UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR

ECOLE DOCTORALE DES SCIENCES DE LA VIE, DE LA SANTE ET DE L'ENVIRONNEMENT

FACULTE DE MEDECINE, DE PHARMACIE
ET D'ODONTO-STOMATOLOGIE

Année : 2016 **N° d'ordre : 186**

THESE DE DOCTORAT

Formation doctorale : **Biologie et Pathologies Humaines**
Spécialité : **Parasitologie-Mycologie**

Présentée et Soutenue par : **Dr Khadime SYLLA**

09 Janvier 2016

Paludisme à *Plasmodium falciparum* au Sénégal : Surveillance séro-épidémiologique et Evaluation de l'impact de la Chimioprévention du Paludisme Saisonnier (CPS) sur le statut immunitaire des enfants vivant au Sud du Sénégal

JURY

Président :	M. Oumar GAYE	Professeur FMPO/UCAD
Rapporteurs :	Mme Maguette Dème SYLLA NIANG	MCA FMPO/UCAD
	M. Jean Louis Abdourahim NDIAYE	MCA UFR Santé Thiès
	M. Cheikh SOKHNA	Chercheur IRD/Dakar
Examinateurs :	M. Cheikh Tidiane NDOUR	Professeur FMPO/UCAD
	M. Yémou DIENG	MCA FMPO/UCAD

Directeur de thèse : M. Babacar FAYE Professeur UFR Santé-UGB

DEDICACES ET REMERCIEMENTS

DEDICACES ET REMERCIEMENTS

DEDICACE :

A ma tante KHADY SOUGOU rappelée à Dieu le 01 Septembre 2015. Tu seras toujours gravée dans nos mémoires. Tu as été et resteras toujours un modèle pour toute la famille. Reposes en paix à Bakhiya. Qu'Allah t'accueille dans son paradis.

A ma mère AÏDA SOUGOU, ce travail est encore le fruit de tes sacrifices. Que DIEU le tout puissant vous accorde une longue vie et bonne santé. Merci pour tout.

A ma femme Mame Fatou BA, ton soutien a été déterminant dans la réalisation de ce travail. Tu as su me comprendre, m'écouter et me soutenir dans des moments difficiles. Je ne te remercierai jamais assez d'être présente dans ma vie.

A mon fils, mon marabout Serigne Saliou MBacké SYLLA. Q'Allah le tout puissant te donne longue vie, une bonne santé et guide tes pas sur le droit chemin.

A toute ma famille pour leur soutien et leurs prières.

REMERCIEMENTS :

Au Pr Oumar Gaye pour m'avoir accueilli et pour m'avoir initié à la recherche.

Au Pr Babacar Faye, un grand merci pour m'avoir encadré à faire ce travail.

Aux membres du jury qui ont accepté spontanément d'évaluer et de juger ce travail.

Au Pr Yemou Dieng, m'avoir accueilli au sein du laboratoire de Parasitologie du CHU de Fann. Merci pour la patience, la compréhension, l'encadrement et les conseils.

Au Pr Cheikh Tidiane Ndour, merci pour les conseils et pour l'encadrement.

Au Pr Roger Tine à qui je dis merci du fond du cœur. Ton soutien a été considérable durant tout le processus qui a abouti à la réalisation de ce document.

Au Pr Daouda NDiaye, pour ses conseils, sa disponibilité et pour tout le soutien.

Au Dr Patrick Duffy du NIH/NIAID, un grand merci pour tout le soutien.

Au Dr Ibrahima Diouf, Dr Aïssatou Sarr et Marie Louise, merci pour votre soutien.

Je me souviendrai toujours des moments passés ensemble dans l'unité d'immunologie.

A mes collègues Doudou Sow (Boy happy), Magatte Ndiaye (Gaïndé), Souleye Lélo, Aïda Sadikh Badiane, Mamadou Ndiaye, Mame Cheikh Seck, Annie Abiola, Aminata Colle Lô, Marie Huguette Ndiaye et à l'ensemble du personnel du Service de Parasitologie de la Faculté de Médecine et du CHU de Fann, un grand merci.

TABLE DES MATIERES

ACRONYMES ET ABBREVIATIONS 8

RESUME 10

INTRODUCTION 1

1. Contexte et Justification 1

2. Objectifs 3

CHAPITRE 1 : GENERALITES SUR LE PALUDISME 5

I. DEFINITION 6

II. SITUATION DU PALUDISME 6

1. Dans le monde 6

2. Au Sénégal 7

III. INDICATEURS EPIDEMIOLOGIQUES 9

IV. BIOLOGIE DU PARASITE 11

1. Cycle de développement du parasite 11

1. Mécanismes d'échappement de *Plasmodium falciparum* à la réponse immune 13

V. PALUDISME ET IMMUNITE 15

1. Notions générales sur le paludisme et l'immunité 15

2. Facteurs génétiques de l'hôte conditionnant la susceptibilité à l'infection par *Plasmodium falciparum* 16

3. Immunité anti-palustre 17

VI. LUTTE CONTRE LE PALUDISME 21

1. La prise en charge correcte des cas 21

2. Le traitement préventif intermittent 22

3. La lutte anti-vectorielle 23

4. Stratégies des 3 T de l'organisation mondiale de la santé (OMS) 24

VII. EVALUATION DE LA LUTTE ANTIPALUDIQUE 25

1. La zone écologique 25

2. La dynamique de la transmission 25
3. Les infections plasmodiales 26
3. La réponse immune 27
4. Morbidité et mortalité liées au paludisme 27
5. Chimio-sensibilité de *Plasmodium falciparum* 27
CHAPITRE 2 : PATIENTS ET METHODES 28
1. Cadre d'étude 29
2. Type et période d'étude 31
3. Population d'étude 32
4. Collecte de données 32
5. Examens au laboratoire des prélèvements 32
6. Traitement des sujets 35
7. Saisie et analyse des données 35
8. Considérations éthiques 35
CHAPITRE 3: RESULTATS 36
Etude 1 : Evaluation séro-épidémiologique du paludisme à *Plasmodium falciparum* au Sénégal 37
1. Résumé 38
2. Manuscript 38
Etude 2: Potentiel impact de la Chimioprévention du Paludisme Saisonnier (CPS) sur l'acquisition des anticorps anti-GLURP_R0 et anti AMA1 chez les enfants vivant au Sud du Sénégal 47
1. Résumé 48
2. Manuscript 48
Etude 3: Effets immunologiques de la Chimioprévention du Paludisme Saisonnier (CPS) avec la Sulfadoxine-Pyrimethamine (SP) et l'Amodiaquine (AQ) chez les enfants de moins de 10 ans vivant à Vélingara 52
1. Abstract 56
2. Background 56

3. Methods 57
4. Results 60
5. Discussion 63
6. References 66
CHAPITRE 4 : DISCUSSION GENERALE, CONCLUSION ET PERSPECTIVES 76
1. Discussion générale 77
2. Conclusion et perspectives 81
BIBLIOGRAPHIE 82

ACRONYMES ET ABBREVIATIONS

ADN : Acide Desoxy-Ribonucleique

ADCI: Antibody Dependent Cellular Inhibition

AID: Aspersion Intra Domiciliare

AMA: Apical Membran Protein

AQ : Amodiaquine

ASC : Agent de Sante Communautaire

CIDR1: Cysteine-rich inter-domain region 1

CD : Cluster of differenciation

CMH : Complexe Majeur d'Histocompatibilité

CSA : Chondroïtine sulfate A

CPS : Chimioprévention du Paludisme Saisonnier

CSP: Circum Sporozoït Protein

CTA : Combinaison Thérapeutique à base de dérivés d'Artemisinine

DBL : Duffy-binding-like

EDS : Enquête Démographique et de Santé

ELISA : Enzym Linked Immuno-Sorbent Essay

GE : Goutte Epaisse

GLURP : Glutamate Rich protein

G6PD : Glucose-6-Phosphate-Déhysdrogénase

Hb : Hémoglobine

HRP2 : Histidin Rich Protein-2

ICAM-1 : Inter Cellular Adhesion Molecule 1

Ig : Immunoglobuline

IL : Interleukine

IM : Intramusculaire

INF : Interferon

IP : Indice plasmodique

IS : Indice splénique

IV : Intraveineuse

MILDA : Moustiquaire Imprégnée à Longue Durée d'Action

MSP: Merozoït Surface Protien

NK : Natural Killer

NO : Nitrate d'oxyde

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

ORa : Odd Ratio Ajusté

***Pf*EMP-1** : *Plasmodium falciparum* Erythrocyte Membrane Proteine 1

PII : Pulvérisation Intra Domiciliaire

PCR : Polymerase Chain Reaction

PECADOM : Prise en Charge à Domicile des Cas de Paludisme

PLDH : Protein Lactate Déshydrogénase

PNLP : Programme National de Lutte contre le Paludisme

QBC : Quantitative Buffy Coat

SD : Standard Deviation

SP : Sulfadoxine-Pyrimethamine

TDR : Test de Diagnostic Rapide

TCR : T Cell receptor

TLR : Toll Like Receptors

TNF : Tumor Necrosis factor

TPI : Traitement Préventif Intermittent

UV : Ultra-Violet

RESUME

RESUME

Au Sénégal, la combinaison des mesures de lutte antipaludique a permis de réduire fortement le fardeau du paludisme dans les populations humaines. Devant cette baisse de la morbi-mortalité palustre, le programme national de lutte contre le paludisme dans son plan stratégique 2011-2015 s'est inscrit dans un processus d'accélération du contrôle du paludisme en vue de l'atteinte du seuil épidémiologique de pré-élimination. Dans l'optique de cette pré-élimination, il devient important de mettre en place un système de surveillance afin de documenter l'impact des stratégies de lutte sur le fardeau du paludisme. A ce titre, la sérologie est proposée comme étant un outil fiable et sensible permettant d'évaluer l'impact des mesures de lutte sur la transmission mais également sur l'immunité des populations. L'objectif général de ce travail était d'évaluer l'apport de la sérologie dans la surveillance du paludisme à *Plasmodium falciparum* et dans la mesure de l'impact de certaines interventions au Sénégal. Pour ce faire trois études transversales ont été réalisées. Une étude évaluant la situation séro-épidémiologique du paludisme à *Plasmodium falciparum* à Vélingara et à Keur Socé (Kaolack) a été réalisée entre Septembre et Octobre 2010. Cette étude a montré une prévalence du paludisme à *Plasmodium falciparum* de 4,99% avec une prévalence plus élevée à Vélingara (10,3%) comparée à Keur Socé (0,3%). La séroprévalence des anticorps anti-AMA1, anti-MSP1 et anti-CSP était respectivement de 38,12%, 41,55% et de 40,38%. En fonction de la zone, la séroprévalence de ces anticorps était plus importante à Vélingara comparée à Keur Socé ($p<10^{-3}$). Ces résultats ont montré que la sérologie pourrait ainsi permettre une meilleure documentation des infections parasitaires sub-microscopiques, notamment dans des zones à faible transmission.

Deux autres études transversales ont été réalisées en 2010 et 2011 au Sud du Sénégal, évaluant l'impact de la chimioprévention du paludisme saisonnier avec la avec la Sulfadoxine-Pyrimethamine (SP) et l'Amodiaquine (AQ) sur le statut immunitaire des enfants de moins de 10 ans vivant au Sud du Sénégal.

Ces études ont montré que cette stratégie est efficace pour la prévention du paludisme saisonnier de l'enfant mais entraine une réduction de la production des anticorps anti-MSP1$_{_42}$, anti-AMA1 et anti-GRURP_R0 qui sont associés à la protection contre le paludisme.

Ce travail réalisé dans deux différents faciès épidémiologiques du Sénégal a permis de donner des informations de base sur la situation séro-épidémiologique du paludisme à *Plasmodium falciparum* et des informations sur les effets de la chimioprévention du paludisme saisonnier sur le statut immunitaire des enfants.

Dans les zones éligibles à la pré-élimination du paludisme, les marqueurs sérologiques pourraient être un bon outil de surveillance et d'évaluation de l'impact de certaines interventions.

INTRODUCTION

INTRODUCTION

1. Contexte et Justification

Avec 216 millions de nouveaux cas cliniques et plus 655000 millions de décès par an, le paludisme pose toujours un problème majeur de santé publique dans le monde. Plus de 90 % des cas cliniques et décès surviennent en Afrique subsaharienne principalement chez les enfants [1].

Cette situation, justifie la nécessité de renforcer les mesures de lutte antipaludique dans les zones où la maladie reste endémique. La lutte antipaludique s'articule essentiellement autour (i) du diagnostic et de la prise en charge précoce des cas utilisant les tests de diagnostic rapide (TDR) et les combinaisons thérapeutiques à base de dèrivès d'artémisinine (CTA); (ii) l'utilisation des moustiquaires imprégnées d'insecticides, (iii) les aspersions intradomiciliaires (AID), (iv) le traitement préventif intermittent (TPI).

Récemment, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a recommandé l'expansion des mesures de lutte antipaludique au niveau communautaire dans le but d'accélérer le processus d'élimination du paludisme.

En réponse à l'appel de l'OMS, le Programme National de Lutte contre le Paludisme (PNLP) du Sénégal a initié la prise en charge communautaire du paludisme sous la désignation de PECADOM (prise en charge à domicile des cas de paludisme) [2].

La PECADOM est confiée à des dispensateurs de soins à domicile ou à des agents de santé communautaire. Elle inclue l'utilisation de tests de diagnostic rapide pour la confirmation des cas et des CTA pour le traitement des formes simples de paludisme. L'utilisation des moustiquaires imprégnées ainsi que les AID font également partie intégrante du dispositif de lutte antipaludique actuellement mis en œuvre au niveau du Sénégal. A cela s'ajoute le traitement préventif intermittent à la Sulfadoxine-Pyrimethamine (SP) chez la femme enceinte [3-5].

Dans le souci de renforcer la lutte antipaludique chez les enfants, la chimioprévention du paludisme saisonnier (CPS) anciennement appelée le traitement préventif intermittent saisonnier a été développée. Il consiste à administrer à des enfants 3 doses d'antipaludiques à un mois d'intervalle durant la période de transmission.

Cette nouvelle approche a donné des résultats satisfaisants en termes de réduction de la morbi-mortalité palustre chez les enfants. Ceci a été démontré au Sénégal par une étude

réalisée par Cissé et al qui avaient montré une réduction de 86% de l'incidence du paludisme chez enfants sous traitement préventif intermittent saisonnier [6].

De même en Tanzanie, Schellenberg et al avaient montré un effet protecteur de 36% de cette stratégie [7].

Cette nouvelle stratégie préventive vient renforcer les mesures de lutte antipaludique déjà existantes. La combinaison de ces mesures de lutte antipaludique a fortement contribué à une réduction considérable du fardeau du paludisme au niveau des communautés.

Au Sénégal, la mise en œuvre combinée de ces stratégies a permis de réduire considérablement la morbi-mortalité liée au paludisme. C'est ainsi qu'avec l'avènement des tests de diagnostic rapide du paludisme et l'utilisation des combinaisons thérapeutiques à base de dérivés d'artémisinine, l'incidence du paludisme est passée de 130 cas pour 1000 habitants en 2006 à 14 cas pour 1000 habitants en 2009. La morbidité palustre est passée de 22,2 % en 2007 à 5,62 % en 2008 et à 3,07% en 2009 [8].

Devant cette baisse de la morbi-mortalité palustre, le programme national de lutte contre le paludisme dans son plan stratégique 2011-2015 s'est inscrit dans un processus d'accélération du contrôle du paludisme en vue de l'atteinte du seuil épidémiologique de pré-élimination.

Dans l'optique de cette pré-élimination, il devient important de mettre en place un système de surveillance du paludisme afin de documenter l'impact des stratégies de lutte antipaludique sur le fardeau du paludisme.

A ce titre, la sérologie est proposée comme étant un outil fiable et sensible permettant d'évaluer l'impact des mesures de lutte antipaludique sur la transmission mais également sur l'immunité des populations [9-11].

Plusieurs antigènes de *Plasmodium falciparum* ont été étudiés pour évaluer le niveau de transmission et l'impact sur l'immunité de l'hôte.

Pour évaluer le niveau de transmission du paludisme, l'antigène du stade pré-érythrocytaire le plus fréquemment utilisé est la Circum Sporozoïte Protein (CSP).

Les anticorps dirigés contre cette protéine sont corrélés au niveau et à la durée d'exposition à la transmission mais pas nécessairement aux infections plasmodiales.

Cette protéine est labile et disparait rapidement en l'absence d'exposition. Donc les réponses anticorps contre la CSP peuvent être utilisées pour estimer l'exposition à la transmission.

Les antigènes du stade érythrocytaire de *Plasmodium falciparum* comme Merozoïte Surface Protein 1 (MSP1), Apical Membrane Antigen (AMA1) et Glutamate Rich Protein (GLURP) avec des demi-vies plus longues reflètent l'exposition cumulée au paludisme et peuvent être utilisés comme indicateur du fardeau du paludisme.

L'analyse des réponses immunes contre l'antigène du stade pré-érythrocytaire (CSP) et contre les antigènes du stade érythrocytaire (MSP1, AMA1 et GLURP) permettrait dans le contexte de mise en œuvre combinée des interventions d'évaluer le niveau de transmission du paludisme et l'impact de certaines interventions sur l'immunité de l'hôte.

Plusieurs études réalisées dans le monde ont permis de montrer que ces marqueurs sérologiques pourraient être utilisés comme de bons indicateurs permettant d'évaluer la situation épidémiologique du paludisme et l'impact des interventions.

C'est ainsi qu'en Gambie, l'utilisation de l'antigène MSP1 comme marqueur a permis d'évaluer la situation séro-épidémiologique et l'hétérogénéité de la transmission du paludisme [12]. Au Madagascar, les antigènes $MSP1_{19}$ et CSP ont permis respectivement d'évaluer le poids et la transmission du paludisme au niveau de la population. Ceci dans le but de fournir au programme de lutte des informations pouvant leur permettre d'évaluer l'impact des stratégies mises en œuvre [9].

Au Sénégal, l'utilisation des marqueurs sérologiques a permis de documenter l'impact du traitement préventif intermittent sur le statut immunologique des enfants d'âge scolaire [13].

Dans les zones où la prévalence du paludisme est nette régression, les marqueurs sérologiques sont utilisés afin de mieux documenter le changement profil épidémiologique du paludisme et d'évaluer l'impact de certaines interventions [14-15].

C'est dans ce contexte que s'inscrit notre thèse dont le but était d'étudier l'apport des outils sérologiques dans la lutte contre le paludisme au Sénégal.

2. Objectifs

2.1. Objectif général

Evaluer l'apport de la sérologie dans la surveillance du paludisme à *Plasmodium falciparum* et dans la mesure de l'impact de certaines interventions au Sénégal.

2.2. Objectifs spécifiques :

- Evaluer la situation séro-épidémiologique du paludisme à *Plasmodium falciparum* au Sénégal ;

- Evaluer l'impact de la chimioprévention du paludisme saisonnier (CPS) avec la Sulfadoxine-Pyrimethamine (SP) et l'Amodiaquine (AQ) sur le statut immunitaire des enfants de moins de 10 ans vivant au Sud du Sénégal.

CHAPITRE 1 : GENERALITES SUR LE PALUDISME

I. DEFINITION

Le paludisme ou malaria est une maladie parasitaire fébrile due à la présence et à la multiplication dans l'organisme humain de protozoaires du genre *Plasmodium*. Ils sont transmis à l'homme par la piqûre de moustiques femelles infectés du genre anophèle. Cinq espèces sont à l'origine des différentes manifestations cliniques du paludisme :

- *Plasmodium malariae;*
- *Plasmodium vivax;*
- *Plasmodium ovale;*
- *Plasmodium falciparum;*
- *Plasmodium knowlesi*.

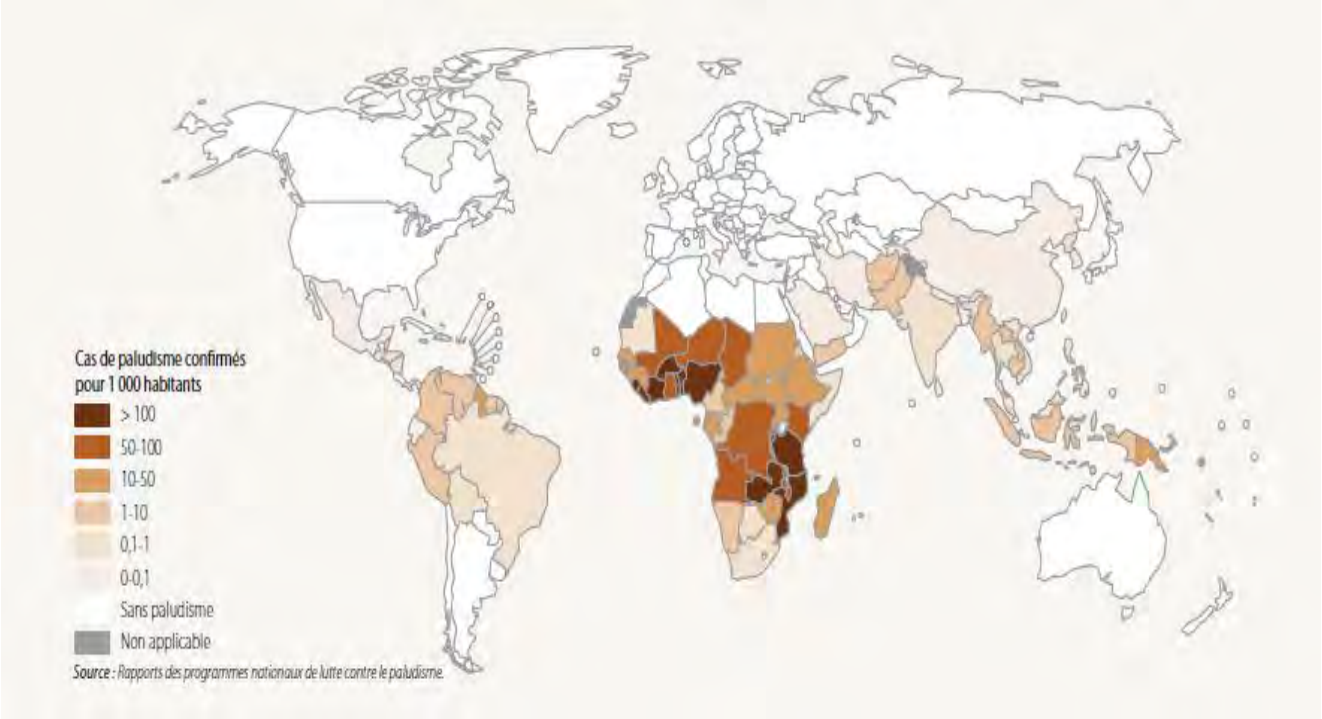
C'est une affection très répandue dans le monde, notamment dans les pays pauvres en Afrique, en Amérique latine et en Asie du Sud-Est [16].

