

MINISTRE DE L'EDUCATION
NATIONALE 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



ANNEE UNIVERSITAIRE 2019-2020

N°.....

THESE

**ETUDE DES SOUS-POPULATIONS
LYMPHOCYTAIRES DANS LA SUSCEPTIBILITE ET
LA PROTECTION CONTRE LE PALUDISME CHEZ
DEUX GROUPES ETHNIQUES VIVANT EN
SYMPATRIE AU BURKINA FASO.**

Présentée et soutenue publiquement le 10/10/2020 devant
la Faculté de Pharmacie

Par M. Bakary KONE

**Pour obtenir le grade de docteur en Pharmacie
(DIPLÔME D'ETAT)**

JURY

Président :	Pr	Amagana	DOLO
Membres :	Dr	Hama	DIALLO
	Dr	Merepen dite Agnès	GUINDO
Co-directeur :	Dr	Charles	ARAMA
Directeur :	Pr	Bourèma	KOURIBA

LISTE DES ENSEIGNANTS

LISTE DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTE DE PHARMACIE

FACULTE DE PHARMACIE

ANNEE UNIVERSITAIRE 2019-2020

ADMINISTRATION

DOYEN : M. Boubacar TRAORE -Professeur

VICE-DOYEN : M. Sekou BAH - Professeur

SECRETAIRE PRINCIPAL : M. Seydou COULIBALY Administrateur principal

AGENT COMPTABLE : M. Famalé DIONSAN, inspecteur des finances

PROFESSEURS HONORAIRES

M. Boubacar Sidiki	CISSE	Toxicologie
M. Mahamadou	CISSE	Biologie
M. Daouda	DIALLO	Chimie générale & minérale
M. Souleymane	DIALLO	Bactériologie- Virologie
M. Kaourou	DOUCOURE	Physiologie
M. Ousmane	DOUMBIA	Chimie thérapeutique
M. Boukassoum	H Aidara	Législation
M. Moussa	HARAMA	Chimie organique (décédé)
M. Gaoussou	KANOUTE	Chimie analytique
M. Alou A	KEITA	Galénique
M. Mamadou	KONE	Physiologie
M. Mamadou	KOUMARE	Pharmacognosie
M. Brehima	KOUMARE	Bactériologie/Virologie
M. Abdourahamane S.	MAIGA	Parasitologie
M. Elimane	MARIKO	Pharmacologie

DER DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET MEDICALES

1. PROFESSEURS/DIRECTEUR DE RECHERCHE

M. Mounirou	BABY	Hématologie
M. Bakary M.	CISSE	Biochimie
M. Abdoulaye	DABO	Biologie/parasitologie
M. Mahamadou	DIAKITE	Immunologie-Génétique
M. Alassane	DICKO	Santé Publique

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

M. Flabou	BOUGOUDOGO	Bactériologie-Virologie
M. Abdoulaye	DJIMDE	Parasitologie-Mycologie
M. Aldjouma	GUINDO	Hématologie
M. Bourèma	KOURIBA	Immunologie Chef de DER
M. Ousmane	TOURE	Santé Publique/Santé environnement

3. MAITRES ASSISTANTS/CHARGE DE RECHERCHE

M. Mohamed	AG BARAIKA	Bactériologie-virologie
M. Charles	ARAMA	Immunologie
M. Boubacar Tiétiè	BISSAN	Biologie clinique
M. Djibril Mamadou	COULIBALY	Biochimie clinique
M. Seydou Sassou	COULIBALY	Biochimie clinique
M. Antoine	DARA	Biologie Moléculaire
M. Souleymane	DAMA	Parasitologie-Mycologie
Mme Djénéba Koumba	DABITAO	Biologie moléculaire
M. Laurent	DEMBELE	Biotechnologie Microbienne
M. Klétigui Casimir	DEMBELE	Biochimie Clinique
M. Seydina S. A.	DIAKITE	Immunologie
M.Yaya	GOITA	Biochimie clinique
M. Ibrehima	GUINDO	Bactériologie virologie
Mme Aminatou	KONE	Biologie moléculaire
M. Kassoum	KAENTAO	Santé Publique/Bio statistiques
M. Birama Apho	LY	Santé publique
Mme. Dinkorma	OUOLOGUEM	Biologie Cellulaire
M. Issaka	SAGARA	Santé Publique/Bio statistiques
M. Samba Adama	SANGARE	Bactériologie
Mme Fanta	SANGHO	Santé Publique/Santé communautaire

M. Mahamadou Soumana	SISSOKO	Santé Publique/Bio statistiques
----------------------	---------	---------------------------------

4. ASSISTANTS/ATTACHE DE RECHERCHE

Mme Djénéba	COULIBALY	Nutrition/Diététique
M. Issa	DIARRA	Immunologie
M. Mamadou Lamine	DIARRA	Botanique-Biologie végétale
Mme Fatou	DIAWARA	Epidémiologie
Mme Merepen dit Agnes	GUINDO	Immunologie
M. Oumar	GUINDO	Epidémiologie
M. Falaye	KEITA	Santé publique/Santé environnement
Mme.N'Deye Lallah Nina	KOITA	Nutrition
M. yacouba	MAIGA	Bio statistique
M. Amadou Birama	NIANGALY	Parasitologie-Mycologie
M. Oumar	SANGHO	Epidémiologie
M. Djakaridia	TRAORE	Hématologie

DER DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

1. PROFESSEURS/ DIRECTEUR DE RECHERCHE

M. Drissa	DIALLO	Pharmacognosie
M. Saibou	MAIGA	Législation
Mme Rokia	SANOGO	Pharmacognosie Chef de DER

2. MAITRE DE CONFERENCES/ MAITRE DE RECHERCHE

Néant - -

3. MAITRES ASSISTANTS/ CHARGE DE RECHERCHE

M. Loséni	BENGALY	Pharmacie Hospitalière
M. Bakary Moussa	CISSE	Galénique
M. Yaya	COULIBALY	Législation
M. Issa	COULIBALY	Gestion
M. Balla Fatogoma	COULIBALY	Pharmacie hospitalière
M. Hamma Boubacar	MAIGA	Galénique
M. Moussa	SANOGO	Gestion
Mme Adiaratou	TOGOLA	Pharmacognosie

4. ASSISTANTS/ ATTACHE DE RECHERCHE

M. Seydou Lahaye	COULIBALY	Gestion pharmaceutique
M. Antoine	DARA	Sciences pharmaceutiques
M. Daouda Lassine	DEMBELE	Pharmacognosie
M. Adama	DENOU	Pharmacognosie
M. Sekou	DOUMBIA	Pharmacognosie
M. Mahamane	HAIDARA	Pharmacognosie
Mme. Assitan	KALOGA	Législation
M. Ahmed	MAIGA	Législation
Mme. Aichata Ben Adam	MARIKO	Galénique
M. Aboubacar	SANGHO	Législation
M. Bourama	TRAORE	Législation
M. Karim	TRAORE	Sciences pharmaceutiques
M. Sylvestre	TRAORE	Gestion pharmaceutique
Mme. Aminata Tiéba	TRAORE	Pharmacie hospitalière
M. 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

M. Dominique Patomo	ARAMA	Pharmacie chimique
M. Mody	CISSE	Chimie thérapeutique
M. Ousmane	DEMBELE	Chimie thérapeutique
M. Tidiane	DIALLO	Toxicologie
M. Hamadoun Abba	TOURE	Bromatologie

4. ASSISTANTS/ ATTACHE DE RECHERCHE

M. Mahamadou	BALLO	Pharmacologie
M. Dalaye Bernadette	COULIBALY	Chimie analytique
M. Blaise	DACKOUO	Chimie Analytique

Mme. Fatoumata	DAOU	Pharmacologie
M. Ousmane	DEMBELE	Chimie thérapeutique
M. Abdourahamane	DIARA	Toxicologie
M. Aiguerou dit Abdoulaye	GUINDO	Pharmacologie
M. Madani	MARIKO	Chimie Analytique
M. Mohamed El Béchir	NACO	Chimie Analytique
M. Mahamadou	TANDIA	Chimie Analytique
M. Dougoutigui	TANGARA	Chimie Analytique

DER SCIENCES FONDAMENTALES

1. PROFESSEURS / DIRECTEUR DE RECHERCHE

M. Mouctar	DIALLO	Biologie/ Chef de DER
M. Cheik F.	TRAORE	Biologie/Entomologie
M. Mahamadou	TRAORE	Génétique

2. MAITRES DE CONFERENCES/ MAITRE DE RECHERCHE

M. Lassana	DOUMBIA	Chimie appliquée
------------	---------	------------------

3. MAITRES ASSISTANTS/ CHARGE DE RECHERCHE

M. Abdoulaye	KANTE	Anatomie
M. Boureima	KELLY	Physiologie médicale

4. ASSISTANTS/ ATTACHE DE RECHERCHE

M. Seydou Simbo	DIAKITE	Chimie organique
M. Modibo	DIALLO	Génétique
M. Moussa	KONE	Chimie Organique
M. Massiriba	KONE	Biologie Entomologie

CHARGES DE COURS (VACATAIRES)

M. Cheik Oumar	BAGAYOKO	Informatique
M. Babou	BAH	Anatomie
M. Abdourahamane	COULIBALY	Anthropologie médicale
M. Souleymane	COULIBALY	Psychologie
M. Bouba	DIARRA	Bactériologie
M. Modibo	DIARRA	Nutrition
M. Moussa I	DIARRA	Biophysique

Etude des sous-populations lymphocytaires dans la susceptibilité et la protection contre le paludisme chez deux groupes ethniques vivant en sympatrie au Burkina Faso.

M. Babacar	DIOP	Chimie
M. Atimé	DJIMDE	Bromatologie
M. Yaya	KANE	Galénique
M. Boubacar	KANTE	Galénique
M. Aboubacary	MAIGA	Chimie organique
M. Massambou	SACKO	SCMP/SIM
M. Modibo	SANGARE	Anglais
M. Sidi Boula	SISSOKO	Histologie-embryologie
Mme. Fatoumata	SOKONA	Hygiène du milieu
M. Fana	TANGARA	Maths
M. Abdel Kader	TRAORE	Pathologie médicales
Mme. Djénébou	TRAORE	Sémiologie et Pathologie médicale
M. Boubacar	ZIBEÏROU	Physique

DEDICACES ET REMERCIEMENTS

DEDICACES

A ma mère, Alimata BAGAYOKO : Maman merci pour m'avoir donné la vie, merci pour l'amour maternel, merci pour l'éducation, merci pour ton soutien indéfectible depuis que j'ai vu le jour. Je te dédie ce travail tout en priant Dieu de te donner longue vie et en espérant que tes vœux seront comblés.

A mon père, Thiémoko KONE : Papa merci pour l'éducation, depuis que je suis tout petit tu m'as donné tout ce qui est en ta disposition pour que j'étudie dans les bonnes conditions. Tu as toujours eu pour moi les mots justes qui m'ont toujours permis de relever des défis. Je te dédie ce travail tout en priant Dieu de te garder et en espérant que tu seras toujours fier de moi.

A mon tonton, Békaye TRAORE : merci pour tes conseils si précieux qui m'ont toujours permis de corriger mes imperfections. Accepte ce travail comme gage de ma profonde gratitude.

A ma tante Mariam SIDIBE : ma deuxième maman, merci pour ton affection et tes conseils. Je n'ai jamais senti le manque d'affection maternelle même quand ma maman était très loin de moi. Ce travail est également le tien et j'espère que tu en seras fière.

A ma sœur Maimouna KONE et ma cousine Manda Békaye TRAORE : merci pour vos soutiens et votre affection ; Trouvez dans ce travail l'expression de mes sentiments fraternels.

A mes frères Lassana, Ousmane, Fousseni et Seydou KONE : ce travail est également le vôtre ; merci pour le soutien et le rôle joué par chacun de vous pour l'équilibre de notre famille.

A mon tonton, Dr Dramane DEMBELE : Je me souviens que depuis que j'étais tout petit c'est toi qui m'as inspiré à aller à la faculté de pharmacie. Tu m'as une fois dit que je serais un très bon pharmacien si je le voulais bien. Aujourd'hui le rêve devient réalité et cela à la fin de ce cycle tant passionnant que difficile. Ce document est le fruit de ta vision et de tes encouragements.

A ma fiancée Djenebou COULIBALY : chérie merci pour le soutien et les conseils. Les mots me manquent pour te témoigner ma gratitude. Ce document est le tien et j'espère que tu en seras fière.

A mes nièces, Djenebou et Mariam TRAORE : vous me donnez le sourire à chaque fois que je vous vois.

REMERCIEMENTS

Au Dr Henda DOUCOURE : Grande sœur merci de m'avoir aidé à réaliser tous mes techniques de laboratoire.

Pour mon mentor, Dr BA Abdouramane : Mon frère d'une autre mère, merci pour le soutien, merci pour les conseils, et également merci d'avoir été toujours présent quand le besoin se fait sentir pour avoir des explications par rapport à telle ou telle matière. Trouve dans ce travail l'expression de ma profonde gratitude.

Pour mon aîné et collègue Salif YIRAMPO : un homme très cultivé et modeste, merci pour la contribution combien important et généreuse qui m'a permis de produire ce document.

Au Dr Moussa DJIMDE : Expert en data management, Tu m'as aidé à faire toutes mes analyses de données avec des données explicatives. Modeste et joviale tu es une source d'inspiration pour moi.

Au Dr Seydou ARAMA : merci pour les conseils d'orientation à la rédaction de ce document et cela lors de notre passage à Ouagadougou au Burkina Faso. Ta présence a vraiment été pour moi un atout.

Au Dr Alèwè NIANGALY : Un homme passionné de sciences, Tes petites astuces en informatique ont été pour moi d'une aide inestimable. Tes conseils m'ont aidé à garder un œil sur mes objectifs et de me surpasser.

Au Dr Amadou NIANGALY : Grand scientifique ; Je te suis très reconnaissant pour la réalisation des analyses que j'ai aisément menées grâce à votre soutien.

Pour mes tantes : Korotoumou SANGARE, Mariétou Piskas YALCOUYE.

Pour mes tontons : Saïbou KONE, Daouda Moro TRAORE, Baba KONE.

Au Dr KONE Moko N'tafé DEMBELE et à tout le personnel de la pharmacie Espoir.

Au Dr COULIBALY Moussa Almamy, à Bréhima DEMBELE et à tout le personnel de la pharmacie M'Pèwo : mes remerciements pour la considération que chacun de vous porte à ma modeste personne

Pour Seydina Oumar DIAKITE : Amis nous le sommes depuis notre enfance, je suis heureux et fier de t'avoir comme ami fidèle parmi les fidèles.

Pour Simballa FOFANA : mon frère d'une autre mère, camarade de classe depuis la 10^{ème} du lycée plus qu'un ami tu es un frère et cela qu'en classe terminale de la faculté de pharmacie.

Je me souviens de nos petites séries d'exercice traitées chez Cheick Diallo au lycée et la lutte pour la 1^{ère} place en classe entre toi et moi n'était emprunte d'animosité mais d'émulation saine. A la faculté de pharmacie nos rapports se sont renforcés. L'un et l'autre on se relayait pour l'achat des photocopies. Merci d'avoir toujours été présent pour moi.

A mon oncle, Souleymane BAGAYOKO : merci pour tes conseils si précieux.

A la JCI Kati et Universitaire Kati : merci pour l'accompagnement durant ce parcours.

A tout le personnel de la MRTC section DEAP : Merci pour tout.

A tous le Personnel de GRAS et de CERBA du Burkina FASO : Merci pour l'accueil et l'accompagnement tout au long de cette étude.

A tous les membres de la 11^{ème} promotion du numérus clausus section pharmacie (Promotion Feu Moussa Arama) : je suis très fier d'appartenir à cette promotion. Ces années d'étude m'ont donné des expériences inoubliables et constructive.

Au Dr TRAORE Yaya et Dr TOURE Fatoumata : Votre contribution à la relecture de ce document est à saluer.

Si les mots les plus simples expriment les sentiments les plus profonds, je dis tant simple MERCI, à tous ceux qui de près ou loin et souvent de façon anonyme et désintéressé m'ont apporté aide, assistance et encouragement.

HOMMAGES AUX MEMBRES DU JURY

A NOTRE MAITRE ET PRESIDENT DU JURY

Professeur Amagana DOLO

- ✓ Professeur Titulaire de Parasitologie-Mycologie à la Faculté de Pharmacie ;
- ✓ Directeur de l'Ecole Doctorale des Sciences et des Technologies du Mali (EDSTM) ;
- ✓ Coordinateur du DES de biologie clinique ;
- ✓ Enseignant-Chercheur à la Faculté de Pharmacie.

Cher maitre,

- ☞ Vous nous faites un grand honneur en acceptant de présider ce jury de thèse malgré vos multiples occupations.
- ☞ Votre simplicité et votre modestie font de vous un homme admirable.
- ☞ Votre disponibilité, votre rigueur dans le travail et vos qualités d'homme de science, de culture, de chercheur aguerri font de vous un exemple à suivre.
- ☞ Veuillez accepter cher maître, nos sentiments d'estime et de profond respect.

A NOTRE MAITRE ET JUGE

Docteur Hama DIALLO

- ✓ Docteur en Médecine ;
- ✓ Master en Immunologie et Infection ;
- ✓ PhD en Immunologie ;
- ✓ Maitre-Assistant à la Faculté de Médecine et d'Odontostomatologie.

Cher Maître ;

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

A NOTRE MAITRE ET JUGE

Docteur Merepen dite Agnès GUINDO

- ✓ Docteur en Pharmacie ;
- ✓ Master en Parasitologie ;
- ✓ PhD candidate en Immunologie
- ✓ Assistante a la Faculté de Pharmacie.

Cher Maître ;

- ☞ Nous avons été séduits par la spontanéité avec laquelle vous avez accepté de nous guider dans ce travail et par la tolérance que vous avez eue à notre regard.
- ☞ Cela dénote de tout l'intérêt que vous accordez à ce travail.
- ☞ Permettez-nous de vous exprimer notre profonde gratitude et notre profond respect.

A NOTRE MAITRE ET CO-DIRECTEUR DE THESE

Docteur Charles ARAMA

- ✓ **Docteur en Pharmacie ;**
- ✓ **Master en Immunologie ;**
- ✓ **PhD en Immunologie ;**
- ✓ **Maitre-Assistant à la Faculté de Pharmacie ;**
- ✓ **Chercheur à l'unité Moléculaire au MRCT/DEAP.**

Cher Maître,

- ☞ Plus qu'un co-directeur de thèse, vous avez été notre guide, notre éducateur, notre ami. Vous avez codirigé ce travail avec amour et joie sans aucune réserve.
- ☞ Sachez que votre sympathie, votre disponibilité inconditionnelle et votre courtoisie nous ont été très bénéfiques pour mener à bien ce travail.
- ☞ Votre esprit communicatif, votre détermination à faire avancer la science font de vous la vitrine de la nouvelle génération. Nous sommes très fiers d'avoir appris à vos côtés.
- ☞ Recevez par ce travail l'expression de notre admiration et de notre profonde gratitude.

A NOTRE MAITRE ET DIRECTEUR DE THESE

Professeur Bourèma KOURIBA

- ✓ Maître de Conférence Agrégé en Immunologie à la Faculté de Pharmacie ;
- ✓ Chef de l'Unité d'Immunologie Cellulaire et Moléculaire du MRTC/DEAP ;
- ✓ Directeur General du Centre d'Infectiologie Charles MERIEUX (CICM).

Cher Maître,

- ☞ Vous nous faites honneur en acceptant de diriger ce travail.
- ☞ En dehors de votre éloquence et de votre haute culture scientifique, la rigueur, l'abnégation dans le travail, le sens de la responsabilité sont les secrets qui incarnent votre réussite et votre maintien au plus haut niveau, faisant de vous un exemple. Votre philosophie de la vie qui nous enseigne que la persévérance dans le travail est notre raison de vivre et la clé de tout ce qui peut nous apporter le bonheur. Cet enseignement sera notre cheval de bataille.
- ☞ Nous garderons en mémoire tous les conseils et savoirs acquis lors des séances de staff enrichies par votre expérience, votre expertise et votre esprit de pédagogue.
- ☞ Recevez ici cher maître, toute notre gratitude et l'expression de notre plus profond respect.

SOMMAIRE

SOMMAIRE	XVIII
1. INTRODUCTION :	2
2. OBJECTIFS :	6
2.1. Objectif générale :	6
2.2. Objectifs spécifiques :	6
3. GENERALITE :	8
3.1. Définition :	8
3.2. Epidémiologie :	8
3.2.1. Cycle de développement :	9
3.2.2. Transmission du paludisme :	12
3.2.3. Immunité antipalustre :	13
3.2.4. Facteur de protection immunitaire contre le paludisme :	14
3.2.5. Développement de candidat vaccin :	15
3.3. Physiopathologie :	15
3.3.1. Le sang :	15
3.3.2. La rate :	15
3.3.3. Le foie :	16
3.4. Les cellules mononuclées du sang périphérique (PBMC) :	16
3.5. Lymphocytes B :	17
3.5.1. Ontogenèse :	17
3.5.2. Différents stades du développement des lymphocytes B :	18
3.6. Les cytokines :	24
3.6.1. Interleukine 17A :	24
3.6.2. Interféron gamma :	24
3.6.3. Facteurs de nécrose Tumorale :	24

3.6.4. Interleukine 10 :	24
3.6.5. Interleukine 6 :	25
3.6.6. Interleukine 4 :	25
3.6.7. Interleukine 2 :	25
3.6.8. Voie Th1 :	25
3.6.9. Voie Th2 :	25
3.6.10. Voie Th17 :	25
4. MATERIELS ET METHODES :	27
4.1. Site d'étude :	27
4.2. Type et période d'étude :	28
4.2.1. Population d'étude :	28
4.3. Méthodes d'études :	29
4.3.1. Collecte des données sur le terrain :	29
4.3.2. Diagnostic du paludisme :	29
4.3.3. Prélèvement sanguin :	31
4.3.4. Lymphoséparation :	31
4.3.5. Séparation des lymphocytes et des monocytes purs :	32
4.3.6. Immunophénotypages des lymphocytes B :	32
4.3.7. CBA (Cytometric Bead Array) :	33
4.4. Saisie et Analyses des données :	36
4.5. Considérations éthiques :	36
5. RESULTATS :	38
5.1. Résultats globaux :	38
5.2. Résultats immunologiques :	40
6. DISCUSSION :	50

7. CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS :	55
7.1. Conclusion :	55
7.2. Recommandations :	56
8. REFERENCES :	58
9. ANNEXES :	63
La réaction 1	75
La réaction 2	75
La réaction 3	76
La réaction 4	77
La réaction 5	78

LISTE DES TABLEAUX

TABLEAU I: METHODE DE PREPARATION DU COCKTAIL D'ANTICORPS (Ac) MONOCLONAL.....	33
TABLEAU II: LES MARQUEURS DE SURFACE EN FONCTION DES SOUS- POPULATIONS LYMPHOCYTAIRE B.	35
TABLEAU III: CARACTERISTIQUES SOCIO-DEMOGRAPHIQUES DES PEULH ET MOSSI VIVANT EN SYMPATHRIE DE L'ETUDE	38
TABLEAU IV: DONNEE CLINIQUE (TEMPERATURE).	39
TABLEAU V: DONNEES BIOLOGIQUES.	39
TABLEAU VI: UTILISATION DE MOUSTIQUAIRE.....	39
TABLEAU VIII(1/2) : RESULTAT DE LA PCR.	46
TABLEAU IX(2/2) : RESULTAT DE LA PCR.	47

LISTE DES FIGURES

FIGURE 1: CYCLE DE DEVELOPPEMENT DU PALUDISME[12].	11
FIGURE 2: CARTE DU SITE D'ETUDE[5].	27
FIGURE 3: DIFFERENTES ETAPES ABOUTISSANT A LA SELECTION DES LYMPHOCYTES B[43].	34
FIGURE 4: FREQUENCE DES SOUS-POPULATION DE LYMPHOCYTES B.	40
FIGURE 5: FREQUENCE DES LYMPHOCYTES B EXPRIMANT CD11c ET FcRL5 CHEZ LES PEULH ET LES MOSSI.	41
FIGURE 6: FREQUENCE DES LYMPHOCYTES B MEMOIRES ATYPIQUES IgM⁺ (MBC) CHEZ LES PEULH ET LES MOSSI.	42
FIGURE 7: FREQUENCE DES CELLULES B IgM⁺ CHEZ LES PEULH ET LES MOSSI. ..	43
FIGURE 8: LES NIVEAUX D'IgM + MBC ATYPIQUES EN CORRELATION AVEC LES CELLULES B IgM + CD11c EXPRIMANT FcRL5.	44
FIGURE 9: TAUX DE CYTOKINES DANS LES SURNAGEANT DE PLASMA CHEZ LES PEULH ET LES MOSSI.	45
FIGURE 10: RESULTAT DE LA PCR.	48

LISTE DES ABREVIATIONS

IgG : Immunoglobuline de type G
IgM : Immunoglobuline de type M
P.f.: *Plasmodium falciparum*
CD: Marqueur de différentiation
FcRL5 : Protéine 5 de type récepteur Fc
Th : T helper
Th1: Voie Th1
Th2: Voie Th2
Th17 : Voie Th17
OMS : Organisation Mondiale de la Santé
Ac: Anticorps
NK : Cellules tueuses
CP : Chimio prophylaxie
Ig: Immunoglobuline
BCR : Récepteur des Lymphocytes B
IgD : Immunoglobuline de type D
LPS : Lipopolysaccharide
TLR : Récepteur des Lymphocytes T
BAFF : Facteur Activateur des cellules B
CPA : Cellules Présentatrice d'Antigène
CD4 : Marqueur de différenciation 4
CXCR5 : Récepteur de Chimiochine C-X-C de type 5
CXCR7 : Récepteur de Chimiochine C-X-C de type 7
CD154 : Marqueur de différenciation 154
ICOS : Le Signal de Co-stimulation induit par les cellules T
IL-4 : Interleukine 4
IL-21 : Interleukine 21
CD40 : Marqueur de différenciation 40
CD27 : Marqueur de différenciation 27
CD70 : Marqueur de différenciation 70
LZ : Zone Claire
DZ : Zone Foncée
CD138 : Marqueur de différenciation 138
IgA : Immunoglobuline de type A
T-Bet : Facteur de transcription
Hbs : Hemoglobine S
Hbc : Hemoglobine C
G6PD: Glucose-6-phosphate déshydrogénase
VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine
SNPs: Polymorphisme nucléotidique
PCR : Réaction en chaîne de polymérase
ADN : Acide désoxyribonucléique
PBMC : Cellule mononucléée du sang périphérique
CRPMI : Solution nutritif de lavage
FBS : Sérum Fœtal du bovin

DMSO : Diméthylsulfoxyde
RNA : Acide ribonucléique
APC : Allophycocyanine
PerCP: Protéine à péricidine chlorophylle
FITC : Isothiocyanate de fluorescéines
BV421 : Brillant violet 421
PE-TxR : Phycoérythrine Texas rouge
BV510 : Brillant violet 510
PE : Phycoérythrine
MBC : Lymphocytes B mémoire
TNF : Facteur de nécrose tumorale
IFN- γ : Interféron gamma
SD : Ecart-type
ATL : Une solution de lyse tissulaire
AL : Une solution de lyse cellulaire
AW1 : Un tampon de liaison
AW2 : Un tampon de liaison
CLP : Progéniteurs lymphocytaires communs
HSC : Cellules souches hématopoïétique
RAG : Gene activant la recombinaison
SCF : Facteur des cellules souches
SDF : Facteur dérive des cellules stromales

LISTE DES UNITES ET SYMOLES

% : Pourcentage

> : Supérieur

m : Mètre

< : Inférieur

Km : Kilomètre

mm : millimètre

µl : microlitre

rcf : Force centrifuge relative

ml: millilitre

Pg/ml: picogramme par millilitre

±: plus ou moins

g/dl; gramme par décilitre

=: égale

KDa: Kilo Dalton

INTRODUCTION

1. INTRODUCTION :

Le paludisme est une maladie parasitaire qui sévit dans les zones tropicales. Les rapports 2020 de l'organisation mondiale de la santé (OMS) a estimé 219 millions de cas de Paludisme dans le monde et 92% de ce chiffre ont été enregistrés en Afrique. L'issue de cette affection est déterminée par une relation complexe entre l'environnement, le parasite et l'hôte[1].

