

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR  
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

République du MALI

Un Peuple-Un But-Une Foi

UNIVERSITE DES SCIENCES, DES TECHNIQUES  
ET DES TECHNOLOGIES DE BAMAKO



**U.S.T.T.B**

**Faculté de Pharmacie**



ANNEE UNIVERSITAIRE 2019-2020

THESE

N° \_\_\_\_/

*Les effets à long terme de la Chimio-prévention du  
Paludisme Saisonnier sur l'acquisition des  
anticorps aux antigènes de Plasmodium falciparum  
à Ouelessebougou, Mali*

Présentée et soutenue publiquement le 09/12/2019 devant la Faculté de  
Pharmacie

**M. Ahamadou YOUSOUF**

**Pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie (Diplôme d'Etat)**

*JURY*

**Président: Pr. Amagana DOLO**

**Membre: Dr. Abdoulaye Kassoum KONE**

**Membre: Dr. Souleymane DAMA**

**Co directeur: Dr. Almahamoudou MAHAMAR**

**Directeur : Pr. Alassane DICKO**

## LISTE DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTE DE PHARMACIE

### ADMINISTRATION

**Doyen : Boubacar TRAORE, Professeur**

**Vice-doyen : Ababacar I. MAIGA, Professeur**

**Secrétaire principal : Seydou COULIBALY, Administrateur Civil**

**Agent comptable : Famalé DIONSAN, Contrôleur des Finances.**

### ➤ PROFESSEURS HONORAIRES

<i>N</i>	<i>PRENOMS</i>	<i>NOM</i>	<i>SPECIALITE</i>
1	Boucacar Sidiki	CISSE	Toxicologie
2	Mahamadou	CISSE	Biologie
3	Daouda	DIALLO	Chimie Générale et Minérale
4	Souleymane	DIALLO	Bactériologie-Virologie
5	Kaourou	DOUCOURE	Physiologie
6	Ousmane	DOUMBIA	Chimie thérapeutique
7	Boukassoum	HADARA	Législation
8	Gaoussou	KANOUTE	Chimie Analytique
9	Alou A.	KEITA	Galénique
10	Mamadou	KONE	Physiologie
11	Mamadou	KOUMARE	Pharmacognosie
12	Bréhima	KOUMARE	Bactériologie et Virologie
13	Abdourahmane S.	MAIGA	Parasitologie
14	Elimane	MARIKO	Pharmacologie

➤ **DER : SCIENCES BIOLOGIQUES ET MEDICALES**

**1. PROFESSEURS / DIRECTEURS DE RECHERCHE**

<i>NO</i>	<i>PRENOMS</i>	<i>NOM</i>	<i>SPECIALITE</i>
1	Mounirou	BABY	Hématologie
2	Bakary Mamadou	CISSE	Biochimie
3	Abdoulaye	DABO	Biologie / Parasitologie
4	Mahamadou	DIAKITE	Immunologie-Génétique
5	Alassane	DICKO	Santé Publique
6	Abdoulaye	DJIMDE	Parasitologie-Mycologie
7	Amagana	DOLO	Parasitologie - Mycologie
8	Akory Ag	IKNANE	Sante Publique
9	Ousmane	KOITA	Biologie Moleculaire
10	Boubacar	TRAORE	Parasitologie - Mycologie

**2. MAITRES DE CONFERENCE / MAITRE DE RECHERCHE**

<i>NO</i>	<i>PRENOMS</i>	<i>NOM</i>	<i>SPECIALITE</i>
1	Flabou	BOUGOUDOGO	Bactériologie-Virologie
2	Aldjouma	GUINDO	Hématologie
3	Kassoum	KAYENTAO	Santé publique/ Bio-statistique
4	Bourèma	KOURIBA	Immunologie <b>chef de DER</b>
5	Issaka	SAGARA	Bio-statistique
6	Mahamadou Soumana	SISSOKO	Bio-statistique
7	Ousmane	TOURE	Santé Publiq/Santé Environnem

**3. MAITRES ASSISTANTS / CHARGE DE RECHERCHE**

<i>NO</i>	<i>PRENOMS</i>	<i>NOM</i>	<i>SPECIALITE</i>
1	Mohamed	AG BARAIKA	Bactériologie-virologie
2	Charles	ARAMA	Immunologie
3	Boubacar Tiétiè	BISSAN	Biologie Clinique
4	Djibril Mamadou	COULIBALY	Biochimie clinique
5	Seydou Sassou	COULIBALY	Biochimie clinique
6	Antoine	DARA	Biologie Moléculaire
7	Souleymane	DAMA	Parasitologie-Mycologie
8	Djénéba Koumba	DABITAO	Biologie Moléculaire
9	Laurent	DEMBELE	Biotechnologie Microbienne

**Les effets à long terme de la CPS sur l'acquisition des anticorps aux antigènes de *P. falciparum* à Ouelessebougu, Mali.**

10	Klétigui Casimir	DEMBELE	Biochimie clinique
11	Seydina S.A.	DIAKITE	Immunologie
12	Yaya	GOITA	Biochimie clinique
13	Ibrahima	GUINDO	Bactériologie-Virologie
14	Aminatou	KONE	Biologie Moléculaire
15	Birama Apho	LY	Santé Publique
16	Almoustapha Issiaka	MAIGA	Bactériologie-Virologie
17	Dinkorma	OUELEGUEM	Biologie Cellulaire
18	Fanta	SANGHO	Santé Publique/ Santé communautaire
19	Oumar	SANGHO	Epidemiologie

**ASSISTANTS / ATTACHE DE RECHERCHE**

<i>NO</i>	<i>PRENOMS</i>	<i>NOM</i>	<i>SPECIALITE</i>
1	Djénéba	COULIBALY	Nutrition/Diététique
2	Issa	DIARRA	Immunologie
3	Fatou	DIAWARA	Epidemiologie
4	Merepen dite Agnes	GUINDO	Immunologie
5	Falaye	KEITA	Santé publiq/sante Environnem
6	N'Deye Lallah Nina	KOITE	Nutrition
7	Amadou Birama	NIANGALY	Parasitologie-Mycologie
8	Djakaridia	TRAORE	Hématologie

➤ **DER : SCIENCES PHARMACEUTIQUES**

**1. PROFESSEURS / DIRECTEUR DE RECHERCHE**

<i>NO</i>	<i>PRENOMS</i>	<i>NOM</i>	<i>SPECIALITE</i>
1	Drissa	DIALLO	Pharmacognosie
2	Saïbou	MAIGA	Législation
3	Rokia	SANOGO	Pharmacognosie <b>Chef de DER</b>

**2. MAITRES DE CONFERENCES / MAITRES DE RECHERCHE**

<i>NO</i>	<i>PRENOMS</i>	<i>NOM</i>	<i>SPECIALITE</i>
-	Néant	-	-

**3. MAITRES ASSISTANTS / CHARGE DE RECHERCHE**

**Les effets à long terme de la CPS sur l'acquisition des anticorps aux antigènes de *P. falciparum* à Ouelessebougu, Mali.**

<i>NO</i>	<i>PRENOMS</i>	<i>NOM</i>	<i>SPECIALITE</i>
1	Loséni	BENGALY	Pharmacie Hospitalière
2	Bakary Moussa	CISSE	Galénique
3	Yaya	COULIBALY	Législation
4	Issa	COULIBALY	Gestion
5	Balla Fatogoma	COULIBALY	Pharmacie hospitalière
6	Mahamane	HAIDARA	Pharmacognosie
8	Moussa	SANOGO	Gestion
7	Hamma Boubacar	MAIGA	Galénique
9	Adiaratou	TOGOLA	Pharmacognosie

**4. ASSISTANTS / ATTACHE DE RECHERCHE**

<i>NO</i>	<i>PRENOMS</i>	<i>NOM</i>	<i>SPECIALITE</i>
1	Seydou Lahaye	COULIBALY	Gestion Pharmaceutique
2	Daouda Lassine	DEMBELE	Pharmacognosie
3	Adama	DENOU	Pharmacognosie
4	Sékou	DOUMBIA	Pharmacognosie
5	Assitan	KALOGA	Législation
6	Ahmed	MAIGA	Législation
7	Aichata Ben Adam	MARIKO	Galénique
8	Aboubacar	SANGHO	Législation
9	Bourama	TRAORE	Législation
10	Karim	TRAORE	Sciences Pharmaceutiques
11	Sylvestre	TRAORE	Gestion Pharmaceutique
12	Aminata Tièba	TRAORE	Pharmacie Hospitalière
13	Mohamed dit Sarmoye	TRAORE	Pharmacie Hospitalière

**DER : SCIENCES DU MEDICAMENT**

**1. PROFESSEURS / DIRECTEUR DE RECHERCHE**

<i>NO</i>	<i>PRENOMS</i>	<i>NOM</i>	<i>SPECIALITE</i>
1	Benoit Yaranga	KOUMARE	Chimie Analytique
2	Ababacar I.	MAIGA	Toxicologie

**2. MAITRES DE CONFERENCE / MAITRE DE RECHERCHE**

<i>NO</i>	<i>PRENOMS</i>	<i>NOM</i>	<i>SPECIALITE</i>
1	Sékou	BAH	Pharmacologie <b>Chef de DER</b>

### 3. MAITRES ASSISTANTS / CHARGE DE RECHERCHE

<i>NO</i>	<i>PRENOMS</i>	<i>NOM</i>	<i>SPECIALITE</i>
1	Dominique Patomo	ARAMA	Pharmacie Chimique
2	Mody	CISSE	Chimie Thérapeutique
3	Ousmane	DEMBELE	Chimie Thérapeutique
4	Tidiane	DIALLO	Toxicologie
5	Madani	MARIKO	Chimie Analytique
5	Hamadoun Abba	TOURE	Bromatologie

### 4. ASSISTANTS / ATTACHE DE RECHERCHE

<i>NO</i>	<i>PRENOMS</i>	<i>NOM</i>	<i>SPECIALITE</i>
1	Mahamadou	BALLO	Pharmacologie
2	Dalaye Bernadette	COULIBALY	Chimie Analytique
3	Blaise	DACKOOU	Chimie Analytique
4	Fatoumata	DAOU	Pharmacologie
5	Abdourahamane	DIARA	Toxicologie
6	Aiguerou dit Abdoulaye	GUINDO	Pharmacologie
7	Mohamed El Béchir	NACO	Chimie Analytique
8	Mahamadou	TANDIA	Chimie Analytique
9	Dougoutigui	TANGARA	Chimie Analytique

#### ➤ DER : SCIENCES FONDAMENTALES

### 1. PROFESSEURS / DIRECTEUR DE RECHERCHE

<i>NO</i>	<i>PRENOMS</i>	<i>NOM</i>	<i>SPECIALITE</i>
1	Mouctar	DIALLO	Biologie/ <b>Chef de DER</b>
2	Cheick F.	TRAORE	Biologie / Entomologie
3	Mahamadou	TRAORE	Génétique

### 2. MAITRES DE CONFERENCES / MAITRE DE RECHERCHE

<i>NO</i>	<i>PRENOMS</i>	<i>NOM</i>	<i>SPECIALITE</i>
1	Lassana	DOUMBIA	Chimie Appliquée

### 3. MAITRES ASSISTANTS / CARGE DE RECHERCHE

<i>NO</i>	<i>PRENOMS</i>	<i>NOM</i>	<i>SPECIALITE</i>
1	Mamadou Lamine	DIARRA	Biologie Végétale, Botanique
2	Abdoulaye	KANTE	Anatomie

3	Boureima	KELLY	Physiologie medicale
---	----------	-------	----------------------

#### 4. ASSISTANTS / ATTACHE DE RECHERCHE

NO	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Seydou Simbo	DIAKITE	Chimie Organique
2	Modibo	DIALLO	Génétique
3	Moussa	KONE	Chimie Organique
4	Massiriba	KONE	Biologie Entomologie

#### ➤ CHARGES DE COURS (VACATAIRES)

NO	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Cheick Oumar	BAGAYOKO	Informatique
2	Babou	BAH	Anatomie
3	Abdourahamane	COULIBALY	Anthropologie Médicale
4	Souleymane	COULIBALY	Psychologie
5	Bouba	DIARRA	Bactériologie
6	Modibo	DIARRA	Nutrition
7	Moussa I.	DIARRA	Biophysique
8	Babacar	DIOP	Chimie
9	Atimé	DJIMDE	Bromatologie
10	Yaya	KANE	Galénique
11	Boubacar	KANTE	Galénique
12	Aboubakary	MAIGA	Chimie Organique
13	Massambou	SACKO	SCMP / SIM
14	Modibo	SANGARE	Anglais
15	Sidi Boula	SISSOKO	Histologie-Embryologie
16	Fatoumata	SOKONA	Hygiène du Milieu
17	Fana	TANGARA	Maths
18	Abdel Kader	TRAORE	Pathologies Médicales
19	Djénébou	TRAORE	Sémilogie et Pathologie médic
20	Boubacar	ZIBEIROU	Physique

# *Dédicaces*

## *A Allah*

*Au nom d'Allah, Le Tout Miséricordieux, Le Très Miséricordieux.*

*Je dédie ce travail :*

*Au Tout Puissant, Le Miséricordieux « Maître du jour de la rétribution. C'est Toi (Seul) que nous adorons, et c'est Toi (Seul) dont nous implorons secours.*

*Guide nous dans le droit chemin, Le chemin de ceux que Tu as comblé de faveurs, non pas de ceux qui ont encouru Ta colère, ni des égarés ».*  
*Amine.*

*Pour m'avoir fait grâce de la santé et de la force pour réaliser ce travail.*

*« Telle est la grâce d'ALLAH qu'Il donne à qui Il veut. Et ALLAH est le Détenteur de l'énorme grâce. » (S62, V4).*

## *Au Prophète Mohamed,*

*Que les bénédictions et la paix de Dieu soient sur Toi. Nous te témoignons notre respect et notre gratitude pour tout ce que Tu as fait pour le bien de l'humanité.*

## *A mon père Youssouf Soumaïlou*

*Honorable, aimable, Vous représentez pour nous le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a jamais cessé de nous encourager. Vous nous avez enseigné l'amour du prophète Mohamed (Paix et salut sur lui) et la soumission à ALLAH*

*Vos prières et vos bénédictions nous ont été d'un grand secours durant ce parcours. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour vous exprimer notre reconnaissance.*

*Puisse ALLAH vous accorder une longue et heureuse vie, qu'IL vous pardonne dans ce monde ici-bas et à l'au-delà, Qu'IL soit satisfait de vous le jour des comptes ! Ameen.*

### *A mère Nassibo Mohamed Bello*

*Chère mère, vous m'avez mis au monde et couvert d'amour. Vous avez toujours cru et investi en moi. Votre sens élevé de l'honneur et de l'humanisme, votre amour du prochain, votre générosité, votre courage, votre affection, continuent de nous inspirer.*

*Vous vous êtes toujours privée de tous pour que vos enfants n'envient rien à personne. Ce travail est le fruit de vos sacrifices*

*Qu'Allah le tout puissant vous apporte santé, bonheur, longévité.*

### *A la mémoire de mon grand-père Feu Mohamed Bello*

*En témoignage de l'attachement, de l'amour et de l'affection que je vous porte. Je vous dédie ce travail. Merci pour votre affection, vos multiples actes de générosité, votre oreille attentive, vos valeurs, louées par tous ceux qui vous ont côtoyés, me comblent de fierté. Vous nous avez enseigné que seul le travail paye. Nous nous inspirerons toujours de votre exemple. Votre disparition reste un souvenir amer. Dormez en paix, regretté grand père et qu'Allah Le Clément vous accepte dans son paradis éternel. Ameen.*

*A mes frères et sœurs Fatoumata, Haoua, Mohamed Cheik, Cheta, Aminta, Hamsa*

*Merci pour votre amour et vos soutiens, qu'Allah renforce nos liens de fraternité.*

### **REMERCIEMENTS**

*Mes remerciements s'adressent*

*A mon oncle Mahamadou Mohamed BELLO à qui je dois la réussite de mon parcours universitaire. Vous m'avez accueilli sous votre toit durant toutes ces années. Permettez-moi en cette étape de ma jeune vie de vous exprimer toute ma gratitude.*

*A mon oncle BAKARA*

*Cher oncle, vous m'avez inscrit au sein de cette faculté, soucieux de notre avenir vous étiez toujours à nos côtés en apportant votre soutien matériel et moral. Soyez en remercié.*

*A mes grands parents*

*A vous qui n'avez pas eu la chance de voir ce jour car la mort vous a arraché à notre affection, j'implore Dieu le tout Puissant afin qu'il vous pardonne et vous accepte dans son paradis.*

*Ameen !*

*A MES COUSINS SIDI MOHAMED ET DR AYOUBA,*

*A mes oncles paternels et maternels : Hamdidou, Wahari, feu Salihou, Ibrahim, Alhassane Hamma Atteher , Hamma Bazzi , Attehir Hachimi , Bouba Mahamar ,....*

*Et A mes tantes paternelles et maternelles : Gambi Soumailou, Ammou, Zeinaba, Salma, Fatta, Zeinaba, Aicha Bazzi, fatoumatou Hafizou, Balkissa Hallachi...*

*A mon oncle Honorable ABDOUMALICK Diallo*

*A mon oncle DR ABDOULLAHI CHAOUIB,*

*A mon cousin ALPHA ALHASSANE*

*A mes cousins : Ammadou, Abderhamen , Abouhanifatha , Mahamar , PDG, ATT Mahamar , Bouba , Adama Sidi , Ibrahim , Abdoulahi*

*Morou , Diabiri , Hamakachia , Ousman ,Papa , Assif, Weiss , Mobbo, Omar...*

*A mes cousines: Asmaou ,kallé,Tata ,Cheta Hamidou,Balkissa Alphaga , Anna Cisse ,Adizatou Seydi, Achetou ,Dr Fahadi , Zaliha Yehiya , Mariatou , Tata Sidibe ...*

*A mes neveux et nieces : Hamidou, Ahmed junior, Baba ; Aboubacar, Salihou, Mamma Maliki, Bintou Sadibou ...*

*Retrouvez ici l'expression toute ma reconnaissance...*

*Au Pr Alassane Dicko, Cher Maître,*

*Pour la confiance que vous avez eu en ma personne, en me confiant ce sujet de thèse. Recevez ici notre profonde gratitude.Merci cher maître pour votre humilité, votre disponibilité et vos encouragements. Que le Tout-Puissant vous bénisse et vous accorde une longue vie.*

*A Dr Almahamoudou Mahamar dit Alpha, vous avez été d'un apport inestimable dans l'élaboration de ce travail. Merci pour les conseils, la bonne humeur, la disponibilité. Seul Dieu peut récompenser vos bonnes actions.*

*Mes remerciements vont également à toutes les personnes qui m'ont aidés de près ou de loin ,principalement à tous les travailleurs du MRTC, surtout ceux du Recherche Lab : Dr Oumar ,Dr Djibril , Dr kalifa ,Barasse , Dembele , Niambele,Yattoura ,Youssoufa ,kadidiatou Cisse ,Adama, Dicko ,Amara,Bakary , Sekouba ,Samake , Fofana.*

*Au personnel des site de Bougouni et de Koumantou: Dr Modibo Diarra, Dr Tappily ,Dr kaya ,Hamma Yalcouye ,Dr koualy, Ali, kone ,Addi ,Brehima Cissoko*

*Au personnel de la Pharmacie Safari : Dr Mamoudou Alpha Diallo, Dr Bekay, Sidi Mohamed, Daouda Teme, Inna, Moussa, Sirima, Mme Kone ,A Diallo ,Ichata ,Souleyman, A Mariko.merci pour tout*

*Aux guides et à la population de la commune de Ouelessebougu,*

*A la 9<sup>eme</sup> promotion du numerus clausus .Promotion Ngolo Diarra :  
Nous avons passé toutes ces années dans le travail, la simplicité, la  
courtoisie, le respect, la rigolade dans le sérieux. Chers  
promotionnaires, merci pour ces moments de toute une vie partagés.  
Heureuse carrière à tous.*

*A mes camarades du lycée Mamadou Issa Maïga d'Ansongo*

*A la génération ALKAWLEY et ALWIKILEY*

*A tous les militants et sympathisants de Gaakassiney. J'ai été  
sensible pour le soutien et les encouragements*

*A mes amis : Fayssal , Mahamadou Moussa ,Abdoulahi Sadibou,  
Younoussa ,Ahamed Abdoulbaki,Soumaila Abdoulahi, A Ayouba  
, Wague , Amadou Bouare , Tiguem , Abdoulwahab, Bintou ,Chine ,  
Amadou Dieng, Ibrahim Sidibe ,... Veuillez accepter l'expression de ma  
reconnaissance, ma profonde gratitude pour votre amitié sans faille,  
votre compréhension et encouragements. Merci pour votre amitié  
fraternelle. Vous étiez toujours là aux moments difficiles comme aux  
moments de joie pour me soutenir, m'aider et m'écouter. Que Dieu  
vous protège et vous procure joie et bonheur et que notre amitié reste  
à jamais. Amen !*

## Tableau des matières

<b>1</b>	<b>Introduction</b>	<b>24</b>
<b>2</b>	<b>Objectifs</b>	<b>28</b>
2.1	Objectif général	28
2.2	Objectifs spécifiques	28
<b>3</b>	<b>Généralités</b>	<b>29</b>
3.1	Définitions du paludisme	29
3.2	Historique	29
3.3	Epidémiologie	29
3.4	Taxonomie du parasite:	31
3.5	Les différentes espèces	31
3.6	Vecteurs	32
3.7	Cycle biologique	32
3.7.1	Cycle asexué chez l'homme	33
	Il comprend deux phases :	33
3.7.1.1	La phase hépatique :	33
3.7.1.2	La phase sanguine	33
3.7.2	Le cycle sexué : Il se passe chez l'anophèle	33
3.8	Antigènes de surface de <i>P. falciparum</i>	36
3.8.1	Apical membrane Antigen-1 (AMA1)	36
3.8.1.1	Structure et fonction d'AMA1	36
3.8.1.2	Réponses immunes naturelles dirigées contre AMA1	37
3.8.2	Protéine de surface du mérozoïte 1 (MSP1)	38
3.8.2.1	Structure et processus	38
3.8.2.2	Réponse immunitaire protectrice dirigée contre l'extrémité C-terminal de MSP1	39
3.8.3	Protéine Circumsporozoïte (CSP)	41
3.9	Physiopathologie et aspect clinique du paludisme	41
3.9.1	Accès palustre non compliqué	41
3.9.2	Paludisme viscéral évolutif	42
3.9.3	Fièvre bilieuse hémoglobinurique	42
3.9.4	Paludisme grave et compliqué	43
3.10	Autres formes cliniques particulières	43
3.10.1.1	Paludisme congénital	43
3.10.1.2	Paludisme transfusionnel	44
3.11	Diagnostic	44
3.11.1	Méthodes de mise en évidence directe du parasite	44
3.11.1.1	Le Frottis mince (FM)	44
3.11.1.2	La Goutte épaisse (GE)	44
3.11.1.3	Quantitative Buffy Coat (QBC)	45
3.11.2	Méthodes de mise en évidence indirecte des constituants parasitaires.	45
3.11.2.1	Tests de diagnostic rapides : (Parasight F et l'OptiMAL-IT)	45

3.11.2.2	La Polymérase Chain Réaction (PCR)	46
3.11.2.3	Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA)	47
<b>4</b>	<b>Traitement</b>	<b>47</b>
<b>4.1</b>	<b>Définition des antipaludiques</b>	<b>47</b>
<b>4.2</b>	<b>Principaux médicaments antipaludiques en usage en Afrique au sud du Sahara</b>	<b>49</b>
4.2.1	Amino-alcools (quinine, mefloquine, halofantrine)	49
4.2.2	Les Antifolates	50
4.2.2.1	Les Antifoliques	50
4.2.2.2	Antifoliniques	50
4.2.3	Les dérivés de l'artémisinine	51
4.2.4	Amino-8-quinoléines	51
4.2.5	Les Amino-4-quinoléines (amodiaquine, chloroquine)	52
4.2.6	Antibiotiques (cyclines, macrolides).	52
4.2.7	Vaccination anti-palustre	52
4.2.7.1	Vaccins contre les stades pré érythrocytaires	52
4.2.7.2	Vaccins contre les stades asexués érythrocytaires	53
4.2.7.3	Vaccins contre les stades sexués	54
<b>5</b>	<b>Méthodologie</b>	<b>55</b>
<b>5.1</b>	<b>Site d'étude</b>	<b>55</b>
5.1.1	Situation	55
5.1.2	Population	55
5.1.3	Activités socio-économiques et culturelles	55
5.1.4	Climat et hydrographie	55
5.1.5	Infrastructures et équipements	56
<b>5.2</b>	<b>Type d'étude</b>	<b>58</b>
<b>5.3</b>	<b>Population d'étude</b>	<b>59</b>
<b>5.4</b>	<b>Rappel sur l'étude de la chimioprévention du paludisme saisonnier (CPS)</b>	<b>59</b>
<b>5.5</b>	<b>Critères d'inclusion et de non inclusion</b>	<b>59</b>
5.5.1	Critères d'inclusion dans l'étude la CPS en 2014	59
5.5.2	Critères de non inclusion dans l'étude la CPS en 2014	59
<b>5.6</b>	<b>Critères de sélection pour l'enquête transversale de 2017</b>	<b>60</b>
<b>5.7</b>	<b>Organisation générale du travail</b>	<b>60</b>
5.7.1	Poste d'identification et clinique	60
5.7.2	Poste de prélèvement	61
5.7.3	Transfert et réception des échantillons au laboratoire	61
5.7.4	Poste de traitement des échantillons	61
<b>5.8</b>	<b>Taille de l'échantillon</b>	<b>61</b>
<b>5.9</b>	<b>Techniques de mesure des variables</b>	<b>61</b>
5.9.1	Variables démographiques	61
5.9.2	Variables cliniques	62
5.9.2.1	La température	62
5.9.2.2	Le poids	62
5.9.3	Variables biologiques	62
5.9.3.1	La parasitémie	62
5.9.3.2	Préparation de la goutte épaisse et du frottis mince	62