II. SITUATION DU PALUDISME

1. Dans le monde

Le paludisme est pratiquement inexistant à une altitude supérieure à 2000 mètres. Sa répartition géographique théorique va de 60°C de latitude Nord à 40°C de latitude Sud. Il recouvre en fait « la ceinture de pauvreté du monde » qui concerne plus de cent pays essentiellement les plus pauvres d'Afrique, d'Asie, d'Amérique du Sud et du Centre. Selon l'OMS 3,2 milliards d'individus sont exposés au paludisme et le risque est élevé pour 1,2 milliard de personnes. Selon les dernières estimations, 198 millions de cas de paludisme (plage comprise entre 124 et 283 millions) et 584 000 décès associés (plage comprise entre 367 000 et 755 000) ont été recensés en 2013.

La maladie sévit plus particulièrement dans la région Afrique de l'OMS, 90 % des décès au niveau mondial y sont enregistrés, et parmi les enfants de moins de 5 ans qui représentent 78 % du nombre total de décès [17].



<u>Figure 1</u> : **Pays où la transmission du paludisme est active, 2013**

2. Au Sénégal

Au Sénégal, le paludisme sévit à l'état endémique avec une recrudescence saisonnière. L'essentiel de la transmission s'effectue au cours de la saison des pluies et en début de saison sèche, période favorable au développement des espèces vectrices. La saison de transmission dure 4 à 6 mois au niveau du faciès tropical et 1 à 4 mois au niveau du faciès sahélien. La population anophélienne du Sénégal est composée d'une vingtaine d'espèces dont trois assurent l'essentiel de la transmission : *Anopheles gambiae*, *Anopheles arabiensis* et *Anopheles funestus*.

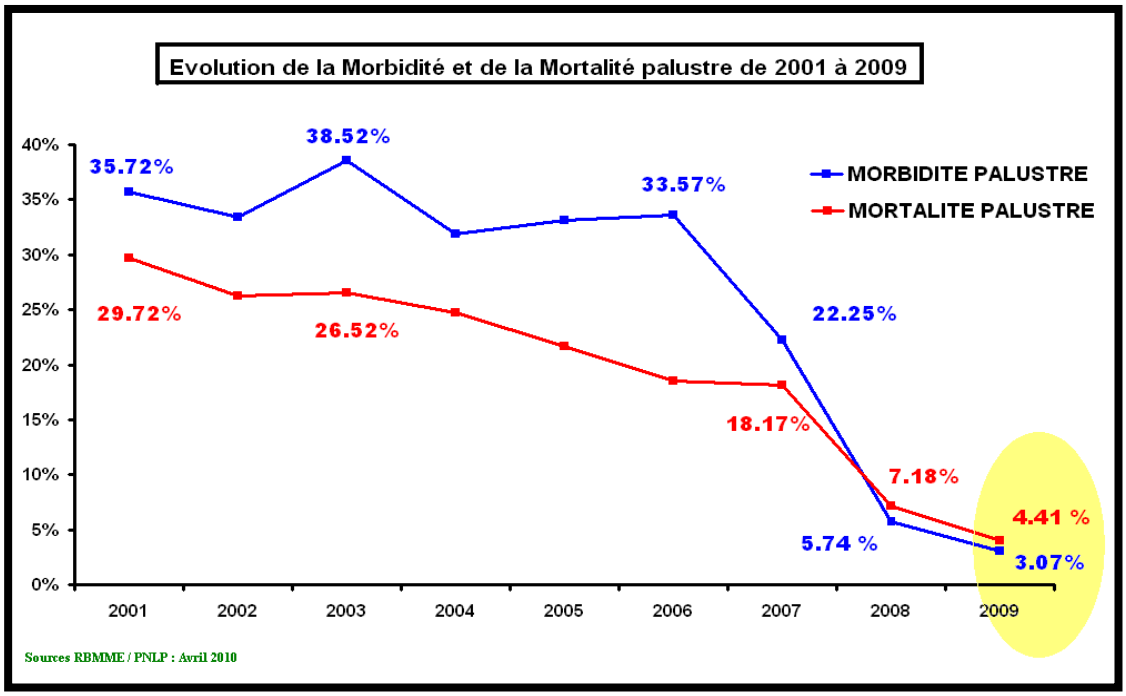
L'épidémiologie du paludisme a beaucoup changé avec l'avènement des tests de diagnostic rapide (TDR), des combinaisons thérapeutiques à bases de dérivés d'artémisinine (CTA) et avec la couverture universelle en moustiquaires imprégnées. La combinaison de ces stratégies a permis de réduire fortement le fardeau du paludisme au Sénégal.

L'incidence du paludisme est ainsi passée de 130 cas pour 1000 habitants en 2006 à 14 cas pour 1000 habitants en 2009. La morbidité palustre est passée de 22,2 % en 2007, à 5,62 % en 2008 et à 3,07% en 2009.

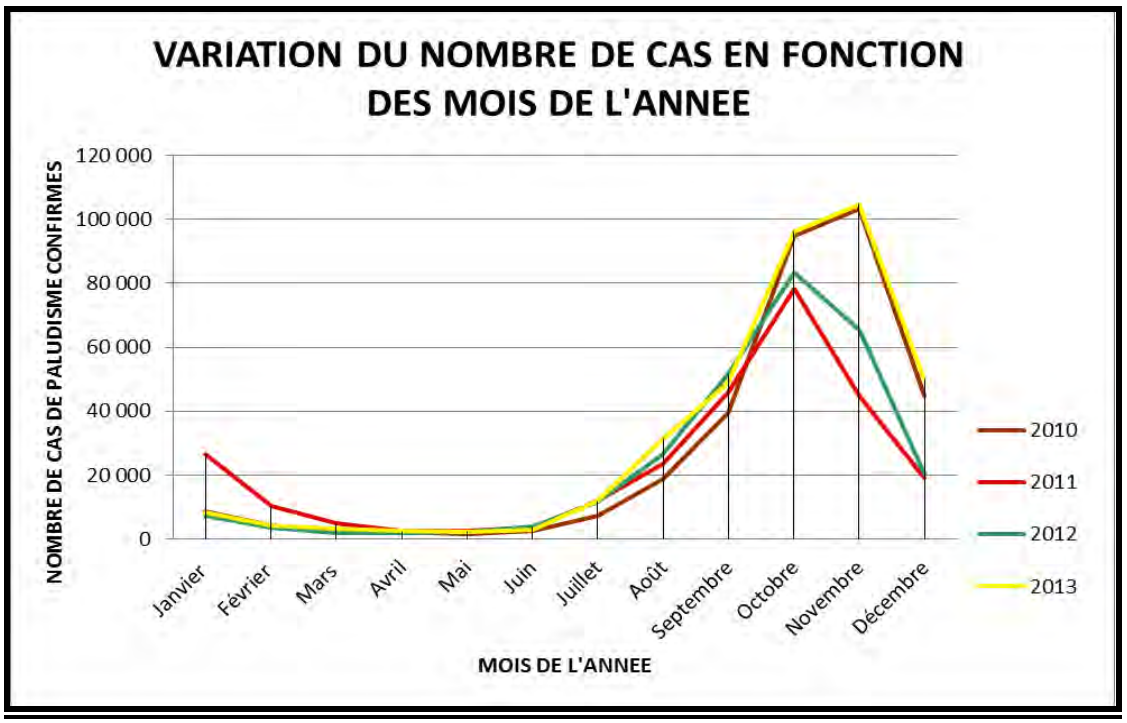
Les femmes enceintes et les enfants de moins de 5 ans en ont payé le plus lourd tribut mais la morbi-mortalité palustre a beaucoup baissé chez ces deux groupes cibles. En effet, chez les enfants de moins de 5 ans, le nombre de cas de paludisme a diminué de 408588 cas en 2006 à 30800 cas en 2009. Le nombre de décès dus au paludisme dans le même groupe cible est passé de 650 en 2006 à 216 en 2009. Pour les femmes enceintes, le nombre de cas de paludisme a diminué de 47859 en 2006 à 6749 en 2009. La mortalité palustre chez les femmes enceintes a chuté de 50 en 2006 à 10 en 2009.

L'évaluation de 2010 avait montré une baisse significative et progressive des indicateurs de morbidité et de mortalité du paludisme au Sénégal. Cette tendance avait guidé le choix du PNLP d'aller vers la pré-élimination du paludisme d'ici 2015, en adaptant les interventions d'efficacité prouvée aux 4 strates identifiées en fonction de l'incidence dans son plan stratégique 2010 – 2015. Mais il a été noté entre 2009 et 2013, une augmentation de l'incidence palustre passant ainsi de 14‰ à 27‰.

Ceci a conduit le PNLP à mettre en place un nouveau cadre stratégique 2014 – 2018 qui s'inscrit dans l'accélération du contrôle du paludisme en vue de l'atteinte du seuil épidémiologique de pré-élimination [8,18-21].



<u>Figure N°1</u> : Evolution de morbidité et de la mortalité palustre de 2001 à 2009



<u>Figure N°2</u> : Variation du nombre de cas incidents de paludisme de 2010 à 2013

III. INDICATEURS EPIDEMIOLOGIQUES

La paludométrie évalue l'intensité de l'endémie palustre à l'aide de certains indices dans la population humaine et dans la population vectrice.

1. Chez l'homme

- **L'indice splénique (IS)** : il représente le pourcentage de sujets porteurs de splénomégalie. Cet indice est apprécié chez les sujets de deux à neuf ans, non soumis à une chimiothérapie. Il est peu spécifique et reflète les réinfections successives.
- **L'indice plasmodique (IP) :** il représente le pourcentage de sujets examinés présentant des hématozoaires dans leur sang périphérique. Il renseigne sur le degré d'endémicité dans une collectivité. Chez l'enfant de moins d'un an, il reflète la fréquence des infections récentes. Chez l'adolescent et l'adulte, il informe sur le degré d'immunité de la population considérée.
- **L'indice gamétocytaire :** il représente le pourcentage de sujets porteurs de gamétocytes dans la population humaine. Il indique le potentiel infectant de la population vis à vis des anophèles et donc le risque d'infectivité.

- **L'indice séro-épidémiologique :** il est déterminé par la moyenne géométrique des titres d'anticorps spécifiques obtenus chez des sujets donnés [22-23].

Les valeurs de ces différents indices déterminent les zones d'hypo-endémicité, de méso-endémicité, d'hyper-endémicité et d'holo-endémicité (cf. tableau I).

Tableau I : Définition des régions d'endémicité palustre

Zone hypo-endémique	IS entre 0 et 10 %, IP inférieur à 25 %
Zone méso-endémique	IS entre 11 et 50 %, IP entre 26 et 50 %
Zone hyper-endémique	IS entre 51 et 75 %, IP entre 51 et 75 %
Zone holo-endémique	IS supérieur à 75 %, IP supérieur à 75 %

2. Chez le vecteur

- **L'indice sporozoïtique :** il représente le pourcentage d'anophèles d'une espèce donnée chez lesquelles les glandes salivaires disséquées dans les vingt-quatre heures suivant la capture contiennent des sporozoïtes.
- **L'indice oocystique :** il représente le pourcentage d'anophèles femelles d'une espèce donnée chez lesquelles une dissection exécutée dans les vingt-quatre heures suivant la capture établit la présence d'oocystes dans l'estomac.

3. Notion de facies épidémiologiques

On appelle faciès épidémiologique, une région ou un ensemble de régions où le paludisme présente dans ses manifestations pathologiques, des caractères communs liés aux modalités de transmission du parasite. Dans cette notion de faciès sont intégrées les caractéristiques climatiques et phytogéographiques (forêt, savane, sahel, steppe, plateaux et zones montagnardes).

Plusieurs faciès ont été décrits :

- les faciès équatorial et tropical où le paludisme est stable et présent tout au long de l'année. Toute la population est touchée et développe une immunité prémunition pendant la première enfance, au prix d'une mortalité infanto-juvénile élevée, les adultes étant ensuite peu touchés par la maladie ;

- le faciès sahélien où la stabilité du paludisme est intermédiaire ;
- le faciès désertique et montagnard où le paludisme est instable. L'irrégularité de la transmission empêche le développement d'une prémunition et au cours de certaines années pluvieuses et /ou chaudes, des épidémies touchant presque toutes les classes d'âge peuvent éclater [24-25].
- **Le cas particulier du paludisme urbain à Dakar:** en milieu urbain, la transmission est globalement beaucoup plus faible qu'en milieu rural. Cela explique le niveau d'immunité plus faible des populations urbaines. On assiste depuis quelques années à une urbanisation accélérée du paludisme. De plus en plus de sujets naîtront et vivront en permanence dans les villes où la transmission anophélienne est faible voire nulle**.**

  Ils n'acquerront pas d'immunité de prémunition et s'infecteront essentiellement à l'occasion de brefs séjours en zone rurale et pourront développer quelques soit l'âge des formes graves de paludisme.

IV. BIOLOGIE DU PARASITE

1. Cycle de développement du parasite

Il comporte trois stades dont deux se déroulent chez l'homme et un chez le moustique :

- 1er stade : stade tissulaire ou schizogonie hépatique ;
- 2eme stade : stade sanguin ou schizogonie érythrocytaire ;
- 3eme stade : stade sporogonique ou sporogonie.

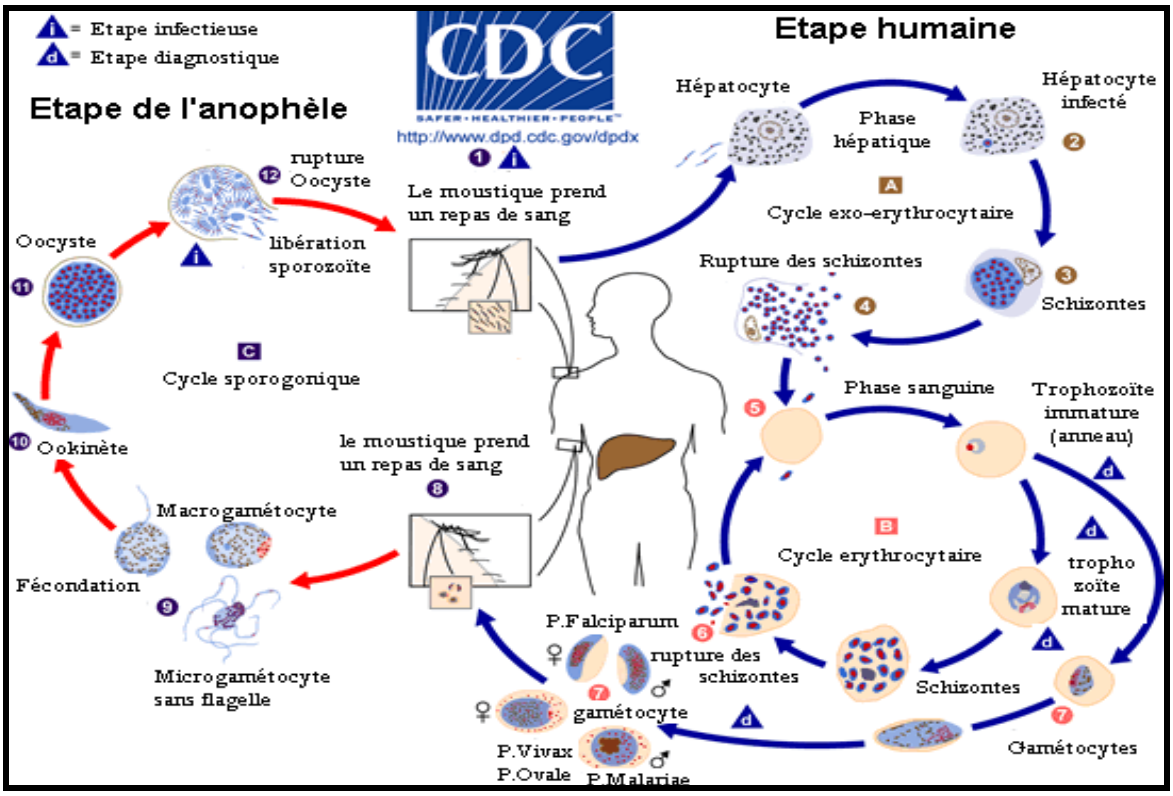


Figure N°3 : **Cycle évolutif du *Plasmodium falciparum* chez l'homme et l'anophèle**

1.1. Stade tissulaire ou schizogonie hépatique

Lors de son repas sanguin, l'anophèle femelle injecte à l'homme des sporozoïtes contenus dans ses glandes salivaires. Ces sporozoïtes sont des éléments fusiformes, allongés et mobiles. Ils vont circuler dans le sang et arriver une heure plus tard environ dans le foie afin d'y poursuivre leur développement.

Après pénétration dans l'hépatocyte, le sporozoïte s'arrondit et donne un trophozoïte. Le trophozoïte va accroître son noyau pour donner un trophozoïte âgé. Le trophozoïte âgé se transforme en schizonte par division de son noyau en plusieurs petits noyaux.

Ce dernier bourre la cellule hépatique qui éclate par la suite. Le temps écoulé entre la pénétration du sporozoïte dans l'hépatocyte et l'éclatement de cette cellule est d'environ trois semaines. Certaines espèces comme le *P ovale* et *P vivax* peuvent avoir un développement ralenti au niveau du premier cycle. Ils restent bloqués à l'état d'hypnose : on les appelle hypnozoïtes. Ils ne reprennent leur développement que tardivement. Ces espèces sont responsables des rechutes tardives.

1.2. Stade sanguin ou schizogonie érythrocytaire

En éclatant, la cellule hépatique libère des mérozoïtes. Certains mérozoïtes sont phagocytés, mais la plupart infectent les globules rouges et s'y multiplient. Ils se transforment en trophozoïte jeune puis se développent et donnent le trophozoïte âgé. Ce trophozoïte âgé subit une phase de développement nucléaire et de division donnant le schizonte ou la rosace. Finalement, on aboutit à la formation d'une hématie remplie de mérozoïtes. Elle éclate à son tour et libère les mérozoïtes ainsi que des pigments.

Ce cycle, allant de la pénétration du mérorozoïte à l'intérieur du globule rouge à l'éclatement de celui-ci, dure 48 heures pour *P. falciparum*, *P.vivax*, et *P. ovale*. Elle dure 72 heures pour *P. malariae*. Cette phase d'éclatement est à l'origine de l'accès fébrile survenant au cours de l'infection. La fièvre est de type tierce pour les *P. falciparum*, *P.vivax* et *P. ovale* et de type quarte pour *P. malariae.* Certains mérozoïtes parasitent à nouveau d'autres globules rouges, réalisant ainsi d'autres cycles de développement. D'autres mérozoïtes par contre se dotent d'un potentiel sexué et se transforment en gamétocytes femelles et mâles. Ces gamétocytes survivent 20 jours dans le sang puis disparaissent.

1.3. Stade sporogonique ou sporogonie

Les gamétocytes sont ingérés par le moustique lors de son repas sanguin. Dans l'estomac du moustique, la fécondation des gamétocytes femelles va donner des œufs mobiles appelés ookinétes qui vont traverser la paroi de l'estomac. Au niveau de sa face externe, ils vont donner des oocystes dans lesquels vont s'individualiser des sporozoïtes. L'éclatement de l'oocyste va libérer ces sporozoïtes qui gagneront avec prédilection les glandes salivaires de l'anophèle. Ce sont ces sporozoïtes qui seront inoculés à l'homme lors d'une nouvelle piqûre infectante [26-27].

1. Mécanismes d'échappement de *Plasmodium falciparum* à la réponse immune

Chez l'homme le parasite a besoin de proliférer et de survivre sans être détruit par la réponse immunitaire de l'hôte. Pour ce faire, *P falciparum* utilise différents mécanismes afin de contourner le système immunitaire de l'hôte et cela aboutit au développement d'une maladie qui peut devenir grave.

Les mécanismes les mieux connus incluent notamment la cyto-adhérence et la séquestration, la formation de rosettes (Rosetting) et la variation antigénique.

2.1. Cytoadhérence et Séquestration

La grande différence entre *P.falciparum* et les autres espèces de *Plasmodium* responsables du paludisme humain est la voie par laquelle *P.falciparum* modifie la surface des globules rouges afin de faciliter l'adhésion des parasites asexués et les gamétocytes respectivement à l'endothélium et au placenta. L'adhérence des globules rouges à l'endothélium protège le parasite de la destruction. En effet les globules rouges parasités matures non adhérés, sont rapidement éliminés dans la rate [28-30].

Le processus d'adhésion de *P.falciparum* dans lequel la plupart des parasites sont d'abord attachés puis s'enroulent avant de devenir fermement adhérents [31-32], est comparable à l'adhérence des leucocytes. La plupart des récepteurs de l'hôte sont impliqués dans l'attachement et l'enroulement mais sont incapables de supporter leur propre adhésion ferme [31-33].

La fixation à ces récepteurs de l'hôte est importante. Elle augmente significativement l'adhérence qui peut permettre au parasite de se fixer efficacement à l'endothélium des organes variés [34]. Seuls deux récepteurs, le CD36 et la chondroïtine sulfate A (CSA) fournissent une adhérence stable [31-33].

