

Ministère de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique

République Du Mali

Un Peuple-Un But-Une Foi

Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako



Faculté de Pharmacie



Année universitaire 2022-2023

N...

Titre de la thèse :

Paludisme et protection par le trait drépanocytaire et les anticorps anti-PfEMP-1/VarO dans une cohorte d'enfants à Kéniéroba, Commune rurale de Bancoumana, Mali

Présentée et soutenue publiquement le 04 / 07 / 2023 devant le jury de la
Faculté de Pharmacie

Par M. Dramane SOGODOGO

Pour l'obtention du titre de Docteur en Pharmacie

(Diplôme d'Etat)

JURY

PRESIDENT	M. Boubacar	MAIGA	Professeur Titulaire
MEMBRES	M. Amadou Birama	NIANGALY	Maitre de Conférences
	M. Sidy	BANE	Maitre-Assistant
DIRECTEUR	M. Mahamadou	DIAKITE	Professeur Titulaire
CO-DIRECTEUR	M. Seidina A. S.	DIAKITE	Maitre de Conférences

DECICACE

A ALLAH

Louange à ALLAH Le Tout Puissant, L'Omniscient, L'Omnipotent qui nous a créé et nous a octroyé la santé et les moyens nécessaires pour faire ce travail.

Nous rendons également grâce à son prophète Mahomed (Paix et Salut sur Lui).

A mon père Seydou Sogodogo

Cher père, je te dédie ce travail car c'est grâce à ton engagement que j'ai pu commencer mon cursus scolaire. Ton engagement dans mon éducation est la meilleure des choses dont j'ai eu le plus besoin.

A mes mères Salimata Koné, Korotoumou Bakayoko et Kadiatou Diarra

Chères mères, vous m'avez tout donné pour que je puisse avoir une vie meilleure. Votre affection, votre disponibilité, votre encouragement et votre soutien m'ont beaucoup aidé. Je vous remercie pour tout.

Que le tout puissant ALLAH vous donne la chance de bénéficier du fruit de ce travail dans la santé et dans le bonheur.

A mon cousin Amadou Sogodogo

Cher cousin, ce travail t'est entièrement dédié car c'est à cause de tes conseils que j'ai choisi et aimé la faculté de Pharmacie. Tu m'as accompagné du début jusqu'à la fin de mon cursus universitaire. Tes aides financières et matérielles m'ont beaucoup servi. Qu'Allah t'aide dans tes projets.

A ma grande sœur Kadidiatou Sogodogo

Merci pour tes conseils et tes aides matérielles et financières du début jusqu'à la fin de mon cursus universitaire.

REMERCIEMENTS

A mes Tontons : Hady Sogodogo, Moustapha Sogodogo, Lassine Sogodogo, Yaya Sogodogo, Drissa Diallo, Bréhima Diallo, etc. mes sincères remerciements pour vos soutiens au cours de mon cursus scolaire et universitaire.

A mes Tantes : Odile, Fatoumata Sanogo, Afouchata Cissé, Nematou Konaté, Mariam Diallo, mes remerciements pour votre aide.

A tous mes frères, sœurs, cousins et cousines de la famille Sogodogo, recevez mes remerciements pour votre encouragement et votre soutien.

Au Pr Mahamadou Diakité, merci de m'avoir accepté dans votre unité. Votre générosité et votre encouragement dans la recherche scientifique m'ont beaucoup aidé.

Au Pr Seidina A.S Diakité, merci de m'avoir accueilli les bras ouverts et d'avoir accepté de m'accompagner pour cette thèse. Votre simplicité et votre principe de travail bien fait m'ont beaucoup aidé.

Au Dr Drissa Konaté, merci pour votre générosité, votre sympathie, votre dévouement dans le travail et votre soutien sans limite.

Au Dr Bourama Keita, merci pour votre disponibilité et la formation offerte tout au long de cette thèse.

A mes amis et camarades de classe, Mariam Sogodogo, Dr Seydou Dembélé, Mohamadou Sangaré, Abdoulaye Togola, Bakary Coulibaly, Dr Souleymane Traoré, Sékou Dembélé, Lancenou Dembélé, Abassana Indé dit Lazarre Yalcouye, etc. merci pour votre soutien et votre collaboration depuis le début de ce cursus universitaire.

A toute l'équipe de l'Unité Immunogénétique et Hémoglobinopathie du MRTC

Pr Mahamadou Diakité, Pr Seidina A.S. Diakité, Dr Drissa Konaté, Dr Agnès Guindo, Dr Karim Traoré, Dr Bourama Keita, Dr, Dr Fatoumata Kassé, Dr Larissa Denou, Dr Job Koné, Dr Abdouramane Traoré, Dr Abdourhamane Cissé, Dr Kathrino Mouhamedou, Dr Salimata Dr Assitan Dembélé, M. Karamako Tangara, M. Issoufi Y Maiga M. Mathias Kamaté, M. Mohamed Traoré, Mme Korortoum Mallé, Mme Rahmatoullah Yena, etc. Vous avez tous participé à la réalisation de cette thèse par vos conseils et vos encouragements. Merci pour votre disponibilité. Recevez ici mes sincères reconnaissances

A tout le personnel du MRTC et de la FMOS/FAPH, merci pour les enseignements offerts.

A tous mes camarades de la 13^{ème} promotion du numerus clausus, pour les bons moments passés ensemble dans la joie et le bonheur.

A tous les militants de l'association des étudiants ressortissant de la 3^{ème} région et sympathisant (ADERS)

A tous les militants des Rassembleurs, des Secouristes et des Réformateurs (RASERE)

A toutes les personnes qui m'ont soutenu de près ou de loin

Merci pour votre soutien

Hommage aux honorables membres de jury

A notre maitre et Président du jury :

Pr Boubacar MAÏGA

- Professeur titulaire en Immunologie
- Titulaire d'un PhD en Immunologie
- Médecin chercheur au centre de recherche et de formation sur le paludisme (MRTC) de la faculté de Médecine et d'odontostomatologie (FMOS)
- Modérateur de PROMED-Francophone pour les maladies infectieuses

Cher maitre,

Nous sommes très sensibles à l'honneur que vous nous faites en acceptant de présider ce jury de thèse malgré vos multiples occupations.

Votre disponibilité, votre désir de vouloir toujours l'excellence et votre rigueur dans le travail font de vous un modèle admiré de tous. Que ce travail soit le témoin de notre sincère reconnaissance et de notre profonde estime.

A notre maitre et juge :

Pr Amadou Birama NIANGALY

- Docteur en Pharmacie
- Spécialiste en Parasitologie-Mycologie
- Maitre de conférences de Parasitologie-Mycologie à la Faculté de Pharmacie (FAPH)
- Enseignant-chercheur à la Faculté de Pharmacie (FAPH)

Cher maitre,

C'est un honneur et un privilège pour nous de vous avoir dans notre jury de thèse. Merci pour la simplicité que vous avez témoigné en acceptant de siéger parmi notre jury de thèse. Veuillez trouver dans ce travail cher maitre, l'expression de notre gratitude.

A notre maitre et juge :

Dr Sidy BANE

- Docteur en Médecine
- Titulaire d'un Master en immunologie
- Enseignant Chercheur à la Faculté de Médecine et d'Odontostomatologie (FMOS)
- Maître Assistant en Immunologie à la Faculté de Médecine et d'Odontostomatologie (FMOS)
- Diplôme d'Etude Spécialisée en Biologie Clinique

Cher maître,

C'est un privilège que vous nous accordez en acceptant de juger cette thèse, nous en sommes très honorés.

Merci pour vos corrections et suggestions très utiles qui ont permis d'améliorer notre travail. Trouvez ici cher maître, l'expression de nos sincères remerciements.

A notre maitre et co-directeur de thèse :

Pr Seidina Aboubacar Samba DIAKITE,

- Docteur en pharmacie
- PhD en immunologie
- Maître de Conférences des Universités du Mali
- Enseignant d'immunologie à la Faculté de Pharmacie / USTTB

Cher Maître,

Tout au long de ce travail, nous avons apprécié vos qualités humaines et scientifiques.

Votre disponibilité constante et votre engagement pour le travail bien fait font de vous un maître respecté et respectable.

Permettez-nous, cher Maître, de vous adresser l'expression de notre immense gratitude et de nos sincères remerciements.

A notre maitre et directeur de thèse

Pr Mahamadou DIAKITE

- Docteur en Pharmacie
- PhD en immunologie et génétique
- Professeur des universités du Mali
- Enseignant d'immunologie/génétique à la FAPH/USTTB
- Vice-recteur de l'USTTB
- Responsable du laboratoire d'Immunogénétique, d'hémoglobinopathie et Parasitologie du MRTC
- Directeur scientifique adjoint du centre universitaire de recherche clinique de l'USTTB
- Secrétaire permanent du comité d'éthique de la FMOS /FAPH et Membre du Comité national d'éthique pour la santé et les sciences de la vie.

Cher Maître,

C'est un honneur et un privilège pour nous d'avoir travaillé à vos côtés. Votre rigueur scientifique, votre large ouverture d'esprit, votre gentillesse font de vous un grand homme scientifique exceptionnel. Au-delà de votre compétence, votre disponibilité et votre engagement pour un travail bien fait, nous ont beaucoup aidés.

Cher Maître, permettez-nous, de vous exprimer notre gratitude et nos sincères remerciements.

Sigles et abréviations

AMA1	<i>Apical Membrane Antigen 1</i> (Antigène 1 de la membrane apicale)
CD	<i>Cluster of differentiation</i> (agrégat de différenciation)
CIDR	Cystein-rich Inter Domain region (Régions inter-domaines riches en cystéine)
DBL	Duffy binding-like (Domaines de double liaison)
EBA175	Erythrocyte Binding antigen 175 (Antigène 175 de liaison érythrocytaire)
EDSM	Enquête Démographique et de Santé au Mali
ELISA	<i>Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay</i> (Dosage immuno-enzymatique)
EPCR	Récepteurs de protéine C endothéliale
GR	Globule Rouge
Hb	Hémoglobine
ICAM-1	<i>Inter Cellular Adhesion Molecular 1</i> (molécule d'adhésion intercellulaire 1)
IL	Interleukine
Kda	Kilo Dalton
MRTC	Malaria Research and Training Center (Centre de recherche et de formation sur le paludisme)
MSP1	<i>Merozoite Surface Protein 1</i> (Protéine 1 à la surface du mérozoïte)
MSP2	<i>Merozoite Surface Protein 2</i> (Protéine 2 à la surface du mérozoïte)

NK Cell	<i>Natural Killer</i> (Cellule tueuse naturelle)
NO	Oxyde Nitrique
OMS	Organisation mondiale de la santé
<i>Pf</i>	<i>Plasmodium falciparum</i>
PECAM-1	Platelet and endothelial cell adhesion molecule 1
<i>PfEMP-1</i>	<i>Plasmodium falciparum</i> Erythrocyte Membran Protein 1 (la protéine de membrane érythrocytaire 1 du <i>Plasmodium falciparum</i>)
RAP1,2, 3	<i>Rhoptry associated protein</i> (Protéine associée à la rhoptrie)
TLR	<i>Toll Like Receptor</i> (Récepteur de type Toll)
TNF	Tumor Necrosis Factor (Facteur de nécrose tumorale)
USTTB	Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako
VAR	Antigène de variant

Table des matières

1	INTRODUCTION.....	1
2	OBJECTIFS	4
2.1	Objectif général.....	4
2.2	Objectifs spécifiques.....	4
3	GENERALITES.....	5
3.1	Généralité sur le paludisme	5
3.1.1	Définition du paludisme	5
3.1.2	Epidémiologie du paludisme	5
3.1.3	Groupes à risque élevé de paludisme sévère	11
3.1.4	Agents pathogènes et vecteurs du paludisme	11
3.1.5	Physiopathologie du paludisme.....	16
3.2	Généralité sur le <i>PfEMP-1</i> et les gènes <i>Var</i>	22
3.2.1	<i>PfEMP-1</i>	22
3.2.2	Récepteurs de <i>PfEMP-1</i>	23
3.2.3	Variant <i>PfEMP-1/VarO</i>	25
3.3	Immunité antipalustre	26
3.3.1	Réponse immunitaire non spécifique contre l'infection palustre.....	27
3.3.2	Réponse immunitaire spécifique contre l'infection palustre.....	30
3.3.3	Antigènes du <i>Plasmodium</i>	33
3.3.4	Mécanismes d'échappement immune du <i>Plasmodium</i>	35
3.4	Hypothèse d'Haldane.....	38
3.5	Protection antipaludique conférée par les hémoglobinopathies : Données épidémiologiques (cas de HbS et l'HbC).....	39
3.5.1	Hémoglobine S et le paludisme.....	39
3.5.2	Hémoglobine C et paludisme	40
3.6	Mécanismes identifiés ou suspectés dans la protection Conférée par les hémoglobinopathies contre le paludisme	40
4	METHOLOGIE.....	42
4.1	Cadre et site d'étude	42

4.2	Type d'étude	43
4.3	Période d'étude	43
4.4	Population d'étude	43
4.5	Echantillonnage	43
4.6	Critères d'inclusion.....	44
4.7	Critères de non-inclusion	44
4.8	Variables mesurées	44
4.9	Collecte des données.....	44
4.10	Techniques de laboratoire utilisées.....	45
4.11	Gestion et analyse des données.....	45
4.12	Définition opérationnelle	46
4.13	Considérations éthiques	46
4.14	Déroulement de l'étude.....	46
5	RESULTATS	48
5.1.	Résultats globaux	48
5.2.	Résultats descriptifs.....	48
5.3	Résultats analytiques	53
6	COMMENTAIRES ET DISCUSSION	61
6.1	Données descriptives	61
6.2	Données analytiques	62
7	LIMITES DE NOTRE ETUDE.....	65
8	CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS.....	66
8.1.	Conclusion.....	66
8.2.	Recommandations.....	66
9.	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	67
10.	ANNEXES	77
10.1.	Annexe 1 : Procédures de la goutte épaisse	77
10.2.	Annexe 2 : Procédure de détermination du groupe sanguin ABO	82
10.3.	Annexe 3 : Procédure de détermination du type d'hémoglobine avec la machine D-10	83

10.4.	Annexe 4 : Dosage des anticorps anti-PfEMP-1/VarO par la méthode ELISA :	
	85	
11.	FICHE SIGNALÉTIQUE.....	88
	SERMENT DE GALIEN	90

Liste des Tableaux

Tableau 1 : Classification de l'endémicité palustre en fonction de l'indice plasmodique.	10
Tableau 2 : Répartition des participants en fonction du sexe.....	48
Tableau 3 : Répartition des participants en fonction des tranches d'âge	49
Tableau 4 : La fréquence du paludisme chez les participants à Kéniéroba	51
Tableau 5 : Répartition des participants en fonction du type d'hémoglobine	52
Tableau 6 : Relation entre le type d'hémoglobine et le nombre d'épisode palustre	53
Tableau 7 : Relation entre le type d'hémoglobine et l'avènement du paludisme	54
Tableau 8 : Le nombre d'épisode palustre dans les différentes classes d'âge	55
Tableau 9 : Relation entre l'avènement du paludisme et l'âge	56
Tableau 10 : Relation entre le groupe sanguin et l'avènement des épisodes palustre	59
Tableau 11 : Relation entre le statut immunitaire anti-PfEMP-1/VarO et l'avènement des épisodes palustre.....	60

Liste des figures

Figure 1 : Cycle de développement du <i>Plasmodium</i>	16
Figure 2 : Structure typique de la protéine PfEMP-1 indiquant les récepteurs des différents domaines de la molécule	25
Figure 3 : Illustration des complexes immuns activant le complément	28
Figure 4 : Mécanismes d'action anti- <i>Plasmodium</i> des neutrophiles.....	29
Figure 5 : Illustration de la réponse immunitaire anti-palustre	38
Figure 6 : Représentation cartographique du village de Kéniéroba.....	42
Figure 7 : Plan de masse des trois villages d'étude dans la commune rurale de Bancoumana	43
Figure 8 : Répartition des participants en fonction de l'ethnie	50
Figure 9 : Corrélation entre le titre d'anticorps anti-PfEMP-1/VarO et le nombre d'épisode palustre enregistré.....	57
Figure 10 : Corrélation entre le titre d'anticorps anti-PfEMP-1/VarO et l'âge	58
Figure 11 : Technique de la goutte épaisse	79

1 INTRODUCTION

Malgré les progrès réalisés dans la lutte contre le paludisme au cours de la décennie écoulée, cette maladie reste un problème majeur de santé publique surtout en Afrique au sud du Sahara. L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a estimé en 2021 à 247 millions, le nombre de cas de paludisme et à 619 000 le nombre de décès dus au paludisme[1]. La région Afrique de l'OMS continue de payer le plus lourd tribut dû au paludisme avec 95% des cas et 96% des décès dus au paludisme en 2021 et les enfants de moins de 5 ans ont représenté 80% des cas de décès du paludisme dans cette région. L'Afrique subsaharienne est la zone la plus touchée [1].

Au Mali, la prévalence du paludisme chez les enfants de moins de 5 ans était de 19% en 2018 selon la sixième enquête démographique et de santé au Mali (EDSM) [2] Le rapport 2021 du système local d'information sanitaire (SLIS) indiquait que jusqu'à 34% des consultations dans les formations sanitaires publiques au Mali étaient motivées par le paludisme[3]. Cette situation est rendue plus compliquée par l'émergence régulière de la résistance de *P. falciparum* aux molécules antipaludiques usuels.

Le développement d'un vaccin efficace constitue une approche assez prometteuse pour le contrôle et l'élimination de la maladie. L'OMS a validé récemment le vaccin RTS'S à base d'un antigène du stade sporozoïte de *P. falciparum*. Cependant, l'efficacité de ce vaccin reste en deçà des attentes avec une réduction du risque de paludisme inférieur à 50% [4, 5]. Le développement d'un vaccin efficace nécessite une connaissance approfondie des différents aspects innés et acquis de l'immunologie de la maladie.

Le contrôle de l'infection palustre chez l'homme implique plusieurs facteurs y compris ceux innés constitutifs ou génétiques et aussi des réponses immunitaires spécifiques à des antigènes parasitaires. L'un des facteurs génétiques liés aux globules rouges (GR) notamment le trait drépanocytaire a fait l'objet d'études épidémiologiques et mécanistiques dans ce cadre.

Plusieurs études ont rapporté les effets protecteurs du trait drépanocytaire contre divers aspects cliniques du paludisme allant de l'infection aux formes létales de la maladie [6, 7]. Aussi, les sujets vivant en zone d'endémie palustre développent une immunité contre les épisodes palustres avec l'âge.

L'acquisition de cette immunité dépend fortement de l'exposition aux différents antigènes parasitaires et est influencée par la grande diversité génétique des parasites et la grande variation antigénique [8, 9]. Les antigènes de *P. falciparum* exprimés à la surface des érythrocytes infectés dont le chef de file est le PfEMP-1 (*Plasmodium falciparum* Erythrocyte Membrane Protein-1) sont des plus polygéniques et polymorphiques. Les PfEMP-1 constituent une famille de protéines parasitaires codées par une soixantaine de gènes regroupés en complexe de gènes et connus sous le nom de gènes Var [10]. Ces protéines parasitaires jouent le rôle de ligand parasite permettant aux GR parasités d'adhérer à de nombreuses cellules de l'hôte provoquant ainsi des phénomènes inflammatoires et l'évasion immune des parasites. Elles sont bien immunogènes et jouent également un rôle important dans la pathogenèse du paludisme.

Avec sa structure NTS-DBL1 α , le variant PfEMP-1/VarO est associé à la formation accrue des rosettes, l'un des phénomènes impliqués dans la gravité de la maladie [11]. C'est un variant identifié chez un clone de parasite appelé Palo Alto 89F5 ou 89F5 VarO. Il s'agit d'un variant du groupe A de PfEMP-1 bien immunogène et les titres élevés d'anticorps dirigé contre ce variant ont été décrits chez les sujets âgés au Bénin et au Sénégal [12, 13]. Ces anticorps ont aussi été associés à une protection contre le paludisme en général et les cas graves du paludisme en particulier [14].

Nous nous proposons d'étudier le profil de protection contre le paludisme conférée par le trait drépanocytaire et les titres élevés d'anticorps anti-PfEMP-1/VarO chez des enfants maliens vivant dans une zone endémique du paludisme.

Hypothèses de travail

- 1- Les titres élevés d'anticorps anti-PfEMP-1/VarO et les traits drépanocytaires sont associés à une réduction de l'incidence du paludisme dans une cohorte d'enfants vivant à Kéniéroba

- 2- Les protections anti palustres associés au trait drépanocytaire et aux titres élevés d'anticorps anti-PfEMP-1/VarO sont dépendants des paramètres sociodémographique des sujets.

2 OBJECTIFS

2.1 Objectif général

Etudier les relations entre le portage de l'HbAS, la présence des anticorps anti-PfEMP-1/VarO et la survenue des épisodes de paludisme entre mai 2011 et décembre 2011 dans une cohorte d'enfants à Kéniéroba.

2.2 Objectifs spécifiques

- Déterminer la prévalence de l'HbAS chez les enfants de la cohorte en mai 2011.
- Déterminer le titre d'anticorps anti-PfEMP-1/VarO chez les enfants de la cohorte au début de la saison de transmission du paludisme en mai 2011.
- Déterminer l'incidence du paludisme chez les enfants de la cohorte au cours de la saison de transmission du paludisme de mai à décembre 2011.
- Investiguer le lien entre le portage de l'HbAS et la survenue des épisodes de paludisme chez les enfants de la cohorte.
- Investiguer le lien entre le statut immun anti-PfEMP-1/VarO et la survenue des épisodes de paludisme chez les enfants de la cohorte.

3 GENERALITES

3.1 Généralité sur le paludisme

3.1.1 Définition du paludisme

Le paludisme est une maladie potentiellement mortelle due à des parasites du genre *Plasmodium* transmis à l'homme par des piqûres de moustiques femelles infestés du genre *Anopheles*. Les jeunes enfants, les femmes enceintes et les voyageurs non-immunisés sont particulièrement vulnérables à la maladie. Il demeure un problème majeur de santé publique dans le monde.

3.1.2 Epidémiologie du paludisme

3.1.2.1 Paludisme en chiffre

Environ 3,2 milliards de personnes soit près de la moitié de la population mondiale sont exposés au risque de contracter le paludisme [15]. La Région africaine de l'OMS a recensé à elle seule 96% des décès dus au paludisme en 2021. Les enfants de moins de 5 ans sont le groupe le plus vulnérable touché par le paludisme. En 2020, ils représentaient 80% de tous les décès dus au paludisme dans la région africaine [16]. En 2018, seule la région africaine de l'OMS et la région OMS de l'Asie du Sud-Est ont enregistré des réductions des décès dus au paludisme par rapport à 2010. Par ailleurs, le taux de réduction de la Mortalité dus au paludisme a également diminuer depuis 2016 [16]. Le paludisme touche une centaine de pays dans le monde, particulièrement les zones tropicales. Aujourd'hui, le paludisme est une pathologie endémique des régions tropicales et subtropicales d'Afrique, d'Asie du Sud-Est, d'Amérique Latine et du Moyen orient. En effet, l'Afrique subsaharienne supporte une part disproportionnée de la charge Mondiale du paludisme. Cette maladie à des répercussions socio-économiques sur les populations des pays les plus touchés [15].