Les individus vivant en milieux endémiques développent une prémunition au paludisme au cours de leurs croissances. Les récentes études ont montré des différences interindividuelles dans la susceptibilité à cette maladie[2]. De plus, le groupe ethnique peulh en Afrique subsaharienne affiche une faible incidence au paludisme, une faible parasitémie, un titre élevé d'immunoglobuline G (IgG) et d'immunoglobuline M (IgM) antipaludique et une plus forte réponse pro-inflammatoire comparativement aux autres groupes ethniques sympatriques[3].

Les facteurs de l'hôte qui déterminent cette résistance ne sont pas encore bien élucidés. De plus la complexité de la dynamique de l'interaction hôte-parasite pose un défi majeur pour l'identification des biomarqueurs responsables de la protection contre la maladie[4].

Depuis 1996 les premiers rapports de la réponse des Peulh[5] comparativement à d'autres groupes ethniques sympatrique au Burkina Faso, en Extrême-Orient et au Soudan ont signalé de faible taux d'infection à *Plasmodium falciparum* (*P. falciparum*)[6].

Les Peulh ont également moins de cas de drépanocytose qui est l'un des facteurs conférant une susceptibilité réduite au paludisme[7].

Plusieurs études ont été réalisées afin d'examiner l'activité des gènes impliqués dans la réponse immunitaire chez ces peuples infectés naturellement par *P. falciparum*. Ces études ont permis de sélectionner les gènes qui sont allumés ou éteints après une infection palustre et également voir s'il y'avait des gènes impliqués différemment chez les Peulh comparativement aux groupes ethniques sympatriques.

Ces études ont permis de conclure que les Peulh sont nettement moins parasités, moins affectés par la maladie et plus sensibles à tous les antigènes testés[5]. Aucune différence dans l'utilisation des mesures de protection contre le paludisme n'a été démontrée qui pourrait expliquer ces résultats, et des facteurs socioculturels ou environnementaux semblent être impliqués. Les facteurs génétiques connus de résistance au paludisme n'ont pas montré de fréquences plus élevées chez les Peulh.

Les différences de réponse immunitaire ne s'expliquent pas par les observations entomologiques, qui indiquent une exposition sensiblement uniforme aux piqûres infectieuses. Identifier un marqueur de protection pertinent contre le paludisme est un défi majeur à relever pour l'éradication possible de cette maladie. Des études immuno-épidémiologiques ont montré un nouvel éclairage sur l'acquisition d'une prémunition par le biais d'une infection multiple par *Pf* et ont offert une nouvelle perspective à l'idée qu'un vaccin protecteur est réalisable[3].

Une étude réalisée au Mali par Silvia Portugal et al., a trouvé chez les Peulh des niveaux plus élevées d'anticorps spécifique à *P. falciparum* de toutes les classes d'Ig par rapport aux Dogon. Cependant les proportions des sous-ensembles de cellule B chez les Peulh et Dogon qui peuvent expliquer les différences dans les niveaux d'Ig n'ont pas été caractérisées[3].

Fait intéressant, une étude menée sur des individus naïfs infectés par le paludisme a identifié le CD11c comme marqueur des lymphocytes B répondant au paludisme [8]. Une compréhension plus approfondie des caractéristiques des lymphocytes B CD11c+ humaines exprimant le sous-ensemble FcRL5 chez les populations naturellement exposées au paludisme peut fournir des informations importantes sur le développement de l'immunité et faciliter la conception rationnelle de nouvelles stratégies de vaccination.

- **Hypothèse :**

Notre hypothèse est : la faible susceptibilité au paludisme des Peulh comparés aux Mossi serait due à une différence phénotypiques des population lymphocytaire B[9].

OBJECTIFS

2. Objectifs :

2.1. Objectif générale :

Caractériser les sous-populations lymphocytaires impliquées dans la susceptibilité et/ou la protection contre le paludisme chez les groupes ethniques sympatriques Peulh et Mossi au Burkina Faso.

2.2. Objectifs spécifiques :

- 1) Identifier le phénotype des sous populations lymphocytaire B chez les Peulh et les Mossi.
- 2) Doser le profil cytokinique des lymphocytes T : Th1/Th2 et Th17 chez les Peulh et les Mossi.
- 3) Déterminer les variations phénotypiques des sous-populations lymphocytaires B chez les deux groupes ethniques sympatriques.
- 4) Déterminer les parasitémies sub-microscopique par PCR dans les deux groupes.

GENERALITE

3. GENERALITE :

3.1. Définition :

Le paludisme est une maladie due à un hématozoaire du genre *plasmodium* transmis par un moustique vecteur appartenant au genre Anophèles.

3.2. Epidémiologie :

Les rapports 2020 de l'organisation mondiale de la santé a estimé 219 millions de cas de paludisme dans le monde et 92% de ce chiffre ont été enregistrés en Afrique. Mais également le taux de mortalité était de 405.000 dont 94% dans la région Afrique.

Les moustiques sont les vecteurs exclusifs du paludisme. Il existe 3500 espèces de moustiques actuellement recensées dans le monde mais seule une soixantaine d'espèces, appartenant toutes au genre Anophèles sont capables de transmettre le parasite responsable du paludisme humain. Cependant la majorité de cas enregistré n'est imputé qu'à une dizaine d'espèces. Les anophèles ne sont pas des insectes invasifs, et chaque continent héberge sa propre biodiversité d'*Anophèles*. En Afrique, les espèces du complexe *Anophèles gambiae* et *Anophèles funestus* sont les vecteurs majeurs. Ces deux espèces d'anophèles sont anthropophiles et seules les femelles transmettent le paludisme. L'étude vectorielle occupe une place importante dans la compréhension du cycle parasitaire et peut-être déterminant dans la lutte contre le paludisme.

Plasmodium est le parasite responsable du paludisme chez l'homme. Il existe plus de 140 espèces de *Plasmodium*, touchant diverses espèces animales mais seulement cinq espèces sont retrouvées en pathologie humaine notamment *P. falciparum* ; *P. malariae* ; *P. vivax* ; *P. ovale* ; *P. knowlesi*. La première est la plus prépondérante dans les zones tropicales et est responsable d'environ 80% de tous les cas de paludisme et 90% des décès.

Le *Plasmodium knowlesi* est la dernière espèce découverte et est habituellement rencontré chez les singes (macaques) d'Asie. Il est à l'origine d'une épidémie en voie d'extension chez l'homme et est responsable d'accès graves de paludisme et de décès.

Ces cinq espèces diffèrent par des critères cliniques, biologiques, par leur répartition géographique et par leur capacité à développer des résistances aux antipaludiques.

Le paludisme est considéré comme l'une des maladies infectieuses les plus mortelles de l'histoire de l'humanité[10].

L'ère thérapeutique a commencé en 1630 avec la découverte des vertus curatives de quinquina (*Cinchona ledgeriana*) par don Francisco Lopez, et près de deux siècles plus tard les chimistes français Pelletier et Caventou isola la quinine (principal alcaloïde du quinquina).

D'énormes efforts scientifiques ont permis aux files du temps de cumuler des connaissances sur le parasite responsable du paludisme ; son vecteur et son cycle de développement.

La lutte contre le paludisme demeure un véritable challenge pour la communauté scientifique notamment la résistance aux antipaludiques ainsi que la recherche vaccinale pour un meilleur contrôle de cette affection.

3.2.1. Cycle de développement :

Actuellement, le cycle de développement complet du *Plasmodium* est bien décrit. Il se subdivise en deux (2) phases.

3.2.1.1. Chez l'homme :

Lors de son repas sanguin (1) l'anophèle femelle infectée injecte les sporozoïtes du *plasmodium* à l'homme ; Ces sporozoïtes circulent rapidement dans le sang pour atteindre le foie en moins d'une demi-heure et infecte les hépatocytes.

➤ Phase hépatique :

Le foie est le lieu où la phase initiale du cycle de développement du parasite commence.

Une fois le foie atteint les sporozoïtes entrent dans les hépatocytes (2) et se transforment en trophozoïtes. Ces derniers se multiplient directement par schizogonie aboutissant à un énorme schizonte. Cette multiplication asexuée aboutit à la production des milliers de mérozoïtes qui sont libérés lors de la rupture des schizontes (3). Cette phase initiale est appelée exo-érythrocytaire et dure 7 à 15 jours pour *P. falciparum*.

Les mérozoïtes jeunes libérés à la suite de l'éclatement des schizontes vont soit infecter à nouveau d'autres hépatocytes soit infecter les globules rouges sains (4). L'invasion des hématies marque le début de la phase érythrocytaire.

➤ Phase érythrocytaire :

Une fois transférés dans le sang les jeunes mérozoïtes envahissent les globules rouges sains, s'y développent en trophozoïtes puis se divisent en schizontes et provoquent des hémolyses par la libération des schizozoïtes (5).

Le temps qui s'écoule entre la pénétration d'un parasite dans le globule rouge et l'éclatement de celui-ci est assez constant et atteint 48h chez l'être humain pour *P. falciparum* (fièvre tierce).

L'éclatement des schizontes murs marque la fin du premier cycle schizogonique érythrocytaire et les mérozoïtes libérés à la suite de cet éclatement sont capable d'infecter d'autres globules rouges.

Après plusieurs cycles érythrocytaires certains parasites se différencient en gamétocytes mâles et femelles qui vont demeurer en attente dans l'hématie. Les parasites lors de cette phase ne pourront continuer leur évolution que chez le moustique (6).

3.2.1.2. Chez le moustique :

Quand un anophèle femelle pique une personne infectée lors de son repas sanguin (7) il absorbe les gamétocytes contenus dans le sang, permettant le début du cycle sexué chez le moustique qui digère les éléments asexués (trophozoïtes et schizontes).

La reproduction sexuée se déroule à l'intérieur de l'intestin du moustique. Les gamétocytes mâles donnent huit microgamètes à la suite de trois divisions successives. Ces microgamètes fécondent les gamétocytes femelles qui se transforment en macrogamète (8) et forment un zygote mobile appelé ookinète après quelques heures (9).

L'ookinète pénètre à l'intérieur des cellules du tube digestif et forme un oocyste (10). L'oocyste se rompt (11) après une phase de développement et libère des centaines de sporozoïtes qui pénètrent les glandes salivaires pour être injectés à l'homme lors d'une piqûre ultérieure (1).

La durée de ce cycle varie (10 à 40 jours) et est fonction des facteurs comme la température ou l'espèce plasmodiale. Le développement diminue ou cesse avec le froid (18°C pour *P. falciparum*) et s'arrête à la limite supérieure de 45° C.

Le cycle exo-érythrocytaire ou hépatique est asymptomatique pour toutes les espèces plasmodiales. Les signes cliniques (telles que fièvres, nausée, anémie) sont associés à la multiplication dans la phase érythrocytaire et précisément avec l'éclatement synchrone d'un grand nombre d'hématie[11].

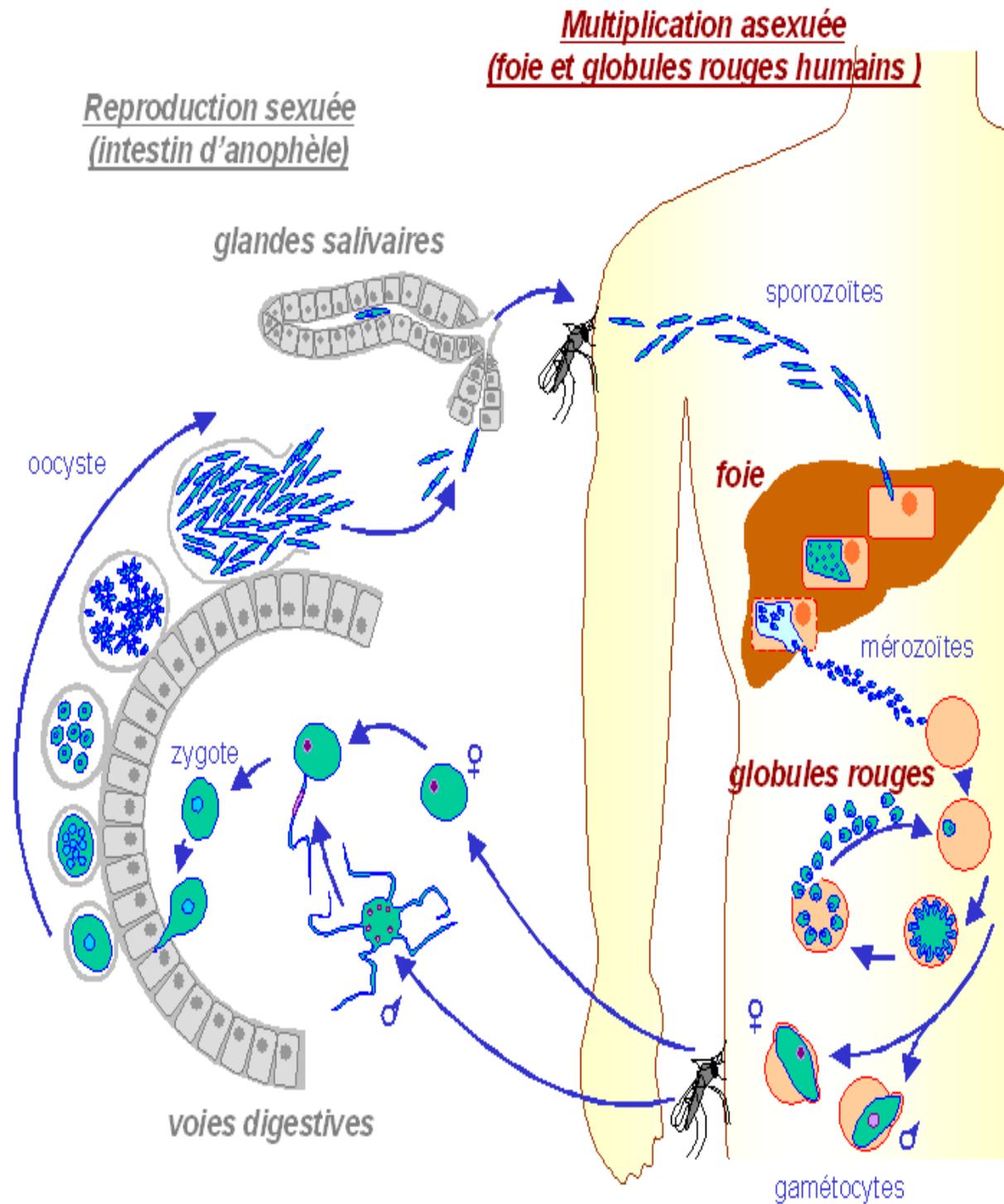


Figure 1: Cycle de développement du paludisme[12].

3.2.2. Transmission du paludisme :

Le mode de transmission le plus fréquent est la piqûre d'un moustique, l'anophèle femelle. La phase sanguine du cycle du parasite rend possible d'autres modes de contamination : transmission congénitale, transfusionnelle et par greffe d'organe.

En pratique, ces transmissions sont tout à fait exceptionnelles et n'influencent pas l'épidémiologie de la maladie.

La transmission du paludisme par l'anophèle, nécessite des conditions climatiques, telles que le régime des précipitations, la température et l'humidité (température > 18°C pour *P. falciparum* et > 16° pour *P. vivax*) et d'altitude (< 1500 m en Afrique). D'où la notion de stabilité du paludisme :

- ✓ Paludisme instable : c'est un profil de transmission brève avec une durée de vie brève de l'anophèle. Ce qui engendre peu de prémunition des habitants et une forte mortalité à tout âge.
- ✓ Paludisme stable : c'est un profil de transmission prolongée avec une circulation anophélienne pérenne. L'anophèle est anthropophile et a une espérance de vie longue, cela engendre une prémunition rapide, mais une forte mortalité infantile.

L'Afrique intertropicale présente globalement un profil de paludisme stable, sauf dans le centre de certaines grandes villes, à une altitude supérieure à 1500 m et dans les zones de transmission faible comme le Sahel.

Il existe schématiquement cinq faciès épidémiologiques du paludisme en Afrique :

- La zone équatoriale dans la forêt et les savanes post-forestières : paludisme stable avec transmission pérenne et prémunition forte dès l'âge de 5 ans,
- La zone tropicale dans les savanes humides : paludisme stable avec transmission saisonnière longue > 6 mois et une prémunition établie à 10 ans,
- La zone sahélienne des savanes sèches et des steppes : paludisme instable avec transmission saisonnière courte < 6 mois (par exemple : août à novembre au Mali), prémunition plus longue à établir liée à la régularité de la transmission,
- Le paludisme austral des plateaux du sud de l'Afrique : paludisme instable à transmission saisonnière, immunité apparemment peu solide, risque d'épidémies,

- Le paludisme des montagnes entre 1000 et 1500 m : paludisme instable avec transmission limitée par la température (cap des 18°C), peu ou pas d'immunité, épidémies violentes (exemple : Burundi), grandes variations interannuelles en fonction de la température et de la pluviométrie, impact du réchauffement climatique.
- Ces zones, pouvant coexister dans un même pays, ils permettent de définir la stratégie d'administration de la chimioprophylaxie selon la région visitée et/ou la période de l'année.

3.2.3. Immunité antipalustre :

Une immunité non stérilisante s'acquiert progressivement en situation d'exposition continue au *Plasmodium*. Elle empêche progressivement la survenue de formes cliniques graves. Cela explique qu'en zone de transmission intense, les jeunes enfants payent le plus lourd tribut à la maladie (à partir de l'âge de 4 mois à 1 an, lorsque la protection maternelle transmise diminue).

Progressivement le risque d'accès grave diminue alors que le sujet tolère des parasitémiées de plus en plus importantes tout en restant cliniquement asymptomatique. En zone de transmission intense, il est exceptionnel qu'un sujet adulte décède du paludisme.

Cette immunité est donc « non stérilisante », fonction de l'espèce, et ne se développe qu'après une longue période d'exposition ininterrompue. Elle est transmissible par la mère aux nouveau-nés.

En revanche elle n'est jamais totale et jamais définitive. Un sujet nouvellement installé en zone tempérée pendant 2 ou 3 ans perd progressivement sa protection. Lorsqu'il retourne dans son pays d'origine, il redevient vulnérable, au même titre qu'un sujet « naïf » récemment arrivé en zone d'endémie.

En raison des caractéristiques de cette protection, on utilise plus volontiers le terme d'état de prémunition plutôt que d'immunité. Bien évidemment un sujet n'ayant jamais vécu en zone d'endémie (voyageur, expatrié récent) est totalement exposé au risque de paludisme grave, quel que soit son âge.

L'immunité progressivement acquise, éphémère et incomplète, est capable de limiter la charge parasitaire sans stériliser le réservoir de parasite.

De nombreux mécanismes protecteurs, à la fois humoraux, cellulaires et mixtes, spécifiques (déclenchés par la présence du parasite) ou non spécifiques, ont été recensés.

Le système spécifique intervient par des mécanismes effecteurs dirigés contre les différents stades évolutifs du parasite (mérozoïtes, schizontes, gamètes et sporozoïtes).

Les anticorps (Ac) peuvent inhiber certaines fonctions du parasite, agglutiner les formes libres, favoriser la phagocytose spécifique ou activer la cytotoxicité des macrophages ou des lymphocytes tueurs.

Le système spécifique à médiation cellulaire est moins bien connu. Les cellules immunocompétentes peuvent détruire le parasite, en déclenchant une hypersensibilité retardée, ou par cytotoxicité indirecte médiée par les Ac.

Il existe aussi une activation cellulaire non spécifique où interviennent les macrophages stimulés et les cellules tueuses naturelles (NK). Ces mécanismes humoraux et cellulaires, spécifiques ou non, agissent en synergie pour limiter la parasitémie.

3.2.4. Facteur de protection immunitaire contre le paludisme :

La prophylaxie contre le paludisme repose sur trois mesures complémentaires :

- ✓ La protection contre les piqûres de moustiques ou Protection Personnelle Anti Vectorielle à un niveau individuel ;
- ✓ La protection contre les piqûres de moustiques ou Protection Personnelle Anti Vectorielle à un niveau collectif ;
- ✓ La chimioprophylaxie (CP) médicamenteuse.

Une prévention du paludisme doit être envisagée à l'échelle individuelle. Aucun moyen préventif n'assure à lui seul une protection totale.

Pour être efficace, il convient donc d'insister sur la nécessité de l'observance simultanée des mesures de protection contre les piqûres de moustiques associée à la chimioprophylaxie médicamenteuse.

- **Chimioprophylaxie médicamenteuse :**

Les recommandations de chimioprophylaxie prennent essentiellement en compte le risque d'infection par *P. falciparum*. Elles s'adressent spécifiquement aux voyageurs, non aux résidents sauf cas particuliers (femmes enceintes, les enfants de < 5 ans).

Elle doit donc être envisagée de manière systématique pour tout sujet se rendant en zone impaludée.

Il n'existe pas de schéma prophylactique idéal. Le choix de la chimioprophylaxie doit être discuté et adapté au sujet concerné (âge, femme enceinte, mode de vie, antécédents médicaux...).

• **Prévention collective :**

Elle repose actuellement sur plusieurs axes :

- ✓ Une prévention de la transmission par la distribution et l'utilisation généralisée, sur un programme de l'OMS pour l'éradication du paludisme, de moustiquaires imprégnées pour toutes les populations qui vivent en zone impaludée, prioritairement chez les plus fragiles (enfants et femmes enceintes) et par une prise en charge rapide et adaptée des accès palustres ;
- ✓ Le développement de nouvelles molécules ;
- ✓ La poursuite de la lutte antivectorielle au niveau des pays : contrôle des gîtes à moustiques, pulvérisation intra domiciliaire d'insecticide.

3.2.5. Développement de candidat vaccin :

De nombreuses recherches de développement de vaccin antipaludique sont en cours.