Une protéine parasitaire unique, la protéine 1 de la membrane érythrocytaire de *P.falciparum* (*Pf*EMP-1), qui est exprimée à la surface des globules rouges parasités catalyse la fixation à tous les récepteurs [28-30]. En effet, les parasites se fixant au CSA expriment *Pf*EMP-1 avec un domaine DBLγ (Duffy-binding-like) qui fixe la CSA et un CIDR1 (Cysteine-rich Inter-Domain Region) qui permet une fixation indépendante du CD36 [35-36].

La séquestration des parasites dans le cerveau peut être reliée au paludisme cérébral. Elle peut aussi être impliquée dans le récepteur de la molécule de l'adhésion intercellulaire (ICAM-1) [30]. Le rôle de la séquestration dans d'autres complications graves du paludisme demeure obscur.

2.2. Le rosetting

Les globules rouges infectés peuvent se lier aux globules non infectés pour former des rosettes. Si la liaison se fait entre globules rouges infectés, on parle d'agglutination. Agglutination et rosettes sont associées au paludisme sévère et à l'anémie [37-39]. Le

récepteur du complément (CR1) a été identifié comme un important récepteur de *PfEMP1* dans la formation des rosettes [40].

2.3. La variation antigénique

La variation antigénique a été découverte chez *P. knowlesi* [41]. *PfEMP1* est impliquée dans la variation antigénique du paludisme à *P. falciparum*. Avec environ 60 gènes *var* codant pour *PfEMP1* et un seul gène *var* dominant exprimé au stade adulte du parasite. *PfEMP1* a atteint une forme de variabilité qui permet au parasite de contourner le système immunitaire de l'hôte. De plus, les fréquentes recombinaisons et remaniements génétiques au cours des processus de fusion et de division dans le moustique et les érythrocytes humains peuvent entraîner une grande diversité génétique et antigénique du parasite [42]. L'affinité de *PfEMP1* à certains récepteurs de l'hôte pourrait déterminer la virulence du parasite [43].

Cette hypothèse est appuyée dans le cas du paludisme placentaire par le biais de DBLγ et DBL_{β} (Duffy Binding-Like) qui assurent l'adhésion du parasite au tissu placentaire à travers la CSA ou les immunoglobulines non-immunes. Un autre exemple appuyant la même hypothèse est l'existence chez la souche plasmodiale 3D7 des domaines CIDRα (Cysteine-rich Inter-Domain Regions) qui ont une affinité pour les récepteurs CD36 [44-45]. Ce qui revient à dire que certains parasites peuvent être plus virulents que d'autres et des souches de parasites telles que 3D7 qui ont plus de *gènes var* conservés dans leur centromère pourraient être plus virulentes [42].

V. PALUDISME ET IMMUNITE

1. Notions générales sur le paludisme et l'immunité

L'infection par *Plasmodium*, responsable du paludisme, engendre des réponses immunitaires de l'hôte. Ces réponses immunitaires sont régulées aussi bien par le système immunitaire non spécifique dit inné, par le système immunitaire spécifique ou acquis, que par des facteurs environnementaux.

Les deux types d'immunité sont complémentaires. L'immunité innée se mobilise dès le début (dans les premières heures) de toute infection en attendant la mise en place de l'immunité « acquise » qui est opérationnelle dans les dix jours suivant l'infection. L'immunité acquise est tout à la fois spécifique des stades de développement du parasite que des espèces parasitaires.

L'exposition des enfants vivant en zone d'endémie est très variable, de moins d'une piqûre infectante par personne tous les 10 ans dans des régions semi-désertiques ou dans de grandes agglomérations, à plus de mille piqûres infectantes par an dans des villages d'Afrique centrale. Chez des enfants exposés pour la première fois aux parasites, il peut exister un large éventail d'issue à l'infection non traitée: du décès à l'apparente résistance. Dans ce dernier cas, l'immunité peut être innée ou acquise activement ou passivement, par exemple par le transfert transplacentaire d'immunoglobulines maternelles. Les sujets adultes vivant dans les zones où le paludisme est endémique et où la transmission du parasite est pérenne, stable durant toute l'année, sont dits *semi immuns*, c'est-à-dire qu'ils ont une protection contre les formes graves de la maladie [46-47].

L'immunité acquise, contre le paludisme est ainsi associée aux faibles parasitémies et aux épisodes cliniques de la maladie tout au long de la vie [48].

En général, l'acquisition d'une immunité semi protectrice contre le paludisme est ainsi lente. Elle est associée à une exposition continue au parasite. Les personnes vivant dans les zones où la transmission est faible développant plus lentement leur immunité. Celle-ci est occasionnée par les piqûres répétées de l'anophèle, vecteur. L'acquisition de l'immunité semi protectrice est également retardée par divers autres facteurs. La variabilité génétique de l'hôte et celle du parasite en sont les facteurs majeurs. L'immunosuppression (ou inactivation du système immunitaire) induite par le parasite et d'autres causes inconnues à ce jour participeraient aussi à ce phénomène [49].

2. Facteurs génétiques de l'hôte conditionnant la susceptibilité à l'infection par *Plasmodium falciparum*

De nombreux facteurs génétiques humains ont été identifiés comme conférant un certain degré de résistance. La part des variations de la fréquence ou de l'intensité de l'infection ou de la maladie qui peut être attribuée à des facteurs génétiques dépend de l'espèce plasmodiale et du type de résistance clinique ou parasitologique. Elle serait de l'ordre de 10 à 15% dans une population du Srilanka. Des facteurs de résistance érythrocytaires ont été identifiés tels que les modifications de la chaîne bêta de l'hémoglobine (HbS, HbC et HbE), du taux de synthèse des chaînes de globine (alpha et bêta thalassémie), d'une enzyme érythrocytaire essentielle (Glucose-6-Phosphate-Déhysdrogénase, G6PD) et des caractères de la membrane ou du cytosquelette des érythrocytes (groupe sanguin Duffy, ovalocytose héréditaire, variant de la protéine de la bande 3). La démonstration de l'effet de ces facteurs

érythrocytaires repose souvent sur leur plus grande prévalence dans les zones où le paludisme est ou a été endémique. Même si leur effet protecteur est très faible, il est possible que la très longue exposition des populations à *P. falciparum* ait permis la sélection de ces facteurs.

L'effet protecteur du trait drépanocytaire (Hémoglobine AS) est celui qui a été le mieux documenté. Les globules rouges jeunes et les réticulocytes auraient une sensibilité plus grande à l'invasion par *P. falciparum*.

L'hémoglobine fœtale (F) disparaît normalement avant le 6ème mois de vie mais elle peut persister beaucoup plus longtemps chez les personnes atteintes de thalassémie. Les thalassémies confèrent un certain niveau de protection antipalustre mais aussi contre d'autres types d'infections. L'effet protecteur de la thalassémie n'a pas été constamment retrouvé.

Il est possible que cet effet apparent soit lié à des biais qui sont fréquents dans les études cas-témoins. Des facteurs génétiques non érythrocytaires impliqués dans la régulation de la réponse immunitaire pourraient aussi jouer un rôle dans la protection. Il a été montré chez des enfants gambiens que certains groupes HLA étaient associés à une protection contre le neuropaludisme et contre les anémies graves. D'autres facteurs génétiques de sensibilité au paludisme pourraient impliquer des récepteurs endothéliaux responsables de la cytoadhérence. Pour les facteurs impliqués dans la régulation des réponses immunologiques, les résultats obtenus dans des études cas témoins donnent des résultats discordants [11].

3. Immunité anti-palustre

3.1. Immunité innée

L'immunité innée se distingue de l'immunité acquise par le fait qu'elle s'active très rapidement, sans immunisation préalable, sans vaccination préalable. Elle se met en place dès le début de toute infection et se maintient jusqu'à la mise en place de l'immunité acquise. L'immunité innée est ainsi considérée comme la première ligne de défense de l'organisme. Elle aide à la mise en place de l'immunité acquise qui est plus ciblée et spécifique du pathogène.

Une fois parvenus dans l'organisme de l'hôte, les parasites gagnent certains types de cellules immunitaires dans lesquelles ils se développent. Des travaux ont montré que ce développement peut être empêché par le système immunitaire inné.

Les mécanismes innés de l'inhibition de la croissance des parasites par l'hôte humain seraient probablement la cause du faible taux de parasitémie observé au cours des infections aigues à *P. falciparum* [49].

De récentes études dans des systèmes non parasitaires ont permis de démontrer qu'une famille de protéines codées par la lignée germinale (les Toll Like Receptors ou TLR) serait importante pour la défense innée de l'hôte, aussi bien chez les vertébrés que chez les invertébrés [50]. Chez les mammifères, l'activation des macrophages par l'intermédiaire des TLRs entraîne l'induction de gènes effecteurs. Ces gènes contrôlent et exécutent la défense innée [51].

L'infection palustre engendre la production par les plasmocytes de concentrations plasmatiques très élevées d'immunoglobulines (Ig) non spécifiques du paludisme [52]. Cependant, l'importance de l'activation polyclonale B par l'immunité innée sous jacente n'est pas connue à ce jour. L'activation polyclonale B est cette activation des cellules responsables de la production d'anticorps.

En règle générale, dans les expériences de prolifération cellulaire, lorsque les lymphocytes T provenant d'une personne ayant contracté une infection quelconque, sont mises *in vitro* en présence d'antigènes de l'agent pathogène responsable de l'infection en question, ces cellules se multiplient rapidement. Placées dans les mêmes conditions, les lymphocytes provenant de personnes n'ayant pas contracté l'infection ne prolifèrent pas. Dans le cas du paludisme, il existe des sujets répondeurs et d'autres dits non répondeurs. Les lymphocytes T exprimant l'antigène CD4 (cellules T CD4+) des répondeurs qui, bien que n'ayant eu aucune exposition préalable au paludisme, ont des cellules lymphocytaires qui réagissent positivement dans les expériences de prolifération cellulaire *in vitro*. Les cellules CD4+ de ces sujets produisent également des cytokines lorsqu'elles sont exposées aux antigènes de *P. falciparum* [53].

Toutefois, les neutrophiles, les mononucléaires phagocytes et les cellules « tueuses naturelles » (Natural killer) généralement appelées cellules NK, sembleraient jouer un rôle prépondérant dans l'immunité innée observée au cours des infections palustres précoces.

Les cellules NK augmentent particulièrement en nombre et sont capables de détruire *in vitro* les globules rouges parasités par *P. falciparum in vitro* [54-55]. Les cellules NK sont aussi de puissantes productrices de cytokines telles que l'interféronγ (IFNγ).

Cette capacité à produire l'IFNγ, qui conduit à l'activation parasiticide des macrophages, pourrait être de grande importance pour l'immunité innée contre le paludisme.

En effet, l'IFNγ augmente le potentiel des cellules NK à détruire les globules parasités de l'hôte [56].

Les types cellulaires apparentés aux cellules NK et jouant probablement un rôle important dans l'immunité innée contre le paludisme sont les cellules dites NK-T qui chez la souris expriment à leur surface membranaire le marqueur NK1.1 et les sous-unités α/β du récepteur (TCR) des lymphocytes T [57].

Chez l'homme ces cellules NK-T sont activées par l'intermédiaire de leur invariant TCR lorsqu'elles sont confrontées à l'antigène de lipides en association avec les molécules CD1 du CMH classe I [58]. Cette activation ne requiert pas d'immunisation préalable et peut par conséquent être importante pour la régulation de l'immunité innée contre le paludisme.

Un autre type cellulaire, la cellule T présentant les antigènes γδ du TCR est aussi très répandue au cours des phases précoces de l'infection palustre et pourrait contribuer au contrôle inné de la croissance du parasite [59].

3.2. Immunité acquise contre le paludisme

3.2.1. Immunité de prémunition

Dans les zones de transmission élevée et régulière, l'exposition répétée aux parasites aboutit à l'acquisition d'une immunité. L'immunité est définie par «un état de résistance à l'infection ou/et à la maladie» [60], quel qu'en soit le mécanisme immunologique. Cette immunité acquise est partielle. Les enfants peuvent être infectés, le plus souvent de façon chronique, servir de réservoir de parasite et subir des accès palustres, mais ces accès sont rares et ne sont pas graves.

Sans entretien de l'infection, cette immunité est de courte durée, de l'ordre d'une à quelques années. L'acquisition d'une immunité et ses conséquences sur l'épidémiologie du paludisme dans les populations humaines dépend du niveau et de la régularité de la transmission, c'est à dire de la capacité vectorielle des anophèles présents. Une immunité commence à être acquise dès les premières infections. Cela a été observé en zone d'endémie palustre chez les enfants.

Chez les enfants vivant dans les zones de paludisme stable, l'acquisition d'une immunité spécifique se manifeste par des modifications de la sensibilité parasitologique et clinique en fonction de l'âge. L'âge peut alors être considéré comme un indicateur de la durée d'exposition à la transmission. Cependant il peut aussi conditionner la maturité du système immunitaire [61]. Pour cette raison, l'âge auquel un enfant est exposé pour la première fois au paludisme pourrait jouer un rôle dans la vitesse d'acquisition de l'immunité antipalustre [62-65].

3.2.2. Immunité acquise à médiation humorale

Ce type d'immunité est associé à la production d'immunoglobulines (IgG = anticorps) dirigées principalement contre des antigènes de surface du parasite au stade mérozoïte qui sont au nombre de cinq (5) les merozoïte surface protein (MSP1, MSP2, MSP3), Glutamate Rich Protein (GLURP) et Apical membrane antigène (AMA1). Ils sont localisés à la surface du mérozoïte et sont donc accessibles aux anticorps lorsque les mérozoïtes sont libérés dans la circulation [65].

Des études ont montré que le transfert passif d'immunoglobulines d'une mère issue d'une zone endémique protège l'enfant contre les infections palustres durant les six premiers mois de la vie [66]. Ces anticorps réduisent la parasitémie et les signes cliniques de la maladie [67]. Cela explique pourquoi les adolescents et les adultes vivant en zones endémiques même infectés ne développent pas les signes cliniques de la maladie. Cependant, des études ont montré que cette immunité n'induit pas une résistance à la maladie. Des taux élevés d'immunoglobulines des sous-classes cytophiles IgG1et IgG3 constituent le support de la prémunition chez des sujets immuns. Ces anticorps induisent une réponse protectrice par leur capacité à inhiber la multiplication du mérozoïte dans les globules rouges infectés. C'est le phénomène d'ADCI (Antibody Dependent Cellular Inhibition), qui requiert l'implication des monocytes sanguins non infectés. Leur récepteur Fcγ-II entre en contact avec la surface du mérozoïte via l'anticorps cytophile et aboutit à la synthèse de certains médiateurs toxiques.

Le TNFγ est l'un de ces médiateurs qui va bloquer la division du stade érythrocytaire du parasite. A la première infection par *P.falciparum*, les sujets ont des taux élevés d'immunoglobulines non cytophiliques, IgG2, IgG4 et IgM mais ces anticorps n'induisent pas de réponse immune et sont capables d'inhiber en cas de compétition l'effet protecteur des IgG1et IgG3. Différents types d'anticorps interviennent : anticorps bloquant la

pénétration intracellulaire des plasmodis, anticorps inhibant la croissance des parasites intra-érythrocytaires, anticorps augmentant la phagocytose des hématies impaludées etc [67].

3.2.3. Immunité acquise à médiation cellulaire

Les réponses immunes à médiation cellulaire induites par l'infection à *P. falciparum* peuvent protéger à la fois, contre les stades de développement pré-érythrocytaires et contre les stades érythrocytaires du parasite [64]. De nombreuses cellules du système immunitaire ont un impact important dans l'acquisition de l'immunité protectrice : les lymphocytes T, les cellules NK, les neutrophiles, les macrophages/monocytes...

Ces cellules peuvent réagir en coopération avec les anticorps ou seules par des propriétés fonctionnelles qui leur sont propres. Les lymphocytes T et les cellules NK seraient suractivés, permettant ainsi une production de lymphokines et cytokines.

Celles-ci seraient à l'origine du contrôle et de l'activation d'autres cellules du système immunitaire. Pour exemple, les cellules NK induiraient entre autre une activation primaire en IFNγ, un des facteurs principaux stimulant les macrophages, tandis que la deuxième vague de production d'IFNγ serait plutôt due aux cellules T [49].

VI. LUTTE CONTRE LE PALUDISME

1. La prise en charge correcte des cas

1.1. Prise en charge du paludisme simple à *Plamodium falciparum*

Pour faire face au risque d'une résistance de *P. falciparum* aux monothérapies et pour améliorer l'issue du traitement, les combinaisons thérapeutiques antipaludiques à base de dérivés d'Artemisinine sont recommandées par l'OMS pour le traitement des cas de paludisme simple à *Plasmodium falciparum*. Les combinaisons thérapeutiques antipaludiques consistent à utiliser simultanément deux ou plusieurs schizonticides sanguins ayant des modes d'action indépendants et donc des cibles biochimiques différentes chez l'hématozoaire. Le concept est basé sur le potentiel qu'ont deux ou plusieurs schizonticides administrés simultanément et ayant des modes d'action indépendants d'améliorer l'efficacité thérapeutique et aussi de retarder l'apparition d'une résistance contre chacun des médicaments de l'association. L'artémisinine et ses dérivés (artesunate, artemether, artemotil, dihydroartemisinine) entrainent une clearance parasitaire rapide et une disparition rapide des symptômes.

Ils réduisent le nombre d'hématozoaires d'un facteur de près de 10 000 lors de chaque cycle asexué, ce qui est plus que les autres antipaludiques courants (qui le réduisent d'un facteur de 100 à 1000 par cycle). Il existe plusieurs combinaisons disponibles pour le traitement du paludisme simple.

1.2. Prise en charge du paludisme grave à *Plasmodium falciparum*

En cas de paludisme grave, il est essentiel qu'un traitement antipaludéen efficace par voie parentérale ou rectale soit administré sans délai et avec les doses complètes. Deux classes de médicaments sont actuellement disponibles pour le traitement par voie parentérale du paludisme grave : les alcaloïdes du quinquina (quinine et quinidine) et les dérives de l'artemisinine (artesunate, artemether et artemotil).

La durée du traitement parentéral est de 24 heures au minimum, même si le patient peut prendre plus tôt des médicaments per os. Un relai par voie per os avec les CTA doit prescrit dès que le sujet s'améliore [68-69].

2. Le traitement préventif intermittent

2.1. Traitement préventif intermittent chez la femme enceinte

Le paludisme lors de la grossesse constitue un problème majeur de santé publique comportant des risques considérables pour la mère, son fœtus et le nouveau-né. Dans les régions ayant un niveau d'endémicité de *Plasmodium falciparum* modéré à fort, l'Organisation mondiale de la Santé (OMS) recommande un ensemble de mesures afin de lutter contre le paludisme et ses effets au cours de la grossesse, parmi lesquelles on peut citer le traitement préventif intermittent la Sulfadoxine-Pyrimethamine (TPIp-SP) lors de la grossesse. Le TPIp-SP consiste à administrer en observation directe sous forme de trois comprimés de Sulfadoxine-Pyrimethamine (chaque comprimé contenant 500 mg/25 mg de SP), pour un dosage requis total de 1500 mg/75 mg de SP. Ceci se faisant au $2^{ème}$ et $3^{ème}$ trimestre de la grossesse. Une $3^{ème}$ dose est nécessaire si la femme enceinte est séropositive. Cette stratégie est très efficace est efficace pour prévenir l'anémie maternelle, le faible poids de naissance et l'infection palustre placentaire [70].

2.2. Traitement préventif intermittent chez le jeune enfant et les enfants d'âge scolaire

Plus de 90% des cas de décès liés au paludisme surviennent en Afrique Sub-saharienne et principalement chez les enfants. Pour réduire la morbi-mortalité due au paludisme chez les enfants, l'OMS a recommandé la chimioprévention du paludisme saisonnier (CPS)

auparavant appelée traitement préventif intermittent de l'enfant (TPIe), qui se définit comme l'administration intermittente de traitements complets par un médicament antipaludique au cours de la saison du paludisme pour éviter la maladie [71]. L'objectif est de maintenir des concentrations thérapeutiques en médicament antipaludique dans le sang pendant toute la période où le risque palustre est le plus élevé. La chimioprévention du paludisme saisonnier (CPS) est recommandée en zone de forte transmission saisonnière du paludisme dans toute la sous-région du Sahel. Un traitement complet d'Amodiaquine et de Sulfadoxine-Pyriméthamine (AQ+SP) doit être administré aux enfants âgés de 3 à 59 mois à intervalles réguliers d'un mois, en commençant au début de la saison de transmission et en donnant au maximum quatre doses pendant celle-ci (dans la mesure où les deux médicaments conservent une efficacité antipaludique suffisante).

Plusieurs études réalisées en Afrique ont permis de montrer que la CSP est une stratégie efficace qui permet de réduire la morbi-mortalité palustre. C'est ainsi qu'au Sénégal, une étude réalisée par Cissé et al avait montré une réduction de 86% de l'incidence du paludisme chez enfants sous traitement préventif intermittent saisonnier [6]. Tine et al avaient montré un effet protecteur de 80% sur le paludisme et 40% sur l'anémie [72]. En Tanzani, Schellenberg et al avaient montré un effet protecteur de 36% du traitement préventif intermittent chez l'enfant [7].

3. La lutte anti-vectorielle

3.1. Utilisation des moustiquaires imprégnées d'insecticides à longue durée d'action

Les MILDA constituent l'un des moyens les plus efficaces dans la lutte contre le paludisme. Vue leur importance dans la lutte, la couverture universelle a été fortement recommandée par l'OMS. C'est ainsi qu'en Afrique sub-saharienne le nombre de MILDA distribuées est passée de 6 millions en 2006 à 88,5 millions et 145 millions entre 2008 et 2010. Le nombre de ménage possédant au moins une moustiquaire a augmentée passant de 6% en 2000 à 54% en 2013 [17].

Au Sénégal, 6 millions de MILDA ont été distribuées entre 2005 et 2010 et la possession d'au moins une MILDA est passée de 20% en 2005 à 80% en 2009 et 82% en 2010. La couverture universelle en MILDA initiée par le PNLP en 2008 a contribué à réduire fortement la morbi-mortalité [73].