Au Mali, en 2021, un total 3 204 275 cas confirmés de paludisme a été enregistré. Parmi ces cas confirmés, on compte 2 156 330 cas non compliqués et 1 047 945 cas compliqués avec 1 480 décès. Le paludisme constitue le premier motif de consultation dans les établissements de santé avec 34%, selon le Système Local d'Information Sanitaire (SLIS 2021)[3].

Le paludisme constitue un problème également chez les femmes enceintes où il est à l'origine de la moitié des anémies et de la plupart des faibles poids de naissance. Le paludisme est endémique au Mali avec une intense transmission au cours de la saison pluvieuse dont la durée est variable en fonction des zones éco-climatiques. Mais des poussées épidémiques sont souvent observées dans certaines localités de la zone subsaharienne.

3.1.2.2 Indices paludométriques et endémicité du paludisme

➤ Indices paludométriques

Ces indices donnent des indications sur l'importance de la transmission et la circulation du parasite et permettent à l'épidémiologiste d'évaluer l'endémie palustre.[17]. Dans une population donnée, les indices paludométriques qui permettent de déterminer l'endémicité du paludisme sont :

- **Indice splénique (IS)** : c'est le pourcentage des enfants âgés de 2-9 ans présentant une rate palpable à l'examen clinique dans une population examinée.
- **Indice plasmodique (IP)** : c'est le pourcentage des enfants âgés de 2-9 ans dont les étalements sanguins relèvent la présence des formes asexués d'hématozoaires du paludisme dans une population examinée.
- **Indice gamétocytaire (IG)** : c'est le pourcentage de personnes dans une population examinée présentant les formes sexuées des plasmodies.

▪ **Taux d'Inoculation Entomologique (TIE)** : c'est le nombre de piqûres infectantes que reçoit un homme pendant un intervalle de temps donné. C'est le produit de l'agressivité des moustiques par l'indice sporozoïtique.

➤ **Endémicité du paludisme**

La distribution du paludisme est extrêmement variable d'une zone géographique à une autre. Elle est sous la dépendance de plusieurs facteurs liés au vecteur, à l'hôte, au parasite et à l'environnement [18]

❖ **Indice de stabilité**

L'indice de stabilité déterminé par Mac Donald permet de classer l'enracinement du paludisme en deux zones :

- **zones de paludisme stable ou endémique** : la transmission du paludisme est longue et intense entraînant une prémunité permettant de limiter les manifestations cliniques graves chez les jeunes enfants ;

- **zones de paludisme instable ou épidémique** : la transmission du paludisme est très courte et il sévit sous forme épidémique. Ce caractère épisodique de la transmission ne permet pas le développement de la prémunité. Tous les individus sont à risque de développer la maladie.[19]

❖ **Endémicité par intensité**

L'étude de ces indices permet de classer les zones en termes d'endémicité du paludisme. Ces indices permettent aussi d'évaluer l'impact des différentes interventions de lutte contre le paludisme afin d'orienter les programmes nationaux de lutte contre le paludisme. Les deux classifications de l'endémie habituellement utilisées concernent les enfants âgés de 2 à 9 ans sont : la classification de Kampala en novembre 1950 (indice splénique) et de Yaoundé en juillet 1962 (indice plasmodique).

Ils ont permis de définir 4 zones selon le niveau de transmission du paludisme.

- **Zone hypo-endémique** : l'IS est compris entre 0-10% ou l'IP < 25%. Dans cette zone, l'état de prémunition de la population est faible et le risque d'épidémie est élevé selon les conditions climatiques. Le paludisme est instable et toute la population est exposée au même risque du paludisme.

- **Zone méso-endémique** : l'IS est compris entre 11-50% ou l'IP entre 26-50%. Dans cette zone, l'état de prémunition de la population est faible, le risque épidémique existe. Des cas d'accès perniciose sont observés chez les adultes jeunes.

- **Zone hyper-endémique** : l'IS est compris entre 51-75%, IP entre 51-75% ; l'état de prémunition a atteint son maximum. C'est une zone sans risque épidémique. Mais il existe un risque important de paludisme grave et compliqué pour les patients neufs. Le taux de mortalité infantile liée au paludisme reste élevé. Les accès palustres peuvent évoluer en paludisme grave.

- **Zone holo-endémique** : l'IS et l'IP sont tous supérieurs à 75%. Il s'agit des zones de barrages. L'état de prémunition est solide, le risque épidémique est quasiment nul. Cependant, il existe un risque important de paludisme grave et compliqué pour les patients neufs, la morbidité et la mortalité infantile liée au paludisme restent notoires [20]

❖ **Endémicité par la durée de la transmission**

Au Mali, la situation épidémiologique du paludisme se résume en 5 modalités de transmission du paludisme [21]

- **La zone soudano-guinéenne** à transmission saisonnière longue (≥ 6 mois) au sud du pays. Elle correspond à la zone holo-endémique avec un IP supérieur à 80%.

L'état de prémunition est acquis vers l'âge de 6 ans.

-**La zone sahélienne** à transmission saisonnière courte de 3 à 4 mois, l'IP varie entre 50 et 75%. Le paludisme y est hyper-endémique et l'état de prémunition est rarement atteint avant 10 ans.

- **La zone subsaharienne au nord**, la transmission est sporadique voir épidémique. Elle correspond au Nord des régions de Koulikoro et de Kayes (Nara, Diéma, Yélimané, Kayes). L'IP est inférieur à 5%, le paludisme est instable et tous les groupes d'âge sont à risque de faire le paludisme grave.

- **La zone de transmission bi ou plurimodale** comprenant le delta intérieur du fleuve Niger et les zones de barrages (Sélingué, Manantali et Markala). Le paludisme y est méso-endémique avec un IP inférieur à 50%. L'anémie reste le phénotype clinique le plus fréquent.

-**La zone peu propice à la transmission du paludisme**, particulièrement dans les milieux urbains comme les villes de Bamako et de Mopti. Le paludisme y est hypo-endémique avec un IP inférieur à 10%. Les cas graves du paludisme peuvent être rencontrés chez les adultes.

Tableau 1: Classification de l'endémicité palustre en fonction de l'indice plasmodique

Source : [22]

Niveau d'endémicité	Transmission	IP chez les enfants de 2-9 ans (%)	Commentaires
Hypo-endémique	Faible, sub-périodique ou sporadique	Généralement ≤ 10	Les moustiques sont instables, généralement difficiles à détecter, des épidémies sérieuses peuvent survenir.
Méso-endémique	Saisonnière, périodique suivant une bonne saison pluvieuse	11-50 en fonction du temps de surveillance	Les moustiques fluctuent, détectables en fonction des saisons, une fenêtre saisonnière peut survenir, les habitants acquièrent une certaine immunité.
Hyper-endémique	Intense (saisonnière) chaque année	51-75	Fluctuation saisonnière des cas de paludisme, fréquentes séquelles sévères chez les jeunes les enfants, une certaine immunité chez les adultes.
Holo-endémique	La transmission peut survenir à travers l'année avec des pics de transmission	>75	On peut détecter les moustiques toute l'année avec des pics ; des taux élevés d'anémie chez les très jeunes enfants et la prémunité chez les adultes.

3.1.3 Groupes à risque élevé de paludisme sévère

Les personnes à risque de paludisme sévère sont (OMS, 2019) :

- Les enfants vivants dans les régions hyper- ou holoendémiques en particulier ceux âgés de six mois à cinq ans ;
- Les sujets de tout âge dans les régions hypo- ou méso-endémique ;
- Les voyageurs venant des régions où il n'existe pas de transmission de paludisme et qui se rendent dans une région impaludée ;
- Les femmes enceintes (à risque pour toutes les complications) ;
- Les personnes qui retournent dans des régions fortement endémiques après quelques années d'absence [16].

3.1.4 Agents pathogènes et vecteurs du paludisme

➤ Espèces plasmodiales

Le paludisme est transmis à l'homme par un protozoaire appartenant au genre *Plasmodium*. Il existe de très nombreuses espèces de *Plasmodium* (plus de 140), touchant diverses espèces animales mais seulement cinq de ces espèces sont retrouvées en pathologie humaine. Il s'agit de *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae* et *P. knowlesi* (parasite habituel du singe accidentellement transmis à l'homme). Les cinq espèces diffèrent par des critères biologiques, cliniques, par leur répartition géographique et par leur capacité à développer des résistances aux antipaludiques. Elles sont classées comme suit :

REGNE : *Protiste*

PHYLUM : *Apicomplexa*

CLASSE : *Sporozoea*

ORDRE : *Eucoccidida*

FAMILLE : *Plasmodiidae*

GENRE : *Plasmodium*

ESPECE : *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae* et *P. knowlesi*

P. falciparum présente des particularités par rapport aux autres espèces plasmodiales. Espèce prédominante en Afrique. Elle développe plus facilement des résistances aux antipaludiques et est responsable des formes cliniques potentiellement mortelles de la maladie [22].

➤ Vecteurs

Le paludisme est transmis à l'homme par la piqûre d'un moustique culicidé du genre *Anopheles* au moment de son repas sanguin dont la femelle est hématophage. La femelle se nourrit du sang pour pouvoir mûrir ses œufs. Elle pond entre 150 et 200 œufs tous les 2 ou 3 jours. Elle ne pique qu'à partir du coucher du soleil avec un maximum d'activité entre 23 heures et 6 heures. Cela explique que l'utilisation des moustiquaires soit le moyen de prévention individuelle le plus efficace.

Les larves des *Anopheles* se développent dans les collections d'eau surtout les eaux stagnantes. La nature des sols, le régime des pluies, la température, l'altitude, la végétation naturelle ou l'agriculture, rendent les collections d'eau plus ou moins propices au développement des espèces vectrices. Certaines espèces ont pu s'adapter à des milieux particuliers comme le milieu urbain. Le développement et la longévité des *Anopheles* dépendent de la température avec un optimum entre 20 et 30°C pour une durée de vie de l'ordre de 30 jours.

Il existe de très nombreuses espèces d'*Anopheles* mais toutes ne transmettent pas le paludisme. Les espèces les plus dangereuses sont les espèces anthropophiles qui ont une préférence pour effectuer leur repas sanguin sur l'homme plutôt que sur l'animal et les espèces endophiles qui se reposent à l'intérieur des maisons.

De très nombreux facteurs climatiques et/ou environnementaux, naturels (sécheresses, variations de température, etc.) ou dus à l'activité humaine (assèchement de marécages, construction de barrages, irrigations, construction de routes ...) peuvent modifier la répartition des *Anopheles* dans une région donnée et par conséquent influencer la transmission du paludisme. La répartition des *Anopheles* à travers le monde dépasse largement celle du paludisme. Si les conditions favorables de réimplantation dans des foyers actuellement éradiqués survenaient, la transmission pourrait s'y établir de nouveau. Par ailleurs des résistances aux insecticides sont apparues limitant les moyens de lutte [22].

3.1.4.1 Cycle de développement du *Plasmodium*

Le cycle se déroule successivement en deux phases :

- une phase asexuée chez l'**homme** (l'hôte intermédiaire).
- une phase sexuée chez l'**Anopheles** (l'hôte définitif)

➤ Cycle chez l'homme

Chez l'homme, le cycle est lui-même divisé en 2 phases :

- la phase hépatique ou pré-érythrocytaire : elle correspond à la phase d'incubation, cliniquement asymptomatique.
- la phase sanguine ou érythrocytaire : elle correspond à la phase clinique de la maladie.

Phase pré-érythrocytaire

Elle débute par inoculation du sporozoïte lors de la piqûre du moustique. En effet, au cours d'un repas sanguin, l'*Anopheles* femelle infectée par le *Plasmodium* inocule des sporozoïtes dans l'hôte humain. Ces sporozoïtes inoculés restent pendant une trentaine de minutes maximum dans la peau, la lymphe et le sang. Beaucoup sont détruits par les macrophages cutanés mais certains parviennent à gagner les hépatocytes. Ils se transforment en schizontes pré-érythrocytaires ou « corps bleus » (formes multi nucléées) qui, après 7 à 15 jours de maturation, éclatent et libèrent des milliers de mérozoïtes dans le sang (10 000 à 30 000 mérozoïtes en fonction des espèces). La schizogonie hépatique est unique dans le cycle, la cellule hépatique ne pouvant être infectée que par des sporozoïtes.

Dans les infections à *P. vivax* et *P. ovale*, certains sporozoïtes intra-hépatiques restent quiescents (hypnozoïtes) et sont responsables d'une schizogonie hépatique retardée. Ce phénomène entraîne la libération dans le sang de mérozoïtes plusieurs mois après la piqûre infectante du moustique, expliquant les reviviscences tardives observées avec ces deux espèces. Les hypnozoïtes n'existent pas dans l'infection à *P. falciparum* et ils n'ont pas été

mis en évidence non plus dans l'infection à *P. malariae* malgré l'existence de rechutes tardives, ni pour *P. knowlesi* [22].

Phase sanguine ou érythrocytaire

Elle dure 48 heures chez *P. falciparum*. Cette phase est caractérisée par la pénétration des mérozoïtes dans les érythrocytes où ils se transforment en trophozoïtes puis en schizontes érythrocytaires dont chacun comporte 16 ou 32 noyaux. Ces mérozoïtes pénètrent dans de nouveaux GR et débutent un nouveau cycle de réplication. Cette partie du cycle correspond à la phase clinique de l'infection palustre. La parasitémie s'élève, le patient devient fébrile, c'est l'accès palustre. En l'absence de traitement, tous les parasites évoluent progressivement au même rythme (on dit qu'ils deviennent synchrones), tous les schizontes érythrocytaires arrivent à maturation au même moment, entraînant la destruction d'un grand nombre de globules rouges de manière périodique toutes les 24 heures (pour *P. knowlesi*), 48 heures (fièvre tierce de *P. falciparum*, *P. vivax* ou *P. ovale*) ou toutes les 72 heures (fièvre quarte de *P. malariae*).

En pratique, on observe que la fièvre tierce due à *P. falciparum* est rarement synchrone. Après un certain nombre de cycles érythrocytaires, certains mérozoïtes subissent une maturation d'une dizaine de jours, accompagnée d'une différenciation sexuée. Ils se transforment en gamétocytes à potentiel mâle ou femelle qui vont rester dans la circulation sanguine pendant 10 à 15 jours [22].

➤ Cycle chez l'*Anopheles* femelle (sporogonie)

Lors de son repas sanguin sur un individu infecté, l'*Anopheles* femelle ingère des gamétocytes à potentiel mâle et femelle. Ceux-ci parviennent dans l'estomac du moustique et se transforment en gamètes. Le gamète mâle subit un processus d'ex flagellation à la suite duquel les gamètes femelles sont fécondés. Il en résulte un zygote appelé ookinète (ou œuf mobile) qui va s'implanter sous la paroi stomacale de l'*Anopheles* et former l'oocyste. Cette brève phase diploïde s'achève par une division méiotique qui sera suivi de plusieurs milliers de mitoses conduisant au développement de sporozoïtes.

Ces derniers vont gagner préférentiellement les glandes salivaires et constituent les formes infectantes prêtes à être inoculées avec la salive lors du repas sanguin sur l'homme ou autre animal. L'ensemble de ce cycle se déroule en 4 à 10 jours, suivant la température extérieure et les espèces en cause [23]

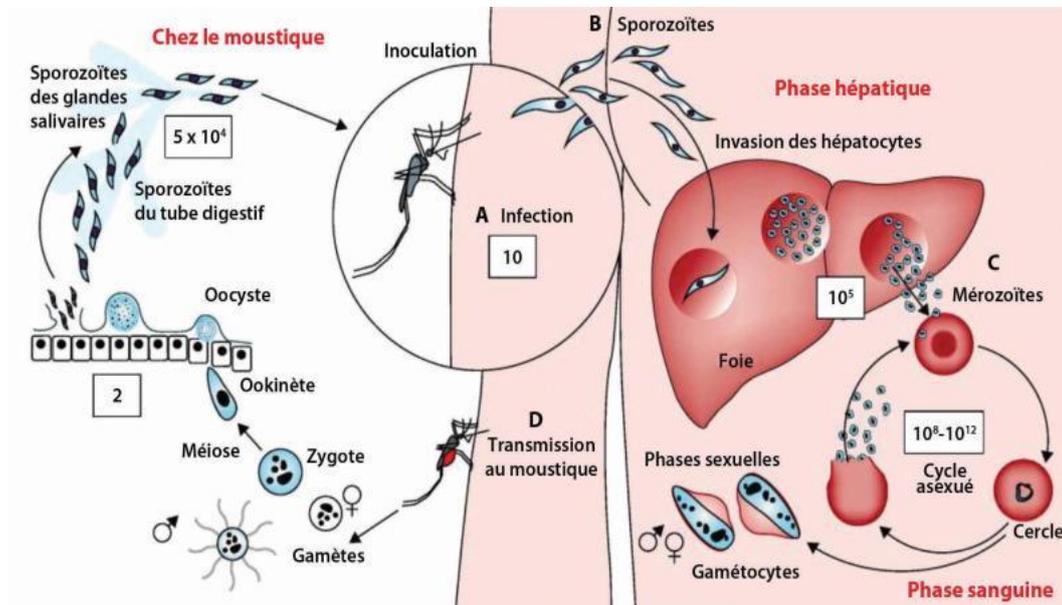


Figure 1 : Cycle de développement du *Plasmodium*

Source : [24]

3.1.5 Physiopathologie du paludisme

De toutes les espèces de *Plasmodium* qui parasitent l'homme, *P. falciparum* est de loin le plus pathogène et induit la part majeure de la mortalité et la morbidité par paludisme dans le monde. Les personnes vivant dans des zones d'endémie palustre sont constamment exposées aux infections palustres. Cependant dans la majorité des cas, ces infections restent asymptomatiques. Seule une minorité des cas évolue vers le paludisme symptomatique et très peu d'entre eux deviennent graves [25]. Trois éléments déterminent la pathogénicité du *Plasmodium* : le parasite lui-même, l'hôte et l'environnement. Des interactions spécifiques interviennent entre le parasite et l'hôte et aboutissent à diverses manifestations cliniques du paludisme. Parmi ces interactions, nous pouvons citer : l'invasion des GR, la fixation de GR non parasités par des GR parasités (formation de rosettes ou « Rosetting »),

l'adhésion des GR parasités aux cellules endothéliales dans les petits vaisseaux (Cytoadhérence), la production de toxines par les parasites comme le pigment issu de la digestion de l'hémoglobine (hémozoïne résultant de la polymérisation de l'hème) [26], l'acide urique[27] l'ensemble aboutissant à la libération dans l'organisme de nombreuses cytokines proinflammatoires comme le $TNF\alpha$ [28, 29].

3.1.5.1 Invasion des globules rouges

L'invasion des GR par le *Plasmodium* contribue indirectement à la physiopathologie du paludisme car elle est indispensable à l'expansion de la population parasitaire au stade sanguin [30]. Il s'agit d'un processus hautement spécifique, ordonné et séquentiel ne dépassant pas 30 secondes. Le mérozoïte s'attache à une hématie susceptible puis s'oriente de manière à apposer son complexe apical sur la membrane de l'hématie. Une invagination se forme, à l'intérieur de laquelle s'introduit le mérozoïte. Cette invagination finit par former une vacuole parasitophore autour du mérozoïte. Les molécules de surface du GR auxquelles se fixe le mérozoïte ont fait l'objet de nombreuses recherches. Les sialoglycoprotéines ou glycophorines (GPs) spécialement la GPA et La GPB ont été les premiers récepteurs identifiés[31] mais on peut aussi citer le GP-C, l'antigène du groupe sanguin A.

Du côté du parasite, les ligands parasitaires impliqués sont l'EBA 175 (Erythrocyte Binding Antigen), le MSP-1 le MSP-2-4/5 (Mérozoïte Surface Proteins), l'AMA-1 (Apical Membrane Antigen), les RAP1, 2, 3 (Rhoptry associated protein). Pour un individu donné et pour une souche parasitaire donnée, la gravité du paludisme dépend intimement de la charge parasitaire. Cette dernière est liée en partie à la capacité du parasite à infecter les GR et à se multiplier à l'intérieur de ce dernier [32]. Des parasites isolés de patients présentant un paludisme grave ont montré un taux initial de multiplication *in vitro* 3 fois supérieur à ceux de parasites isolés de patients avec paludisme simple[32]

3.1.5.2 Rosetting

Le rosetting consiste en la fixation des GR non parasités autour d'un GR parasité mature. Il fait intervenir des protéines parasitaires exprimées à la surface des GR parasités telles que le PfEMP-1 et leurs récepteurs présents sur le GR comme le CD36, CR1, et certaines lectines [33]. Le rosetting est associé à la gravité du paludisme dans plusieurs études mais pas dans toutes.

Tous les isolats de *P. falciparum* issus de 15 patients avec paludisme grave se sont montrés capables de rosetting alors que beaucoup d'isolats issus de patients avec paludisme simple en était incapables [34]. Le mécanisme par lequel le rosetting produit la maladie n'est pas complètement élucidé. La formation de rosettes n'a pas été observée de façon convaincante *in vivo*.

Des expériences rigoureuses menées avec des souches de parasites produisant le rosetting et celle ne le produisant pas dans les conditions statiques et même de flux n'ont pas pu prouver une augmentation du taux d'invasion des GR par les parasites induisant le rosetting[35]. Le rosetting apparaîtrait comme une expression phénotypique d'autres propriétés du parasite comme la Cytoadhérence qui est, elle, solidement corrélée à la gravité du paludisme.

3.1.5.3 Cytoadhérence

La Cytoadhérence est un processus dans lequel des GR parasités par des formes matures de *P. falciparum* se fixent de façon spécifique aux cellules endothéliales des petits vaisseaux (artérioles, capillaires et veinules post-capillaires). C'est ce qui explique en partie l'absence de formes matures de *P. falciparum* dans le sang périphérique. La Cytoadhérence est l'interaction cellulaire la plus étudiée dans la pathogénèse du paludisme. Ainsi de multiples molécules présentes sur les GR parasités et les cellules endothéliales impliquées dans ce phénomène ont été identifiées. Ainsi PfEMP-1 (une protéine parasitaire de 200-350 KDa) apparaît comme le plus important ligand parasitaire impliqué dans ce phénomène [28, 36] . En immobilisant les globules rouges parasités dans les petits vaisseaux, la Cytoadhérence interrompt leur circulation systémique. Ils ne sont donc pas soumis à la clairance splénique s'exerçant normalement sur les globules rouges altérés.

