-ci n'étaient pas associés à une protection cependant, nous pensons qu'il peut y avoir une protection avec les sous classes d'IgG (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4), notamment ceux qui sont cytophiles (IgG1 et IgG3). Par ailleurs, une étude menée en Tanzanie a montré que MSP-3, un paralogue de MSP-11 était sûr, bien toléré et immunogène chez les enfants de 12 à 24 mois vivant dans une communauté d'endémie palustre (85). Des études sur des populations exposées montrent que la MSP-3 induit des réponses anticorps qui sont fortement associées à une protection clinique contre la maladie (86).

CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

7 CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

7.1 Conclusion

Sur la base des données présentes dans cette étude, nous concluons que les IgG anti-MSP11 varient avec les saisons et sont relativement peu protecteurs. L'antigène MSP-11 induit des réponses anticorps, qui ne sont pas significativement associées à une protection contre le paludisme clinique après avoir analysé une centaine d'individus. Nous pensons que cet antigène nécessite une évaluation plus approfondie.

7.2 Recommandations

Nos résultats permettent les recommandations suivantes :

- Aux chercheurs :
 - De reproduire cette étude dans une autre zone d'endémie palustre tout en augmentant la taille de l'échantillon en mesurant les sous classes d'IgG (IgG1, IgG2, IgG3 et IgG4), et leur fonctions et en tenant compte de la diversité de l'antigène MSP-11 ;
 - D'explorer les réponses anticorps contre plusieurs antigènes combinés.
- Aux populations et aux autorités sanitaires de soutenir la lutte contre le paludisme à travers la recherche vaccinale car l'acquisition d'une immunité protectrice contre les accès cliniques est naturellement possible.

REFERENCES

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1 Escalante AA, Pacheco MA. Malaria Molecular Epidemiology: An Evolutionary Genetics Perspective. *Microbiol Spectr.* 2019 ; **7**(4)
- 2 González-Cerón L, Manzano-Agugliaro F, Mesa-Valle C. *Plasmodium* genomics : an approach for learning about and ending human malaria. *Parasitol Res.* 2019 ; **118**(1) :1-27.
- 3 Mbacham WF, Ayong L, Guewo-Fokeng M, Makoge V. Current Situation of Malaria in Africa. *Methods Mol Biol.* 2019 ; **20**(13) : 29-44.
- 4 *World malaria report*, 2020.
- 5 Chauvet M, Tétard M, Cottrell G, Aussenac F, Brossier E, Denoyel L, Hanny M, Lohezic M, Milet J, Ndam NT, Pineau D, Roman J, Luty A JF, Gamain B, Migot-Nabias F, Merckx A. Impact of Hemoglobin S Trait on Cell Surface Antibody Recognition of *Plasmodium falciparum*-Infected Erythrocytes in Pregnancy-Associated Malaria. *Open Forum Infect Dis.* 2019 ; **6**(4) : 156.
- 6 CPS/SS DSPF, INSTAT/MPTP, and ICF, Enquête Démographique et de Santé au Mali 2012-2013, 2014.
- 7 U. P. B. Foi, Annuaire Statistique 2018 du Système Local d'Information Sanitaire. 2018.
- 8 JSTM "PNLP : Objectif zéro paludisme au Mali à l'horizon 2030" Publié le 23 juillet 2019.
- 9 Collins KA, Snaith R, Cottingham MG, Gilbert SC et Hill AVS. Renforcer l'immunité protectrice contre le paludisme avec un vaccin à particules de type virus hautement immunogène. *Rapports scientifiques* 7. 2017.
- 10 Beeson JG, Drew DR, Boyle MJ, Feng G, Fowkes F JI, Richards JS. Merozoite surface proteins in red blood cell invasion, immunity and vaccines against malaria. *FEMS microbiology reviews.* 2016 ; **40**(3) : 343-72.
- 11 Arora N, Anbalagan LC, Pannu AK. Towards Eradication of Malaria : Is the WHO's RTS, S/AS01 Vaccination Effective Enough? *Risk Manag Healthc Policy.* 2021 ; **14** : 1033-1039.
- 12 Cohen S, McGregor IA et Carrington S. Gamma-globuline et immunité acquise contre le paludisme humain. *Nature.* 1961 ; **192** : 733-7.
- 13 Obando-Martinez AZ, Curtidor H, Vanegas M, Arevalo-Pinzon G, Patarroyo MA and Patarroyo ME. Conserved regions from *Plasmodium falciparum* MSP11 specifically