3.2. La pulvérisation intra-domiciliaire d'insecticides à effets rémanent (PII)

Cette méthode de lutte anti-vectorielle est très employée contre les anophèles adultes et est efficace si les vecteurs sont hautement endophages et endophiles. La PII consiste à asperger d'insecticides les murs et toits des concessions ainsi que les abris d'animaux dans les zones impaludées en vue de réduire ou interrompre la transmission. Le choix de l'insecticide et sa formulation doit tenir compte de la susceptibilité des vecteurs, de la nature des surfaces à traiter et aussi de la rémanence du produit [74]. L'Organisation mondiale de la santé recommande l'utilisation de quatre groupes d'insecticides que sont les organochlorés, les organophosphorés, les carbamates et les pyréthrinoïdes [75]. L'efficacité de la PII dépend de l'acceptabilité par les communautés mais aussi de la fiabilité des équipements et du personnel de terrain.

4. Stratégies des 3 T de l'organisation mondiale de la santé (OMS)

L'OMS a lancé en 2012 une nouvelle initiative dénommée *T3:* Tester, Traiter et Tracer dont l'objectif est de soutenir les pays endémiques dans leurs efforts en vue d'atteindre la couverture universelle grâce aux tests de diagnostic et aux traitements antipaludiques ainsi qu'en renforçant leur système de surveillance épidémiologique du paludisme.

Les pays endémiques devraient vérifier que tous les cas *suspects* de paludisme soient testés, que tous les cas *confirmés* soient traités avec des médicaments antipaludiques de bonne qualité et que la maladie soit suivie de manière régulière et précise grâce aux systèmes de surveillance afin de guider les décisions politiques et opérationnelles.

4.1. Tester

Tous les cas suspects doivent être confirmés par microscopie ou TDR avant traitement.

Tous les outils de diagnostic doivent être aux standards de qualité requis à tous les niveaux du système de santé.

L'intensification des tests de diagnostic pour le paludisme doit être intégrée aux efforts visant à améliorer le traitement des autres maladies fébriles.

4.2. Traiter

Après le diagnostic de confirmation, chaque cas de paludisme *P. falciparum* non compliqué devrait être traité avec des CTA dont la qualité est assurée.

Tous les cas sévères de paludisme *P. falciparum* doivent être traités avec de l'artésunate intraveineuse ou intramusculaire, suivie d'un traitement complet de CTA.

L'efficacité thérapeutique des antipaludiques doit faire l'objet de contrôle régulier.

4.3. Tracer

Les cas individuels doivent être enregistrés auprès des établissements de santé.
Ceci permettra d'enregistrer les cas suspects, les résultats de test de diagnostic ainsi que les traitements administrés.
Les pays en phase de contrôle du paludisme doivent signaler séparément les cas suspects, présumés et confirmés et fournir un résumé qui rassemble les données mensuelles concernant les cas de paludisme et le nombre de décès.
Les pays en phase d'élimination doivent procéder à une étude complète pour chaque cas de paludisme [76].

VII. EVALUATION DE LA LUTTE ANTIPALUDIQUE

Quelle que soit la méthode de lutte, son efficacité chez l'homme doit être évaluée et surveillée de manière précise. Ne serait-ce que pour savoir si elles permettront d'éliminer ou seulement contrôler le paludisme dans les zones où elles seront appliquées systématiquement.
L'enquête paludologique envisage des composantes qui permettent de caractériser le paludisme dans une zone donnée.

1. La zone écologique

La connaissance des populations dans leur contexte socio-économique et socio-culturel, les études géo-climatiques, les moyens humains et financiers dont disposent les systèmes de santé sont des facteurs qui doivent être pris en compte pour l'élaboration des stratégies de lutte [77].

2. La dynamique de la transmission

Le rythme et l'intensité de la transmission du paludisme sont à étudier à travers des enquêtes entomologiques qui identifient les espèces anophéliènnes en cause, leur longévité, leur infectivité, leur comportement trophique et l'action létale des insecticides vis-à-vis de ces espèces. Le taux d'inoculation entomologique qui indique le nombre de piqûres d'anophèles infectées que reçoit l'homme par unité de temps est un indicateur de transmission fiable [77].

3. Les infections plasmodiales

Sur le plan parasitologique, la manière la plus simple d'évaluer le poids du paludisme est d'estimer la prévalence des infections plasmodiales, c'est à dire le nombre d'individus infectés. On peut aussi estimer l'incidence des infections, c'est à dire le nombre de nouvelles infections par unité de temps. Le résultat de ces évaluations dépend de la sensibilité de la méthode parasitologique utilisée et de la densité parasitaire. La densité parasitaire moyenne et la multiplicité moyenne des infections, c'est à dire le nombre de populations plasmodiales qui peuvent être distinguées par génotypage dans un échantillon de sang, sont d'autres indicateurs parasitologiques du poids du paludisme. L'estimation de la prévalence peut reposer sur de nombreuses méthodes de détection des infections plasmodiales [11].

Tableau II: Méthodes de détection des infections plasmodiales

	Goutte épaisse	Frottis mince	QBC™ Malaria test	Tests rapides HRP2	Tests rapides LDH	PCR
Volume de sang examiné	3-4 µL	1-1,5µL	55-65µL	5-15 µL	5-15 µL	10 à 100µL
Sensibilité biologique pour *P. falciparum* (95% de chance de détection)	24/µL pour 100 champs 12/µL pour 200 champs 6/µL pour 400 champs	300/µL pour 100 champs 150/µL pour 200 champs	1-5/µL	100 à 300/µL	100 à 300/µL	0,001 à 0,3/µL
Temps de réalisation (en minutes)	30-60	30-60	< 10	5-20	5-20	40-60 (PCR temps réel)
Coût unitaire (en euros)	0,03 à 0,7	0,03 à 0,7	1,5	0,4 à 3	0,4 à 3	env. 15
Diagnostic de *P. falciparum*	Oui	Oui	Evoqué par le mono-morphisme des formes	Oui	Oui	Oui
Diagnostic de *P. vivax*	Oui	Oui	Non	Non	Oui	Oui
Diagnostic de *P. ovale*, & *P. malariae*	Oui	Oui	Non	Non	Oui mais sensibilité médiocre	Oui
Estimation de la densité parasitaire	Oui	Oui	Non	Non	Non	Non
Avantages	Méthode de référence	Morphologie des hématies parasitées conservée		Facilité d'emploi sans besoin d'électricité	Facilité d'emploi sans besoin d'électricité négativation rapide après guérison	
Inconvénients	Dépend de l'expérience technique et d'une source d'électricité	Dépend de l'expérience technique et d'une source d'électricité	Coût initial d'investissements élevé Dépend de l'expérience technique et d'une source d'électricité	Positivité persistant 15j après guérison		Technicité réservée à des centres spécialisés Coût des investissements

3. La réponse immune

La sérologie a un intérêt particulier pour évaluer rétrospectivement l'exposition au paludisme. Les réponses anticorps durent plus longtemps que les infections plasmodiales qui les provoquent. Par ailleurs, dans les situations de faible endémie, la recherche des anticorps antiplasmodiaux est beaucoup plus rapide et moins laborieuse que la recherche des infections plasmodiales. Enfin, en phase d'élimination, lorsque les infections plasmodiales sont exceptionnelles ou inexistantes, ou dans le cadre de la lutte anti-vectorielle, l'analyse des réponses anticorps dirigées contre des antigènes de salive de vecteurs pourrait permettre d'évaluer le contact homme -vecteur, c'est à dire le niveau de risque ou l'efficacité de la lutte [11].

4. Morbidité et mortalité liées au paludisme

La connaissance de l'impact réel du paludisme sur la santé des populations passe par des évaluations fiables de la morbidité et de la mortalité liées à cette épidémie.
Ces évaluations peuvent s'appuyer sur des critères précis d'identification des cas et doivent être exprimées selon les facteurs temps, lieu, population à travers un système de surveillance épidémiologique et par des enquêtes spécifiques [77].

5. Chimio-sensibilité de *Plasmodium falciparum*

Les études de chimio-sensibilité sont indispensables pour surveiller l'évolution du niveau de sensibilité des souches locales de *P.falciparum* vis-à-vis des antipaludiques, permettant ainsi dans la définition des stratégies de lutte médicamenteuse de choisir les antipaludiques et d'en moduler les posologies selon les situations épidémiologiques [77-78].

CHAPITRE 2 : PATIENTS ET METHODES

1. Cadre d'étude

Notre travail de thèse a été réalisé au niveau des zones Sud et Centre du Sénégal. Dans la zone Sud, l'étude a été réalisée au niveau des districts sanitaires de Vélingara, Saraya et Tambacounda. Dans la zone Centre, l'étude a été conduite au niveau du district sanitaire NDoffane situé dans la région de Kaolack.

Le district sanitaire de Vélingara est localisé dans le Sud-Est du Sénégal à 500 km de Dakar. Vélingara est limité au Nord par la Gambie, au Sud par la Guinée Conakry et la Guinée Bissau, à l'Ouest par le département de Kolda et à l'Est par le département de Tambacounda. Ce district couvre une superficie de 5435 km^2 pour une population estimée à 264,044 habitants. Ce district couvre 16 postes de santé et 31 cases de santé. L'étude a été menée au niveau du poste de santé de Bonconto situé à 25 km du centre de santé. Ce poste de santé est tenu par un infirmier d'état et compte 8 cases de santé qui sont tenus par des agents de santé communautaires.

Le District Sanitaire de Saraya est situé au Sud-Est du Sénégal, dans la région de Kédougou. Il est limité à l'Est par la République du Mali, à l'Ouest par le département de Kédougou, au Nord par le département de Goudiry et au Sud par la République de Guinée. Le climat est de type soudano sahélien avec deux saisons : une saison sèche de Décembre à Mai et une saison pluvieuse de Juin à Novembre.

Le district sanitaire de Tambacounda est situé au Sud du Sénégal, il est frontalier de la république de Gambie. Sa superficie est de 11416 Km^2. Le climat est de type Soudano-guinéen, avec une pluviométrie annuelle supérieure à 1000 mm^3.

Le district sanitaire de Ndoffane est situé dans la région de Kaolack à 30 km de la capitale régionale. Ce district couvre une superficie est de 1387 Km ². Il est limité au Nord par les districts de Kaolack et de Guinguinéo, au Sud par le district de Nioro, à l'Est par le district de Mbirkilane et à l'Ouest par le district de Passy. Ce district couvre 14 postes de santé et

78 cases de santé dont 49 fonctionnelles. La présente étude a été menée au niveau du poste de santé de Lamarame, localisé dans la communauté rurale de Keur Socé. La communauté rurale de Keur Socé est située à 17 Km au Sud de Kaolack. Elle comporte deux postes de santé (poste de santé de Keur Socé et de Lamarame) tenus par des infirmiers d'état. Ces postes de santé desservent 71 villages pour une population totale estimée à 30 000 habitants. Dans ces deux zones (Centre et Sud), le paludisme est endémique à recrudescence saisonnière. *Plasmodium falciparum* est la principale espèce plasmodiale retrouvée et *Anopheles gambiae* est le principal vecteur avec un taux d'inoculation entomologique plus important au Sud (100- 200 piqûres/homme/an) contre 9 – 12 piqures/homme/an dans la zone centre (Konaté et al, données non publiées). La transmission étant plus longue au Sud avec une durée de 6 mois (Juin-Novembre).

Plusieurs activités de promotion de la survie de l'enfance sont menées dans ces zones: suivi nutritionnel, supplémentation en vitamine A et en fer, campagne de déparasitage de masse par le Mébendazole, distribution de moustiquaires imprégnées d'insecticides.

L'étude sur l'évaluation séro-épidémiologique a été réalisée au niveau de Kaolack et Vélingara. Les études sur les effets immunologiques de la chimioprévention du paludisme saisonnier ont été réalisées dans la zone Sud (Vélingara, Saraya et Tambacounda).

Figure 1 : Les différents sites d'étude

2. Type et période d'étude

- **Objectif spécifique N°1 : Etude sur l'évaluation séro-épidémiologique du paludisme à *Plasmodium falciparum* au Sénégal**

Nous avons réalisé une enquête transversale évaluant la séro-épidémiologie du paludisme à Vélingara et Keur Socé entre Septembre et Octobre 2010 plusieurs années après mise en place des différentes stratégies de lutte contre le paludisme.

Les mesures de lutte mises en œuvre par le programme sont représentées par la prise en charge des cas de paludisme simple utilisant les TDR et les ACT; le traitement préventif intermittent chez la femme enceinte par la SP et la couverture universelle en MII. L'aspersion intra-domiciliaire est uniquement appliquée au niveau du district sanitaire de Vélingara.

- **Objectif N°2 : Etude de l'impact la chimioprévention du paludisme saisonnier (CSP) avec la Sulfadoxine-Pyrimethamine (SP) et l'Amodiaquine (AQ) sur le statut immunitaire des enfants vivant au Sud du Sénégal**

Deux études ont été réalisées pour l'atteinte de cet objectif :

- ***Potentiel impact de la Chimioprévention du Paludisme Saisonnier (CPS) sur l'acquisition des anticorps anti-GLURP et anti AMA1 chez les enfants vivant au Sud du Sénégal*** : Une étude transversale a été conduite en 2010 chez enfants de moins de 10 ans vivant au niveau des districts sanitaires de Vélingara, Saraya et Tambacounda 3 ans après la mise en œuvre de la CPS (2007). Les districts sanitaires de Vélingara et Saraya représentaient les districts d'intervention (SMC positif) où le traitement préventif intermittent saisonnier avec une dose unique de Sulfadoxine-Pyrimethamine (SP) et 3 doses d'Amodiaquine (AQ) était administré aux enfants de moins de 10 ans. Le district sanitaire de Tambacounda représentait le district contrôle.

- ***Effets immunologiques de la chimioprévention du paludisme saisonnier (CPS) avec la Sulfadoxine-Pyrimethamine (SP) et l'Amodiaquine (AQ) chez les enfants de moins de 10 ans vivant à Vélingara :*** Une enquête transversale avant (2010) et après (2011) mise

en œuvre de la CPS a été réalisée au niveau du district sanitaire de Vélingara. Cette étude qui s'inscrit dans le cadre d'un essai communautaire randomisé a été réalisée en Octobre 2010 chez des enfants de moins 10 ans chez qui le traitement préventif intermittent saisonnier avec une dose unique de Sulfadoxine-Pyrimethamine (SP) et 3 doses d'Amodiaquine (AQ) a été administré entre Octobre et Novembre 2010. Une enquête transversale (baseline) a été réalisée en Octobre 2010 et une autre enquête transversale a été conduite en Septembre 2011 dans le but d'évaluer les potentiels effets de la stratégie sur l'immunité des enfants.

3. Population d'étude

Etaient inclus dans ces études, les enfants d'âge inférieur ou égal à 10 ans résidant dans la zone d'étude ou y ayant séjourné pendant au moins 6 mois et les enfants dont le parent ou le représentant légal avait donné son consentement libre et éclairé.

Tout enfant dont le parent ou la personne responsable avait exprimé un refus ou tout enfant souffrant d'une maladie grave n'était pas inclus dans l'étude.

4. Collecte de données

4.1. Outils de collecte

L'outil de collecte de données était représenté par la fiche d'enquête destinée à recueillir les informations sociodémographiques, cliniques et biologiques des patients.

4.2. Variables collectées

Les variables sociodémographiques et cliniques telles que l'âge, le sexe, le poids, la taille, le statut nutritionnel, l'utilisation ou non de moustiquaires imprégnées d'insecticides, le lieu de résidence et la température axillaire étaient collectées.

Les variables biologiques collectées étaient la densité parasitaire, l'espèce plasmodiale en cause en cas de goutte épaisse positive, le taux d'hémoglobine, et le titre des anticorps anti-MSP1$_{_42}$, anti-AMA1, anti-GLURP_R0 et anti-CSP.

5. Examens au laboratoire des prélèvements

5.1. Goutte épaisse et frottis sanguin :

Pour la goutte, du sang capillaire était prélevé et déposé au milieu d'une lame de verre. A l'aide du coin d'une seconde lame, on exécutait un mouvement en spirale durant 2 minutes afin de favoriser la défibrination et d'obtenir un étalement homogène de 5 mm de diamètre

environ. La goutte épaisse était en ensuite séchée à l'étuve entre 38 – 40°C ou à la température ambiante pendant 24 heures.

On a procédé ensuite à la déshémoglobinisation de la goutte. Puis la goutte était colorée à l'aide d'une solution de Giemsa diluée à 10%. La lecture a été faite au microscope optique à l'objectif 100 à immersion.

La parasitémie était ensuite déterminée après avoir compté 200 leucocytes et exprimée en nombre de parasites par µL de sang selon la formule suivante : nombre de parasites comptés x 8000 / 200.

Pour le frottis sanguin, deux microlitres de sang ont été déposés sur une lame de verre. Une seconde lame de verre était posée à environ 45° sur la première lame au niveau de la goutte de sang. Le sang doit fuser le long du bord de la lame puis est étalé par un geste rapide vers l'extrémité de la première lame. Le frottis était séché rapidement afin de ne pas altérer les hématies qui devaient être jointives sans se chevaucher.

La lecture du frottis a été ensuite réalisée au microscope optique au grossissement 100. L'examen du frottis sanguin avait permis d'identifier l'espèce parasitaire en cause.

5.2. Dosage des immunoglobulines par la méthode ELISA

a. Choix des antigènes

- Circum Sporozoïte Protein (CSP): c'est une protéine recombinante de 60 KDa, produite à partir d'une souche Escherichia coli. Elle est codée par les acides aminés en position 19 – 411. La solution mère dosée à 0,86 mg/ml

- Merozoïte Surface Protein ($MSP1_{_42}$): c'est une protéine recombinante de 33 Kda provenant de la souche 3D7 de *Pf*. Elle est produite à partir d'une souche Uganda-Palo-Alto et exprimée dans un système d'Escherichia coli. La solution mère est dosée à 0,90 mg/ml.

- Apical membrane Protein (AMA1): c'est une protéine recombinante produite à partir d'une souche de Pichia Pastoris (champignon de la classe ascomycète). La protéine produite représente l'ectodomaine complet d'AMA1 allant des acides aminés 25 à 545. La Solution mère dosée à 3 mg/ml.

- Glutamate Rich Protein (GLURP_R0): La protéine recombinante a été produite à partir de la souche parasitaire F32 et exprimée dans Escherichia Coli. GLURP R0 est nativement codée par les acides aminés 24-489.

b. Extraction du sérum à partir du papier buvard

Le sérum a été extrait à partir des prélèvements de sang sur papiers buvards gardés à +4°C suivant la procédure décrite par Corran et Drakeley [79-80]. En résumé, il s'agissait de découper approximativement 3,5 mm de diamètre (équivalent à 1,5µl de sérum) de chaque papier buvard imprégné de sang et le déposer dans un tube Eppendorf sec. Ensuite, on ajoute 300µl de 1XPBS/tween 20 (0,5%) dans chaque tube contenant un morceau de papier buvard préalablement découpé (3,5mm de diamètre). Le mélange a été ensuite incubé pendant toute la nuit à +4°C avec une légère agitation. Après on a récupéré l'éluât dans un nouveau tube de 1,5ml pour faire l'ELISA.

c. ELISA

Le titrage des anticorps dirigés contre les antigènes de *P.falciparum AMA-1*, *MSP1, GLURP_R0* et *CSP* a été mesuré par ELISA indirect. Les plaques ont été sensibilisées pendant toute une nuit avec les antigènes (*AMA1, MSP1_42, GLURP_R0 et CSP*) dilués au 1/1000 dans du tampon de dilution préalable préparé. Après sensibilisation, les plaques ont été incubées à 4°C pendant toute une nuit. Après trois lavages successifs, les plaques ont été bloquées avec une solution de lait écrémé 1% pendant 1h à 37°C. Après 3 lavages, on a ajouté 100 µl de chaque éluat dans deux puits successifs et on a incubé chaque plaque à une température de 37°C pendant 1h.

Pour chaque plaque, trois types de contrôle ont utilisés : deux puits sans sérum mais avec l'anticorps secondaire pour mesurer la fixation non spécifique, deux puits avec le sérum d'un sujet n'ayant jamais été en contact avec le plasmodium (control négatif) et deux puits avec un sérum d'un individu ayant une forte production d'anticorps *anti-AMA-1*, *anti-MSP1, anti-GLURP* ou *anti-CSP* (contrôle positif). Par la suite, trois lavages ont été effectués avant l'incubation par l'anticorps secondaire (Goat Anti-human IgG) pendant 30 mn à température ambiante. Après trois autres lavages, la révélation a été effectuée en ajoutant 100µl de Tétramethyl benzoïde (TMB one) puis on a incubé à l'abri de la lumière et à température ambiante pendant 30 mn.

La réaction est enfin arrêtée en ajoutant 50 µl d'acide chlorydrique diluée (HCl) et immédiatement après, la lecture à 450 nm contre un filtre référence de 650 nm est réalisée avec un lecteur ELISA TECAN SUNRISE.

Après lecture de la plaque ELISA, la densité optique moyenne (DO) de chaque échantillon est déterminée à partir des duplicates. Le résultat était ensuite converti en unité arbitraire (UA) pour réduire les écarts selon la formule :

UA de l'échantillon = [(lnDO échantillon) – ln (DO du Contrôle négatif) / ln(DO du Contrôle positif) – ln(DO du négatif)] x 100 [81]. On calcul la moyenne des DO pour chaque échantillon, puis soustraire de cette moyenne la valeur des blancs.

d. Dosage taux d'hémoglobine

L'appareil HeamoCue analyzer 301 a permis de déterminer rapidement et facilement le taux d'hémoglobine dans le sang à l'aide d'une cuvette contenant un réactif sec.

6. Traitement des sujets

Les sujets qui avaient un TDR positif, recevaient systématiquement un traitement antipaludique conformément aux recommandations du programme national de lutte contre le paludisme. En cas d'anémie, une supplémentation en fer était mise en route.