La Cytoadhérence expose aussi au moins une partie d'entre eux à un environnement pauvre en oxygène, propice à leur croissance, facilitant ainsi l'invasion de nouveaux GR.

En induisant ainsi l'adhérence de sa cellule hôte (le GR) ainsi aux cellules endothéliales des petits vaisseaux, le parasite déclenche une souffrance tissulaire. Cette ischémie locale est le mécanisme central du neuropaludisme et de plusieurs composants de la défaillance multiviscérale du paludisme grave [37]. Les globules rouges parasités cytoadhérant peuvent obstruer les petits vaisseaux et déclenchent le recrutement des plaquettes et des monocytes, l'ensemble activant les cellules endothéliales et la production de cytokines.

3.1.5.4 Induction de cytokines inflammatoires

Certaines molécules d'origine parasitaire ont été décrites comme ayant une activité toxinique. Parmi elles, l'hémozoïne [38, 39], La Glycosylphosphatidylinositol (GPI) incorporées aux molécules parasitaires [39-41] et l'acide urique parasitaire [27]. La réponse inflammatoire systémique au cours de l'accès palustre contribue à l'expression de récepteurs endothéliaux inductibles comme ICAM1, ce qui amplifie la Cytoadhérence et la séquestration cérébrale des globules rouges parasités.

3.1.5.5 Anémie palustre

La pathogénèse de l'anémie palustre à *P. falciparum* est multifactorielle. Cependant l'infection à *P. falciparum* contribue directement de façon importante à cette manifestation grave. La perte des GR constitue un mécanisme important de l'anémie dans les infections aigues à *P. falciparum* chez les sujets naïfs [42]. Les troubles d'érythropoïèse souvent observés au cours des infections aigues à *P. falciparum* jouent un rôle mineur dans l'anémie palustre[43]. Il a été rapporté que même un arrêt complet d'érythropoïèse n'entraîne que 1% de perte des GR totaux de l'organisme en 17 jours [44]. Cependant, l'inhibition de l'érythropoïèse semble jouer un rôle prépondérant dans l'anémie en cas de portage prolongé à faible parasitémie [45] . L'hypersplénisme et l'hémolyse induite par les anticorps sont considérés comme les principaux mécanismes de l'anémie chez les patients infectés par *P. falciparum* dans le contexte particulier de la splénomégalie palustre hyper-immune [45, 46].

3.2 Généralité sur le *PfEMP-1* et les gènes *Var*

3.2.1 *PfEMP-1*

Les *PfEMP-1*, sont des protéines très antigéniques qui sont exprimées par *Plasmodium falciparum* principalement au stade érythrocytaire mature et qui sont transportées et exposées à la surface des hématies infectées sur des protubérances appelées knobs [47]. Ces protéines ont un poids moléculaire de 200 à 300 Kda et sont codées par une famille de gènes, appelées les gènes *Var*. Les molécules de *PfEMP-1* sont composées généralement de deux à huit domaines de double liaison (DBL) et de une à deux régions inter-domaines riches en cystéine (CIDR). Ces protéines sont impliquées dans les mécanismes physiopathologiques des manifestations graves du paludisme.

Elles ont de nombreux récepteurs sur différentes cellules de l'organisme humains notamment les cellules endothéliales de la paroi des microvaisseaux, les hématies. La fixation de ces ligands sur leurs récepteurs permet aux hématies infectées de se fixer sur ces cellules avec comme conséquence :

- un échappement des hématies infectées à la clairance splénique par leur immobilisation au niveau des parois des microvaisseaux offrant au parasite un environnement propice à son développement.
- une protection des hématies infectées contre la phagocytose par la formation de rosette : un amas de globules rouge constitué par accolement des hématies saines tout autour des hématies infectées.
- ces deux premiers phénomènes concourent à l'obstruction des microvaisseaux entraînant une hypoxie tissulaire dans les organes irrigués en aval.

Le *PfEMP-1* est codé par une famille de gènes appelés *var* [48, 49]. Le gène *var* consiste en 2 exons et un intron. L'exon I code pour la partie extracellulaire variable de la protéine ainsi que la région transmembranaire et l'exon II code pour le segment terminal acide (ATS) intracellulaire relativement conservé.

La partie la plus variable de la protéine est le segment N-terminal suivi d'un segment composé d'une séquence répétitive de trois types de domaine appelé cassette ; Duffy binding-like domains (DBL-domains), Cystein-rich Inter Domains Region (CIDR) [50]. Le mode d'arrangement des domaines DBL et CIDR dans la cassette ainsi que la qualité de la partie NTS détermine l'habilité de la protéine PfEMP-1 à se fixer sur différents récepteurs et donc ses propriétés immunologiques et physiopathologiques.

Plasmodium falciparum dispose d'environ 60 gènes var, qui sont exprimés de façon exclusive au cours du cycle érythrocytaire [10], ce qui constitue un véritable mécanisme d'évasion du système immunitaire par le parasite. En plus ces gènes sont sujets de par leur localisation subtélomérique sur les chromosomes à des mutations fréquentes, et recombinaison génique favorisant l'émergence de nouveaux variant de PfEMP-1 [51, 52].

Les PfEMP-1 peuvent être classées en trois groupe principaux (A, B, C) et deux groupes intermédiaires (B/A, B/C), selon la nature et les positions des séquences en amont du locus [53, 54]. Alors que la plupart des protéines PfEMP-1 du groupe B et C semblent avoir de liaisons avec le CD36 [55] et ont tendance à être associées au paludisme non compliqué et asymptomatique [56]; les groupes A et B/A sont souvent exprimés chez les enfants atteints de paludisme grave ; car ces variantes contiennent des domaines qui peuvent se lier aux récepteurs de protéine c endothéliale(EPCR) [57].

3.2.2 Récepteurs de PfEMP-1

Plusieurs récepteurs de PfEMP-1 ont été identifiés chez l'Homme tels que CD36 [58], ICAM-1 [59], EPCR [57], CR-1[60].

3.2.2.1 CD36

Le *P. falciparum* adhère à l'endothélium des vaisseaux via CD36 (glycoprotéine de 88 KDa). Aussi, la thrombospondine, qui est une glycoprotéine adhésive impliquée dans de nombreuses interactions cellule-cellule substrat a été signalée comme médiateurs de la

cytoadhérence de *P. falciparum* à l'endothélium des vaisseaux et aux cellules humaines telles que les monocytes, les plaquettes, qui sont pourvues de cette glycoprotéine adhésive [58].

3.2.2.2 Molécule d'adhésion intercellulaire 1 (ICAM-1)

L'ICAM-1 est une glycoprotéine transmembranaire de 90 à 115 KDa, exprimée sur les cellules endothéliales et les leucocytes[61]. Les médiateurs inflammatoires, tels que le facteur de nécrose tumorale (TNF) et l'interleukine 1 (IL-1) entraînent une forte expression de l'ICAM-1. Lorsqu'il est activé, les leucocytes se lient aux cellules endothéliales via ICAM-1, surtout au niveau cérébral, ce qui entraîne des manifestations sévères du paludisme. Cependant, des polymorphismes peuvent avoir lieu au niveau de l'ICAM-1, dont l'ICAM-1 Kilifi, qui est une mutation qui consiste au remplacement de la lysine à la méthionine à la position 29 du gène, dont la liaison au paludisme sévère a été rapportée au Kenya[62].

3.2.2.3 Molécule d'adhésion endothéliale plaquettaire-1 (PECAM-1) ou CD31

Le PECAM-1, encore appelé CD31 est également un récepteur d'adhésion pour *P. falciparum* [47]. C'est une protéine transmembranaire, qui a 150 KDa et qui est retrouvée à la surface des plaquettes, des monocytes, des polynucléaires neutrophiles, et de certaines cellules T. Deux polymorphismes de nucléotides de PECAM-1, L125V (rs 668) et S563N (rs 12953) se sont révélés associés au paludisme grave en Thaïlande[63] et en Inde[64]. Cependant, aucune association de L125V avec le paludisme grave, n'a été signalée au Kenya[65].

3.2.2.4 Récepteur 1 du complément (CR-1) ou CD35

Le CR-1 ou CD35 est une protéine immuno-régulatrice qui se trouve à la surface des érythrocytes et de la plupart des leucocytes. Cette protéine a pour fonction d'activer et de réguler le complément [60]. Des études ont montré que CR-1 joue un rôle essentiel dans la pathogenèse du paludisme à *P. falciparum* [66], car via CR-1 les hématies infectées se lient

aux globules rouges non infectés pour former des rosettes, ce qui conduit à l'obstruction micro-vasculaire, donc au paludisme grave[67]. Aussi des polymorphismes de gène de CR-1 pourraient influencer le degré du paludisme [68].

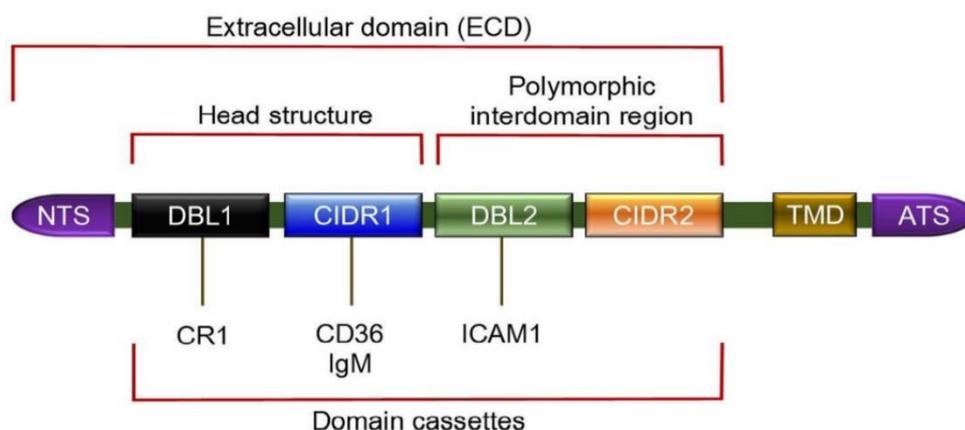


Figure 2 : Structure typique de la protéine PfEMP-1 indiquant les récepteurs des différents domaines de la molécule

Source : [69]

NTS = Segment N terminal. **TMD** = Domaine Transmembrane. **ATS** = Segment Terminal Acidique. **DBL**= *Duffy binding-like* (semblable au domaine Duffy), **CIDR**= Cystein-rich Interdomain region (Région interdomaine riche en cystéine)

3.2.3 Variant PfEMP-1/VarO

PfEMP-1/VarO est un variant de PfEMP-1 impliqué dans la formation des rosettes, un phénomène associé à des signes de complication du paludisme. Ce variant a été mis en évidence chez un clone de parasite Palo Alto 89F5 (89F5 VarO) isolé chez des singes *Saimiri sciureus* [70]. Il a été rapporté que le gène VarO exprimé par les parasites 89F5 VarO présente les principales caractéristiques des gènes appartenant au sous-ensemble du groupe A/UpsA, fréquemment associé au paludisme grave chez les enfants africains [70, 71]. Cultivés dans des GR humain, les parasites 89F5 VarO expriment les variants PfEMP-1/VarO avec les mêmes phénotypes de rosetting et d'agglutination.

Le domaine de rosetting du variant PfEMP-1/VarO a été caractérisé comme DBL1 α 1 [72] et des recombinants de ce variant ont été produits et testés immunogène chez la souris. Les anticorps dirigés contre ce variant sont capable d'inhiber la formation de rosette avec des GR infectées [73].

Les recombinants de PfEMP-1/VarO ont été utilisés dans les études de séroprévalence au Sénégal et au Benin et ont conclus à une association entre les titres élevés d'anticorps anti PfEMP-1/VarO et une protection contre le paludisme [12].

3.3 Immunité antipalustre

L'immunité anti palustre a fait l'objet d'innombrables études cliniques et expérimentales *in vitro*, *ex vivo* et *in vivo* tant chez l'homme que chez les animaux. On estime que ces études ont contribué à la compréhension de l'immunologie plus qu'elles n'ont contribué à la compréhension du paludisme.

La presque totalité des médiateurs immunologiques interviennent dans le contrôle de l'infection palustre. Des études chez l'homme et chez les rongeurs ont montré que le contrôle des infections à *Plasmodium* au niveau du sang dépend des réponses immunitaires tant cellulaires que humorales [74].

3.3.1 Réponse immunitaire non spécifique contre l'infection palustre

3.3.1.1 Cytokines et immunité anti palustre

Des études cliniques, ainsi que des modèles murins de paludisme, suggèrent un rôle prépondérant des cytokines dans l'initiation et le développement de la réponse immunitaire contre le paludisme surtout au cours des primo-infections paludéennes.

Chez la souris, la résistance au paludisme est dépendante de signaux liés à la production précoce d'IFN- γ , d'IL-12 et de TNF- α (tumor necrosis factor- α) [75-78]. De même, une réponse IFN γ robuste est associée chez l'homme à une susceptibilité plus faible à l'infection [79, 80]. Cependant l'augmentation du niveau plasmatique de certaines cytokines suggère leur rôle dans la gravité de la maladie. C'est le cas de l'IL18 qui jouerait également un élément important de la réponse immunitaire contre le parasite [81-83]. Les cytokines interviennent aussi dans l'orientation de la réponse immunitaire spécifique contre l'infection palustre soit vers une réponse humorale ou cellulaire. On peut aussi citer le cas des cytokines IL-12p70, IL-10 qui sont augmentées dans le sérum des enfants atteints de paludisme. Ces cytokines sont produites par diverses cellules de l'immunité innée en réponse à différents constituants ou produit de métabolisme du parasite [84, 85].

3.3.1.2 Complément et immunité antipalustre

Les modifications du niveau des composants du complément au cours du paludisme ont été rapportées avec des modèles animaux. Une diminution du niveau des composants C1, C2 et C4 a été décrit au cours du paludisme à *P. lophurae* chez le canard [86] de même que chez le singe rhésus[87]. Des études réalisées chez l'homme ont rapporté une plus grande réduction des taux du complément avec le paludisme cérébral comparé au paludisme non sévère indiquant une activation de la voie classique du complément[88]. Aussi des études similaires chez les femmes enceintes atteintes de paludisme ont rapporté une augmentation des taux de C1q, C3b C4 et C9 chez celles présentant des placentas infectés [89]et des dépôts d'IgG et de C3 dans certains placentas infectés[90].

Le complément peut être activé directement par des antigènes parasitaires exprimés à la surface des GR parasités [91] et les produits libérés lors de la rupture des schizontes comme l'hématine[92]. Aussi différents composants relargués par le parasite comme les mérozoïtes sont capables d'activer le complément par toutes les trois voies[93]. Le complément est principalement activé par la voie classique au cours du paludisme par les complexes antigène-anticorps[94]. Cela peut intervenir aussi bien avec les antigènes parasitaires libres circulant dans le plasma qu'avec des antigènes parasitaires de surface des mérozoïtes et des GR parasités.

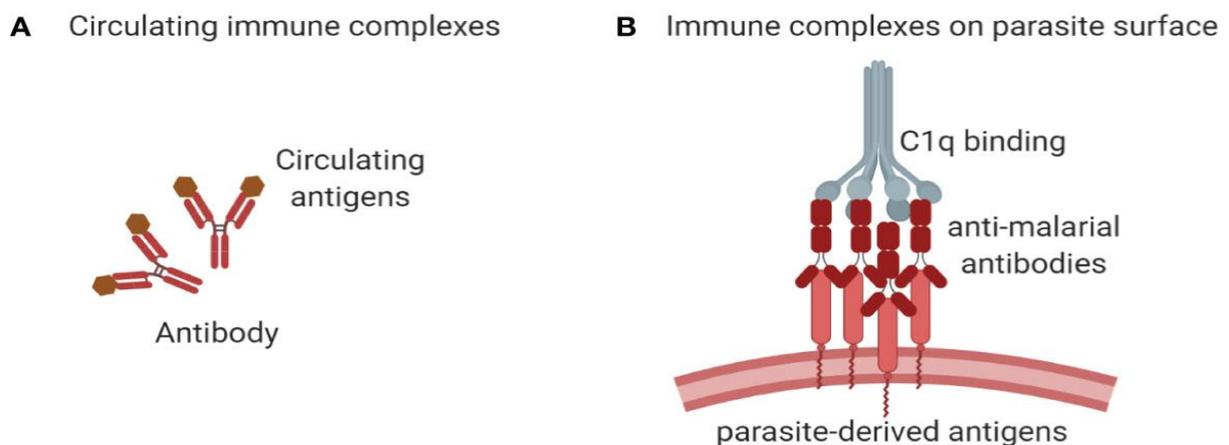


Figure 3 : Illustration des complexes immuns activant le complément

Source : Dilini Rathnayake et al, [95]

L'action du complément peut concerner différentes étapes du cycle de vie du parasite : les sporozoïtes [96, 97], les mérozoïtes[98, 99], les stades sanguins comme les trophozoïtes sanguins [91, 100], les gamétocytes[101].

3.3.1.3 Rôle des cellules immunitaires non-spécifiques

Presque toutes les cellules de l'immunité non spécifique jouent un rôle dans le contrôle de l'infection palustre. Ces cellules interviennent à différents stades du cycle de vie du parasite chez l'homme à travers différents mécanismes. Elles constituent aussi la principale source de production des cytokines impliquées dans le contrôle de l'infection.

L'observation de granulocytes avec des pigment malariques[102], ainsi les changement hématologique au cours du paludisme [103] témoigne du rôle crucial de ces cellules dans l'immunité anti palustre. Le rôle des polynucléaires neutrophiles dans la phagocytose des mérozoïtes et de même des trophozoïtes de *P. falciparum* a été décrite [104, 105] Les mécanismes incriminés sont la cytotoxicité anticorps dépendant, la production de radicaux oxydatifs et aussi la production cytokines comme le TNF et l'IL8 mais aussi de piège extrat cellulaire de neutrophile (neutrophil extracellular traps).

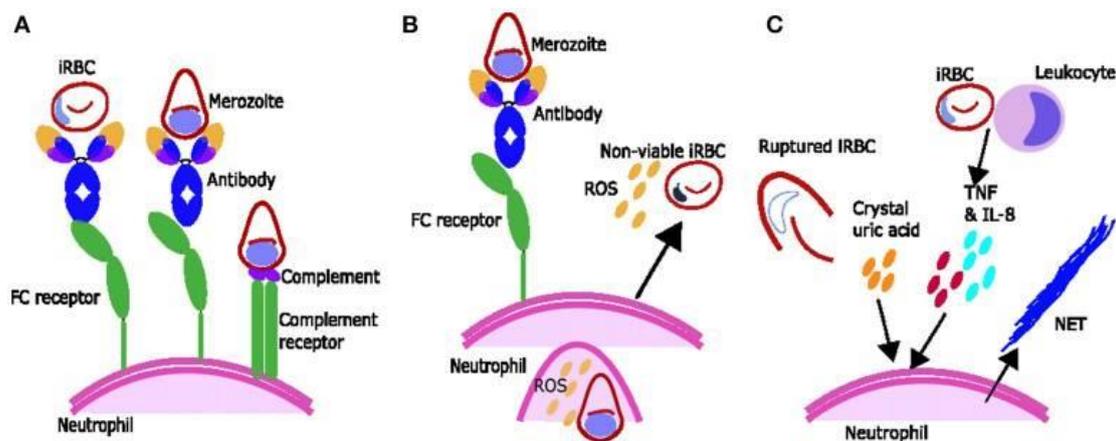


Figure 4 : Mécanismes d'action anti-*Plasmodium* des neutrophiles

Source : [106]

Quant au macrophage, il constitue une cellule très importante dans la lutte contre l'infection palustre. Il intervient par phagocytose des globules rouges infectés médiée directement par les récepteurs de molécules parasitaires exprimées à la surface de ces GR (PfEMP-1) comme le CD36 [107, 108] mais aussi par un mécanisme de cytotoxicité anticorps dépendant. Il constitue aussi une source très importante de production de cytokine comme le TNF α [109] et joue un rôle de présentation des anticorps pour l'initiation de la réponse immunitaire spécifique.

On pense que les cellules T gamma delta (T γ / δ) qui sont des cellules localisées au niveau de la peau et des muqueuses participent à la réponse innée lors de l'infection par le paludisme.

Ils produiraient des cytokines pro-inflammatoires telles que l'IFN gamma, le TNF ou en tuent des mérozoïtes directement avec de la granulysine cytotoxiques [110, 111]. Ces cellules sont capables aussi d'éliminer les stades sanguins de *Plasmodium* en induisant directement la mort ou par phagocytose [112]. La déplétion de souris en cellule T γ / δ les rend susceptibles à l'infection au *Plasmodium berghei* XAT un variant atténué de la souche létale *Plasmodium berghei* NK65 [113].

Une autre étude a rapporté le rôle des cellules NK, qui est très important dans la réponse immunitaire contre le parasite. Les cellules NK du foie ont un rôle protecteur lors du stade hépatique initial de l'infection en produisant des cytokines de type IFN gamma, TNF α qui alertent d'autres cellules du système immunitaire [114].

Il a été démontré que les composants du parasite, tels que les molécules découpées par le glycosyl phosphatidyl inositol (GPI) et l'ADN de *P. falciparum* activent les macrophages à travers les signalisations TLR1, TLR2, TLR9 respectivement [115].

3.3.2 Réponse immunitaire spécifique contre l'infection palustre

L'immunité adaptative est initiée lorsque l'IFN γ secrété par les lymphocytes TCD4 induit une activation optimale des lymphocytes TCD8 cytotoxiques [116], des cellules B [117], les monocytes inflammatoires qui migrent de la moelle osseuse à la rate [118], et une augmentation des capacités phagocytaires des macrophages[119]. Ces mécanismes génèrent une réponse immunitaire splénique au parasite et une génération de cellules T et B mémoires, ainsi que des plasmocytes et des anticorps protecteurs.

3.3.2.1 Immunité spécifiques humorale antipalustre

Le rôle des anticorps spécifiques dans le contrôle de l'infection palustre est illustré par de nombreuses observations épidémiologiques, cliniques et expérimentales. En effet des titres élevés d'anticorps dirigés contre des antigènes plasmodiques ont été observés chez des sujet âgés vivant en zones d'endémie palustre et associés à une réduction du risque de la maladie notamment les formes graves [120-126].

L'infection palustre induit à la fois une réponse des cellules B T-indépendantes et T-dépendantes. Les études cliniques dans les années 1960 et dans les années 1990 ont montré que les anticorps peuvent conférer une protection contre le paludisme : les enfants recevant un transfert passif d'anticorps sériques provenant d'adultes vivant en zone d'endémie palustre étaient capables de contrôler la parasitémie et la fièvre mais étaient incapables d'éliminer l'infection [127, 128].