Toutes ces mesures de prévention combinées, permettraient de réduire drastiquement le nombre de cas de paludisme dans le monde voir l'éradiquer.

3.3. Physiopathologie :

La physiopathologie du paludisme est encore imparfaitement connue mais les répercussions de l'infection palustre sur certains organes ont été bien décrites.

3.3.1. Le sang :

La phase de schizogonie érythrocytaire entraîne une hémolyse responsable d'une anémie d'installation progressive. 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.

3.3.2. La rate :

La rate est hypertrophique, molle et congestive. Sa couleur caractéristique, rouge foncé, 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).

3.3.3. Le foie :

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.

3.4. Les cellules mononuclées du sang périphérique (PBMC) :

Les PBMC sont toutes les cellules du sang périphérique ayant un seul noyau. Ces cellules sont constituées de lymphocytes (lymphocytes T, B et cellules NK) et de monocytes.

➤ Lymphocytes T :

Les lymphocytes T, ou cellules T, sont une catégorie de leucocytes qui jouent un grand rôle dans la réponse immunitaire secondaire. Ils sont responsables de l'immunité cellulaire et expriment tous le marqueur membranaire CD3.

Ils existent plusieurs types de lymphocytes T : Les lymphocytes T cytotoxiques (TCD8 ou T killer) qui détruisent les cellules infectées ; les lymphocytes T auxiliaires (TCD4 ou T helper) qui sont des intermédiaires de la réponse immunitaire et prolifèrent pour activer en quantité d'autres types de cellules qui agiront de manière plus directe sur la réponse ; les lymphocytes T régulateurs (Treg) qui aident à prévenir l'activation des lymphocytes auto-immuns qui détruisent les cellules de leur propre organisme ; les lymphocytes NKT qui sont un type de lymphocytes présentant des marqueurs de cellules T (CD3) et des marqueurs NK ; les lymphocytes MAIT ou lymphocytes T invariant associés aux muqueuses, disposant d'un TCR semi-invariant ; les lymphocytes $\gamma\delta$ qui représentent une population de cellules T ayant un TCR (récepteur des cellules T ou T-cell receptor) particulier car la plupart des lymphocytes T possèdent un TCR composé de deux glycoprotéines, les chaînes α et β cependant les lymphocytes $\gamma\delta$ possèdent un TCR fait d'une chaîne γ et d'une chaîne δ .

➤ Lymphocytes NK :

Elles sont constitutivement cytotoxiques et, contrairement aux cellules T cytotoxiques, ne nécessitent pas d'exposition préalable à l'antigène pour médier leur effets anti-tumoraux.

➤ **Les monocytes :**

Ce sont des globules blancs présents dans le sang qui évoluent en passant dans les tissus biologiques en macrophages et en cellules dendritiques.

➤ **Les lymphocytes B :**

Les lymphocytes B ou cellules B sont des globules blancs particuliers faisant partie des lymphocytes. Ce sont des cellules synthétisées dans la moelle osseuse, et qui circulent dans le sang et la lymphe pour participer aux défenses naturelles de l'organisme.

3.5. Lymphocytes B :

L'immunité humorale est la ligne de défense de l'hôte faisant intervenir les anticorps ou immunoglobulines présents dans le plasma et la lymphe. Les lymphocytes sont des globules blancs (leucocytes) dont le rôle est la défense immunitaire de l'organisme face aux agressions infectieuses.

Les lymphocytes B constituent la population lymphocytaire qui exprime le marqueur de différenciation CD19 et sont les seules cellules capables de se différencier en plasmocyte (cellules sécrétrices d'anticorps) et assure une protection contre les agents pathogènes.

3.5.1. Ontogenèse :

On peut séparer l'ontogenèse des lymphocytes B en deux phases principales, dépendantes ou non de la présence d'antigène.

La première phase de différenciation et de maturation des lymphocytes B est indépendante de l'antigène. Elle se déroule dans la moelle osseuse et aboutit à la génération de lymphocytes B immatures exprimant une immunoglobuline de surface capable de reconnaître un antigène.

La seconde phase, d'activation et de différenciation finale, est dépendante des antigènes du soi d'abord puis du non-soi en périphérie, au niveau des organes lymphoïdes secondaires. Elle aboutit à la formation de plasmocytes et de cellules B mémoires d'un antigène.

Les étapes de différenciation qui conduisent de la cellule souche hématopoïétique au lymphocyte B immature se déroulent dans la moelle osseuse en l'absence de stimulation antigénique à partir des cellules progénitrices lymphoïdes chez les humains [13], [14].

3.5.2. Différents stades du développement des lymphocytes B :

3.5.2.1. Les progéniteurs lymphoïdes communs (CLP) :

Les cellules souches hématopoïétiques (HSC) sont à l'origine de toutes les cellules sanguines et donc des lymphocytes. Elles sont caractérisées par leur potentiel de différenciation en de multiples lignées, leur capacité d'auto-renouvellement et la présence à leur surface du marqueur CD34. Les précurseurs lymphoïdes communs issus des HSC possèdent la capacité de reconstituer de façon restreinte la lignée lymphoïdes (cellules T, B et NK) *in vivo*.

➤ Le stade pré-pro B :

Dans la moelle osseuse, les précurseurs B les plus immatures constituent une sous-population de cellules appelées pré-pro B qui ne sont pas totalement engagées dans la voie B et n'ont pas encore réarrangé les gènes des immunoglobulines. Les cellules pré-pro B expriment très faiblement les gènes RAG-1 et RAG-2. Par contre, l'expression du gène codant pour Iga (CD79a) est détecté dès ce stade sous forme de protéines CD79a intra-cytoplasmiques.

➤ Le stade pro-B :

A ce stade les réarrangements des gènes d'immunoglobulines commencent à se mettre en place, selon une cinétique contrôlée, permettant ainsi de distinguer deux populations. Les réarrangements débutent au locus IGH par la jonction d'un segment D_H avec un segment J_H.

Ces évènements caractérisent le stade Pro-B précoce, auquel apparait le marqueur CD19. Ces premiers réarrangements sont suivis dans les cellules pro-B tardives par l'assemblage, sur un allèle, d'un segment V_H avec les segments DJ_H réarrangés. Seuls les segments V_HDJ_H en phase de lecture correcte et sans codon stop codent pour une région variable et fonctionnelle et permettent la synthèse d'une chaîne lourde μ intra-cytoplasmique.

➤ Le stade pré-B :

Une petite proportion de la chaîne lourde μ est alors exprimée à la surface des cellules, maintenant pré-B, en association avec une pseudo chaîne légère formée de la liaison non covalente des protéines $\lambda 5$ et VpréB. Ce complexe forme le pré-BCR qui permet à la cellule de passer au stade ultérieur de la différenciation et d'entrer dans une phase d'expansion clonale [13], [15].

Le pré-BCR joue aussi un rôle critique dans l'exclusion allélique en induisant une diminution transitoire de l'expression des gènes RAG qui arrête la recombinaison des gènes de chaînes lourdes sur l'autre allèle. Les gènes RAG sont alors réexprimés pour réaliser les réarrangements V_LJ_L des gènes des chaînes légères. Ils sont monoalléliques et débutent au locus Igk . Si aucun réarrangement productif sur les deux allèles ne s'est produit, ils se poursuivent au locus $Ig\lambda$ comme indiqué précédemment.

➤ **Le stade B immature :**

Ce stade est caractérisé par la production d'une chaîne légère classique qui remplace la pseudo chaîne légère et donne naissance à une IgM de surface conférant à la cellule sa spécificité de reconnaissance de l'antigène.

Un épissage de l'ARN produit par ces cellules associe la région variable aux domaines constants de l'un ou l'autre isotype. Ces cellules B immatures ou naïve coexpriment ainsi les deux types d'immunoglobulines avec la même spécificité. On parle de cellule $\mu\delta$.

Les lymphocytes B immatures sont alors sujets à un processus de sélection négative au cours duquel les cellules possédant des immunoglobulines membranaires spécifiques pour les antigènes du soi sont éliminées[16]. Les cellules qui survivent quittent alors la moelle osseuse pour se rendre dans les organes lymphoïdes secondaires ou elles pourront subir les dernières étapes de maturation. Ces cellules dans la circulation sanguine représentent environ 2 % des lymphocytes B[17]. Une fois arrivées à destination, elles subissent des étapes supplémentaires de maturation en plus d'acquérir l'expression d'IgD[18], [19].

Pendant ces étapes, elles peuvent encore subir des sélections négatives afin d'écarter les cellules auto réactives. Une partie de ces cellules demeure dans la zone marginale de la rate en tant que cellules naïves non circulantes tandis que l'autre se développe en lymphocytes B matures naïfs (folliculaires) circulant dans le sang à travers les ganglions lymphatiques, jusqu'à ce qu'elles rencontrent un antigène spécifique à leur BCR[15], [20].

Les cellules B naïves qui entrent dans un ganglion lymphatique migrent vers la zone des lymphocytes T et y restent environ 24h, avant de retourner dans la circulation sanguine[21] si elles ne rencontrent pas d'antigène pour lequel leur BCR est spécifique. Un lymphocyte B naïf peut ainsi rester en circulation de 80 à 120 jours, après quoi il mourra par apoptose[22].

La rencontre de l'antigène se fait dans les ganglions lymphatiques[15]. Les antigènes de petite taille (<70 kDa) sont acheminés vers les follicules des ganglions lymphatiques à travers des canaux folliculaires. Les petites molécules peuvent aussi entrer dans les follicules à travers les espaces au niveau du sinus du ganglion et se lier par la suite aux lymphocytes B réactifs.

Un autre modèle de contact implique les molécules plus grosses (>70 kDa). Celles-ci sont présentées aux lymphocytes B par des macrophages de la région subcapsulaire du sinus des ganglions lymphatiques.

Les lymphocytes B se trouvant dans la région extrafolliculaire des ganglions lymphatiques sont activés indépendamment des lymphocytes T. Les antigènes qui sont impliqués dans ce type de réaction sont appelés des antigènes T indépendants. Ils sont divisés en deux catégories, soit les types 1 et 2[13], [23]. Les types 1 agissent indépendamment du BCR et induisent la prolifération et la différenciation des cellules B. Le LPS (lipopolysaccharide) retrouvé dans la membrane externe des bactéries à Gram négatif fait partie de ce groupe d'antigènes[24].

Le types 2 d'antigène (T-indépendants) agit à travers le BCR. Ces antigènes sont souvent de haut poids moléculaire. Il peut s'agir notamment de polysaccharides provenant de la paroi cellulaire de bactéries encapsulées telles que le *Streptococcus pneumoniae*[25].

La différenciation induite par ces antigènes est plus complexe et nécessite plusieurs signaux en plus de la multimérisation du BCR. Ces signaux proviennent notamment de la reconnaissance de l'antigène à la surface des lymphocytes B par des molécules telles que les TLR (*Toll-like receptors*). L'antigène T indépendant de type 2 peut aussi induire la sécrétion de cytokines par d'autres cellules de l'environnement du lymphocyte B.

Ces facteurs solubles agissent sur la prolifération et la différenciation de la cellule B. La survie et la différenciation des cellules B se trouvant dans la zone extrafolliculaire sont dépendantes de la présence de facteurs tels que BAFF (*B cell activating factor*), sécrété notamment par les cellules dendritiques[26].

Les lymphocytes B naïfs rencontrant ces types d'antigènes prolifèrent rapidement et se différencient tout aussi rapidement en cellules sécrétrices d'anticorps.

Le stade final de différenciation des cellules B est le plasmocyte. Dans le cadre de l'activation T-indépendante, les plasmocytes générés sont dits à courte vie et sécrètent des anticorps, surtout de type IgM, ayant une faible affinité pour l'antigène. Une petite population de ces plasmocytes sécrète aussi des IgG[13], [27].

La plupart des antigènes induisant la production d'anticorps ont besoin de la collaboration des lymphocytes T. Ces antigènes sont connus comme antigènes T dépendants et sont de nature protéique[23]. Les lymphocytes B dans les follicules sont activés par la présentation antigénique par des macrophages du sinus subcapsulaire des ganglions lymphatiques[28].

Les cellules dendritiques peuvent aussi présenter des antigènes aux lymphocytes B naïfs[29]. En fait, dans les ganglions lymphatiques, on retrouve deux régions : l'une concentrée en lymphocytes T (zones des T) et l'autre en lymphocytes B (zones des B)[30].

Les lymphocytes sont activés dans leur zone respective par la rencontre d'une cellule présentatrice d'antigène (CPA) présentant à sa surface l'antigène spécifique au lymphocyte T à travers son complexe d'histocompatibilité de type II. Les cellules T CD4⁺ ainsi activées prolifèrent et expriment le récepteur de chimiokine CXCR5 qui permet d'attirer ces cellules à l'interface de la zone des lymphocytes B.

Ces derniers, une fois qu'ils ont été activés par le même antigène dans leur zone respective, expriment à leur tour le récepteur de chimiokine CXCR7 et se retrouvent à l'interface des deux zones[23], [30].

Suite à leur activation, les deux types de lymphocytes expriment plusieurs molécules de surface, permettant une meilleure interaction lors de leur rencontre. Les lymphocytes T expriment le CD154 ou encore ICOS (*inducible co-stimulator*).

Ils peuvent aussi sécréter des cytokines telles que l'interleukine (IL-4), l'interféron- γ ou encore l'IL-21[31], [32]. C'est à cet endroit qu'a lieu la rencontre des lymphocytes B et T activés par un antigène spécifique. L'interaction avec les lymphocytes T induit l'activation des lymphocytes B. Ces cellules peuvent ensuite rester dans la zone extrafolliculaire ou former un centre germinatif. Cette décision est dépendante de la force d'interaction entre l'antigène et le BCR. Une forte liaison entre le BCR et l'antigène induit une différenciation des lymphocytes B en dehors du centre germinatif tandis que les lymphocytes ayant une plus faible affinité pour l'antigène formeront un centre germinatif[33].

Le centre germinatif est une structure transitoire et dynamique dans laquelle on retrouve des lymphocytes B, T ainsi que des cellules dendritiques folliculaires[34].

L'interaction de l'ensemble de ces cellules à travers des interactions cellulaires ainsi que la sécrétion de divers facteurs solubles induit la prolifération et la différenciation des lymphocytes B présents. Parmi ces interactions, on retrouve celui entre le récepteur CD40, exprimé par les lymphocytes B et son ligand CD154 exprimé par les lymphocytes T activés.

Cette interaction est d'autant plus importante qu'il a été rapporté que les personnes ayant une mutation dans la molécule CD154 ou CD40 étaient incapables de former des centres germinatifs, menant au syndrome d'hyper IgM (*X-linked hyper IgM syndrome*)[35].

De plus, l'interaction entre le CD27 et le CD70 est aussi connue comme ayant un rôle dans la formation du centre germinatif et la différenciation des lymphocytes B[36], [37].

La structure du centre germinatif est composée de deux régions, soit la zone claire (*Light zone, LZ*) et la zone foncée (*dark zone, DZ*). Cette dernière est située près de la zone des cellules T. On y retrouve principalement des lymphocytes B en prolifération, appelés centroblastes.

Il a été rapporté que c'est à cet endroit que les cellules subissent des hypermutations somatiques ayant pour but d'augmenter leur spécificité pour l'antigène. Le cycle cellulaire de ces cellules est par la suite arrêté et elles migrent vers la zone claire. À cet endroit, les lymphocytes B testent leur capacité à reconnaître de manière spécifique l'antigène en question.

Les cellules subissent une sélection négative pour le recrutement de celles ayant la meilleure affinité pour l'antigène. Les cellules dont le BCR ne reconnaît pas l'antigène reçoivent des signaux induisant leur apoptose[38], [39]. Il a été rapporté en 2010 que les cellules pouvaient circuler entre la zone claire et foncée[34]. En effet, suite à la sélection positive dans la zone claire, les cellules favorisées retournent dans la zone foncée, après leur interaction avec des lymphocytes T auxiliaires, où elles subissent une seconde ronde de prolifération et d'hypermutation somatique[34], [38].

Ce processus de sélection favorise la production de lymphocytes ayant une très grande affinité pour l'antigène et à la sortie du centre germinatif, on retrouve des plasmablastes CD38⁺⁺, CD138^{+/-} et des lymphocytes B mémoires (CD19⁺, CD27⁺, CD38^{+/-})[40], [41].

Les lymphocytes B représentent environ 5 à 15 % des lymphocytes du sang. Ils sont caractérisés par la présence d'immunoglobulines à leur surface qui sont les récepteurs spécifiques à un antigène.

Chez l'humain, les lymphocytes B du sang se divisent en deux sous-populations : soit les lymphocytes B naïfs (60 %) et les lymphocytes B mémoires (40 %)[42]. Ces deux populations sont hétérogènes et se distinguent toutefois par la présence de marqueurs de surface.

Les B naïfs sont identifiables par leur phénotype $IgD^+IgM^+CD27^-$ tandis que les B à mémoire peuvent être de type $IgD^+, IgM^+, CD27^+$; $IgD^-, IgM^+, CD27^+$ ou suite à un changement de classe, $IgG^+/IgA^+, CD27^+$ [42].

3.5.2.2. Régulation de la différenciation lymphocytaire B :

➤ Rôle des cytokines et des récepteurs de cytokine :

Les premières étapes du développement sont strictement dépendantes du microenvironnement particulier apporté par les cellules stromales de la moelle osseuse.

Ces cellules stromales régulent la croissance, la maturation et la survie des précurseurs par l'intermédiaire de facteurs solubles (IL7, SCF, SDF-1) et de contacts avec les cellules en développement.

➤ Rôle des facteurs de transcription :

Au cours de la différenciation lymphocytaire, les facteurs de transcription, en se fixant sur différents promoteurs et activateurs, sont impliqués dans la quiescence, la survie et la mort des progéniteurs B ainsi que dans les prises de décisions lors de l'engagement des cellules dans une lignée spécifique. Un certain nombre de ces facteurs de transcription apparaissent ainsi fondamentaux : Ikaros, E2A, EBF, Pax5, LF1.

3.5.2.3. Les marqueurs phénotypiques des lymphocytes B :

Les lymphocytes B expriment les marqueurs CD19 et CD20 (ce dernier étant partiellement perdu au stade de différenciation plasmocytaire), et les sous-populations de lymphocytes B sont identifiables en cytométrie de flux en fonction de la coexpression de marqueurs de surface tels que CD24, CD38 et CD27.

3.5.2.4. Distinction des lymphocytes en fonction de leur marqueur de différenciation :

Les lymphocytes B, les plasmablastes et les plasmocytes possèdent à leur surface plusieurs marqueurs, dont les CD « marqueurs de différenciation », les molécules d'adhésion ou les récepteurs de chimiokines qui permettent de les distinguer les uns des autres.

Les lymphocytes B naïves ont été définies en tant que cellules CD10⁻, CD27⁻, les lymphocytes B classiques mémoire (MBC) en tant que cellules CD21⁺, CD27⁺, les lymphocytes B mémoire (MBC) activées en tant que cellules CD21⁻, CD27⁺ et les lymphocytes B atypiques en tant que CD21⁻, CD27⁻, FCRL5⁺, T-Bet⁺.

De plus, les lymphocytes B CD11c ont été définies comme étant les lymphocytes B CD19⁺, CD20⁺ exprimant les cellules CD11c⁺, CD21⁻, CD27⁻ et FcRL5⁺. Les plasmocytes plasmatiques ont été définies comme étant les cellules CD19⁺, CD20⁻, CD27⁺.

3.6. Les cytokines :

Les cytokines sont un ensemble hétérogène de protéines ou des glycoprotéines solubles de poids moléculaires moyenne de 8 à 50 kDa. Elles jouent le rôle de signaux permettant aux cellules d'agir à distance sur d'autres cellules pour en réguler l'activité et la fonction.

Elles sont synthétisées principalement en réponse à un signal activateur et chacune peut être produite par de nombreux types de cellules. Les cytokines agissent sur des cellules cibles en se fixant sur des récepteurs spécifiques de haute affinité. La liaison d'une cytokine à son récepteur induit un ensemble de signaux d'activation, de prolifération, de différenciation ou de mort cellulaire. La plupart des cytokines entraînent des réactions en cascade en induisant la production d'une autre cytokine par leurs cellules-cibles.

3.6.1. Interleukine 17A :

C'est une cytokine à l'origine de la famille de cytokines IL-17. Il est essentiellement produit par les lymphocytes T auxiliaires et induit la sécrétion des chimiokines comme l'interleukine 8, qui permettent le recrutement des neutrophiles.

3.6.2. Interféron gamma :

C'est le seul membre connu de la classe des interférons de type II. Il est sécrété par les lymphocytes NK.

3.6.3. Facteurs de nécrose Tumorale :

Ils forment la superfamille des TNF, dont le membre type est le TNF- α qui est une importante cytokine impliquée dans l'inflammation systémique et dans la réaction de phase aiguë.

3.6.4. Interleukine 10 :

C'est une protéine produite par différentes cellules sanguines et agissant en diminuant la réponse immunitaire.

3.6.5. Interleukine 6 :

C'est une cytokine appartenant au trio des cytokines pro-inflammatoires de l'immunité innée. Elle stimule notamment la sécrétion des protéines de la phase aigüe au cours de la réaction du système immunitaire.

3.6.6. Interleukine 4 :

C'est une cytokine dont le rôle est d'induire la différenciation des lymphocytes T auxiliaires naïfs (lymphocytes Th0) en lymphocytes Th2.

3.6.7. Interleukine 2 :

Elle contribue à la réponse naturelle du corps à une infection microbienne en stimulant la prolifération lymphocytaire.

3.6.8. Voie Th1 :

Les cellules Th1 produisent principalement l'interféron gamma et l'interleukine 2 et le TNF.

3.6.9. Voie Th2 :

Les cellules Th2 produisent de l'interleukine 4, de l'interleukine 5 et de l'interleukine 13.

3.6.10. Voie Th17 :

Les cellules Th17 produisent l'interleukine 17.

MATERIELS ET METHODES

4. Matériels et méthodes :

4.1. Site d'étude :

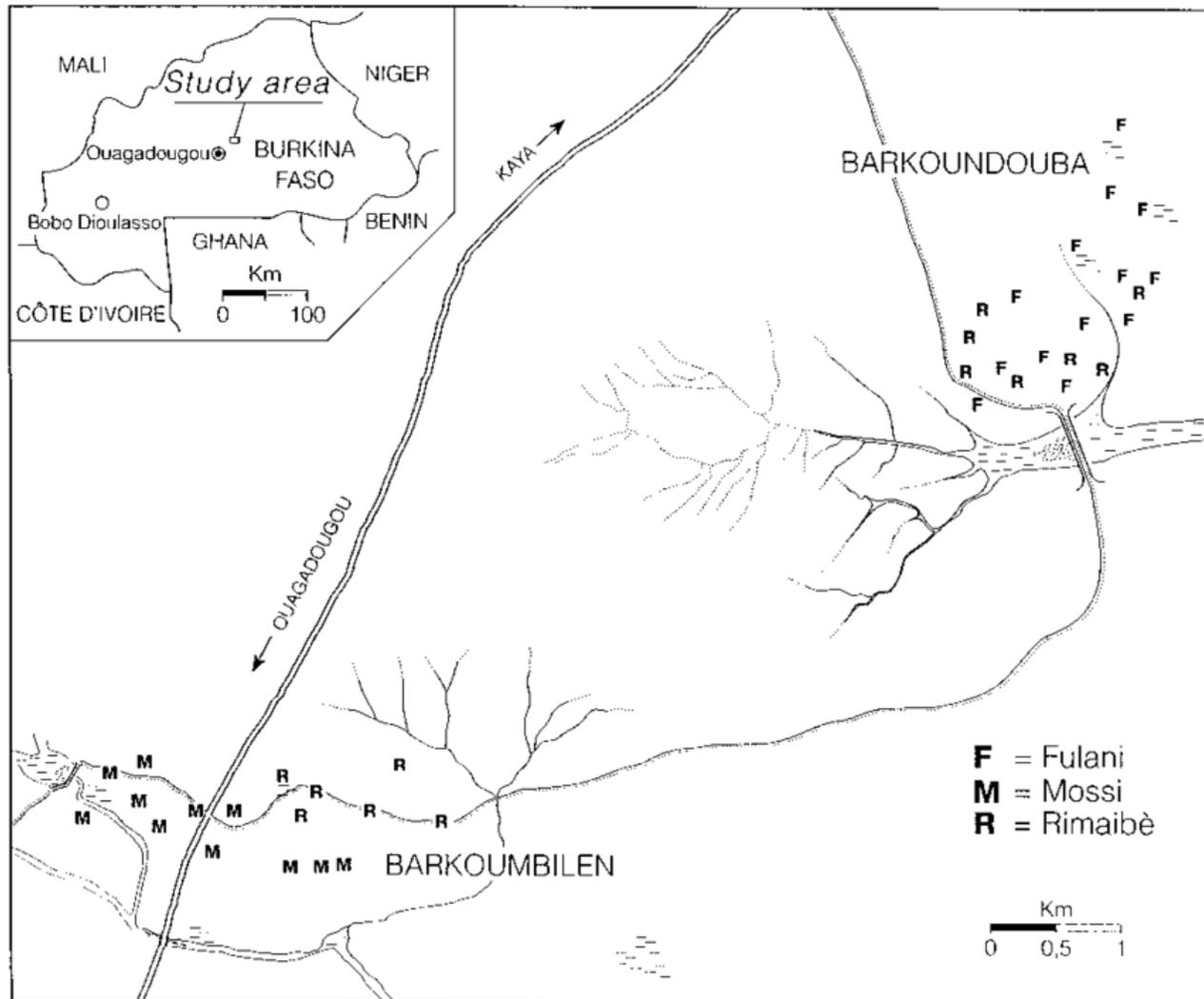


Figure 2: Carte du site d'étude[5].