- interact with host cells and have a potential role during merozoite invasion of red blood cells. *Journal of cellular biochemistry* ; 2010. **110**(4) : 882-892.
- 14 Tohmoto T, Takashima E, Takeo S, Morita M, Nagoaka H, Udomsangpetch R, Sattabongkot J, Ishino T, Torii M et Tsubi T. Anti-MSP11 IgG inhibits *Plasmodium falciparum* merozoite invasion into erythrocytes in vitro. *Parasitology international*. 2019. **69** : 25-29.
- 15 Staudt EA. Un Vaccin contre le Paludisme : obstacles, espoirs et avancées. 2009. Thèse de doctorat. UHP-Université Henri Poincaré.
- 16 Bannister LH, Hopkins JM, Fowler RE, Krishna S & Mitchell GH. Un bref guide illustré de l'ultrastructure des stades sanguins asexués de *Plasmodium falciparum*. *La parasitologie aujourd'hui*. 2000. **16**(10) : 427-433.
- 17 Baaklini S. Compréhension de la résistance humaine au paludisme : des études génétiques aux approches fonctionnelles. *Diss. Aix-Marseille*. 2017.
- 18 Basu M, Maji AK, Chakraborty A, Banerjee R, Mullick S, Saha P, Das S, Kanjilal SD et Sengupta S. Genetic association of Toll-like-receptor 4 and tumor necrosis factor- α polymorphisms with *Plasmodium falciparum* blood infection levels. *Infection, Genetics and Evolution*. 2010 ; **10**(5) : 686-696.
- 19 Li X, Chen H, Oo TH, Daly TM, Bergman LW, Liu SC, Chishti AH, Oh SS. A co-ligand complex anchors *Plasmodium falciparum* merozoites to the erythrocyte invasion receptor band 3. *Journal of Biological Chemistry*. 2004 ; **279**(7) : 5765-71.
- 20 Aniwah Y, Gao X, Gunalan K et Preiser PR. Les anticorps monoclonaux spécifiques de PfRH 2b inhibent l'invasion des mérozoïtes. *Microbiologie moléculaire*. 2016 ; **102**(3) : 386-404.
- 21 Diaz SA, Martin SR, Howell SA, Grainger M, Moon RW, Green JL et Holden AA. The binding of *Plasmodium falciparum* adhesins and erythrocyte invasion proteins to aldolase is enhanced by phosphorylation. *PloS one*. 2016.
- 22 Dawn A, Singh S, Plus KR, Siddiqui FA, Pachikara N, Ramdani G, Langsley G et Chitnis CE. The central role of cAMP in regulating *Plasmodium falciparum* merozoite invasion of human erythrocytes. *PLoS pathogens*. 2014.
- 23 Weiss GE, Gilson PR, Taechalertpaisarn T, Tham WH, de Jong NW, Harvey KL & Crabb BS. Révéler la séquence et la morphologie cellulaire résultante des interactions récepteur-ligand lors de l'invasion des érythrocytes par *Plasmodium falciparum*. 2015

- 24 Wassmer S, Cianciolo G, Combes V et Grau G. LMP-420, une nouvelle approche thérapeutique pour le paludisme cérébral ? *M/S : médecine sciences* ; 2006. **22**(4) : 343-345.
- 25 Benaissi M. Paludisme et grossesse Revue de la littérature. 2009. Thèse de doctorat.
- 26 Morio F, Simon C, Basset D, Botterel F, Delaunay P, Guiguen C, Kauffmann-Lacroix C, Lachaud L, Pays J, Pihet M et Chabasse D. ANOFEL, un outil d'icnographie en Parasitologie et Mycologie. *Journal de Mycologie Médicale*. 2016. **26**(2) : 13.
- 27 Diarra FB. "Prise en charge du paludisme chez les enfants de moins de 5 ans au centre de santé de référence de la Commune I du District de Bamako (Mali) en 2016, connaissance et attitude des parents sur la prévention." 2018. Thèse de doctorat.
- 28 EL ASSILI H. Recrudescence du plasmodium ovale dans le paludisme d'importation de l'Afrique. 2019. Thèse de doctorat.
- 29 Roussel-Dupre A. Rôle du microbiote intestinal sur le risque palustre et mise en perspective de thérapies antipaludiques innovantes. 2019.
- 30 Debord T, Imbert P, Saissy JM et Roué R. Conduite pratique du traitement antiparasitaire d'une forme grave de paludisme à *Plasmodium falciparum*. *Médecine et Maladies infectieuses*. 1999 ; **29** : 356-371.
- 31 Guide national de diagnostic biologique du paludisme, Plan Stratégique National du PNLP 2016-2030.
- 32 Rogeaux O. Le paludisme en 2019. *20es Journées Nationales d'Infectiologie*. Lyon du 5 au 7 juin 2019.
- 33 Yao SS. Réponses des anticorps anti-plasmodiaux dirigées contre un panel d'antigènes et leur effet à l'issue du traitement contre le paludisme simple en Côte d'Ivoire. 2018. Thèse de doctorat.
- 34 Nassur-Eddine S. Les schémas prophylactiques du paludisme aux pays subsahariens. 2008. Thèse de doctorat.
- 35 Mouchet J. Biodiversité du paludisme dans le monde. John Libbey Eurotext, 2004.
- 36 Saïdou H. Pauvreté, paludisme et réformes des systèmes de santé en Afrique : trois études appliquées au Cameroun. *Diss. PSL Research University*. 2018.
- 37 Schantz-dunn J et Nour NM. Malaria and pregnancy: a global health perspective. *Reviews in obstetrics and gynecology*. 2009. **2**(3) : 186.
- 38 Parasitologie-Mycologie, Anofel. "Association française des enseignants de Parasitologie." 2014.