5.9.3.3	Mode opératoire de la goutte épaisse (GE)	63
5.9.3.4	Frottis mince (FM)	63
<b>5.10</b>	<b>Définitions opérationnelles</b>	<b>70</b>
<b>5.11</b>	<b>Gestion et analyse des données</b>	<b>70</b>
<b>5.12</b>	<b>Considérations éthiques</b>	<b>71</b>
<b>6</b>	<b>Résultats</b>	<b>72</b>
<b>6.1</b>	<b>Caractéristiques de base des participants</b>	<b>72</b>
<b>6.2</b>	<b>La séropositivité des anticorps aux antigènes de <i>Plasmodium falciparum</i></b>	<b>73</b>
<b>6.3</b>	<b>Taux des anticorps anti-palustres</b>	<b>81</b>
<b>7</b>	<b>Commentaire et discussion</b>	<b>84</b>
<b>7.1</b>	<b>Au plan de la méthodologie</b>	<b>84</b>
<b>7.2</b>	<b>Sur le plan résultats</b>	<b>84</b>
<b>8</b>	<b>Conclusion</b>	<b>87</b>
<b>9</b>	<b>Recommandations</b>	<b>88</b>
<b>9.1</b>	<b>Aux chercheurs</b>	<b>88</b>
<b>9.2</b>	<b>Aux autorités sanitaires</b>	<b>88</b>
<b>10</b>	<b>Références</b>	<b>89</b>
<b>11</b>	<b>Fiche signalétique</b>	<b>96</b>

## Liste des tableaux

<b>Tableau I:</b> Répartition des participants en fonction de l'âge et les années d'intervention....	72
<b>Tableau II:</b> Répartition des participants selon le sexe et le nombre d'années d'intervention .....	72
<b>Tableau III:</b> Répartition de la prévalence de l'infection palustre en fonction du nombre d'années de CPS.....	73
<b>Tableau IV:</b> Répartition de la séropositivité à l'anticorps anti-AMA1 en fonction du nombre d'années de CPS.....	73
<b>Tableau V:</b> Répartition de la séropositivité à l'anticorps anti-MSP1 en fonction du nombre d'années de CPS.....	74
<b>Tableau VI:</b> Répartition de la séropositivité à l'anticorps anti-CSP en fonction du nombre d'années de CPS.....	74
<b>Tableau VII :</b> Répartition de la séropositivité à l'anticorps anti-AMA1 chez les enfants ayant reçu 2 ans de CPS en fonction du sexe.....	75
<b>Tableau VIII:</b> Répartition de la séropositivité à l'anticorps anti-MSP1 chez les enfants ayant reçu 2 ans de CPS en fonction du sexe.....	75
<b>Tableau IX:</b> Répartition de la séropositivité à l'anticorps anti-CSP chez les enfants ayant reçu 2 ans de CPS en fonction du sexe.....	76
<b>Tableau X :</b> Répartition de la séropositivité à l'anticorps anti-AMA1 chez les enfants ayant reçu 4 ans de CPS en fonction du sexe.....	76
<b>Tableau XI:</b> Répartition de la séropositivité à l'anticorps anti-MSP-1 chez les enfants ayant reçu 4 ans de CPS en fonction du sexe.....	77
<b>Tableau XII:</b> Répartition de la séropositivité à l'anticorps anti-CSP chez les enfants ayant reçu 4 ans de CPS en fonction du sexe.....	77
<b>Tableau XIII:</b> Répartition en fonction de l'infection palustre et de la séropositivité à l'anticorps anti-AMA1 chez les enfants ayant reçu 2 ans de CPS. ....	78
<b>Tableau XIV:</b> Répartition en fonction de l'infection palustre et de la séropositivité à l'anticorps anti-MSP-1chez les enfants ayant reçu 2 ans de CPS. ....	78
<b>Tableau XV:</b> Répartition en fonction de l'infection palustre et de la séropositivité à l'anticorps anti-CSP chez les enfants ayant reçu 2 ans de CPS. ....	79
<b>Tableau XVI:</b> Répartition en fonction de l'infection palustre et de la séropositivité à l'anticorps anti-AMA1 chez les enfants ayant reçu 4 ans de CPS.....	79
<b>Tableau XVII:</b> Répartition en fonction de l'infection palustre et de la séropositivité à l'anticorps anti-MSP-1 chez les enfants ayant reçu 4 ans de CPS .....	80
<b>Tableau XVIII:</b> Répartition en fonction de l'infection palustre et de la séropositivité à l'anticorps anti-CSP chez les enfants ayant reçu 4 ans de CPS .....	80

## Liste des figures et graphiques

<i>Figure 1: Cycle de développement du Plasmodium</i> .....	35
<i>Figure 2. Représentation schématique d'AMA1.</i> .....	37
<i>Figure 3: Localisation de AMA 1 (Antigènes de surface du Plasmodium ; Source : <a href="http://www.pasteur.fr/recherche/unités/ImmStr">http://www.pasteur.fr/recherche/unités/ImmStr</a>)</i> .....	37
<b>Figure 4: Représentation schématique de MSP1 de <i>P. falciparum</i></b> .....	38
<i>Figure 5 : Assemblage et processing du complexe MSP1, d'après Holder, 2009</i> .....	39
<i>Figure 6: Carte de la commune de Ouelessebougou.</i> .....	58
<i>Figure 7: Technique de la goutte épaisse</i> .....	63
<b>Figure 8: Taux des anticorps anti-AMA1 en fonction de l'infection palustre et le nombre d'années de CPS reçue (2 ans CPS vs. 4 ans CPS)</b> .....	81
<b>Figure 9: Taux des anticorps anti-MSP1 en fonction de l'infection palustre et le nombre d'années de CPS reçue (2 ans CPS vs. 4 ans CPS).</b> .....	82
<b>Figure 10: Taux des anticorps anti-CSP en fonction de l'infection palustre et le nombre d'années de CPS reçue (2 ans CPS vs. 4 ans CPS).</b> .....	83

## Liste des sigles et abréviations

<b>AMA1</b>	Antigène de la membrane apicale du Plasmodium falciparum
<b>EDSM</b>	Enquête Démographique et de Santé du Mali
<b>EIPM</b>	Enquête sur les indicateurs du paludisme au Mali
<b>HPR2</b>	Histidine rich proteine 2
<b>GPI</b>	Glycosylphosphatidylinositol
<b>LMIV</b>	Laboratory malaria immunology vaccine
<b>LSA</b>	Liver Stage Antigen
<b>LU</b>	Luméfantine
<b>MF</b>	Méfloquine
<b>mg</b>	Milligramme
<b>MII</b>	Moustiquaires imprégnées d'insecticides
<b>MILD</b>	Moustiquaires imprégnées d'insecticide à longue durée d'action
<b>mm</b>	Millimètre
<b>mn</b>	Minute
<b>mol</b>	mole
<b>MRTC</b>	Malaria Research and Training Center
<b>MSP1</b>	Merozoite de surface proteine 1
<b>NaCl</b>	Chlorure de sodum
<b>NIH</b>	Instituts Nationaux de Santé des Etats Unis d'Amérique
<b>nm</b>	Nanomètre
<b>OMS</b>	Organisation mondiale de la Santé
<b>OptiMAL-IT</b>	OptiMAL Individual Test
<b><i>P. falciparum</i></b>	<i>Plasmodium falciparum</i>
<b><i>P. malariae</i></b>	<i>Plasmodium malariae</i>
<b><i>P. ovale</i></b>	<i>Plasmodium ovale</i>
<b><i>P. vivax</i></b>	<i>Plasmodium vivax</i>
<b>PBS</b>	Phosphatase bovine serum
<b>PCR</b>	Polymerase chain reaction

<b>pg</b>	Pictogramme
<b>PID</b>	Pulvérisation intra domiciliaire
<b>pLDH</b>	Lactate Deshydrogenase plasmodiale
<b>PMI</b>	Initiative du président américain pour la lutte contre le paludisme
<b>PNLP</b>	Programme national de lutte contre le paludisme
<b>POS</b>	Procédures opératoires standardisées
<b>PSF</b>	Pharmaciens sans frontières
<b>QBC</b>	Quantitative Buffy Coat
<b>RGPH</b>	Recensement Général de la Population et de l'Habitat
<b>SERA 5</b>	Serine Repeat Antigen-5
<b>SP</b>	Sulfadoxine – pyrimethamine
<b>TBS</b>	Tris buffered saline
<b>TCD4+</b>	Lymphocytes T auxiliaire
<b>TCD8+</b>	Lymphocyte T cytotoxique
<b>TCMH</b>	Teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine
<b>TDR</b>	Test de diagnostic rapide
<b>Tf</b>	Trophozoïte de Plasmodium falciparum
<b>TNF</b>	Tumor necrosis factor
<b>TRAP</b>	Thrombospondin Related Adhesion Protein
<b>%</b>	Pourcent
<b>°C</b>	Degré celsius
<b>µg</b>	Microgramme
<b>µl</b>	Microlitre
<b>µmol</b>	Micromole

## HOMMAGE AUX MEMBRES DU JURY

### A notre maître et Président du jury : Professeur *Amagana DOLO*

- Professeur Titulaire de Parasitologie-Mycoologie à la FAPH
- Directeur de l'École Doctorale des Sciences et des Technologies du Mali (EDSTM)
- Coordinateur du DES de Biologie clinique à la Faculté de Pharmacie (FAPH).

Vous nous faites un grand honneur en acceptant de présider ce jury malgré vos multiples occupations. Vos qualités humaines, vos connaissances scientifiques, intellectuelles font de vous un formateur apprécié de tous. Veuillez accepter cher maître, nos remerciements et trouver ici de toute notre reconnaissance.

**A notre maître et juge : Dr *Abdoulaye Kassoum KONE***

- Maître-Assistant en Parasitologie-Mycologie
- PhD en Parasitologie et Entomologie Médicales
- Enseignant-chercheur à la FMOS (MRTC/DEAP).

Nous avons été impressionnés par la promptitude et la modestie avec lesquelles vous avez accepté de juger ce travail malgré vos multiples sollicitations; Votre dévouement, votre rigueur scientifique et votre sens élevé de la personnalité humaine font de vous un exemple à suivre. Veuillez accepter cher Maître, nos sentiments d'estime et de profond respect.

**A notre maître et juge : Dr Souleymane DAMA**

- Maître-assistant en Parasitologie-Mycologie
- PhD en Parasitologie-Mycologie
- DEA en Parasitologie-Entomologie médicales
- DEA en pharmacologie préclinique
- Chercheur au MRTC/DEAP

Nous vous remercions vivement de l'honneur que vous nous faites en acceptant de juger ce travail. Votre compétence, votre dynamisme, ainsi que vos qualités humaines et professionnelles exemplaires ont toujours suscité notre admiration. Qu'il soit permis, chère Maître, de vous exprimer notre sincère reconnaissance, notre profond respect et notre plus grande estime

**A notre maître et co-directeur de thèse : Dr Almahamoudou MAHAMAR**

- Pharmacien chercheur au MRTC/DEAP;
- Master en entomologie-parasitologie;
- Candidat PhD.

Ce travail est avant tout le fruit de vos efforts. Nous avons apprécié vos qualités humaines et scientifiques tout au long de ce travail. Votre disponibilité constante ; votre simplicité, votre amour pour le travail bien fait et surtout votre patience font de vous un maître respectable et admiré. Merci pour votre soutien et les conseils que vous nous avez prodigués. Permettez-nous cher maître de vous adresser l'expression de notre profond respect, et de nos sincères remerciements.

**À notre maître et directeur de thèse : Professeur Alassane DICKO**

- Professeur titulaire de santé publique;
- Directeur de programmes de recherche/ FMOS/FAPH;
- Lauréat du prix « The royal society Africa prize » 2017

Vous nous avez fait un immense honneur en nous acceptant dans votre équipe de recherche médicale. Nous vous remercions de la confiance que vous nous avez placée en nous proposant ce travail. Tout au long de ce travail nous avons apprécié vos grandes qualités scientifiques et humaines, vos enseignements et surtout votre sens élevé de la responsabilité et de la rigueur dans le travail. Vous avez cultivé en nous, l'endurance, la persévérance, le sens du travail bien fait et surtout la patience. Votre simplicité, votre rigueur, votre dynamisme font de vous un homme respectueux, respectable et d'une immense grandeur. Cher Maître veuillez recevoir en toute modestie l'expression de notre immense gratitude. Que Dieu vous comble de grâces

## 1 Introduction

Le paludisme reste aujourd'hui l'une des maladies parasitaires la plus grave et constitue un problème majeur de santé publique et socio-économique dans le monde en général et l'Afrique sub-saharienne en particulier. L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) le classe parmi les pathologies prioritaires en termes d'intervention, avec la tuberculose et le VIH/SIDA. En 2017 le nombre de cas de paludisme était estimé à 219 millions, dont la plupart des cas (92%) ont été enregistrés dans la région Afrique, loin devant la région Asie du Sud-Est (5%) et la région Méditerranées orientale (2%) (1).

A la période de 2016, 91 pays et territoires étaient confrontés à une transmission continue du paludisme. Au niveau mondial, le nombre de décès dû au paludisme a été estimé à 435 000 en 2017, contre 451 000 en 2016 et 607 000 en 2010 (1). Les baisses les plus prononcées ont été observées dans les régions Asie du sud (44%), Afrique (37%) et Amérique (27%) (2).

On a estimé que 6,2 millions de décès dus au paludisme ont été évités dans le monde depuis 2000 qui a connu un coup d'arrêt entre 2015 et 2016 dans les régions Asie Sud-Est, Pacifique occidental, et Afrique, elle a augmenté dans les régions Amérique et Méditerranée orientale (2).

Dans les régions où la transmission du paludisme est intense, les enfants de moins de 5 ans risquent tout particulièrement de contracter l'infection, de tomber malades et de mourir ; plus des deux tiers (70 %) des décès dus au paludisme surviennent dans cette tranche d'âge. Les enfants de moins de 5 ans sont particulièrement vulnérables, et fait que l'un d'eux meurt toutes les deux minutes de cette maladie évitable et guérissable. En 2017, ils ont représenté 61 % (266 000) des décès associés au paludisme dans le monde (1).

Au Mali le paludisme est l'une des principales causes de morbidité et de mortalité, avec une transmission saisonnière. Il constitue 44% des motifs des consultations dans la population générale (3). L'OMS a estimé à plus de sept (7) millions de cas de paludisme en 2015, dont 1500 décès reportés (2). Selon l'enquête de l'EIPM en 2015, la prévalence du paludisme était de 36,6% chez les enfants de moins de cinq ans et cette prévalence est la plus élevée dans la région de Mopti (60%) et Sikasso (42%) ; et la plus faible prévalence a été enregistré à Kayes (27%) et Bamako (6%) (4).

*Plasmodium falciparum* est l'espèce la plus répandue dans le Sud du pays (94%) et la plus mortelle au Mali, elle est suivie de *P. malariae* (5%) et *P. ovale* (1%) qui ne sont pas généralement mortelles, au Nord la prévalence de *P. vivax* peut atteindre jusqu'à 30% dans certaines zones (5) (6).

L'élimination/éradication du paludisme est l'un des objectifs du développement durable. Pour atteindre cet objectif ces quinze dernières années, plusieurs stratégies recommandées par l'OMS ont été adoptées par les nations afin de diminuer les fardeaux du paludisme. Il s'agit des stratégies essentiellement curatives et préventives : la prévention par l'utilisation des moustiquaires imprégnées d'insecticide à longue durée d'action (MILD) ; la pulvérisation intradomiciliaire par des insecticides (PID) ; le traitement préventif intermittent chez la femme enceinte (TPI) ; la Chimio-prévention du paludisme saisonnier (CPS) chez les enfants et les combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine (CTA).

Au total 6,8 millions de décès dus au paludisme ont été ainsi évités entre 2001 et 2015, principalement en Afrique (94%) et chez les enfants de moins de cinq ans (97%). La mortalité liée au paludisme a été réduite de 62% entre 2000 et 2015 soit 69% chez les enfants de moins de cinq ans (2).

En 2014, sur une population totale à risque de 834 millions en Afrique subsaharienne, 269 millions de personnes vivaient dans une habitation sans moustiquaire; 15 des 28 millions de femmes enceintes exposées au risque de paludisme n'ont reçu aucune dose de TPIp ; et sur les 92 millions d'enfants atteints de paludisme, entre 68 et 80 millions n'ont pas été traités par CTA (7).

Au Mali, seulement 6% des ménages ont bénéficié de la PID, près de neuf ménages sur dix possèdent au moins une moustiquaire (traitée ou non), la proportion de femmes ayant suivi, comme recommandé, un Traitement Préventif Intermittent (TPI), au cours des visites prénatales n'est que de 20% (3).

Au Mali, l'application de ces recommandations a permis de faire baisser considérablement la morbidité et la mortalité liées au paludisme. Cependant le paludisme reste l'une des principales causes de mortalité infantile, tuant un enfant toutes les deux minutes dans le monde à cause des insuffisances dans l'application et l'efficacité des stratégies (8).

L'apparition des résistances du vecteur et du parasite aux molécules utilisées pour les combattre représente d'un autre côté, une réelle menace dans l'élimination du paludisme. Depuis 2010, sur les 73 pays fournissant des données de suivi, 60 ont signalé la résistance d'une population de vecteurs à au moins un insecticide, et 50 ont rapporté une résistance à au moins deux classes d'insecticides et des cas de résistances à l'artémisinine commencent à se déclarer (2).

Il a été cependant établi que l'immunité antipaludique est âge-dépendante dans les zones endémiques. Plusieurs antigènes candidats vaccins, ont été identifiés et l'espoir repose sur un nombre réduit de candidats vaccins tels que le RTS, S /ASO1, qui est en phase III b (9) et en phase pilote dans trois pays africains (Ghana, Kenya et Malawi) et l'espoir d'un vaccin bloquant la transmission en agissant sur les gamétocytes est de plus en plus grand avec Pf230 en essai de phase II au Mali (10).

Il a récemment été montré que la Chimio-prévention du Paludisme Saisonnier (CPS) précédemment connu sous le traitement préventif intermittent du paludisme chez les enfants, réduit l'infection palustre ainsi que le paludisme maladie de plus de 80 % chez les enfants maliens, encourageant l'OMS à approuver la CPS comme politique pour les pays sahéliens en Mars 2012 (11) (12)

La CPS est définie comme l'administration intermittente d'un traitement complet par un médicament antipaludique pendant la saison de haute transmission du paludisme pour éviter la maladie, l'objectif étant de maintenir des concentrations thérapeutiques de médicament antipaludique dans le sang pendant la période où le risque de contracter le paludisme est plus élevé (13).

La stratégie de la CPS consiste à administrer un maximum de quatre cycles de traitement de Sulfadoxine-Pyriméthamine (SP) plus Amodiaquine (AQ) à intervalles d'un mois à des enfants âgés de 3 à 59 mois dans les régions de forte transmission saisonnière du paludisme (12). La stratégie est très efficace, sûre et rentable pour la prévention du paludisme chez les enfants âgés de moins de 5 ans dans les zones où la transmission du paludisme est saisonnière, comme la région du Sahel en Afrique (12).

Malgré l'énorme avantage fourni par la CPS, l'une des préoccupations est qu'elle pourrait compromettre l'acquisition de réponses immunitaires protectrices, ce qui augmente le risque

**Les effets à long terme de la CPS sur l'acquisition des anticorps aux antigènes de *P. falciparum* à Ouelessebouyou, Mali.**

de maladie dans les années ultérieures. C'est dans ce cadre que nous avons voulu évaluer l'impact de la stratégie sur les anticorps antipalustres à long terme.

## 2 Objectifs

### 2.1 Objectif général

Evaluer les effets à long terme de la chimioprévention du paludisme saisonnier sur l'acquisition des anticorps aux antigènes de *Plasmodium falciparum* chez les enfants âgés de moins de 5 ans à Ouelessebougu, Mali.

### 2.2 Objectifs spécifiques

- Comparer les niveaux des anticorps anti-AMA-1 chez les enfants de moins de 5 ans qui ont reçu la CPS pendant 4 ans versus ceux qui l'ont reçu pendant 2 ans;
- Comparer les niveaux des anticorps anti-MSP-1<sub>42</sub> chez les enfants de moins de 5 ans qui ont reçu la CPS pendant 4 ans versus ceux qui l'ont reçu pendant 2 ans;
- Comparer les niveaux des anticorps anti-CSP chez les enfants de moins de 5 ans qui ont reçu la CPS pendant 4 ans versus ceux qui l'ont reçu pendant 2 ans.

### 3 Généralités

#### 3.1 Définitions du paludisme

Endémie parasitaire majeure, le paludisme (palus = marais) ou malaria (mauvais air) est une érythrocytopathie hémolysante souvent fébrile due à un hématozoaire du genre *Plasmodium*, transmis à l'homme par la piqûre infectante d'un moustique du genre *Anopheles* femelle.

#### 3.2 Historique

Historiquement, le paludisme est une maladie très ancienne. En 3000 ans avant JC, les Egyptiens en souffraient et en mourraient déjà. Cette certitude est issue de la découverte des Plasmodies dans des momies (14).

A peu près à la même époque, soit à partir de 2700 avant JC, des cas d'accès palustres sont décrits en Chine. Cette maladie étant déjà à l'époque un mal familial, le paludisme a sa place dans la mythologie chinoise. Il y est représenté sous la forme de trois démons armés respectivement de marteau, brasero et marmite d'eau froide, illustrant les céphalées, fièvres et frissons (15). Cependant, bien que les hommes souffrent du paludisme depuis si longtemps, il faudra attendre l'année 1630 pour voir apparaître le premier traitement à base d'écorce de Quinquina découvert par Don Francisco Lopez. Deux siècles seront encore nécessaires pour que les pharmaciens J. Pelletier et J.B. Caventou parviennent à isoler le principe actif: la quinine. A partir de cette époque, les recherches s'accélérent et l'agent pathogène est découvert par Alphonse Laveran en 1880 (16).

En 1897, les moustiques Anophèles sont reconnus comme étant les vecteurs de la maladie et en 1922, les quatre espèces de *Plasmodium* infectant l'Homme sont enfin toutes décrites. Il faudra alors près de 60 ans pour comprendre entièrement le cycle parasitaire et ses caractéristiques. La chloroquine et l'amodiaquine, deux antipaludiques de synthèse très utilisés, font leur apparition en 1944. Malheureusement, dès 1960, des souches de *P. falciparum* résistantes à la chloroquine sont découvertes sur deux continents (Asie et Amérique du Sud). Ces chimiorésistances apparaissent simultanément avec des résistances des anophèles à l'usage du DDT (Dichlorodiphényl-trichloréthane), utilisé depuis 1948.

#### 3.3 Epidémiologie

Le paludisme sévit actuellement dans la ceinture de pauvreté du monde, mais l'impact de la maladie en termes de santé publique (mortalité, morbidité et impact socio-économique) varie considérablement d'une région à l'autre.

La grande majorité des cas graves et mortels de paludisme est due essentiellement à *P. falciparum* et survient chez les enfants de moins de cinq ans et les femmes enceintes (2).

En Afrique subsaharienne, la plupart des décès surviennent chez les enfants où chaque deux minutes un enfant meurt du paludisme. Cette maladie est à l'origine de près de 22% de l'ensemble des décès d'enfants en Afrique (2). En clinique, on estime à environ 2 épisodes de paludisme en moyenne par enfant (0-5 ans) et par saison de transmission (hivernage) (17). Cette hétérogénéité du paludisme a très tôt imposé la nécessité d'une classification des zones où sévit la maladie en fonction du climat et de la végétation (indices de Macdonald 1957) :

- Les zones de paludisme stable où la forte transmission entraîne une prémunition ;
- Les zones de paludisme instable où le caractère épisodique de la transmission ne permet pas le développement de la prémunition.
- Entre ces deux zones, il existe une strate de situations intermédiaires

Au Mali il existe 5 faciès épidémiologiques de transmission du paludisme (18):

- la zone de transmission saisonnière longue de 4 à 6 mois (zone soudano-guinéenne);
- la zone de transmission saisonnière courte de 3 à 4 mois (zone sahélo-soudanienne) ;
- la zone de transmission sporadique voire épidémique (zone saharienne) correspondant aux régions du nord (Gao, Tombouctou et Kidal), certains districts des régions de Koulikoro (Nara) et de Kayes (Nioro, Yélimané, Diéma et Kayes) ;
- la zone de transmission bi ou plurimodale saisonnière du delta intérieur et des barrages (Sélingué, Manantali et Markala) ;
- la zone peu propice à l'impaludation particulièrement le milieu urbain comme Bamako.