L'étude a été réalisée au Burkina Faso dans les villages de Barkoundouba Peulh et Mossi distant de 5km environ.

Barkoundouba est situé à 35 Km au nord-est de la capitale burkinabé (Ouagadougou) dans la province d'Oubritenga. Plusieurs études ont été menées dans cette région depuis 1940.

La végétation est de type savane située sur le plateau Mossi. Ils ont un climat typique de la savane subsaharienne avec deux saisons : Une saison de pluie s'étendant de juin à octobre avec une précipitation forte en juillet et une saison sèche s'étendant de novembre à mai.

Le paludisme est endémique et la saison des pluies est la période de forte transmission. La pluviométrie moyenne annuelle est de 600 à 900 mm. *Anophèles Arabiensis*, *Gambiae* et *Funestus* sont les vecteurs principaux du paludisme ; les deux derniers sont sympatriques dans la zone d'étude.

Dans la région le taux annuel d'inoculation entomologique varie entre 10 à 500 infectiosités par personne infectée. 90% des infections de paludisme dans la population étudiée sont dues à *P. falciparum*.

Les participants qui ont fait l'objet de cette étude sont des sujets vivants dans les villages de Barkoundouba Peulh et Mossi. Un total de soixante (60) personnes dont trente (30) Peulh et trente (30) Mossi âgés de vingt (20) à quarante-cinq (45) ans tous volontaires et répondant aux critères d'inclusion ont été inscrits pour participer à l'étude.

4.2. Type et période d'étude :

C'est une étude transversale ; elle s'est déroulée du 15 mars au 04 Avril 2019 à Barkoundouba, au Burkina Faso.

4.2.1. Population d'étude :

Notre étude a porté sur les Peulh et les Mossi vivants dans le village de Barkoundouba au Burkina Faso. Ces deux groupes ethniques vivent en sympatrie dans le village. Donc ce sont deux populations qui vivent dans le même village mais qui ne se marient pas entre elles.

Nous nous sommes basés dans cette étude sur la déclaration d'appartenance ethnique des participants et de leurs noms de famille.

Les participants ont été diagnostiqués au microscope et ont été classés en fonction de leur groupe ethnique et du statut de l'infection palustre.

Les volontaires ont été recrutés en fonction des critères d'inclusion et de non-inclusion.

Critères d'inclusion :

- Avoir signé un consentement écrit pour les adultes ;
- Avoir signé un assentiment écrit pour les enfants âgés de 15-17 ans ;
- Être disponible durant la période de l'étude ;
- Être Mossi ou Peulh résidant à Barkoundouba ;
- Être âgé de 15 à 50 ans au moment de l'enroulement et
- Être résidant à Barkoundouba depuis au moins six (6) mois.

Critères de non-inclusion :

- Avoir une hémoglobinopathie telle que HbS, HbC et/ou un déficit en Glucose-6-phosphate Déshydrogénase (G6PD) ;
- Avoir une anémie sévère ;
- Avoir un état d'immunosuppression comme l'infection du Virus de l'Immunodéficience Humaine (VIH) ;
- Avoir une maladie chronique (cardio-vasculaire, hépatique et rénale) ;
- Etre sur une corticothérapie.

4.3. Méthodes d'études :

4.3.1. Collecte des données sur le terrain :

Après l'obtention du consentement des participants les échantillons ont été collectés du 15 mars au 04 avril ; nous avons collecté des données cliniques (température, splénomégalie et autres symptômes liées au paludisme), des confettis de sang pour SNPs (Single Nucleotide Polymorphism) qui correspond à des variations mineures du génome au sein d'une population et des données parasitologiques (goutte épaisse pour l'identification et la quantification des parasites du paludisme).

Des examens cliniques, parasitologiques, hématologiques et des analyses immunogénétiques ont été faits chez chaque volontaire.

L'examen clinique a comporté la prise du poids corporel, de la taille, de la température, l'interrogatoire (exemple le niveau d'étude, le statut matrimonial, la prise d'antipaludique récemment, l'utilisation de moustiquaire imprégnée etc.), ainsi que l'inspection des téguments et muqueuses, la palpation du foie et de la rate à la recherche d'hépatite et de splénomégalie.

Quant à l'examen hématologique ; elle a consisté à mesurer le taux d'hémoglobine en prenant juste 50µl de sang pour détecter les cas d'anémie.

4.3.2. Diagnostic du paludisme :

Il a été effectué sur le terrain par la goutte épaisse et le frottis sanguin mince pour déterminer la densité parasitaire et identifier l'espèce plasmodiale et au laboratoire à Bamako par la PCR en utilisant les papiers confettis imbibés de sang pour la détection des parasitemies submicroscopiques.

4.3.2.1. Technique de la goutte épaisse :

Nous avons nettoyé le bout du doigt puis piqué avec une aiguille stérile ; ensuite nous avons déposé une (1) goutte de sang au centre de la lame. Avec le coin d'une autre lame nous avons étalé le sang par un mouvement tournant pour défibriner.

4.3.2.2. Technique de la PCR :

Nous avons d'abord extrait l'ADN sur les confettis et ensuite nous avons réalisé PCR.

• Extraction de l'ADN sur les confettis :

Nous avons coupé les confettis en petit morceau puis placé les confettis de chaque volontaire par puits sur une plaque de 96 puits ; nous avons distribué dans chaque puits 0,2µl et 0,18µl respectivement de protéinase K et de Buffer ATL. Nous avons ensuite agité avant une centrifugation d'une minute ; après nous avons ajouté A.L Buffer 200µl par puits. Nous avons centrifugé 15 à 20 secondes après avoir agité légèrement.

Nous avons effectué une incubation de 15 à 20 minutes au Bain marie, ensuite une centrifugation de 15 à 20 secondes. Nous avons ensuite ajouté 200µl d'éthanol dans chaque puits suivi d'une centrifugation de 15 à 20 secondes ; après nous avons placé le QIAamp 96 puits dans le S-Block puits transférer approximativement 600µl par puits.

Le QIAamp 96 puits permet de retenir l'acide nucléique et laisse descendre les débris. Nous avons ensuite couvert le QIAamp 96 puits avec l'Air-Pore Sheet puis centrifuger à 2130rcf pendant 8 minutes. Après centrifugation nous avons vider le S-Block dans un lavabo puis nous avons ajouté 500µl de AW1 par puits.

Après centrifugation à 2130rcf pendant 5 minutes nous avons ajouté 500µl de AW2 par puits puis centrifuger à la même vitesse pendant 25 minutes.

A la fin, placer QIAamp 96 puits dans un top rack d'élution ; ajouter 150µl de A.E Buffer par puits. Incuber pendant 1 minute à la température ambiante, centrifuger à 2130rcf pendant 8 minutes et fermer la plaque d'élution Top rack. Conserver à -20 degrés Celsius en attendant de faire la P.C.R.

• Réaction en chaine de polymérase :

Nous avons commencé par préparer le Master Mix qui est un mélange des réactifs ajouter à des proportions bien déterminés :

500 µl de 2x QT Multiplex Master Mix ;

✓ 180 µl de RNase depourvu d'eau ;

- ✓ 60 µl de Fal.TM.FOR ;
- ✓ 40 µl de Viv.TM.FOR ;
- ✓ 40 µl de Actin_Ultra_P ;
- ✓ 20 µl de Uracil-DNA Glycosylase;
- ✓ 10 µl de QuantiTect RT Mix ;
- ✓ 150 µl d'eau distillé.

La réaction totale doit être de 10 µl dans chaque puits dont 1,5 µl de DNA et 8,5 µl de Master Mix. Les puits que nous avons utilisés pour les échantillons était de A1 à E2 ; les puits F1 et F3 ont été utilisés pour les contrôles positifs de *P. falciparum* et *P. vivax* ; les puits F2 et F4 pour les contrôles négatifs. Rien n'a été mis dans les puits restants (de F5 à H12). Nous avons configuré l'appareil BIO-RAD CFX96™ Real-Time System afin d'effectuer la PCR.

4.3.3. Prélèvement sanguin :

Pour chaque volontaire 18 ml de sang ont été prélevés ; un aliquote de 1 ml du sang total a été fait, le plasma a été recueilli après centrifugation et conservé à -80 degrés Celsius ; ce plasma a ensuite été utilisé pour mesurer les réponses des cytokines. Des aliquotes de PBMC ont été cryoconservés et ont ensuite été utilisés pour l'immunophénotypage. Un aliquote de Monocyte pure et un aliquote de Lymphocyte pure ont été effectués et conservés à -80 degrés Celsius.

Détermination des sous populations de lymphocytes B :

Pour les déterminer nous avons d'abord réalisé la lymphoséparation. Ensuite la séparation des lymphocytes et des monocytes a été menée et à la fin l'immunophénotypage des lymphocytes B.

4.3.4. Lymphoséparation :

A partir du sang total nous avons prélevé une petite quantité pour le culot globulaire et le reste dans deux tubes leucosep pour chaque volontaire. Après centrifugation nous avons prélevé le plasma ensuite les PBMC (cellule mononuclée du sang périphérique).

Après leur lavage (2 lavages), nous avons ré-suspendu les PBMC dans du CRPMI à 50% de FBS (milieu nutritif). Une petite quantité a été utilisée pour le comptage des cellules au microscope et une autre pour la cryoconservation après l'ajout du FBS à 20% de DMSO.

Celles pour la conservation ont été mises dans le freezer box et rapidement placées à -80 degrés Celsius ; puis ont été transférées dans l'azote liquide le lendemain (over night). Les restants des PBMC ont été utilisés pour l'obtention des lymphocytes et des monocytes purs.

4.3.5. Séparation des lymphocytes et des monocytes purs :

Nous avons ajouté du RPMI à 2% de FBS aux restes des PBMC, ensuite nous avons ajouté de l'anticorps et des rapidspheres à l'échantillon. Après incubation à la température ambiante nous avons ajouté la solution de lavage easysep pour compléter l'échantillon à 2,5 ml.

Nous avons ensuite transféré le tout dans des tubes Facs puis nous avons placé les tubes Facs sans couvercle dans l'aimant pour incubation (il a permis de séparer les monocytes (CD14+) qu'il a retenu comme culot et les lymphocytes (CD14-) qui sont passés dans le surnageant).

Après incubation nous avons versé en un seul geste dans les tubes de 50 ml le surnageant qui contient des cellules CD14- ; ensuite nous avons ajouté la solution de lavage easysep (2,5 ml) sur les CD14+ dans les tubes.

Après centrifugation des tubes Falcon (50 ml) et Facs nous avons jeté le surnageant et ajouté du DNA/RNA buffer (1 ml).

A la fin nous avons transférés les lymphocytes et monocytes pure dans des tubes Nunc de 2 ml pour les conservés à -80 degrés Celsius.

4.3.6. Immunophénotypages des lymphocytes B :

Après avoir décongelé les PBMC dans un bain marie à 37°, nous les avons transférés dans du CRPMI et laissés au repos pendant 15 minutes puis laver deux (2) fois. Après centrifugation nous avons jeté le surnageant puis compléter à 5 ml ensuite nous avons pris une petite quantité/tube et associé au bleu de trypan pour le comptage au microscope.

Nous avons ensuite complété les restants à 11 ml puis nous avons ajouté dans chaque tube le cocktail des marqueurs à des quantités respectifs (voir tableau ci-dessous) avec une quantité bien déterminée du PBS à 5% de FBS.

Après mélange on a réparti 50µL/puit sur une plaque de 96 puits ensuite nous avons incubé cette plaque à l'abri de la lumière puis nous avons procédé à deux lavages.

Nous avons préparé et distribué dans chaque puit la solution de fixation, ensuite nous avons incubé et centrifugé. Entre temps nous avons préparé la solution de perméabilisation.

Après centrifugation nous avons préparé la solution T-Bet qu'on a associé à une quantité déterminée de la solution de perméabilisation ; puis nous avons distribué ce mélange dans chaque puit et incubé.

Après incubation et coloration les cellules ont été lavées deux (2) fois avant acquisition sur un cytomètre en flux à trois (3) lasers BD LSRII.

Tableau I: Méthode de préparation du Cocktail d'anticorps (Ac) monoclonal

CD10	APC (Allophycocyanine)	44×2=88 µL
CD19	PerCP (Protéine de chlorophylle péridinine)	44×2=88 µL
CD20	APC H7 (Allophycocyanine)	55×2=110 µL
CD21	FITC (Isothiocyanate de fluorescéine)	44×2=88 µL
CD27	BV421 (Brillant violet 421)	44×2=88 µL
CD11C	PE-TxR (Phycoérythrine Texas rouge)	44×2=88 µL
IgM	BV510 (Brillant violet 510)	44×2=88 µL
FCRL5	PE (Phycoérythrine)	55×2=110 µL

LE TOUT + 726 µL ×2=1452 µL (Tampon de coloration) qui est le PBS à 5% de FBS.

4.3.7. CBA (Cytometric Bead Array) :

L'application BD™ Cytometric Bead Array (CBA) permet aux utilisateurs de quantifier par cytométrie en flux plusieurs protéines d'intérêt de façon simultanée.

Le système CBA est basé à la fois sur la capacité d'un cytomètre à détecter finement différents niveaux de fluorescence, et sur l'utilisation de billes couplées à des anticorps qui capturent spécifiquement différents analytes

Nous avons reconstitué et diluer en série les standards.

Echantillons : Nous avons déterminés le nombre de BD CBA Soluble Humain Protein Flex Sets à utiliser dans l'expérience (taille du multiplex) ; nous avons déterminés le nombre de tests dans l'expérience. Les billes sont fournies de sorte que 1,0 µl = 1 test. Donc, le volume requis (µl) de billes est égal au nombre de tests.

Nous avons ajouté 2 à 3 tubes de dosage supplémentaires au nombre déterminé. Ensuite nous avons vortexé chaque flacon de stock de billes de capture pendant au moins 15 secondes pour remettre soigneusement les billes en suspension. Après nous avons Pipeter le volume approprié de chaque perle de capture dans un tube étiqueté Perles de capture mixtes.

Ensuite nous avons ajouté 0,5 ml de tampon de lavage et centrifuger à 200 g pendant 5 minutes. Après nous avons jeté soigneusement le surnageant par aspiration.

Nous avons remis les billes en suspension dans le diluant pour billes de Sérum / plasma à une concentration finale de 50 μ l / test. Nous avons ensuite vortexé les billes de capture et incubé 15 minutes à température ambiante avant utilisation. A la fin nous avons fait passer nos échantillons sur un LSRII.

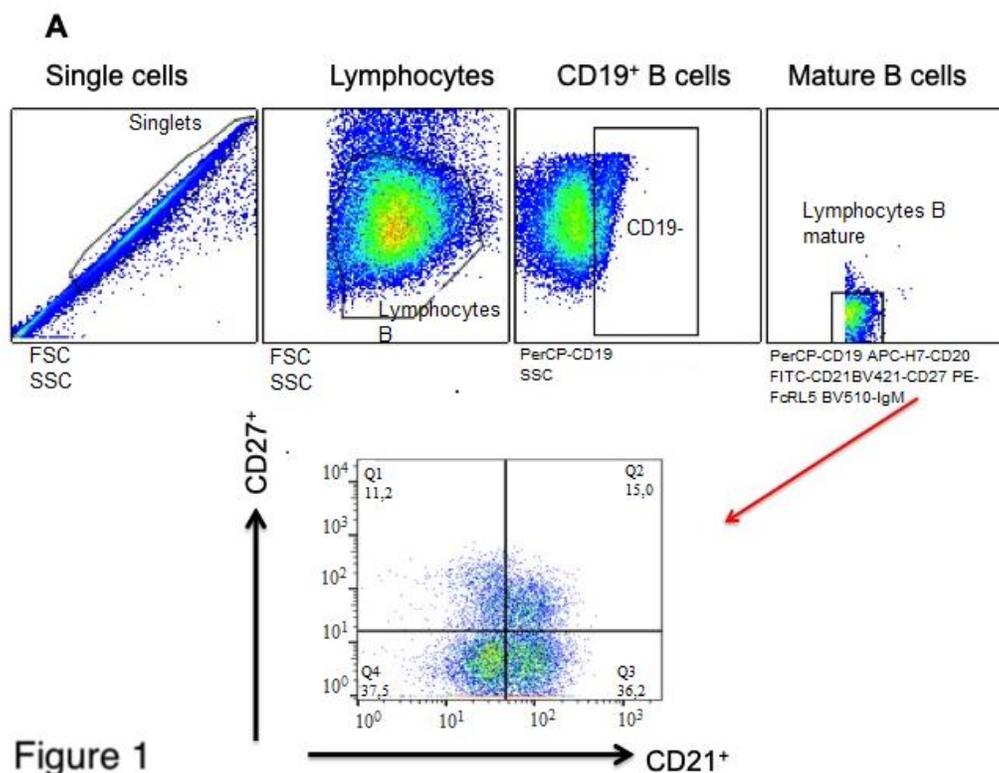


Figure 3: Différentes étapes aboutissant à la sélection des lymphocytes B[43].

La population totale de lymphocytes a été identifiée en fonction de leur taille (FSC) et leur granularité (SSC). Les lymphocytes B ont été définis comme des cellules exprimant CD19-PerCP de la population lymphocytaire. Nous avons analysé l'expression des IgM et CD27 à la surface des lymphocytes B CD19⁺. Les lymphocytes B naïves étaient définis comme les cellules CD10⁻, CD27⁻, les lymphocytes B classiques à mémoire (MBC) étaient définis comme les cellules CD21⁺, CD27⁺, les MBC activés comme les cellules CD21⁻, CD27⁺ et les lymphocytes B atypiques étaient définies comme CD21⁻, CD27⁻, FCRL5⁺ Cellules T-Bet⁺.

Tableau II: Les marqueurs de surface en fonction des sous-populations lymphocytaire B.

Marqueurs de différenciation	Lymphocytes B matures	Lymphocytes B naïves	Lymphocytes B mémoires classiques	Lymphocytes B mémoires activées	Lymphocytes B mémoires atypiques	Plasmocytes	Lymphocytes B CD11c
CD 10	-	-	-	-	-	-	-
CD 11C	+/-	-	-	-	+	-	+
CD 19	+	+	+	+	+	+	+
CD 20	+	+	+	+	+	-	+
CD 21	+	++	++	-	-	-	-
CD 27	+	-	+	+	-	+	-
FcRL5	+	+/-	+/-	+/-	+	-	+
T-Bet	-	-	-	-	+	-	+
IgM	+	+	+/-	+/-	+	-/+	+/-

Détermination des cytokines dans les échantillons de plasma :

Le dosage d'IL-17A, d'IFN- γ , de TNF, d'IL-10, d'IL-6, d'IL-4 et d'IL-2 humains ont été faits à partir du plasma en utilisant une matrice.

Un mélange à volume égal (24 μ L) d'échantillon de plasma et de population de billes avec des intensités de fluorescence discrètes marqués d'anticorps de capture de cytokines a été fait puis incubé à la température ambiante pendant 90 minutes.

Entre temps des étalons de chaque cytokine (plage 0 à 5000pg/ml) furent mélangés à des billes de capture spécifiques de cytokines. Après incubation les échantillons ainsi que les étalons ont été lavés pour éliminer le matériel non lié.

Ensuite 24 μ L d'anticorps monoclonal anti-cytokines humains couplé au fluorochrome phycoérythrine (PE) ont été ajoutées et les mélanges ont été incubés à nouveau pendant 90 minutes.

Après incubation les échantillons ont été passés sur un trieur de cellules activées par fluorescence (FACS) LSRII.

Enfin les échantillons et les étalons ont été analysés à l'aide du logiciel FCAP Array.

4.4. Saisie et Analyses des données :

Les données cliniques ont été enregistrées à l'aide du logiciel EPI Info 7.

Les données ont été analysées à l'aide de Graph Pad Prism (version 5.01) et des packages R version 3.5.1. Les différences statistiques ont été calculées en utilisant une analyse de variance unidirectionnelle (ANOVA) et le test t de Student. La corrélation non paramétrique (Spearman) a été utilisée pour les études de corrélation. Les valeurs sont présentées sous forme de moyenne \pm écart-type (ET). Une valeur de $p < 0,05$ a été considérée comme statistiquement significative.

4.5. Considérations éthiques :

Le protocole a été approuvé par le comité d'Ethique des facultés de Médecine et d'Odontostomatologie et de Pharmacie de l'Université des Sciences, des techniques et des Technologies de Bamako et également le comité d'éthique pour la recherche en santé du Burkina Faso.

RESULTATS

5. RESULTATS :

5.1. Résultats globaux :

L'âge moyenne chez les Mossi étaient de 32 ans et 7 adultes étaient infectés par une densité parasitaire moyenne de $13624 \pm 199,2$ parasites asexués/ μ l. Chez les Peulh adultes l'âge moyen était de 27 ans et nous n'avons trouvé aucune goutte épaisse positive chez eux. Dans le groupe des Peulh 18 volontaires étaient de sexe féminin tandis que dans le groupe des Mossi le sexe féminin était au nombre de 27. En ce qui concerne le niveau d'étude il n'y avait pas de différence entre les deux groupes. Cependant l'utilisation des moustiquaires était significativement élevée chez les Mossi avec 60,87% comparativement à 39,13% chez les Peulh ($p=0,0052$). Le taux d'hémoglobine moyen était de 12,75g/dl (11,65-14,4) chez les Peulh et de 12,60g/dl (12,03-13,30) chez les Mossi. Il n'y avait pas de différence significative en ce qui concerne la température entre les deux groupes ; respectivement de 36,25°C chez les Peulh et de 36,65°C chez les Mossi ($p=0,19$).

Nous avons vérifié les données cliniques suivants chez nos volontaires de l'étude : vertiges ; fatigue ; perte d'appétit ; vomissement ; courbatures ; toux ; diarrhée ; léthargie ; trouble de la conscience ; fièvre ; maux de tête ; palpitation ; déshydratation ; pâleur d'anémie ; ictère ; détresse respiratoire ; poumon anormal ; hépatomégalie et splénomégalie mais néanmoins aucun de ces signes n'apparaissaient.

Tableau III: Caractéristiques socio-démographiques des Peulh et Mossi vivant en sympatrie de l'étude

	Peulh(Fulani) N = 30	Mossi N = 30	P
Femmes : n (%)	18 (40)	27 (60)	0,01707
Hommes : n (%)	12 (80)	3 (20)	
Age (année) : moyenne (écart interquartile)	27 (21,00-37,00)	32 (26,25 - 36,75)	0,9141
Non Scolarisés : n (%)	16 (45,71)	19 (54,29)	0,6005
Scolarisés : n (%)	14 (56,00)	11 (44,00)	

Etude des sous-populations lymphocytaires dans la susceptibilité et la protection contre le paludisme chez deux groupes ethniques vivant en sympatrie au Burkina Faso.

Tableau IV: Donnée clinique (Température).

	Peulh(Fulani) N = 30	Mossi N = 30	<i>P</i>
Température (°C) : moyenne (écart interquartile)	36,25 (36,00-36,88)	36,65 (36,25-36,90)	0,1964

Tableau V: Données biologiques.

	Peulh(Fulani) N = 30	Mossi N = 30	<i>P</i>
Taux d'hémoglobine(g/dl) : Moyenne (écart interquartile)	12,75 (11,65-14,4)	12,60 (12,03-13,30)	0,6055
Densité parasitaire de <i>P. falciparum</i> moyenne ± SD	Pas de parasite détecté	13624 ± 199,2345	-

Tableau VI: Utilisation de moustiquaire.

	Peulh(Fulani) N = 30	Mossi N = 30	<i>P</i>
Utilisation de moustiquaire	18 (39,13)	28 (60,87)	0,0052

Nous avons constaté que les cellules CD11c⁺ B exprimant FcRL5 étaient significativement moins fréquentes chez les Peulh $23,93 \pm 1,15\%$ que chez les Mossi $34,08 \pm 1,70\%$ ($p=0,0001$) (figure5A). Nous avons ensuite vérifié parmi ces sous populations la proportion de celles qui expriment les IgM et nous avons constaté que la fréquence des cellules CD11c⁺ T-bet⁺ B⁺ exprimant les IgM⁺ était significativement plus élevée chez les Peulh $19,22 \pm 2,4\%$ que chez les Mossi $6,90 \pm 1,20\%$ ($p=0,0001$) (figure5B).