7. Saisie et analyse des données

Les données ont été saisies avec le logiciel Excel et l'analyse étaient faite avec le logiciel Stata 12. Les variables quantitatives ont été décrites en termes de moyennes et d'écart type. Des comparaisons inter-groupe étaient effectuées en utilisant un test ANNOVA ou le test t de Student après vérification des conditions d'application de ces tests. Lorsque ces tests n'étaient pas applicables, le choix était porté sur les tests non paramétriques (Man withney, Kruskall Wallis). Pour les variables qualitatives, une description en termes d'effectif et de pourcentage de données était effectuée. Le seuil de signification des tests était fixé à 5%.

Pour l'analyse des données sérologiques, qualitativement un individu est considéré comme positif lorsque sa réponse est supérieure à celle de la moyenne des négatifs plus deux fois l'Ecart type.

8. Considérations éthiques

La participation à l'étude était libre et volontaire. Ce protocole a obtenu l'approbation du Comité National d'Ethique pour la Recherche en Santé du Sénégal. Cette étude a été

enregistrée au niveau de Pan African Clinical Trial Registry. *Trial registration number* : PACTR201305000551876.

CHAPITRE 3: RESULTATS

Etude 1 : Evaluation séro-épidémiologique du paludisme à *Plasmodium falciparum* au Sénégal

Les résultats de cette étude ont fait l'objet d'un article publié dans la revue *Malaria Journal*.

1. Résumé

Introduction : Au Sénégal, le renforcement des stratégies de lutte contre le paludisme a permis une réduction considérable du fardeau de la maladie. Devant cette baisse de la prévalence, la pré-élimination est envisagée dans certaines zones. Il devient ainsi important de mettre en place des outils de surveillance plus sensible tels que la sérologie en complément aux techniques de surveillance classiques (microscopie). Ceci dans le but de mieux documenter l'impact des stratégies de lutte sur la transmission et sur l'acquisition de l'immunité.

Méthodologie : Une enquête transversale évaluant la séro-épidémiologie du paludisme à Vélingara (Sud) et Keur Socé (Centre) chez les enfants de moins de moins de 10 ans a été réalisée en Septembre et Octobre 2010. Des gouttes épaisses et frottis sanguins ont permis de mesurer la prévalence parasitaire. Des confettis ont été réalisés pour mesurer les anticorps anti-CSP, anti-AMA1 et anti-MSP1$_{_42}$ par la méthode ELISA.

Résultats : Au total 1875 enfants de moins de 10 ans ont été inclus (866 à Vélingara et 999 à Keur Socé). L'âge moyen des patients était de 4,24±2. La prévalence du paludisme à *Plasmodium falciparum* était de 4,99%. En fonction de la zone, la prévalence était de 10,3% à Vélingara et de 0,3% à Keur Socé. 17,37% des cas de fièvre était associés au paludisme [OR=1,81 ; CI (1,13 - 2,91)]. La séroprévalence des anticorps anti-AMA1, anti-MSP1 et anti-CSP était respectivement de 38,12%, 41,55% et de 40,38%. En fonction de la zone, la séroprévalence de ces anticorps était plus importante à Vélingara comparée à Keur Socé ($p<10^{-3}$). L'âge, la zone de résidence et le portage ou non de *Plasmodium falciparum* étaient facteurs influençant la production d'anticorps.

Conclusion : L'utilisation de marqueurs sérologiques peut contribuer à améliorer la surveillance du paludisme dans les zones où la transmission du paludisme est basse. Cette étude a fourni des informations de base sur la situation de séro-épidémiologique du paludisme au Sénégal et peut contribuer à l'identification des hots spots afin de concentrer les efforts d'intervention.

2. Manuscript

Sylla et al. Malar J (2015) 14:275
DOI 10.1186/s12936-015-0789-x

MALARIA JOURNAL

RESEARCH Open Access

Sero-epidemiological evaluation of *Plasmodium falciparum* malaria in Senegal

Khadime Sylla[1*], Roger Clément Kouly Tine[1], Magatte Ndiaye[1], Doudou Sow[1], Aïssatou Sarr[1], Marie Louise Tshibola Mbuyi[2], Ibrahima Diouf[1], Amy Colé Lô[1], Annie Abiola[1], Mame Cheikh Seck[1], Mouhamadou Ndiaye[1], Aïda Sadikh Badiane[1], Jean Louis A N'Diaye[1], Daouda Ndiaye[1], Oumar Faye[1], Thérèse Dieng[1], Yémou Dieng[1], Oumar Ndir[1], Oumar Gaye[1] and Babacar Faye[1]

Abstract

Background: In Senegal, a significant decrease of malaria transmission intensity has been noted the last years. Parasitaemia has become lower and, therefore, more difficult to detect by microscopy. In the context of submicroscopic parasitaemia, it has become relevant to rely on relevant malaria surveillance tools to better document malaria epidemiology in such settings. Serological markers have been proposed as an essential tool for malaria surveillance. This study aimed to evaluate the sero-epidemiological situation of *Plasmodium falciparum* malaria in two sentinel sites in Senegal.

Methods: Cross-sectional surveys were carried out in Velingara (south Senegal) and Keur Soce (central Senegal) between September and October 2010. Children under 10 years old, living in these areas, were enrolled using two-level, random sampling methods. *P. falciparum* infection was diagnosed using microscopy. *P. falciparum* antibodies against circumsporozoite protein (CSP), apical membrane protein (AMA1) and merozoite surface protein 1_{-42} ($MSP1_{-42}$) were measured by ELISA method. A stepwise logistic regression analysis was done to assess factors associated with *P. falciparum* antibodies carriage.

Results: A total of 1,865 children under 10 years old were enrolled. The overall falciparum malaria prevalence was 4.99% with high prevalence in Velingara of 10.03% compared to Keur Soce of 0.3%. Symptomatic malaria cases (fever associated with parasitaemia) represented 17.37%. Seroprevalence of anti-AMA1, anti-$MSP1_{-42}$ and anti-CSP antibody was 38.12, 41.55 and 40.38%, respectively. The seroprevalence was more important in Velingara and increased with age, active malaria infection and area of residence.

Conclusion: The use of serological markers can contribute to improved malaria surveillance in areas with declining malaria transmission. This study provided useful baseline information about the sero-epidemiological situation of malaria in Senegal and can contribute to the identification of malaria hot spots in order to concentrate intervention efforts.

Trial registration number: PACTR201305000551876 (http://www.pactr.org).

Keywords: Malaria, *Plasmodium falciparum*, Serology, Epidemiology, Senegal

Background

Despite increasing efforts to control malaria and many African countries reporting a decrease of malaria burden in recent years, the disease is still a major public health problem in many sub-Saharan African countries. According to the World Health Organization, there were an estimated 207 million malaria cases and 627,000 malaria deaths in the world in 2012. This situation justifies the need to strengthen malaria control strategies including: (1) clinical case management of malaria cases using rapid diagnostic test (RDTs) and artemisinin combination

*Correspondence: khadimesylla@yahoo.fr
[1] Service de Parasitologie-Mycologie, Faculté de Médecine, Pharmacie et Odontologie, Université Cheikh Anta Diop de Dakar, Dakar, Sénégal
Full list of author information is available at the end of the article

BioMed Central

© 2015 Sylla et al. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated.

therapy (ACT); (2) universal coverage of long-lasting, insecticide-treated nets (LLINs); (3) indoor residual spraying (IRS); and, (4) intermittent preventive treatment [1–3]. In Senegal, the National Malaria Control Programme (NMCP) initiated the scaling-up of malaria control measures in 2005. Significant reduction of malaria morbidity has been noted these last years from 35.72% in 2001 to 5.62% in 2008 and 3.07% in 2009 [4]. Malaria parasitaemia has become lower and therefore more difficult to detect by microscopy with an increase in the proportion of individuals carrying submicroscopic malaria parasites [5]. This may induce some limitation in malaria surveillance using microscopy. To overcome this issue, there is a need to develop innovative malaria surveillance tools that are more sensitive and more reliable for better documentation of malaria epidemiology. For this purpose, serology is proposed as a reliable and sensitive tool to assess malaria epidemiology as well as malaria intervention impact on malaria burden and transmission [6–8]. Several *Plasmodium falciparum* antigens have been studied to assess malaria transmission and impact on the host immunity. To assess the level of malaria transmission, a pre-erythrocytic-stage antigen most commonly used is the circumsporozoite protein (CSP) with a short estimated half-life. Antibodies against this protein are correlated to transmission intensity and exposure duration, but not necessarily to plasmodial infections. This protein is labile and disappears quickly in the absence of exposure. *P. falciparum* erythrocytic-stage antigens, such as merozoite surface protein 1 (MSP) and apical membrane antigen (AMA1) with long half-lives, reflect the cumulative exposure to malaria and can be used as an indicator of the burden of malaria [6, 7].

The analysis of immune responses against pre-erythrocytic-stage antigen (CSP) and erythrocytic-stage antigens (MSP and AMA1) can contribute to assess malaria transmission and the impact on host immunity. This study was conducted to evaluate the sero-epidemiological situation of falciparum malaria using CSP, AMA1 and $MSP1_{42}$ in the context of scaling anti-malarial interventions in Senegal.

Methods

Study area

This study was carried out in two health districts (Velingara and NDoffane) with a different endemicity level. Velingara health district is located in the southeastern part of Senegal, 500 km from the capital city of Dakar. In this district the study was conducted in Bonconto health post, which is headed by a nurse and has eight functional health huts staffed with community health workers, serving a population of 10,016 inhabitants. Ndoffane is located in the central part of Senegal, 200 km from Dakar. In this district the study was conducted in Lamarame health post. This health post is led by a nurse and comprises 49 functional health huts and serves a population of 20,000 inhabitants. In both study areas malaria transmission is seasonal, occurring during the rainy season (from July to November) with a peak in between October to November. *P. falciparum* is the most predominant parasite species. These two areas are part of NMCP sentinel sites. Malaria control strategies implemented by the NMCP in both sites were represented by the case management of uncomplicated malaria cases using rapid diagnostic tests (RDTs) and artemisinin combination therapy (ACT); intermittent preventive treatment in pregnant women; universal coverage of LLINs. The IRS is applied only in Velingara.

Study design and population

A cross-sectional survey was conducted in Velingara and Keur Soce in September and October 2010, several years after the implementation of malaria control measures. Children under 10 years old, living in the area or who stayed at the site for at least 6 months and whose parents or legal representatives gave informed consent form approval, were enrolled in the study using a two-level, random sampling method. Subjects whose parents or legal representatives did not give informed consent were excluded from the study.

Data collection method

An informed consent questionnaire was administered to collect individual data on socio-demographic (age, gender, weight, height, area of residence, bed net use). Weight and height were collected to determine nutritional status. In addition, axillary temperature was measured.

Laboratory methods

Parasitological assessment

For each enrolled participant, three drops of blood were collected for thick and thin smear tests for the detection of malaria prevalence using microscopy. Slides were stained for 15 min with a 10% Giemsa solution. Parasite density was evaluated by counting the number of asexual parasites per 200 white blood cells (WBCs) and estimated by number of parasite per µl using the following formula: number of parasites × 8,000/200 assuming a WBC count 8,000 cells/µl. Thick and thin smears were considered as negative after 100-field microscopic reading without any parasites being detected.

Serological assessment

Malaria antigens

Apical membrane antigen (AMA1) was from the *Pichia pastoris* expressed ectodomain of *P. falciparum* FVO strain comprised amino acids 25–545 [9] (Donated by Dr Daniel Dodo, Noguchi Memorial Institute for Medical Research, University of Ghana, Legon, Ghana).

$MSP1_{-42}$ protein was from the C-terminal $MSP1_{-42}$ amino acid sequence of the Uganda-Palo Alto (FUP) *P. falciparum* isolate (GenBank Accession No. M37213) expressed in *Escherichia coli* (*Ec*) system. The recombinant protein, $EcMSP1_{-42}$-FUP (Uganda-Palo Alto strain), represents the 33 kDa fragment from the 3D7 *P. falciparum* variant and the E-K-NG point mutations identified in the 19 kDa fragment within the $MSP1_{-42}$ native molecule [10].

CSP was a full-length protein expressed in an *Escherichia coli* system containing amino-acids Leu^{19} to Ser^{411} (Indian isolate, GenBankTM No: AAN87606) [11].

$MSP1_{-42}$ and CPS were donated by Dr Patrick Duffy and Dr Richard Shimp from NIH/NIAID (National Institutes of Health/National Institute of Allergy and Infectious Diseases).

Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

Three drops of blood were collected onto Whatman 3MM filter paper, which was sealed and stored dry with desiccant at room temperature. Reconstituted sera were obtained from filter paper bloods spots described previously [12, 13]. Sera were tested for anti-$MSP1_{-42}$ IgG antibodies, anti-AMA1 IgG antibodies and anti-CSP antibodies by indirect ELISA. Samples were also tested on freeze thawed *P. falciparum* schizont extract (concentration of 1 × 108/ml), which was coated onto ELISA plates at 1/500.

Briefly, 96 well ELISA plates were coated with 100 µl/well of 0.1 µl/well of $MSP1_{-42}$ and CSP antigens and 0.026 µl/well of AMA1 in coating buffer (1.59 g Na_2CO3, 2.93 g NaHCO3, 1 liter distilled water, pH 9.4). The plates were incubated overnight at 4°C. After incubation, plates were washed at three times using PBS (5.7 g NaH_2PO_4, 16.7 g Na_2HPO_4, 85 g NaCl in 1 l distilled water) plus 0.05% Tween 20 (PBS/T) and blocked with 1% (w/v) skimmed milk power in PBS/T for 1 h at 37°C. Eluates were removed from 4°C just before use. After three more washes, eluates were diluted at a ration 1/100 in PBS/T and added 200 µl in duplicate in a well plate.

For each plate three types of control were used: deep well without serum but with a second antibody to measure the non-specific binding, pool of sera from patients with *P. falciparum* malaria (positive control) and pool of sera from non-infected subjects (negative control) from Copenhagen. Three washes were performed before incubation for 1 h at 37° with secondary antibody (100 µl of horseradish peroxidase-conjugated rabbit anti-human IgG, SouthernBiotech ®). After incubation for 1 h at 37°C, plates were developed with TMB/E (Upstate®, Chemicon® et Linco®, Millipore) as substrate for 30 min at room temperature in the absence of light and the reaction was stopped by the addition of 50 µl/well of 2 M H_2SO_4. Optical density was read at 450 nm against a 620 nm with an ELISA TECAN SUNRISE reader.

Haematological assessment

One drop of blood was collected from all participants for haemoglobin (Hb) level measurement using Hemo-Cue machine (HemoCue® Hb 301). Anaemia was defined as Hb concentration below 11 g/dl.

Statistical methods

After data collection, date entry work was performed using Excel software. Thereafter, analysis was carried out using Stata software version IC 12 software.

For serological assessment, the optical density was obtained by subtracting the average OD (Optical density) of duplicate wells from that of the corresponding blank wells. Values were converted into arbitrary units (AUs), as follows [14]:

$$AU = 100 \times \left[\frac{Ln(OD\ test\ sample) - Ln(OD\ negative\ control)}{Ln(OD\ positive\ control) - Ln(OD\ negative\ control)} \right]$$

To assess the nutritional status, data were transferred into Epi Info 3.04 d. The *Z*-scores for weight-for-age (underweight) and height-forage (stunting) were derived using Epinut Anthropometry. Children with *Z*-scores below—2 standard deviation (SD) of the National Centre for Health Statistic (NCHS), United States reference population median were considered to be malnourished.

Quantitative variables were described in terms of means, SD. Inter-group comparisons were done using ANOVA test or Student t test where appropriate, otherwise non-parametric tests such as Mann–Whitney or Kruskal–Wallis were used.

For descriptive data, percentage was used to each outcome. Antibodies seroprevalence was calculated and expressed by percentage with their 95% confidence intervals. Proportions were compared using Chi square test or the Fisher exact test (univariate analysis). A stepwise logistic regression analysis was done to assess factors associated with *P. falciparum* antibodies carriage. Significance level of the different tests was set at 5%.

Ethical considerations

The study was nested into a cluster-randomized trial [15] which had been approved by the Senegalese

National Ethical Committee (*Conseil National d'Ethique et de Recherche en Santé)* and registered at the Pan African Clinical Trial Registry: registration number: PACTR201305000551876. In the field, individual informed consent was required prior to each participant enrolment. Community sensitization was done prior to the study to explain the planned investigations.

Results

Study participant characteristics

A total of 1,865 participants were studied (866 from Velingara and 999 from Keur Soce). The mean age of the study population was 4.24 ± 2 years. The study population was mainly represented by children under 5 years old (53.62%). A proportion of 7.83% were less than 1 year old. Children over 5 years represented 38.55%. The sex ratio was 1.03. The mean Hb level was 9.93 ± 3.3 g/dl and was lower in Velingara (8.5 ± 3.4 g/dl). The overall prevalence of anaemia (Hb <11 g/dl) was 72.39% with a higher proportion in Keur Soce (77.14%) than in Velingara 68.27% ($p < 10^{-3}$).

The prevalence of stunting, underweight and wasting was respectively 35.44, 26.65 and 10.51%. Stunting was more frequent in Velingara population while underweight and wasting were higher in Keur Soce. Study participants characteristics are summarized in Table 1.

Table 1 Baseline characteristics of subjects

	Total (N = 1,865)	Velingara (N = 866)	Keur Soce (N = 999)
Mean age (year)	4.24 ± 2	4.5 ± 2.7	3.87 ± 1.9
Age group (year)			
<1	146 (7.83%)	86 (58.9%)	60 (41.01%)
1–4	1000 (53.62%)	344 (34.4%)	656 (65.67%)
5–10	719 (38.55%)	436 (60.64%)	283 (28.33%)
Gender			
Female	917 (49.17%)	443 (51.15%)	474 (47.45%)
Male	948 (50.83%)	423 (48.85%)	525 (52.55%)
Hb mean (g/dl)	9.93 ± 3.3	8.5 ± 3.4	10.16 ± 4.2
Anemia (Hb <11 g/dl)			
Yes	1350 (72.39%)	668 (77.14%)	682 (68.27%)
No	515 (27.61%)	198 (22.86%)	317 (31.73%)
Stunting			
Yes	661 (35.44%)	379 (43.76%)	282 (28.23%)
No	1204 (64.56%)	487 (56.24%)	717 (71.77%)
Underweight			
Yes	497 (26.65%)	214 (24.71%)	283 (28.33%)
No	1368 (73.35%)	652 (75.29%)	716 (71.67%)
Wasting			
Yes	196 (10.51%)	47 (5.43%)	149 (14.91%)
No	1669 (89.49%)	819 (94.57%)	850 (85.09%)

Malariaometric indices

Overall, the coverage rate of bed net use was 82.84%. The coverage rate of bed net was more higher in Velingara (95.41%) while in Keur Soce it was 72.07%. The proportion of subjects with fever (axillary temperature ≥37.5°C) at the time of survey was 20.4 and 14.71% in Velingara and Keur Soce, respectively. Overall *Plasmodium falciparum* malaria prevalence was 4.99% [95% CI (4.02–6.1)]. Malaria prevalence was higher in Velingara at 10.03% [95% CI (8.3–12.7)] (90/866) than in Keur Soce, where it was 0.3% [95% CI (0.06–0.8)] (3/999). Among children with falciparum malaria, 17.37% had fever providing an odds ratio at 1.81 [95% CI (1.13–2.91)] (Table 2).

The mean production of anti-AMA1 antibody was 16.04 AU and varied from 16.59 AU in Velingara to 15.57 AU in Keur Soce. No significance difference was noted between the two sites (p = 0.57). $MSP1_{-42}$ and CSP antibodies was 15.17 AU and 29.25 UA, respectively; both were higher in Velingara's population ($p < 10^{-3}$). Antibodies production was significantly higher among children with *P. falciparum* infection compared to non-infected children (Table 3).

The overall seroprevalence rate of anti-AMA1, anti-$MSP1_{-42}$ and anti-CSP antibodies was at 38.12% [95% CI (35.37–41.03)], 41.55% [95% CI (38.68–44.58)] and 40.38% [95% CI (37.54–43.36)], respectively. The seroprevalence of these antibodies was higher in Velingara compared to Keur Soce ($p < 10^{-3}$) (Figure 1).