- 39 Carole E. Diagnostic du paludisme. Focus numéro 22. *Biomnis Paris*.
- 40 Lesprit P. Prévention du paludisme. *Médecine thérapeutique*. 2002 ; **8**(3) : 108-14.
- 41 Corne P et Jonquet O. Paludisme grave d'importation chez l'adulte : diagnostic et traitement. *Antibiotiques*, 2004 ; **6**(4) : 229-235.
- 42 Livion M. Guide des principales maladies parasitaires transmises par les animaux non humains aux humains - le paludisme. Université des Sciences Agricoles et de Médecine Vétérinaire "Ion Ionescu de la Brad" (USAMV), Iasi (Roumanie) ; 2016.
- 43 World Health Organization. Malaria vaccine: WHO position paper, January 2016 - Recommendations. *Vaccine*. 2018 ; **36**(25) : 3576-3577
- 44 Low LM, Ssemaganda A, Liu XQ, Ho MF, Ozberk V, Fink J, Sundac L, Alcorn K, Morrison A, O'Callaghan K, Gerrard J, Stanistic DI, Bonne MF et al. Controlled Infection Immunization Using Delayed Death Drug Treatment Elicits Protective Immune Responses to Blood-Stage Malaria Parasites. *Infection and immunity*. 2018 ; **87**(1) : 587-18.
- 45 Doolan DL, Dobaño C et Baird JK. Immunité acquise contre le paludisme. *Revue de microbiologie clinique*. 2009 ; **22**(1) : 13-36.
- 46 Cowman AF, Healer J, Marapana D, Marsh K. Malaria : Biology and Disease. *Cell*. 2016 ; **167**(3) : 610-624.
- 47 Do Rosário APF, Lamb T, Spence P, Stephens R, Lang A, Roers A, Muller W, O'Garra A et Langhorne J. IL-27 promotes IL-10 production by effector Th1 CD4+ T cells: A critical mechanism for protection from severe immunopathology during malaria infection. *The Journal of Immunology*. 2012 ; **188**(3) : 1178-1190.
- 48 Frevert U, Nacer A, Cabrera M, Movila A et Leberl M. Imaging *Plasmodium* immunobiology in the liver, brain, and lung. *Parasitology international*. 2014 ; **63**(1) : 171-186.
- 49 Good MF and Doolan DL. Immune effector mechanisms in malaria. *Current opinion in immunology*. 1999 ; **11**(4) : 412-419.
- 50 Kurup SP, Butler NS et Harty JT. T cell-mediated immunity to malaria. *Nature reviews. Immunology*. 2019 ; **19**(7) : 457-471.
- 51 Von der Weid T, Honarvar N, Langhorne J. Gene-targeted mice lacking B cells are unable to eliminate a blood stage malaria infection. *The Journal of Immunology*. 1996 ; **156**(7) : 2510-6.