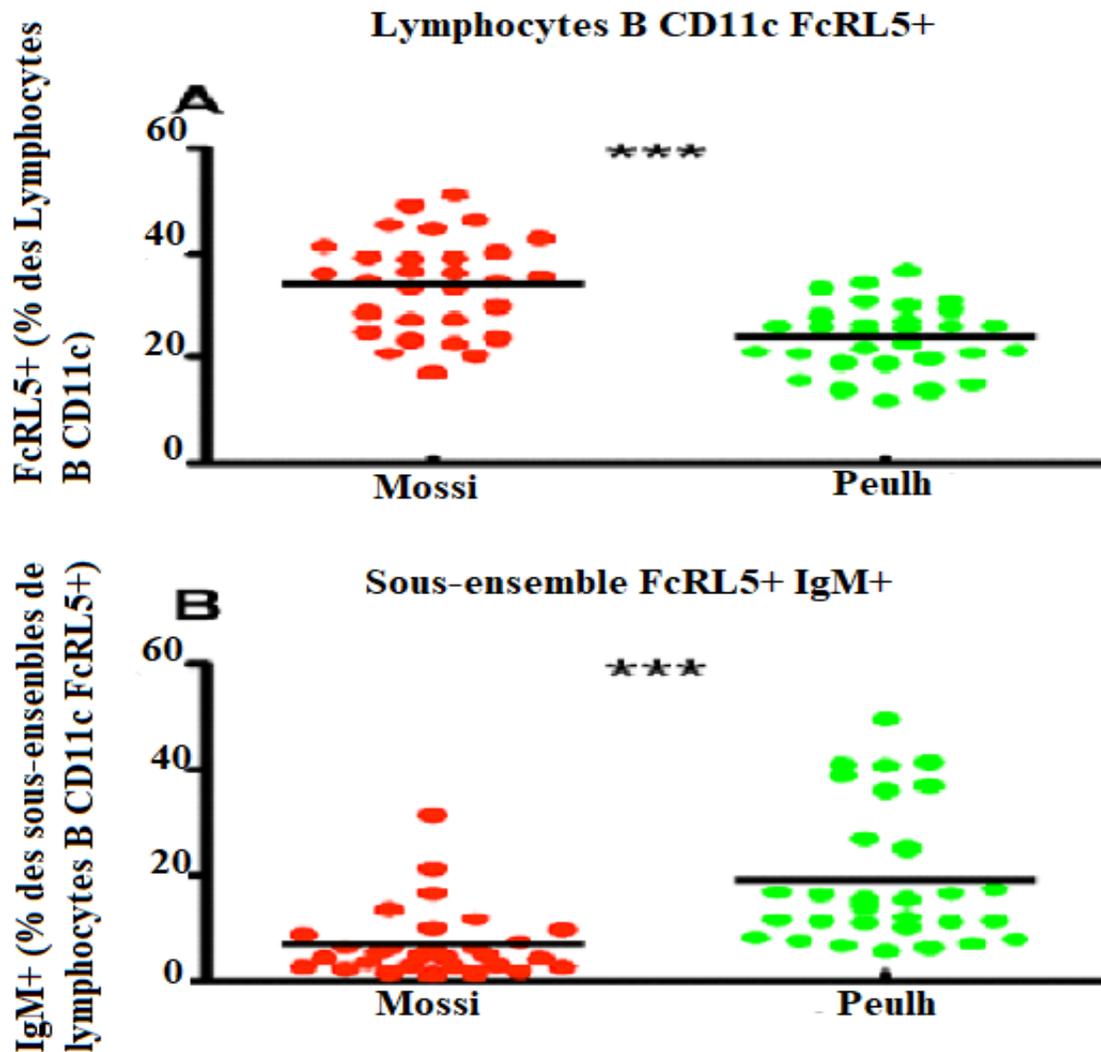


Figure 5: Fréquence des lymphocytes B exprimant CD11c et FcRL5 chez les Peulh et les Mossi.

Les fréquences des cellules mémoires B atypiques étaient similaires chez les Peulh et les Mossi respectivement de $36,34 \pm 2,22\%$ et de $38,18 \pm 1,78\%$ ($p=0,52$) (figure 5A). Néanmoins nous avons constaté que la fréquence des MBC atypiques exprimant IgM était de $34,64 \pm 2,57\%$ chez les Peulh et de $15,73 \pm 1,81\%$ chez les Mossi ($p=0,0002$). Elle était donc significativement plus élevées chez les Peulh que chez les Mossi (figure 5B).

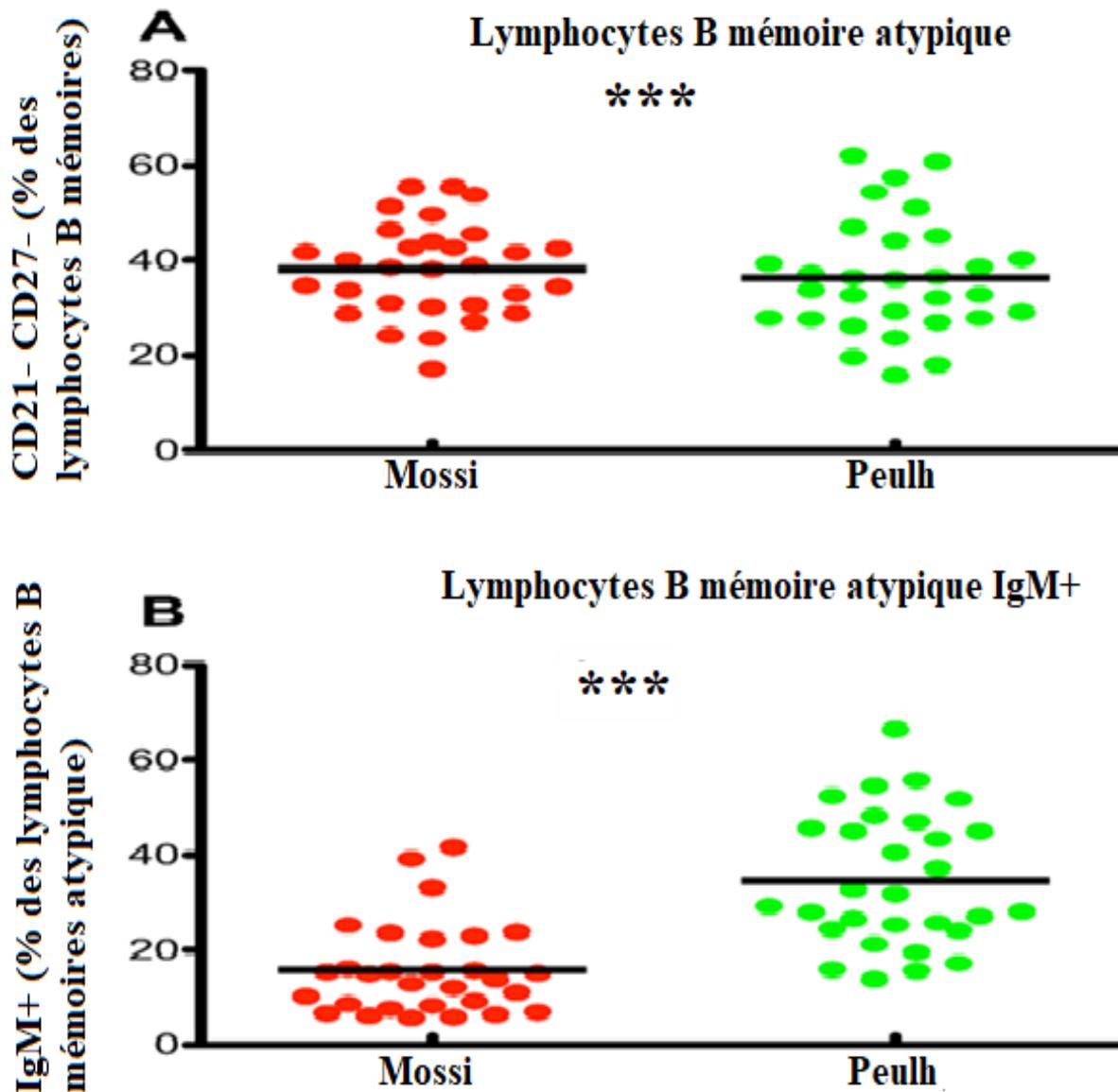


Figure 6: Fréquence des lymphocytes B mémoires atypiques IgM⁺ (MBC) chez les Peulh et les Mossi.

Les fréquences des cellules B naïves étaient similaires chez les Peulh et les Mossi ; respectivement de $27,98 \pm 1,61\%$ et de $27,98 \pm 1,39\%$ ($p=0,52$) (figure 6A). Par contre nous avons constaté que les fréquences des cellules B naïves IgM^+ étaient significativement plus élevées chez les Peulh $53,84 \pm 1,84\%$ que chez les Mossi $40,96 \pm 1,72\%$ ($p<0,0001$) (figure 6B).

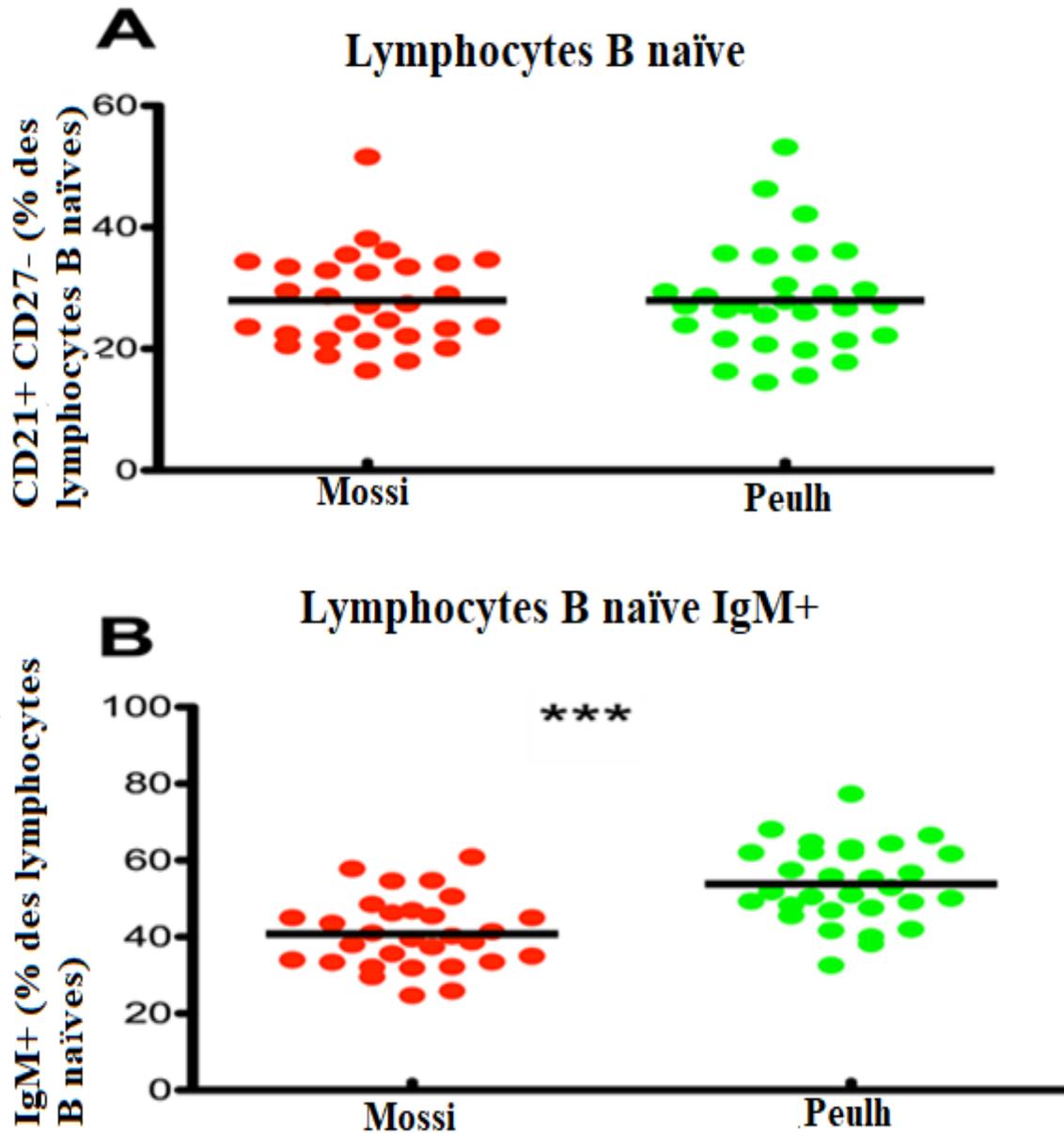


Figure 7: Fréquence des cellules B IgM^+ chez les Peulh et les Mossi.

Nous avons effectué le test de corrélation Pearson r (figure 7). Nous constatons que quelle que soit l'origine ethnique ; les niveaux de MBC atypique IgM^+ étaient fortement et positivement corrélés avec ceux des cellules B $\text{IgM}^+ \text{CD11c}^+ \text{FCRL5}^+$ ($r=0,89$; $p<0,001$) (figure 7A). Chez les Peulh, nous avons constaté qu'il n'y avait pas de corrélation entre les niveaux de MBC activés et les cellules B $\text{IgM}^+ \text{CD11c}^+ \text{FCRL5}^+$ ($r=-0,023$) (figure 7B).

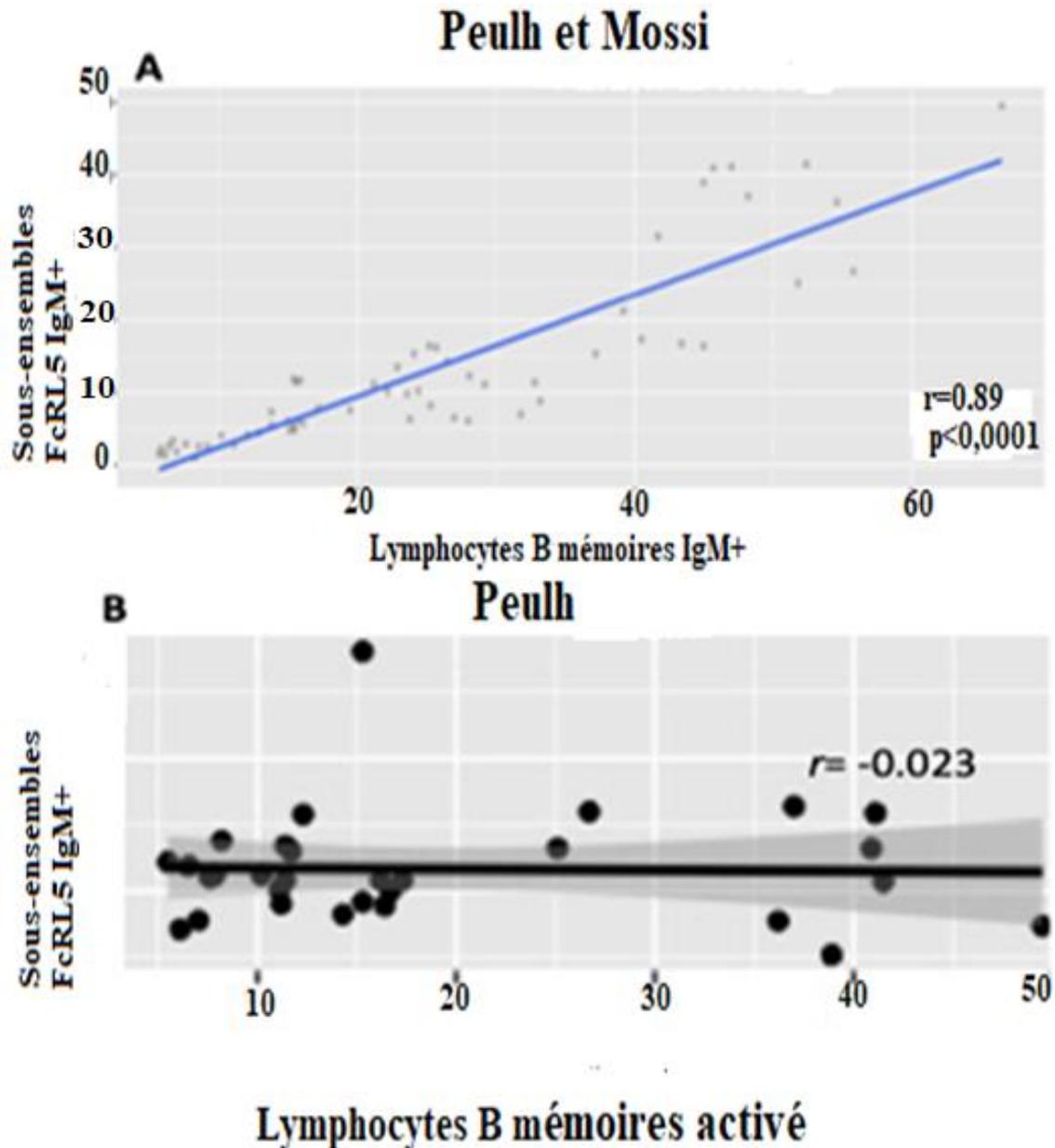


Figure 8: Les niveaux d'IgM + MBC atypiques en corrélation avec les cellules B IgM + CD11c exprimant FCRL5.

Les niveaux de chaque cytokine ont été répartis selon le groupe ethnique. Nous avons comparé les taux de cytokines chez les Peulh et les Mossi en tenant pas compte de la présence ou non d'une infection palustre. Les taux similaires d'IL-17A ($p=0,93$) ; (figure 8A), IFN- γ ($p=0,87$) ; (figure 8B), TNF ($p=0,91$) ; (figure 8C), IL-10 ($p=0,34$) ; (figure 8D), IL-6 ($p=0,99$) ; (figure 8E), IL-4 ($p=0,72$) ; (figure 8F), et IL-2 ($p=0,75$) ; (figure 8G) ont été trouvés dans les deux groupes.

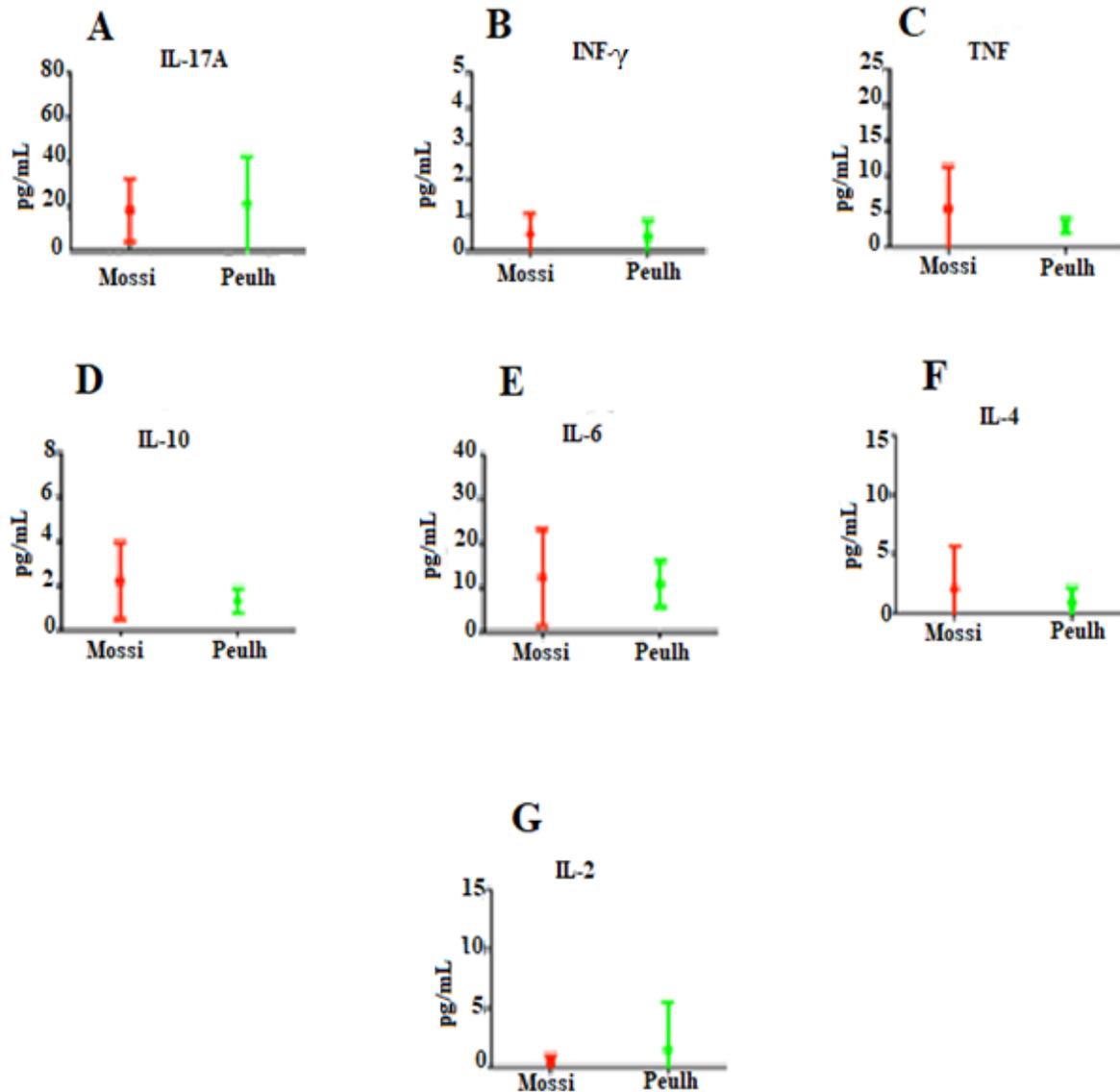


Figure 9: Taux de cytokines dans les surnageant de plasma chez les Peulh et les Mossi.

En PCR nous n'avons pas trouvé de volontaire Peulh infecté par le paludisme mais parcontre 5 volontaires Mossi étaient infecté par le paludisme a *P. falciparum*.

Tableau VII(1/2) : Résultat de la PCR.

Quantification Data

Well	Fluor	Target	Content	Sample	Cq	Cq Mean	Cq Std. Dev
A01	Cy5	Falciparum	Unkn	Peulh1	N/A	0.00	0.000
A02	Cy5	Falciparum	Unkn	Peulh2	N/A	0.00	0.000
A03	Cy5	Falciparum	Unkn	Peulh3	N/A	0.00	0.000
A04	Cy5	Falciparum	Unkn	Peulh4	N/A	0.00	0.000
A05	Cy5	Falciparum	Unkn	Peulh5	N/A	0.00	0.000
A06	Cy5	Falciparum	Unkn	Peulh6	N/A	0.00	0.000
A07	Cy5	Falciparum	Unkn	Peulh7	N/A	0.00	0.000
A08	Cy5	Falciparum	Unkn	Peulh8	N/A	0.00	0.000
A09	Cy5	Falciparum	Unkn	Peulh9	N/A	0.00	0.000
A10	Cy5	Falciparum	Unkn	Peulh10	N/A	0.00	0.000
A11	Cy5	Falciparum	Unkn	Peulh11	N/A	0.00	0.000
A12	Cy5	Falciparum	Unkn	Peulh12	N/A	0.00	0.000
B01	Cy5	Falciparum	Unkn	Peulh13	N/A	0.00	0.000
B02	Cy5	Falciparum	Unkn	Peulh14	N/A	0.00	0.000
B03	Cy5	Falciparum	Unkn	Peulh15	N/A	0.00	0.000
B04	Cy5	Falciparum	Unkn	Peulh16	N/A	0.00	0.000
B05	Cy5	Falciparum	Unkn	Peulh17	N/A	0.00	0.000
B06	Cy5	Falciparum	Unkn	Peulh18	N/A	0.00	0.000
B07	Cy5	Falciparum	Unkn	Peulh19	N/A	0.00	0.000
B08	Cy5	Falciparum	Unkn	Peulh20	N/A	0.00	0.000
B09	Cy5	Falciparum	Unkn	Peulh21	N/A	0.00	0.000
B10	Cy5	Falciparum	Unkn	Peulh22	N/A	0.00	0.000
B11	Cy5	Falciparum	Unkn	Peulh23	N/A	0.00	0.000
B12	Cy5	Falciparum	Unkn	Peulh24	N/A	0.00	0.000
C01	Cy5	Falciparum	Unkn	Peulh25	N/A	0.00	0.000
C02	Cy5	Falciparum	Unkn	peulh26	N/A	0.00	0.000
C03	Cy5	Falciparum	Unkn	Peulh27	N/A	0.00	0.000
C04	Cy5	Falciparum	Unkn	Peulh28	N/A	0.00	0.000

Tableau VIII(2/2) : Résultat de la PCR.