La transmission se fait essentiellement en saison des pluies. Cette transmission continue même en saison sèche pour les zones irriguées (19).

### 3.4 Taxonomie du parasite:

Les agents pathogènes du paludisme appartiennent au:

Règne : Protistes

Sous-règne : Protozoaires

Phylum : Apicomplexa

Classe : Haemosporidea

Ordre : Haemosporida

Famille : Plasmodiidae

Genre : Plasmodium

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

### 3.5 Les différentes espèces

Plus de 150 espèces ont été décrites à ce jour, infectant des mammifères, des oiseaux et des reptiles

On distingue actuellement cinq espèces de *Plasmodium* qui parasitent l'Homme: *Plasmodium falciparum*, *P. malariae*, *P. vivax*, *P. ovale* et *P. knowlesi*. *Plasmodium cynomolgi* nouvellement décrit chez l'homme (20).

- *P. falciparum* est responsable du paludisme le plus répandu sur le continent africain. Il est responsable de la plupart des cas mortels dans le monde. C'est lui qui tue et parasite les hématies quel que soit leur âge, son incubation dure 7 à 15 jours.
- *P. malariae*, responsable de la fièvre quarte à recrudescence tardive. Son incubation dure entre 18 et 40 jours.
- *P. vivax* est présent à plus d'endroits que *P. falciparum* et est prédominant hors d'Afrique (2), il est exceptionnel dans la race noire, moins exigeant en température, son incubation dure 10 à 20 jours.
- *P. ovale curtisi*, *P. ovale wallikeri*, sont très proche de *P. vivax* avec lequel il a longtemps été confondu.
- *P. knowlesi* a été découvert en Malaisie et est responsable du paludisme chez le singe. Il a été rencontré chez des humains dans certaines zones de forêts d'Asie du Sud-est (21).

### 3.6 Vecteurs

Le paludisme humain est transmis par les anophèles femelles. A cet effet, l'épidémiologie du paludisme humain suit la distribution spatiale des anophèles vecteurs.

En Afrique, dans les régions au sud du Sahara les vecteurs prédominants sont *An. Gambiae s.l.* et *An. funestus*. Le complexe *An. gambiae* comprend six espèces : *An. gambiae s.s.*, *An. arabiensis*, *An. merus*, *An. melas*, *An. quadrianulatus* et *An. bwambe* (22). Ces espèces du complexe *An. gambiae* sont morphologiquement identiques, mais présentent des barrières de reproduction et des préférences écologiques distinctes.

Au Mali, sont présentes : *An. gambiae s.s.*, *An. arabiensis* et *An. funestus*. L'espèce *An. Gambiae s.s.* est composée de trois formes chromosomiques (Bamako, Mopti et Savane) qui contribuent toutes à la transmission du paludisme (22). Les cinq entités vectrices montrent des différences significatives de distributions géographiques et saisonnières de leurs fréquences relatives (23). Ainsi *An. gambiae s.s.* s'observe essentiellement dans les zones humides du Sud et au Nord, dans les zones d'inondation du fleuve Niger ; alors que *An. arabiensis* se rencontre dans les zones plus sèches et éloignées des terres inondées. Les formes Bamako et savane s'observent essentiellement en saison des pluies alors que la forme Mopti et *An. arabiensis* se rencontrent aussi bien en saison des pluies qu'en saison sèche. Ces différents taxa coexistent souvent avec *An. funestus*, qui est responsable de transmission pendant la saison sèche fraîche entretenant un système de transmission par relais (23). Cette complexité du système vectoriel fait qu'au Mali, l'épidémiologie du paludisme diffère selon les régions géographiques (voir faciès de transmission ci-dessus).

### 3.7 Cycle biologique

Le cycle biologique des plasmodies est un cycle dixène qui se déroule successivement dans le corps de l'anophèle femelle (vecteur) et l'organisme d'un hôte vertébré (hôte définitif). Les espèces : *P. vivax*, *P. ovale* et *P. falciparum* sont exclusivement inféodées à Homo sapiens.

Dans l'organisme humain, le cycle présente deux phases distinctes de multiplication asexuée : la phase pré- ou exo érythrocytaire qui a lieu dans le foie et la phase érythrocytaire au niveau du sang. Cette dernière phase correspond aux manifestations cliniques de la maladie du paludisme. La reproduction sexuée suivie d'une phase de sporogonie a lieu chez le moustique. Le cycle biologique du Plasmodium est illustré par la figure 1.

### 3.7.1 Cycle asexué chez l'homme

**Il comprend deux phases :**

#### 3.7.1.1 La phase hépatique :

L'infection de l'homme est initiée par l'inoculation des sporozoïtes dans l'organisme par la piqûre de l'anophèle femelle au cours de son repas sanguin. Lors de la piqure, le moustique injecte de la salive qui facilite sa prise de sang. C'est cette voie de sécrétion de salive que le parasite emprunte chez le moustique pour être transmis à l'Homme. Une partie des sporozoïtes inoculés est détruite notamment par les macrophages locaux. Le reste pénètre dans les vaisseaux sanguins pour gagner le foie au bout de 15-30 minutes. Au niveau du foie s'effectue une schizogonie hépatocytaire. Des sporozoïtes de *P. vivax* et *P. ovale* peuvent rester quiescents dans les hépatocytes sans se transformer en schizontes (cryptozoïtes). Les schizontes hépatiques grossissent leurs noyaux, se divisent et en une semaine environ, évoluent en schizontes matures contenant quelques milliers de noyaux (corps bleus). L'éclatement du schizonte hépatique libère de nombreux mérozoïtes qui pour la plupart s'embolisent dans les capillaires sinusoides et passent dans la circulation sanguine amorçant les premières schizogonies sanguines. Cette phase dure en moyenne 6 jours pour *P. falciparum*, 8 jours pour *P. vivax*, 9 jours pour *P. ovale*, et 13 jours pour *P. malariae*.

#### 3.7.1.2 La phase sanguine

Dans le sang s'effectue le cycle érythrocytaire. Les mérozoïtes libérés après l'éclatement des schizontes hépatiques pénètrent dans les hématies hôtes et s'y transforment en trophozoïtes. La multiplication des noyaux dont chacun s'entoure d'une plage cytoplasmique forme un schizonte mûre ou corps en rosace qui en s'éclatant libère de nouveaux mérozoïtes qui vont infecter de nouvelles hématies et le cycle recommence. Après une semaine environ, certains mérozoïtes vont évoluer au stade sexué : les gamétocytes.

### 3.7.2 Le cycle sexué : Il se passe chez l'anophèle

A ce stade, lors que le moustique prend son repas sanguin sur l'individu infecté, il rapporte dans son estomac les parasites dont les formes asexuées seront digérées. Dans l'estomac moyen de l'anophèle, les gamétocytes sont libérés des globules rouges puis commence le développement du parasite chez le moustique (24). En effet, les gamétocytes se transforment en gamètes grâce aux nouvelles conditions de pH (plus basique), de température (plus basse) et biochimique (action de l'acide xanthurénique). Les gamètes males subissent une exflagellation pendant environ 1 heure pour donner des microgamètes.

Les gamètes femelles ou macrogamètes seront fécondés par les microgamètes. Le zygote formé subit la méiose puis se différencie en une forme mobile et allongée appelée ookinète. L'ookinète traverse durant environ 48 heures la membrane péritrophique et l'épithélium stomacal pour se loger dans la couche laminaire basale. Les cellules épithéliales stomacales traversées vont subir une apoptose. Dans cette niche, l'ookinète se transforme en oocyste. L'oocyste subit une série de divisions nucléaires et d'organisations moléculaires et cellulaires au bout de 10 à 14 jours environ aboutissant à la formation des formes métacycliques infectantes haploïdes appelées sporozoïtes. La membrane de l'oocyste se rompt et libère de nombreux sporozoïtes dans l'hémolymphe de l'anophèle. Grâce à l'hémolymphe, les sporozoïtes parviennent à envahir la glande salivaire et le moustique devient infectant à partir de cet instant. Au cours d'un repas sanguin le moustique infectant va inoculer les sporozoïtes dans l'organisme de l'homme et le cycle continu.

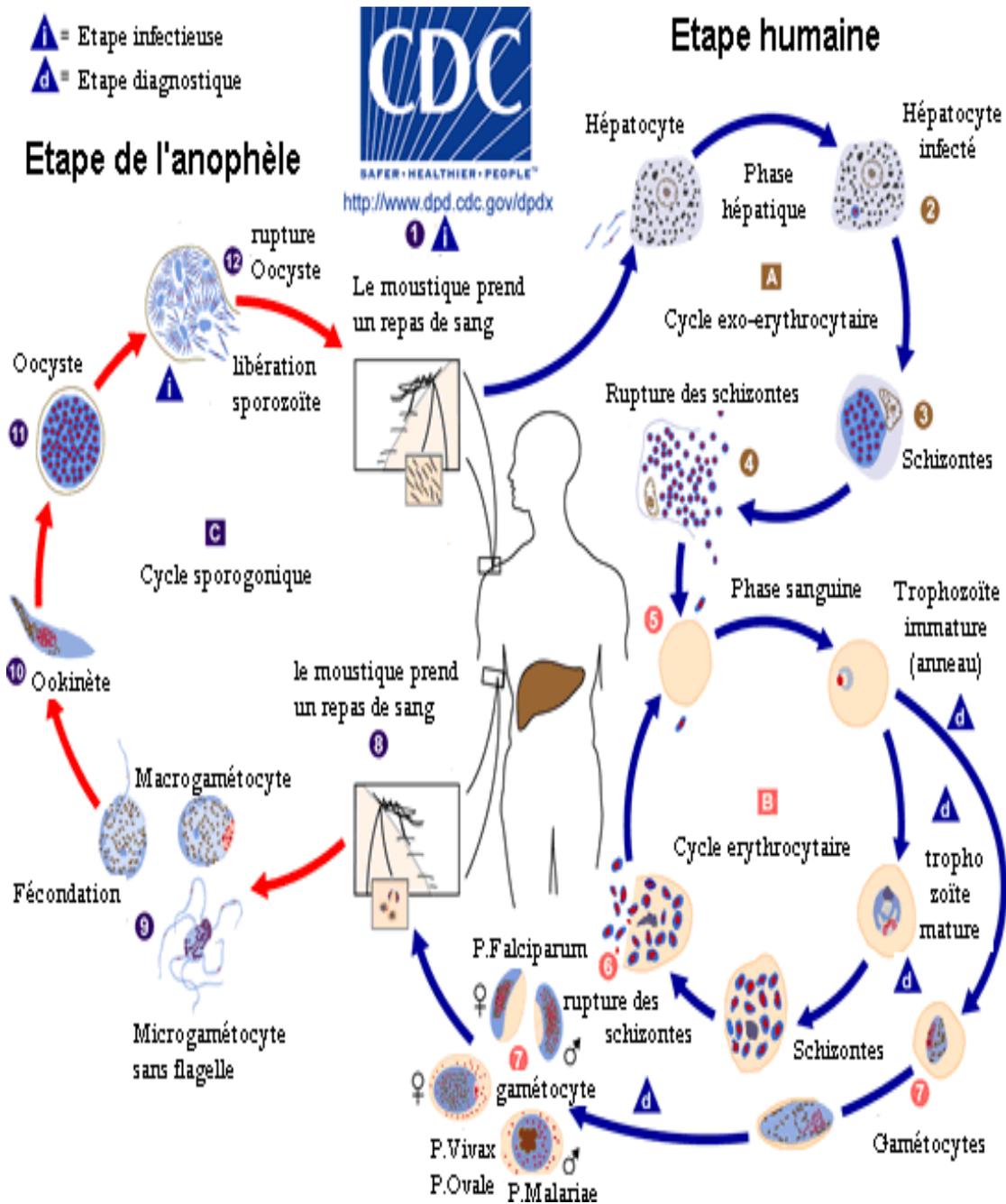


Figure 1: Cycle de développement du Plasmodium

Source: <http://www.cdc.gov/dpdx/>

### 3.8 Antigènes de surface de *P. falciparum*

Le Plasmodium subit plusieurs modifications morphologiques au cours de son cycle biologique aussi bien chez l'homme que chez le vecteur. A chaque étape de développement correspond une expression de nouveaux antigènes. Ainsi, plus de deux milles antigènes ont été identifiés chez le Plasmodium. Ces antigènes peuvent être classés selon les étapes du cycle de développement du parasite, en antigènes des stades pré-érythrocytaires (sporozoïtes et formes hépatiques), de stades érythrocytaires (mérozoïtes, trophozoïtes, schizontes) et de stade sexué (gamétocytes). Le génome nucléaire de *P. falciparum* a une taille de 22,8 Mb repartis sur 14 chromosomes comportant environ 5300 gènes. Les produits de nombreux gènes sont impliqués dans l'interaction hôte parasite et l'évasion immunitaire (25).

Nous décrivons ici 3 antigènes du stade érythrocytaire utilisés dans cette étude :

#### 3.8.1 Apical membrane Antigen-1 (AMA1)

##### 3.8.1.1 Structure et fonction d'AMA1

AMA1 est une protéine membranaire de type 1 ; localisée dans le micronème, organelle présente dans la région apicale du mérozoïte qui contient les ligands pour les récepteurs des globules rouges, est produite par les schizontes matures des érythrocytes (26) *figure 3*. La protéine comporte une région ectoplasmique (546 acides aminés), un segment transmembranaire (21 acides aminés) et un domaine cytoplasmique (55 acides aminés) (27). Lors de l'invasion de l'érythrocyte par le parasite, AMA1 se répartit sur toute la surface externe de l'organisme et subit une série de coupures protéolytiques. La protéine est exprimée en fin de schizogonie au cours du développement érythrocytaire asexué. PfAMA1 est synthétisée sous forme d'un précurseur de 83 kDa (PfAMA183) qui est converti en PfAMA166 (28). La protéine se subdivise en trois domaines (DI, DII et DIII) liés par des ponts disulfures (29) et de sa structure cristalline (30) (Figure 2). La protéine est apprêtée au stade tardif du mérozoïte ou au cours de l'invasion érythrocytaire (31). Elle jouerait un rôle lors de la réorientation du mérozoïte au cours de laquelle, les organites apicaux sont alignés sur la membrane des érythrocytes (32). PfAMA1 pourrait également être impliquée dans l'invasion des hépatocytes (33). PfAMA1 jouerait un rôle dans l'invasion érythrocytaire par l'intermédiaire de son domaine DIII (34). PfAMA1 présente de nombreux polymorphismes dans ses trois domaines DI, DII et DIII.

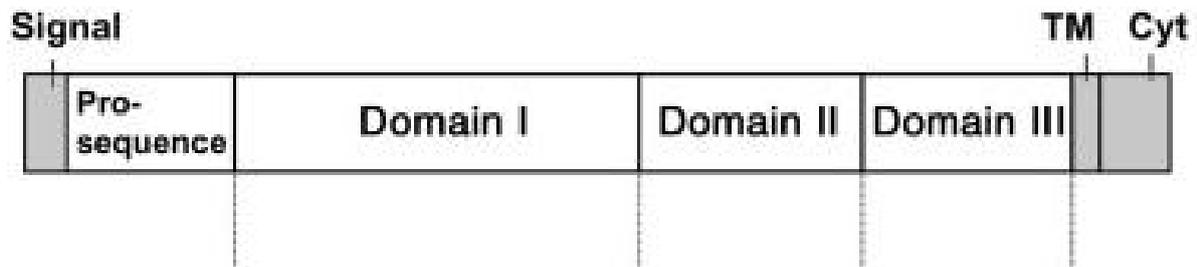


Figure 2. Représentation schématique d'AMA1.

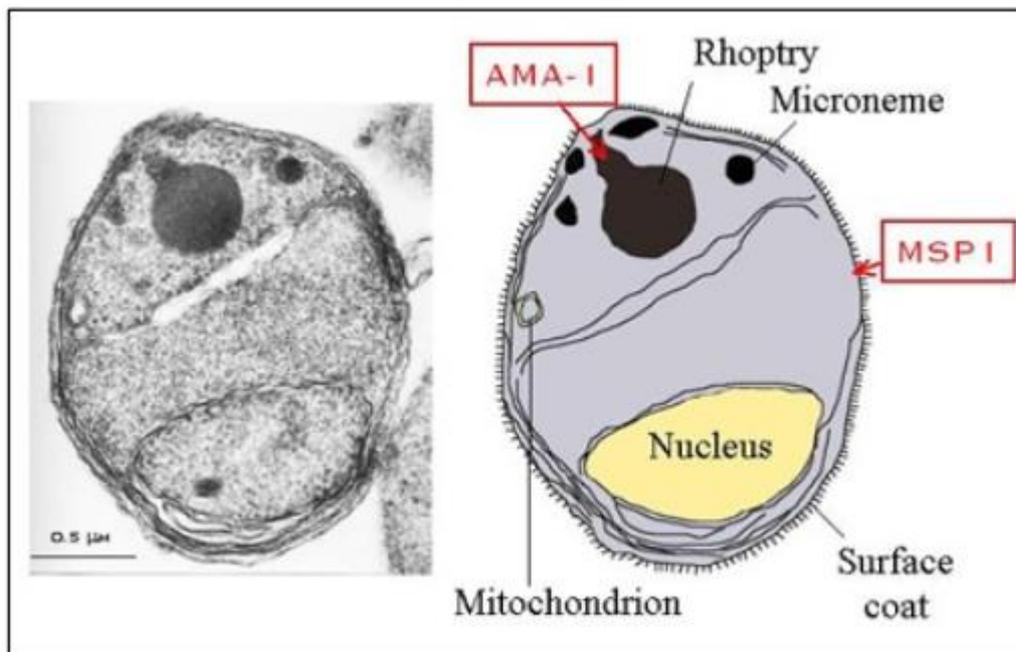


Figure 3: Localisation de AMA1 (Antigènes de surface du Plasmodium ;

Source : <http://www.pasteur.fr/recherche/unités/ImmStr>)

### 3.8.1.2 Réponses immunes naturelles dirigées contre AMA1

La plupart des personnes exposées au *Plasmodium* produisent des anticorps anti-AMA1, leur prévalence augmentant avec l'âge (35) (36). Chez les individus naturellement infectés par *P. falciparum* la réponse immunitaire humorale est caractérisée par la production d'IgG1 et une faible réponse IgG3. La production d'IgG2 et IgG4 est rarement observée. Les anticorps anti-AMA1 sont essentiellement dirigés contre les domaines DI et DII de la protéine et ces anticorps réagissent avec plusieurs variantes alléliques (37).

La réponse anticorps dirigée contre le domaine DIII de la protéine est généralement faible mais augmente chez les adultes. Il a été montré que les IgG dirigées contre une construction d'AMA1 contenant au moins les domaines DI et DII sont associées à un risque réduit de

paludisme clinique chez les sujets présentant une parasitémie avant la saison de transmission (37). Les anticorps anti-AMA1 purifiés de sujets immuns inhibent aussi la croissance des parasites *in vitro* (38). Dans les populations vivant en zone d'endémie palustre les réponses immunes anti-AMA1 sont souvent beaucoup plus élevées que celles d'autres antigènes de *P. falciparum* tels que MSP1<sub>19</sub>, GLURP, MSP3 (39). La réponse immune cellulaire dirigée contre AMA1 fait l'objet de peu d'études. Une étude suggère que la réponse cellulaire T anti-AMA1 est de courte durée et qu'elle est associée à la protection contre l'infection (40).

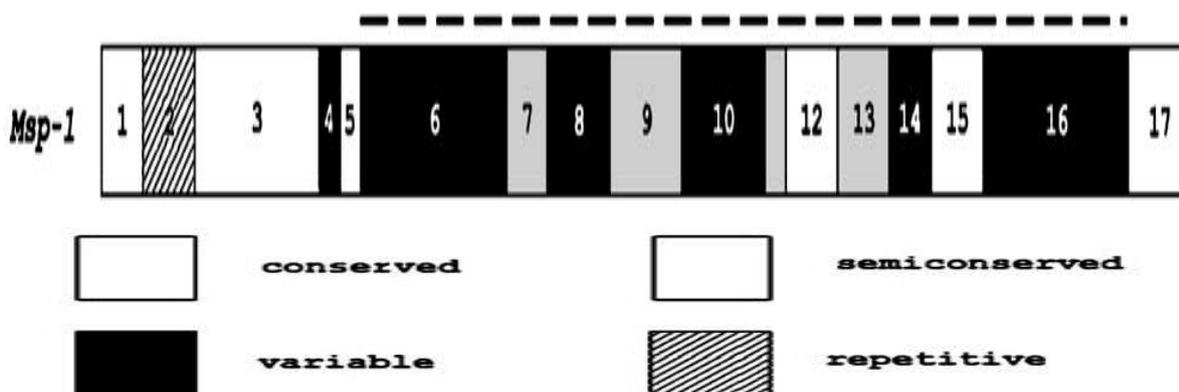
### 3.8.2 Protéine de surface du mérozoïte 1 (MSP1)

#### 3.8.2.1 Structure et processus

MSP-1 est une grosse protéine qui varie en taille et en séquence d'acides aminés dans différentes lignées parasitaires. La protéine est synthétisée au cours de la schizogonie comme un polypeptide précurseur unique d'environ 200 kDa et exprimée à la surface du parasite intracellulaire.

La structure primaire de la protéine a été déduite de l'analyse des séquences des gènes de plusieurs clones de *P. falciparum* (41), (42).

La séquence de la protéine est divisée en blocs numérotés de 1 à 17 (figure 4). Il existe trois



types de blocs : conservés, semi-conservés et variables.

**Figure 4:** Représentation schématique de MSP1 de *P. falciparum*

Les blocs 1, 3, 5, 12 et 17 sont très conservés, les blocs 4, 6, 8, 10, 14 et 16 sont variables et les blocs 7, 9, 11, 13 et 15 sont semi-conservés. Le bloc 4 est l'un des plus variables. Après sa synthèse, MSP1 est associée à d'autres protéines, en particulier MSP6 et MSP7 à la surface du schizonte et ancrée à la membrane plasmique par le glycosylphosphatidylinositol (GPI). La

protéine subit un premier <processus> juste avant la rupture des schizontes; le précurseur polypeptidique de MSP1 est clivé par la protéase subtilisine SUB1 (41) en quatre fragments, 83 (MSP1<sub>83</sub>), 30 (MSP1<sub>30</sub>), 38 (MSP1<sub>38</sub>) et 42 (MSP1<sub>42</sub>) qui restent assembler en un complexe à la surface du mérozoïte (Figure 5).

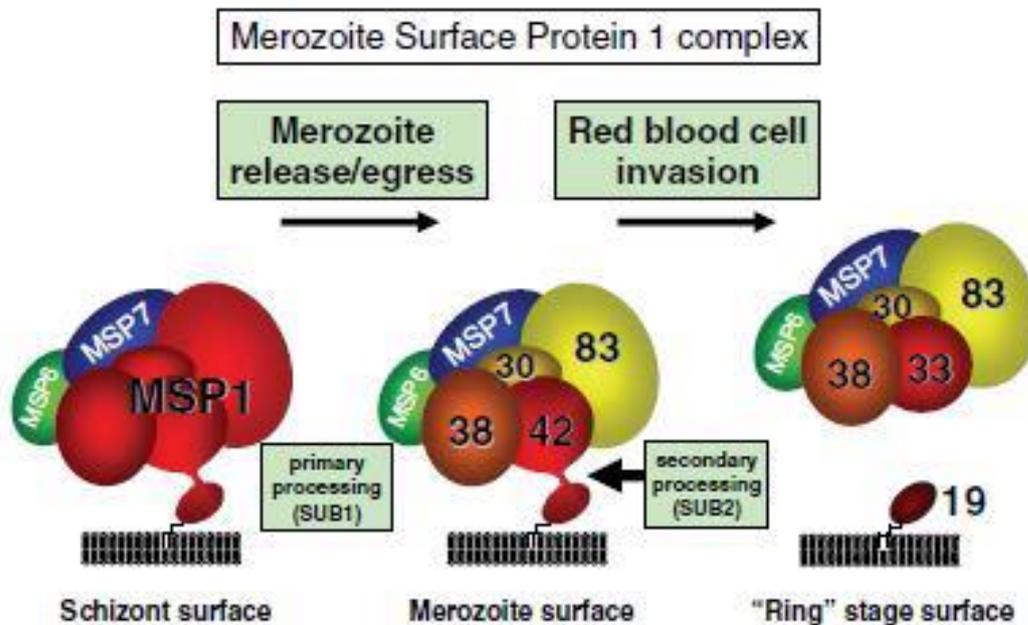


Figure 5 : Assemblage et processing du complexe MSP1, d'après Holder, 2009

Lorsque le mérozoïte envahit un globule rouge, un second processus, initié par la subtilisine SUB2 clive le fragment 42 kDa de MSP-1 en deux fragments de 33 et 19 kDa (43). En conséquence, le fragment MSP-133 est libéré à la surface avec le reste du complexe MSP-1 et MSP1<sub>19</sub> est retenu par son ancre GPI à la surface du parasite (44) Figure 5.