Multivariate logistic regression analyses revealed that seroprevalence increased with age, active malaria infection and area of residence. In children over 5 years old, the seroprevalence of anti-AMA1 antibody was 46.1% [ORa = 1.18; IC (0.8–1.73), p value = 0.43] and this was more important among female children (38.7%), subjects with stunting (37.97%) and subjects without anaemia (43.88%). Seroprevalence of anti-AMA1 antibody was higher in subjects with *P. falciparum* infection 40.86% [ORa = 1.13; IC (0.74–1.72); p value = 0.56] and in subjects living in Velingara 46.3% [ORa = 1.85; IC (1.58–2.32); $p < 10^{-3}$]. The seroprevalence of anti-$MSP1_{-42}$ antibody was 37.3% [ORa = 1.05; IC (0.73–1.51); p

Table 2 Paludometrics indices

	Total (N = 1865)	Velingara (N = 766)	Keur Soce (N = 999)
Bets net use			
Yes	1.545 (82.84)	852 (95.41%)	720 (72.07%)
No	320 (17.16)	41 (4.59%)	279 (27.93%)
Fever			
Yes	324 (17.37%)	177 (20.4%)	147 (14.71%)
No	1541 (82.63%)	689 (79.56%)	852 (85.29%)
Pf malaria prevelance	93 (4.99%)	90 (10.3%)	3 (0.3%)

Table 3 Mean production of anti-AMA1, anti-MSP1$_{-42}$ and anti-CSP antibodies

	Total (N = 1,865)	Velingara (N = 866)		Keur Soce (N = 999)		p value
	General mean (AU)	Mean (AU)	IC (95%)	Mean (AU)	IC (95%)	
AMA1	16.04	16.59	14.3–18.8	15.57	12.8–18.3	0.57
MSP1$_{-42}$	15.17	21.7	19.1–24.3	9.5	8.2–10.7	$<10^{-3}$
CSP	29.25	48.2	40.1–56.4	12.7	11.5–13.9	$<10^{-3}$

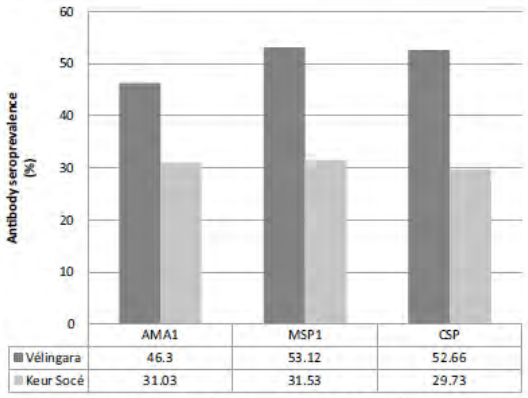


Figure 1 Seroprevalence of anti-CSP, anti-AMA1 and anti-MSP1$_{-42}$ antibody in Velingara and Keur Soce site. Seroprevalence of IgG antibody to different malaria antigens (AMA1, MSP1$_{-42}$ and CSP). AMA1 (Apical Membrane Protein), MSP1$_{-42}$ (Merozoite Surface Protein) and CSP (Circumsporozoite Protein). *Black* Velingara site (southern part of Senegal) and *grey* Keur Soce site (central part of Senegal). χ^2 test was done to compare proportions of antibody responders between two sites. Proportion of seropositive was more important in Velingara site compared to Keur Soce site ($p < 10^{-3}$).

value = 0.8] in children under 5 years old while it was more important in children over 5 years old 47.57% [ORa = 1.28; IC (0.87–1.87), p value = 0.43].

For children with malaria infection, the seroprevalence of anti-MSP1$_{-42}$ antibody was 52.69% [ORa = 1.01; IC (0.65–1.55); p value = 0.95]. For children over 5 years, the seroprevalence of anti-CSP antibody was 43.53% [ORa = 1.08; IC (0.75–1.56); p = 0.66] compared to other children. Anti-CSP antibody was more important in female children (41%), children with stunting 43.72% [ORa = 1.09; IC (0.85–1.4); p = 0.45] and children with anaemia (40.44%). The prevalence of anti-CSP antibody was associated with active malaria infection. Prevalence of anti-CSP antibody was more important in children with malaria infection 46.24% [ORa = 1.2; IC (0.78–1.84); p = 0.4]. The prevalence of anti-CSP antibody was more important in Velingara 52.66% [ORa = 2.63; IC (2.13–3.24); $p < 10^{-3}$] compared to Keur Soce (29.73%). There is no correlation between seroprevalence of antibody and sex (Tables 4, 5, 6).

Table 4 Factors influencing the seroprevalence of anti-AMA1 antibodies

	Number (%)	OR (95% CI)	ORa (95% CI)	p value
Age group (year)				
<1	57 (39.1%)	1	1	
1–4	322 (32.2%)	0.74 (0.5–1.06)	0.82 (0.56–1.18)	0.28
5–10	332 (46.1%)	1.34 (0.93–1.92)	1.18 (0.8–1.73)	0.43
Gender				
Female	355 (38.7%)	1	1	
Male	356 (37.5%)	0.95 (0.79–1.14)	0.97 (0.81–1.18)	0.82
Nutritionnel status				
Stunting	251 (37.97%)	0.99 (0.81–1.2)	0.94 (0.83–1.21)	0.62
Underweight	182 (36.62)	0.92 (0.74–1.13)	0.97 (0.87–1.2)	0.79
Wasting	62 (31.63%)	0.73 (0.53–0.99)	0.81 (0.57–1.15)	0.25
Anemia				
No	226 (43.88%)	1	1	
Yes	485 (35.93%)	0.72 (0.58–0.88)	0.72 (0.57–0.92)	0.005
Malaria parasite				
No	673 (37.98%)	1	1	
Yes	38 (40.86)	1.23 (0.74–1.72)	1.13 (0.74–1.72)	0.56
Residence area				
Keur Soce	310 (31.03%)	1	1	
Velingara	401 (46.30%)	1.92 (1.58–2.32)	1.85 (1.58–2.32)	$<10^{-3}$

Discussion

In Senegal malaria is still a leading cause of morbidity and mortality. These last years, the combination of malaria control measures has helped to reduce malaria burden. This has led the country to outline a vision of malaria elimination. To address this issue, new approaches are fundamental for a better characterization of malaria epidemiology in the areas of reduced transmission. Serology has been proposed as a sensitive and reliable tool for malaria epidemiology assessment [16–19].

This study was conducted to assess the sero-epidemiological situation of malaria in two sentinel sites with different epidemiological profiles in Senegal. The study showed a low prevalence of malaria parasitaemia, although *P. falciparum* carriage was significantly higher in the southern part of the country (Velingara). However, anaemia remained high in both sites. These data

Table 5 Factors influencing the seroprevalence of anti-MSP1$_{-42}$ antibodies

	Number (%)	OR (95% CI)	ORa (95% CI)	p value
Age group (year)				
<1	60 (41.1%)	1	1	
1–4	373 (37.3%)	0.85 (0.59–61.21)	1.05 (0.73–1.51)	0.8
5–10	342 (47.57%)	1.3 (0.96–1.86)	1.28 (0.87–1.87)	0.19
Gender				
Female	385 (41.98%)	1	1	
Male	390 (41.14%)	0.96 (0.8–1.16)	0.98 (0.82–1.18)	0.87
Nutritional status				
Stunting	286 (43.27%)	1.15 (0.92–1.45)	0.97 (0.75–1.24)	0.8
Underweight	205 (41.25)	0.93 (0.71–1.2)	0.93 (0.82–1.43)	0.59
Retard staturo-pondéral	75 (38.27%)	0.89 (0.64–1.24)	0.93 (0.67–1.29)	0.68
Anemia				
No	213 (41.36%)	1	1	
Yes	562 (41.63%)	1.02 (0.82–1.24)	0.99 (0.78–1.23)	0.86
Malaria parasite				
No	726 (40.97%)	1	1	
Yes	49 (52.69%)	1.6 (1.05–2.43)	1.01 (0.65–1.55)	0.95
Residence area				
Keur Soce	315 (31.53%)	1	1	
Velingara	460 (53.12%)	2.46 (2.04–2.97)	2.4 (1.95–2.95)	$<10^{-3}$

Table 6 Factors influencing the seroprevalence of anti-CSP antibodies

	Number (%)	OR (95% CI)	ORa (95% CI)	p value
Age group (year)				
<1	62 (42.47%)	1	1	
1–4	378 (37.8%)	0.82 (0.57–1.17)	0.85 (0.59–1.21)	0.38
5–10	313 (43.53%)	1.04 (0.73–1.5)	1.08 (0.75–1.56)	0.66
Gender				
Female	376 (41%)	1	1	
Male	377 (39.77%)	0.95 (0.78–1.14)	0.98 (0.81–1.19)	0.86
Nutritional status				
Stunting	289 (43.72%)	1.24 (1.02–1.5)	1.09 (0.85–1.4)	0.45
Underweight	191 (38.43%)	0.89 (0.72–1.1)	0.88 (0.64–1.09)	0.19
Wasting	55 (28.06%)	0.54 (0.4 0.75)	0.61 (0.43–0.86)	0.005
Anemia				
No	207 (40.19%)	1	1	
Yes	546 (40.44%)	1.01 (0.82–1.24)	0.87 (0.69–1.1)	0.25
Malaria parasite				
No	710 (40.07%)	1	1	
Yes	43 (46.24%)	1.28 (0.085–1.95)	1.2 (0.78–1.84)	0.4
Residence area				
Keur Soce	297 (29.73%)	1	1	
Velingara	456 (52.66%)	2.63 (2.17–3.17)	2.63 (2.13–3.24)	$<10^{-3}$

are consistent with results from national malaria indicator surveys conducted 2008–2009, which showed similar patterns in terms of *P. falciparum* carriage and anaemia prevalence [20]. The national survey conducted in 2012 and 2013 showed an overall prevalence of *P. falciparum* at 2.8% with disparities between the southern part (9.3%) and the central part (2.2%) of the country [21]. The difference in malaria prevalence between the two areas demonstrates once again the heterogeneity of malaria transmission in Senegal. This was demonstrated in Gambia in 2008 and 2009 [22].

Similar results were found in 2005 with the heterogeneity of malaria in the east and west of Cambodia [23]. Despite the low prevalence of *P. falciparum*, anaemia was closely associated with malaria parasitaemia. Other studies demonstrated that the main factors influencing anaemia occurrence in the central and the southern parts of the country are mainly represented by *P. falciparum* carriage, malnutrition, sickle cell traits and alpha-thalassaemia [24].

The overall seroprevalence of AMA1, MSP1$_{-42}$ and CSP antibodies was 38.12, 41.55 and 40.38%, respectively. Significant difference between the two areas was observed with a higher seroprevalence in the southern part (Velingara). Although the serological assessment confirmed malaria heterogeneity as shown by microscopy. Proportion of *P. falciparum* carriage was significantly lower than antibodies level. These findings are in accordance with what were observed in Madagascar [6]. In Tanzania, similar results were noted with a high seroprevalence of antibodies against AMA1 (40.7%) and MSP1 (64.1%) [19]. Similar results were found in Ghana with high seroprevalence of AMA1 and CSP antibodies [25]. A high prevalence of PfMSP1 and PfAMA1 antibodies was found in Indonesia whatever the area and the season [26].

These results show that serology could be a good indicator for malaria surveillance. 5% of the total study participant was found positive by microscopy while antibodies excretion increased by at least sixfolds. The study demonstrated that using microscopy alone for malaria surveillance could underestimate malaria burden, particularly in areas with reduced malaria transmission. These data are confirmed by other studies [6, 19, 23, 27].

The study showed that seroprevalence of AMA1, MSP1$_{-42}$ and CSP antibodies increased with age, *P. falciparum* carriage and the area of residence. Similar results were found in Vanuatu in 2008 and in northern Peru between 2008 and 2010 [28, 29]. In 2002, a study in Ghana showed that the level of antibody was higher among older subjects [30]. This was also demonstrated in The Gambia and Senegal in 2002 [22, 31]. In children with *P. falciparum* infection, the seroprevalence of antibodies is higher compared to those without *P. falciparum* infection. The association between malaria and

level of antibody (anti-AMA1, anti-MSP1$_{-42}$ and anti-CSP) has been demonstrated by several immuno-epidemiological studies [32–39]. Comparing both sites, the seroprevalence of antibodies is higher in Velingara than in Keur Soce. This may be due to the fact that malaria transmission is most intense in southern Senegal. The variation of malaria between areas has been demonstrated [22].

Gender, Hb level and nutritional status did not play a role in antibody production. This was demonstrated in 2002 in Senegalese preschool children when assessing the immunological consequences of intermittent preventive treatment [30].

Serological markers can be a useful tool for malaria epidemiology characterization particularly in areas with a decrease of malaria and can even contribute to the identification of malaria hot spots in order to concentrate intervention efforts. Others studies suggest that sero-epidemiological analysis will be useful tool in assessing short-term changes in exposure and malaria transmission in area with a low or seasonal transmission. It was demonstrated in Ghana, Kenya and Indonesia [40, 41].

Study limitation

The age of the study population being limited to 10 years constituted a study limitation. To better document the changing profile of malaria epidemiology, it would be relevant to extend the study to the other age groups in order to characterize the burden of the disease in the study areas.

Conclusion

Serological markers can be used as complementary tools for malaria survey in areas with a declining pattern of malaria in Senegal. This study provided useful baseline information about the sero-epidemiological situation of malaria in Senegal and can contribute to the identification of malaria hot spots in order to concentrate intervention efforts.

Authors' contributions

KS, RCT, MN, DS, AS, MLT, ID, ACL, AA, MCS, MN, ASB, JLN, DN, OF, TD, YD, ON, OG, and BF conceived and designed the study. KS and RCT monitored the data collection. KS, MN, AS, and MLT collected data in the site. KS analysed the data and wrote the first draft of the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

Author details

[1] Service de Parasitologie-Mycologie, Faculté de Médecine, Pharmacie et Odontologie, Université Cheikh Anta Diop de Dakar, Dakar, Sénégal. [2] Département de Parasitologie-Mycologie, Université des Sciences de la Santé, Libreville, Gabon.

Acknowledgements

We thank all patients who agreed to participate in the study. We also acknowledge Dr Patrick Duffy and Dr Richard Shimp from NIH/NIAID (National Institutes of Health/Nantional Institue of Allergy and Infectious Diseases) and Daniel Dodo, from Noguchi Memorial Institute for Medical Research, University of Ghana, Legon, Ghana) who provided the antigens.

Compliance with ethical guidelines

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Received: 30 January 2015 Accepted: 1 July 2015
Published online: 16 July 2015

References

1. WHO (2008) Global malaria control and elimination. Technical Consultation Report. Geneva, World Health Organization. http://www.who.int/malaria/publications/atoz/9789241596817/en/
2. WHO (2007) Malaria elimination: A field manual for low and moderate endemic countries. Geneva, World Health Organization. www.who.int/entity/malaria/publications/atoz/9789241596084
3. WHO (2010) WHO Policy recommendation on Intermittent Preventive Treatment during infancy with sulphadoxine-pyrimethamine (SP-IPTi) for *Plasmodium falciparum* malaria control in Africa. Geneva, World Health Organization. http://www.who.int/malaria/news/WHO_policy_recommendation_IPTi_032010.pdf?ua=1
4. National malaria control program Senegal (2006) Strategic plan against malaria 2006–2010. http://www.pnlp.sn/rapport.html
5. Mwingira F, Genton B, Kabanywanyi AN, Felger I (2014) Comparison of detection methods to estimate asexual *Plasmodium falciparum* parasite prevalence and gametocyte carriage in a community survey in Tanzania. Malar J 13:433
6. Razakandrainibe R, Thonier V, Ratsimbasoa A, Rakotomalala E, Ravaoarisoa E, Raherinjafy R et al (2009) Epidemiological situation of malaria in Madagascar: baseline data for monitoring the impact of malaria control programs using serological markers. Acta Trop 111:160–167
7. Rogier C, Henry MC, Trape JF (2009) Evaluation épidémiologique du paludisme en zone d'endémie. Med Trop 69:123–124
8. Rogier C (2003) Paludisme de l'enfant en zone d'endémie : Epidémiologie, Acquisition d'une immunité et Stratégies de lutte. Med Trop 63:449–464
9. Kocken CH, Withers-Martinez C, Dubbeld MA, Van Der WA, Hackett F, Valderrama A et al (2002) High-level expression of the malaria blood-stage vaccine candidate *Plasmodium falciparum* apical membrane antigen 1 and induction of antibodies that inhibit erythrocyte invasion. Infect Immun 70:4471–4476
10. Shimp RL, Martin LB, Zhang Y, Henderson BS, Duggan P et al (2006) Production and characterization of clinical grade *Escherichia coli*-derived *Plasmodium falciparum* 42-kDa merozoite surface protein 1 (MSP142) in the absence of an affinity tag. Protein Expr Purif 50:58–67
11. Plassmeyer ML, Reiter K, Shimp RL, Kotova S, Smith PD, Hurt DE et al (2009) Structure of the *Plasmodium falciparum* circumsporozoite protein, a leading malaria vaccine candidate. J Biol Chem 284: 26951–26963
12. Corran PH, Cook J, Lynch C, Leendertse H, Manjurano A, Griffin J et al (2008) Dried blood spots as a source of anti-malarial antibodies for epidemiological studies. Malar J 7:195
13. Drakeley CJ, Corran PH, Coleman PG, Tongren JE, McDonald SL, Carneiro I et al (2005) Estimating medium- and long-term trends in malaria transmission by using serological markers of malaria exposure. Proc Natl Acad Sci USA 102:5108–5113
14. Guitard J, Cottrell G, Magnouha NM, Salanti A, Li T, Sow S et al (2008) Differential evolution of anti-VAR2CSA- IgG3 in primigravidae and multigravidae pregnant women infected by *Plasmodium falciparum*. Malar J 7:10
15. Tine RC, Faye B, Ndour CT, Ndiaye JL, Ndiaye M, Bassene C et al (2011) Impact of combining intermittent preventive treatment with home management of malaria in children less than 10 years in a rural area of Senegal: a cluster randomized trial. Malar J 10:358
16. Dolgin E (2010) Targeting hotspots of transmission promises to reduce malaria. Nat Med 16:1055

17. Woolhouse ME, Dye C, Etard JF, Smith T, Charlwood JD, Garnett GP et al (1997) Heterogeneities in the transmission of infectious agents: implications for the design of control programs. Proc Natl Acad Sci USA 94:338–342
18. Oduro AR, Bojang KA, Conway DJ, Corrah T, Greenwood BM, Schellenberg D (2011) Health centre surveys as a potential tool for monitoring malaria epidemiology by area and over time. Plos One 6:26305
19. Stewart L, Gosling R, Griffin J, Gesase S, Campo J, Hashim R et al (2009) Rapid assessment of malaria transmission using age-specific sero-conversion rates. Plos One 4:6083
20. Agence Nationale de la Statistique et de la Démographie (ANSD), Sénégal. Enquête nationale sur le paludisme 2008–2009 Juillet 2009. http://www.ansd.sn/ressources/rapports/EDS-continue_2008-2009.pdf
21. Agence Nationale de la Statistique et de la Démographie (ANSD), Sénégal. Enquête Démographique et de Santé Continue au Sénégal 2012–2013. http://www.ansd.sn/ressources/rapports/EDS-continue_2012-2013.pdf
22. Oduro RA, Conway DJ, Schellenberg D, Satoguina J, Greenwood BM and Bojang KA (2013) Sero-epidemiological and parasitological evaluation of the heterogeneity of malaria infection in the Gambia. Malar J 12:222
23. Cook J, Speybroeck N, Sochanta T, Somony H, Sokny M, Filip Claes F et al. (2012) Sero epidemiological evaluation of changes in *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* transmission patterns over the rainy season in Cambodia. Malar J 11:86
24. Tine RT, Ndiaye M, Hansson HH, Ndour CT, Faye B, Alifrangis M et al (2012) The association between malaria parasitaemia, erythrocyte polymorphisms, malnutrition and anaemia in children less than 10 years in Senegal: a case control study. BMC Res Notes 5:565
25. Kwadwo AK, Samuel B, Daniel D, Eric KB, Emmanuel KD, Daniel M et al (2014) Anti-sporozoite antibodies as alternative markers for malaria transmission intensity estimation. Malar J 13:103
26. Supargiyono S, Bretscher MT, Wijayanti MA, Sutanto I, Nugraheni D, Rozqie R et al (2013) Seasonal changes in the antibody responses against *Plasmodium falciparum* merozoite surface antigens in areas of differing malaria endemicity in Indonesia. Malar J 12:444
27. Cook J, Reid H, Iavro J, Kuwahata M, Taleo G, Clements A et al (2010) Using serological measures to monitor changes in malaria transmission in Vanuatu. Malar J 9:169
28. Aguirre A, Lianos CA, Cook J, Contreras MJ, Soto V, Gamboa D et al (2013) Assessing malaria transmission in a low endemiciy area of north-western Peru. Malar J 12:339
29. Dodoo D, Aikins A, Kusi KA, Lamptey H, Remarque E, Milligan P et al (2008) Cohort study of the association of antibody levels to AMA1, MSP1_19, MSP3 and GLURP with protection from clinical malaria in Ghanaian children. Malar J 7:142
30. Boulanger D, Sarr JB, Fillol F, Sokhna C, Cisse B, Schacht A.M et al. (2010) Immunological consequences of intermittent preventive treatment against malaria in Senegalese preschool children. Malar J 9:363
31. Braga EM, Barros RM, Reis TA, Fontes CJ, Morais CG, Martins MS et al (2002) Association of the IgG response to *Plasmodium falciparum* merozoite protein (C-terminal 19 kD) with clinical immunity to malaria in the Brazilian Amazon region. Am J Trop Med Hyg 66:461–466
32. Holder AA, Riley EM (1996) Clinical immunity to *Plasmodium falciparum* malaria is associated with serum antibodies to the 19-kDa C-terminal fragment of the merozoite surface antigen, PfMSP-1. J Infect Dis 173:765–769
33. Kitua AY, Lemnge MM, Theander TG (2005) Cytophilic antibodies to *Plasmodium falciparum* glutamate rich protein are associated with malaria protection in an area of holoendemic transmission. Malar J 4:48
34. Meraldi V, Nebie I, Tiono AB, Diallo D, Sanogo E, Theisen M et al (2004) Natural antibody response to *Plasmodium falciparum* Exp-1, MSP-3 and GLURP long synthetic peptides and association with protection. Parasite Immunol 26:265–272
35. Dodoo D, Theisen M, Kurtzhals JA, Akanmori BD, Koram KA, Jepsen S et al (2000) Naturally acquired antibodies to the glutamate-rich protein are associated with protection against *Plasmodium falciparum* malaria. J Infect Dis 181:1202–1205
36. Theisen M, Dodoo D, Toure Balde A, Soe S, Corradin G, Koram KK et al (2001) Selection of glutamate-rich protein long synthetic peptides for vaccine development: antigenicity and relationship with clinical protection and immunogenicity. Infect Immun 69:5223–5229
37. Oeuvray C, Theisen M, Rogier C, Trape JF, Jepsen S, Druilhe P (2000) Cytophilic immunoglobulin responses to *Plasmodium falciparum* glutamate-rich protein are correlated with protection against clinical malaria in Dielmo, Senegal. Infect Immun 68:2617–2620
38. Nahlen BL, Bloland PB, Kaslow DC, Lal AA (1998) A longitudinal investigation of IgG and IgM antibody responses to the merozoite surface protein-1 19-kiloDalton domain of *Plasmodium falciparum* in pregnant women and infants: associations with febrile illness, parasitemia, and anemia. Am J Trop Med Hyg 58:211–219
39. Morais CG, Soares IS, Carvalho LH, Fontes CJ, Krettli AU, Braga EM (2005) IgG isotype to C-terminal 19 kDa of *Plasmodium vivax* merozoite surface protein 1 among subjects with different levels of exposure to malaria in Brazil. Parasitol Res 95:420–426
40. Bretscher MT, Supargiyono S, Wijayanti MA, Nugraheni D, Widyastuti AN, Lobo NF et al (2013) Measurement of *Plasmodium falciparum* transmission intensity using serological cohort data from Indonesian schoolchildren. Malar J 12:21
41. Jacklyn W, Hamel MJ, Drakeley CJ, Kariuki S, Shi Y, Lal A et al (2014) Serological markers for monitoring historical changes in malaria transmission intensity in a highly endemic region of Western Kenya, 1994–2009. Malar J 13:451

Submit your next manuscript to BioMed Central and take full advantage of:

- **Convenient online submission**
- **Thorough peer review**
- **No space constraints or color figure charges**
- **Immediate publication on acceptance**
- **Inclusion in PubMed, CAS, Scopus and Google Scholar**
- **Research which is freely available for redistribution**

Submit your manuscript at
www.biomedcentral.com/submit

BioMed Central

Etude 2: Potentiel impact de la Chimioprévention du Paludisme Saisonnier (CPS) sur l'acquisition des anticorps anti-GLURP_R0 et anti AMA1 chez les enfants vivant au Sud du Sénégal

Les résultats de cette étude ont fait l'objet d'un article publié dans la revue *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*.