L'immunité humorale spécifique anti palustre repose sur le mécanisme général de la réponse immunitaire humorale basée sur la production des anticorps par les lymphocytes B activés en Plasmocyte avec l'assistance de lymphocytes T auxiliaires. Elle est dirigée contre des antigènes variés de différentes étapes du cycle de vie du *Plasmodium*.

Beaucoup d'études ont recherché les rôles spécifiques des différentes sous-classes d'IgG dans l'acquisition de l'immunité anti-palustre. Des différences substantielles dans la distribution des sous-classes d'IgG ont été rapportées entre les individus ayant une prémunition et ceux n'ayant pas de prémunition contre le paludisme. Les IgG1 et IgG 3 ayant une propriété cytophile sont apparues prédominantes chez les individus protégés suggérant ainsi leurs rôles importants dans la prémunition contre le paludisme clinique [126, 129]. Il a été par la suite montré que les taux d'IgG3 spécifiques au parasite étaient positivement corrélés à une prémunition contre les cas de paludisme contrairement au taux d'IgG totales spécifiques du parasite [130].

L'efficacité des IgG cytophiles (IgG1 et IgG3) dans la protection contre le paludisme s'expliquerait par leur habilité à se fixer sur des cellules phagocytaires portant leurs récepteurs comme les monocytes. Les IgG1 et IgG3 opéreraient ainsi une inhibition cellulaire de la croissance des parasites en opsonisant les GR parasités.[125, 126, 131]. Les rôles des IgM et IgE ont été rapporté dans la protection et ou la pathogenèse du paludisme. Ainsi le rôle des IgE dans l'immunité et la pathogenèse du paludisme reste encore mal élucidé à cause des donné contradictoires.

Certaines études ont trouvé une association entre des taux élevés d'IgE et des manifestations graves de la maladie [132] alors que d'autres ont rapporté leurs rôles dans la protection contre le paludisme [133, 134].

La réponse spécifique humorale anti palustre semble surtout dirigée contre les formes accessibles comme les sporozoïtes infectant les hépatocytes, les mérozoïtes infectant les érythrocytes et aussi contre les GR infectés exprimant les antigènes parasitaires.

Les anticorps agissent à travers différents mécanismes dans la lutte anti *Plasmodium* comme l'activation du complément, l'opsonisation des mérozoïtes, sporozoïtes et GR infectés induisant la cytotoxicité anticorps dépendant et l'inhibition de l'activité des ligands parasitaires.

3.3.2.2 Immunité spécifique cellulaire antipalustre

Les études menées chez l'homme et les souris indiquent que les cellules T CD4+ et CD8+ sont importantes pour la protection contre le paludisme [135, 136]. Les observations cliniques suggèrent que la durée de l'immunité protectrice dépend de la persistance de l'exposition à l'antigène. La fonction des cellules régulatrices T dans l'infection palustre n'a pas été totalement explorée, bien que les études chez les souris et chez l'homme indiquent que les cellules T régulatrices sont activées pendant la réponse à l'infection palustre et régule négativement la fonction effectrice des cellules T [137]. La déplétion des cellules T régulatrices chez la souris in-vivo augmente l'immunité contre le paludisme.

L'examen des échantillons sanguins humains a indiqué qu'il existe une augmentation importante de la production de facteur transformant de croissance bêta (TGF- β) et une expansion des populations de cellules T régulatrices pendant le stade asexué de l'infection à *P. falciparum*.

Ces changements sont corrélés avec des densités élevées de parasite. L'origine et les caractéristiques des cellules T régulatrices générées lors de la réponse à l'infection palustre ne sont pas bien connues. En général, les cellules T régulatrices sont hétérogènes et dérivent de différentes populations de cellules T. Au contraire des cellules T régulatrices issues du thymus qui expriment le facteur de transcription Foxp3+, les cellules T CD4+ naïves qui sont converties en cellules Foxp3+ en présence du TGF- β peuvent être spécifiques d'antigène et semblent être générées en réponse à l'infection chronique ou à l'exposition à un antigène à des concentrations sous-immunogéniques.

L'inoculation avec des sporozoïtes provenant de moustiques infectés par le *Plasmodium* pourrait déclencher la génération de cellules T régulatrices converties bien que cette idée ne soit pas encore explorée [138, 139].

3.3.3 Antigènes du *Plasmodium*

Plusieurs composants du *Plasmodium* exprimés à différentes étapes de son cycle de vie sont reconnus par les récepteurs des cellules du système immunitaire spécifique (LT et LB) de l'homme. Ces composants, essentiellement des protéines induisent des réponses immunitaires et engendrent la production des anticorps détectables chez les individus vivant dans des zones d'endémie palustre. Ces protéines parasitaires sont caractérisées par leur très grande variabilité conditionnée par leur polymorphisme et leur polygynie.

Cette grande variabilité constitue l'un des grands défis pour le développement de vaccin efficace contre le paludisme. Ainsi on peut citer :

- **les antigènes du stade pré-érythrocytaire** : plusieurs antigènes du stage pré-érythrocytaire ont été décrits notamment, TRAP (thrombospondin-related adhesive protein) ; LSA-1 (Antigène du stade hépatique 1) ; LSA-3 ; SALSA (Sporozoïte et antigène du stade hépatique) ; STARP (Sporozoïte thréonine et asparagine rich protein) et EXP-1 (Antigène exporté 1).

- **les antigènes du stade érythrocytaire** : Ils sont connus sous le nom d'antigènes variants de surface (VSA) à cause de leur très grande variabilité. Les plus étudiées sont : *Plasmodium falciparum* protéines membranaires érythrocytaires 1 (PfEMP-1), Famille entrecoupée répétitive (RIFIN), Cadre de lecture ouvert variable sous-télomérique (STEVOR), Famille de gènes intercalés associés à la surface (SURFIN), protéine riche en histidine associée aux protubérances (KAHRP), protéine de surface mérozoïte (MSP) 1 et 2, Antigène 1 de la membrane apicale (AMA1), protéine circum sporozoïte (CSP) et protéines riches en glutamate (GLURP) ;

- **les antigènes du stade gamétozytaire** : plusieurs antigènes du stage sexuel du *Plasmodium* ont été décrits. Ces antigènes sont particulièrement intéressants pour le développement de médicaments et de vaccins bloquant la transmission. On peut citer Pfs48, Pfs27, Pfs45 et Pfs230

3.3.4 Mécanismes d'échappement immune du *Plasmodium*

De façon innée sous la pression du système immunitaire, le *Plasmodium* développe des mécanismes de survie encore appelés mécanismes d'échappement au système immunitaire de l'hôte ou mécanismes d'évasion immune. Ces mécanismes permettent aux parasites de subsister longtemps dans un environnement hostile créé par le système immunitaire de l'hôte. Plusieurs stratégies sont utilisées par différentes espèces de *Plasmodium*.

3.3.4.1 Variation antigénique

Chez certaines espèces de *Plasmodium* comme *P. falciparum* et *P. knowlesi*, la variation antigénique a été décrite au fil des cycles successifs du parasite pendant la phase sanguine [140, 141]. Elle se manifeste sur plan immunologique par l'inefficacité des anticorps préalablement synthétisés contre les parasites et par l'apparition de nouveaux anticorps. En effet certaines protéines parasitaires de la phase sanguine dont le chef de file est la PfEMP-1 sont codées par des complexes de gènes dont les expressions sont exclusives. Le choix de l'expression d'un gène du complexe au cours du cycle de vie est aléatoire ce qui a comme conséquence une variation dans la structure des protéines (antigènes) exprimées. Cette variation apparaît donc comme un mécanisme d'adaptation face à la pression immune de l'hôte. En fait, ce mécanisme d'évasion a une portée limitée in vivo puisque l'hôte vacciné avec un variant déclenche une immunisation contre les autres variant du parasite [142, 143].

3.3.2.2. Localisation intracellulaire

La plus grande partie du développement du *Plasmodium* chez son hôte se fait à l'intérieur des cellules. Les formes intrahépatocytaires semblent relativement protégées puisqu'on a pu mettre en évidence chez *P. vivax* des formes latentes du parasite, les hypnozoïtes [144], susceptibles de déclencher des rechutes. La localisation intraérythrocytaire semble beaucoup moins efficace comme moyen d'évasion. Le parasite exprime, en effet, certains de ses antigènes à la surface du GR, se signalant ainsi inmanquablement aux cellules immunocompétentes.

Cependant l'absence de molécules du complexe majeur d'histocompatibilité sur les GR pourrait constituer une entrave au développement de la réponse immunitaire cellulaire des TCD8+ contre la phase intraérythrocytaire, la reconnaissance des antigènes par les LTCD8 étant CMH-I restreinte.

3.3.2.3. Esquive du système immunitaire

A travers les phénomènes de cytoadhérence et de rosetting médiés par les protéines parasitaires notamment les molécules de PfEMP-1, *Plasmodium falciparum* et *Plasmodium knowlesi* esquivent les phénomènes de rétention splénique et de phagocytose de cellules phagocytaires [145].

Les globules rouges parasités expriment à leurs surfaces des protéines parasitaires qui jouent un rôle très important dans la survie du parasite. En effet, ces protéines agissent comme des ligands qui en se fixant sur les récepteurs sur différentes cellules de l'hôte humain notamment les cellules endothéliales des microvaisseaux permettent aux GR parasités de s'immobiliser au niveau des parois des microvaisseaux sanguines, un environnement favorable au développement optimal des parasite [146]. Par ce phénomène appelé cytoadhérence, les parasites évitent ainsi d'être entraînés dans la pulpe rouge de la rate où ils sont sujets à la rétention splénique et à la phagocytose par les macrophages. Ces ligands parasitaires ont aussi des récepteurs sur le globule rouge sains qui médient l'accolement de nombreux globules rouges autour des globules rouges parasités aboutissant à la formation de rosette [147]. Ce phénomène appelé rosetting protège les globules rouges parasités de l'attaque du système immunitaire et permettent aux mérozoïtes issus de la rupture des schizontes ainsi enrobés par les GR ont plus de chance d'en pénétrer avant de subir l'action du système immunitaire.

3.3.2.4. Dysfonctionnement de la réponse immune de l'hôte

Le paludisme entraîne de profondes perturbations de la réponse immune de l'hôte, favorisant la survie du parasite. Parmi ces perturbations, l'immunodépression et l'activation polyclonale des lymphocytes B jouent un rôle majeur.

L'immunodépression porte sur la réponse humorale et cellulaire à des Ag palustres aussi bien qu'à des Ag ubiquitaires. Son degré est variable selon les modèles expérimentaux, l'espèce plasmodiale en cause et la charge parasitaire [148]. De nombreux mécanismes ont été recensés in vitro pour expliquer l'inhibition du système immunitaire par le *Plasmodium* ; la défection de la fonction macrophagique [149-151], stimulation des lymphocytes T suppresseurs [152], l'intervention de facteurs sériques immunodépresseurs, notamment, un facteur soluble d'origine parasitaire stimulerait l'activation des Lymphocytes T qui règlent la coopération Lymphocyte T – Lymphocyte B [153-155]. Le dysfonctionnement de la réponse immune de l'hôte [156, 157].

Cette activation polyclonale, en diluant ou en déviant la réponse immunitaire à l'infection palustre, favoriserait la survie du parasite. Les mécanismes d'évasion mis en jeu par le *Plasmodium* entraînent donc un dysfonctionnement de la réponse immune en inhibant ou en emballant les mécanismes régulateurs.

D'autres mécanismes s'opposent au rôle des cellules T dans le développement de l'immunité antipaludique. En effet, l'une des caractéristiques de l'infection par le paludisme est l'incapacité de générer une immunité protectrice acquise. Cela est causé par plusieurs facteurs : le développement insuffisant des lymphocytes T mémoires et leur mort programmée [158], la diversité génétique du parasite qui perturbe le système immunitaire.

Pendant l'infection, les acides nucléiques et leurs métabolites sont libérés des cellules mortes et induisent des réponses inflammatoires et réparatrices [159]. Parmi ces métabolites libérés, il y a l'adénosine triphosphate (ATP) qui s'accumule dans les globules rouges infectés et libérés dans le milieu extra cellulaire à travers les canaux ioniques des membranes érythrocytaires [160]. En effet le récepteur P2X7 de l'ATP présente à la surface des cellules T leur permet de détecter l'ATP environnemental. L'activation transitoire des P2X7 entraîne la formation d'un canal cationique qui permet l'afflux de calcium induisant la formation de pores transmembranaires de grande taille donc une perte de l'intégrité de la membrane et la mort des lymphocytes T [161].

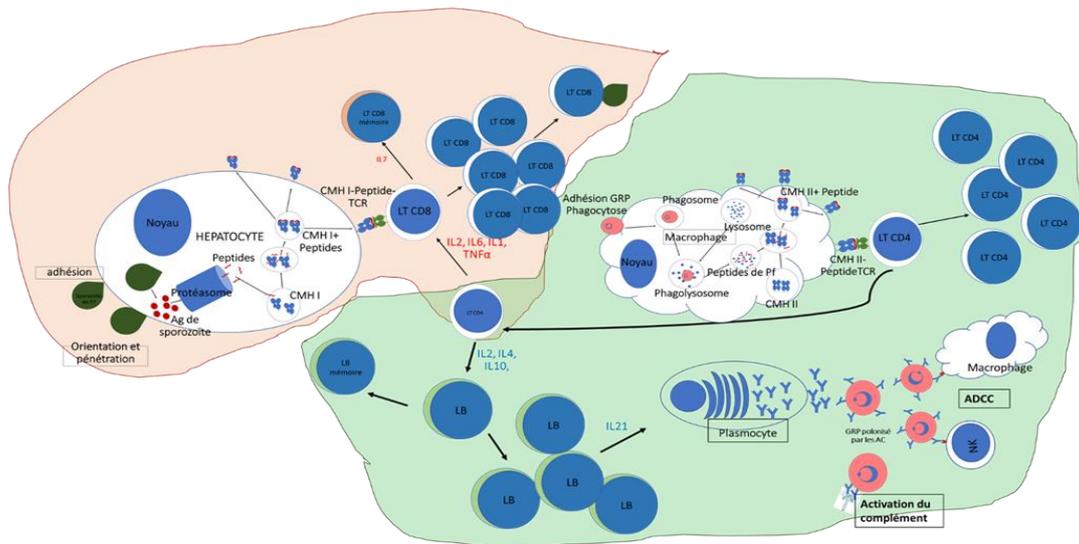


Figure 5 : Illustration de la réponse immunitaire anti-palustre

Source : Laboratoire d'immunogénétique et parasitologie du MRTC/USTTB, 2022

3.4 Hypothèse d'Haldane

Haldane est l'un des trois fondateurs de la génétique populationnelle. Il est surtout connu pour avoir le premier suggéré que les maladies pourraient constituer un facteur d'évolution du génome humain.

Plus de 60 ans après l'hypothèse de Haldane, des preuves épidémiologiques de la protection que confèrent certaines hémoglobinopathies contre le paludisme ont été rapportées par plusieurs études de terrain. Le paludisme est aujourd'hui considéré comme la plus grande force sélective dans l'histoire évolutive récente du génome humain [162]. Il serait l'artisan principal de la sélection des variants structuraux de la gène de la beta globine, telles que HbS, HbC [163, 164]. Ainsi, pendant plus de 10.000 ans, le paludisme a eu comme conséquence, la sélection de centaines, voire de milliers de variants génétiques qui confèrent un certain degré de protection contre les formes mortelles de la maladie [165].

3.5 Protection antipaludique conférée par les hémoglobinopathies : Données épidémiologiques (cas de HbS et l'HbC)

3.5.1 Hémoglobine S et le paludisme

Beet a été le premier à observer en Rhodésie du nord le lien entre le paludisme et la drépanocytose, car ses observations montraient que les parasites du paludisme étaient moins fréquents dans le sang des sujets ayant le trait drépanocytaire[166]. Ensuite, Allison a rapporté que les personnes ayant le trait drépanocytaire développaient un paludisme moins fréquent et moins sévère que les personnes normales[167]. Allison observa le premier des 1949 qu'il y avait une fréquence élevée du trait drépanocytaire HbAS (au moins 20%) dans les populations vivant près des zones côtières Kenyanes et autour du lac Victoria à l'opposé d'une faible fréquence de l'hémoglobine S sur les autres terres où le paludisme n'existe pas. Il proposait alors que le trait drépanocytaire conférait un certain degré de protection contre le paludisme à *Plasmodium falciparum*.

Pour mettre en évidence cette hypothèse, il étudia chez les enfants de 4 mois, chez lesquels la morbidité et la mortalité du paludisme sont très grande et trouva que les enfants drépanocytaires ougandais de cette classe d'âge avaient une faible prévalence du paludisme, comparés à ceux ne portant pas ce trait drépanocytaire et avaient une hémoglobine normale A[168].

Cette observation a été confirmée dans plusieurs régions Africaines, et les manifestations potentiellement létales du paludisme (atteinte cérébrale et l'anémie sévère) sont rares chez les sujets avec traits drépanocytaires [169, 170]. De façon générale, l'HbAS est associée à près de 50% de réduction de risque de faire un épisode de paludisme non compliqué, cette réduction pouvant atteindre jusqu'à 80% concernant le paludisme grave ou compliqué[171, 172]. En plus de la réduction du risque de paludisme chez les sujets HbAS, une étude a rapporté qu'il y a un retard de plus de 30 jours dans l'apparition du premier épisode de paludisme chez eux, au cours d'une saison de transmission, comparé à un groupe témoins HbAA vivant dans les mêmes conditions d'exposition au paludisme[6].

Il a été aussi rapporté dans une étude au Mali en 2015 qu'il y a une réduction de 150 parasites/microlitre de la parasitémie chez les sujets HbAS comparés aux sujets HbAA [7].

3.5.2 Hémoglobine C et paludisme

Le lien entre le paludisme et la drépanocytose a été décrit pour la première fois au Mali chez les Dogons, une population caractérisée par une forte prévalence d'HbC. En effet, il a été démontré que dans cette population que les sujets porteurs d'HbC présentaient 29% de moins de risque de faire un neuropaludisme que les sujets normaux HbAA. Dans cette étude aucun des 7 sujets HbCC inclus n'a développé de neuropaludisme[163]. Après Modiano a confirmé ces résultats dans une étude réalisée au Burkina Faso dans laquelle il a rapporté que l'HbAC et l'HbCC étaient respectivement associées à 29% et 93% de réduction de risque de paludisme[164].Cependant, May et ses collaborateurs avaient rapporté que la protection conférée par l'HbC contre le paludisme, concernait seulement le neuropaludisme et non les autres aspects du paludisme comme le paludisme simple ou l'anémie sévère palustre[169]. Dans une autre étude menée au Mali chez les enfants de 0 à 6 ans, il a été rapporté que l'HbC réduisait de 183 jours le temps médiant que passaient les enfants sans paludisme comparé à l'HbAA [173].

3.6 Mécanismes identifiés ou suspectés dans la protection Conférée par les hémoglobinopathies contre le paludisme

La cytoadhésion et la formation de rosettes de *P. falciparum* conduisent au paludisme grave. Ces deux phénomènes sont induits par le PfEMP-1 codée par le parasite et qui est exprimée à la surface des globules rouges matures infectés [174]. Cependant, il a été rapporté que les polymorphismes de globules rouges, HbS et HbC peuvent protéger contre le paludisme grave par une diminution du phénomène de Cytoadhérence et de rosetting et que cette réduction pourrait être médiée par une faible expression de PfEMP-1 à la surface des globules rouges infectés [175, 176].

Aussi, d'autres hypothèses ont été rapportées pour les trois hémoglobinopathies dont l'inhibition de la croissance du parasite dans les globules rouges et la phagocytose précoce et accélérée des globules rouges infectés par le *P. falciparum*. Ces hypothèses sont basées en grande partie sur la faible stabilité de ces variant hémoglobiniques qui entrainerait un vieillissement précoce des globules rouges[177].

Il semblerait que ces variant Hémoglobiniques soient beaucoup plus susceptibles au stress oxydatifs, que le produit de dégradation de l'hémoglobine (Hémichromes), se déposerait à la face interne de la membrane des globules, altérant ainsi les protéines membranaires, ce qui conduirait à une opsonisation de ces hématies infectées et donc leur élimination par le système des phagocytes mononuclés[178, 179]. Cette élimination précoce s'oppose à un développement parasitaire complet à l'intérieur des globules rouges. La phagocytose précoce des globules rouges infectés par *P.falciparum* a été décrite in vitro avec des globules rouges des sujets α - thalassémiques[180], HbC [181], HbAS. Le rôle de l'immunité humorale acquise spécifique a été aussi décrit dans la protection des sujets HbAS et HbC [181]. Cependant, plusieurs études ultérieures n'ont pas confirmé ces observations [182, 183].

4 METHOLOGIE

4.1 Cadre et site d'étude

L'étude s'est déroulée dans le village de Kéniéroba, situé dans la commune rurale de Bancoumana (cercle de Kati) à environ 73 km au sud-ouest de Bamako, la capitale du Mali. Le paludisme y est saisonnier et la période de sa haute transmission s'étend de juin à décembre avec des pics observés en Juillet et en Octobre. Les participants à cette étude étaient inclus dans le cadre d'un projet de recherche sur le paludisme à *P. falciparum* conçu et mise en œuvre en partenariat avec des chercheurs de l'institut National des allergies et des maladies infectieuses (NIAID/NIH) des Etats-Unis d'Amérique et l'Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB).