### 3.8.2.2 Réponse immunitaire protectrice dirigée contre l'extrémité C-terminal de MSP1

De nombreuses études ont montré que la région C-terminale de MSP1 est la cible des réponses immunes protectrices. Ces réponses sont médiées par des anticorps. En effet, les expériences d'immunisation dans le modèle d'infection de *P. yoelii* montrent le rôle de certains anticorps monoclonaux et polyclonaux dirigés contre l'extrémité C-terminal de MSP1 dans la protection d'un challenge par les parasites du stade sanguin (45),(46). Les études *in vitro* confirment que les anticorps monoclonaux ou polyclonaux spécifiques de l'extrémité C-terminal de *P. falciparum* peuvent inhiber l'invasion des érythrocytes (44), (47).

De plus, la vaccination avec les protéines recombinantes de cette région de MSP1, induit une réponse immunitaire protectrice, dans différents modèles tels que, *P. yoelii* (45), *P. cynomolgi* (48) et *P. falciparum* (49).

La réponse dirigée contre MSP1<sub>19</sub> induit trois classes différentes d'anticorps monoclonaux et polyclonaux (50) (51): anticorps inhibiteurs, anticorps bloquants et anticorps neutres. Les anticorps inhibiteurs sont des anticorps qui inhibent le processus secondaire de MSP1 et inhibent ainsi l'invasion des érythrocytes. Les anticorps neutres n'inhibent ni le processus ni l'invasion. Enfin, les anticorps bloquants n'inhibent pas le processus ou l'invasion mais facilitent l'invasion des érythrocytes en rentrant en compétition avec les anticorps inhibiteurs dans la liaison à l'antigène. Alors que tous les anticorps inhibiteurs se fixent à MSP1<sub>19</sub>, certains anticorps bloquants sont spécifiques d'épitopes formés à partir d'acides aminés qui sont éloignés dans la séquence primaire de la protéine (51). La présence de ces différentes classes d'anticorps dans les sérums d'enfants développant une immunité anti palustre en zone endémique met en exergue l'importance de la compréhension de la fine spécificité de la liaison de ces anticorps (51) (52) (53). Il a été postulé que l'induction d'anticorps bloquants par *P. falciparum* représenterait un mécanisme d'évasion du système immunitaire de l'hôte (54). Les modifications de MSP1<sub>19</sub> visant à améliorer l'antigène malgré le fait que la région C-terminale de MSP1 soit la cible d'une réponse immunitaire protectrice, les résultats d'un essai vaccinal en phase 2b utilisant cet antigène, ont été très décevants ; les sujets vaccinés ayant produit des anticorps sans effet sur la sensibilité à la maladie (55). Il est possible que les anticorps produits chez les sujets vaccinés fussent des anticorps neutres ou bloquants. Il existe différentes approches pour améliorer l'immunogénicité de MSP1<sub>19</sub>. Une de ces approches pour améliorer l'antigène serait d'enlever de la protéine les épitopes d'anticorps bloquants sans affecter les épitopes des anticorps inhibiteurs; en limitant la taille de la protéine ou par mutagenèse dirigée. Les substitutions d'acides aminés affectant l'apprêtement et la présentation de l'antigène sont importantes. Dans un modèle rongeur, il a été montré que la protéine sauvage MSP1<sub>19</sub> est un mauvais substrat pour les protéases dans l'apprêtement de l'antigène dans les lysosomes des cellules dendritiques. En effet, les protéines réduites ou alkylées (ayant perdues leurs ponts disulfures) induisent une réponse immunitaire plus rapide mais non protectrice, en l'absence d'anticorps dirigés contre les épitopes conformationnels de la protéine (56). Une étude similaire menée chez *P. falciparum* a permis de mettre en évidence l'importance des ponts disulfures dans l'existence d'épitopes des cellules T et B de la protéine (57). Une étude plus récente confirme la très grande résistance de MSP1<sub>19</sub> aux

protéases, la protéine est à la fois présente et intacte dans la vacuole alimentaire (lysosomale) tout au long du développement intracellulaire (58).

Une autre approche possible pour améliorer l'antigénicité de MSP1<sub>19</sub> serait l'introduction d'acides aminés qui favorisent le processus sans avoir un effet considérable sur la structure de la protéine ou sur la présence d'épitopes des cellules B et T. En effet, l'insertion d'asparagines supplémentaires reconnues par l'asparagine endoprotéinase des lysosomes des cellules dendritiques (56) pourrait accélérer le processus de MSP1<sub>19</sub>. Un certain nombre de variantes MSP1<sub>19</sub> qui sont sans effets sur les anticorps inhibiteurs mais affectent plutôt les anticorps bloquants ont été décrits (59). Plusieurs de ces variantes MSP1<sub>19</sub> construits ne se lient plus aux anticorps bloquants, tout en continuant à se fixer aux anticorps inhibiteurs et il serait intéressant de voir quel est le résultat d'une immunisation par ces protéines.

### 3.8.3 Protéine Circumsporozoite (CSP)

La protéine circumsporozoite est l'antigène qui prédomine à la surface des sporozoïtes. La protéine est composée d'une région N-terminale qui se lie aux protéoglycanes de sulfate d'héparine (RI), une région centrale contenant une répétition de quatre acides aminés (Asn-Ala-Asn-Pro), et une région C-terminal contenant un domaine thrombospondine (RII) ancrée à une GPI. La région centrale répétée contient l'épitope immunodominant des cellules B. Cette région centrale induit la production d'anticorps qui inhibent l'invasion des hépatocytes par les sporozoïtes *in vitro* (60), (61). Les anticorps dirigés contre la région centrale répétée sont associés à la protection contre l'infection par *P. falciparum* (62), (63) mais ne protègent pas contre la maladie (64), (65). Les anticorps monoclonaux dirigés contre la thrombospondine bloquent également l'invasion des hépatocytes par les sporozoïtes, mais à un degré moindre que les anticorps de la région centrale répétée (61). La CSP induit aussi une réponse immune cellulaire T. En effet, elle comporte trois épitopes de lymphocytes T connus: un épitope des cellules T CD4+ très variable en amont du domaine de la thrombospondine (66), un épitope de cellules T CD8+ très variable à l'intérieur du domaine de la thrombospondine (67) et un épitope "universel" conservé des cellules T CD4+ à l'extrémité C-terminal de la protéine (68).

## 3.9 Physiopathologie et aspect clinique du paludisme

### 3.9.1 Accès palustre non compliqué

**Définition :** L'accès non compliqué se définit par la présence dans le sang le Plasmodium, associé au signe suivant : fièvre, céphalée, vomissement, diarrhée, triade frisson, chaleur,

sueur. Cette description classique est en réalité rarement retrouvée, la symptomatologie étant le plus souvent atypique (69).

### **Physiopathologie :**

La symptomatologie dépend de plusieurs facteurs liés soit au malade (niveau d'immunité) soit surtout au parasite (espèce plasmodiale, intensité de l'infestation, mode d'inoculation, phase de développement parasitaire). Pour toutes les espèces plasmodiales le cycle hépatique est asymptomatique, et les manifestations cliniques s'observent au cours de la phase sanguine.

**La fièvre :** le facteur déclenchant est la libération, au moment de l'éclatement des hématies parasitées, de pigment malarique (hémozoïne) qui se comporte comme une véritable substance pyrogène agissant sur les centres bulbaires de la thermorégulation. Au niveau de chaque hématie parasitée, la quantité d'hémozoïne est évidemment négligeable ; mais lorsque la parasitémie atteint un certain seuil, le nombre d'hématies parasitées qui éclatent en libérant du pigment pyrogène est suffisant pour entraîner les crises fébriles.

**L'anémie :** est en relation avec la destruction des globules rouges parasités et avec l'opsonisation d'hématies normales et la présence d'auto anticorps anti-érythrocytaires. De plus, les globules rouges parasités présentent, à leur surface, des antigènes du mérozoïte induisant l'action des anticorps et l'hémolyse.

**L'hépatomégalie** et surtout **la splénomégalie** sont la conséquence de l'hyperactivité du système monocyte macrophage chargé de débarrasser l'organisme aussi bien du pigment malarique que des débris érythrocytaires.

### **3.9.2 Paludisme viscéral évolutif**

Il survient généralement chez les enfants de 2 à 5 ans non encore prémunis vivant en zones d'endémie soumis à des infections palustres répétées. La symptomatologie est subaiguë ou chronique. Elle associe une anémie, avec pâleur, asthénie et anorexie. La splénomégalie est constante, modérée. On peut noter aussi une fièvre modérée. La recherche d'hématozoaires est positive par intermittence avec parasitémie faible, la sérologie anti-palustre montre un taux élevé des anticorps (IgG). La réponse au traitement est assez rapide.

### **3.9.3 Fièvre bilieuse hémoglobinurique**

Elle est due à une hémolyse intravasculaire aiguë en rapport avec des prises de quinine dans une zone d'endémie à *P. falciparum*, mais aussi la méfloquine et l'halofantrine. Elle se

manifeste par: une fièvre élevée, hémoglobinurie macroscopique (urines couleur porto), un choc, une anémie aiguë, une insuffisance rénale aiguë. Le pronostic est sévère avec 30% de décès.

### 3.9.4 Paludisme grave

Le paludisme grave se définit comme une goutte épaisse positive à *P. falciparum*, associé à un ou plusieurs des signes cités : prostration, trouble de la conscience, détresse respiratoire, convulsions répétées, état de choc, saignement anormal, ictère avec un taux de bilirubine  $> 50 \mu\text{mol/l}$ , hémoglobinurie, anémie profonde ( $\text{ht} \leq 15\%$  ou  $\text{Hb} < 5\text{g/dl}$ ), insuffisance rénale avec excrétion urinaire inférieure à 12 ml/24h, œdème pulmonaire aigu, hypoglycémie ( $< 2,2 \text{ mmol/L}$ ), hypercalcémie avec un taux de lactates plasmatiques  $> 5 \text{ mmol/l}$ , hyperparasitemie ( $\geq 200.000$  trophozoïtes/ $\mu\text{l}$ ), hémoglobinurie macroscopique, acidose métabolique avec un taux de bicarbonates plasmatiques  $< 15 \text{ mmol/L}$ (70).

Seul *P. falciparum* est responsable de paludisme grave et compliqué par sa schizogonie dans les viscères profonds (cerveau). Sa multiplication dans les capillaires des organes (cerveau, rein, foie) entraîne une anoxie tissulaire par anémie hémolytique, des troubles de la microcirculation et des phénomènes cytotoxiques. Il existe à la surface des hématies parasitées des protubérances particulières appelées "knobs" qui provoquerait une adhérence des cellules parasitées à l'endothélium vasculaire et le ralentissement du flux capillaire. La physiopathologie du paludisme grave peut être expliquée par quatre mécanismes :

- une augmentation de la perméabilité de la barrière hémoméningée entraînant une fuite du liquide céphalorachidien et un œdème cérébrale ;
- un phénomène immuno-pathologique avec dépôt de complexe immun ;
- des mécanismes toxiques dans lesquels des cytokines telles que le TNF (tumor necrosis factor) seraient impliqués. Des cytokines telles que le TNF alpha augmentent l'expression des molécules d'adhésion et favorisent la cytoadhérence et l'obstruction de la microcirculation ;
- la cytoadhérence des hématies parasitées et leur séquestration dans les vaisseaux.

## 3.10 Autres formes cliniques particulières

### 3.10.1.1 Paludisme congénital

La réalité de l'infection transplacentaire du nouveau-né est admise, liée au passage de globules rouges parasités du placenta. Le paludisme congénital maladie est rare. Il apparaît

après un délai variable de 5 à 60 jours après l'accouchement et le signe clinique constant est la fièvre (71).

### **3.10.1.2 Paludisme transfusionnel**

Il survient 2 à 3 semaines après une transfusion. Le dépistage des anticorps antipaludiques se fait par la technique d'immunofluorescence indirecte.

## **3.11 Diagnostic**

Il s'agit d'un diagnostic d'urgence chez les groupes à risque. Il consiste à la mise en évidence des formes sanguines du parasite. Le prélèvement sanguin doit être effectué le plus près possible du pic thermique.

### **3.11.1 Méthodes de mise en évidence directe du parasite**

#### **3.11.1.1 Le Frottis mince (FM)**

Le frottis mince est utilisé dans le diagnostic d'urgence du paludisme. Une goutte de sang prélevée au bout de l'annulaire ou de l'index est déposée à l'extrémité d'une lame porte-objet, une deuxième lame qu'on incline d'environ 45° est amenée au contact de cette goutte de sang, puis dans un mouvement régulier et ininterrompu, la lame inclinée entraîne derrière elle ce sang qui s'étale en couche unistratifiée. Après séchage, la préparation est d'abord fixée au méthanol absolu pendant quelques secondes avant d'être colorée au Giemsa. Ce frottis montre des parasites dont le cytoplasme est bleu et le noyau rouge. La lecture est faite au microscope optique à l'immersion à l'objectif 100. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'hématies parasitées. Les avantages de cette technique sont sa rapidité et la mise en évidence de l'espèce plasmodiale en cause. Cependant, le frottis mince ne permet pas de détecter les faibles parasitémiés (moins de 200 parasites par µl de sang).

#### **3.11.1.2 La Goutte épaisse (GE)**

C'est une technique de microconcentration sur lame. Une petite goutte de sang prélevée au bout de l'annulaire ou l'index est déposé au milieu d'une lame porte-objet. Avec le bout d'une seconde lame, la goutte est uniformément étalée sur une surface de 1 à 1,5 cm de diamètre. Elle est colorée après séchage à la température ambiante au Giemsa dilué à 10% pendant 15 à 20 mn et lue au microscope à l'objectif 100. Elle doit être effectuée par un technicien spécialisé. Son principal avantage est le diagnostic de la maladie dans les cas de faibles parasitémiés (10 à 20 parasites par µl de sang) ; Colorée au Giemsa, elle montre les parasites sans le repère de l'hématie. Les résultats sont exprimés en nombre de parasites par µl de sang. Elle permet également de déterminer la charge parasitaire et d'établir des indices

épidémiologiques (l'indice plasmodique et l'indice gamétozyte). Il est à signaler que ces deux techniques (GE et FM) demandent un microscopiste bien expérimenté et une source de lumière sans oublier un temps d'exécution plus long (au moins 90 mn pour le résultat d'une goutte épaisse et 15 à 20 mn pour celui d'un frottis mince).

### **3.11.1.3 Quantitative Buffy Coat (QBC)**

C'est une méthode d'immunofluorescence directe. Le principe consiste à concentrer une petite quantité de sang par centrifugation dans un micro tube à hématocrite. Les globules rouges parasités se trouvent aussi à l'interface des leucocytes des hématies saines. L'acridine orange, agent intercalant spécifique des acides nucléiques, contenu dans les noyaux fait apparaître le parasite avec une fluorescence verte ou jaune-orangée à l'intérieur de l'hématie. Le QBC a une sensibilité supérieure à celle de la goutte épaisse. Elle est intéressante dans les formes pauci-parasitaires, dans la surveillance de l'évolution de l'infection. Son principal inconvénient est la difficulté d'établir un diagnostic d'espèce. En outre la nécessité d'avoir un microscope à fluorescence peut limiter les petites structures dans l'acquisition de cet appareil.

### **3.11.2 Méthodes de mise en évidence indirecte des constituants parasitaires.**

#### **3.11.2.1 Tests de diagnostic rapides : (Parasight F et l'OptiMAL-IT)**

Des bandelettes de nitrocellulose sont utilisées pour réaliser la détection de protéines (*PfHPR2*) pour le test de Parasight F ou d'enzymes parasitaires (pLDH) pour le test d'OptiMAL-IT. Ces tests ne nécessitent qu'un minimum de matériel et une formation minimale. Leur interprétation est simple.

#### **★ Parasight F**

Il consiste en la recherche dans le sang total de l'antigène protéique de type II riche en histidine (HPR2) de *Plasmodium falciparum*. La protéine *PfHPR2* (*P. falciparum* Histidine rich protein 2) est relativement spécifique de ce parasite. L'utilisation de bandelettes sur lesquelles ont été fixées des anticorps anti-pfHPR2 donne une idée assez exacte de la présence ou non de parasite dans l'échantillon. Ce test a l'avantage d'être manuel et rapide pour le diagnostic du paludisme à *P. falciparum*. Le kit est transportable partout, manipulable par un non spécialiste. Cependant, il n'apporte pas de données quantitatives. D'autre part, ce test reste positif de nombreux jours après la disparition des parasites.

#### **★ L'OptiMAL-IT**

C'est un test dont le principe est basé sur la détection d'une enzyme métabolique intracellulaire abondante produite par les plasmodies dans le sang. Cette enzyme, le lactate déshydrogénase plasmodiale (pLDH) est produite par les formes asexuées (trophozoïtes) et sexuées (gamétocytes) du parasite et elle est rapidement détectée par une série d'anticorps monoclonaux dirigés contre des isoformes de l'enzyme permettant de faire une différenciation entre les espèces plasmodiales. Il n'y a aucune réaction croisée avec la LDH humaine. Des bandelettes de nitrocellulose sont utilisées pour réaliser la détection de la pLDH. Ce test est plus performant que le précédent et mieux adapté au diagnostic de l'infection aiguë. Malgré le confort et les qualités de ces tests, ils ne peuvent remplacer à 100% l'observation microscopique d'un frottis sanguin et d'une goutte épaisse.

#### ★ SD bioline

Le test SD BIOLINE Malaria Ag P.f (HRP2/pLDH) est un test qualitatif rapide permettant la détection de l'antigène HPRII (protéine riche en histidine II) et de la lactico-déshydrogénase du Plasmodium (pLDH) de Plasmodium falciparum dans le sang total humain. Détection de l'antigène HRP2 et de la pLDH spécifiques à Plasmodium falciparum

Le test SD bioline Malaria Antigen *P. falciparum* contient une bandelette enduite d'un anticorps monoclonal de sous spécifique à la protéine 2 riche en histidine (HRP-2). Les lettres T et C pour ligne de test et ligne de contrôle (témoin) sont sur la surface de la plaque du test. La ligne de test ainsi que la ligne de contrôle ne sont pas visibles dans la fenêtre des résultats avant l'application des échantillons. La ligne de contrôle apparaît si le test est réalisé correctement et si ses réactifs fonctionnent. Ce kit est destiné à usage professionnel et seulement par un dépistage initial. Pour les échantillons positifs, il est recommandé de pratiquer une analyse supplémentaire telle que l'examen au microscope.

#### 3.11.2.2 La Polymérase Chain Réaction (PCR)

Elle consiste à synthétiser *in vitro* en plusieurs copies un fragment de gène codant pour une protéine du Plasmodium en utilisant deux amorces spécifiques. Cette technique est très spécifique et très sensible. Elle peut en plus du diagnostic permettre d'identifier les parasites résistants à certains médicaments par la recherche de mutations spécifiques. Les inconvénients de cette technique sont: sa lourdeur, son coût et le fait qu'elle nécessite un personnel qualifié et un équipement approprié.

### 3.11.2.3 Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA)

La méthode immuno-enzymatique ELISA (littéralement « dosage d'immuno-absorption par enzyme liée », c'est-à-dire dosage immuno-enzymatique sur support solide) est un examen de laboratoire. Cette méthode est principalement utilisée en immunologie pour détecter la présence d'un anticorps ou d'un antigène dans un échantillon. Ce test entre dans le cadre plus général des dosages immuno-enzymatiques, dans lequel le dosage est couplé à une réaction catalysée par une enzyme qui libère un composant coloré suivi par une spectroscopie.

L'ELISA est une technique biochimique utilisant un ou deux anticorps. L'un de ceux-ci est spécifique de l'antigène, tandis que l'autre réagit aux complexes immuns (antigène-anticorps) et est couplé à une enzyme. Cet anticorps secondaire, responsable du nom de la technique, peut aussi causer l'émission d'un signal par un substrat chromogène ou fluorescence.

L'ELISA pouvant être utilisé tant pour évaluer la présence d'un antigène que celle d'un anticorps dans un échantillon, c'est un outil efficace à la fois pour déterminer des concentrations sériques d'anticorps (comme pour le test du VIH ou le virus du Nil), que pour détecter la présence d'un antigène. Il a également trouvé des applications dans l'industrie alimentaire, pour détecter des allergènes alimentaires, comme le lait, les cacahuètes, les noix et les œufs. C'est un test simple, facile d'emploi et peu coûteux. Il est limité par la disponibilité en anticorps spécifique

## 4 Traitement

### 4.1 Définition des antipaludiques

Les antipaludiques ou antipaludéens ou anti malariques sont des produits naturels ou de synthèse qui, administrés par voie orale ou parentérale ou encore rectale, à dose unique ou à doses répétées permettent de détruire le parasite ou de bloquer sa croissance dans le but de prévenir ou de guérir le paludisme. Le traitement du paludisme implique des mesures complémentaires aussi bien que des médicaments spécifiques antipaludiques. Il repose sur l'utilisation de molécules antipaludiques qu'on peut classer selon leurs propriétés pharmacologiques, leurs propriétés chimiques, leur origine. Ces molécules sont utilisées en fonction du stade de la maladie, de la sensibilité du parasite à celles-ci et des différents stades devant lesquels se trouve le soignant. Il n'existe actuellement qu'un nombre limité d'antipaludiques. Compte tenu de la progression de la résistance aux antipaludiques dans de nombreuses régions endémiques, il devient de plus en plus difficile de traiter efficacement le paludisme. La résistance médicamenteuse, selon l'OMS, est la capacité qu'un parasite a pour

se multiplier ou pour survivre en présence d'une concentration de substance qui, normalement, détruit les parasites de la même espèce ou empêche leur multiplication. Cette résistance peut être partielle (amenant à augmenter les doses de médicament tolérées par l'hôte) ou complète (dépassant les doses maximales tolérées par l'hôte). Plusieurs classes de produits ont successivement vu le jour, avec chacune leurs avantages et leurs inconvénients. Dans leur grande majorité, ces produits sont uniquement actifs sur les formes sanguines (intra-érythrocytaires asexuées) du parasite et n'ont d'activité ni sur les stades initiaux intra-hépatiques, ni sur les gamétocytes sanguins (exceptés la primaquine et les autres amino-8-quinoléines).

La prise en charge efficace des cas de paludisme est un élément fondamental de la lutte antipaludique en Afrique subsaharienne où, la plupart des infections paludéennes sont dues à *P. falciparum* et donc sont potentiellement mortelles(11) . Le choix du traitement est basé sur la fréquence des cas de résistances dans la zone considérée et sur l'importance d'éventuels effets indésirables provoqués par certains antipaludiques. On distingue les schizonticides, actifs sur les stades asexués intra-érythrocytaires et les gamétocytocides, actifs aussi bien sur les gamétocytes sanguins que sur les stades intrahépatiques (hypnozoïtes).

## 4.2 Principaux médicaments antipaludiques en usage en Afrique au sud du Sahara

Tableau 1 : Classification des antipaludiques

Origines	Dérivés	Molécules	Action	Sites d'action
Antipaludiques Naturels	Alcaloïdes	Quinine, quinidine, cinchonine	Schizonticides	Vacuole digestive
	Quinghaosu	Artémisinine, Artéméther, Artésunate Dihydroartemisinsine	Schizonticides	Vacuole digestive
Antipaludiques de synthèse	Amino-4 Quinoléines	Chloroquine, Amodiaquine	Schizonticides	Vacuole digestive
	Aryl-AminoAlcools	Méfloquine, Halofantrine	Schizonticides	Vacuole digestive
	Antifoliques et Antifoliniques	Sulfadoxine, Pyriméthamine	Schizonticides	Cytoplasme
	Naphtoquinones	Atovaquone	Schizonticides	Mitochondrie
	Antibiotiques	Cyclines, Macrolides	Schizonticides	Ribosome
	<u>Amino-8-quinoléines</u>	<u>Primaquine</u> , Tafénoquine, Quinocide, Bulaquine, Pamaquine, Plasmocide	<u>Gamétocytocides</u>	<u>Mitochondrie</u>

### 4.2.1 Amino-alcools (quinine, mefloquine, halofantrine)

Alcaloïde naturel du quinquina, la quinine est la plus ancienne et la plus utilisée de ces amino-alcools. Ses propriétés pharmacologiques et en particulier la possibilité de l'administrer par voie intraveineuse ou intrarectale en font le médicament de choix lors du traitement du paludisme grave, d'autant plus qu'il existe peu de résistances à ce produit (celles-ci sont surtout présentes en Asie). Aux doses thérapeutiques (25 mg/kg/j de quinine base en 3 prises pendant 5 à 7 jours), les effets secondaires sont limités (troubles auditifs avec bourdonnements d'oreilles, vertiges, etc.) mais les surdosages entraînent rapidement des

troubles cardiaques graves (72) . L'ototoxicité est un effet adverse très connu de la quinine. L'hypoglycémie est un effet adverse significatif affectant plus de 10% de patients traités pour paludisme sévère avec la quinine, induite par une hypersécrétion d'insuline. Ce phénomène est exagéré en cas de grossesse. La plus sérieuse toxicité de l'halofantrine est cardiaque (72). L'utilisation de la méfloquine et de l'halofantrine, qui avait suscité, au moment de la mise sur le marché de celles-ci, de grands espoirs pour le traitement des accès simples à *P. falciparum* chimiorésistant, a dû être nuancée du fait de leur coût et du recensement progressif d'effets secondaires. L'halofantrine garde l'intérêt d'une assez bonne tolérance et de sa durée de traitement complet qui, en 12 heures (trois prises de 8mg/kg espacées de 6 heures, sans dépasser 2 comprimés à chaque prise), permet une bonne observance bien meilleure que les traitements sur plusieurs jours. La luméfantrine, apparentée à l'halofantrine, est exclusivement utilisée en association à l'artéméther (Co-Artéméther, Riamet® dans les pays développés et CoArtem® dans les pays en voie de développement) dans le traitement du paludisme non compliqué.