- 52 Schofield L, Villaquiran J, Ferreira A, Schellekens H, Nussenzweig RS et Nussenzweig V. γ Interferon, CD8+ T cells and antibodies required for immunity to malaria sporozoites. *Nature* 1987 ; **330**(6149) : 664-666.
- 53 Romero P, Maryanski JL, Corradin G, Nussenzweig RS, Nussenzweig V and Zavala F. Cloned cytotoxic T cells recognize an epitope in the circumsporozoite protein and protect against malaria. *Nature* 1989 ; **341**(6240) : 323-326.
- 54 Dacheux M. Etude in vivo du rôle potentiel de la phospholipase A2 de groupe IIA humaine dans le paludisme : Caractérisation de la physiopathologie de l'infection à *Plasmodium chabaudi* chez la souris C57BL/6 transgénique pour l'enzyme. *Diss. Museum national d'histoire naturelle-MNHN PARIS*. 2018.
- 55 Torre D, Speranza F, Giola M, Matteoli A, Tambini R et Biondi G. Role of Th1 and Th2 cytokines in immune response to uncomplicated *Plasmodium falciparum* malaria. *Clinical and diagnostic laboratory immunology*. 2002 ; **9**(2) : 348-351.
- 56 Coelho CH, Doritchamou JYA, Zaidi I and Duffy PE. Advances in malaria vaccine development: report from the 2017 malaria vaccine symposium. *NPJ vaccine*. 2017.
- 57 Ademolue TW and Awandare GA. Evaluating antidisease immunity to malaria and implications for vaccine design. *Immunology*. 2018 ; **153**(4) : 423-434.
- 58 Hill DL, Erickson EM, Suen CSNLW, Chiu CY, Ryg-Cornejo V, Robinson LJ, Siba PM, Mueller I, Hansen DS and Scholfield L. Opsonizing antibodies to *P. falciparum* merozoites associated with immunity to clinical malaria. *PloS one*. 2013 ; **8**(9) : e74627.
- 59 Vidarsson G, Dekkers G and Rispens T. IgG subclasses and allotypes : from structure to effector functions. *Frontiers in immunology*. 2014.
- 60 Stanicic DI, Richards JS, McCallum FJ, Michon P, King CL, Schoepflin S, Gilson PR, Murphy VJ, Anders RF and Mueller I. Immunoglobulin G subclass-specific responses against *Plasmodium falciparum* merozoite antigens are associated with control of parasitemia and protection from symptomatic illness. *Infection and immunity*. 2009 ; **77**(3): 1165-1174.
- 61 Stevenson, M., Riley, E. Innate immunity to malaria. *Nat Rev Immunol* 4. 2004 ; 169–180.
- 62 Vandoolaeghe P and Schuerman L. The RTS, S/AS01 malaria vaccine in children aged 5-17 months at first vaccination. *The Pan African medical journal*. 2018 ; **30** : 142-142.

- 63 Ogobara K, Doumbo, Karamoko Niaré, Sara A. Healy, Issaka Sagara and Patrick E. Duffy. Malaria Transmission-Blocking Vaccines : Present Status and Future Perspectives, Towards Malaria Elimination - A Leap Forward, Sylvie Manguin and Vas Dev, *IntechOpen*. 2018.
- 64 Rogier, C. Le défi de la vaccination antiparasitaire sous les tropiques. *Médecine tropicale*. 2007 ; **67**(4) : 328.
- 65 Dattoo MS, Natama MH, Somé A, Traoré O, Rouamba T, Bellamy D, Yameogo P, Valia D, Tegneri M, Ouedraogo F, Soma R, Sawadogo S, Sorgho F, Derra K, Rouamba E, Orindi B, Ramos Lopez F, Flaxman A, Cappuccini F, Kailath R, Elias S, Mukhopadhyay E, Noe A, Cairns M, Lawrie A, Roberts R, Valéa I, Sorgho H, Williams N, Glenn G, Fries L, Reimer J, Ewer KJ, Shaligram U, Hill AVS, Tinto H. Efficacy of a low-dose candidate malaria vaccine, R21 in adjuvant Matrix-M, with seasonal administration to children in Burkina Faso: a randomised controlled trial. *Lancet*. 2021 ; **397**(10287) : 1809-1818.
- 66 Kieny MP. Vaccins contre le paludisme : état d'avancement. *Médecine tropicale*. 2003 ; **63**(3) : 245.
- 67 Doumbo OK, Niare K, Healy SA, Sagara I and Duffy PE. Malaria transmission-blocking vaccines : present status and futures perspectives. Towards Malaria Elimination-A Leap Forward, 2018.
- 68 Mills KE, Pearce JA, Crabb BS, Cowman AF. Truncation of merozoite surface protein 3 disrupts its trafficking and that of acidic-basic repeat protein to the surface of *Plasmodium falciparum* merozoites. *Molecular Microbiology*. 2002. **43**(6) :1401-11.
- 69 Douyon AR. Analyse de la réponse anticorps naturelle contre trois antigènes de *Plasmodium falciparum* et protection contre les accès palustres chez les enfants de 1 à 5 ans vivant à Bandiagara ; Mali. 2013.
- 70 Dodoo D. The Afro-immuno assay multi-centre network project and capacity building for malaria vaccine development in Africa. *Tropical Medicine & International Health*. 2010 ; **15**(8).
- 71 Douglas AD, Williams AR., Illingworth JJ, Kamuyu G, Biswas S, Goodman AL, Wyllie DH, Crosnier C, Miura K, Wright GJ, Long CA, Osier FH, Marsh K, Turner AV, Hill AVS and Draper SJ. The blood-stage malaria antigen PfRH5 is susceptible to vaccine-inducible cross-strain neutralizing antibodies. *Nature communications*. 2011. **2**(1) : 1-9.