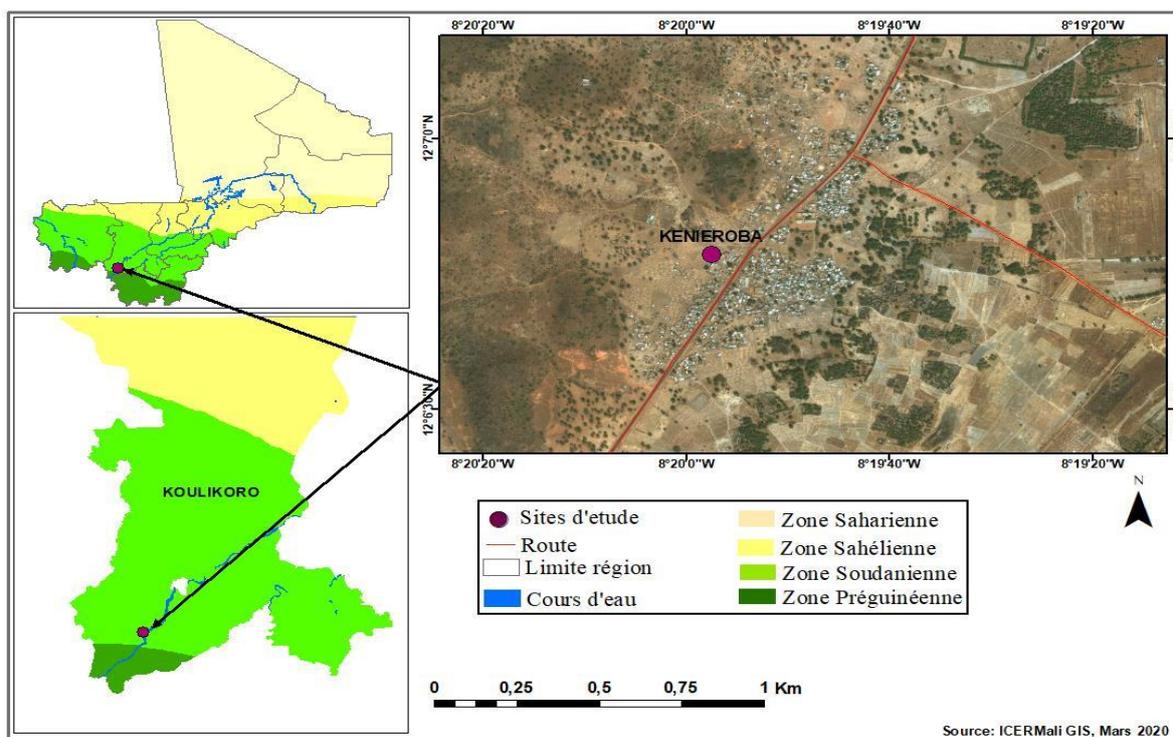


Figure 6 : Représentation cartographique du village de Kéniéroba

Source : ICER-Mali GIS, mars 2020

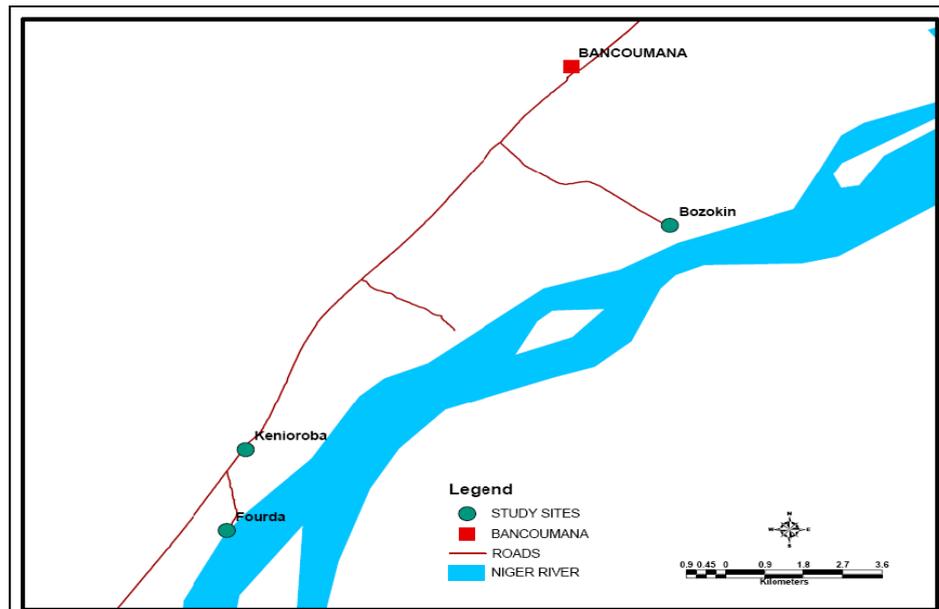


Figure 7 : Plan de masse des trois villages d'étude dans la commune rurale de Bancoumana
Source : Unité GIS MRTC/FMPOS.

4.2 Type d'étude

Nous avons mené une étude de cohorte sur une saison de transmission.

4.3 Période d'étude

L'étude s'est déroulée pendant la saison de transmission de mai 2011 à décembre 2011.

4.4 Population d'étude

La cohorte était constituée des enfants de 4 à 13 ans choisis au sein des participants à une étude plus globale portant sur l'immunité innée et acquise au paludisme à Kéniéroba.

4.5 Echantillonnage

La cohorte était constituée de tous les sujets HbAS et HbAC disponibles répondant aux critères d'inclusion ci-dessous cités aux quels étaient appariés des sujet HbAA en fonction de l'âge et du sexe. Chaque sujet HbAS ou HbAC inclus dans la cohorte était appariés à un ou deux sujets HbAA répondant aux critères d'inclusion.

4.6 Critères d'inclusion

Nous avons inclus dans cette étude tous les enfants répondant aux critères suivants :

- ✓ accepter de participer à l'étude qui est attesté par le consentement libre et éclairé des parents ou des tuteurs de l'enfant,
- ✓ résider dans le village de Kéniéroba pendant la période de l'étude,
- ✓ être âgé de 4 à 13 ans.

4.7 Critères de non-inclusion

Nous n'avons pas inclus dans cette étude les enfants qui étaient dans des conditions les rendant incapable de suivre le protocole comme les maladies psychiatriques, hémophilies, etc.

4.8 Variables mesurées

Les variables suivantes ont été mesurées :

- ✓ variables sociodémographiques : l'âge, le sexe et l'ethnie
- ✓ variables biologiques : le type d'hémoglobine, le groupe sanguin ABO et les titres d'anticorps anti-PfEMP-1/VarO, la parasitémie.

4.9 Collecte des données

Les données ont été collectées sur les formulaires de report de cas (CRF) contenant trois sections : identification, données cliniques, et données de laboratoires. Un contrôle de qualité par comparaison des données cliniques et parasitologiques était effectué à la fin de chaque journée de travail afin de corriger les incohérences avant la validation.

4.10 Techniques de laboratoire utilisées

Les participants inclus dans l'étude ont fait l'objet d'un prélèvement sanguin au bout du doigt et d'un prélèvement sanguin veineux pour le dosage des différents paramètres. Ainsi, nous avons effectué les analyses suivantes :

- **La détermination du type d'hémoglobine** par l'appareil D-10 de Bio-Rad dont le principe est basé sur la chromatographie liquide à haute performance [184].
- **Le groupe sanguin ABO** a été déterminé suivant le test d'agglutination en utilisant des Kits commerciaux à base d'anticorps monoclonaux [185].
- **Le diagnostic biologique du paludisme** (recherche de l'hématozoaire du paludisme) a été fait par la technique de la goutte épaisse (GE).
- **Le dosage des anticorps anti-PfEMP-1/VarO par la méthode ELISA** : Chaque aliquote de plasma a été testé en duplicata par méthode Immuno-enzymatique ELISA (test immunoabsorbant enzymatique sur support solide) contre une protéine recombinante d'antigène PfEMP-1/VarO.

Toutes les techniques sont décrites dans la section annexe.

4.11 Gestion et analyse des données

Les données ont été saisies sur Microsoft Excel 2013 et analysées avec le logiciel SPSS version 25.0. Les résultats ont été présentés sous forme de tableaux et de figures. Le test de khi² de Pearson a été utilisé pour comparer les variables catégorielles. Le test de régression linéaire a été utilisé pour déterminer la corrélation entre le nombre d'épisode palustre, l'âge et le titre d'anticorps anti-PfEMP-1/VarO. Le seuil de signification statistique a été fixé à 5%.

4.12 Définition opérationnelle

La séropositivité au PfEMP-1/VarO a été définie comme tout échantillon ayant une densité optique supérieure à 5 fois la densité optique du témoin négatif testé sur la même plaque à l'ELISA.

4.13 Considérations éthiques

L'étude a été approuvée par le comité d'éthique de la FMPOS de l'université de Bamako ainsi que par la commission de révision institutionnelle de l'Institut National des allergies et des maladies infectieuses des Etats unis d'Amérique (NIAID/NIH). Un consentement éclairé a été obtenu des parents ou tuteurs de chaque participant à l'étude. Sur le terrain, les autorités administratives et coutumières ont été informées de tous les aspects de l'étude.

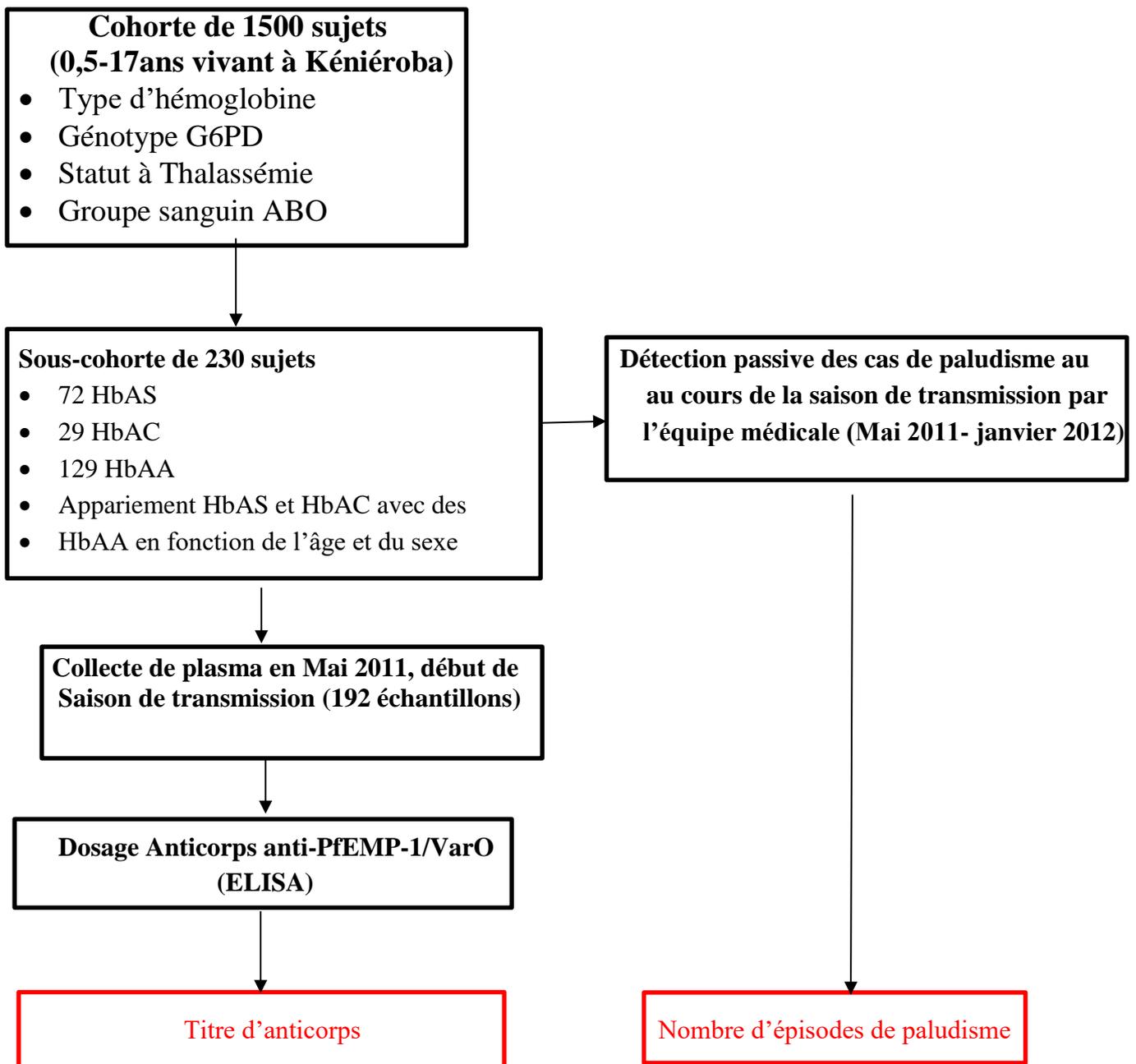
4.14 Déroulement de l'étude

Un consentement individuel éclairé et libre était obtenu auprès du parent/tuteur pour chaque participant de l'étude, et une copie du consentement était remise au parent/tuteur. A l'inclusion, un aliquote de plasma était collecté à chaque participant au début de la saison de transmission (mai 2011). Les plasmas étaient gardés à -80°C jusqu'au moment de l'utilisation. Les parents et tuteurs des enfants étaient activement encouragés à amener les enfants présentant des signes de paludisme au centre de santé de Kéniéroba où une équipe médicale assurait la permanence pendant les saisons de transmission du paludisme.

Pour chaque enfant reçu en consultation, un interrogatoire suivi d'un examen physique était réalisé. Cela nous a permis de recueillir les données cliniques sur un formulaire de report de cas. Un prélèvement sanguin était par la suite réalisé pour la goutte épaisse.

Pour chaque cas confirmé de paludisme, une combinaison thérapeutique à base d'artémisinine (artésunate + amodiaquine) était administrée à l'enfant. En cas de complications nécessitant des actions thérapeutiques particulières, les patients étaient référés à Bamako pour une meilleure prise en charge.

Organigramme du travail



5 RESULTATS

5.1. Résultats globaux

Au total, nous avons enrôlé 230 enfants âgés de 4 à 13 ans avec un sexe ratio de 1,03 en faveur du sexe masculin. La tranche d'âge de 6 à 13 ans était la plus représentée (76,1%) suivie des moins de 6 ans (23,9%). Le type d'hémoglobine (AA/AC) était majoritaire avec (68,7%) et le groupe sanguin O représentait (44,3%). Parmi les 192 participants testés au anticorps anti-PfEMP-1/VarO, 153 ont été positif soit 79,7%.

5.2. Résultats descriptifs

Tableau 2 : Répartition des participants en fonction du sexe

Sexe	Effectif	Pourcentage
Masculin	117	50,9
Féminin	113	49,1
Total	230	100

Le sexe masculin et féminin étaient presque comparable dans notre échantillon avec respectivement 50,9 % et 49,1% soit un sexe ratio de 1,03 en faveur du sexe masculin.

Tableau 3 : Répartition des participants en fonction des tranches d'âge

Tranche d'âge	Effectif	Pourcentage
4 à 5 ans	55	23,9
6 à 13 ans	175	76,1
Total	230	100

La tranche d'âge de 6 à 13 ans était la plus représentée (76,1%).

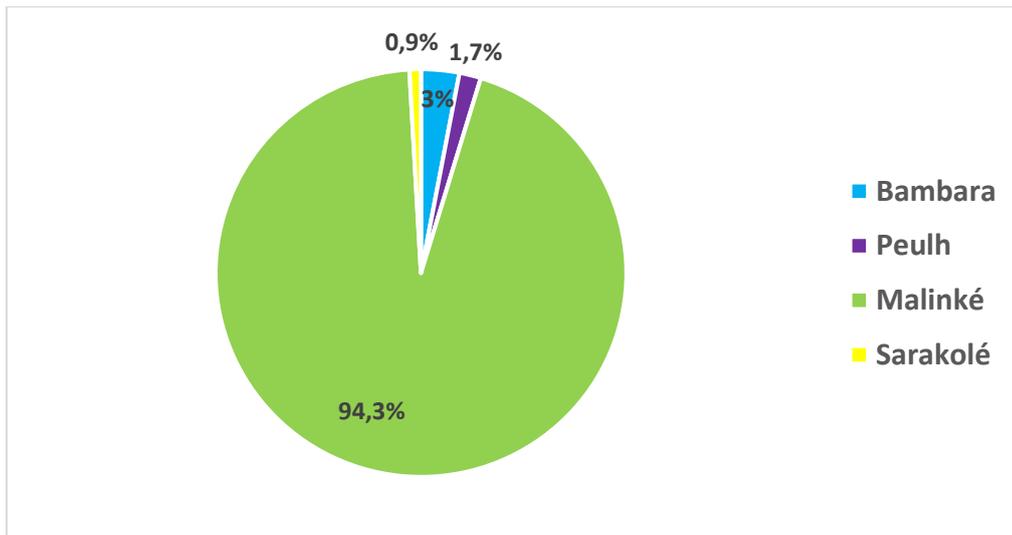


Figure 8 : Répartition des participants en fonction de l'ethnie

Notre échantillon était presque composé de Malinkés (94,3%). Les autres ethnies représentées étaient les Bambara (3,0%), Peulh (1,7%) et les Sarakolé (0,9%).

Tableau 4 : La fréquence du paludisme chez les participants à Kéniéroba

Paludisme	Effectif	Pourcentage
Oui	146	63,5
Non	84	36,5
Total	230	100

Plus de la moitié de nos participants ont manifesté le paludisme au cours de la saison d'étude soit 63,5%.

Tableau 5 : Répartition des participants en fonction du type d'hémoglobine

Type d'hémoglobine	Effectif	Pourcentage
AA+AC	158	68,7
AS	72	31,3
Total	230	100

Le trait drépanocytaire (HbAS) était retrouvé chez 31,3% de nos participants

5.3 Résultats analytiques

Tableau 6 : Relation entre le type d'hémoglobine et le nombre d'épisode palustre

Nombre d'épisode	HbAS	HbAA + HbAC	P
	n (%)	n(%)	
Zéro épisode	36 (50,0)	48 (30,4)	-
1 épisode	24 (33,3)	50 (31,6)	0,08
2 épisodes et plus	12 (16,7)	60 (38,0)	0,0002
Total	72 (100)	158 (100)	

La moitié des sujets HbAS n'ont pas fait d'épisode du paludisme contre seulement 30,4% des sujets présentant autres types d'hémoglobine. Le nombre de sujet ayant fait plus d'un épisode de paludisme était significativement plus faible chez les sujets HbAS par rapport aux autres sujets. (p=0,0002).

Tableau 7 : Relation entre le type d'hémoglobine et l'avènement du paludisme

Paludisme	HbAS	HbAC + HbAA	Total
	n (%)	n (%)	
Oui	36 (24,7)	110 (75,3)	146 (100)
Non	36 (42,9)	48 (54,1)	84 (100)
Total	72	158	

RR=0,58, IC 95% = [0,40-0,83], p = 0,004

Le type d'hémoglobine était associé à une réduction de 42% du risque d'avènement palustre chez les sujets AS.

Tableau 8 : Le nombre d'épisode palustre dans les différentes classes d'âge

Le nombre d'épisode	4 à 5 ans	6 à 13 ans	p
	n (%)	n (%)	
Zéro épisode*	8 (14,5)	76 (43,4)	-
1 épisode	15 (27,3)	59 (33,7)	0,02
2 épisodes et plus	32 (58,2)	40 (22,9)	<10 ⁻⁶
Total	55 (100)	175 (100)	

Le nombre d'épisode palustre observé chez les enfants au cours de la saison de transmission variait significativement d'une tranche d'âge à l'autre. Seul 23% des sujets de 6 à 13 ans avait fait plus d'un épisode de paludisme contre 58% des sujets 4 à 5 ans ($p < 10^{-6}$). Ce pourcentage était respectivement de 33,7% et 27,3% ($p = 0,02$) concernant l'avènement d'un seul épisode de paludisme.

Tableau 9 : Relation entre l'avènement du paludisme et l'âge

Paludisme	4 à 5 ans n (%)	6 à 13 ans n (%)	Total
Oui	47 (32,2)	99 (67,8)	146 (100)
Non	8 (9,5)	76 (90,5)	84 (100)
Total	55	175	230

RR=0,29 IC=95% [0,14 - 0,59] p = 0,001

La tranche d'âge était associée à une réduction de 71% du risque d'avènement palustre chez les sujets de 6 à 13 ans ($p < 0,0001$).

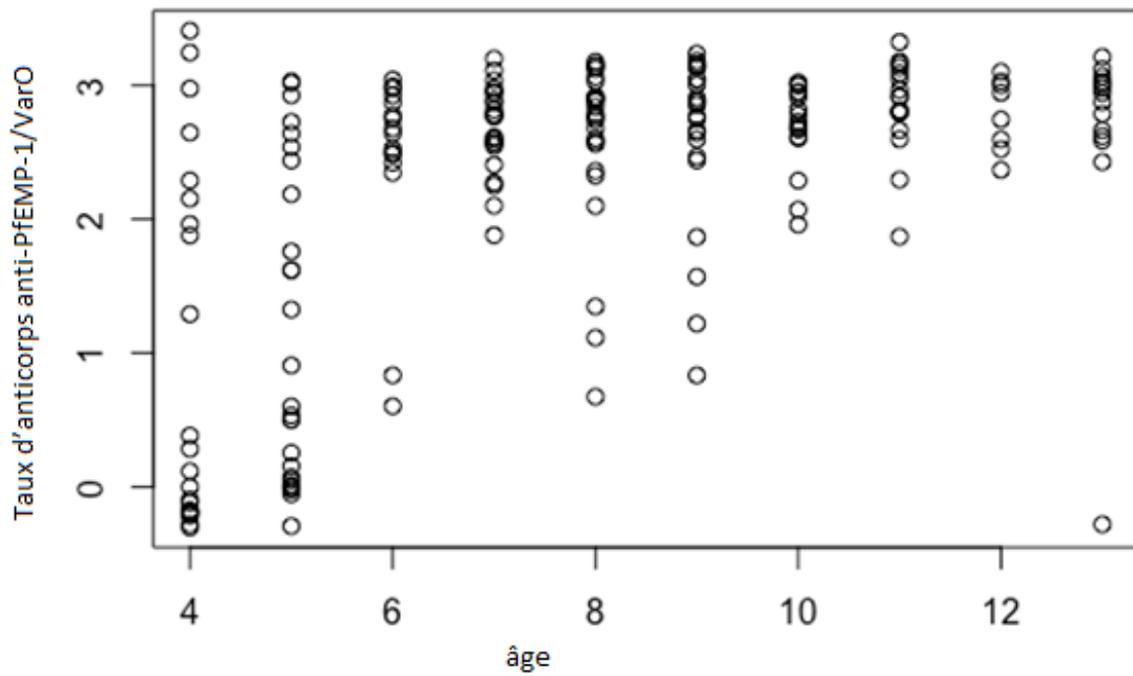


Figure 10 : Corrélation entre le titre d'anticorps anti-PfEMP-1/VarO et l'âge

Nous avons observé une corrélation faible entre le titre d'anticorps anti-PfEMP-1/VarO et l'âge ($r = 0,28$; $p = 7,9 \cdot 10^{-9}$).

Tableau 10 : Relation entre le groupe sanguin et l'avènement des épisodes palustre

Episode palustre	Autres groupes	Groupe O	Total
	n (%)	n (%)	
Oui	64 (43,8)	82 (56,2)	146 (100)
Non	38 (45,2)	46 (54,8)	84 (100)

p = 0,8

Nous n'avons observé aucun lien statistiquement significatif entre le groupe sanguin et l'avènement des épisodes palustres ($p = 0,8$).

Tableau 11 : Relation entre le statut immunitaire anti-PfEMP-1/VarO et l'avènement des épisodes palustres.

Statut immunitaire anti-PfEMP-1/VarO	Paludisme Non n (%)	Paludisme Oui n (%)
Négatif	6 (8,6)	33 (27,0)
Positif	64 (91,4)	89 (73,0)
Total	70 (100)	122 (100)

RR = 0,37 ; IC 95% [0,17- 0,79] ; p = 0,002

Le statut immunitaire anti-PfEMP-1/ VarO était associé à une réduction de 63% du risque d'avènement du paludisme au cours de la saison de transmission.