#### **4.2.2 Les Antifolates**

Ces produits agissent sur la synthèse des acides nucléiques des plasmodies. Même s'ils sont parfois utilisés seuls, leur efficacité modérée (voire nulle sur *P. vivax* pour les sulfamides), associée à des effets secondaires parfois graves (agranulocytose, anémie, leucopénie, épidermolyse...) et à la sélection rapide de souches résistantes font qu'ils doivent être utilisés en association.

Ils sont repartis en deux familles, les antifoliques et les antifoliniques.

##### **4.2.2.1 Les Antifoliques**

Les antifoliques (sulfadoxine, dapsonne) sont des inhibiteurs compétitifs de l'activité dihydroptéroate synthétase (DHPS) de la protéine bifonctionnelle hydroxyméthylptérine pyrophosphokinase-DHPS qui catalyse la synthèse de l'acide folique

##### **4.2.2.2 Antifoliniques**

Les antifoliniques (pyriméthamine, proguanil,..) ciblent l'activité dihydrofolate réductase (DHFR) de la protéine bifonctionnelle DHFR-thymidylate synthétase. La DHFR a pour rôle de régénérer l'acide folique sous forme réduite, seule forme à céder un groupe méthyle lors de la synthèse de la base purique thymidine. C'est à ce titre que les inhibiteurs de la DHFR possèdent des activités antipaludiques. La DHFR existe chez l'homme mais l'affinité des

antifoliques pour celle-ci est moindre en comparaison de celle pour la DHFR parasitaire. Des mutations apparues dans cette dernière sont responsables de phénomènes de résistance.

#### 4.2.3 Les dérivés de l'artémisinine

Utilisés en médecine traditionnelle en Chine depuis plusieurs centaines d'années, ces extraits de la plante *Artemisia annua* n'ont rejoint l'arsenal des médicaments antipaludiques commercialisés que récemment. Ces produits incluant l'artésunate, l'artémisinine, la dihydroartémisinine, l'artéméther et l'artéether ont fait l'objet d'études scientifiques assez complètes ayant permis d'identifier une nouvelle classe d'antiparasitaires de type peroxyde, qui n'a pas encore suscité de résistance. Plus rapides qu'aucun autre antipaludique sur la disparition des parasites du sang et ne possédant que peu d'effets secondaires, ils sont d'une grande utilité dans le traitement des formes graves où l'artéméther fait jeu égal avec la quinine, surtout dans les zones de multi résistances de *P. falciparum*. Mais leur élimination très rapide (demi-vie de quelques heures) impose des traitements longs ou des associations, sous peine d'observer un taux de rechutes important. Les données chez l'homme montrent que l'utilisation courte des dérivés de l'artémisinine seuls ou en combinaison est associée à une neurotoxicité. Des déficits neurologiques mineurs chez un nombre limité de patients traités après infection palustre ont été décrits (72). Ces dérivés semblent être également bien tolérés lors de leur utilisation pendant la grossesse. Ils constituent le traitement de choix du paludisme grave chez la femme enceinte à cause de leur efficacité, de leur meilleure tolérance et aussi de leur facilité d'administration par rapport à la quinine (72). Les seules contre-indications des dérivés de l'artémisinine concernent l'allergie et le premier trimestre de grossesse. Actuellement, l'OMS recommande d'utiliser ces dérivés de l'artémisinine en association à un autre médicament antipaludique afin de limiter ou décaler la survenue de souches résistantes à ces dérivés. Ces dérivés de l'artéméther trouvent surtout leurs intérêts dans le traitement du paludisme sévère, notamment dans les cas associés à une anémie sévère (72). Ils constituent également le traitement de choix de l'accès palustre simple en association et grâce à leur action sur les gamétocytes (72).

#### 4.2.4 Amino-8-quinoléines

Cette classe de produits est la seule réellement active sur les formes hépatiques (schizontes et hypnozoïtes) et les formes sexuées du parasite (gamétocytes). Malheureusement la seule molécule actuellement disponible (qui est la primaquine) n'est pas encore disponible pour une utilisation à large échelle, surtout en Afrique où elle provoque des hémolyses chez les sujets déficitaires en glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PD).

La primaquine est active contre le paludisme sur les formes tissulaires hépatiques (schizontes primaires pendant l'incubation ou hypnozoïtes), sur les formes sexuées circulantes (gamétocytes), et pour *P. vivax* et *P. ovale* sur les formes asexuées circulantes (schizontes, trophozoïtes) et son usage constitue donc un traitement de choix pour éviter les relapses. L'absorption orale de la primaquine est très bonne, mais sa demi-vie est très courte, par conséquent, cette molécule doit être administrée quotidiennement.

#### **4.2.5 Les Amino-4-quinoléines (amodiaquine, chloroquine)**

Ce sont des molécules de synthèse les plus largement distribuées. Cette classe est représentée par l'amodiaquine et la chloroquine. La large diffusion de la résistance de *P. falciparum* à la chloroquine est devenue un facteur limitant son emploi. La chloroquine a une marge thérapeutique très faible et ses effets toxiques sont très liés à la dose ingérée. Le diazépam est un antidote spécifique de la chloroquine. La chloroquine a peu de contre-indications qui sont surtout limitées aux patients allergiques ou ayant eu une dose exagérée à la chloroquine lors d'une utilisation antérieure. L'amodiaquine a été délaissée à cause de sa grande toxicité quand elle est utilisée en monothérapie en prophylaxie. Cependant il est utilisé en combinaison avec l'artesunate (AS +AQ) en traitement de paludisme non compliqué à *P. falciparum* et avec la sulfadoxine-pyriméthamine (SP + AQ) en traitement curatif.

#### **4.2.6 Antibiotiques (cyclines, macrolides).**

Juste après leur découverte dans les années 1940, les antibiotiques ont été évalués pour leur activité antipaludique. En dehors de leur utilisation comme antipaludiques, les antibiotiques sont co-administrés dans beaucoup de régions pour traiter la co-infection bactérienne, en prenant en compte que les infections bactériennes sont les complications majeures du paludisme(73) (74). Les antibiotiques (tétracycline et doxycycline, érythromycine) ont des propriétés antipaludiques.

#### **4.2.7 Vaccination anti-palustre**

La mise au point d'un vaccin antipalustre devient de plus en plus réelle. Plusieurs équipes de chercheurs, mènent actuellement des travaux orientés sur l'identification, la synthèse et l'emploi d'antigènes vaccinant issus de l'un des stades de développement parasitaire, permettant ainsi le blocage du cycle.

##### **4.2.7.1 Vaccins contre les stades pré érythrocytaires**

Les vaccins du stade hépatique sont conçus pour prévenir l'infection de l'homme par la forme métacyclique infectante du Plasmodium : les sporozoïtes. Ce type de vaccin doit être efficace

à 100% pour assurer la protection contre l'accès palustre car du fait de la forte répllication des sporozoïtes, il est possible que certains échappent à l'immunité et pénètrent dans les hépatocytes. Cela peut conduire à une invasion des érythrocytes.

Ces vaccins sont ceux constitués de sporozoïtes entières tués et ceux constitués d'une partie antigénique de la protéine circumsporozoïte (75). Le RTS,S est le plus avancé des vaccins du stade hépatique et déjà en phase d'implémentation dans certains pays. Il est constitué de la protéine circumsporozoïte de *P. falciparum* (RTS) fusionnée avec l'antigène de surface du virus de l'hépatite B (S). RTS,S est un polypeptide constitué de 188 acides aminés, allant d'aa 207-395 du gène CS de la souche 3D7 de *P. falciparum*. S est un polypeptide de 226 acides aminés. Les résultats d'essai de phase II en Afrique indiquaient que ce candidat vaccin conférait une protection de 30-50% et présentait une bonne tolérance (62).

La protection obtenue est cependant de courte durée. Le RTS, S peut réduire les manifestations cliniques du paludisme par une réduction temporaire du nombre de mérozoïtes issus du foie. Plusieurs formulations de la CS ont été évaluées sans succès notamment celles utilisant les vecteurs viraux (76).

Analyse de la réponse anticorps naturelle contre trois antigènes de *P. falciparum* chez les enfants de 1 à 5 ans vivant à Bandiagara ; Mali.

La protéine transversale de l'ookinète et du sporozoïte (CelTos) a été récemment identifiée comme essentielle au parasite aussi bien chez le mammifère que chez le vecteur. Le CelTos est un candidat vaccin potentiel du stade pré-érythrocytaire dans le model murin. Il a expérimentalement induit une protection complètement stérilisante contre les sporozoïtes. D'autres antigènes comme la TRAP (Thrombospondin Related Adhesion Protein) et le LSA (Liver Stage Antigen) sont en cours d'évaluation chez l'homme. Parmi tous les candidats vaccins pré érythrocytaires, le vaccin constitué de parasites génétiquement atténués, bloquant le cycle au stade hépatique tardif semble le meilleur choix (77).

#### **4.2.7.2 Vaccins contre les stades asexués érythrocytaires**

Ce sont des vaccins conçus pour éviter l'invasion des érythrocytes par les mérozoïtes ou inhiber leur développement intra érythrocytaire et prévenir l'apparition des signes cliniques (78), La schizogonie érythrocytaire étant responsable des manifestations cliniques, les vaccins contre ces stades érythrocytaires pourraient réduire la pathogénicité, la morbidité et la mortalité du paludisme donc permettrait d'éviter les complications telles que : le paludisme cérébral, l'anémie palustre, la défaillance rénale et d'autres formes graves du paludisme chez

la femme enceinte. De nos jours certains vaccins du stade sanguin ont fait l'objet plusieurs essais cliniques.

Ce sont le "Apical Membran Antigen 1" (AMA-1), le "Erythrocyte Binding Antigen-175" (EBA-175), "Glutamate Rich Protein" (GLURP), le "Mérozoïte Surface Antigen-1" (MSP-1), MSP-2, MSP-3 et le "Serine Repeat Antigen-5" (SERA-5).

Ils sont hautement exprimés à la surface des mérozoïtes. Compte tenu de leur polymorphisme AMA-1 et MSP-1 n'ont pas fait preuve d'efficacité en Afrique. Pour accroître l'efficacité de ces vaccins, des stratégies comme l'utilisation de nouvel adjuvant, de vecteur viral ou la combinaison d'AMA-1 et de MSP-1 sont en cours d'investigation. En théorie il est possible de développer un vaccin qui pourrait protéger les enfants contre les accès palustres. La diversité génétique du parasite, la pression sélective de l'immunité de l'hôte sont des facteurs à prendre en compte pour le développement effectif de vaccins contre le stade sanguins (78).

#### **4.2.7.3 Vaccins contre les stades sexués**

Ces vaccins ont pour cible les gamètes, le zygote et l'ookinète pour prévenir le développement du parasite dans le tube digestif du moustique. Le but de ce genre de vaccin est de produire des anticorps contre les formes sexuée afin d'empêcher leur évolution en sporozoïtes dans la glandes salivaires du moustique (79). Ces vaccins ne préviennent pas l'infection par le Plasmodium, mais permettent de diminuer la charge de la maladie. Ils visent à protéger toute une communauté entière.

Le pionnier des candidats vaccins de ce genre contient des antigènes de surface des ookinètes : Pfs25 et Pfs28 ou Pvs25 et Pvs28 de *P. vivax*.

Les candidats vaccins les plus étudiés de ce stade ont été principalement le Pfs28 et le Pfs25 (77), les anticorps dirigés contre le Pfs28 entraînent un blocage de la transmission de *Plasmodium falciparum* et présentent une action synergique lorsqu'ils sont combinés aux anticorps dirigés contre le Pfs25. Ces deux antigènes sont très immunogènes et ont une diversité antigénique limitée (11).

Cette approche consiste à réduire la morbidité en supprimant l'immunopathologie chez l'hôte. Ces vaccins agissent sur la neutralisation des substances pathogènes du parasite sans affecter le parasite lui-même. Ce type de vaccin serait un outil important pour l'élimination du paludisme (78).

## 5 Méthodologie

### 5.1 Site d'étude

L'étude s'est déroulée dans la commune de Ouelessebougu, district sanitaire de Ouelessebougu. Le district sanitaire couvre au total 16 aires de santé avec une population totale estimée à 260 351 habitants en 2016. Notre étude a concerné dix-sept (17) villages.

#### 5.1.1 Situation

Ouelessebougu est situé dans le cercle de Kati, région de Koulikoro au Mali. C'est un chef-lieu de sous-préfecture et de la commune du même nom situé à 80 km au sud de Bamako sur la route Bamako-Sikasso, il a été créé au 18ème siècle (vers 1700) par un cultivateur du nom de Wéressé. A l'origine c'était un simple hameau de culture en bordure du marigot qui le traverse d'Ouest en Est. Avec les déformations linguistiques ce nom est devenu Wélessé d'où l'appellation : Ouélessébougou « la case de Wélessé ». La commune rurale de Ouelessebougu compte 44 villages. Elle est limitée au Nord par la commune de Dialakoroba, au Sud par la commune de Kéléya, à l'Est par la commune de Sanankoro Djitoumou et à l'Ouest par la commune de Faraba.

Son relief est dominé par de petites élévations de faible altitude ne dépassant pas 100 m et des plateaux latéritiques.

#### 5.1.2 Population

La commune rurale de Ouelessebougu compte 50335 habitants (enquête RGPH, 2009) à dominance jeune. Le taux de natalité est élevé et le taux de mortalité l'est moins grâce à l'action dynamique des services de santé. Un Centre de Santé de Référence et quatre CSCOMs. La population est composée de : Bamanans et Manikas en majorité. Il y a aussi des Dogons, des Mossis, des Peulhs. Ces différentes ethnies vivent en parfaite harmonie avec les Bamanans autochtones qu'ils appellent « Diatiguis ». Les principales religions pratiquées sont l'Islam, le Christianisme et l'Animisme avec un taux de 90% de musulmans, 2% de protestants, 7% de catholiques et 1% d'animistes.

#### 5.1.3 Activités socio-économiques et culturelles

L'agriculture, l'artisanat, le commerce et l'élevage constituent les principales activités économiques.

#### 5.1.4 Climat et hydrographie

Le climat est de type soudanais avec deux saisons déterminant son climat : la saison sèche novembre à juin; la saison pluvieuse qui s'étend de juin à octobre avec des précipitations

atteignant 1.000 mm en moyenne. Les parties Ouest et Sud de cette commune sont irriguées par le fleuve Niger et son affluent le Sankarani. Il existe également de nombreux marigots généralement secs en saison sèche.

### 5.1.5 Infrastructures et équipements

Sur le plan administratif on peut citer entre autres : la sous-préfecture, la Mairie, la Gendarmerie Nationale, la Douane, la Poste, l'Energie du Mali (EDM), la Banque Nationale de Développement Agricole du Mali (BNDA), la Banque of Africa (BOA), l'Office de la Haute Vallée du Niger (OHVN), les sociétés de télécommunication : SOTELMA-Malitel, Orange-Mali et le Tribunal de Justice de Paix à Compétence Etendue.

La commune compte aujourd'hui 32 écoles publiques dont 16 premiers cycles, six seconds cycles, un lycée public et 3 lycées privés, 16 écoles communautaires, quatre écoles fondamentales privées, trois medersas et une école de sante privée.

Sur le plan sanitaire, le district sanitaire de la commune rurale de Ouélessébougou compte 16 aires de santé. La ville de Ouélessébougou comporte un Centre de Santé de Référence (CSRéf), un Centre de Santé Communautaire (CSCCom), trois cliniques privées, deux officines de Pharmacie.

Certaines activités de l'étude se sont déroulées au Centre de Santé Communautaire (CSCCom) central de Ouélessébougou principalement au centre de recherche du MRTC qui mène depuis 2008 des études sur le paludisme et d'autres maladies infectieuses. Situé dans la zone administrative de la ville, le CSCCom est composé d'un bloc comprenant : un bureau de consultations externes, une salle de dépôt de vente des médicaments, une salle de soins, une salle d'observation, deux salles de garde, une salle d'accouchement et deux salles de CPN ; deux blocs réservés aux activités du centre de recherche MRTC, un bloc de quatre WC et une toilette, une buanderie, un incinérateur. Le CSCCom est dirigé par un médecin qui travaille en étroite collaboration avec une sage-femme, une infirmière obstétricienne, trois matrones, une technicienne de santé, un aide-soignant vaccinateur, un gérant du dépôt de vente des médicaments essentiels, un manœuvre et un gardien.

Le Centre de Recherche en Santé de Ouelessebougou du MRTC a été initié en 2008 en collaboration avec l'Ecole d'Hygiène et de Santé Publique de Londres (London School of Hygiene and Tropical Medicine) et la Fondation de Bill et Melinda Gate. Le centre conduit la recherche sur différents aspects du paludisme y compris l'épidémiologie, l'immunologie ainsi que les essais cliniques de médicaments, de vaccins et des stratégies de lutte contre le

paludisme et les maladies infectieuses en collaboration avec diverses institutions comme GSK, LSHTM, NIAID/NIH, l'Université de Californie à San Francisco aux USA, Médecins Sans Frontières en France.

L'équipe est composée de médecins, de pharmaciens, de biologistes, des sages-femmes des infirmiers, des gestionnaires de données, des étudiants et stagiaires ainsi que du personnel de soutien (chauffeurs, manœuvres, gardiens, etc..). L'équipe travaille en étroite collaboration avec le centre de santé communautaire et le centre de santé du district de Ouelessebougu.

La transmission du paludisme à Ouelessebougu est endémique et saisonnière. Le paludisme constitue la première cause de consultations. Le taux d'incidence des accès palustres était de deux épisodes par enfant et par an, la prévalence du paludisme à *P. falciparum* était de 50% chez les enfants âgés de moins de 5 ans au cours de la saison de transmission 2014 (11).

République du Mali  
Région de Koulikoro  
Cercle de Kati

**Commune de Ouelessebougou**  
**Carte de base**

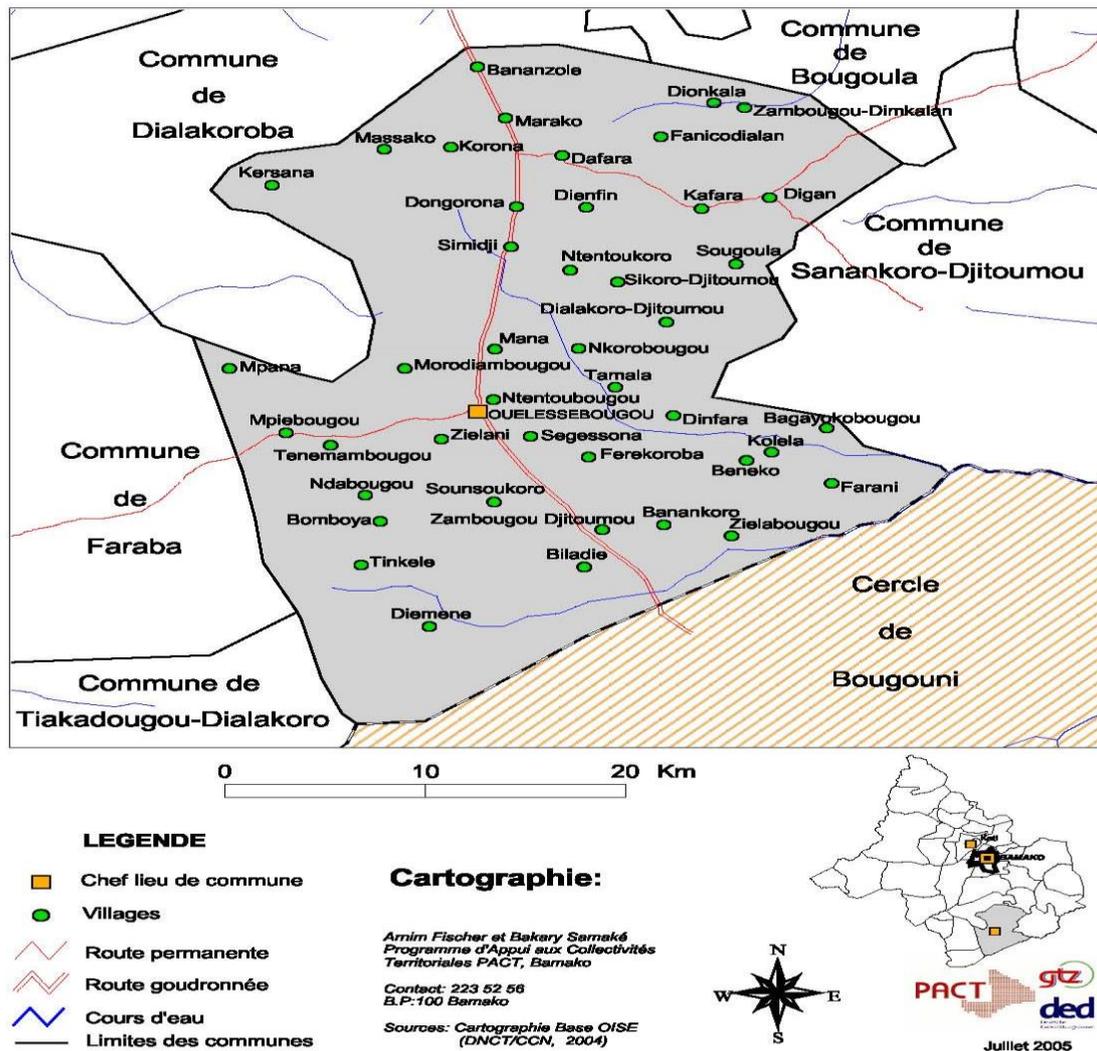


Figure 6: Carte de la commune de Ouelessebougou.

Source: Cartographie Base OISE (DNCT/CCN, 2004)

## 5.2 Type d'étude

Il s'agissait d'une étude transversale qui s'est tenue en décembre 2017 après l'administration des médicaments de la CPS.

### 5.3 Population d'étude

Notre population d'étude est constituée par les enfants des moins de 5 ans.

### 5.4 Rappel sur l'étude de la chimioprévention du paludisme saisonnier (CPS)

Nous avons entrepris en 2014 dans le district sanitaire de Ouelessebougu, une étude intitulée : «Optimisation de la mise en œuvre de la Chimio prévention du Paludisme Saisonnier (CPS) et ses effets sur l'acquisition de l'immunité anti palustre ». L'objectif était d'identifier la méthode la plus efficace pour la mise en œuvre de la CPS et d'obtenir plus d'informations sur l'impact de la CPS à long terme sur l'immunité contre le paludisme. Les populations cibles sont les enfants âgés de 3-59 mois.

- Un recensement de la population cible (les enfants âgés de 3-59 mois) était réalisé dans tous les villages sélectionnés avant l'intervention.
- En 2014, sur les 14 aires de santé que comptaient le district sanitaire, 4 ont été sélectionnées par tirage au hasard pour recevoir la CPS ;
- En 2015, 2 nouvelles aires ont été tirées aussi au hasard pour recevoir la CPS
- A partir de 2016 avec l'appui du gouvernement malien la CPS a été implémentée dans l'ensemble des aires de santé du district sanitaire ;
- En fin d'année 2017 (décembre) un mois après le dernier passage de la CPS, une enquête transversale a été conduite chez les enfants pour recueillir des échantillons de sang afin de déterminer les réponses cellulaire et humorale contre les antigènes du paludisme, la prévalence parasitaire et la densité sur les frottis sanguins ainsi que la fréquence des marqueurs moléculaires de la résistance à la SP et AQ au début de la saison de transmission.

### 5.5 Critères d'inclusion et de non inclusion

#### 5.5.1 Critères d'inclusion dans l'étude la CPS en 2014

Les critères d'inclusion étaient basés sur la définition stricte des cas à savoir :

- Sujets âgés de 3-59 mois en août 2014.
- Sujet résidents dans la zone de l'étude (district sanitaire de Ouelessebougu).
- Obtention d'un consentement éclairé des parents

#### 5.5.2 Critères de non inclusion dans l'étude la CPS en 2014

N'ont pas été inclus dans cette étude tous les volontaires qui avaient les critères suivants :

- Les enfants de moins de trois mois à la date du début de l'administration des médicaments.
- Maladie chronique grave,
- Une allergie connue à l'un des médicaments de l'étude,
- Les sujets avec une sérologie VIH positive connus et sous prophylaxie au cotrimoxazole.