1. Résumé

Introduction : La chimioprévention du paludisme saisonnier (CPS) est une stratégie visant à réduire la morbi-mortalité liée au paludisme chez les enfants vivant au niveau des zones où la transmission du paludisme est saisonnière et hyper-endémique. Elle se définit comme étant l'administration de doses curatives d'antipaludiques durant la saison de transmission du paludisme. Toutefois, cette stratégie semble retardée l'acquisition de l'immunité. L'objectif de cette étude était d'étudier l'impact de cette stratégie sur l'acquisition des anticorps anti-GLURP_R0 et anti-AMA1.

Patients et Méthodes : Une enquête transversale a été réalisée en 2010 chez les enfants de moins de 10 ans dans les districts sanitaires de Saraya, Vélingara (zone CPS avec la Sulfadoxine-Pyrimethamine (SP) et l'Amodiaquine (AQ) utilisée depuis 2007) et Tambacounda (zone contrôle). La production des IgG anti-Glutamata Rich Protein R0 (GLURP_R0) et Apical Membrane Protein 1 (AMA1) a été mesurée par la méthode ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay).

Résultats : Au total 1578 enfants de moins de 10 ans ont été inclus dans l'étude. La mesure des IgG a été réalisée que sur 372 enfants (186 dans le groupe intervention et 186 dans le groupe contrôle). L'âge moyen des enfants dans le groupe intervention était de 6,2 ans et de 6,3 ans dans le groupe contrôle. La production des anticorps était plus importante dans la zone contrôle comparé à la zone intervention (GLURP_R0 $p<10^{-3}$ et AMA1 p=0,001). Le pourcentage de sujets répondeurs était plus important dans la zone contrôle comparée à la zone intervention mais sans différence significative [GLURP_R0 (22,2% versus 14,4% ; p=0,06), AMA1 (45,6% versus 40% ; p=0,24].

Conclusion : Les résultats de cette ont montré que la chimioprévention du paludisme saisonnier avec la Sulfadoxine-Pyrimethamine (SP) et l'Amodiaquine (AQ) a un impact limité sur le développement de l'immunité acquise contre le paludisme à *Plasmodium falciparum* par une baisse de la production des anticorps anti-GLURP_R0 et anti-AMA1.

2. Manuscript

Am. J. Trop. Med. Hyg., 93(4), 2015, pp. 798–800
doi:10.4269/ajtmh.14-0808
Copyright © 2015 by The American Society of Tropical Medicine and Hygiene

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

Magatte Ndiaye,* Khadime Sylla, Doudou Sow, Roger Tine, Babacar Faye, Jean Louis Ndiaye, Yemou Dieng, Aminata Collé Lo, Annie Abiola, Badara Cisse, Daouda Ndiaye, Michael Theisen, Oumar Gaye, and Michael Alifrangis

Service de Parasitologie–Mycologie, Faculté de Médecine, Université Cheikh Anta Diop de Dakar, Dakar, Sénégal; Centre for Medical Parasitology, Department of International Health, Immunology and Microbiology, University of Copenhagen, Copenhagen, Denmark; Department of Infectious Disease, Copenhagen University Hospital, Copenhagen, Denmark

Abstract. Seasonal malaria chemoprevention (SMC) is defined as the intermittent administration of full treatment courses of an antimalarial drug to children during the peak of malaria transmission season with the aim of preventing malaria-associated mortality and morbidity. SMC using sulfadoxine–pyrimethamine (SP) combined with amodiaquine (AQ) is a promising strategy to control malaria morbidity in areas of highly seasonal malaria transmission. However, a concern is whether SMC can delay the natural acquisition of immunity toward malaria parasites in areas with intense SMC delivery. To investigate this, total IgG antibody (Ab) responses to *Plasmodium falciparum* antigens glutamate-rich protein R0 (GLURP-R0) and apical membrane antigen 1 (AMA-1) were measured by enzyme-linked immunosorbent assay in Senegalese children under the age of 10 years in 2010 living in Saraya and Velingara districts (with SMC using SP+AQ [SMC+] since 2007) and Tambacounda district (without SMC (SMC−)). For both *P. falciparum* antigens, total IgG response were significantly higher in the SMC− compared with the SMC+ group (for GLURP-R0, $P < 0.001$ and for AMA-1, $P = 0.001$). There was as well a nonsignificant tendency for higher percentage of positive responders in the SMC− compared with the SMC+ group (for GLURP-R0: 22.2% versus 14.4%, respectively [$P = 0.06$]; for AMA-1: 45.6% versus 40.0%, respectively [$P = 0.24$]). Results suggest that long-term malaria chemoprevention by SMC/SP+AQ have limited impact on the development of acquired immunity, as tested using the *P. falciparum* antigens GLURP-R0 and AMA-1. However, other factors, not measured in this study, may interfere as well.

Although the incidence of malaria is declining in many parts of sub-Saharan Africa, it remains an important public health problem, especially in risk groups such as infants, children, and pregnant women. This heavy burden raises the need to optimize control tools and devise appropriate intervention schemes. Several studies have shown a sharp decline of the risk of malaria infections in these risk groups through the use of intermittent preventive treatment (IPT) with sulfadoxine–pyrimethamine (SP) in infants (IPTi),[1,2] in pregnant women (IPTp)[3,4] and by seasonal malaria chemoprevention with SP + amodiaquine (SMC/SP+AQ) of children between age of 1 and 5 years in regions with high seasonal malaria.[5,6] In infants and young children, these prophylactic strategies have been shown to protect children from episodes of malaria, anemia, and death[5,7,8] and have limited impact on drug resistance development.[9,10] Since these strategies reduce parasite exposure this may compromise the acquisition of protective immunity. Correspondingly, studies have shown a decrease in antibodies to malaria antigens after chemoprophylaxis; however, this may simply represent less parasite exposure rather than an actual loss of protective immunity.[11,12]

In Mozambique, chemoprophylaxis with SP did not significantly modify the development of natural immunity in infancy.[13] In Ghana, antibodies against various *Plasmodium falciparum* antigens were significantly lower in children treated once with SP than in controls.[14] Thus, despite its beneficial impact, mass implementation of malaria chemoprophylaxis raises concerns on whether naturally acquired immunity in treated individuals develops as in untreated ones (whether there is a rebound effect). The long-term effect of SMC/SP+AQ on immunity development in areas where this strategy has been routinely used for several years is not well documented. Thus, the aim of this study was to determine the potential impact of SMC/SP+AQ after the strategy has been implemented for 3 years on malaria immunity development in Senegalese children.

Samples were collected during a cross-sectional survey in 2010 involving children under 10 years of age living in three health districts located in southern Senegal where malaria transmission is highly seasonal (see Figure 1). Two of these districts (Saraya and Velingara) have implemented SMC with one dose of SP+AQ on day 1 (given by the community health workers), followed by two doses of AQ on days 2 and 3 for 3 months (August–October) (see Table 1) since 2007, whereas SMC was not implemented in Tambacounda district during this period and thus, function as a control district. Both areas have received universal coverage of bed nets. The latest data on malaria transmission occurring from June to November in this area have shown that the mean entomological inoculation rate (EIR) was 264 infected bites per year in 2003.[15] Before blood sample collection, written informed consent was obtained from parents or guardian of each child. The study was approved by the Ethics Committee of Senegal named Comité National d'Ethique pour la Recherche en Santé (CNERS). During the study, if children presented to health posts with symptoms consistent with mild symptomatic malaria (temperature > 37.5°C) and a positive *P. falciparum* histidine-rich protein II rapid diagnostic test (Standard Diagnostics, Inc.; www.standardia.com), they were offered standard arthemisin combinaison therapy (ACT) first-line treatment (artesunate–amodiaquine) while children with severe malaria were referred to the nearest health district hospital. Finger-prick blood samples were collected from each study participants and blotted onto pre-labeled chromatographic filter paper

*Address correspondence to Magatte Ndiaye, Service de Parasitologie–Mycologie, Faculté de Médecine, Université Cheikh Anta Diop de Dakar, 5005 Dakar-Fann, Sénégal. E-mail: magou2200@yahoo.fr

FIGURE 1. Map of Senegal showing the study sites. Saraya and Velingara are districts were seasonal malaria chemoprevention (SMC) has been implemented since 2007, whereas in Tambacounda, SMC has not been implemented and thus, function as a control district.

(Whatman 3M; Maidston, Life Sciences United Kingdom), and stored with silica gel at 4°C until the serological analyses. Thick and thin blood films were also done for microscopic identification of *Plasmodium* species.

Blood thick smears were stained with 5% Giemsa, and parasite density was determined by counting the number of asexual parasites per 200 white blood cells, and calculated per microliter using the following formula: number of parasites × 8,000/200, assuming a white blood cell count of 8,000 cells/μL. Absence of malaria parasites in 200 high-power ocular fields of the thick films by two microscopists were considered as negative.

A total of 1,578 children under 10 years were enrolled in districts with SMC (Saraya and Velingara) and similar number of children under 10 years were enrolled in the district without SMC (Tambacounda). Malaria prevalence by microscopy was 7.3% (116/1,578) and 10.1% (159/1,578) in SMC+ and SMC− districts, respectively ($P = 0.012$).

From the 1,578 collected filter paper samples in each district, a randomization list was generated and a subsample of 372 (186 from the SMC+ group, mean age 6.2 ± 1.4 [93 positives + 93 negatives by microscopy] and 186 from SMC− group, mean age 6.3 ± 1.5 [93 positives + 93 negatives by microscopy]) was selected for serological analysis. The 372 filter paper samples were extracted as described (16). Antibody titers were measured by indirect enzyme-linked immunosorbent assay as described in reference,[17] using the *P. falciparum* glutamate-rich protein R0 (GLURP-R0) and *P. falciparum* apical membrane antigen 1 (AMA-1) recombinant proteins.[18] Positivity of samples was defined as optical density values above the mean of negative controls plus three standard deviations.

TABLE 1
SP+AQ dosages in SMC

	Day 1 (TDO)	Day 2	Day 3
3–11 months	½ cp SP + ½ cp AQ	½ cp AQ	½ cp AQ
12–59 months	1 cp SP + 1 cp AQ	1 cp AQ	1 cp AQ
5–9 years	1½ cp SP + 1½ cp AQ	1½ cp AQ	1½ cp AQ

AQ = amodiaquine; SMC = seasonal malaria chemoprevention; SP = sulfadoxine–pyrimethamine; TDO = treatment direct observed.

For both antigens, total prevalence of IgG seropositive responders beyond the calculated thresholds were higher in the SMC− compared with the SMC+ group (for GLURP-R0: 22.2% versus 14.4%, respectively, $P = 0.06$; for AMA-1: 45.6% versus 40.0%, respectively, $P = 0.24$). Similarly, regarding the crude IgG response (measured as arbitrary units), they were significantly higher in the SMC− compared with the SMC+ group (for GLURP-R0: 0.085 ± 0.083 versus 0.065 ± 0.064, $P < 0.001$ and for AMA-1: 0.225 ± 0.216 versus 0.124 ± 0.177, $P < 0.001$). When subdividing the groups into those that were positive or negative for *P. falciparum*, respectively, among the *P. falciparum* negative samples, the mean level of antibody response against GLURP-R0 was significantly higher in the SMC− as compared with SMC+ group (0.089 versus 0.025, $P < 0.001$); however, this was not significant regarding AMA-1 (0.021 versus 0.007, $P = 0.75$). Similarly, for the *P. falciparum* positives samples, the IgG response was significantly higher in SMC− group (GLURP-R0 = 0.308 ± 0.29; AMA-1 = 0.13 ± 0.09) compared with SMC+ group (GLURP-R0 = 0.182 ± 0.22; AMA-1 = 0.095 ± 0.07), $P < 0.001$ and $P = 0.001$ for GLURP-R0 and AMA-1, respectively (see Figure 2).

By comparing antibody responses to *P. falciparum* antigens in children under 10 years of age living in areas where SMC/SP+AQ were implemented for 3 years with an area without SMC, this study showed that for both *P. falciparum* antigens GLURP-R0 and AMA-1, total IgG response were higher in the district without SMC implementation. Similar results were found in Senegal by Boulanger and others[19] where they showed that children receiving SMC had a slightly lower level of anti-*Plasmodium* schizont antibodies compared with non-treated control children after 8 months of implementation. Thus, the lower falciparum-specific antibody level noticed in the districts with SMC/SP+AQ most likely represent

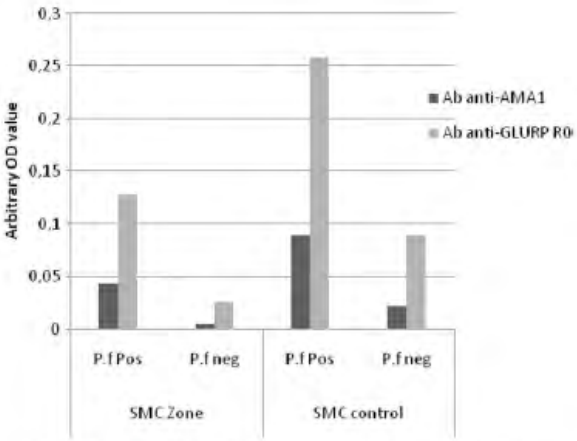


FIGURE 2. Antibodies (Ab) response in children under 10 years of age in area with and without seasonal malaria chemoprevention (SMC). P.f pos: *Plasmodium falciparum* positive by microscopy; P.f neg: *P. falciparum* negative by microscopy; SMC zone: area with SMC intervention; SMC control: area without SMC.

a lower development of acquired immunity toward malaria, and may be directly due to the SMC strategy. However, this difference could also be affected by differences in malaria transmission between these districts. Malaria transmission data (EIR) were not available during our study period, which is a limitation of our study. Our observations show that long-term malaria chemoprevention by SMC/SP+AQ may have limited impact on the development of antibody response against *P. falciparum* antigens such as GLURP-R0 and AMA-1; however, other factors may interfere such as heterogeneity of exposure and higher previous exposure that are significant predictors of higher antibody responses.

Received December 16, 2014. Accepted for publication June 5, 2015.

Published online August 17, 2015.

Acknowledgments: We would like to express our gratitude to all the study participants, particularly the study population and administrative authorities, the entire staff of the Parasitology and Mycology Department in Senegal, and the Center for Medical Parasitology.

Financial support: This work was supported by the Malaria Capacity Development Consortium, which is funded by Wellcome Trust grant WT084289MA and Bill and Melinda Gates Foundation grant 51941 (http://www.mcdconsortium.org).

Authors' addresses: Magatte Ndiaye, Khadime Sylla, Doudou Sow, Roger Tine, Babacar Faye, Jean Louis Ndiaye, Yemou Dieng, Aminata Collé Lo, Annie Abiola, Badara Cisse, Daouda Ndiaye, and Oumar Gaye, Service de Parasitologie–Mycologie, Faculté de Médecine, Université Cheikh Anta Diop de Dakar, Dakar, Sénégal, E-mails: magou22000@yahoo.fr, khadimesylla@yahoo.fr, doudsow@yahoo.fr, rogertine@hotmail.com, bfaye67@yahoo.fr, jlndiaye@yahoo.com, yemoud1@yahoo.fr, amlosn@yahoo.fr, annie_abiola@yahoo.fr, badara.cisse@lshtm.ac.uk, dndiaye@hsph.harvard.edu, and ogaye@refer.sn. Michael Theisen and Michael Alifrangis, Centre for Medical Parasitology, Department of International Health, Immunology and Microbiology, University of Copenhagen, Denmark, and Department of Infectious Disease, Copenhagen University Hospital, Denmark, E-mails: mth@ssi.dk and micali@sund.ku.dk.

This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

REFERENCES

1. Schellenberg D, Menendez C, Aponte JJ, Kahigwa E, Tanner M, Mshinda H, Alonso P, 2005. Intermittent preventive antimalarial treatment for Tanzanian infants: follow-up to age 2 years of a randomised, placebo-controlled trial. *Lancet 365:* 1481–1483.
2. Aponte JJ, Schellenberg D, Egan A, Breckenridge A, Carneiro I, Critchley J, Danquah I, Dodoo A, Kobbe R, Lell B, May J, Premji Z, Sanz S, Sevene E, Soulaymani-Becheikh R, Winstanley P, Adjei S, Anemana S, Chandramohan D, Issifou S, Mockenhaupt F, Owusu-Agyei S, Greenwood B, Grobusch MP, Kremsner PG, Macete E, Mshinda H, Newman RD, Slutsker L, Tanner M, Alonso P, Menendez C, 2009. Efficacy and safety of intermittent preventive treatment with sulfadoxine-pyrimethamine for malaria in African infants: a pooled analysis of six randomised, placebo-controlled trials. *Lancet 374:* 1533–1542.
3. ter Kuile FO, Van Eijk AM, Filler SJ, 2007. Effect of sulfadoxine-pyrimethamine resistance on the efficacy of intermittent preventive therapy for malaria control during pregnancy: a systematic review. *JAMA 297:* 2603–2616.
4. World Health Organization, 2004. *A Strategic Framework for Malaria Prevention and Control during Pregnancy in the African Region*. Geneva, Switzerland: World Health Organization.
5. Wilson AL, 2011. A systematic review and meta-analysis of the efficacy and safety of intermittent preventive treatment of malaria in children (IPTc). *PLoS One 6:* e16976.
6. WHO, 2012. *WHO Policy Recommendation: Seasonal Malaria Chemoprevention (SMC) for Plasmodium falciparum Malaria Control in Highly Seasonal Transmission Areas of the Sahel Sub-Region in Africa*. Geneva, Switzerland: World Health Organization.
7. Cissé B, Sokhna C, Boulanger D, Milet J, Bâ el H, Richardson K, Hallett R, Sutherland C, Simondon K, Simondon F, Alexander N, Gaye O, Targett G, Lines J, Greenwood B, Trape JF, 2006. Seasonal intermittent preventive treatment with artesunate and sulfadoxine-pyrimethamine for prevention of malaria in Senegalese children: a randomised, placebo-controlled, double blind trial. *Lancet 367:* 659–667.
8. Chandramohan D, Owusu-Agyei S, Carneiro I, Awine T, Amponsa-Achiano K, Mensah N, Jaffar S, Baiden R, Hodgson A, Binka F, Greenwood B, 2005. Cluster randomized trial of intermittent preventive treatment for malaria in infants in area of high, seasonal transmission in Ghana. *BMJ 331:* 727–733.
9. Ndiaye M, Tine R, Faye B, Ndiaye JL, Lo AC, Sylla K, Abiola A, Dieng Y, Ndiaye D, Hallett R, Gaye O, Alifrangis M, 2013. Selection of antimalarial drug resistance after intermittent preventive treatment of infants and children (IPTi/c) in Senegal. *Am J Trop Med Hyg 88:* 1124–1129.
10. Faye B, Ndiaye M, Ndiaye JL, Annie A, Tine RC, Lo AC, Ndiaye M, Sow D, De Sousa A, Gaye O, 2011. Prevalence of molecular markers of *Plasmodium falciparum* resistance to sulfadoxine–pyrimethamine during the intermittent preventive treatment in infants coupled with the expanded program immunization in Senegal. *Parasitol Res 109:* 133–138.
11. Hogh B, Petersen E, Crandall I, Gottschau A, Sherman IW, 1994. Immune responses to band 3 neo antigens on *Plasmodium falciparum*-infected erythrocytes in subjects living in an area of intense malaria transmission are associated with low parasite density and high hematocrit value. *Infect Immun 62:* 4362–4366.
12. Voller A, Wilson H, 1964. Immunoligical aspects of a population under prophylaxis against malaria. *BMJ 2:* 551–552.
13. Quelhas D, Puyol L, Quinto L, Serra-Casas E, Nhampossa T, Macete E, Aide P, Mayor A, Mandomando I, Sanz S, Aponte JJ, Chauhan VS, Chitnis CE, Alonso PL, Menéndez C, Dobaño C, 2008. Impact of intermittent preventive treatment with sulfadoxine-pyrimethamine on antibody responses to erythrocytic-stage *Plasmodium falciparum* antigens in infants in Mozambique. *Clin Vaccine Immunol 15:* 1282–1291.
14. Schreiber N, Kobbe R, Adjei S, Adjei O, Klinkert MQ, May J, 2007. Immune responses after single-dose sulphadoxine-pyrimethamine indicate underestimation of protective efficacy of intermittent preventive treatment in infants. *Trop Med Int Health 12:* 1157–1163.
15. Dia I, Diop T, Rakotoarivony I, Kengne P, Fontenille D, 2003. Bionomics of *Anopheles gambiae* Giles, *An. arabiensis* Patton, *An. funestus* Giles and *An. nili* (Theobald) (Diptera: Culicidae) and transmission of *Plasmodium falciparum* in a Sudano-Guinean zone (Ngari, Senegal). *J Med Entomol 40:* 279–283.
16. Corran PH, Cook J, Lynch C, Manjurano A, Cox J, Abeku T, Bousema T, Ghani AC, Drakeley C, Riley E, 2008. Dried blood spots as a source of anti-malarial antibodies for epidemiological studies. *Malar J 7:* 195.
17. Bousema T, Youssef RM, Cook J, Cox J, Alegana VA, Amran J, Noor AM, Snow RW, Drakeley C, 2010. Serologic markers for detecting malaria in areas of low endemicity, Somalia, 2008. *Emerg Infect Dis 16:* 392–399.
18. Cavanagh DR, Dobano C, Elhassan IM, Marsh K, Elhassan A, Hviid L, Khalil EATG, Theander TG, Arnot DE, McBride JS, 2001. Differential patterns of human immunoglobulin G subclass responses to distinct regions of a single protein, the merozoite surface protein 1 of *Plasmodium falciparum*. *Infect Immun 69:* 1207–1211.
19. Boulanger D, Sarr JB, Fillol F, Sokhna C, Cisse B, Schacht AM, Trape JF, Riveau G, Simondon F, Greenwood B, Remoué F, 2010. Immunological consequences of intermittent preventive treatment against malaria in Senegalese preschool children. *Malar J 9:* 363.