6 COMMENTAIRES ET DISCUSSION

Cette étude entre dans le cadre d'un projet de recherche sur le paludisme à *P. falciparum*, menée par le MRTC/FMOS-FAPH/USTTB en collaboration avec le NIAID/NIH des Etats Unis d'Amérique. Elle visait à étudier l'immunité innée et acquise au paludisme dans le village de Kéniéroba. Le village de Kéniéroba a été choisi du fait de sa situation géographique. Il se trouve dans une zone d'endémie palustre saisonnière longue de juin à octobre. Le village possède également une riche expérience dans la participation à des études de recherche biomédicale, facilitant ainsi leur adhésion au projet de recherche.

L'étude a concerné les enfants âgés de 4 à 13 ans dont les parents ou tuteurs ont donné leur consentement libre et éclairé. Nous n'avons pas pu inclure les enfants de moins de 4 ans dans l'étude à cause du caractère contraignant de l'étude originale qui exigeait des prélèvements fréquents. Les sujets de plus de 13 ans n'ont pas été inclus dans l'étude pour minimiser l'effet confondant de la protection acquise liée à l'âge. En effet, le village de Kéniéroba étant situé dans une zone d'endémie palustre, les sujets âgés pourraient y acquérir de façon précoce une immunité protectrice contre le paludisme avec l'âge.

6.1 Données descriptives

Au total 230 enfants ont été inclus dans notre étude. La majorité des enfants (76,1%) était de la classe d'âge de 6 à 13 ans tandis que ceux de 4 à 5 ans ne représentaient que 23,9% (tableau 3). Le sexe ratio était de 1,03 en faveur du sexe masculin (tableau 2) et la majorité de nos participants était des malinkés (94,3%) (Figure 8). Notre échantillonnage était assez homogène sur le plan du genre ainsi que de l'ethnie éliminant donc les effets confondants pouvant être liés à ces deux facteurs. Plus du tiers des participants de notre cohorte n'ont présenté aucun cas de paludisme clinique au cours de la saison de transmission soit 36,5% (tableau 4).

6.2 Données analytiques

Depuis l'hypothèse d'Haldane, les effets de protection contre le paludisme de plusieurs polymorphismes du GR ont été testés par plusieurs auteurs. Ces différentes études ont concerné plusieurs aspects de la protection contre le paludisme allant de la protection contre l'infection asymptomatique à la protection contre les manifestations graves en passant par une réduction de l'incidence palustre. Nous avons trouvé que l'HbAS était associée à une réduction de 42 % de risque d'avènement du paludisme au cours de l'étude ($p=0,004$) (tableau 7). L'effet de protection de l'HbAS contre les formes graves du paludisme allant du neuropaludisme à l'anémie grave a été rapporté par des études sur le paludisme [169]. Concernant les épisodes palustres non compliqués, de multiples études ont décrit une réduction du risque chez les HbAS [186-188]. En revanche, les études du portage asymptomatique de *P. falciparum* chez les sujets HbAS comparé au sujets HbAA ont donné des résultats contradictoires. Quelques études ont rapporté des prévalences plus faibles du portage asymptomatique chez les sujets HbAS [168, 189, 190]. Les mécanismes par lesquels l'HbAS protège contre le paludisme restent toujours non complètement élucidés.

Au cours du dernier demi-siècle, plusieurs mécanismes probables ont été suggérés pour expliquer la protection conférée par le portage de l'HbS (à l'état hétérozygote) ou trait drépanocytaire contre le paludisme. La plupart de ces hypothèses sont basés sur les propriétés intrinsèques de l'HbS et n'expliquent pas de façon exhaustive les aspects expérimentaux, cliniques et épidémiologiques de cette protection. La protection des sujets HbAS semble donc résulter d'une synergie d'action de divers mécanismes indépendants imputables à l'interaction entre le parasite et le GR d'une part, et à l'interaction du GR parasité avec son environnement d'autre part. Parmi les mécanismes suggérés on peut citer, la falciformation des GR infectés circulants [191] L'inhibition de la croissance des parasites dans les GR HbAS [192], une induction de la tolérance à *P. falciparum* [193].

Dans notre étude, le nombre d'épisode palustre variait significativement d'une tranche d'âge (4 à 5 ans) à l'autre (6 à 13 ans) (tableau 8). En effet dans les zones d'endémie palustre, l'exposition naturelle continue des enfants aux différents antigènes du *Plasmodium* booste la production des anticorps correspondants. Ces anticorps protègent contre l'incidence palustre et surtout les manifestations graves du paludisme. Cette immunité n'empêche pas l'infection asymptomatique et parfois même des épisodes de paludisme simple.

La capacité des érythrocytes infectés par *P. falciparum* à se lier aux érythrocytes non infectés (rosetting) est associée à un paludisme grave chez les enfants africains. Le rosetting est initié par un sous ensemble du variant des antigènes des surfaces PfEMP-1 ciblés par des réponses anticorps protecteurs.

Notre étude a révélé une réduction de 63% du risque d'avènement des épisodes palustres chez le sujet immuns au PfEMP-1/VarO (tableau 11). Cette observation corrobore avec celle de Wigan-Womas et collaborateur au Sénégal et au Bénin rapportant que des titres élevés des anticorps anti-PfEMP-1/VarO étaient associés à une réduction du risque de paludisme grave au Bénin et ils ont rapporté que les adultes avaient un titre d'anticorps anti-PfEMP-1/VarO légèrement plus élevés que les enfants.[12] . Ils ont également observé des réponses anti--PfEMP-1/VarO beaucoup plus faible chez les enfants atteints de paludisme clinique par rapport aux sujets asymptomatiques.

De façon générale, nous avons observé de corrélation entre les titres moyens d'anticorps anti-PfEMP-1/VarO et le nombre d'épisode palustre (figure 9), témoignant du rôle de protection de ces anticorps contre le paludisme clinique. Une induction précoce et une amplitude plus large de l'immunité acquise ont été décrites comme un mécanisme possible pour la protection conférée par le trait drépanocytaire [120, 194, 195]. Cette hypothèse suggère que le trait drépanocytaire protège à travers l'acquisition de l'immunité acquise. Ainsi avons-nous dans cette étude exploré les liens entre l'acquisition des anticorps anti-PfEMP-1/VarO et le portage de ce trait génétique. Nos données n'ont décelé aucune association significative entre ces deux paramètres.

Cette observation n'est donc pas en faveur de l'hypothèse suscitée. Le trait drépanocytaire protégerait donc contre le paludisme par un mécanisme différent de ceux des anticorps anti palustres.

7 LIMITES DE NOTRE ETUDE

Notre étude s'est intéressée uniquement sur les protections conférées par le trait drépanocytaire et les anticorps anti-PfEMP-1/VarO chez les enfants âgés de 4 à 13 ans. Nous n'avons pas inclus les enfants de 0 à 4 et les plus de 13 ans qui peuvent être source de biais vu la susceptibilité accrue des enfants de moins de 5 ans au paludisme. Une étude ayant une taille d'échantillon plus importante prenant en compte les différentes formes cliniques du paludisme apporterait une conclusion plus robuste par rapport à notre étude. En plus une étude élargie aux anticorps dirigés contre d'autres antigènes du parasite apporterait également plus d'informations.

8 CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

8.1. Conclusion

Au terme de notre étude, il ressort que le portage de l'HbAS et le statut immunitaire anti-PfEMP-1/VarO étaient associés à une réduction importante de risque d'évènement du paludisme dans la population d'étude. Nous n'avons pas observé de liens entre le portage de l'HbAS et le statut immunitaire anti PfEMP-1/VarO. Nos résultats suggèrent que les anticorps anti-PfEMP-1/VarO ne sont pas responsables de la protection conférée par le trait drépanocytaire.

8.2. Recommandations

A la fin de notre étude et au vu de nos résultats, nous pouvons formuler les recommandations suivantes :

Aux autorités sanitaires et politiques

Faciliter la recherche fondamentale et appliquée dans le domaine des maladies infectieuses et spécifiquement du paludisme au Mali.

Aux chercheurs

- Poursuivre les investigations sur la réponse immunitaire anti-PfEMP-1/VarO et le développement de vaccins spécifiques anti-PfEMP-1/VarO
- De continuer à investiguer la production des anticorps contre les autres variants de PfEMP-1.

A la population

D'adhérer aux protocoles et de faciliter les études de recherches pour supporter la mise au point d'un vaccin efficace contre le paludisme.

9. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. OMS. *Rapport 2022 sur le paludisme dans le monde*. 8 decembre 2022 consulté le 16/02/2023]; Available from: <https://www.who.int/fr/teams/global-malaria-programme/reports/world-malaria-report-2022/questions-and-answers>.
2. (INSTAT), I.N.d.I.S. *Sixième Enquête Démographique et de Santé au Mali (EDSM-VI) 2018*. Fevrier 2019 consulté le 31/03/2023]; Available from: https://www.instat-mali.org/laravel-filemanager/files/shares/pub/eds6-18-ind-cle_pub.pdf.
3. *Ministere de la santé et du developemnt social : Lutte contre le paludisme : l'innovation choisie pour mener une riposte à la maladie*. 22 Avril 2022 05/06/2023]; Available from: <http://www.sante.gov.ml/index.php/actualites/item/6599-lutte-contre-le-paludisme-l-innovation-choisie-pour-mener-une-riposte-a-la-maladie>.
4. Arora, N. and C.A. L, *Towards Eradication of Malaria: Is the WHO's RTS,S/AS01 Vaccination Effective Enough?* 2021. **14**: p. 1033-1039.
5. *RTS,S/AS01E malaria vaccine (MoSQUIRIX*) Children living in malaria-endemic regions: little efficacy, poorly documented harms*. Prescrire Int, 2017. **26**(178): p. 5-8.
6. Crompton, P.D., et al., *Sickle cell trait is associated with a delayed onset of malaria: implications for time-to-event analysis in clinical studies of malaria*. J Infect Dis, 2008. **198**(9): p. 1265-75.
7. Lopera-Mesa, T.M., et al., *Effect of red blood cell variants on childhood malaria in Mali: a prospective cohort study*. Lancet Haematol, 2015. **2**(4): p. e140-9.
8. Barrera, S.M., et al., *[Genotypic survey of Plasmodium falciparum based on the msp1, msp2 and glurp genes by multiplex PCR]*. Biomedica. **30**(4): p. 530-8.
9. Rich, S.M., R.R. Hudson, and F.J. Ayala, *Plasmodium falciparum antigenic diversity: evidence of clonal population structure*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1997. **94**(24): p. 13040-5.
10. Gardner, M.J., et al., *Genome sequence of the human malaria parasite Plasmodium falciparum*. Nature, 2002. **419**(6906): p. 498-511.
11. Rowe, J.A., et al., *P. falciparum rosetting mediated by a parasite-variant erythrocyte membrane protein and complement-receptor 1*. Nature, 1997. **388**(6639): p. 292-5.
12. Vigan-Womas, I., et al., *The humoral response to Plasmodium falciparum VarO rosetting variant and its association with protection against malaria in Beninese children*. Malar J, 2010. **9**: p. 267.
13. Vigan-Womas, I., et al., *An in vivo and in vitro model of Plasmodium falciparum rosetting and autoagglutination mediated by varO, a group A var gene encoding a frequent serotype*. Infect Immun, 2008. **76**(12): p. 5565-80.
14. Guillotte, M., et al., *Functional analysis of monoclonal antibodies against the Plasmodium falciparum PfEMP1-VarO adhesin*. Malar J, 2016. **15**: p. 28.
15. Udomsangpetch, R., et al., *Antimalarial drugs reduce cytoadherence and rosetting Plasmodium falciparum*. J Infect Dis, 1996. **173**(3): p. 691-8.
16. OMS. *Le Rapport sur le paludisme dans le monde 2019 en un clin d'oeil*. 2019; Available from: <https://www.who.int/malaria/media/world-malaria-report-2019/fr/> (cosulté le 08/06/2020).
17. LABBO, R. *Indices paludométriques - Présentation de la 1ère édition du Cours international « Atelier Paludisme » 2013* consulté le 08/12/2022]; Available from: <https://fr.slideshare.net/atelier-paludisme/app-2007-tantelys2>.
18. Noguer, D.A. *Les facteurs influençant la distribution géographique du paludisme dans le monde*. 1979 consulté le 08/12/2022]; Available from: https://www.persee.fr/doc/globe_0398-3412_1979_num_119_1_1123.
19. Macdonald, G., *Epidemiological basis of malaria control*. Bull World Health Organ, 1956. **15**(3-5): p. 613-26.
20. Autino, B., et al., *Epidemiology of malaria in endemic areas*. Mediterr J Hematol Infect Dis, 2012. **4**(1): p. e2012060.

21. PNLP. *PLAN STRATEGIQUE DE LUTTE CONTRE LE PALUDISME 2013-2017*. 2013 consulté le 08/12/2022]; Available from: https://www.severemalaria.org/sites/mmv-smo/files/content/attachments/2017-07-25/Mali%20malaria%20PStrag%202013-17PNLP_0.pdf.
22. ANOFEL. *Paludisme*. 2014; Available from: <http://campus.cerimes.fr/parasitologie/enseignement/paludisme/site/html/cours.pdf> (consulte le 22/02/2020).
23. Bannister, L.H. and G.H. Mitchell, *The malaria merozoite, forty years on*. Parasitology, 2009. **136**(12): p. 1435-44.
24. Argy, N. and S. Houzé, *Épidémiologie et cycle parasitaire d'un fléau mondial, le paludisme*. Actualités Pharmaceutiques, 2018. **57**(574): p. 18-20.
25. *Severe falciparum malaria*. World Health Organization, Communicable Diseases Cluster. Trans R Soc Trop Med Hyg, 2000. **94 Suppl 1**: p. S1-90.
26. Coban, C., et al., *Toll-like receptor 9 mediates innate immune activation by the malaria pigment hemozoin*. J Exp Med, 2005. **201**(1): p. 19-25.
27. Lopera-Mesa, T.M., et al., *Plasma uric acid levels correlate with inflammation and disease severity in Malian children with Plasmodium falciparum malaria*. PLoS One, 2012. **7**(10): p. e46424.
28. Kraemer, S.M. and J.D. Smith, *A family affair: var genes, PfEMP1 binding, and malaria disease*. Curr Opin Microbiol, 2006. **9**(4): p. 374-80.
29. Idro, R., N.E. Jenkins, and C.R. Newton, *Pathogenesis, clinical features, and neurological outcome of cerebral malaria*. Lancet Neurol, 2005. **4**(12): p. 827-40.
30. Chitnis, C.E. and M.J. Blackman, *Host cell invasion by malaria parasites*. Parasitol Today, 2000. **16**(10): p. 411-5.
31. Pasvol, G., et al., *Glycophorin as a possible receptor for Plasmodium falciparum*. Lancet, 1982. **2**(8305): p. 947-50.
32. Chotivanich, K., et al., *Parasite multiplication potential and the severity of Falciparum malaria*. J Infect Dis, 2000. **181**(3): p. 1206-9.
33. Handunnetti, S.M., et al., *Involvement of CD36 on erythrocytes as a rosetting receptor for Plasmodium falciparum-infected erythrocytes*. Blood, 1992. **80**(8): p. 2097-104.
34. Carlson, J., et al., *Human cerebral malaria: association with erythrocyte rosetting and lack of anti-rosetting antibodies*. Lancet, 1990. **336**(8729): p. 1457-60.
35. Clough, B., F.A. Atilola, and G. Pasvoi, *The role of rosetting in the multiplication of Plasmodium falciparum: rosette formation neither enhances nor targets parasite invasion into uninfected red cells*. Br J Haematol, 1998. **100**(1): p. 99-104.
36. Baruch, D.I., et al., *Cloning the P. falciparum gene encoding PfEMP1, a malarial variant antigen and adherence receptor on the surface of parasitized human erythrocytes*. Cell, 1995. **82**(1): p. 77-87.
37. Goldring, J.D. and M. Hommel, *Variation in the cytoadherence characteristics of malaria parasites: is this a true virulence factor?* Mem Inst Oswaldo Cruz, 1992. **87 Suppl 3**: p. 313-22.
38. Giribaldi, G., et al., *Involvement of inflammatory chemokines in survival of human monocytes fed with malarial pigment*. Infect Immun, 2010. **78**(11): p. 4912-21.
39. Riley, E.M., et al., *Regulating immunity to malaria*. Parasite Immunol, 2006. **28**(1-2): p. 35-49.
40. Zhu, J., G. Krishnegowda, and D.C. Gowda, *Induction of proinflammatory responses in macrophages by the glycosylphosphatidylinositols of Plasmodium falciparum: the requirement of extracellular signal-regulated kinase, p38, c-Jun N-terminal kinase and NF-kappaB pathways for the expression of proinflammatory cytokines and nitric oxide*. J Biol Chem, 2005. **280**(9): p. 8617-27.
41. Akman-Anderson, L., M. Olivier, and S. Luckhart, *Induction of nitric oxide synthase and activation of signaling proteins in Anopheles mosquitoes by the malaria pigment, hemozoin*. Infect Immun, 2007. **75**(8): p. 4012-9.

42. Price, R.N., et al., *Factors contributing to anemia after uncomplicated falciparum malaria*. Am J Trop Med Hyg, 2001. **65**(5): p. 614-22.
43. Wickramasinghe, S.N. and S.H. Abdalla, *Blood and bone marrow changes in malaria*. Baillieres Best Pract Res Clin Haematol, 2000. **13**(2): p. 277-99.
44. Seed, T.M., et al., *Hemopathologic consequences of protracted gamma irradiation: alterations in granulocyte reserves and granulocyte mobilization*. Blood, 1980. **56**(1): p. 42-51.
45. Buffet, P.A., et al., *Retention of erythrocytes in the spleen: a double-edged process in human malaria*. Curr Opin Hematol, 2009. **16**(3): p. 157-64.
46. Bates, I. and G. Bedu-Addo, *Chronic malaria and splenic lymphoma: clues to understanding lymphoma evolution*. Leukemia, 1997. **11**(12): p. 2162-7.
47. Diakite, S.A.S., *Polymorphismes érythrocytaires et protections contre le paludisme à Plasmodium falciparum : exploration des mécanismes innés*. 2016. **125**.
48. Smith, J.D., et al., *Switches in expression of Plasmodium falciparum var genes correlate with changes in antigenic and cytoadherent phenotypes of infected erythrocytes*. Cell, 1995. **82**(1): p. 101-10.
49. Su, X.Z., et al., *The large diverse gene family var encodes proteins involved in cytoadherence and antigenic variation of Plasmodium falciparum-infected erythrocytes*. Cell, 1995. **82**(1): p. 89-100.
50. Smith, J.D., et al., *Classification of adhesive domains in the Plasmodium falciparum erythrocyte membrane protein 1 family*. Mol Biochem Parasitol, 2000. **110**(2): p. 293-310.
51. Rubio, J.P., J.K. Thompson, and A.F. Cowman, *The var genes of Plasmodium falciparum are located in the subtelomeric region of most chromosomes*. Embo j, 1996. **15**(15): p. 4069-77.
52. Fischer, K., et al., *Expression of var genes located within polymorphic subtelomeric domains of Plasmodium falciparum chromosomes*. Mol Cell Biol, 1997. **17**(7): p. 3679-86.
53. Smith, J.D., et al., *Decoding the language of var genes and Plasmodium falciparum sequestration*. Trends Parasitol, 2001. **17**(11): p. 538-45.
54. Lavstsen, T., et al., *Sub-grouping of Plasmodium falciparum 3D7 var genes based on sequence analysis of coding and non-coding regions*. Malar J, 2003. **2**: p. 27.
55. Robinson, B.A., T.L. Welch, and J.D. Smith, *Widespread functional specialization of Plasmodium falciparum erythrocyte membrane protein 1 family members to bind CD36 analysed across a parasite genome*. Mol Microbiol, 2003. **47**(5): p. 1265-78.
56. Kaestli, M., et al., *Longitudinal assessment of Plasmodium falciparum var gene transcription in naturally infected asymptomatic children in Papua New Guinea*. J Infect Dis, 2004. **189**(10): p. 1942-51.
57. Turner, L., et al., *Severe malaria is associated with parasite binding to endothelial protein C receptor*. Nature, 2013. **498**(7455): p. 502-5.
58. Barnwell, J.W., et al., *A human 88-kD membrane glycoprotein (CD36) functions in vitro as a receptor for a cytoadherence ligand on Plasmodium falciparum-infected erythrocytes*. J Clin Invest, 1989. **84**(3): p. 765-72.
59. Fried, M. and P.E. Duffy, *Adherence of Plasmodium falciparum to chondroitin sulfate A in the human placenta*. Science, 1996. **272**(5267): p. 1502-4.
60. Lapin, Z.J., et al., *Near-field quantification of complement receptor 1 (CR1/CD35) protein clustering in human erythrocytes*. J Neuroimmune Pharmacol, 2012. **7**(3): p. 539-43.
61. Ochola, L.B., et al., *Specific receptor usage in Plasmodium falciparum cytoadherence is associated with disease outcome*. PLoS One, 2011. **6**(3): p. e14741.
62. Fernandez-Reyes, D., et al., *A high frequency African coding polymorphism in the N-terminal domain of ICAM-1 predisposing to cerebral malaria in Kenya*. Hum Mol Genet, 1997. **6**(8): p. 1357-60.
63. Kikuchi, M., et al., *Association of adhesion molecule PECAM-1/CD31 polymorphism with susceptibility to cerebral malaria in Thais*. Parasitol Int, 2001. **50**(4): p. 235-9.