## **5.6 Critères de sélection pour l'enquête transversale de 2017**

La sélection des enfants a été faite de façon aléatoire en fonction de l'âge et de la zone de résidence de façon à obtenir de nombres comparables d'enfants dans les deux groupes (deux ans de CPS ou quatre ans de CPS).

## **5.7 Organisation générale du travail**

Les parents des enfants sélectionnés ont été invités au centre de santé ou à des points de rencontre préalablement identifiés (résidence des relais ou du chef village ou de quartier). Le consentement éclairé individuel était obtenu avant tout enrôlement dans l'étude. Si le tuteur ne pouvait pas lire et comprendre le français, le consentement éclairé était traduit oralement dans la langue locale en présence d'un témoin qui pouvait lire et comprendre le français. Les tuteurs qui ne pouvaient pas lire apposent leur empreinte digitale à la place de la signature; en plus un témoin indépendant signe le formulaire de consentement pour attester que le contenu du document de consentement éclairé a été communiqué et compris.

Le travail était organisé au tour de différents postes.

### **5.7.1 Poste d'identification et clinique**

Il était composé essentiellement d'un relai, un clinicien et une infirmière ou étudiante en médecine. Le relai et le clinicien étaient chargés d'identifier les sujets. Chaque enfant était identifié par son numéro d'identification composé du numéro: du village ou du quartier, de la famille, et de l'enfant sur les listes de recensement. Une fois identifié le médecin et l'infirmière procédaient à l'examen clinique, qui consistait à faire un examen clinique des participants avec la prise de la température axillaire, du poids corporel, de la taille, et du périmètre brachial ainsi que la prescription médicamenteuse s'il y a lieu.

Du poste clinique, les sujets passaient au poste de prélèvement.

### **5.7.2 Poste de prélèvement**

Un biologiste était chargé de faire les prélèvements de sang capillaire, la confection de la goutte épaisse/frottis mince et de confettis, la réalisation du test de diagnostic rapide (TDR) au besoin.

### **5.7.3 Transfert et réception des échantillons au laboratoire**

Le biologiste était chargé de réceptionner tous les échantillons envoyés des différents villages avec leurs cahiers d'observation en vérifiant la qualité des échantillons ainsi que la conformité des données sur les lames et les cahiers d'observation. Les échantillons étaient ensuite enregistrés sur une fiche de réception comportant les informations suivantes (le numéro d'identification, date de prélèvement, date de réception et les initiales du receveur) avant toutes procédures d'analyse.

### **5.7.4 Poste de traitement des échantillons**

Chaque soir les biologistes étaient chargés de colorer, classer et contrôler les lames et les préparer pour l'envoi.

Après la réception, la lecture des lames était faite au laboratoire par un microscopiste certifié sur place à Ouelessebougu. Les résultats étaient portés sur des fiches de paillasse avant d'être transcrits sur les cahiers d'observation puis envoyés aux agents de saisie pour enregistrement dans la base. Le dosage des anticorps antipalustres était fait au niveau du laboratoire de recherche à Bamako à partir des confettis par ELISA. Après l'application des échantillons sur les plaques et les différents rinçages la lecture était faite au SOFT MAX LECTEUR ELISA à la longueur d'onde 450 nm.

## **5.8 Taille de l'échantillon**

En assumant un taux de séropositivité des anticorps de 90% chez les enfants qui ont reçu 2 ans de CPS pour détecter une différence de proportion de niveau d'anticorps de 10 %, nous avons besoin de 216 enfants par groupe soit 432 au total avec une puissance de 80% et un risque  $\alpha$  de 5%.

## **5.9 Techniques de mesure des variables**

### **5.9.1 Variables démographiques**

Les principales variables démographiques sont le sexe et l'âge. Elles ont été déterminées à la sélection sur la base des données du recensement et confirmées par l'interrogatoire l'examen clinique.

## **5.9.2 Variables cliniques**

### **5.9.2.1 La température**

Elle était prise à l'aide d'un thermomètre électronique placé dans le creux axillaire. L'audition d'un signal sonore émis par le thermomètre indique la fin de la prise de température. La fièvre a été définie par une température axillaire supérieure ou égale à 37,5°C.

### **5.9.2.2 Le poids**

Il était mesuré à l'aide d'un pèse-personne convenablement étalonné et exprimé en kilogramme de poids (kg).

## **5.9.3 Variables biologiques**

### **5.9.3.1 La parasitémie**

Les techniques de la goutte épaisse et du frottis mince ont été utilisées pour la détermination de la charge parasitaire, le stade de développement du parasite et l'espèce plasmodiale.

### **5.9.3.2 Préparation de la goutte épaisse et du frottis mince**

Étiquetage de la goutte épaisse et du frottis

Chaque lame est étiquetée de façon correcte et lisible avant la collecte de sang sur elle.

L'étiquetage est fait sur la partie rugueuse de la lame.

Les lames ont porté les informations suivantes:

- Le numéro d'identification de l'enfant
- La date de visite et
- Les initiales du préleveur.

Prélèvement de sang capillaire pour la goutte épaisse/frottis

Choisir le 3ème ou le 4ème doigt de la main gauche. Éviter les doigts enflés ou tuméfiés ainsi que les doigts présentant une éruption cutanée ou les doigts très froids.

Réchauffer le doigt si nécessaire en le frottant entre vos mains. Nettoyer le doigt avec un tampon d'alcool (70% c/v).

Laisser sécher ou nettoyer avec du coton sec pour ôter le reste de l'alcool avant la piqûre.

Retirer un vaccinostyle de son emballage en évitant de toucher le bout pointu.

Ne pas piquer près de l'ongle et éviter les côtés du doigt. Piquer fermement d'un coup au centre de la pulpe du doigt. Le bout du vaccinostyle doit bien pénétrer le doigt pour un écoulement adéquat de sang.

Nettoyer la première goutte de sang avec du coton sec. Recueillir assez de goutte de sang pour la GE et la confection du frottis. Presser le doigt vers l'extrémité si nécessaire pour recueillir

suffisamment de gouttes de sang. Disposer deux gouttes de sang sur la lame comme ci-dessous.

Placer un tampon d'alcool sur la zone de la piqûre et demander à l'enfant ou à son parent/tuteur de le tenir environ 2-3 minutes jusqu'à l'arrêt de l'écoulement de sang.

### 5.9.3.3 Mode opératoire de la goutte épaisse (GE)

A partir de la goutte de sang déposée au centre de la lame porte-objet, des mouvements circulaires étaient effectués à l'aide d'une seconde lame de manière à obtenir un étalement circulaire d'environ 1 cm de diamètre.

### 5.9.3.4 Frottis mince (FM)

Il est réalisé à partir du sang périphérique prélevé à l'aide d'un vaccinostyle à usage unique. Une goutte de sang est déposée sur l'une des extrémités de la lame. L'étalement est effectué par une 2ème lame tenue par la main droite de l'opérateur sur la 1ère lame par la main gauche pour un droitier et la main gauche de l'opérateur sur la 1ère lame par main la droite s'il est gauchier. On forme un angle de 45 degrés entre les 2 lames et d'un coup sec on glisse la 2ème lame sur la 1ère. Cette lame est asséchée soit par agitation à l'air soit par un séchoir, fixée, colorée, prêtée à être examinée.

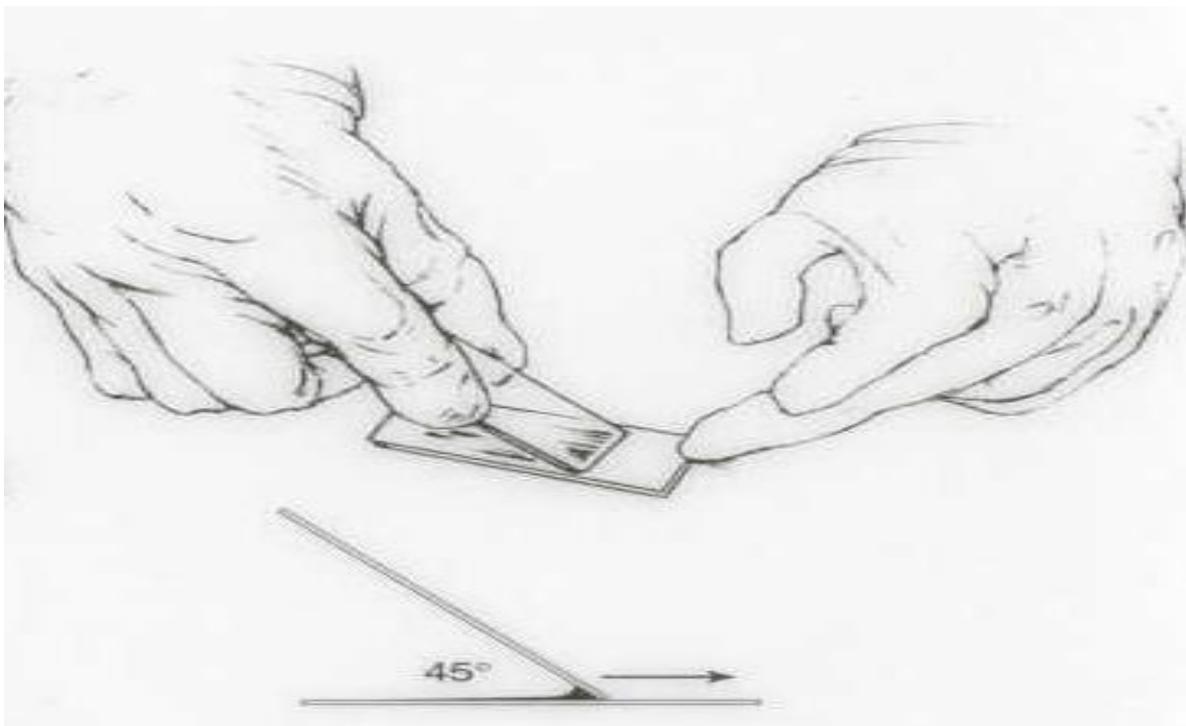


Figure 7: Technique du frottis mince

Source : Manuel des techniques de base pour le laboratoire, OMS : 1997.

S'assurer que la lame d'étalement est bien en contact avec la surface de la lame de GE/FM au moment de la confection du frottis.

En utilisant un coin de la lame d'étalement joindre les gouttes de sang recueilli pour la GE en formant un cercle de 1 à 1.5 cm de diamètre.

Ne pas triturer excessivement le sang.

Toutes ces tâches doivent être exécutées rapidement afin d'éviter la coagulation du sang.

Eviter des GE trop épaisses ou des frottis trop fins.

Déposer la lame de goutte épaisse/frottis mince dans la boîte de collection de type OMS pour séchage.

#### **Coloration des lames**

La coloration de goutte épaisse/frottis était effectuée après fixation du frottis au méthanol et coloration au Giemsa dilué à 10% avec de l'eau distillée.

Les lames étaient placées sur le côté dans un portoir et trempées dans un bassin contenant le colorant de Giemsa fraîchement préparé pendant 15 à 20 minutes. Au terme du temps de coloration les lames étaient rincées et séchées sur le râtelier à l'air libre.

#### **Lecture des lames**

La procédure de lecture systématique par un technicien certifié était adoptée. La lecture des lames était faite à l'aide d'un microscope optique binoculaire à immersion (objectif 100). La parasitémie était établie en comptant les formes asexuées et les formes sexuées (gamétocytes) de chaque espèce plasmodiale observée contre 200 leucocytes pour les formes asexuées et 500 pour les gamétocytes. Les résultats sont exprimés en nombre de parasites par mm<sup>3</sup> de sang sur la base du nombre de leucocytes obtenu à partir de la numération formule sanguine

#### ✓ **Matériels utilisés pour la préparation, coloration et lecture de la GE/frottis**

Microscope optique avec objectif à immersion (x100)

Lames porte-objets

Vaccinostyles stériles

Gants

Coton hydrophile

Alcool à 70°C

Méthanol  
Colorant Giemsa  
Détergent (Ajax)  
Bac à coloration avec portoir à lames  
Papier absorbant  
Tissu doux et non pelucheux  
Marqueur indélébile  
Crayon  
Râtelier  
Stylo  
Séchoir  
Chronomètre  
Eau distillée  
Eau de javel  
Pot d'étalement  
Bassine  
Eau de robinet  
Eau distillée à PH=7.2  
Huile à immersion  
Poubelles  
Registre + cahiers de paillasse  
Fiches de report des résultats  
Boîtes de rangement des lames type OMS

★ **La confection du papier filtre ou confettis**

✓ **Procédures**

Découper de petits morceaux de papier filtre à partir du papier Wattman (environ 2 cm de long sur 1.5 cm de large)

Disposer d'un petit carton pour le séchage et le stockage des spécimens sur le terrain

Porter des gants

Inscrire le numéro d'identification de l'enfant, la date de prélèvement et le code de l'enquête pour laquelle le spot de sang a été préparé sur un coté du papier filtre.

Nettoyer bien le doigt avec un tampon d'alcool

Laisser sécher le doigt avant de piquer avec un vaccinostyle

Recueillir le sang sur la partie inférieure du papier filtre (environ 1/2cm) comme indiqué ci-dessous

Suspendre verticalement le papier filtre préparé en collant sa partie supérieure sur la bande adhésive au-dessus du carton.

Eviter le contact entre spécimens non encore complètement secs

Fermer le carton afin de protéger les spécimens des mouches et de la poussière

Laisser les spécimens sécher à l'air libre pendant 30 minutes.

Après séchage, placer le spécimen dans un sachet en plastique contenant un dessiccateur ou du silicagel

✓ **Matériels :**

Papier confettis (wattman)

Ciseau

Dessiccateur

Sachet confettis

Congélateur -20°C

★ **Dosage des anticorps anti-palustre par ELISA**

✓ **Matériels, réactifs et instruments**

AMA1 3D7,

MSP1-19 FVO,

CSP-M3,

Carbonate de sodium (Na)  $2\text{CO}_3$

Bicarbonate de soude  $\text{NaHCO}_3$

Eau de qualité culture cellulaire, Quality Biological,

Lait écrémé Bacto, DIFCO Laboratories,

Solution saline tamponnée au Tris 10X, pH 7,4,

Tween-20 (Polyoxyéthylènesorbitan Monolaurate),

Saponine

Anticorps secondaire - Anti-humain IgG (H+L) HRP-2

Comprimés OPD de Sigma FAST

Plaque de dilution de 2 mL,

Plaques de microtitrages à fond plat Immulon 4 HBX, Dynex Technologies

Capuchons de puits en silicone pour plaques de 96 puits,

Eau ultrapure Plus, Dynex Technologies

Ruban adhésif

Tige d'agitation magnétique

Balance

Agitateur

Blouses de laboratoire, gants en vinyle ou en latex, lunettes de protection

Ethanol

Bassin de solutions multicanaux, Labcor

Embouts

Flacon Erlenmeyer stérile jetable, 250 ml, Corning

Minuterics

Whatman papier filtre

Dessiccateur

Papier d'aluminium

Pipettes sérologiques jetables stériles, Costar

Lecteur de microplaques, Soft max, Appareils moléculaire

Pipettes multicanaux

✓ *Préparation des solutions de travail*

**Solution d'enrobage 10X :**

- Mesurer 1000 ml d'eau pure dans un récipient

- Peser 15,74g de carbonate de sodium

- Peser 29,4g de bicarbonate de sodium

Faire le mélange jusqu'à obtenir une solution homogène.

REMARQUE : la solution d'enrobage 1X est préparée à partir de 10X, en prenant 100 ml de cette solution contre 900 ml d'eau pure.

**Solution de dilution/ blocage (Lait écrémé 5%)**

- Mesurer 900 ml de l'eau pure

- Mesurer 100 ml de 10X TBS

- Peser 50 g de poudre de lait écrémé

Faire le mélange jusqu'à obtenir un mélange homogène et cela peut prendre jusqu'à 1 heure sur un agitateur magnétique

### **Solution de lavage 10X Tween-TBS**

- Mesurer 2000 ml de 10X TBS
- Peser 20 g de Tween-20
- Faire le mélange dans un récipient approprié sur un agitateur pendant au moins 20 minutes à la température ambiante avant l'utilisation. On peut stocker la solution de 10X Tween-TBS à la température ambiante jusqu'à un mois.

Remarque : la solution de 1X Tween-TBS est préparée à partir de 10X Tween-TBS en prenant 100 ml de cette solution contre 900 ml d'eau pure

### **Solution détergente ou de dilution**

- Prendre un flacon de 500 ml de PBS
- Mesurer 2,5 g de SAPONINE
- Faire le mélange. Conserver à 4°C

### **Anticorps secondaire (Anti-humain H+L ; HRP)**

- Prendre 20 ml de lait écrémé 5% contre 8 µl d'anticorps secondaire
- Faire le mélange

### **Solution de fluorescence (comprimé Sigma FAST OPD)**

- Prendre 40ml d'eau pure contre 4 comprimés du substrat
- Faire bien le mélange et mettre à l'abri de la lumière. Cette solution ne se conserve pas et est préparée au moment du besoin.

### **Dilution des antigènes**

- AMA1-3D7 : 9.3 µL dans 10 ml de solution d'enrobage 1X
- Pour MSP1-FVO : 8.5 µl/10mL de solution d'enrobage 1X
- Pour CSP1 : 10 µl/10mL de solution d'enrobage 1X

### **Dilution des contrôles (étalons)**

**Contrôle positif** : Le contrôle positif était constitué par un mélange de sérum hyperimmune provenant des maliens. Le contrôle positif était également dilué dans du lait écrémé 5% (1 partie pour 400).

**Contrôle négatif** : Du sérum AB provenant des individus non exposés (Américains) au paludisme, dilué dans du lait écrémé 5% (1 partie pour 400) a été utilisé comme contrôle négatif.

### *Procédure proprement dite*

Elle se fait sur deux jours.

*Premier jour :*

#### 1. Préparation des échantillons

- Faire sortir les échantillons du jour.
- Vérifier la description des échantillons d'essais contre les échantillons fournis.
- Entrer les renseignements sur la feuille de paillasse (registre).
- Prendre une plaque de dilution 2 ml.
- Couper 2 morceaux de 2,5 mm de diamètre de confettis de chaque échantillon à l'aide d'une lame et les mettre dans un puits.
- Mettre 1120 µl de la solution détergente dans chaque puits et laissez le tout sur l'agitateur durant toute la nuit.

#### 2. Préparation des plaques d'enrobage

- Prendre une plaque de 96 puits 0,5 ml pour chaque antigène à savoir AMA1-3D7, MSP1-FVO, CSP
- Étiqueter chaque plaque à l'aide du numéro de l'étude, du numéro de la plaque et de l'antigène.
- Mesurer 100 µl de l'antigène et le mettre dans chaque puits de la plaque
- Après l'application des antigènes sur les plaques, les laisser dans un réfrigérateur à 4°C pendant toute la nuit.

*Deuxième jour :*

- Retirer les plaques du réfrigérateur 4°C,
- Verser les antigènes et ajouter 290 µl de lait écrémé 5% dans chaque puits pour bloquer les antigènes.
- Après 1h30 mn d'incubation, verser le lait et laver 4 fois avec Tween 1X à raison de 200 µl par puits.

- Après le lavage, transférer 100 µl de chaque échantillon à tester et des contrôles dans les puits de la plaque ELISA et en duplicata (les échantillons de la première ligne ont leur duplicata en deuxième ligne) dans l'ordre d'enregistrement des échantillons.
- Après 1h30mn d'incubation, laver la plaque et ensuite appliquer 100 µl de l'anticorps secondaire.
- Incuber pendant 1H30mn
- Laver la plaque et appliquer 100 µl de substrat.
- Incuber 20 mn à l'abri de la lumière.
- Passer à la lecture au SOFT MAX à la longueur d'onde de 450 nm.
- Sauvegarder les données sous forme de fichier .pda et les exporter en fichier Excel pour calcul.

**Calculs :** Pour chaque échantillon, la valeur moyenne des duplicata des densités optiques (DO) a été calculée et normalisée par rapport au témoin positif pour chaque plaque. La distribution des valeurs des DO normalisées a été adoptée comme la somme de deux distributions gaussiennes (une distribution étroite de séronégatifs et d'une répartition plus large des séropositifs) en utilisant des méthodes du maximum de probabilités. La DO moyenne de la distribution gaussienne correspondant à tous les contrôles négatifs plus trois fois l'écart type a été utilisé comme seuil pour la séropositivité (80) (81).

## 5.10 Définitions opérationnelles

### Paludisme :

Le paludisme simple était défini par la présence de fièvre, accompagnée ou non de maux de tête, de douleurs musculaires, d'un affaiblissement, de nausées et de vomissements et une goutte épaisse positive.

**Goutte épaisse positive :** était définie par la présence d'au moins une forme asexuée du parasite sur 200 leucocytes.

## 5.11 Gestion et analyse des données

Les données ont été récoltées dans les cahiers d'observation individuels conçus à cet effet, vérifiés puis saisis dans une base de données en utilisant le logiciel Datafax. Exportées et analysées par StatView. La saisie simple des textes, tableaux et graphiques a été fait sur les

logiciels Word et Excel 2007 de Microsoft. Le test de chi<sup>2</sup> a été utilisé pour comparer les proportions des séroprévalences entre les deux groupes. Le test de Wilcoxon-Mann-Whitney a été utilisé pour comparer les médianes des taux d'anticorps. Les valeurs de  $p < 0.05$  ont été considérées comme statistiquement significatives.

### **5.12 Considérations éthiques**

Le protocole d'étude finalisé avait été examiné et approuvé par le comité d'éthique de la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odontostomatologie de l'Université des sciences des techniques et technologies de Bamako. Un consentement éclairé était obtenu avant le screening pour inclusion dans l'étude. Les sujets étaient identifiés par des numéros d'identification qui sont portés dans les dossiers et les prélèvements afin de préserver l'anonymat des participants. Les participants recevaient des soins médicaux gratuits en cas de maladie.

## 6 Résultats

### 6.1 Caractéristiques de base des participants

Au total 448 enfants ont été vus. Sur le total vu, 238 enfants étaient dans les aires de santé ayant reçu la CPS pendant deux années (2016 et 2017) et 210 enfants ayant reçu la CPS quatre années de suite.

**Tableau I:** Répartition des participants en fonction de l'âge et les années d'intervention

Groupe	2 ans CPS	4 ans CPS
	n = 238	n = 210
Moyen d'âge en mois	53,5	53,2
Minimum-Maximum	46-65	46-65
Ecart-type	54	54

L'âge moyen était de 53,5 mois et 53,2 mois respectivement pour le groupe 2 ans et le groupe 4 ans de CPS. L'âge minimal et l'âge maximal sont similaires dans les deux groupes et sont respectivement 46 mois et 65 mois.

**Tableau II:** Répartition des participants selon le sexe et le nombre d'années d'intervention

Groupe	2 ans CPS		4 ans CPS		Total	
	n	%	n	%	n	%
Féminin	117	49,2	109	51,9	226	50,5
Masculin	121	50,8	101	48,1	222	49,5
Total	238	100	210	100	448	100

Au total 49,5% des enfants étaient de sexe masculin. Sur les 238 enfants inclus dans le groupe CPS 2 ans, 50,8% étaient de sexe masculin tandis que dans le groupe 4 ans CPS, ils étaient de 210 enfants (48,1%). Le sexe ratio (H/F) était de 1,034 dans le groupe 2 ans CPS et 0,926 dans le groupe 4 ans de CPS ( $P = 0,56$ ).

**Tableau III:** Répartition de la prévalence de l'infection palustre en fonction du nombre d'années de CPS.

Groupe	2 ans CPS		4 ans CPS		Total	
	n	%	n	%	n	%
GE Négative	159	66,8	170	80,9	329	73,4
GE Positive	79	33,2	40	19,1	119	26,7
Total	238	100	210	100	448	100

La prévalence de l'infection palustre était de 33,2 % dans le groupe 2 ans de CPS contre 19,1 % pour le groupe 4 ans de CPS. La différence constatée était statistiquement significative entre les deux groupes ( $p = 0,001$  ;  $X^2 = 11,4$ ).

## 6.2 La séropositivité des anticorps aux antigènes de *Plasmodium falciparum*

**Tableau IV:** Répartition de la séropositivité à l'anticorps anti-AMA1 en fonction du nombre d'années de CPS.

AMA1	2 ans CPS		4 ans CPS		Total	
	n	%	n	%	n	%
Négatif	27	11,3	9	4,3	36	8,0
Positif	211	88,7	201	<b>95,7</b>	412	92,0
Total	238	100	210	100,0	448	100

Dans les deux groupes, nous avons constaté une forte séropositivité à l'anticorps anti-AMA1, 88,7 % dans le groupe CPS 2 ans contre 95,7% dans le groupe 4 ans de CPS. Nous avons trouvé une différence significative de la séropositivité à AMA1 entre les deux groupes ( $p = 0,006$  ;  $X^2 = 7,5$ ).