- 72 O'Meara WP, Mwangi TW, Williams TN, McKenzie FE, Snow RW et Marsh K. Relationship between exposure, clinical malaria, and age in an area of changing transmission intensity. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 2008 ; **79**(2) : 185-191.
- 73 Daou M, Kouriba B, Ouédraogo N, Diarra I, Arama C, Keita Y, Sissoko S, Ouologuem B, Arama S, Bousema T, Doumbo OK, Sauerwein RW et Scholzen A. Protection of Malian children from clinical malaria is associated with recognition of multiple antigens. *Malaria journal*. 2015 ; **14**(1) : 1-14.
- 74 Smith DL, Guerra CA, Snow RW and Hay SI. Standardizing estimates of the *Plasmodium falciparum* parasite rate. *Malaria journal*. 2007 **6**(1) : 1-10.
- 75 Langhorne J, Ndungu FM, Sponaas AM et Marsh K. Immunity to malaria : more questions than answers. *Nature immunology*. 2008 ; **9**(7) : 725-732.
- 76 Males S, Gaye O et Garcia A. Long-term asymptomatic carriage of *Plasmodium falciparum* protects from malaria attacks : a prospective study among Senegalese children. *Clinical infectious diseases*, 2008 ; **46**(4) : 516-522.
- 77 Ofori MF, Doodoo D, Staalsoe T, Kurtzhal JA, Koram K, Theander TG, Akanmori BD et Hviid, L. Malaria-induced acquisition of antibodies to *Plasmodium falciparum* variant surface antigens. *Infection and immunity*. 2002 ; **70**(6) : 2982-2988.
- 78 Pinkevych M, Petravic J, Chelimo K, Kazura JW, Moormann AM et Davenport MP. The dynamics of naturally acquired immunity to *Plasmodium falciparum* infection. *PLoS Comput Biol*. 2012 ; **8**(10).
- 79 Grobusch MP and Kremsner PG. Uncomplicated malaria. *Malaria : Drugs, disease and post-genomic biology*. 2005 ; 81-104.
- 80 Gupta S, Snow RW, Donnelly CA, Marsh K and Newbold C. Immunity to non-cerebral severe malaria is acquired after one or two infections. *Nature medicine*. 1999 ; **5**(3) : 340-343.
- 81 Richards JS, Stanistic DI, Fowkes FJ, Tavul L, Dabod E, Thompson JK, Kumar S, Chitnis CE, Narum DL, Michon P, Siba PM, Cowman AF, Muller I et Beeson JG. Association entre les anticorps naturellement acquis contre les antigènes de liaison aux érythrocytes de *Plasmodium falciparum* et la protection contre le paludisme et la parasitémie de haute densité. *Maladies infectieuses cliniques*. 2010 ; **51**(8) : 50-60.
- 82 Stanistic DI, Richards JS, McCallum FJ, Michon P, King CL, Schoepflin S, Gilson P, Murphy VJ, Anders RF, Muller I et Beeson JG. Les réponses spécifiques à la sous-