64. Sinha, S., et al., *Variations in host genes encoding adhesion molecules and susceptibility to falciparum malaria in India*. Malar J, 2008. **7**: p. 250.
65. Casals-Pascual, C., et al., *Short report: codon 125 polymorphism of CD31 and susceptibility to malaria*. Am J Trop Med Hyg, 2001. **65**(6): p. 736-7.
66. Stoute, J.A., *Complement receptor 1 and malaria*. Cell Microbiol, 2011. **13**(10): p. 1441-50.
67. Newbold, C., et al., *Cytoadherence, pathogenesis and the infected red cell surface in Plasmodium falciparum*. Int J Parasitol, 1999. **29**(6): p. 927-37.
68. Cockburn, I.A., et al., *A human complement receptor 1 polymorphism that reduces Plasmodium falciparum rosetting confers protection against severe malaria*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2004. **101**(1): p. 272-7.
69. Lalchhandama, K., *Plasmodium falciparum erythrocyte membrane protein 1*. WikiJournal of Medicine, 2017. **4**.
70. Kaestli, M., et al., *Virulence of malaria is associated with differential expression of Plasmodium falciparum var gene subgroups in a case-control study*. J Infect Dis, 2006. **193**(11): p. 1567-74.
71. Kyriacou, H.M., et al., *Differential var gene transcription in Plasmodium falciparum isolates from patients with cerebral malaria compared to hyperparasitaemia*. Mol Biochem Parasitol, 2006. **150**(2): p. 211-8.
72. Juillerat, A., et al., *Biochemical and biophysical characterisation of DBL1alpha1-varO, the rosetting domain of PfEMP1 from the VarO line of Plasmodium falciparum*. Mol Biochem Parasitol, 2010. **170**(2): p. 84-92.
73. Guillotte, M., et al., *Immunogenicity of the Plasmodium falciparum PfEMP1-VarO Adhesin: Induction of Surface-Reactive and Rosette-Disrupting Antibodies to VarO Infected Erythrocytes*. PLoS One, 2015. **10**(7): p. e0134292.
74. van der Heyde, H.C., et al., *The resolution of acute malaria in a definitive model of B cell deficiency, the JHD mouse*. J Immunol, 1994. **152**(9): p. 4557-62.
75. Favre, N., et al., *The course of Plasmodium chabaudi chabaudi infections in interferon-gamma receptor deficient mice*. Parasite Immunol, 1997. **19**(8): p. 375-83.
76. Stevenson, M.M., et al., *IL-12-induced protection against blood-stage Plasmodium chabaudi AS requires IFN-gamma and TNF-alpha and occurs via a nitric oxide-dependent mechanism*. J Immunol, 1995. **155**(5): p. 2545-56.
77. De Souza, J.B., et al., *Early gamma interferon responses in lethal and nonlethal murine blood-stage malaria*. Infect Immun, 1997. **65**(5): p. 1593-8.
78. Jacobs, P., D. Radzioch, and M.M. Stevenson, *A Th1-associated increase in tumor necrosis factor alpha expression in the spleen correlates with resistance to blood-stage malaria in mice*. Infect Immun, 1996. **64**(2): p. 535-41.
79. Luty, A.J., et al., *Interferon-gamma responses are associated with resistance to reinfection with Plasmodium falciparum in young African children*. J Infect Dis, 1999. **179**(4): p. 980-8.
80. Doodoo, D., et al., *Absolute levels and ratios of proinflammatory and anti-inflammatory cytokine production in vitro predict clinical immunity to Plasmodium falciparum malaria*. J Infect Dis, 2002. **185**(7): p. 971-9.
81. Kojima, S., et al., *A potential role of interleukin 18 in severe falciparum malaria*. Acta Trop, 2004. **89**(3): p. 279-84.
82. Perkmann, T., et al., *Circulating levels of the interleukin (IL)-4 receptor and of IL-18 in patients with Plasmodium falciparum malaria*. Cytokine, 2005. **29**(4): p. 153-8.
83. Nagamine, Y., et al., *Involvement of interleukin-18 in severe Plasmodium falciparum malaria*. Trans R Soc Trop Med Hyg, 2003. **97**(2): p. 236-41.
84. Scragg, I.G., et al., *Early cytokine induction by Plasmodium falciparum is not a classical endotoxin-like process*. Eur J Immunol, 1999. **29**(8): p. 2636-44.

85. Artavanis-Tsakonas, K. and E.M. Riley, *Innate immune response to malaria: rapid induction of IFN-gamma from human NK cells by live Plasmodium falciparum-infected erythrocytes*. J Immunol, 2002. **169**(6): p. 2956-63.
86. Mc, G.R., *The effect of a malaria infection on the titer of complement and its components in ducks*. J Immunol, 1952. **68**(4): p. 421-7.
87. Atkinson, J.P., et al., *Serum complement and immunity in experimental simian malaria. II. Preferential activation of early components and failure of depletion of late components to inhibit protective immunity*. J Infect Dis, 1975. **131**(1): p. 26-33.
88. Adam, C., et al., *Cryoglobulins, circulating immune complexes, and complement activation in cerebral malaria*. Infect Immun, 1981. **31**(2): p. 530-5.
89. Galbraith, R.M., et al., *The human materno-foetal relationship in malaria. II. Histological, ultrastructural and immunopathological studies of the placenta*. Trans R Soc Trop Med Hyg, 1980. **74**(1): p. 61-72.
90. Yamada, M., et al., *Plasmodium falciparum associated placental pathology: a light and electron microscopic and immunohistologic study*. Am J Trop Med Hyg, 1989. **41**(2): p. 161-8.
91. Stanley, H.A., et al., *Complement activation by the surface of Plasmodium falciparum infected erythrocytes*. Mol Immunol, 1984. **21**(2): p. 145-50.
92. Pawluczakowycz, A.W., et al., *Hematin promotes complement alternative pathway-mediated deposition of C3 activation fragments on human erythrocytes: potential implications for the pathogenesis of anemia in malaria*. J Immunol, 2007. **179**(8): p. 5543-52.
93. Korir, J.C., et al., *Complement activation by merozoite antigens of Plasmodium falciparum*. PLoS One, 2014. **9**(8): p. e105093.
94. Biryukov, S. and J.A. Stoute, *Complement activation in malaria: friend or foe?* Trends Mol Med, 2014. **20**(5): p. 293-301.
95. Rathnayake, D., E.H. Aitken, and S.J. Rogerson, *Beyond Binding: The Outcomes of Antibody-Dependent Complement Activation in Human Malaria*. Front Immunol, 2021. **12**: p. 683404.
96. Kurtovic, L., et al., *Human antibodies activate complement against Plasmodium falciparum sporozoites, and are associated with protection against malaria in children*. BMC Med, 2018. **16**(1): p. 61.
97. Kurtovic, L., et al., *Induction and decay of functional complement-fixing antibodies by the RTS,S malaria vaccine in children, and a negative impact of malaria exposure*. BMC Med, 2019. **17**(1): p. 45.
98. Cowman, A.F. and B.S. Crabb, *Invasion of red blood cells by malaria parasites*. Cell, 2006. **124**(4): p. 755-66.
99. Boyle, M.J., et al., *Human antibodies fix complement to inhibit Plasmodium falciparum invasion of erythrocytes and are associated with protection against malaria*. Immunity, 2015. **42**(3): p. 580-90.
100. Wiesner, J., et al., *Host cell factor CD59 restricts complement lysis of Plasmodium falciparum-infected erythrocytes*. Eur J Immunol, 1997. **27**(10): p. 2708-13.
101. Read, D., et al., *Transmission-blocking antibodies against multiple, non-variant target epitopes of the Plasmodium falciparum gamete surface antigen Pfs230 are all complement-fixing*. Parasite Immunol, 1994. **16**(10): p. 511-9.
102. LAMRABAT, S., *Granulocyte withmalarial pigment*. American Journal of hematology 2021.
103. Olliaro, P., et al., *Hematologic parameters in pediatric uncomplicated Plasmodium falciparum malaria in sub-Saharan Africa*. Am J Trop Med Hyg, 2011. **85**(4): p. 619-25.
104. Dale, D.C., L. Boxer, and W.C. Liles, *The phagocytes: neutrophils and monocytes*. Blood, 2008. **112**(4): p. 935-45.
105. Wickramasinghe, S.N., et al., *The bone marrow in human cerebral malaria: parasite sequestration within sinusoids*. Br J Haematol, 1987. **66**(3): p. 295-306.

106. Aitken, E.H., A. Alemu, and S.J. Rogerson, *Neutrophils and Malaria*. Front Immunol, 2018. **9**: p. 3005.
107. McGilvray, I.D., et al., *Nonopsonic monocyte/macrophage phagocytosis of Plasmodium falciparum-parasitized erythrocytes: a role for CD36 in malarial clearance*. Blood, 2000. **96**(9): p. 3231-40.
108. Smith, T.G., et al., *CD36-mediated nonopsonic phagocytosis of erythrocytes infected with stage I and IIA gametocytes of Plasmodium falciparum*. Infect Immun, 2003. **71**(1): p. 393-400.
109. Berry, A., et al., *Ex vivo and in vitro impairment of CD36 expression and tumor necrosis factor-alpha production in human monocytes in response to Plasmodium falciparum-parasitized erythrocytes*. J Parasitol, 2005. **91**(2): p. 316-22.
110. Kurup, S.P. and J.T. Harty, *gammadelta T cells and immunity to human malaria in endemic regions*. Ann Transl Med. **3**(Suppl 1): p. S22.
111. Farrington, L.A., et al., *Frequent Malaria Drives Progressive Vdelta2 T-Cell Loss, Dysfunction, and CD16 Up-regulation During Early Childhood*. J Infect Dis. **213**(9): p. 1483-90.
112. Junqueira, C., et al., *$\gamma\delta$ T cells suppress Plasmodium falciparum blood-stage infection by direct killing and phagocytosis*. 2021. **22**(3): p. 347-357.
113. Kobayashi, F., et al., *Plasmodium berghei XAT: contribution of gammadelta T cells to host defense against infection with blood-stage nonlethal malaria parasite*. Exp Parasitol, 2007. **117**(4): p. 368-75.
114. Filtjens, J., et al., *Contribution of the Ly49E natural killer receptor in the immune response to Plasmodium berghei infection and control of hepatic parasite development*. PLoS One, 2014. **9**(1): p. e87463.
115. Gazzinelli, R.T., et al., *Innate sensing of malaria parasites*. Nat Rev Immunol, 2014. **14**(11): p. 744-57.
116. Janssen, E.M., et al., *CD4+ T cells are required for secondary expansion and memory in CD8+ T lymphocytes*. Nature, 2003. **421**(6925): p. 852-6.
117. Xu, W. and J.J. Zhang, *Stat1-dependent synergistic activation of T-bet for IgG2a production during early stage of B cell activation*. J Immunol, 2005. **175**(11): p. 7419-24.
118. Sponaas, A.M., et al., *Migrating monocytes recruited to the spleen play an important role in control of blood stage malaria*. Blood, 2009. **114**(27): p. 5522-31.
119. Hou, N., et al., *Down-Regulation of Tim-3 in Monocytes and Macrophages in Plasmodium Infection and Its Association with Parasite Clearance*. Front Microbiol, 2017. **8**: p. 1431.
120. Boudin, C., et al., *Possible role of specific immunoglobulin M antibodies to Plasmodium falciparum antigens in immunoprotection of humans living in a hyperendemic area, Burkina Faso*. J Clin Microbiol, 1993. **31**(3): p. 636-41.
121. Dziegiel, M., et al., *Immunoglobulin M and G antibody responses to Plasmodium falciparum glutamate-rich protein: correlation with clinical immunity in Gambian children*. Infect Immun, 1993. **61**(1): p. 103-8.
122. Dodoo, D., et al., *Naturally acquired antibodies to the glutamate-rich protein are associated with protection against Plasmodium falciparum malaria*. J Infect Dis, 2000. **181**(3): p. 1202-5.
123. Soe, S., et al., *Association between protection against clinical malaria and antibodies to merozoite surface antigens in an area of hyperendemicity in Myanmar: complementarity between responses to merozoite surface protein 3 and the 220-kilodalton glutamate-rich protein*. Infect Immun, 2004. **72**(1): p. 247-52.
124. Nébié, I., et al., *Humoral responses to defined malaria antigens in children living since birth under insecticide treated curtains in Burkina Faso*. Acta Trop, 2003. **88**(1): p. 17-25.
125. Groux, H. and J. Gysin, *Opsonization as an effector mechanism in human protection against asexual blood stages of Plasmodium falciparum: functional role of IgG subclasses*. Res Immunol, 1990. **141**(6): p. 529-42.

126. Bouharoun-Tayoun, H. and P. Druilhe, *Antibodies in falciparum malaria: what matters most, quantity or quality?* Mem Inst Oswaldo Cruz, 1992. **87 Suppl 3**: p. 229-34.
127. Cohen, S., G.I. Mc, and S. Carrington, *Gamma-globulin and acquired immunity to human malaria.* Nature, 1961. **192**: p. 733-7.
128. McGregor, I.A., *The Passive Transfer of Human Malarial Immunity.* Am J Trop Med Hyg, 1964. **13**: p. SUPPL 237-9.
129. OMS. *Paludisme.* 2023; Available from: <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/malaria> (consulte le 09/05/2023).
130. Aribot, G., et al., *Pattern of immunoglobulin isotype response to Plasmodium falciparum blood-stage antigens in individuals living in a holoendemic area of Senegal (Dielmo, west Africa).* Am J Trop Med Hyg, 1996. **54**(5): p. 449-57.
131. Israelsson, E., et al., *Differences in Fcγ receptor IIa genotypes and IgG subclass pattern of anti-malarial antibodies between sympatric ethnic groups in Mali.* Malar J, 2008. **7**: p. 175.
132. Perlmann, H., et al., *IgE elevation and IgE anti-malarial antibodies in Plasmodium falciparum malaria: association of high IgE levels with cerebral malaria.* Clin Exp Immunol, 1994. **97**(2): p. 284-92.
133. Berezky, S., et al., *Elevated anti-malarial IgE in asymptomatic individuals is associated with reduced risk for subsequent clinical malaria.* Int J Parasitol, 2004. **34**(8): p. 935-42.
134. Israelsson, E., et al., *Antibody responses to a C-terminal fragment of the Plasmodium falciparum blood-stage antigen Pf332 in Senegalese individuals naturally primed to the parasite.* Clin Exp Immunol, 2008. **152**(1): p. 64-71.
135. Langhorne, J., et al., *Immunity to malaria: more questions than answers.* Nat Immunol, 2008. **9**(7): p. 725-32.
136. Struik, S.S. and E.M. Riley, *Does malaria suffer from lack of memory?* Immunol Rev, 2004. **201**: p. 268-90.
137. Belkaid, Y., C.M. Sun, and N. Bouladoux, *Parasites and immunoregulatory T cells.* Curr Opin Immunol, 2006. **18**(4): p. 406-12.
138. Scholzen, A., G. Minigo, and M. Plebanski, *Heroes or villains? T regulatory cells in malaria infection.* Trends Parasitol, 2010. **26**(1): p. 16-25.
139. Hansen, D.S. and L. Schofield, *Natural regulatory T cells in malaria: host or parasite allies?* PLoS Pathog, 2010. **6**(4): p. e1000771.
140. Hommel, M., P.H. David, and L.D. Oligino, *Surface alterations of erythrocytes in Plasmodium falciparum malaria. Antigenic variation, antigenic diversity, and the role of the spleen.* J Exp Med, 1983. **157**(4): p. 1137-48.
141. Brown, I.N., K.N. Brown, and L.A. Hills, *Immunity to malaria: the antibody response to antigenic variation by Plasmodium knowlesi.* Immunology, 1968. **14**(1): p. 127-38.
142. Voller, A. and R.N. Rossan, *Immunological studies on simian malaria. 3. Immunity to challenge and antigenic variation in P. knowlesi.* Trans R Soc Trop Med Hyg, 1969. **63**(4): p. 507-23.
143. Butcher, G.A. and S. Cohen, *Antigenic variation and protective immunity in Plasmodium knowlesi malaria.* Immunology, 1972. **23**(4): p. 503-21.
144. Krotoski, W.A., et al., *Demonstration of hypnozoites in sporozoite-transmitted Plasmodium vivax infection.* Am J Trop Med Hyg, 1982. **31**(6): p. 1291-3.
145. Puri, A., et al., *Babesia microti: Pathogen Genomics, Genetic Variability, Immunodominant Antigens, and Pathogenesis.* Front Microbiol, 2021. **12**: p. 697669.
146. Sherman, I.W., S. Eda, and E. Winograd, *Cytoadherence and sequestration in Plasmodium falciparum: defining the ties that bind.* Microbes Infect, 2003. **5**(10): p. 897-909.
147. Russell, C., et al., *Further definition of PfEMP-1 DBL-1α domains mediating rosetting adhesion of Plasmodium falciparum.* Mol Biochem Parasitol, 2005. **144**(1): p. 109-13.
148. Weidanz, W.P., *Malaria and alterations in immune reactivity.* Br Med Bull, 1982. **38**(2): p. 167-72.

149. Loose, L.D., *Characterization of macrophage dysfunction in rodent malaria*. J Leukoc Biol, 1984. **36**(6): p. 703-18.
150. Warren, H.S. and W.P. Weidanz, *Malarial immunodepression in vitro: adherent spleen cells are functionally defective as accessory cells in the response to horse erythrocytes*. Eur J Immunol, 1976. **6**(11): p. 816-9.
151. Brown, I.N., S.R. Watson, and V.S. Sljivić, *Antibody response in vitro of spleen cells from Plasmodium yoelii-infected mice*. Infect Immun, 1977. **16**(2): p. 456-60.
152. Lelchuk, R. and J.H. Playfair, *Two distinct types of non-specific immunosuppression in murine malaria*. Clin Exp Immunol, 1980. **42**(3): p. 428-35.
153. Wyler, D.J. and J.J. Oppenheim, *Lymphocyte transformation in human Plasmodium falciparum malaria*. J Immunol, 1974. **113**(2): p. 449-54.
154. Greenwood, B.M. and R.M. Vick, *Evidence for a malaria mitogen in human malaria*. Nature, 1975. **257**(5527): p. 592-4.
155. Chemtai, A.K. and G.B. Okelo, *Suppression of T-cell proliferative response in Plasmodium falciparum malaria patients--preliminary results*. East Afr Med J, 1989. **66**(12): p. 787-91.
156. Freeman, R.R. and C.R. Parish, *Polyclonal B-cell activation during rodent malarial infections*. Clin Exp Immunol, 1978. **32**(1): p. 41-5.
157. Wyler, D.J., *Cellular aspects of immunoregulation in malaria*. Bull World Health Organ, 1979. **57 Suppl 1**(Suppl): p. 239-43.
158. Butler, N.S., et al., *Therapeutic blockade of PD-L1 and LAG-3 rapidly clears established blood-stage Plasmodium infection*. Nat Immunol, 2011. **13**(2): p. 188-95.
159. Ishii, K.J. and S. Akira, *Potential link between the immune system and metabolism of nucleic acids*. Curr Opin Immunol, 2008. **20**(5): p. 524-9.
160. Akkaya, C., et al., *The Plasmodium falciparum-induced anion channel of human erythrocytes is an ATP-release pathway*. Pflugers Arch, 2009. **457**(5): p. 1035-47.
161. Adinolfi, E., et al., *Basal activation of the P2X7 ATP receptor elevates mitochondrial calcium and potential, increases cellular ATP levels, and promotes serum-independent growth*. Mol Biol Cell, 2005. **16**(7): p. 3260-72.
162. Kwiatkowski, D.P., *How malaria has affected the human genome and what human genetics can teach us about malaria*. Am J Hum Genet, 2005. **77**(2): p. 171-92.
163. Agarwal, A., et al., *Hemoglobin C associated with protection from severe malaria in the Dogon of Mali, a West African population with a low prevalence of hemoglobin S*. Blood, 2000. **96**(7): p. 2358-63.
164. Modiano, D., et al., *Haemoglobin C protects against clinical Plasmodium falciparum malaria*. Nature, 2001. **414**(6861): p. 305-8.
165. Williams, T.N., *Red blood cell defects and malaria*. Mol Biochem Parasitol, 2006. **149**(2): p. 121-7.
166. Beet, E.A., *Sickle cell disease in Northern Rhodesia*. East Afr Med J, 1947. **24**(6): p. 212-22.
167. Allison, A.C., *The distribution of the sickle-cell trait in East Africa and elsewhere, and its apparent relationship to the incidence of subtertian malaria*. Trans R Soc Trop Med Hyg, 1954. **48**(4): p. 312-8.
168. Allison, A.C., *Protection afforded by sickle-cell trait against subtertian malarial infection*. Br Med J, 1954. **1**(4857): p. 290-4.
169. May, J., et al., *Hemoglobin variants and disease manifestations in severe falciparum malaria*. JAMA, 2007. **297**(20): p. 2220-6.
170. Williams, T.N., et al., *Negative epistasis between the malaria-protective effects of alpha+ thalassemia and the sickle cell trait*. Nat Genet, 2005. **37**(11): p. 1253-7.
171. Taylor, S.M., C.M. Parobek, and R.M. Fairhurst, *Haemoglobinopathies and the clinical epidemiology of malaria: a systematic review and meta-analysis*. Lancet Infect Dis, 2012. **12**(6): p. 457-68.

172. Jallow, M., et al., *Genome-wide and fine-resolution association analysis of malaria in West Africa*. Nat Genet, 2009. **41**(6): p. 657-65.
173. Travassos, M.A., et al., *Hemoglobin C Trait Provides Protection From Clinical Falciparum Malaria in Malian Children*. J Infect Dis, 2015. **212**(11): p. 1778-86.
174. Baruch, D.I., et al., *Plasmodium falciparum erythrocyte membrane protein 1 is a parasitized erythrocyte receptor for adherence to CD36, thrombospondin, and intercellular adhesion molecule 1*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1996. **93**(8): p. 3497-502.
175. Carlson, J., et al., *Natural protection against severe Plasmodium falciparum malaria due to impaired rosette formation*. Blood, 1994. **84**(11): p. 3909-14.
176. Krause, M.A., et al., *alpha-Thalassemia impairs the cytoadherence of Plasmodium falciparum-infected erythrocytes*. PLoS One, 2012. **7**(5): p. e37214.
177. Hebbel, R.P., *Sickle hemoglobin instability: a mechanism for malarial protection*. Redox Rep, 2003. **8**(5): p. 238-40.
178. Yuan, J., et al., *The instability of the membrane skeleton in thalassemic red blood cells*. Blood, 1995. **86**(10): p. 3945-50.
179. Tokumasu, F., et al., *Altered membrane structure and surface potential in homozygous hemoglobin C erythrocytes*. PLoS One, 2009. **4**(6): p. e5828.
180. Yuthavong, Y., et al., *Impaired parasite growth and increased susceptibility to phagocytosis of Plasmodium falciparum infected alpha-thalassemia or hemoglobin Constant Spring red blood cells*. Am J Clin Pathol, 1988. **89**(4): p. 521-5.
181. Ayi, K., et al., *Enhanced phagocytosis of ring-parasitized mutant erythrocytes: a common mechanism that may explain protection against falciparum malaria in sickle trait and beta-thalassemia trait*. Blood, 2004. **104**(10): p. 3364-71.
182. Tan, X., et al., *Hemoglobin S and C heterozygosity enhances neither the magnitude nor breadth of antibody responses to a diverse array of Plasmodium falciparum antigens*. J Infect Dis, 2011. **204**(11): p. 1750-61.
183. Shekalaghe, S., et al., *Low density parasitaemia, red blood cell polymorphisms and Plasmodium falciparum specific immune responses in a low endemic area in northern Tanzania*. BMC Infect Dis, 2009. **9**: p. 69.
184. Higgins, T.N., A. Khajuria, and M. Mack, *Quantification of HbA(2) in patients with and without beta-thalassemia and in the presence of HbS, HbC, HbE, and HbD Punjab hemoglobin variants: comparison of two systems*. Am J Clin Pathol, 2009. **131**(3): p. 357-62.
185. Fry, A.E., et al., *Common variation in the ABO glycosyltransferase is associated with susceptibility to severe Plasmodium falciparum malaria*. Hum Mol Genet, 2008. **17**(4): p. 567-76.
186. Williams, T.N., et al., *Sickle cell trait and the risk of Plasmodium falciparum malaria and other childhood diseases*. J Infect Dis, 2005. **192**(1): p. 178-86.
187. Kreuels, B., et al., *Differing effects of HbS and HbC traits on uncomplicated falciparum malaria, anemia, and child growth*. Blood, 2010. **115**(22): p. 4551-8.
188. Parikh, S., G. Dorsey, and P.J. Rosenthal, *Host polymorphisms and the incidence of malaria in Ugandan children*. Am J Trop Med Hyg, 2004. **71**(6): p. 750-3.
189. Colbourne, M.J. and G.M. Edington, *Sickling and malaria in the Gold Coast*. Br Med J, 1956. **1**(4970): p. 784-6.
190. Fleming, A.F., et al., *Abnormal haemoglobins in the Sudan savanna of Nigeria. I. Prevalence of haemoglobins and relationships between sickle cell trait, malaria and survival*. Ann Trop Med Parasitol, 1979. **73**(2): p. 161-72.
191. Luzzatto, L., E.S. Nwachuku-Jarrett, and S. Reddy, *Increased sickling of parasitised erythrocytes as mechanism of resistance against malaria in the sickle-cell trait*. Lancet, 1970. **1**(7642): p. 319-21.
192. Trager, W. and J.B. Jensen, *Human malaria parasites in continuous culture*. Science, 1976. **193**(4254): p. 673-5.