**Tableau V:** Répartition de la séropositivité à l'anticorps anti-MSP1 en fonction du nombre d'années de CPS.

MSP1	2 ans CPS		4 ans CPS		Total	
	n	%	n	%	n	%
Négatif	34	14,3	32	15,2	66	14,7
Positif	204	85,7	178	84,8	382	85,3
Total	238	100	210	100	448	100

La séropositivité au MSP1 était 85,7% dans le groupe 2 ans de CPS contre 84,8 % dans le groupe 4 ans de CPS. La différence entre les deux groupes n'était pas statistiquement significative ( $p = 0,8$  ;  $X^2 = 0,77$ )

**Tableau VI:** Répartition de la séropositivité à l'anticorps anti-CSP en fonction du nombre d'années de CPS.

CSP	2 ans CPS		4 ans CPS		Total	
	n	%	n	%	n	%
Négatif	46	19,3	16	7,6	62	13,8
Positif	192	80,7	194	<b>92,4</b>	386	86,2
Total	238	100	210	100	448	100

Il y'avait une forte séropositivité au CSP dans les deux groupes 80,7% et 92,4% respectivement dans le groupe de 2 ans CPS et 4 ans CPS. Les deux proportions étaient significativement différentes ( $p < 0,001$  ;  $X^2 = 12,8$ ).

**Tableau VII :** Répartition de la séropositivité à l'anticorps anti-AMA1 chez les enfants ayant reçu 2 ans de CPS en fonction du sexe.

AMA1	Négatif		Positif		Total	
	n	%	n	%	n	%
Féminin	16	59,3	105	49,8	121	50,8
Masculin	11	40,7	106	50,2	117	49,2
Total	27	100	211	100	238	100

La séropositivité à l'anticorps anti-AMA1 était similaire pour les deux sexes, 50,2 % pour le sexe masculin contre 49,8% chez les filles. La différence était statistiquement significative ( $p = 0,4$  ;  $X^2 = 0,9$ ).

**Tableau VIII:** Répartition de la séropositivité à l'anticorps anti-MSP1 chez les enfants ayant reçu 2 ans de CPS en fonction du sexe.

MSP-1	Négatif		Positif		Total	
	n	%	n	%	n	%
Féminin	13	38,2	108	52,9	121	50,8
Masculin	21	61,8	96	47,1	117	49,2
Total	34	100	204	100	238	100

50,8% des filles étaient séropositives à anticorps anti-MSP1 contre 49,2 % des garçons. Il n'y a pas de différence statistiquement significative entre les filles et les garçons ( $p = 0,11$  ;  $X^2 = 2,5$ ).

**Tableau IX:** Répartition de la séropositivité à l'anticorps anti-CSP chez les enfants ayant reçu 2 ans de CPS en fonction du sexe.

CSP	Négatif		Positif		Total	
	n	%	n	%	n	%
Féminin	25	54,4	96	50,0	121	50,8
Masculin	21	45,6	96	50,0	117	49,2
Total	46	100	192	100	238	100

Nous n'avons pas constaté de différence significative entre les filles et les garçons quant à la séropositivité à l'anticorps anti-CSP après 2 années de CPS ( $p = 0,60$  ;  $X^2 = 0,3$ ).

**Tableau X :** Répartition de la séropositivité à l'anticorps anti-AMA1 chez les enfants ayant reçu 4 ans de CPS en fonction du sexe.

AMA1	Négatif		Positif		Total	
	n	%	n	%	n	%
Féminin	5	55,6	96	47,8	101	48,1
Masculin	4	44,4	105	52,2	109	51,9
Total	9	100	201	100	210	100

Chez les sexes masculins la séropositivité était de 52,2 % contre 47,8 % chez les filles. La différence observée n'était statistiquement significative ( $p = 0,6$  ;  $X^2 = 0,2$ ).

**Tableau XI:** Répartition de la séropositivité à l'anticorps anti-MSP-1 chez les enfants ayant reçu 4 ans de CPS en fonction du sexe.

MSP-1	Négatif		Positif		Total	
	n	%	n	%	n	%
Féminin	16	50,0	85	47,8	101	48,1
Masculin	16	50,0	93	52,2	109	51,9
Total	32	100	178	100	210	100

La séropositivité était similaire dans les deux groupes ; 52,2% chez les garçons contre 47,8% des filles ( $p = 0,8$  ;  $X^2 = 0,05$ ).

**Tableau XII:** Répartition de la séropositivité à l'anticorps anti-CSP chez les enfants ayant reçu 4 ans de CPS en fonction du sexe.

CSP	Négatif		Positif		Total	
	n	%	n	%	n	%
Féminin	5	31,2	96	49,5	109	48,1
Masculin	11	68,8	98	50,5	109	51,9
Total	16	100	194	100	210	100

Chez les garçons 50,5% étaient séropositives à l'anticorps anti-CSP contre 49,5 % des filles. Nous n'avons pas constaté de différence significative entre les filles et les garçons quant à la séropositivité à l'anticorps anti-CSP après 4 années de CPS ( $p = 0,2$  ;  $X^2 = 1,9$ ).

**Tableau XIII:** Répartition de la séropositivité à l'anticorps anti-AMA1 chez les enfants ayant reçu 2 ans de CPS en fonctions de l'infection palustre.

AMA1	GE négative		GE positive		Total	
	n	%	n	%	N	%
Négatif	23	14,5	4	5,1	27	11,3
Positif	136	85,5	75	94,9	211	88,7
Total	159	100	79	100	238	100

La prévalence de séropositivité à l'anticorps anti-AMA1 était de 94,9% chez les gouttes épaisses positives et était différente à celle observée (85,5%) chez les enfants sans parasites du paludisme. La différence observée était statistiquement significative ( $p = 0,03$  ;  $X^2 = 4,6$ ).

**Tableau XIV:** Répartition de la séropositivité à l'anticorps anti- MSP-1 chez les enfants ayant reçu 2 ans de CPS en fonctions de l'infection palustre.

MSP-1	GE négative		GE positive		Total	
	n	%	n	%	n	%
Négatif	28	17,6	6	7,6	34	14,3
Positif	131	82,4	73	92,4	204	85,7
Total	159	100	79	100	238	100

Nous avons constaté une séropositivité remarquable chez les enfants ayant une goutte positive à l'anticorps anti-MSP1 (92,4%) contre 82,4% chez enfants ayant une goutte négative. La différence étant statistiquement significative ( $p = 0,04$  ;  $X^2 = 4,3$ ).

**Tableau XV:** Répartition de la séropositivité à l'anticorps anti-CSP chez les enfants ayant reçu 2 ans de CPS en fonctions de l'infection palustre.

CSP	GE négative		GE positive		Total	
	n	%	n	%	n	%
Négatif	25	20,7	21	18,0	46	19,3
Positif	96	79,3	96	82,0	192	80,7
Total	121	100	117	100	238	100

Chez les enfants qui avaient reçu la CPS 2 années de suite, 82% des porteurs des parasites de *P. falciparum* étaient séropositifs à l'anticorps anti-CSP contre 79,3% chez les gouttes épaisses négatives; il n'y avait pas une différence statistiquement significative ( $p = 0,6$  ;  $X^2 = 0,3$ ).

**Tableau XVI:** Répartition de la séropositivité à l'anticorps anti-AMA1 chez les enfants ayant reçu 2 ans de CPS en fonctions de l'infection palustre.

AMA1	GE négative		GE positive		Total	
	n	%	n	%	n	%
Négatif	5	4,9	4	3,7	9	4,3
Positif	96	95,1	105	96,3	201	95,7
Total	101	100	109	100	210	100

La séoprévalence à anti-AMA1 était de 96,3% et 95,1% chez les enfants ayant des GE positives et les enfants ayant des GE négatives respectivement. Aucune différence n'était observée entre les 2 groupes d'enfants ( $p = 0,6$  ;  $X^2 = 0,2$ ).

**Tableau XVII:** Répartition de la séropositivité à l'anticorps anti-MSP-1 chez les enfants ayant reçu 2 ans de CPS en fonctions de l'infection palustre.

MSP-1	GE négative		GE positive		Total	
	n	%	n	%	n	%
Négatif	30	17,7	2	5,0	32	15,2
Positif	140	82,3	38	<b>95,0</b>	178	84,8
Total	170	100	40	100	210	100

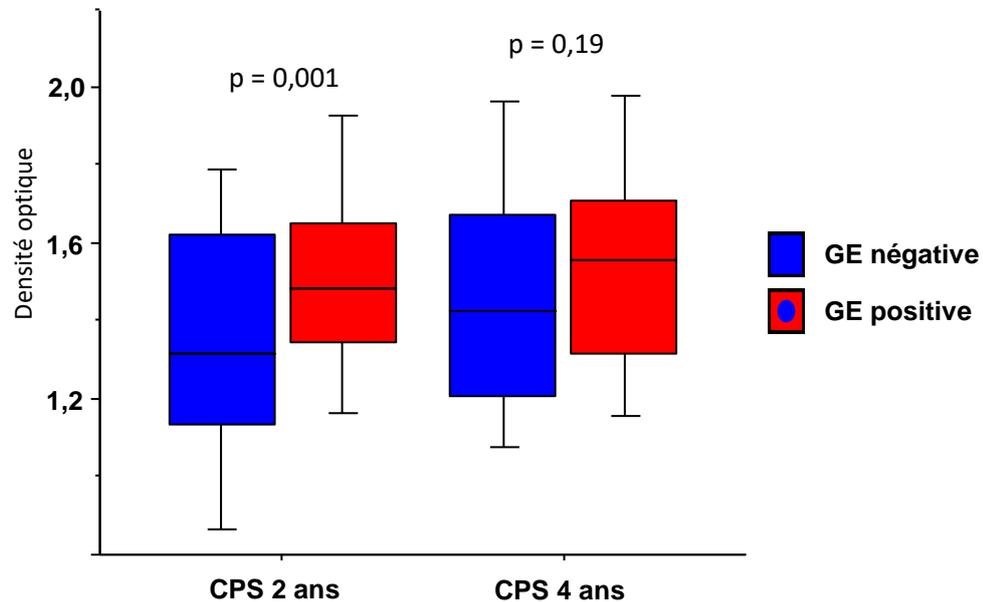
Chez les enfants qui avaient reçu la CPS 4 années de suite, nous avons constaté une séropositivité supérieure chez les enfants ayant une goutte positive à l'anticorps anti-MSP1 (95,0%) contre 82,3% chez enfants ayant une goutte négative. La différence étant statistiquement significative ( $p = 0,045$  ;  $X^2 = 4,0$ ).

**Tableau XVIII:** Répartition de la séropositivité à l'anticorps anti-CSP chez les enfants ayant reçu 2 ans de CPS en fonctions de l'infection palustre.

CSP	GE négative		GE positive		Total	
	n	%	n	%	n	%
Négatif	15	8,8	1	2,5	16	7,6
Positif	155	91,2	39	97,5	194	92,4
Total	170	100	40	100	210	100

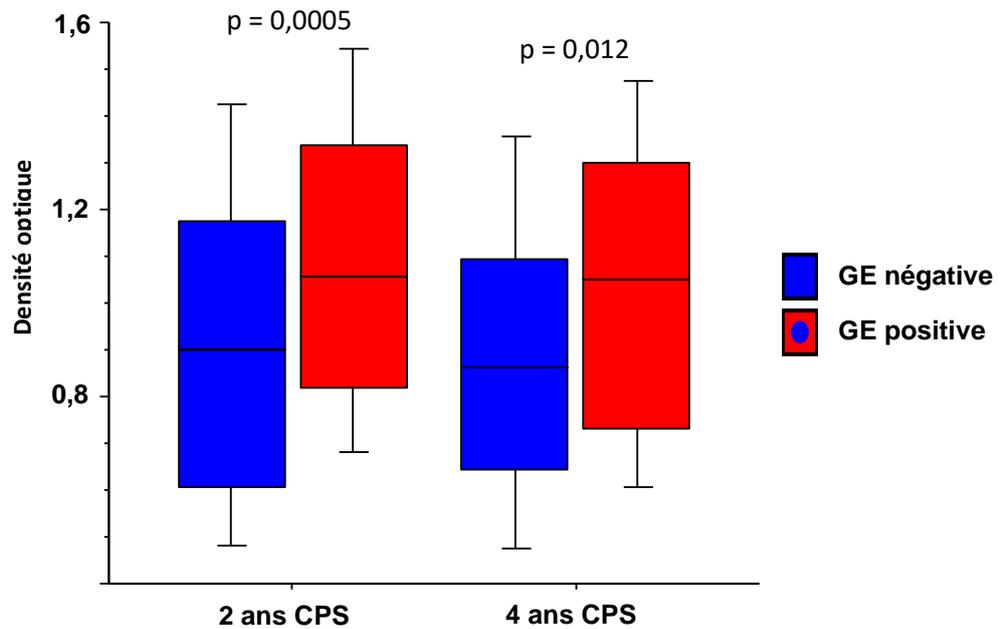
La séroprévalence à l'anticorps anti-CPS était de 91,2% et 95,1% chez les enfants ayant des gouttes épaisses positives et des GE négatives respectivement. Aucune différence significative n'était observée entre les 2 groupes d'enfants ( $p = 0,2$  ;  $X^2 = 1,8$ ).

### 6.3 Taux des anticorps anti-palustres



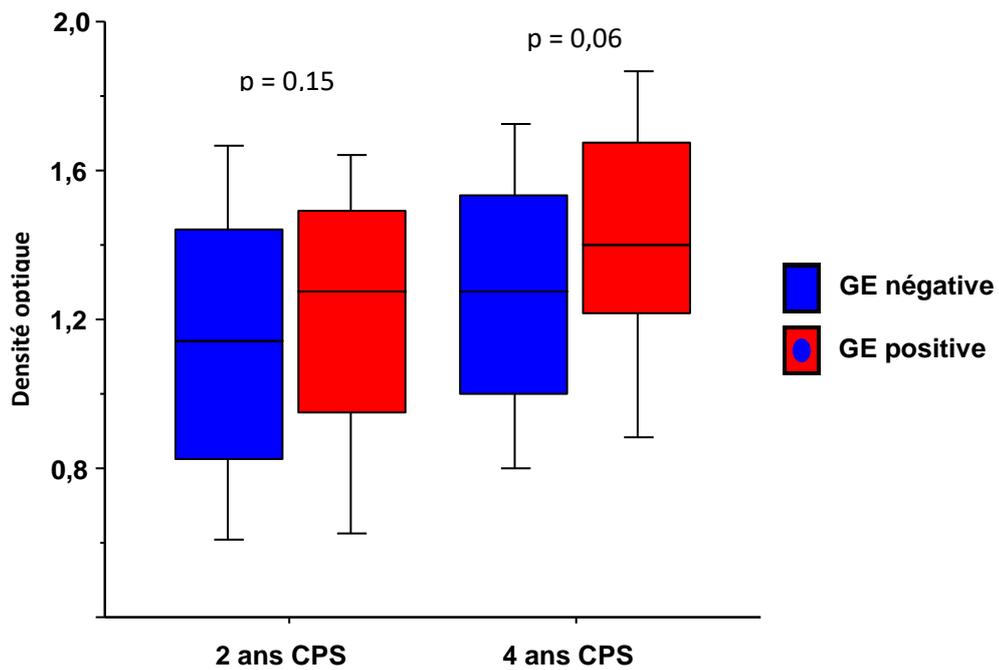
**Figure 8:** Taux des anticorps anti-AMA1 en fonction de l'infection palustre et le nombre d'années de CPS reçue (2 ans CPS vs. 4 ans CPS)

Nous avons constaté une augmentation significative du taux des anticorps anti-AMA1 chez les enfants qui avaient une goutte épaisse positive comparés à ceux aux gouttes épaisses négatives dans le groupe 2 ans de CPS ( $p = 0,001$ ). Par contre les taux des anticorps anti-AMA1 restent similaires chez les enfants du groupe 4 ans de CPS quel que soit le résultat de la goutte épaisse ( $p = 0,19$ ).



*Figure 9: Taux des anticorps anti-MSP1 en fonction de l'infection palustre et le nombre d'années de CPS reçue (2 ans CPS vs. 4 ans CPS).*

Nous avons constaté une augmentation du taux des anticorps anti-MSP1 chez les enfants qui avaient une goutte épaisse positive dans les deux groupes. Les différences observées étaient statistiquement significatives dans les 2 groupes avec  $p = 0,0005$  et  $p = 0,012$  respectivement pour le groupe 2 ans de CPS et pour le groupe 4 ans de CPS.



*Figure 10: Taux des anticorps anti-CSP en fonction de l'infection palustre et le nombre d'années de CPS reçue (2 ans CPS vs. 4 ans CPS).*

Nous n'avons pas observé de différence significative dans les taux des anticorps anti-CSP dans les 2 groupes de CPS en fonction de la présence ou non des parasites avec  $p = 0,15$  et  $p = 0,06$  respectivement pour les 2 ans de CPS et les 4 ans de CPS.

## 7 Commentaire et discussion

### 7.1 Au plan de la méthodologie

Notre cadre d'étude a été la commune de Ouelessebougu, le choix de ce site se justifie par les raisons suivantes :

- Son accessibilité géographique en toute saison
- La présence d'un centre du MRTC dans cette zone depuis 2008,
- L'adhésion des communautés à l'égard des études et l'importance de la morbidité palustre.
- Il existe de très bons rapports de confiance mutuelle entre la population de cette commune et l'équipe de recherche du MRTC.

Nous avons fait un recensement général de tous les enfants de 3 à 59 mois chaque année avant l'administration des médicaments de la CPS. Comme décrit dans la méthodologie, les enfants ont été sélectionnés de façon aléatoire sur la liste des enfants âgés de 46 à 65 mois recensés dans les localités pour permettre d'avoir des enfants d'âge comparables entre les groupes ou zones de CPS (2 ans de CPS et 4 ans de CPS).

Après prélèvement sur le terrain, les échantillons de GE/FM et les confettis ont été transportés au laboratoire pour la lecture et l'ELISA. Toujours dans le souci d'éviter des biais dans les techniques du laboratoire, les échantillons des 2 groupes ont été traités ensemble.

### 7.2 Sur le plan résultats

Au total 600 enfants ont été sélectionnés pour prendre part à l'enquête, soit 300 enfants par aires de santé (celles qui ont reçu la CPS pendant 2 ans ou 4 ans). La prévalence des anticorps antipalustres et de l'infection palustre a été déterminée chez les enfants enquêtés dans le cadre de notre étude.

L'enquête a eu lieu en décembre 2017 et 448 enfants étaient vus. L'âge moyen dans les deux groupes était de 53,5 mois pour le groupe 2 ans de CPS et 53,2 mois pour le groupe 4 ans de CPS. Dans le groupe 2 ans de CPS, 49,2% des enfants étaient des filles. Par contre sur les 238 enfants inclus dans le groupe 4 ans de CPS, 48,1% étaient de sexe féminin. Le sexe ratio (H/F) était de 1,034 dans le groupe 2 ans CPS et 0,926 dans le groupe 4 ans de CPS. Ce résultat est comparable à celui de Diarra K qui avait trouvé un sex-ratio de 0,97 dans la même zone de l'étude (82). Globalement la prévalence de l'infection palustre était 26,7% dans notre population étudiée. Sur 238 enfants inclus de l'étude dans le groupe 2 ans de CPS, 33,2 %

avaient une goutte épaisse positive. Cependant seul 19,1% des enfants avaient une goutte épaisse positive sur les 210 enfants inclus dans le groupe 4 ans de CPS. Cette différence observée dans le résultat des gouttes épaisses était statistiquement significative ( $p = 0,001$ ). Ces résultats étaient similaires à celui de Diarra K qui avait trouvé une prévalence de 23,3% toujours dans la même zone et à la même période (82), à celui de Diawara F et al qui était 18 % en 2014 à Kita (83) mais différents de celui de Dicko A et al qui avait trouvé 10,2% (11) dans le cadre d'un essai clinique où les enfants étaient pris en charge et de Mahamar A et al qui avait trouvé 47,2% ; 43,1% et 37,3% respectivement chez les enfants qui ont reçu la CPS pendant un, deux et trois ans (84). Ils sont également plus bas que ceux retrouvés dans l'Enquête Démographique et de Santé du Mali (EDSM V) dans la région de Koulikoro avec une prévalence de 50% pour les enfants de 48 à 59 mois (3). Ceci pourrait s'expliquer par le fait que notre étude s'est déroulée chez les enfants ayant reçu la chimioprévention du paludisme saisonnier, réduisant ainsi l'incidence du paludisme.

Par rapport à la séroprévalence aux anticorps produits contre les antigènes érythrocytaires et hépatiques du *Plasmodium falciparum*, nous avons constaté de façon générale des proportions plus élevées dans le groupe 4 ans de CPS comparé au groupe 2 ans de CPS pour AMA1 et CSP avec 95,7% vs. 88,7% et 92,4% vs. 80,7% respectivement pour AMA1 et CSP. Cependant pour MSP1 les proportions des enfants séropositifs étaient similaires dans les 2 groupes (84,8% vs. 85,7% ;  $p = 0,8$ ) respectivement pour 4ans de CPS et 2 ans de CPS. Nous n'avons pas observé de différence dans la production d'anticorps par rapport au sexe. Cependant les enfants porteurs de parasites de *P. falciparum* ont des séroprévalences plus élevées en anticorps aux antigènes pré-érythrocytaires (AMA1 et MSP1) que ceux qui sont négatifs à la goutte épaisse.

Ces résultats sont comparables à ceux obtenus par Diarra K (82) chez les enfants de 12 à 59 mois soient 96,4% ; 87,6% et 94% pour AMA1, MSP1 et CPS respectivement. Nos résultats sont également dans des proportions similaires à ceux obtenus par Mahamar A et al (87) avec 96,3% ; 84,7% et 79,8% pour AMA1, MSP1 et CPS respectivement.

Ces résultats étaient différents de ceux obtenus par Sylla K au Sénégal (85) avec 38,1% ; 41,5% et 40,4% respectivement pour les anticorps anti-AMA1, anti-MSP1-42 et anti-CSP. Cette différence pourrait s'expliquer par le fait que la prévalence du paludisme était de 26,6% dans notre zone d'étude tandis qu'elle était 5,0% au Sénégal. L'étude du Sénégal portait aussi sur les enfants de 0 – 10 ans.

Les taux des anticorps étaient aussi élevés dans l'ensemble des groupes. Les taux d'anticorps anti-AMA1, anti-MSP1 et anti-CSP mesurés chez les enfants ayant reçu la CPS pendant 4 ans n'étaient pas inférieurs aux valeurs mesurées chez les enfants qui avaient reçu la stratégie de la CPS seulement 2 années de suite.

Pour l'antigène pré-érythrocytaire MSP1, nous avons observé une différence statistiquement significative entre les enfants porteurs de parasites et ceux non porteurs dans les groupes de CPS ( $p = 0,0005$  pour 2 ans de CPS et  $p = 0,012$  pour les 4 ans de CPS). Pour l'autre antigène AMA1, les taux d'anticorps produits étaient similaires chez les enfants du groupe 4 ans de CPS quel que soit le statut de la goutte épaisse ( $p = 0,19$ ) par contre dans le groupe 2 ans de CPS il y avait une différence significative entre les enfants gouttes épaisses positives et négatives ( $p = 0,001$ ). En fin pour l'antigène CSP, dans les 2 groupes de CPS, il n'y avait pas de différence de taux d'anticorps chez les enfants gouttes épaisses positives et négatives ( $p = 0,15$  pour 2 ans de CPS et  $p = 0,06$  pour les 4 ans de CPS).

## 8 Conclusion

L'utilisation de marqueurs sérologiques peut contribuer à améliorer la surveillance du paludisme dans les zones de transmission intense. Cette étude nous a montré que l'exposition à la CPS ne diminue pas la séropositivité et les taux d'anticorps dirigés contre les antigènes antipalutres (AMA1, MSP1 et le CSP).

## 9 Recommandations

### 9.1 Aux chercheurs

- ✓ Poursuivre les études d'évaluation de la CPS à long terme sur l'immunité antipalustres.
- ✓ Evaluer des réponses cellulaires chez les enfants après l'administration de la CPS
- ✓ Poursuivre les études d'évaluation de la CPS chez les enfants au-delà de 5 ans une fois qu'ils cesseront de recevoir la stratégie.