Well	Fluor	Target	Content	Sample	Cq	Cq Mean	Cq Std. Dev
C05	Cy5	Falciparum	Unkn	Peulh29	N/A	0.00	0.000
C06	Cy5	Falciparum	Unkn	Peulh30	N/A	0.00	0.000
C07	Cy5	Falciparum	Unkn	Mossi1	N/A	0.00	0.000
C08	Cy5	Falciparum	Unkn	Mossi2	N/A	0.00	0.000
C09	Cy5	Falciparum	Unkn	Mossi3	N/A	0.00	0.000
C10	Cy5	Falciparum	Unkn	Mossi4	N/A	0.00	0.000
C11	Cy5	Falciparum	Unkn	Mossi5	N/A	0.00	0.000
C12	Cy5	Falciparum	Unkn	Mossi6	N/A	0.00	0.000
D01	Cy5	Falciparum	Unkn	Mossi7	N/A	0.00	0.000
D02	Cy5	Falciparum	Unkn	Mossi8	N/A	0.00	0.000
D03	Cy5	Falciparum	Unkn	Mossi9	33.42	33.42	0.000
D04	Cy5	Falciparum	Unkn	Mossi10	N/A	0.00	0.000
D05	Cy5	Falciparum	Unkn	Mossi11	34.12	34.12	0.000
D06	Cy5	Falciparum	Unkn	Mossi12	33.24	33.24	0.000
D07	Cy5	Falciparum	Unkn	Mossi13	N/A	0.00	0.000
D08	Cy5	Falciparum	Unkn	Mossi14	N/A	0.00	0.000
D09	Cy5	Falciparum	Unkn	Mossi15	N/A	0.00	0.000
D10	Cy5	Falciparum	Unkn	Mossi16	34.95	34.95	0.000
D11	Cy5	Falciparum	Unkn	Mossi17	N/A	0.00	0.000
D12	Cy5	Falciparum	Unkn	Mossi18	13.06	13.06	0.000
E01	Cy5	Falciparum	Unkn	Mossi19	N/A	0.00	0.000
E02	Cy5	Falciparum	Unkn	Mossi20	N/A	0.00	0.000
E03	Cy5	Falciparum	Unkn	Mossi21	N/A	0.00	0.000
E04	Cy5	Falciparum	Unkn	Mossi22	N/A	0.00	0.000
E05	Cy5	Falciparum	Unkn	Mossi23	N/A	0.00	0.000
E06	Cy5	Falciparum	Unkn	Mossi24	N/A	0.00	0.000
E07	Cy5	Falciparum	Unkn	Mossi25	N/A	0.00	0.000
E08	Cy5	Falciparum	Unkn	Mossi26	N/A	0.00	0.000
E09	Cy5	Falciparum	Unkn	Mossi27	N/A	0.00	0.000
E10	Cy5	Falciparum	Unkn	Mossi28	N/A	0.00	0.000
E11	Cy5	Falciparum	Unkn	Mossi29	N/A	0.00	0.000
E12	Cy5	Falciparum	Unkn	Mossi30	N/A	0.00	0.000
F01	Cy5	Falciparum	Pos Ctrl	Ctrl +	13.54	13.54	0.000

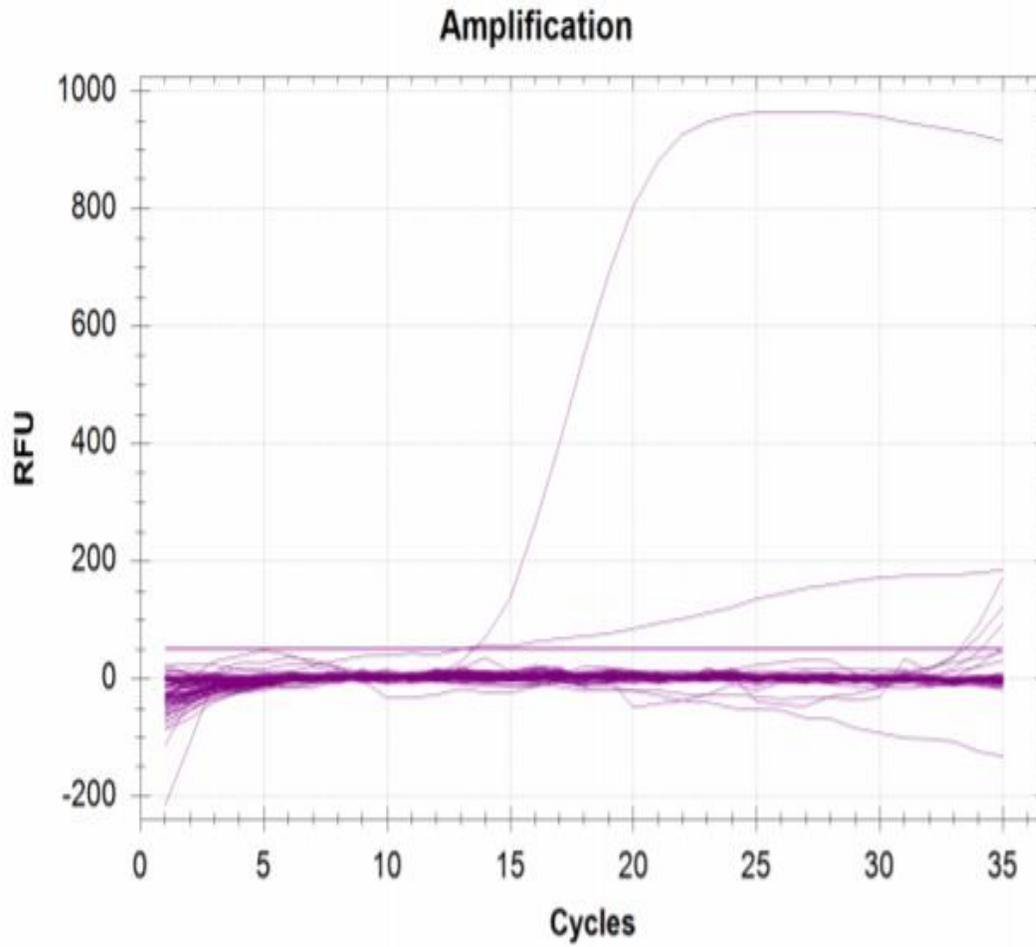


Figure 10: Résultat de la PCR.

DISCUSSION

6. DISCUSSION :

Limite de l'étude :

- Nous n'avons pas pu faire les gouttes épaisses nous-mêmes car exigence des scientifiques de notre pays hôte de limiter nos déplacements en ville.
- Nous n'avons pas pu faire de corrélation entre la parasitémie et les sous-populations lymphocytaire B car l'étude a été réalisée en période de faible transmission du paludisme.

Des études antérieures tentant de comprendre la raison de la protection relative des Peulh contre le paludisme se sont jusqu'à présent axées sur les réponses en anticorps principalement chez les adultes et nous n'avons pas assez de données sur les caractéristiques moléculaires et fonctionnelles des populations lymphocytaire B humaines qui contribuent à ces réponses améliorées en anticorps chez les Peulh comparativement aux groupes ethniques sympatriques. Dans cette étude transversale, nous nous sommes axés sur les réponses des cellules B dans deux populations sympatriques vivant au Burkina Faso qui ont été génétiquement isolées et naturellement exposées au paludisme au fil du temps.

Nous avons utilisé une approche exploratoire avec une cytométrie en flux ciblée pour analyser les différences interethniques dans la fréquence et l'immunophénotypage des sous-populations de lymphocytes B sanguins et nous avons trouvé que la fréquence des cellules B en circulation était similaire entre les deux groupes, respectivement de $9,72 \pm 0,39\%$ chez les Peulh et $9,66 \pm 0,60\%$ chez les Mossi.

Ce résultat concorde avec celui d'une étude réalisée au Mali en 2012 par Silvia Portugal et al., qui ont trouvé que la moyenne du pourcentage des lymphocytes B en circulation était similaire entre les adultes Peulh et les Dogon respectivement $13,6\%$ [95% IC : 11,3 – 15,94] et $14,2\%$ [95% IC : 11,86 – 16,60] ($p < 0,001$) mais significativement inférieur à ceux des adultes américains $34,8\%$ [95% IC : 26,56 – 42,96] [3].

Ces résultats suggèrent que le pourcentage des lymphocytes B en circulation est similaire entre deux groupes ethniques sympatriques et augmente en zone impaludé.

Nous avons trouvé que la fréquence des lymphocytes B mémoire atypique (MBC) était similaire chez les Peulh et les Mossi respectivement de $36,34 \pm 2,22\%$ et $38,18 \pm 1,78\%$ ($p = 0,52$).

Ce résultat concorde avec celui d'une étude réalisée en 2012 au Mali par Silvia Portugal et al., qui ont trouvé que la moyenne du pourcentage des lymphocytes B à mémoire atypique était similaire entre les adultes Peulh et les Dogon ; respectivement de 28,3% [95% IC : 22,73 – 34,88] et 29,3% [95% IC : 25,06 – 33,55] ($p < 0,0001$)[3] mais aussi des études menées par Greta E. Weiss et al., en 2009 et en 2011 au Mali ont montré que la population atypique de MBC est considérablement augmentée chez les adultes et les enfants maliens exposés à l'infection à *P. falciparum* dès l'âge de 2 ans par rapport aux témoins adultes américains en bonne santé et était due à une transmission intense du paludisme[44], [45].

Nous pensons que la similarité de cette fréquence dans notre étude peut être due à l'exposition uniforme des deux groupes ethniques au paludisme.

Ces résultats suggèrent que le pourcentage des cellules B à mémoire atypique est similaire entre les populations sympatriques et augmente chez les volontaires des zones d'endémie.

Cependant la fréquence des MBC atypique exprimant IgM était plus élevée chez les Peulh $34,64 \pm 2,57\%$ comparativement aux Mossi $15,73 \pm 1,81\%$ ($p = 0,0002$) ceci est soutenu par une étude transversale réalisée au Pérou et au Mali en 2011 par Greta E. Weiss et al., qui ont trouvé que le pourcentage des cellules B à mémoire atypique augmente avec l'infection à *P. falciparum*[45]. Et également une étude réalisée en 2016 par Krishnamurty, Akshay T. et al., a démontré que cette sous-population exprime une haute affinité et répondent rapidement à la production d'anticorps[46].

Ces données confirment notre hypothèse de la faible susceptibilité des Peulhs à *P. falciparum*.

Nous avons trouvé que la fréquence des lymphocytes B naïves était similaire entre les deux groupes ethniques sympatriques respectivement de $27,98 \pm 1,61\%$ et de $27,98 \pm 1,39\%$ ($p = 0,52$). Il y'a une concordance entre ce résultat et celui trouvé par Silvia Portugal et al., en 2012 au Mali. Ils ont trouvé que le pourcentage moyen des cellules B naïves était similaire entre les Peulh 35,6% [95% IC : 31,55 – 39,63] et les Dogon 39,4% [95% IC : 35,33 – 43,52][3].

Néanmoins nous avons trouvé que la fréquence des cellules B naïves IgM+ était élevée chez les Peulh $53,84 \pm 1,84\%$ que chez les Mossi $40,96 \pm 1,72\%$ ($p < 0,0001$) et ceci renforce l'hypothèse d'une plus grande réponse à l'infection chez les Peulh.

Ensuite nous avons essayé de voir le sous-ensemble CD11c+ B exprimant la fréquence FcRL5 chez ces deux groupes ethniques sympatriques.

Ce sous ensemble qui constitue un marqueur sélectif pour les cellules B qui répondent à l'infection à *P. falciparum* était significativement plus faibles chez les Peulh $23,93 \pm 1,15\%$ comparativement aux Mossi $34,08 \pm 1,70\%$ ($p=0,0001$).

Également nous avons poussé nos analyses plus loin pour vérifier parmi ces sous-ensembles la proportion de ceux qui expriment les IgM et nous avons trouvé que la fréquence de cette proportion était plus élevée chez les Peulh $19,22 \pm 2,40\%$ que chez les Mossi $6,90 \pm 1,20\%$ ($p=0,0001$).

Nous avons utilisé le test de corrélation Pearson r et nous avons trouvé que les niveaux d'IgM+ MBC atypique étaient fortement et positivement corrélés avec ceux des cellules B IgM+ CD11c exprimant FCRL5 ($r=0,89$ et $p=0,0001$) (figure7A),

Ce qui suggère que l'exposition répétée au paludisme peut conduire à une altération de la réponse immunitaire ; un phénomène exacerbé chez les Mossi qui sont plus sensibles par rapport aux Peulh.

Dans cette étude, nous avons également mesuré les cytokines des voies Th1/Th2 et Th17. Nous n'avons pas trouvé de différence significative des niveaux d'IL17A ($p=0,93$), IFN- γ ($p=0,87$), TNF ($p=0,91$), IL-10 ($p=0,34$), IL-6 ($p=0,99$), IL-4 ($p=0,72$), IL-2 ($p=0,75$) entre les deux groupes ethniques sympatriques.

Cependant Boström S et al. ont identifié que des niveaux plus élevés de toutes les cytokines détectables ont été trouvés dans le groupe Peulh lors de la comparaison de tous les enfants Peulh à tous les enfants Dogon, indépendamment de leur statut infectieux[47].

Nous pensons que la similarité du niveau des cytokines entre nos deux groupes peut être expliquée par l'absence d'infection à *P. falciparum* chez la majeure partie des volontaires de notre étude lors des prélèvements sanguins.

Au cours de cette étude nous n'avons pas trouvé d'infection à *P. falciparum* dans le groupe ethnique Peulh mais par contre 7 volontaires Mossi étaient affectés par le paludisme à *P. falciparum* avec une parasitémie moyenne de $13624 \pm 199,2$ Trophozoïtes/microlitre de sang.

Ce résultat concorde avec le résultat d'une étude antérieure effectuée au Burkina Faso notamment ceux de Serme S. Samuel et al., qui ont trouvé que 39,11% des Peulh et 68,75% des Mossi étaient affectés par le paludisme sur une population d'étude de 461 personnes [48].

Mais également avec le résultat d'une étude effectuée au Mali par Dolo A et al.[49], qui ont trouvé en Septembre 2000 que les Peulh sont moins affectés par le paludisme à *P. falciparum* comparativement aux Dogon (0.8% chez les Peulh et 2.7% chez les Dogon; $P = 0.03$).

Mais comparativement à ces études le fait de ne pas trouver de parasitémie chez les Peulh dans notre étude peut s'expliquer par sa réalisation durant la période de faible transmission du paludisme dans la zone d'étude.

Dans cette étude nous n'avons pas pu établir de corrélation entre l'usage de moustiquaire imprégnée et la parasitémie dans les deux groupes ethniques sympatriques néanmoins nous avons trouvé que dans la population d'étude 18 volontaires Peulh et 28 volontaires Mossi faisait usage des moustiquaires imprégnées d'insecticide.

CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

7. CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS :

7.1. Conclusion :

Cette étude montre clairement une diminution de la proportion de lymphocytes B CD11c exprimant FcRL5 chez les adultes Peulh qui étaient plus protégés contre les épisodes cliniques et montraient une immunité anti-*Plasmodium falciparum* (Pf) robuste.

Au fur et à mesure que nous aurons un aperçu de la signification fonctionnelle de la diminution des niveaux de lymphocytes B CD11c exprimant FcRL5 et d'autres facteurs immunitaires qui ont été impliqués dans le paludisme ainsi que dans les mécanismes des maladies inflammatoires, il y aura un espoir d'exploiter ces processus, comme outils et stratégies pour développer des vaccins et cibler des découvertes thérapeutiques.

Néanmoins cette étude n'a pas été en mesure d'évaluer une relation causale entre les cellules CD11c B exprimant FcRL5 et l'immunité contre le paludisme, mais elle démontre clairement l'accumulation de cellules CD11c B exprimant FcRL5 dans le sang périphérique chez les individus naturellement exposés à cette maladie.

7.2. Recommandations :

Il sera important d'étudier davantage le rôle et la régulation de ces sous-populations pendant l'infection à *P. falciparum*.

Pour l'instant la dynamique d'acquisition de ce sous-ensemble n'est pas connue. Néanmoins une étude longitudinale prenant en compte de tels aspects pourrait élucider les mécanismes d'acquisition du sous-ensemble de l'CD11c exprimant FcRL5.

Cela aidera à comprendre les mécanismes de protection contre le paludisme chez les individus naturellement exposés à cette maladie.

REFERENCES

8. REFERENCES :

- [1] L. H. Miller, D. I. Baruch, K. Marsh, and O. K. Doumbo, "The pathogenic basis of malaria," *Nature*. 2002.
- [2] D. J. Weatherall *et al.*, "Malaria and the red cell.," *Hematology / the Education Program of the American Society of Hematology. American Society of Hematology. Education Program*. 2002.
- [3] S. Portugal *et al.*, "B cell analysis of ethnic groups in Mali with differential susceptibility to malaria," *Malar. J.*, 2012.
- [4] C. Arama, J. E. Quin, B. Kouriba, A. K. Ö. Farrants, M. Troye-Blomberg, and O. K. Doumbo, "Epigenetics and malaria susceptibility/protection: A missing piece of the puzzle," *Frontiers in Immunology*. 2018.
- [5] D. Modiano *et al.*, "Different response to *Plasmodium falciparum* malaria in West African sympatric ethnic groups," *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 1996.
- [6] C. Arama *et al.*, "Ethnic differences in susceptibility to malaria: What have we learned from immuno-epidemiological studies in West Africa?," *Acta Tropica*. 2015.
- [7] A. C. Allison, "Genetic control of resistance to human malaria," *Current Opinion in Immunology*. 2009.
- [8] C. Sundling *et al.*, "B cell profiling in malaria reveals expansion and remodeling of CD11c+ B cell subsets," *JCI Insight*, 2019.
- [9] A. B. Tiono, S. B. Sirima, and K. Hamed, "Fulani show decreased susceptibility to *Plasmodium falciparum* infection versus Mossi: Data from a community-wide screening and treatment of asymptomatic carriers in Burkina Faso," *Malaria Journal*. 2013.
- [10] A. Nerlich, "Paleopathology and Paleomicrobiology of Malaria," in *Paleomicrobiology of Humans*, 2016.
- [11] P. C. Bull, B. S. Lowe, M. Kortok, C. S. Molyneux, C. I. Newbold, and K. Marsh, "Parasite antigens on the infected red cell surface are targets for naturally acquired immunity to malaria," *Nat. Med.*, 1998.
- [12] Nadia Saïdani, "No Title," Centre hospitalier de Cornouaille, 2008.
- [13] T. W. LeBien and T. F. Tedder, "B lymphocytes: How they develop and function," *Blood*, 2008.

- [14] R. Carsetti, "The development of B cells in the bone marrow is controlled by the balance between cell-autonomous mechanisms and signals from the microenvironment," *Journal of Experimental Medicine*. 2000.
- [15] M. Shapiro-Shelef and K. C. Calame, "Regulation of plasma-cell development," *Nature Reviews Immunology*. 2005.
- [16] S. Sukumar and M. S. Schlissel, "Receptor Editing as a Mechanism of B Cell Tolerance," *J. Immunol.*, 2011.
- [17] G. P. Sims, R. Ettinger, Y. Shirota, C. H. Yarboro, G. G. Illei, and P. E. Lipsky, "Identification and characterization of circulating human transitional B cells," *Blood*, 2005.
- [18] J. B. Chung, M. Silverman, and J. G. Monroe, "Transitional B cells: Step by step towards immune competence," *Trends in Immunology*. 2003.
- [19] R. Carsetti, M. M. Rosado, and H. Wardemann, "Peripheral development of B cells in mouse and man," *Immunological Reviews*. 2004.
- [20] K. Pieper, B. Grimbacher, and H. Eibel, "B-cell biology and development," *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2013.
- [21] C. C. Goodnow, "Chance encounters and organized rendezvous," *Immunological Reviews*. 1997.
- [22] M. P. Cancro, "Peripheral B-cell maturation: The intersection of selection and homeostasis," *Immunological Reviews*. 2004.
- [23] S. A. Oracki, J. A. Walker, M. L. Hibbs, L. M. Corcoran, and D. M. Tarlinton, "Plasma cell development and survival," *Immunological Reviews*. 2010.
- [24] Q. Vos, A. Lees, Z. Q. Wu, C. M. Snapper, and J. J. Mond, "B-cell activation by T-cell-independent type 2 antigens as an integral part of the humoral immune response to pathogenic microorganisms," *Immunological Reviews*. 2000.
- [25] A. Weintraub, "Immunology of bacterial polysaccharide antigens," *Carbohydrate Research*. 2003.
- [26] M. Balázs, F. Martin, T. Zhou, and J. F. Kearney, "Blood dendritic cells interact with splenic marginal zone B cells to initiate T-independent immune responses," *Immunity*, 2002.

- [27] R. Elgueta, V. C. De Vries, and R. J. Noelle, "The immortality of humoral immunity," *Immunological Reviews*. 2010.
- [28] F. D. Batista and N. E. Harwood, "The who, how and where of antigen presentation to B cells," *Nature Reviews Immunology*. 2009.
- [29] H. Qi, J. G. Egen, A. Y. C. Huang, and R. N. Germain, "Extrafollicular activation of lymph node B cells by antigen-bearing dendritic cells," *Science (80-.)*, 2006.
- [30] K. Reif *et al.*, "Balanced responsiveness to chemoattractants from adjacent zones determines B-cell position," *Nature*, 2002.
- [31] Y. S. Choi *et al.*, "ICOS Receptor Instructs T Follicular Helper Cell versus Effector Cell Differentiation via Induction of the Transcriptional Repressor Bcl6," *Immunity*, 2011.
- [32] S. Crotty, "Follicular Helper CD4 T Cells (T_{FH})," *Annu. Rev. Immunol.*, 2011.
- [33] D. Paus, G. P. Tri, T. D. Chan, S. Gardam, A. Basten, and R. Brink, "Antigen recognition strength regulates the choice between extrafollicular plasma cell and germinal center B cell differentiation," *J. Exp. Med.*, 2006.
- [34] G. D. Victora *et al.*, "Germinal center dynamics revealed by multiphoton microscopy with a photoactivatable fluorescent reporter," *Cell*, 2010.
- [35] G. Lanzi *et al.*, "Different molecular behavior of CD40 mutants causing hyper-IgM syndrome," *Blood*, 2010.
- [36] K. Agematsu, S. Hokibara, H. Nagumo, K. Shinozaki, S. Yamada, and A. Komiyama, "Plasma cell generation from B-lymphocytes via CD27/CD70 interaction," *Leukemia and Lymphoma*. 1999.
- [37] K. Agematsu *et al.*, "CD27/CD70 interaction directly drives B cell IgG and IgM synthesis," *Eur. J. Immunol.*, 1995.
- [38] C. D. C. Allen, T. Okada, and J. G. Cyster, "Germinal-Center Organization and Cellular Dynamics," *Immunity*. 2007.
- [39] L. J. McHeyzer-Williams and M. G. McHeyzer-Williams, "ANTIGEN-SPECIFIC MEMORY B CELL DEVELOPMENT," *Annu. Rev. Immunol.*, 2005.
- [40] K. L. Calame, K.-I. I. Lin, and C. Tunyaplin, "Regulatory mechanisms that determine the development and function of plasma cells," *Annu Rev Immunol*, 2003.

- [41] J. F. Fecteau, A. Roy, and S. Néron, "Peripheral blood CD27+ IgG+ B cells rapidly proliferate and differentiate into immunoglobulin-secreting cells after exposure to low CD154 interaction," *Immunology*, 2009.
- [42] U. Klein, K. Rajewsky, and R. Küppers, "Human immunoglobulin (Ig)M+IgD+ peripheral blood B cells expressing the CD27 cell surface antigen carry somatically mutated variable region genes: CD27 as a general marker for somatically mutated (memory) B cells," *J. Exp. Med.*, 1998.
- [43] W. G. Finn, K. M. Carter, R. Raich, L. M. Stoolman, and A. O. Hero, "Analysis of clinical flow cytometric immunophenotyping data by clustering on statistical manifolds: Treating flow cytometry data as high-dimensional objects," *Cytom. Part B - Clin. Cytom.*, 2009.
- [44] G. E. Weiss *et al.*, "Atypical Memory B Cells Are Greatly Expanded in Individuals Living in a Malaria-Endemic Area," *J. Immunol.*, 2009.
- [45] G. E. Weiss *et al.*, "A positive correlation between atypical memory B cells and *plasmodium falciparum* transmission intensity in cross-sectional studies in Peru and Mali," *PLoS One*, 2011.
- [46] A. T. Krishnamurty *et al.*, "Somatically Hypermutated Plasmodium-Specific IgM+ Memory B Cells Are Rapid, Plastic, Early Responders upon Malaria Rechallenge," *Immunity*, 2016.
- [47] S. Boström *et al.*, "Changes in the levels of cytokines, chemokines and malaria-specific antibodies in response to *Plasmodium falciparum* infection in children living in sympatry in Mali," *Malar. J.*, 2012.
- [48] S. S. Samuel *et al.*, "Prevalence of *P. falciparum* Gametocyte Carrying between Two Sympatric Ethnic Groups Living in Seasonal Malaria Transmission Setting of Burkina Faso after Universal Bed Nets Coverage Campaigns," *Int. J. Trop. Dis. Heal.*, 2019.
- [49] A. Dolo *et al.*, "Difference in susceptibility to malaria between two sympatric ethnic groups in Mali," *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 2005.

ANNEXES

9. ANNEXES :

FICHE D'ENQUÊTE

Data Entry Form: EPIMAP

Patient_Name

Patient_ID

Visite_Date

Demographics

Age

Gender

Ethnic_Group

Marital_Status

Schooling

Education_Level

Residence

Etude des sous-populations lymphocytaires dans la susceptibilité et la protection contre le paludisme chez deux groupes ethniques vivant en sympatrie au Burkina Faso.