193. Ferreira, A., et al., *Sickle hemoglobin confers tolerance to Plasmodium infection*. Cell, 2011. **145**(3): p. 398-409.
194. Williams, T.N., et al., *An immune basis for malaria protection by the sickle cell trait*. PLoS Med, 2005. **2**(5): p. e128.
195. Cornille-Brogger, R., et al., *Abnormal haemoglobins in the Sudan savanna of Nigeria. II. Immunological response to malaria in normals and subjects with sickle cell trait*. Ann Trop Med Parasitol, 1979. **73**(2): p. 173-83.

10.ANNEXES

10.1. Annexe 1 : Procédures de la goutte épaisse

➤ Principe

C'est une technique de concentration permettant un repérage rapide des parasites dans le sang et l'identification des différentes espèces (frottis sanguin)

➤ Matériels

- Deux (2) lames porte-objet propres et bien dégraissées
- Vaccinostyle stérile
- Alcool 70°
- Colorant de Giemsa pur
- Coton hydrophile sec
- Eau tamponnée, PH=7,2
- Boîte à lames ou couvercle pour protéger les frottis pendant le séchage
- Chiffon de coton propre et ne peluchant pas
- Crayon noir à mine grasse ou marqueur indélébile
- Stylo à bille
- Bacs de coloration
- Eprouvettes graduées
- Râtelier, chronomètre
- Huile d'immersion
- Registre ou formulaire de notification
- Un compteur manuel
- Gant

➤ **Lieu du prélèvement**

A l'extrémité d'un doigt gauche (en général 3^e doigt après le pouce), sur la face latérale du doigt sain.

Au lobe de l'oreille, après l'avoir réchauffé entre les doigts.

Au talon ou gros orteil chez le nourrisson, après l'avoir réchauffé.

➤ **Technique**

Après avoir noté les renseignements relatifs sur le formulaire ou le registre approprié, ainsi que l'identité du patient sur la lame, réaliser la goutte comme suite :

En tenant la main gauche du malade la paume tournée vers le haut, choisir le troisième doigt après le pouce (le gros orteil peut être utilisé chez les nourrissons. Le pouce ne doit jamais être utilisé chez les adultes ou les enfants).

Avec un tampon de coton légèrement imbibé d'alcool, nettoyer le doigt en appuyant fermement pour enlever la saleté et la graisse du bout du doigt.

Avec le chiffon de coton propre, essuyer le doigt en appuyant fermement pour stimuler la circulation du sang.

Avec un vaccinostyle stérile, piquer le bout du doigt d'un seul geste.

Essuyer la première goutte de sang avec du coton sec. S'assurer qu'il ne reste pas de fibres de coton sur le doigt, qui pourraient se mélanger au sang.

En procédant rapidement et en tenant les lames propres uniquement par les bords, recueillir le sang comme suit :

Appuyer doucement sur le doigt et recueillir une petite goutte de sang au milieu de la lame.

Essuyer le sang restant sur le bout du doigt avec un tampon de coton.

Tenir la lame supérieure par les bords.

Placer le coin de l'autre lame au centre de la goutte de sang

Étendre légèrement la surface de la goutte par des mouvements spiralés appuyés de la lame (cf. figure).

Assurer cette défibrination mécanique pendant quelques secondes et étendre la goutte sur environ 1 cm de diamètre.

Laisser la préparation à plat, à l'abri de la poussière, de la chaleur et des mouches pendant deux heures en zone sahélienne. Respecter ce long temps de séchage sinon il y a risque de décollement de la préparation lors de la coloration (cf. figure).

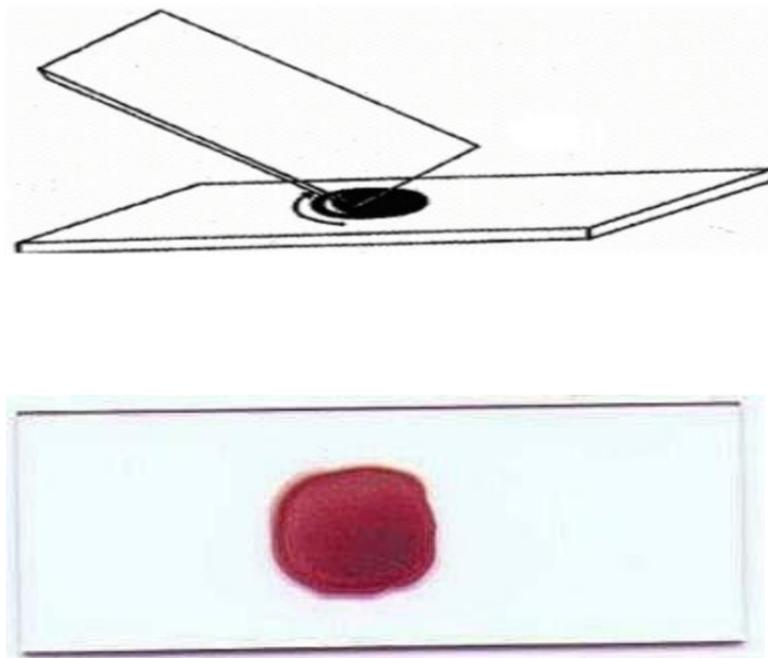


Figure 11 : Technique de la goutte épaisse

➤ **Technique de coloration de Giemsa**

C'est une méthode de coloration classique employée en routine pour la coloration des étalements sanguins et pour le diagnostic du paludisme.

Toujours maintenir la bouteille bien fermée dans un endroit frais, à l'abri de la lumière solaire directe. Les bouteilles en verre blanc peuvent être recouvertes d'une enveloppe de papier noir épais pour les protéger de la lumière.

Fixer le frottis mince en le tapotant doucement avec un tampon de coton imbibé de méthanol, ou en le trempant dans un récipient de méthanol pendant quelques secondes.

Préparer la solution de Giemsa à 3 ou 5 dans l'eau tamponnée (PH 7,2) et bien mélanger le colorant.

Verser doucement le colorant dans la bague jusqu'à ce que la lame soit entièrement recouverte.

Laisser colorer pendant 30 à 45 mn pour 30 (15mn pour 10), à l'abri de la lumière solaire et de la poussière.

Les lames sont ensuite rincées et séchées sur un râtelier.

➤ **Aspects**

La lecture se fait au microscope à l'objectif 100 à l'huile d'immersion

Le fond doit être propre, exempt de débris, coloré en bleu

Les noyaux des leucocytes sont en violet foncé.

Les parasites du paludisme sont bien définis, avec une chromatine rouge foncé et un cytoplasme de couleur bleu pale. Dans les infections à *P. vivax* et *P. ovale*, on peut voir un semis de granulations de Schuffner dans le fantôme de l'érythrocyte hôte, en particulier sur les bords du frottis.

➤ **Méthodes de numération des parasites du paludisme dans les gouttes épaisses**
Parasites par μl (= mm^3)

On trouvera ci-dessous une méthode pratique de précision suffisante. Elle consiste à dénombrer les parasites par μl de sang dans un frottis épais, par rapport à un nombre prédéterminé de leucocytes. On prend comme norme une moyenne de 7 500 leucocytes par μl . Malgré l'imprécision due aux variations du nombre de leucocytes parmi des personnes en bonne santé et aux variations encore plus grandes observées chez les malades, cette valeur permet des comparaisons valables. Avant de commencer à compter, on examinera l'équivalent de 0,25 μl de sang (environ 100 champs, avec un oculaire 7X (ou 10X) et un objectif à immersion dans l'huile 100X) dans le frottis épais pour déterminer l'espèce de parasite et les stades présents. Ensuite, on appliquera la méthode suivante qui convient pour les frottis positifs :

Un compteur manuel à 4 chiffres nécessaire pour dénombrer séparément les parasites et les leucocytes.

- a) Si, après avoir compté 300 leucocytes, on a identifié 10 parasites ou plus, noter les résultats sur le formulaire de notification, en indiquant le nombre de parasites par 300 leucocytes
- b) Si, après avoir compté 300 leucocytes, on a identifié neuf parasites ou moins, continuer de compter jusqu'à 500 leucocytes et noter le nombre de parasites par 500 leucocytes.
- c) Dans chaque cas, le nombre de parasites par rapport au nombre de leucocytes peut être converti en nombre de parasites par μl par la simple formule mathématique suivante

Nombre de parasites X 7 500

----- = **parasites par μl**

Nombre de leucocytes

En d'autres termes, si 300 leucocytes sont comptés, le nombre de parasites est à multiplier par 25 et si 500 leucocytes sont comptés, le nombre de parasites est à multiplier par 15.

10.2. Annexe 2 : Procédure de détermination du groupe sanguin ABO

Nous avons déterminé le groupe sanguin par l'épreuve de Beth VINCENT

➤ Principe

Cette méthode consiste à rechercher les antigènes A, B ou D à la surface des globules rouges, par un test d'agglutination utilisant les sérums Anti-A, anti-B et anti-D

➤ Matériel et réactifs

- Lame porte objet
- Cure-dent
- Coton
- Alcool 70°
- Lancette
- Crayon de papier
- Sérums tests (anticorps) : anti-A (couleur bleu), anti-B (couleur jaune), anti-D (incolore)

➤ Mode opératoire

- Marquer à l'aide de crayon de papier le numéro d'identification du sujet sur trois lames porte objet en les marquant A, B et D
- Cibler un doigt
- Nettoyer le doigt avec un tampon d'alcool à 70°
- Piquer en un coup sec le bout du doigt par une lancette et nettoyer la première goutte de sang avec le coton sec ;
- Presser le bout du doigt pour avoir d'autres gouttes et déposer une goutte de 10 µl de sang sur chacune des trois lames porte-objets. Ajouter :
- Une goutte (10 µl) du sérum anti-A sur la goutte de la lame A
- Une goutte (10 µl) du sérum anti-B sur la goutte de la lame B
- une goutte (10 µl) du sérum anti-D sur la goutte de la lame D
- triturer les trois gouttes avec trois cure-dents différents.

➤ **Résultat**

Observer l'agglutination avec les sérums tests :

- sérum anti-A + le sang = agglutination (présence de l'antigène A)
- sérum anti-B + le sang = agglutination (présence de l'antigène B)
- sérum anti-D + le sang = agglutination (présence de l'antigène D) pour le rhésus.

L'absence d'agglutination signifie l'absence d'antigène correspondant.

Ce qui nous permet de déterminer les phénotypes : A +, B+, AB+, O+, A-, B-, AB-, O-.

10.3. Annexe 3 : Procédure de détermination du type d'hémoglobine avec la machine D-10

➤ **Principe de la procédure du D-10**

Le D-10 Dual Program repose sur le Principe de la séparation des analyses par chromatographie liquide à haute performance (HPLC) par échange d'ions. Les échantillons sont automatiquement dilués dans le système D-10 puis injectés dans la cartouche analytique. Le système D-10 envoie un gradient programmé de tampon de force ionique croissante (il existe 2 solutions de réactif de force ionique différentes, l'une hyper concentrée en ion et l'autre peu concentrée en ion. La machine mélange de façon automatique au fil du temps ces solutions pour obtenir une solution finale de concentration croissante) dans la cartouche; les molécules d'hémoglobine sont alors séparées en fonction de leur interaction ionique avec le matériel contenu dans la cartouche. Les molécules d'hémoglobine séparées traversent ensuite la cellule à circulation du photomètre filtre où sont mesurés les changements d'absorbance à 415 nm (réf.).

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

Prélèvement et manipulation des échantillons

➤ Type d'échantillon

On utilise le sang total.

➤ Précautions relatives au prélèvement des échantillons

Comme toute substance d'origine humaine les échantillons de sang doivent être manipulés en appliquant les procédures de biosécurité d'usage.

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

➤ Conservation des échantillons

Les échantillons de sang total peuvent être conservés jusqu'à 4 jours entre 2 et 8 °C et à -4°C si l'échantillon ne peut être traité avant une semaine.

➤ Préparation des échantillons

Porter les tubes d'échantillons à température ambiante (entre 15 et 30 °C) avant l'essai. Les échantillons sont stables à température ambiante pendant 1 jour. Aucune préparation particulière des échantillons n'est nécessaire. Il n'est pas nécessaire d'agiter les tubes avant le chargement. Les tubes d'échantillons sont placés dans le portoir à échantillons du D-10 puis mis dans le système D-10.

S'assurer que les codes-barres sur les échantillons sont tournés vers l'arrière de l'appareil. Utiliser des adaptateurs spéciaux pour les tubes de 12, 13 et 14 mm de diamètre. Retirer tous les adaptateurs pour les tubes de 16 mm de diamètre. Les tubes dont la hauteur est comprise entre 75 mm et 100 mm peuvent être utilisés. Si l'échantillon se trouve dans un tube de taille ou de type anormal ou si le tube contient moins de 2,0 ml d'échantillon, une prédilution est nécessaire. Pour prédiluer, pipeter 1,5 ml de solution de lavage/dilution dans un microtube de 1,5 ml étiqueté puis ajouter 5 µl de l'échantillon de sang total. Boucher le tube et bien mélanger. Utiliser un adaptateur pour les microtubes de 1,5 ml.

10.4. Annexe 4 : Dosage des anticorps anti-PfEMP-1/VarO par la méthode ELISA :

Chaque aliquote de plasma a été testé en duplicata par méthode immuno-enzymatique ELISA (Enzym-Linked Immuno Sorbent assay = test immunoabsorbant enzymatique sur support solide) contre une protéine recombinante d'antigène PfEMP-1/VarO. Il s'agissait d'une ELISA indirect

➤ Principe

La technique d'ELISA indirecte consiste à détecter et doser dans un échantillon de plasma ou de sérum des anticorps dirigés contre un antigène. Les antigènes préalablement adsorbés sur un support sont reconnus par les anticorps présents dans l'échantillon à tester. Ces anticorps appelés anticorps primaires sont par la suite reconnus par des anticorps spécifiques d'anticorps humain provenant d'une autre espèce animale. Ces derniers anticorps appelés anticorps secondaires sont couplés à une enzyme capable de catalyser la transformation d'un substrat en dérivées colorés. L'intensité de la coloration générée est dépendante de la concentration de l'échantillon testé en anticorps primaires.

➤ Matériels et réactifs

Plaques d'ELISA

PBS GIBCO 1X

5% lait dégraissé (Regilait) dans PBS 1X

Tween 20

PBS 1X +0,1% Tween 20

Fragment F (ab)² de la chèvre conjuguée à la peroxydase et lié à l'IgG humaine à 1/7500^e dans du PBS.

Système de substrat de peroxyde TMB micowell

H₃PO₄ (acide orthophosphorique) 1 molaire (1M)

Lecteur de plaque VERSAmax

Protéines solubles recombinant PfEMP-1/VarO

➤ Procédure

Revêtement des puits de plaque par les protéines PfEMP-1/VarO

Déposer 100 µl de suspension de protéine à 1mg/ml dans du PBS 1X dans chaque puits de la plaque et incuber pendant une nuit à 4°C.

Après le revêtement, retirer le surnageant.

Blocage

Mettre dans chaque puit revêtu 200 µl de lait écrémé à 5% (Regilait) et incuber pendant 1 heure à 37°C

Retirer le surnageant

Incubation avec le sérum

Chaque puit peut analyser 43 échantillons de sérum/ plasma inconnus ,1 contrôle positif (pool de paludisme hyper-immunitaire sérum = HIS) ,1 contrôle négatif (pool de paludisme non-immun sérum =NIS) (notez que HIS et NIS ont été analysé dupliquer à différents endroits dans la plaque) et 1 dupliquer avec du PBS/lait comme témoin pour l'anticorps secondaire. Chaque échantillon a été analysé en double.

Diluer le sérum /plasma au 1/100 dans du PBS-Tween-Milk (PBS 1X + 0,05% de tween + 2,25 % de lait),

Mettre 100 µl de la dilution dans le puit bloqué et incuber pendant 1 heure à 37°C.

Laver la plaque 3 fois avec 0,1% de tween dans du PBS 1X avec une machine de lavage automatique PW 41 (Biorad)

Incubation avec l'anticorps secondaire

Ajouter 100 µl d'anti-IgG humaine (Cappel) dilué au 1/7500 dans du PBS + 0,1% de tween dans chaque puits et incuber pendant 1 heure à 37°C

Mettre les solutions TMB/H₂O₂ à température ambiante (environ 1 heure avant l'étape de détection)

Laver la plaque 3 fois avec 0,1% de tween dans du PBS 1X avec une machine de lavage automatique PW 41 (Biorad)

Détection

Faire un mélange à volume égal de la solution substrat de peroxydase de TMB et de la solution de substrat de peroxydase B

Ajouter 100 µl du mélange dans chaque puits et incuber pendant 10 minutes à température ambiante (20-22°C)

Ajouter 100 µl de la solution 1 M de H₃PO₄ pour arrêter la réaction

Lire la densité optique (DO) à 450 nm (référence 655 nm) avec un lecteur de plaque VERSAmax

NB : Chaque échantillon était testé en duplicata et la moyenne des DO était calculée. Pour chaque plaque, 4 puits contrôles de sérum négatifs (pool de sérum de sujets naïfs n'ayant pas séjourné dans des zones impaludées) étaient inclus. La moyenne des DO des sérums contrôles était calculée et utilisée pour fixer le seuil de positivité pour les échantillons de sérum testé sur la même plaque. Était considéré comme positif à l'anticorps anti-PfEMP-1/VarO, tout échantillon présentant une DO supérieure ou égale à cinq fois la DO moyenne des contrôles négatifs testés sur la même plaque que lui.

11. FICHE SIGNALÉTIQUE

Prénom & Nom : Dramane SOGODOGO

Faculté et Pays d'origine : Faculté de Pharmacie de l'USTTB, Bamako, Mali

Email : dramanesogodogo80@gmail.com ; Tél : 00223 / 73 88 61 43

Année universitaire : 2022-2023 **Ville de soutenance :** Bamako

Dépôt légal : Bibliothèque de la Faculté de Médecine et d'odontostomatologie et de la Faculté de Pharmacie de l'USTTB.

Domaine d'intérêt : Parasitologie, santé publique et immunologie.

Titre de la thèse : Paludisme et protection par le trait drépanocytaire et les anticorps anti-PfEMP-1/VarO chez les enfants de Kéniéroba, Commune rurale de Bancoumana, Mali.

Résumé

Le contrôle de l'infection palustre chez l'homme implique plusieurs facteurs constitutifs génétiques et aussi des réponses immunitaires spécifiques à des antigènes parasitaires. Le rôle de l'HbAS et des anticorps anti-PfEMP-1/VarO dans la protection contre le paludisme des personnes vivant en zone d'endémie ont été décrit. Une étude approfondie et comparée des phénomènes de protection permettrait une meilleure compréhension de l'immunologie du paludisme et donc faciliterait le développement d'un vaccin antipaludéen efficace. Nous avons étudié la protection conférée par le portage de l'HbAS et des anticorps anti-PfEMP-1/VarO contre l'incidence du paludisme en zone d'endémie palustre au Mali.

Au total, 230 enfants âgés de 4 à 13 ans ont été inclus dans notre étude et plus du tiers des patients de notre cohorte n'ont présenté aucun épisode palustre au cours de la saison de transmission. Le nombre d'épisode palustre augmentait au cours de la saison de transmission chez les patients âgés de 4 à 5 ans tandis qu'il diminuait chez les sujets âgés de 6 à 13 ans. Une différence statistiquement significative a été observé entre le type d'hémoglobine et l'infection palustre ($p = 0,004$). Nous avons observé que le titre élevé des anticorps anti-PfEMP-1/VarO était fortement associé à une réduction significative du nombre des épisodes palustre au cours de la saison de transmission.

Ces résultats suggèrent que l'hémoglobine AS et les anticorps anti-PfEMP-1/VarO pourraient protéger contre l'incidence palustre. Une étude avec un échantillon plus large est nécessaire pour évaluer de façon plus claire le rôle protecteur des anticorps anti-PfEMP-1/VarO contre l'incidence palustre.

Mots clés : Anticorps, PfEMP-1/VarO, HbAS, Paludisme, Protection, Mali.

Summary

The control of malaria infection in humans involves several genetic constitutive factors and specific immune responses to parasitic antigens. The role of HbAS and antibodies to PfEMP-1/VarO in protecting people living in endemic areas against malaria has been described. An in-depth and comparative study of protective phenomena would allow a better understanding of the immunology of malaria and thus facilitate the development of an effective malaria vaccine. We investigated the protection conferred by carriage of HbAS and antibodies to PfEMP-1/VarO against malaria incidence in malaria-endemic areas in Mali.

A total of 230 children aged 4 to 13 years were included in our study and more than one-third of patients in our cohort had no malaria episodes during the transmission season. The number of malaria episodes increased during the transmission season in patients aged 4 to 5 years while it decreased in subjects aged 6 to 13 years. A statistically significant difference was observed between hemoglobin type and malaria infection ($p=0.004$). We observed that high levels of antibodies to PfEMP-1/VarO were strongly associated with a significant reduction in the number of malaria episodes during the transmission season. These results suggest that hemoglobin AS and anti-PfEMP-1/VarO antibodies may protect against malaria incidence. A study with a larger sample size is needed to assess the protective role of anti-PfEMP-1 /VarO antibodies against malaria incidence.

Keywords : Antibodies, PfEMP-1/VarO, HbAS, Malaria, Protection, Mali

SERMENT DE GALIEN

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

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

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

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

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

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

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

Je le jure!