### 9.2 Aux autorités sanitaires

- ✓ Continuer l'administration de la CPS chez les enfants

## 10 Références

1. OMS. Rapport sur le paludisme dans le monde 2018.
2. OMS. Rapport sur le paludisme dans le monde 2017.
3. EDSM V (2013). 2013 2014.
4. Rapport de l' Enquête sur les Indicateurs du Paludisme au Mali, 2015.
5. DARAR HY. Etude épidémio-clinique et moléculaire du Paludisme à Plasmodium falciparum par la MSP-1 à Missira ( Cercle de Kolokani ). usthb; 2004.
6. Bernabeu M, Gomez-Perez GP, Sissoko S, Niambélé MB, Haibala AA, Sanz A, et al. Plasmodium vivax malaria in Mali: a study from three different regions. Malaria Journal. 2012;11(1):405.
7. OMS. Rapport 2016 sur le paludisme dans le monde. 2017.
8. Bhatt S, Weiss DJ, Cameron E, Bisanzio D, Mappin B, Dalrymple U, et al. The effect of malaria control on Plasmodium falciparum in Africa between 2000 and 2015. Nature. 8 oct 2015;526(7572):207-11.
9. Crompton PD, Pierce SK, Miller LH. Advances and challenges in malaria vaccine development. J Clin Invest. déc 2010;120(12):4168-78.
10. Bousema T, Drakeley C. Epidemiology and infectivity of Plasmodium falciparum and Plasmodium vivax gametocytes in relation to malaria control and elimination. Clin Microbiol Rev. avr 2011;24(2):377-410.
11. Dicko A, Diallo AI, Tembine I, Dicko Y, Dara N, Sidibe Y, et al. Intermittent preventive treatment of malaria provides substantial protection against malaria in children already protected by an insecticide-treated bednet in Mali: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. PLoS Med. 1 févr 2011;8(2):e1000407.
12. OMS. Recommandation de politique générale de l'OMS: Chimio-prévention du paludisme saisonnier pour lutter contre le paludisme à Plasmodium falciparum en zone de forte transmission saisonnière dans la sous-région du Sahel en Afrique. 2012.
13. OMS. Rapport d'une consultation technique sur la chimio-prévention du paludisme saisonnier (CPS). 2016.
14. Miller RL, Ikram S, Armelagos GJ, Walker R, Harer WB, Shiff CJ, et al. Diagnosis of Plasmodium falciparum infections in mummies using the rapid manual ParaSight-F test. Trans R Soc Trop Med Hyg. févr 1994;88(1):31-2.
15. Debacker MJ. Paludisme: historique, mythes, croyances et idées reçues. Université Paris Val-de-Marne, Faculté de Médecine de Créteil; 2000.
16. Leveran A. Traité du paludisme. MASSON. Paris; 1907. 1-622 p.

17. Dicko A, Sagara I, Diemert D, Sogoba M, Niamele MB, Dao A, et al. Year-to-year variation in the age-specific incidence of clinical malaria in two potential vaccine testing sites in Mali with different levels of malaria transmission intensity. *Am J Trop Med Hyg.* déc 2007;77(6):1028-33.
18. Doumbo O. Epidémiologie du paludisme au Mali : étude de la chloroquinorésistance, essai de stratégie de contrôle basée sur l'utilisation des rideaux imprégnés de perméthrine associée au traitement systématique des accès fébriles. 1992.
19. TRAORE S.F. Etude du comportement et de la contribution à la transmission du palu des membres du complexe *Anophèles gambiae* à Banambani. ISFRA-Bamako; 1989.
20. Ta TH, Hisam S, Lanza M, Jiram AI, Ismail N, Rubio JM. First case of a naturally acquired human infection with *Plasmodium cynomolgi*. *Malar J.* 24 févr 2014;13:68.
21. Bronner U, Divis PCS, Färnert A, Singh B. Swedish traveller with *Plasmodium knowlesi* malaria after visiting Malaysian Borneo. *Malar J.* 16 janv 2009;8:15.
22. Toure YT, Université Paul Cézanne (Aix-Marseille), Faculté des sciences et techniques de Saint-Jérôme. Génétique écologique et capacité vectorielle des membres du complexe *Anophèles gambiae* au Mali. [S.l.]: [s.n.]; 1985.
23. Touré YT, Petrarca V, Traoré SF, Coulibaly A, Maïga HM, Sankaré O, et al. Ecological genetic studies in the chromosomal form Mopti of *Anopheles gambiae* s.str. in Mali, west Africa. *Genetica.* 1994;94(2-3):213-23.
24. Angrisano F, Tan Y-H, Sturm A, McFadden GI, Baum J. Malaria parasite colonisation of the mosquito midgut--placing the *Plasmodium* ookinete centre stage. *Int J Parasitol.* 15 mai 2012;42(6):519-27.
25. Gardner,M.J., Hall,N., Fung,E., White,O., Berriman,M., Hyman,R.W., Carlton,J.M., Pain,A., Nelson,K.E., Bowman,S., Paulsen,I.T., James,K., Eisen,J.A., Rutherford,K., Salzberg,S.L., Craig,A., Kyes,S., Chan,M.S., Nene,V., Shallom,S.J., Suh,B., Peterson,J., Angiuoli,S., Pertea,M., Allen,J., Selengut,J., Haft,D., Mather,M.W., Vaidya,A.B., Martin,D.M., Fairlamb,A.H., Fraunholz,M.J., Roos,D.S., Ralph,S.A., McFadden,G.I., Cummings,L.M., Subramanian,G.M., Mungall,C., Venter,J.C., Carucci,D.J., Hoffman,S.L., Newbold,C., Davis,R.W., Fraser,C.M., and Barrell,B. Genome sequence of the human malaria parasite *Plasmodium falciparum* | *Nature.* 2002;
26. Crewther PE, Culvenor JG, Silva A, Cooper JA, Anders RF. *Plasmodium falciparum*: Two antigens of similar size are located in different compartments of the rhoptry. *Experimental Parasitology* [Internet]. 1 févr 1990 [cité 8 déc 2018];70(2):193-206. Disponible sur: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/001448949090100Q>
27. Peterson MG, Coppel RL, Moloney MB, Kemp DJ. Third form of the precursor to the major merozoite surface antigens of *Plasmodium falciparum*. *Molecular and Cellular Biology* [Internet]. 1 juin 1988 [cité 8 déc 2018];8(6):2664-7. Disponible sur: <https://mcb.asm.org/content/8/6/2664>
28. Narum DL, Thomas AW. Differential localization of full-length and processed forms of PF83/AMA-1 an apical membrane antigen of *Plasmodium falciparum* merozoites. *Mol Biochem Parasitol.* sept 1994;67(1):59-68.

29. Hodder AN, Crewther PE, Matthew ML, Reid GE, Moritz RL, Simpson RJ, et al. The disulfide bond structure of Plasmodium apical membrane antigen-1. *J Biol Chem*. 15 nov 1996;271(46):29446-52.
30. Pizarro JC, Vulliez-Le Normand B, Chesne-Seck M-L, Collins CR, Withers-Martinez C, Hackett F, et al. Crystal structure of the malaria vaccine candidate apical membrane antigen 1. *Science*. 15 avr 2005;308(5720):408-11.
31. Howell SA, Withers-Martinez C, Kocken CH, Thomas AW, Blackman MJ. Proteolytic processing and primary structure of Plasmodium falciparum apical membrane antigen-1. *J Biol Chem*. 17 août 2001;276(33):31311-20.
32. Mitchell GH, Thomas AW, Margos G, Dluzewski AR, Bannister LH. Apical Membrane Antigen 1, a Major Malaria Vaccine Candidate, Mediates the Close Attachment of Invasive Merozoites to Host Red Blood Cells. *Infect Immun* [Internet]. janv 2004 [cité 26 sept 2018];72(1):154-8. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC343990/>
33. Silvie O, Franetich J-F, Charrin S, Mueller MS, Siau A, Bodescot M, et al. A role for apical membrane antigen 1 during invasion of hepatocytes by Plasmodium falciparum sporozoites. *J Biol Chem*. 5 mars 2004;279(10):9490-6.
34. Kato K, Mayer DCG, Singh S, Reid M, Miller LH. Domain III of Plasmodium falciparum apical membrane antigen 1 binds to the erythrocyte membrane protein Kx. *Proc Natl Acad Sci USA*. 12 avr 2005;102(15):5552-7.
35. Cortés A, Mellombo M, Masciantonio R, Murphy VJ, Reeder JC, Anders RF. Allele specificity of naturally acquired antibody responses against Plasmodium falciparum apical membrane antigen 1. *Infect Immun*. janv 2005;73(1):422-30.
36. Johnson AH, Leke RGF, Mendell NR, Shon D, Suh YJ, Bomba-Nkolo D, et al. Human leukocyte antigen class II alleles influence levels of antibodies to the Plasmodium falciparum asexual-stage apical membrane antigen 1 but not to merozoite surface antigen 2 and merozoite surface protein 1. *Infect Immun*. mai 2004;72(5):2762-71.
37. Polley SD, Mwangi T, Kocken CHM, Thomas AW, Dutta S, Lanar DE, et al. Human antibodies to recombinant protein constructs of Plasmodium falciparum Apical Membrane Antigen 1 (AMA1) and their associations with protection from malaria. *Vaccine*. 16 déc 2004;23(5):718-28.
38. Hodder AN, Crewther PE, Anders RF. Specificity of the protective antibody response to apical membrane antigen 1. *Infect Immun*. mai 2001;69(5):3286-94.
39. Chelimo K, Ofulla AV, Narum DL, Kazura JW, Lanar DE, John CC. Antibodies to Plasmodium falciparum antigens vary by age and antigen in children in a malaria-holoendemic area of Kenya. *Pediatr Infect Dis J*. août 2005;24(8):680-4.
40. Udhayakumar V, Kariuki S, Kolczack M, Girma M, Roberts JM, Oloo AJ, et al. Longitudinal study of natural immune responses to the Plasmodium falciparum apical membrane antigen (AMA-1) in a holoendemic region of malaria in western Kenya: Asembo Bay Cohort Project VIII. *Am J Trop Med Hyg*. août 2001;65(2):100-7.

41. Koussis K, Withers-Martinez C, Yeoh S, Child M, Hackett F, Knuepfer E, et al. A multifunctional serine protease primes the malaria parasite for red blood cell invasion. *EMBO J.* 18 mars 2009;28(6):725-35.
42. Tanabe K, Mackay M, Goman M, Scaife JG. Allelic dimorphism in a surface antigen gene of the malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *J Mol Biol.* 20 mai 1987;195(2):273-87.
43. Harris PK, Yeoh S, Dluzewski AR, O'Donnell RA, Withers-Martinez C, Hackett F, et al. Molecular identification of a malaria merozoite surface sheddase. *PLoS Pathog.* nov 2005;1(3):241-51.
44. Blackman MJ, Heidrich HG, Donachie S, McBride JS, Holder AA. A single fragment of a malaria merozoite surface protein remains on the parasite during red cell invasion and is the target of invasion-inhibiting antibodies. *J Exp Med.* 1 juill 1990;172(1):379-82.
45. Ling IT, Ogun SA, Holder AA. Immunization against malaria with a recombinant protein. *Parasite Immunol.* févr 1994;16(2):63-7.
46. Spencer Valero LM, Ogun SA, Fleck SL, Ling IT, Scott-Finnigan TJ, Blackman MJ, et al. Passive immunization with antibodies against three distinct epitopes on *Plasmodium yoelii* merozoite surface protein 1 suppresses parasitemia. *Infect Immun.* août 1998;66(8):3925-30.
47. Chang SP, Gibson HL, Lee-Ng CT, Barr PJ, Hui GS. A carboxyl-terminal fragment of *Plasmodium falciparum* gp195 expressed by a recombinant baculovirus induces antibodies that completely inhibit parasite growth. *J Immunol.* 15 juill 1992;149(2):548-55.
48. Perera KL, Handunnetti SM, Holm I, Longacre S, Mendis K. Baculovirus merozoite surface protein 1 C-terminal recombinant antigens are highly protective in a natural primate model for human *Plasmodium vivax* malaria. *Infect Immun.* avr 1998;66(4):1500-6.
49. Chang SP, Case SE, Gosnell WL, Hashimoto A, Kramer KJ, Tam LQ, et al. A recombinant baculovirus 42-kilodalton C-terminal fragment of *Plasmodium falciparum* merozoite surface protein 1 protects Aotus monkeys against malaria. *Infect Immun.* janv 1996;64(1):253-61.
50. Blackman MJ, Scott-Finnigan TJ, Shai S, Holder AA. Antibodies inhibit the protease-mediated processing of a malaria merozoite surface protein. *J Exp Med.* 1 juill 1994;180(1):389-93.
51. Guevara Patiño JA, Holder AA, McBride JS, Blackman MJ. Antibodies that inhibit malaria merozoite surface protein-1 processing and erythrocyte invasion are blocked by naturally acquired human antibodies. *J Exp Med.* 17 nov 1997;186(10):1689-99.
52. Okech BA, Corran PH, Todd J, Joynson-Hicks A, Uthapibull C, Egwang TG, et al. Fine specificity of serum antibodies to *Plasmodium falciparum* merozoite surface protein, PfMSP-1(19), predicts protection from malaria infection and high-density parasitemia. *Infect Immun.* mars 2004;72(3):1557-67.

53. Omosun YO, Adoro S, Anumudu CI, Odaibo AB, Uthiapibull C, Holder AA, et al. Antibody specificities of children living in a malaria endemic area to inhibitory and blocking epitopes on MSP-1 19 of Plasmodium falciparum. Acta Trop. mars 2009;109(3):208-12.
54. Holder AA, Guevara Patiño JA, Uthiapibull C, Syed SE, Ling IT, Scott-Finnigan T, et al. Merozoite surface protein 1, immune evasion, and vaccines against asexual blood stage malaria. Parasitologia. sept 1999;41(1-3):409-14.
55. Ogutu BR, Apollo OJ, McKinney D, Okoth W, Siangla J, Dubovsky F, et al. Blood stage malaria vaccine eliciting high antigen-specific antibody concentrations confers no protection to young children in Western Kenya. PLoS ONE. 2009;4(3):e4708.
56. Hensmann M, Li C, Moss C, Lindo V, Greer F, Watts C, et al. Disulfide bonds in merozoite surface protein 1 of the malaria parasite impede efficient antigen processing and affect the in vivo antibody response. Eur J Immunol. mars 2004;34(3):639-48.
57. Egan A, Waterfall M, Pinder M, Holder A, Riley E. Characterization of human T- and B-cell epitopes in the C terminus of Plasmodium falciparum merozoite surface protein 1: evidence for poor T-cell recognition of polypeptides with numerous disulfide bonds. Infect Immun [Internet]. août 1997 [cité 9 sept 2018];65(8):3024-31. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC175426/>
58. Dluzewski AR, Ling IT, Hopkins JM, Grainger M, Margos G, Mitchell GH, et al. Formation of the food vacuole in Plasmodium falciparum: a potential role for the 19 kDa fragment of merozoite surface protein 1 (MSP1(19)). PLoS ONE. 29 août 2008;3(8):e3085.
59. Uthiapibull C, Aufiero B, Syed SE, Hansen B, Guevara Patiño JA, Angov E, et al. Inhibitory and blocking monoclonal antibody epitopes on merozoite surface protein 1 of the malaria parasite Plasmodium falciparum. J Mol Biol. 13 avr 2001;307(5):1381-94.
60. Gysin J, Barnwell J, Schlesinger DH, Nussenzweig V, Nussenzweig RS. Neutralization of the infectivity of sporozoites of Plasmodium knowlesi by antibodies to a synthetic peptide. J Exp Med. 1 sept 1984;160(3):935-40.
61. Plassmeyer ML, Reiter K, Shimp RL, Kotova S, Smith PD, Hurt DE, et al. Structure of the Plasmodium falciparum circumsporozoite protein, a leading malaria vaccine candidate. J Biol Chem. 25 sept 2009;284(39):26951-63.
62. Guinovart C, Aponte JJ, Sacarlal J, Aide P, Leach A, Bassat Q, et al. Insights into long-lasting protection induced by RTS,S/AS02A malaria vaccine: further results from a phase IIb trial in Mozambican children. PLoS ONE. 2009;4(4):e5165.
63. Aponte JJ, Aide P, Renom M, Mandomando I, Bassat Q, Sacarlal J, et al. Safety of the RTS,S/AS02D candidate malaria vaccine in infants living in a highly endemic area of Mozambique: a double blind randomised controlled phase I/IIb trial. Lancet. 3 nov 2007;370(9598):1543-51.
64. Alonso PL, Sacarlal J, Aponte JJ, Leach A, Macete E, Milman J, et al. Efficacy of the RTS,S/AS02A vaccine against Plasmodium falciparum infection and disease in young African children: randomised controlled trial. Lancet. 16 oct 2004;364(9443):1411-20.

65. Bejon P, Lusingu J, Olotu A, Leach A, Lievens M, Vekemans J, et al. Efficacy of RTS,S/AS01E Vaccine against Malaria in Children 5 to 17 Months of Age. *New England Journal of Medicine* [Internet]. 11 déc 2008 [cité 26 sept 2018];359(24):2521-32. Disponible sur: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0807381>
66. Guttinger M, Caspers P, Takacs B, Trzeciak A, Gillessen D, Pink JR, et al. Human T cells recognize polymorphic and non-polymorphic regions of the Plasmodium falciparum circumsporozoite protein. *EMBO J*. août 1988;7(8):2555-8.
67. Kumar S, Miller LH, Quakyi IA, Keister DB, Houghten RA, Maloy WL, et al. Cytotoxic T cells specific for the circumsporozoite protein of Plasmodium falciparum. *Nature*. 21 juill 1988;334(6179):258-60.
68. Sinigaglia F, Guttinger M, Kilgus J, Doran DM, Matile H, Etlinger H, et al. A malaria T-cell epitope recognized in association with most mouse and human MHC class II molecules. *Nature*. 22 déc 1988;336(6201):778-80.
69. ZOUNAGRABE. étude de l'efficacité hématologique, clinique et parasitologique de la chloroquine et la sulfadoxine-pyriméthamine dans le traitement de l'accès palustre simple de l'enfant dans la région de Bobo-Dioulasso de 1997 à 1999 [These de pharmacie]. Bamako; 2001.
70. OMS. Severe falciparum malaria. World Health Organization, Communicable Diseases Cluster. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. avr 2000;94 Suppl 1:S1-90.
71. Pierre A. Diplôme de Médecine Tropicale des Pays de l'Océan Indien. Paludisme. *usttb*; 2007.
72. White NJ. Cardiotoxicity of antimalarial drugs. *Lancet Infect Dis*. août 2007;7(8):549-58.
73. Berkley J., Mwarumba, S., Bramham, K., Lowe, B. & Marsh, K. Bacteraemia complicating severe malaria in children. - PubMed - NCBI. 1999;
74. Akinyemi KO, Bamiro BS, Coker AO. Salmonellosis in Lagos, Nigeria: Incidence of Plasmodium falciparum-associated Co-infection, Patterns of Antimicrobial Resistance, and Emergence of Reduced Susceptibility to Fluoroquinolones. *J Health Popul Nutr* [Internet]. sept 2007 [cité 27 sept 2018];25(3):351-8. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2754035/>
75. Okie S. Betting on a Malaria Vaccine. *New England Journal of Medicine* [Internet]. 3 nov 2005 [cité 26 sept 2018];353(18):1877-81. Disponible sur: <https://doi.org/10.1056/NEJMp058217>
76. Coulibaly D, Diallo DA, Thera MA, Dicko A, Guindo AB, Koné AK, et al. Impact of pre-season treatment on incidence of falciparum malaria and parasite density at a site for testing malaria vaccines in Bandiagara, Mali. *Am J Trop Med Hyg*. déc 2002;67(6):604-10.
77. Duffy P. E., Kaslow D. C. A novel malaria protein, Pfs28, and Pfs25 are genetically linked and synergistic as falciparum malaria transmission-blocking vaccines. 1997;

78. Arama C, Giusti P, Boström S, Dara V, Traore B, Dolo A, et al. Interethnic differences in antigen-presenting cell activation and TLR responses in Malian children during *Plasmodium falciparum* malaria. *PloS One*. 2011;6(3):e18319.
79. Arama C. Novel immunization strategies and interethnic differences in response to malaria infection. *DIVA*. 2012;
80. Corran PH, Cook J, Lynch C, Leendertse H, Manjurano A, Griffin J, et al. Dried blood spots as a source of anti-malarial antibodies for epidemiological studies. *Malaria Journal* [Internet]. 30 sept 2008 [cité 26 sept 2018];7(1):195. Disponible sur: <https://doi.org/10.1186/1475-2875-7-195>
81. Hardelid P, Willams D, Dezateux C, Tookey PA, Peckham CS, Cubitt WD, et al. Analysis of rubella antibody distribution from newborn dried blood spots using finite mixture models. *Epidemiol Infect* [Internet]. déc 2008 [cité 26 sept 2018];136(12):1698-706. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2870791/>
82. Diarra K. Impact de la chimioprévention du paludisme saisonnier (CPS) sur la parasitémie, l'anémie et les anticorps antipalustres chez les enfants âgés de 3 à 59 mois avant et après la saison de transmission dans le district sanitaire de Oueléssébougou en 2014, Mali. *usttb*; 2016.
83. Diawara F, Steinhardt LC, Mahamar A, Traore T, Kone DT, Diawara H, et al. Measuring the impact of seasonal malaria chemoprevention as part of routine malaria control in Kita, Mali. *Malaria Journal*. 10 août 2017;16(1):325.
84. Mahamar A, Issiaka D, Barry A, Attaher O, Dembele AB, Traore T, et al. Effect of seasonal malaria chemoprevention on the acquisition of antibodies to *Plasmodium falciparum* antigens in Ouelessebouyou, Mali. *Malar J*. 2017;16(1):289.
85. Ndiaye M, Sylla K, Sow D, Tine R, Faye B, Ndiaye JL, et al. Potential Impact of Seasonal Malaria Chemoprevention on the Acquisition of Antibodies Against Glutamate-Rich Protein and Apical Membrane Antigen 1 in Children Living in Southern Senegal. *Am J Trop Med Hyg*. oct 2015;93(4):798-800.

## 11 Fiche signalétique



**Nom :** Youssouf

**Prénom :** Ahamadou

**Nationalité :** Malienne

**Année de soutenance :** 2019

**Ville de soutenance :** Bamako

**Titre :** Les effets à long terme de la chimioprévention du paludisme saisonnier (CPS) sur l'acquisition des anticorps aux antigènes de *Plasmodium falciparum* à Ouelessebougu, Mali.

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

**Secteurs d'intérêt :** Santé publique, Parasitologie, Immunologie et Epidémiologie.

**Résumé:** La chimioprévention du paludisme saisonnier (CPS) est une nouvelle stratégie visant à réduire la charge de morbidité du paludisme chez les jeunes enfants dans les pays sahéliens. Elle consiste à administrer un traitement complet de la sulfadoxine-pyriméthamine plus l'amodiaquine aux enfants à intervalles mensuels pendant la saison du paludisme. Cependant, il n'est pas clair s'il y a un effet cumulatif de la CPS au fil du temps sur l'acquisition d'anticorps contre les antigènes du paludisme. Une enquête transversale a été réalisée 1 mois après le dernier passage de la CPS en 2017 à Ouelessebougu. Les enfants âgés de 46 à 65 mois ont été choisis de façon aléatoire dans des zones où la CPS a été administrée pendant 2 et 4 ans. La sélection était basée sur les enfants âgés de 46 à 65 mois recensés dans les localités pour permettre d'avoir des enfants d'âges comparable entre les deux zones de CPS). Le dosage des anticorps a été fait par la technique d'ELISA. Dans le groupe 4 ans de CPS, la séroprévalence était de 95,7% ; 84,8% et 92,4% respectivement pour AMA1, MSP1 et CSP. Ces proportions étaient comparables à celles observées dans le groupe 2 ans de CPS avec respectivement 88,7% ; 85,7% et 80,7% pour AMA1, MSP1 et CSP. Cette étude nous a montré que l'exposition à la CPS ne diminue pas la séropositivité aux anticorps anti palustres.

**Mots clés :** Chimioprévention saisonnière du paludisme, Séropositivité, Anticorps

**Last name:** Youssouf

**First name:** Ahamadou

**Nationality:** Malian

**Year of completion:** 2019

**City of defense:** Bamako

**Filing location:** Library of the Faculty of Pharmacy and Faculty of Medicine and Dentistry.

**Relevant area of Interest:** Public Health, Parasitology, Immunology and Epidemiology

**Title:** The long-term effects of seasonal malaria chemoprevention (SMC) on the acquisition of antibodies to *Plasmodium falciparum* antigens in Ouelessebougu, Mali.

**Abstract:** Seasonal Malaria Chemoprevention (SMC) is a new strategy to reduce the burden of malaria disease among young children in Sahelian countries. It consists of the administration of full treatment courses of sulfadoxine-pyrimethamine plus amodiaquine to children at monthly intervals during the malaria season. However, it is not clear whether there is a cumulative effect of SMC over time on the acquisition of antibodies against malaria antigens. A cross-sectional survey was conducted 1 month after the last dose of SMC in 2017. Children aged 46 to 65 months were randomly selected in areas where SMC was administered for 2 and 4 years during the malaria season. Children were randomly selected from the list of children aged 46 to 65 months in localities to allow for children of comparable age between SMC groups. Antibodies extracted from filter paper were used to measure IgG levels at CSP, MSP-142 and AMA1. Antibodies specific to each of the 3 malaria antigens were measured by Enzyme-linked ImmunoSorbent Assay (ELISA). In four years SMC group, seroprevalence were higher with 95.7%; 92.4% and 84.8% respectively for AMA1, MSP1 and CSP. The proportions were similar in 2 years SMC group with respectively 88.7%; 85.7% and 80.7% for AMA1, MSP1 and CSP. This study showed that exposure to SMC does not decrease the seropositivity against malarial antibody.

**Key words:** Seasonal malaria chemoprevention, Seropositivity, Antibody

## ***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 couverte d'opprobre et méprisée de mes confrères si j'y manque. »

**Je le jure**