Body_Weight

Height

Axillary_temperature

Medical History

Fever

Headache

Palpitation

Dizziness

Fatigue

Lost Of Appetite

Vomitting

Abdominal Pain

Body/Joint/Muscle Pain

Cough

Diarrhoea

Etude des sous-populations lymphocytaires dans la susceptibilité et la protection contre le paludisme chez deux groupes ethniques vivant en sympatrie au Burkina Faso.

Lethargy	<input type="text"/>
Consciousness Disorders	<input type="text"/>
Self Reported Symptom 1	<input type="text"/>
Self Reported Symptom 2	<input type="text"/>
Self Reported Symptom 3	<input type="text"/>

History Of Drug Treatment

Recent Antimalarial Intake	<input type="text"/>
If Yes, Which One?	<input type="text"/>
Date Of Start	<input type="text"/>
Date Of End	<input type="text"/>
Recent Intake Of Other Drug	<input type="text"/>
Specify Other Drug	<input type="text"/>
Other Drug Start	<input type="text"/>
Other Drug End	<input type="text"/>

Clinical Examination

Deshydration	<input type="text"/>
Malnutrition	<input type="text"/>
Anaemia/Paleness	<input type="text"/>

Etude des sous-populations lymphocytaires dans la susceptibilité et la protection contre le paludisme chez deux groupes ethniques vivant en sympatrie au Burkina Faso.

<p>Icter <input type="text"/></p> <p>Respiratory Distress <input type="text"/></p> <p>Abnormal Examination of the Lungs <input type="text"/></p> <p>Hepatomegaly <input type="text"/></p> <p>Splenomegaly <input type="text"/></p> <p>Others <input type="text"/></p>	
<p>Prevention Tools and Drug used for Prevention</p> <p>Any Drug/Tools For Prevention <input type="text"/></p> <p>Bednet Used <input type="text"/></p> <p>Antimalarial Drug For Prevention <input type="text"/></p> <p>Other Tool for Prevention <input type="text"/></p> <p>If No, Reasons <input type="text"/></p> <p>Own Bednet? <input type="text"/></p> <p>Bednet Last Night? <input type="text"/></p> <p>Bednet Impregnated? <input type="text"/></p> <p>How He/She Get Bednet? <input type="text"/></p>	
<p>Laboratory</p> <p>Thick Smear Done <input type="text"/></p>	

Parasite_Species	<input type="text"/>
Confetti Done	<input type="text"/>
Haemoglobin Level Measured	<input type="text"/>
Haemoglobin Level	<input type="text"/>
Blood Collected For Immunological Evaluation?	<input type="text"/>

TECHNIQUE DE LA GOUTTE EPAISSE

Le volume de sang utilisé est, pour une surface de lecture moindre, plus important que pour l'étalement frais.



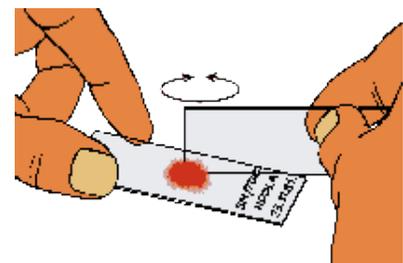
Matériel nécessaire

► Il faut le même matériel pour l'hygiène et le prélèvement que pour l'étalement frais. La lamelle est inutile, mais il faut une 2^{ème} lame.

Réalisation

La goutte

Après avoir piqué le bout du doigt, on procède de la même façon que pour l'étalement frais, mais on dépose 1 goutte de sang au centre de la lame ; avec le coin d'une autre lame, on étale le sang par un mouvement tournant pour défibriner le sang.



► Ensuite, toujours avec le coin de la 2^{ème} lame, on étale le sang pour obtenir un cercle d'un centimètre de diamètre.

La coloration

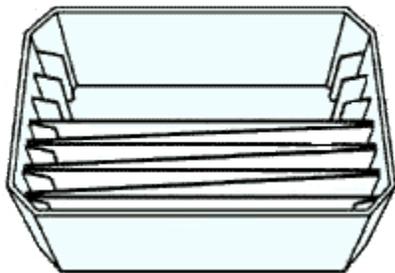
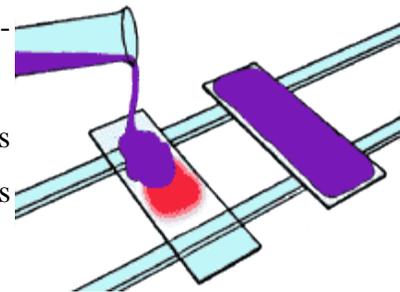
▶ Il faut avoir sur la paillasse :

- Du **Giemsa**; dilué à 5 ou 10%
- Une éprouvette graduée (10, 50 ou 100ml, selon le nombre de lames à colorer) pour diluer le Giemsa ;
- 2 baguettes de verre pour poser les lames lors de la coloration. S'il y a beaucoup de lames à colorer il est préférable d'utiliser une cuve à coloration ;
- Un minuteur (ou montre) ;
- Un portoir pour sécher les lames en position verticale ;
- De l'eau claire (du robinet ou filtrée) pour rincer les lames.

▶ Le sang est d'abord mis à sécher à température ambiante à l'abri du soleil. La coloration se fait, sans fixation préalable, avec une solution aqueuse de Giemsa.

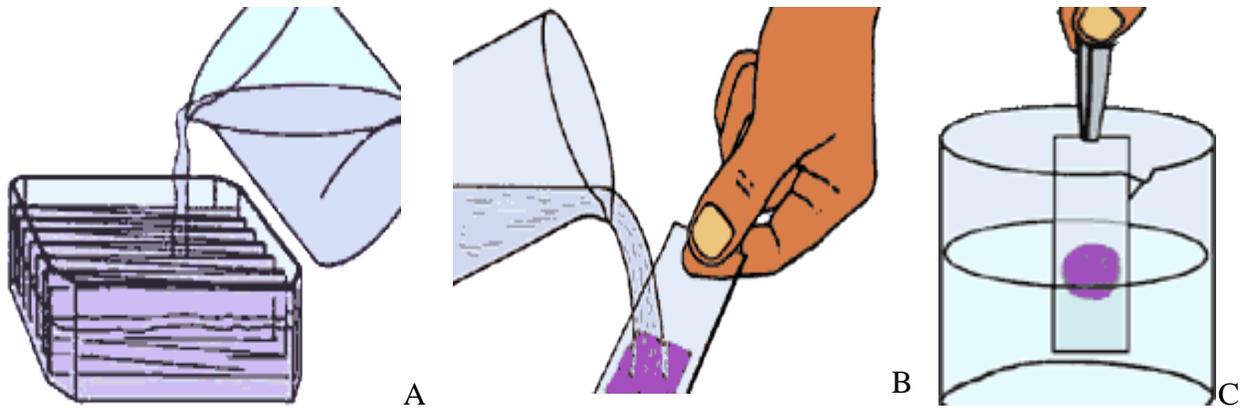
▶ Les lames sont posées sur les 2 baguettes de verre, sang au-dessus.

▶ Si on utilise une cuve à coloration, il faut prendre garde que les faces des lames sur lesquelles se trouve le sang ne se touchent pas (disposition en "Z" - voir dessin ci-dessous).

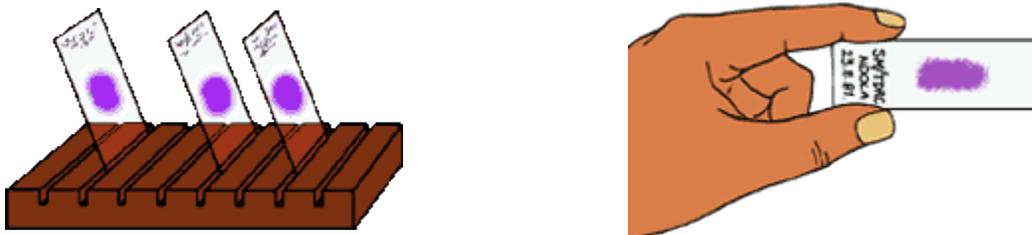


▶ Les lames sont recouvertes de Giemsa pendant 20 à 40 mn à l'abri du soleil. Si elles sont placées sur les baguettes de verre, on fait couler le Giemsa sur les lames et on les laisse en place. Si elles sont dans une cuve à coloration, on remplit celle-ci de Giemsa de telle sorte qu'elles en soient recouvertes.

▶ La coloration terminée, on rince les lames à l'eau claire sans faire couler le jet directement sur le sang coloré ce qui risquerait de le décoller de la lame. On peut aussi les immerger dans une cuve contenant de l'eau claire.



▶ Après coloration on laisse égoutter les lames en position verticale sur un portoir.



▶ Les lames peuvent être conservées telles quels dans des boîtes de rangement, mais il ne faut pas oublier d'indiquer sur chacune d'elles le nom (ou le numéro) de la personne prélevée, le lieu et la date du prélèvement : on peut graver sur la lame avec une pointe diamant ou bien écrire sur une étiquette collée.

Lecture

▶ La lecture se fait au microscope au grossissement 100x avec l'huile à immersion. Les trophozoïtes apparaissent colorés en bleu, avec le noyau en rouge, et sont facilement visibles.

TECHNIQUE DE PRELEVEMENT SANGUIN

La ponction veineuse permettant un prélèvement de sang est un acte quotidien indispensable pour rechercher une anomalie sanguine ; c'est aussi le premier temps du traitement d'urgence qu'est l'administration intra-veineuse d'un médicament. Ce geste ne souffre pas la médiocrité.

Matériel

Il nécessite :

- Un garrot propre.
- Une aiguille fine à biseau court, stérile et à usage unique, et un dispositif de prélèvement veineux **stérile et à usage unique**.

- Ou mieux : un système de prélèvement sous vide avec tube sous vide aiguille adaptée à biseau court et corps de pompe appelé aussi tulipe. Ce corps de pompe peut être réutilisé après nettoyage à l'eau et au savon.

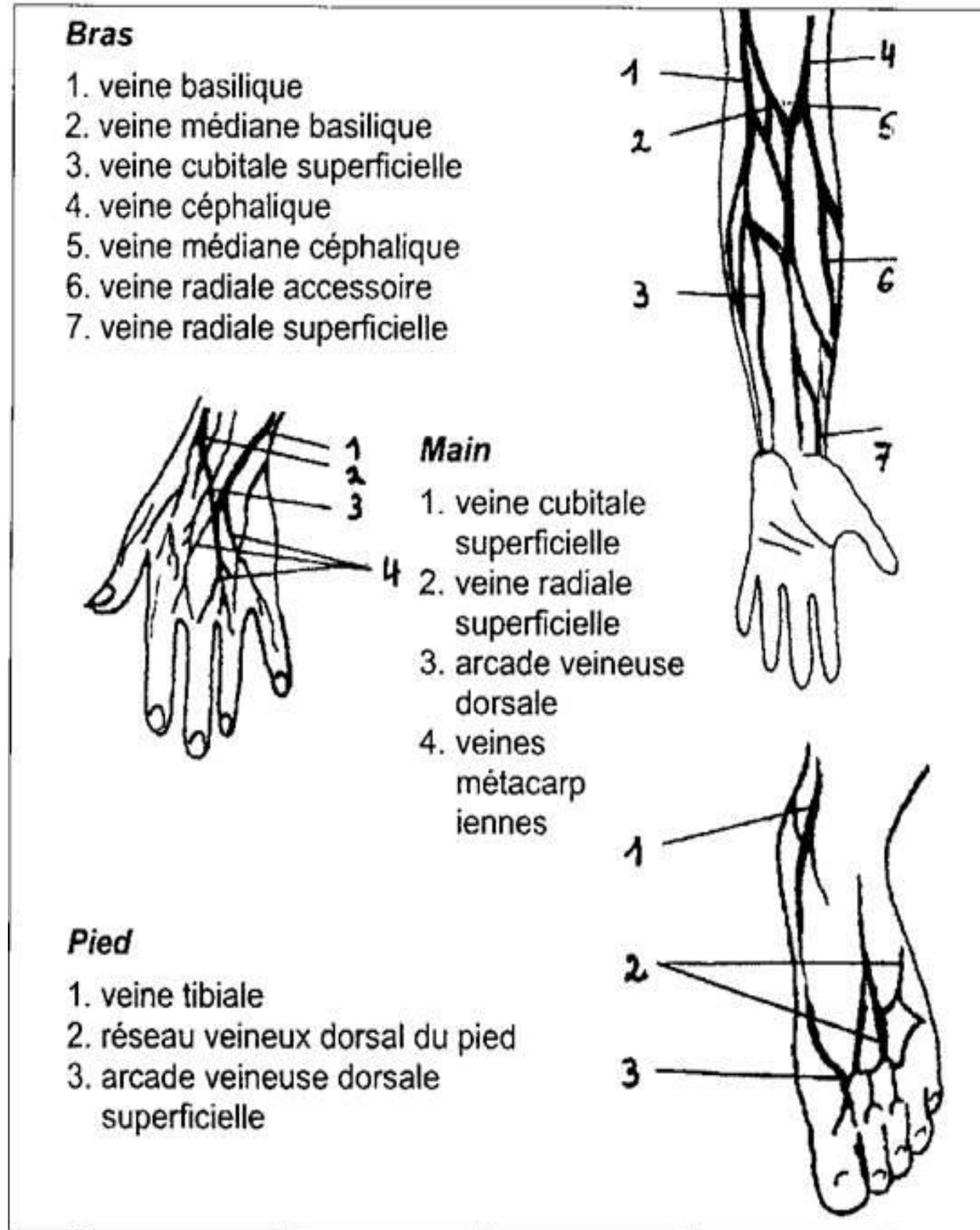
Le prélèvement à la seringue doit être prohibé

- Des compresses.
- Les tubes spécifiques destinés à tel ou tel type d'examen (NFS, sérologie, coagulation etc.).
- Un portoir ou équivalent pour poser les tubes.
- Du sparadrap ou pansement.
- Un essuie-main pour mettre sous le bras du patient.
- Une chaise et une table ou un fauteuil de prélèvement pour le patient ainsi qu'un autre siège pour le soignant.
- Un nettoyeur de surface (s'assurer de la décontamination des surfaces de travail).

Technique de ponction

- Installer le patient en décubitus dorsal, ou assis le bras reposant sur une surface dure **jamais debout** (car risque de malaise).
- Se laver les mains soigneusement et mettre des gants si possibles.
- Rassurer le malade, et lui expliquer la raison de ce prélèvement++
- Choisir une veine de gros calibre afin de minimiser l'irritation de la veine ; le meilleur choix est une veine du membre supérieur (voir schéma).
 - Veine céphalique,
 - Veine basilique,
 - Veine cubitale,
 - Veine radiale,
 - Veine dorsale de la main (douloureux),
 - Veine dorsale du pied (douloureux).

Sites des prélèvements



- Pour les enfants, il peut être nécessaire de faire appel à d'autres veines ou artères.
- S'assurer que la peau est saine ; ne pas choisir un endroit où la peau est lésée.
- Appliquer le garrot pour faire gonfler la veine en le serrant modérément (pour éviter les risques d'hémolyse).
- Placer un essuie-main sous le bras pour faire mieux ressortir l'endroit de la ponction.
- Si la veine n'apparaît pas, demander au patient de serrer et de desserrer le poing, puis de le tenir fermé le moins longtemps possible (car risque d'hyperkaliémie).
- Désinfecter l'endroit de la ponction veineuse.
- Stabiliser la veine en tendant légèrement la peau au moyen du pouce gauche (si vous êtes droitier !) en posant le pouce à quelques centimètres en dessous du point de ponction en vue de l'introduction de l'aiguille.
- Tenir l'aiguille avec un angle de 30°, le biseau de l'aiguille tourné vers le haut.
- Piquer à 1 centimètre au-dessous de la saillie veineuse (pour certains dans le sens de la circulation veineuse ?).
- Faire pénétrer l'aiguille dans la veine et vérifier l'existence d'un reflux de sang prouvant la présence de l'aiguille dans la veine.
- Desserrer le garrot.
- Si l'on dispose d'un corps de pompe (tulipe) avec des tubes adaptés sous vide, tenir fermement le corps de pompe d'une main et adapter successivement chaque tube avec l'autre main en respectant l'ordre selon l'anticoagulant et en agitant doucement les tubes pour bien mélanger le sang et l'anticoagulant.
- Dans le cas contraire, remplir chaque tube et le disposer sur le portoir : ils seront rebouchés et agités dès la fin de la ponction.
- Oter l'aiguille avec le dernier tube puis comprimer quelques minutes avec une compresse stérile enduite éventuellement d'une solution antiseptique, en s'aidant si possible du patient.
- Si le prélèvement n'a pas été directement effectué dans les tubes transvaser l'échantillon de sang rapidement dans les flacons destinés à tel ou tel examen **sans attendre** car risque de coagulation.

- Assurer une bonne identification des tubes immédiatement (nom, prénom, numéro de prise en charge) car la moitié des erreurs se produisent lors du prélèvement, la nature des analyses à effectuer.
- Noter la date, l'heure et le motif du prélèvement dans le dossier du malade, ou le registre de consultation ou d'hospitalisation.
- Enfin s'assurer qu'il n'y a pas de saignement ou d'hématome au lieu du prélèvement : si oui effectuer un pansement compressif (pendant 1/4 d'heure en s'aidant de la participation du patient).
- Jeter l'aiguille sans recapuchonner dans un conteneur spécifique.
- Apporter le plus rapidement les prélèvements au laboratoire.
- Si l'antiseptique utilisé est à base d'iode, bien le retirer pour éviter toute réaction allergique.

Si les veines sont difficiles à trouver, tout particulièrement si elles sont collabées en cas de choc, placer des compresses très chaudes pendant quelques minutes. Ce procédé est efficace car la chaleur fait dilater les vaisseaux sanguins.

TECHNIQUE DE LA PCR

La PCR est une suite de cycles, qui se répètent en boucle, comportant chacun trois paliers de température. De plus, chacun de ces paliers est caractérisé par une réaction chimique distincte. En moyenne une PCR comporte entre 20 et 40 cycles.

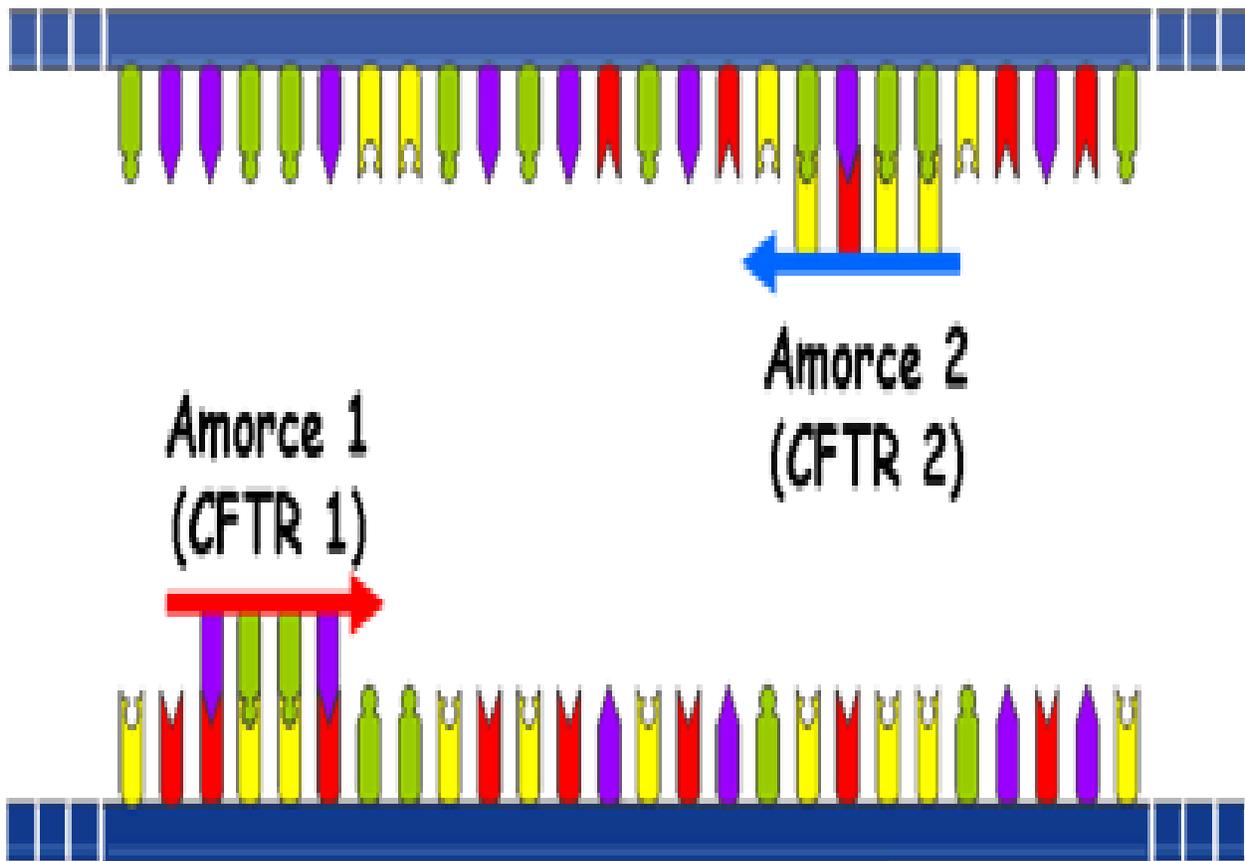
Les acteurs de la PCR sont :

1. L'ADN

Avant la réaction de PCR, l'ADN est extrait à partir de l'échantillon que l'on veut analyser (salive, cheveux, cellules, fossile...). Puis, cet extrait purifié en ADN, contenant le fragment d'ADN que l'on souhaite amplifier, peut être utilisé en PCR.

2. Les deux amorces

Ce sont des fragments courts d'ADN, capables de s'hybrider de façon spécifique, grâce à la complémentarité des bases, sur l'un des deux brins d'ADN. Les **amorces** sont choisies de façon à encadrer la séquence d'ADN à amplifier. La taille de ces amorces est généralement d'une vingtaine de **désoxyribonucléotides**. De plus, les amorces sont en très forte concentration par rapport à celle de l'ADN à amplifier.



Les Désoxyribonucléotides-Tri-Phosphates (dATP, dCTP, dGTP, dTTP)

Les dNTPs (Désoxyribonucléotides-Tri-Phosphates) sont des molécules de base, qui constituent l'ADN, utilisés par la Taq polymérase pour la synthèse du nouveau brin d'ADN complémentaire.

3. L'enzyme, Taq polymérase

L'enzyme utilisée est une polymérase, c'est-à-dire qu'elle peut synthétiser un nouveau brin d'ADN à partir du brin d'ADN matrice après s'être fixée à une amorce.

4. Le milieu réactionnel

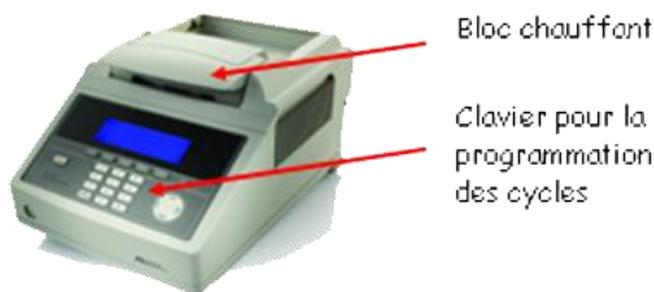
Le milieu réactionnel de la PCR comporte l'ADN à amplifier, les dNTPs, les deux amorces, la Taq polymérase, un tampon et des ions magnésium ($MgCl_2$). Ces deux derniers composants définissent un milieu avec un pH optimal et une concentration saline optimale pour le bon fonctionnement de l'enzyme.

La réaction 1

La PCR est une technique automatisée. En effet, la réaction de PCR se fait dans un thermocycleur.

L'appareil contient un bloc chauffant où l'on insère les tubes contenant notre mélange pour la réaction de PCR et où la température peut varier très rapidement et très précisément de 0°C à 100°C.

Le thermocycleur est alors programmé pour effectuer les différents cycles de la PCR. Ainsi, chaque cycle est composé d'une succession de paliers de température prédéterminée, et d'une durée bien définie. Ces deux paramètres, température et temps, dépendent de la taille de la séquence à amplifier de la taille et de la composition en désoxyribonucléotides des amorces.