- classe d'immunoglobuline G contre les antigènes mérozoïtes de *Plasmodium falciparum* sont associées au contrôle de la parasitémie et à la protection contre les maladies symptomatiques. *Infection et immunité*. 2009 ; **77** (3) : 1165-1174.
- 83 Osier FH, Mackinnon MJ, Crosnier C, Fegan G, Kamuyu G, Wanaguru M, Ogada E, McDade B, Rayner JC, Wright GJ, Marsh K. New antigens for a multicomponent blood-stage malaria vaccine. *Sci Transl Med*. 2014 ; **6**(247) : 247.
- 84 Doodoo D, Aikins A, Kusi KA, Lamptey H, Remarque E, Milligan P, Bosomprah S, Chilengi R, Osei YD, Akanmori BD, Theisen M. Étude de cohorte de l'association des niveaux d'anticorps à AMA1, MSP1₁₉, MSP3 et GLURP avec la protection contre le paludisme clinique chez les enfants ghanéens. *Malar J* 7, 142. 2008.
- 85 Lusingu JP, Gesase S, Msham S, Francis F, Lemnge M, Seth M, Sembuche S, Rutta A, Minja D, Segeja MD, Bosomprah S, Cousens S, Noor R, Chilengi R, Druilhe P. Satisfactory safety and immunogenicity of MSP3 malaria vaccine candidate in Tanzanian children aged 12-24 months. *Malaria Journal*. 2009 ; **8**(1) : 1-13.
- 86 Polley SD, Tetteh KK, Lloyd JM, Akpogheneta OJ, Greenwood BM., Bojang KA et Conway DJ. *Plasmodium falciparum* merozoite surface protein 3 is a target of allele-specific immunity and alleles are maintained by natural selection. *The Journal of infectious diseases*. 2007 ; **195**(2) : 279-287.

RESUME/ABSTRACT

FICHE SIGNALÉTIQUE

Nom : Diabate

Prénom : Diessira

Nationalité : Malienne

Titre de la thèse : Dynamique des réponses sérologiques contre l'antigène *merozoite surface protein 11* (MSP-11) de *Plasmodium falciparum* chez les enfants de 0 à 15 ans à Samako, Mali.

Année universitaire : 2021-2022

Ville de soutenance : Bamako

Pays d'origine : Mali

Lieu de dépôt : Bibliothèque de la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontostomatologie (FMPOS) de Bamako

Mots clés : MSP-11 ; *Plasmodium falciparum* ; IgM ; IgG ; Sérologie ; Samako

Centre d'intérêt : Immunologie ; Parasitologie ; Vaccinologie.

Résumé

Le paludisme reste un problème majeur dans les pays africains malgré des baisses considérables de la morbidité et de la mortalité grâce à des outils de lutte actuels. Face à cette situation, il est urgent d'accélérer le développement de vaccins efficaces pour atteindre l'élimination du paludisme. Les études de l'immunité naturellement acquise permettent d'identifier des nouvelles cibles vaccinales mais ont été très peu utilisées pour tester la plupart des antigènes de *Plasmodium falciparum*. Dans cette étude, nous utilisons une étude de cohorte pour analyser les variations saisonnières et l'effet des réponses IgG contre la protéine merozoite surface protein 11 (MSP-11), un des antigènes de *P. falciparum* qui ont été insuffisamment étudiés, chez les enfants dans le village de Samako au Mali.

L'âge moyen était de 7 ans et 33.6% des enfants ont au moins fait un accès clinique palustre au cours du suivi. Les taux d'IgG anti-MSP-11 étaient plus élevés chez les enfants de 7 à 15 ans comparés aux plus jeunes sujets. Nous avons observé une variation significative des taux d'anticorps au cours du suivi qui dépendait de l'intensité de la transmission du paludisme. En fin, notre étude qui comprenait seulement 119 enfants n'a pas permis de démontrer une

association des IgG anti-MSP11 avec la protection contre la survenue des cas cliniques du paludisme.

Abstract

Malaria remains unacceptably a major problem in sub-Saharan Africa despite substantial reduction in morbidity and mortality due to current control tools. Regarding this situation, effective vaccines are needed to cost-effectively achieve the malaria elimination agenda. Studies of naturally acquired immunity help identify new targets for vaccine development but have not been extensively conducted to test most of *Plasmodium falciparum* antigens. Here we utilized a cohort study to analyze the seasonal variation and impact of IgG responses against merozoite protein 11 (MSP-11), one of the least studied *P. falciparum* antigens ; in children in Samako, in Mali.

The mean age was 7 years and 33% of children were tested positive for clinical malaria. Anti-MSP11 IgG levels were higher in children aged between 7 and 15 years as compared to their younger counterparts. We found a significant variation of anti-MSP11 IgG responses across seasons which seems to be dependent of malaria transmission intensity. In this study that only included 119 individuals, we could not observe any association between antibody responses and protection against clinical malaria in children 0 to 15 years of age.

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.