Petite anecdote

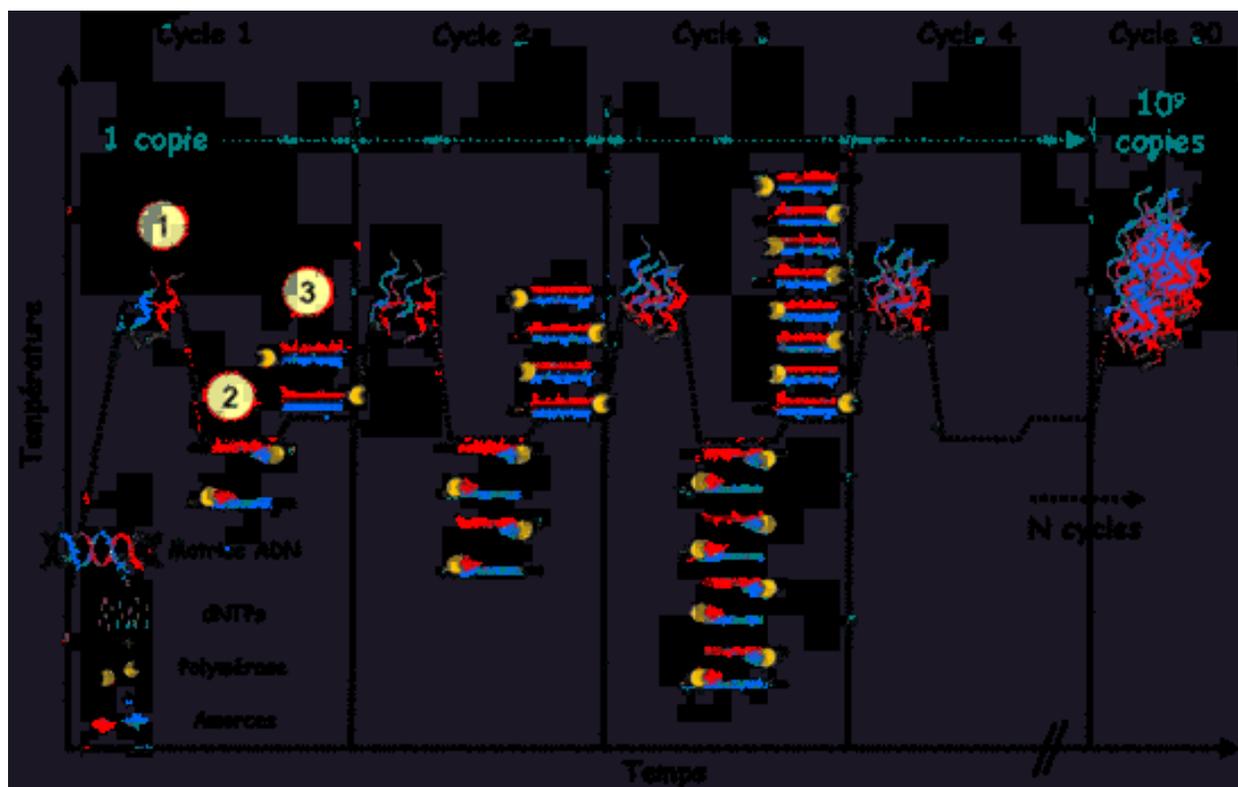
Il faut savoir qu'au début des années 80, les chercheurs n'avaient pas encore de thermocycleur dans leur laboratoire et pour changer la température, ils devaient passer les tubes d'un bain-marie à l'autre. Je vous laisse imaginer le temps que cela prenait!!

La réaction 2

Chaque cycle est donc constitué de trois périodes différentes :

- 1 Dénaturation
- 2 Hybridation
- 3 Elongation

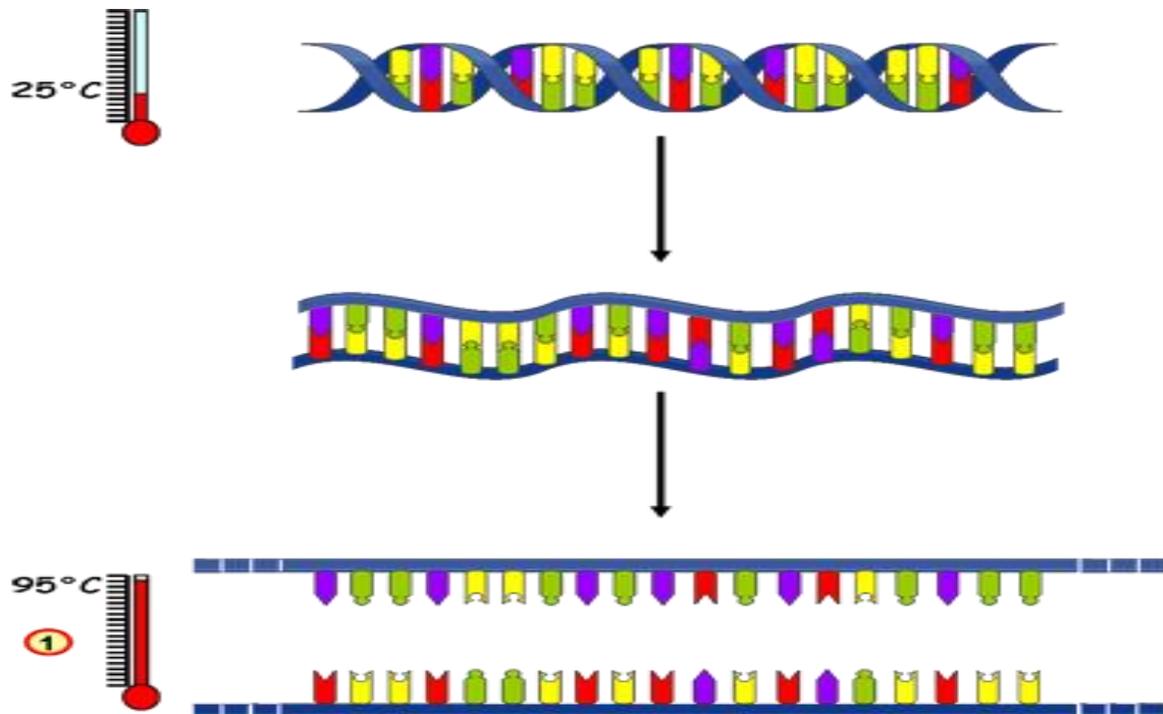
Schéma de la PCR



La réaction 3

① La dénaturation

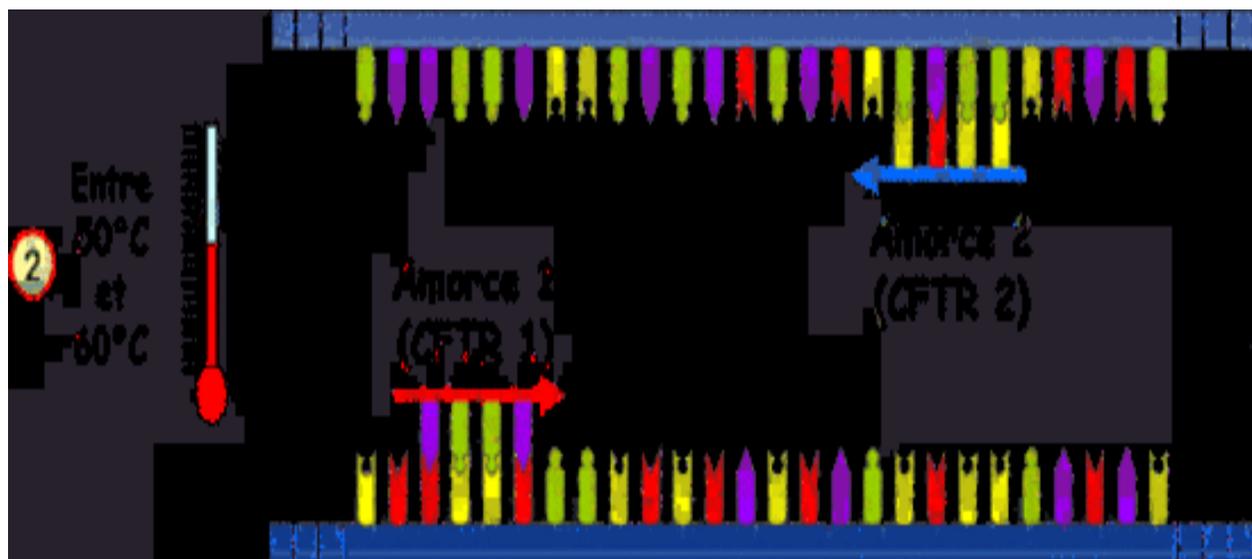
La température dans le tube est réglée à 95°C. A ce moment là, l'ADN se dénature. En effet, l'ADN perd sa structure caractéristique en double hélice, les liaisons hydrogène reliant les bases de chaque brin d'ADN étant instables à cette température. L'ADN double-brin (2 brins) est dénaturé en ADN simple brin (1 brin).



La réaction 4

2 L'hybridation

Ensuite la température est descendue à la température dite d'hybridation. Cette dernière est généralement comprise entre 50°C et 60°C et elle est fonction de la composition en désoxyribonucléotides (dATP, dTTP, dGTP, et dCTP) des amorces. Les amorces reconnaissent et se fixent à leurs séquences complémentaires en reformant des liaisons hydrogène. On dit que les amorces s'hybrident au brin d'ADN.



La réaction 5

3 L'élongation

Puis la température est réglée à 72°C, température idéale pour l'activité de la Taq polymérase. C'est une enzyme très spéciale, puisqu'elle est dite thermorésistante, parce que sa température optimale d'action est de 72°C et qu'elle est capable de résister à des températures allant jusqu'à 100°C.

Cette Taq polymérase est extraite d'une bactérie extrêmophile, *Thermusaquaticus*, qui ne vit que dans les sources chaudes. En effet, c'est en 1969 que Thomas Brock découvre cette bactérie thermophile, dans le plus grand geyser du monde, le *Steamboat Geyser*, au parc de Yellowstone aux Etats-Unis.

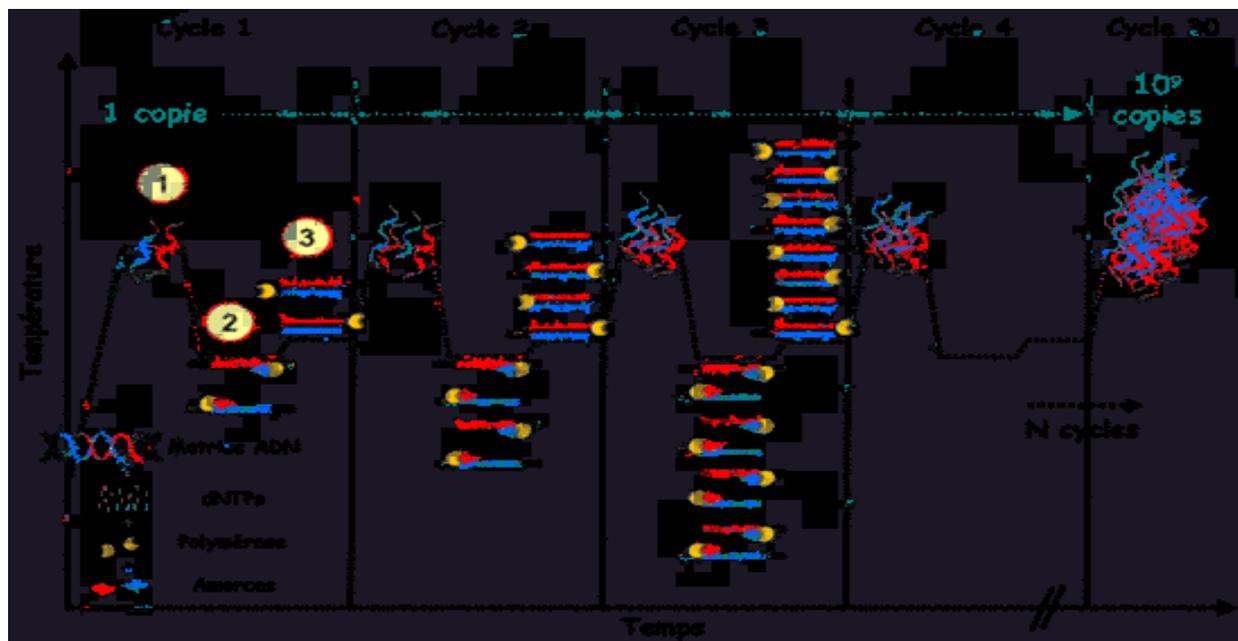


Cette étape permet à la Taq polymérase de synthétiser le brin complémentaire à l'ADN matrice, grâce aux dNTPs libres présents dans le milieu réactionnel.

Au cycle suivant, les nouveaux fragments synthétisés servent à leur tour de matrice pour la synthèse de nouveaux fragments d'ADN. En théorie, à la fin de chaque cycle, la quantité d'ADN cible est doublée.

Le premier cycle est fini et voilà qu'un nouveau cycle recommence. Cela se reproduira environ 30 fois (en fonction du protocole de PCR) comme vous pouvez le voir sur le schéma. A partir d'une seule copie d'ADN cible, on pourra donc obtenir 1 milliard de copies d'ADN cible.

Etude des sous-populations lymphocytaires dans la susceptibilité et la protection contre le paludisme chez deux groupes ethniques vivant en sympatrie au Burkina Faso.



Données cliniques complet.

Patient_ID	Date de Visite	Groupe Ethnique	Poids	Taille	Température Axillaire	Vertiges	Fatigue	Perte d'appétit	Vomissement	Douleur abdominale	Courbature	Toux	Diarrhée	Léthargie	Trouble de la conscience	Fièvre	Maux de tête	Palpitation	Déshydratation	Pâleur d'anémie	Ictère	Détresse Respiratoire	Poumon anormal	Hépatomegalie	Splénomégalie
001P	22/03/2019	1.Peulh	61	162	36	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	1.Grade0
002P	22/03/2019	1.Peulh	63	173	35,9	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	1.Grade0
003P	22/03/2019	1.Peulh	52	172	36,8	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	1.Grade0
004P	22/03/2019	1.Peulh	53	160	36,5	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	1.Grade0
005P	22/03/2019	1.Peulh	49	173	37,6	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	Yes	No	No	No	No	No	No	No	No	1.Grade0
006P	22/03/2019	1.Peulh	45	163	36,3	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	1.Grade0
007P	22/03/2019	1.Peulh	48	165	36,3	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	1.Grade0
008P	22/03/2019	1.Peulh	55	17	36,4	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	1.Grade0
009P	26/05/2019	1.Peulh	51	153	36,9	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	1.Grade0
010P	26/03/2019	1.Peulh	56	175	36	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	1.Grade0
011P	26/03/2019	1.Peulh	54	175	36,2	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	Yes	No	No	No	No	No	No	No	1.Grade0
012P	26/03/2019	1.Peulh	67	170	36	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	1.Grade0
013P	26/03/2019	1.Peulh	66	173	37	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	1.Grade0
014P	26/03/2019	1.Peulh	55	152	37	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	1.Grade0
015P	26/03/2019	1.Peulh	48	156	37	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	1.Grade0
016P	26/03/2019	1.Peulh	50	160	36,2	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	1.Grade0
017P	28/03/2019	1.Peulh	66	180	36	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	1.Grade0
018P	28/03/2019	1.Peulh	52	172	35,8	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	Yes	No	No	No	No	No	No	No	1.Grade0
019P	28/03/2019	1.Peulh	58	165	37	Yes	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	1.Grade0
020P	28/03/2019	1.Peulh	69	160	35,9	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	1.Grade0
021P	28/03/2019	1.Peulh	59	164	36,2	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	1.Grade0

Etude des sous-populations lymphocytaires dans la susceptibilité et la protection contre le paludisme chez deux groupes ethniques vivant en sympatrie au Burkina Faso.

Résultat de la PCR

A01	HEX	Actin	Unkn		N/A	0.00	0.000
A02	HEX	Actin	Unkn		N/A	0.00	0.000
A03	HEX	Actin	Unkn		32.41	32.41	0.000
A04	HEX	Actin	Unkn		32.27	32.27	0.000
A05	HEX	Actin	Unkn		33.38	33.38	0.000
A06	HEX	Actin	Unkn		N/A	0.00	0.000
A07	HEX	Actin	Unkn		33.74	33.74	0.000
A08	HEX	Actin	Unkn		31.61	31.61	0.000
A09	HEX	Actin	Unkn		N/A	0.00	0.000
A10	HEX	Actin	Unkn		34.65	34.65	0.000
A11	HEX	Actin	Unkn		N/A	0.00	0.000
A12	HEX	Actin	Unkn		N/A	0.00	0.000
B01	HEX	Actin	Unkn		33.03	33.03	0.000
B02	HEX	Actin	Unkn		N/A	0.00	0.000
B03	HEX	Actin	Unkn		28.40	28.40	0.000
B04	HEX	Actin	Unkn		30.13	30.13	0.000
B05	HEX	Actin	Unkn		33.44	33.44	0.000
B06	HEX	Actin	Unkn		33.18	33.18	0.000
B07	HEX	Actin	Unkn		31.87	31.87	0.000
B08	HEX	Actin	Unkn		27.19	27.19	0.000
B09	HEX	Actin	Unkn		N/A	0.00	0.000
B10	HEX	Actin	Unkn		34.25	34.25	0.000
B11	HEX	Actin	Unkn		33.71	33.71	0.000
B12	HEX	Actin	Unkn		N/A	0.00	0.000
C01	HEX	Actin	Unkn		32.49	32.49	0.000
C02	HEX	Actin	Unkn		N/A	0.00	0.000
C03	HEX	Actin	Unkn		34.51	34.51	0.000
C04	HEX	Actin	Unkn		N/A	0.00	0.000
C05	HEX	Actin	Unkn		34.36	34.36	0.000
C06	HEX	Actin	Unkn		33.05	33.05	0.000
C07	HEX	Actin	Unkn		27.98	27.98	0.000
C08	HEX	Actin	Unkn		32.10	32.10	0.000
C09	HEX	Actin	Unkn		33.43	33.43	0.000
C10	HEX	Actin	Unkn		34.81	34.81	0.000

C11	HEX	Actin	Unkn		N/A	0.00	0.000
C12	HEX	Actin	Unkn		34.84	34.84	0.000
D01	HEX	Actin	Unkn		N/A	0.00	0.000
D02	HEX	Actin	Unkn		N/A	0.00	0.000
D03	HEX	Actin	Unkn		30.46	30.46	0.000
D04	HEX	Actin	Unkn		32.15	32.15	0.000
D05	HEX	Actin	Unkn		31.51	31.51	0.000
D06	HEX	Actin	Unkn		26.70	26.70	0.000
D07	HEX	Actin	Unkn		31.41	31.41	0.000
D08	HEX	Actin	Unkn		33.02	33.02	0.000
D09	HEX	Actin	Unkn		32.85	32.85	0.000
D10	HEX	Actin	Unkn		29.56	29.56	0.000
D11	HEX	Actin	Unkn		32.07	32.07	0.000
D12	HEX	Actin	Unkn		31.17	31.17	0.000
E01	HEX	Actin	Unkn		29.54	29.54	0.000
E02	HEX	Actin	Unkn		32.55	32.55	0.000
E03	HEX	Actin	Unkn		30.93	30.93	0.000
E04	HEX	Actin	Unkn		31.81	31.81	0.000
E05	HEX	Actin	Unkn		31.22	31.22	0.000
E06	HEX	Actin	Unkn		31.60	31.60	0.000
E07	HEX	Actin	Unkn		31.98	31.98	0.000
E08	HEX	Actin	Unkn		30.45	30.45	0.000
E09	HEX	Actin	Unkn		30.13	30.13	0.000
E10	HEX	Actin	Unkn		31.18	31.18	0.000
E11	HEX	Actin	Unkn		29.88	29.88	0.000
E12	HEX	Actin	Unkn		32.67	32.67	0.000

Fiche signalétique :

Nom : KONE

Prénom : Bakary

Date et lieu de naissance : 17 novembre 1995 à Sadiola

Titre de la thèse : Etude des sous-populations lymphocytaire dans la susceptibilité et la protection contre le paludisme chez deux groupes ethniques vivant en sympatrie au Burkina Faso.

Année académique : 2019-2020

Nationalité : Malienne

Ville de soutenance : Bamako

Lieu de dépôt : bibliothèque de la faculté de Pharmacie (FAPH)

Secteur d'intérêt : Recherche et développement de vaccin.

E-mail/N° de téléphone : Baklegeni@yahoo.com / 00223 74 75 50 85

Résumé :

Définition : Le paludisme est une maladie due à un hématozoaire du genre *plasmodium* transmis par un moustique vecteur appartenant au genre Anophèles. Les rapports 2020 de l'organisation mondiale de la santé (OMS) a estimé 219 millions de cas de Paludisme dans le monde et 92% de ce chiffre ont été enregistrés en Afrique. *Plasmodium* est le parasite responsable du paludisme chez l'homme. Il existe plus de 140 espèces de *Plasmodium*, touchant diverses espèces animales mais seulement cinq espèces sont retrouvées en pathologie humaine notamment *P. falciparum* ; *P. malariae* ; *P. vivax* ; *P. ovale* ; *P. knowlesi*. La première est la plus prépondérante dans les zones tropicales et est responsable d'environ 80% de tous les cas de paludisme et 90% des décès. Les objectifs de notre étude étaient : Identifier le phénotype des sous populations lymphocytaire B chez les Peulh et les Mossi ; mesurer le profil cytokinique des lymphocytes T : Th1/Th2 et Th17 lymphocytaire B en fonction de la parasitémie chez les deux groupes ethniques sympatriques.

Méthodes : Nous avons réalisé une étude transversale qui s'est déroulée du 15 mars au 04 Avril 2019 à Barkoundouba, au Burkina Faso. Nous avons classé les volontaires en fonction de leur groupe ethnique.

Résultats : Au total, nous avons enregistré soixante (60) patients tous résidents à Barkoundouba en s'intéressant aux sous-populations lymphocytaires dans les deux groupes. L'âge moyen chez les Mossi était de 32 ans et 7 volontaires infectés par une densité parasitaire moyenne de $13624 \pm 199,2$ parasites asexués/ μ l. Chez les Peulh adultes l'âge moyen était de 27 ans avec aucune goutte épaisse positive. 18 volontaires femmes chez les Peulh et 27 chez les Mossi. L'utilisation des moustiquaires était significativement élevée chez les Mossi avec 60,87% comparativement à 39,13% chez les Peulh ($p=0,0052$). Le taux d'hémoglobine moyen était de 12,75g/dl (11,65-14,4) chez les Peulh et de 12,60g/dl (12,03-13,30) chez les Mossi.

Nous avons trouvé des variations significatives entre les deux groupes au niveau de certaines sous-populations de lymphocytes B.

Conclusion : Cette étude démontre clairement l'accumulation de cellules CD11c B exprimant FcRL5 dans le sang périphérique chez les individus naturellement exposés à cette maladie. De plus, il montre clairement une diminution de la proportion de lymphocytes B CD11c exprimant FcRL5 chez les adultes Peulh qui étaient plus protégés contre les épisodes cliniques et avaient une immunité anti-*Plasmodium falciparum* (*Pf*) robuste.

Mots clés : Paludisme, Lymphocytes B, Sympatrique, Lymphocytes T, Protection, Susceptibilité.

Summary :

Definition: Malaria is a disease caused by a haematozoan of the genus *Plasmodium* transmitted by a vector mosquito belonging to the genus *Anopheles*. The 2020 reports from the World Health Organization (WHO) estimated 219 million cases of malaria worldwide and 92% of that number was in Africa. *Plasmodium* is the parasite responsible for malaria in humans. There are more than 140 species of *Plasmodium*, affecting various animal species but only five species are found in human pathology, in particular *P. falciparum*; *P. malariae*; *P. vivax*; *P. ovalis*; *P. knowlesi*. The former is most prevalent in the tropics and is responsible for about 80% of all malaria cases and 90% of deaths. The objectives of our study were: To identify the phenotype of B lymphocyte subpopulations in the Fulani and the Mossi; measure the cytokine profile of T lymphocytes: Th1 / Th2 and Th17 B lymphocytes as a function of parasitaemia in the two sympatric ethnic groups.

Methods: We carried out a cross-sectional study which took place from March 15 to April 4, 2019 in Barkoundouba, Burkina Faso. We classified the volunteers according to their ethnic group.

Results: In total, we recorded sixty (60) patients, all residents of Barkoundouba, looking at the lymphocyte subpopulations in the two groups. The mean age in the Mossi was 32 years and 7 volunteers infected with an average parasite density of $13,624 \pm 199.2$ asexual parasites / μl . In adult Fulani the mean age was 27 years with no positive thick gout. 18 female volunteers among the Fulani and 27 among the Mossi. The use of mosquito nets was significantly high among the Mossi with 60.87% compared to 39.13% among the Fulani ($p = 0.0052$). The average hemoglobin level was 12.75g / dl (11.65-14.4) in the Fulani and 12.60g / dl (12.03-13.30) in the Mossi. We found significant variations between the two groups in certain B lymphocyte subpopulations.

Conclusion: This study clearly demonstrates the accumulation of CD11c B cells expressing FcRL5 in peripheral blood in individuals naturally exposed to this disease. In addition, it clearly shows a decrease in the proportion of CD11c B lymphocytes expressing FcRL5 in FcRL5 adults who were more protected against clinical episodes and mounted robust anti-Plasmodium falciparum (Pf) immunity.

Keywords : Malaria, B lymphocytes, Sympatric, T lymphocytes, Protection, Susceptibility.

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 les actes criminels.

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

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

Je le jure

Ce travail a bénéficié de l'appui financier du programme DELTA-C (DELGEME).