Etude 3: Effets immunologiques de la Chimioprévention du Paludisme Saisonnier (CPS) avec la Sulfadoxine-Pyrimethamine (SP) et l'Amodiaquine (AQ) chez les enfants de moins de 10 ans vivant à Vélingara

Résumé

Introduction : Dans les pays en développement les enfants sont les plus touchés par le paludisme. Dans le souci de renforcer la lutte contre le paludisme chez les enfants, la chimioprévention du paludisme saisonnier a été recommandée par l'OMS. Cette stratégie s'est révélée très efficace dans la prévention du paludisme et ses complications. L'objectif de cette étude était d'évaluer les effets immunologiques de cette stratégie chez les enfants de moins de 10 ans vivant au Sud-Est du Sénégal.

Patients et Méthodes : Cette étude a été réalisée dans le cadre d'un essai communautaire randomisé évaluant l'impact du traitement préventif intermittent saisonnier avec une dose unique de Sulfadoxine-Pyrimethamine (SP) et 3 doses d'Amodiaquine (AQ). Une enquête transversale a été réalisée en Octobre 2010 (baseline) et une autre enquête un an après intervention (Septembre 2011) dans le but d'évaluer l'impact de la stratégie sur l'immunité des enfants. La prévalence du paludisme a été mesurée par goutte épaisse et frottis sanguin. Des confettis ont été réalisés pour mesurer les IgG anti-MSP1$_{42}$ et anti-AMA1 par ELISA. Une régression logistique a été faite pour l'analyse des facteurs associés à la production d'anticorps.

Résultats : Au total 1611 enfant moins de 10 ans ont été inclus dans cette étude (866 enfants en 2010 et 745 enfants en 2011). Avant intervention, la prévalence du paludisme était de 10,39% et après intervention, cette prévalence était de 5,03%. Les résultats ont montré une diminution de la production des IgG anti-MSP1 et anti-AMA entre 2010 et 2011. Le pourcentage de sujets producteurs d'anticorps anti_MSP1 et anti_AMA1 était plus importante en 2010 comparée en 2011. La séroprévalence des anticorps anti-AMA1 et anti-MSP1 augmente avec l'âge et le portage de *Plasmodium falciparum*. Par contre, elle diminue en fonction de la zone et de la période d'étude et est indépendamment associée à la séropositivité.

Conclusion : Les résultats de cette étude ont montré que la chimioprévention du paludisme saisonnier est une stratégie efficace pour la prévention du paludisme de l'enfant. Cette stratégie nécessite d'être renouvelée chaque année dans les zones de forte endémicité pour éviter une recrudescence des cas de paludisme. D'autre part, la CPS entraine une réduction de la production des anticorps qui sont associés à la protection contre le paludisme.

Les résultats de cette étude ont fait l'objet d'un manuscript soumis dans la revue *Malaria Journal.*

Immunological effect of Seasonal Malaria Chemoprevention (SMC) with Sulfadoxine-Pyrimethamine (SP) and Amodiaquine (AQ) in children under 10 years in the South-eastern part of Senegal

Khadime Sylla[1,] Roger CK Tine[1], Doudou Sow[1], Magatte NDiaye[1], Aïssatou Sarr[1], Marie LT Mbuyi[2], Ibrahima Diouf[1], Amy C Lô[1], Annie Abiola[1], Mame Seck[1], Mouhamadou NDiaye[1,] Aïda S Badiane[1] , Jean LA N'Diaye[1], Daouda NDiaye[1], Oumar Faye[1], Thérèse Dieng[1], Yémou Dieng[1], Oumar Ndir[1], Oumar Gaye[1], Babacar Faye[1]

[1-]Service de Parasitologie-Mycologie, Faculté de Médecine, Pharmacie et Odontologie, Université, Cheikh Anta Diop, Dakar, Senegal

[2-]Département de Parasitologie-Mycologie, Université des Sciences de la Santé, Libreville, Gabon

*Corresponding author

Malaria Journal

Immunological effect of Seasonal Malaria Chemoprevention (SMC) with Sulphadoxine-Pyrimethamine (SP) and Amodiaquine (AQ) in children under 10 years in the South-eastern part of Senegal

--Manuscript Draft--

Manuscript Number:	
Full Title:	Immunological effect of Seasonal Malaria Chemoprevention (SMC) with Sulphadoxine-Pyrimethamine (SP) and Amodiaquine (AQ) in children under 10 years in the South-eastern part of Senegal
Article Type:	Research
Funding Information:	
Abstract:	Background: In developing countries, malaria is still a major public health problem and children are the most affected individuals. In order to strengthen malaria control, new intervention such as Seasonal Malaria Chemoprevention (SMC) has been developed. This strategy is very effective in preventing malaria clinical episodes but its effect on children's immunity is not well documented. This study aimed to assess the immunological effects of SMC among children under 10 years living in the southern part of Senegal (Velingara). Patients and Methods: The study was nested in a cluster randomized trial aiming at assessing the impact of SMC with a single dose of Sulphadoxine-Pyrimethamine (SP) and 3 doses of Amodiaquine (AQ). Two cross-sectional surveys were carried out at baseline (October 2010) and a year after the intervention period (September 2011) to assess the effect of SMC on children's immunity. Thick and thin blood smears were used to assess malaria parasiteamia prevalence. Blood was collected on filter paper for serological measurement by ELISA was used to measure IgG anti-MSP1_42 and anti-AMA1. Logistic regression analysis was performed to assess factors associated with the production of antibodies. Results: A total number of 1611 children under 10 were included in the two surveys (866 children in 2010 and 745 children in 2011). Malaria prevalence was 10.39% at baseline (2010) and 5.03% after intervention (2011). The seroprevalence of anti-MSP1_42 anti-AMA1 antibodies was higher in 2010 compared to 2011 providing a significant reduction of IgG production at 11.4 AU (95%CI 8.3-14.4) for MSP1_42 and 7.2 AU (95%CI 4.5-9.9) for AMA1. Seroprevalence increased with age and Plasmodium falciparum carriage while it decreased according to the area and the study period. Conclusion: SMC is an effective strategy for malaria prevention in children under 10 years. The strategy can as well induce a decrease of IgG anti-AMA1 and anti-MSP1_42 which are protective against malaria. Consequently this strategy needs to be renewed each year in areas where malaria is highly seasonal to avoid a resurgence of malaria, while promoting the use of other antimalarial interventions. Keywords: Malaria, Plasmodium falciparum, SMC, Children, Immunity, Senegal Trial registration number: PACTR201305000551876 (www.pactr.org)
Corresponding Author:	Khadime SYLLA, MD, MSc Universite Cheikh Anta Diop Dakar, SENEGAL
Corresponding Author Secondary Information:	
Corresponding Author's Institution:	Universite Cheikh Anta Diop
Corresponding Author's Secondary Institution:	
First Author:	Khadime SYLLA, MD, MSc
First Author Secondary Information:	
Order of Authors:	Khadime SYLLA, MD, MSc
	Roger Clément Kouly Tine, MD, PhD

Powered by Editorial Manager® and ProduXion Manager® from Aries Systems Corporation

1. Abstract

Background: In developing countries, malaria is still a major public health problem and children are the most affected individuals. In order to strengthen malaria control, new intervention such as Seasonal Malaria Chemoprevention (SMC) has been developed. This strategy is very effective in preventing malaria clinical episodes but its effect on children's immunity is not well documented. This study aimed to assess the immunological effects of SMC among children under 10 years living in the southern part of Senegal (Velingara).

Methods: The study was nested in a cluster randomized trial aiming at assessing the impact of SMC with a single dose of Sulfadoxine-Pyrimethamine (SP) and 3 doses of Amodiaquine (AQ). Two cross-sectional surveys were carried out at baseline (October 2010) and a year after intervention period (September 2011) to assess the effect of SMC on children's immunity. Thick and thin blood smears were used to assess malaria parasiteamia prevalence. Blood was collected on filter paper for serological measurement by ELISA was used to measure IgG anti-MSP1$_{_42}$ and anti-AMA1. Logistic regression analysis was performed to assess factors associated with the production of antibodies.

Results: A total number of 1611 children under 10 were included in the surveys (866 children in 2010 and 745 children in 2011). Malaria prevalence was 10.39% at baseline (2010) and 5.03% after intervention (2011). Seroprevalence of anti-MSP1$_{_42}$ anti-AMA1 antibodies was higher in 2010 compared to 2011 providing a significant reduction of IgG production at 11.4 AU (95%CI [8.3-14.4]) for MSP1$_{_42}$ and 7.2 AU (95%CI [4.5-9.9]) for AMA1. Seroprevalence increased with age and *Plasmodium falciparum* carriage while it decreased according to the area and the study period.

Conclusion: SMC is an effective strategy for malaria prevention in children under 10 years. The strategy can as well induce a decrease of IgG anti-AMA1 and anti-MSP1$_{_42}$ which are associated with the protection against malaria. Consequently this strategy needs to be renewed each year in areas where malaria is highly seasonal to avoid a resurgence of malaria, while promoting the use of other antimalarial interventions.

Keywords: Malaria, *Plasmodium falciparum*, SMC, Children, Immunity, Senegal

Trial registration number: PACTR201305000551876 (www.pactr.org)

2. Background

Malaria remains a public health problem despite all the efforts made to control the disease. Over 80% of malaria cases and 90% of malaria deaths occur in Africa and mainly in

children [1]. In order to strengthen the fight against malaria in children, a new preventive strategy was recently developed: intermittent preventive treatment currently named as Seasonal Malaria Chemoprevention (SMC). This strategy is defined as the administration of therapeutic doses of antimalarial drugs at monthly intervals during the malaria transmission period in areas where malaria is endemic. Several studies in Africa have shown the effectiveness of this strategy in reducing malaria morbidity and mortality in children. In Senegal, Cissé et al showed 86% of reduction in the incidence of malaria among children who received seasonal intermittent preventive treatment [2]. A study in Mali showed a protective efficacy of IPT of 67.5% against clinical malaria episodes [3]. In Ghana, Kweku et al (2008) found an efficacy of 69% in terms of reducing malaria incidence [4]. In Tanzania, Schellenberg et al showed a protective effect of 36% of intermittent preventive treatment in children [5]. In view of these encouraging results, the WHO adopted in March 2012, intermittent preventive treatment currently called Seasonal Malaria Chemoprevention (SMC) as a preventive strategy for malaria in children in the Sahelian and sub-Sahelian regions of Africa [6,7].

This strategy is certainly effective, but it may induce an effect on immunity by reducing production of protective malaria antibodies such as anti-MSP1$_{42}$ and anti-AMA1. Immunization with these antigens provides protection against malaria. Several studies have shown that IPT in children leads to a decrease of the production of protective antibodies against malaria [8,9].

This study was conducted to assess the immunological effects of SMC with Sulfadoxine-Pyrimethamine and (SP) and Amodiaquine (AQ) in children under 10 living in the south-eastern part of Senegal (Velingara).

3. Methods

Study area

This study was carried out in Velingara health district. Velingara health district is located in the South-eastern part of Senegal, 500 km from the capital city of Dakar. In this district the study was conducted in Bonconto health post headed by a nurse and has 8 functional health huts staffed with community health workers, serving a total population of 10,016 inhabitants. In this area malaria transmission is seasonal. It occurs during the rainy season

(from July to November) with a peak in between October to November. *Plasmodium falciparum* is the most predominant parasite species. Malaria control strategies implemented by the National Malaria Control Program were represented by the case management of uncomplicated malaria cases using RDTs and ACTs; intermittent preventive treatment in pregnant women; universal coverage of long lasting insecticide treated net and indoor residual spraying.

Study design

The study was nested in a cluster randomized trial aiming at assessing the impact of SMC with a single dose of Sulfadoxine-Pyrimethamine (SP) and 3 doses of Amodiaquine (AQ) on the incidence of malaria clinical episodes, malaria parasitaemia and anaemia prevalence at the end of the transmission season. Children in the intervention area were assigned to SMC plus community case management of malaria (CCm) while in the control area children had only access to CCm. Details for the cluster randomized trial procedures are describe elsewhere [10]. For the immunological assessment, a controlled before and after study design was used. Thus, two cross sectional surveys were conducted, one at baseline in October 2010 and a second survey at the end of the intervention period in September 2011. Ends points included (i) sero-prevalence of anti-MSP1$_{_42}$ from baseline to end line both in intervention and control areas, (ii) sero-prevalence of anti-AMA1 from baseline to end line both in intervention and control areas, (iii) malaria parasiteamia prevalence at cross sectional surveys.

Data collection method

A questionnaire was administered to collect individual's socio-demographic data (age, gender, weight, height, area of residence), clinical information, and access to antimalarial interventions such as bed net. Anthropometric data were collected as previously described [11]. Blood samples were collected using finger prick blood for malaria diagnostic, heamoglobin and antibody measurement. Haemoglobin level was measured using Hemo-Cue machine (Hemocue® Hb 301). Anemia was defined as Hb concentration below 11 g/dl.

Evaluation of anti-*Plasmodium falciparum* IgG antibodies by ELISA

Three drops of blood were collected onto Whatman 3MM filter paper, which was sealed and stored dry with desiccant at room temperature. Reconstituted sera were obtained from filter paper bloods spots described elsewhere [12, 13].

Sera were tested for anti-MSP1$_{42}$ IgG antibodies and anti-AMA1 IgG antibodies by indirect ELISA. Apical membrane antigen (AMA1) was from the *Pichia pastoris* expressed ectodomain of *Plasmodium falciparum* FVO strain comprised amino acids 25–545 [14]. MSP1$_{42}$ protein was from the C-terminal MSP1$_{42}$ amino acid sequence of the Uganda-Palo Alto (FUP) *P. falciparum* isolate expressed in *Escherichia coli* (*Ec*) system [15]. Samples were also tested on freeze thawed *P. falciparum* Schizont Extract (concentration of 1 × 108/ml), which was coated onto ELISA plates at 1/500.

Briefly, 96 well ELISA plates were coated with 100 µl/well of 0,1 µl/well of MSP1 antigens and 0.026 µl/well of AMA1 in coating buffer (1.59 g Na_2CO3, 2.93 g NaHCO3, 1 liter distilled water, pH 9.4) The plates were incubated overnight at 4°C. After incubation, plates were washed at three times using PBS (5.7 g NaH_2PO_4, 16.7 g Na_2HPO_4,85 g NaCl in 1 liter distilled water) plus 0,05% Tween 20 (PBS/T) and blocked with 1% (w/v) skimmed milk power in PBS/T for one hour at 37°C. Eluates were removed from 4°C just before use. Following three more washes, eluates were dilued at a ration 1/100 in PBS/T and added 100 µl in duplicate in a well plate.

For each plate three types of control were used: deep well without serum but with a second antibody to measure the non-specific binding, pool of sera from patients with *Plasmodium falciparum* malaria (positive control) and pool of sera from non-infected subjects (negative control) from Copenhagen. Plates were incubated one hour at 37°C. After three more washes, 100 µl of *horseradish peroxidase-conjugated rabbit anti-human IgG* (SouthernBiotech ®) (1/5000 in PBS/T) was added to all wells.

After incubation for one hour at 37°C, plates were developed with TMB/E (Upstate®, Chemicon® et Linco®, Millipore) as substrate for 30 minutes at room temperature and the reaction was stopped by the addition of 50 µl/well of 2 M H_2SO_4. Optical density was read at 450 nm against a 620 nm with an ELISA TECAN SUNRISE reader.

Statistical methods

Sample size calculation: For each cross sectional survey the total number of children to examine was calculated at 800, based on a prevalence of malaria parasitaemia at 20% in the study area (Senegal MIS 2009) a confidence level at 95% with a precision of 5%, power level at 90% and assuming a percentage of 20% of withdrawal.

Data management and data analysis: Data were entered in Excel software and analysis was performed using Stata software version IC 12 software. For serological assessment, the optical density was obtained by subtracting the average OD of duplicate wells from that of

the corresponding blank wells. Values were converted into arbitrary units (AUs), as previously described [16]. Quantitative variables were described in terms of means, standard deviation. Inter group comparisons were done using ANNOVA test or *Student t* test where appropriate; otherwise non parametric tests such as Man withney or Kruskall Wallis) were used. For descriptive data, percentage was used to each outcome. Antibodies sero-prevalence was calculated and expressed by percentage with their 95% confidence intervals. Proportions were compared using chi-square test or the Fisher exact test (univariate analysis). A stepwise logistic regression analysis was done to assess factors associated with *P.f* antibodies carriage. Significance level of the different tests was set at 5%.

Ethical considerations

Inform consent was required prior the participation in the study. Ethical approval was obtained from the Senegalese National Ethical Committee (*Conseil National d'Ethique et de Recherche en Santé)*. Approval number 027/MSP/DS/CNRS, 18/03/2010. The study was registered at the Pan African Clinical Trial Registry: registration number: PACTR201305000551876.

4. Results

Baseline characteristics of study population

A total of 1611 children under 10 were included in this study (866 children in 2010 and 745 children in 2011); 450 children in 2010 and 470 children in 2011 received SMC while 416 children were included in control area in 2010 and 275 children in 2011.

The mean age of participants was 4.5± 2,7years and 4.02± 2.3 respectively in 2010 and in 2011. The study population was mainly represented by children above 5 years (60.64%) in 2010 and children less than 5 years (56.16%) in 2011. The sex ratio was 0.95 in 2010 and 1.01 in 2011.

The mean hemoglobin level was 8.5±3.4 g / dl and 9.3±1.8 g / dl in 2010 respectively in 2010. The prevalence of anemia (Hb < 11 g/dl) was 77.14 % in 2010 and 77.81% in 2011.

Prevalence of stunting, underweight and wasting in 2010 was respectively 35.44%, 26.65% and 10.51%. In 2011, stunting, underweight and wasting represented 33.02%, 27.66% and 10.08%. (Table 1)

Malaria prevalence

The overall prevalence of *P. falciparum* carriage was 10.39% in 2010 and 5.03% in 2011. Depending on the area, *P. falciparum* carriage was 11.78% in the control zone and 9.11% in SMC zone 2010 (baseline). The difference was not significative (p = 0.19).

In 2011, P. falciparum carriage was 3.27% in the control area and 6.03% in the intervention area (p = 0.09). (Figure 1)

Anti-plasmodium IgG responses

In 2010 the mean production of IgG antibody anti-MSP1$_{_42}$ and IgG anti-AMA1 was respectively 23.2 AU and 17.2 AU while in 2011 it was 11.8 AU and 9.9 AU respectively for IgG anti-MSP1$_{_42}$ and IgG anti-AMA1.

Comparing 2010 and 2011, the results of this study showed a decrease of IgG anti-MSP1$_{_42}$ and IgG anti- AMA1. The difference was statistically significative ($p < 10^{-3}$). Between 2010 and 2011, the mean difference of IgG anti-MSP1$_{_42}$ and IgG anti-AMA1 was respectively 11.4 AU (95% CI[8.3-14.4]) and 7.2 AU (95% CI[4.5-9.9]). (Table 2)

In 2010, the mean production of IgG anti-MSP1$_{_42}$ and anti-AMA1 was respectively 25.2 AU and 22.1 AU in SMC area while it was respectively 17.9 AU and 10.6 AU in the control area ($p < 10^{-3}$). In 2011, the mean production of IgG anti-MSP1$_{_42}$ and anti-AMA1 was lower in area with SMC area compared to the control area. The difference was with a statistically significative ($p < 10^{-3}$). (Table 3)

In the control area a decrease of IgG antibody anti- MSP1$_{_42}$ was noted between 2010 and 2011. The mean difference was 7.2 AU ($p < 10^{-3}$). Also a slight increase of IgG anti-AMA1 antibody was noted between 2010 and 2011. The mean difference was -1.3 AU (p = 0.38).

In the SMC area, a significant decrease of IgG anti-AMA1, and anti MSP1$_{_42}$ was observed between 2010 and 2011 ($p < 10^{-3}$). Mean differences observed were 13.4 AU and 12.7 AU respectively for IgG anti-MSP1$_{_42}$ and anti-AMA1 IgG. (Table 4)

Overall, the prevalence of anti-MSP1$_{_42}$ and anti-AMA1 antibodies was significantly higher in 2010 (at baseline) compared to 2011 (end line). Anti-MSP1$_{_42}$ and anti-AMA1 antibody prevalence was respectively 53.12% and 46.3% in 2010. While in 2011 the prevelance of these antibodies was 20.03% and 19.8%.

Regarding the area (SMC area / non SMC area) the seroprevalence of anti-MSP1$_{_42}$ and anti-AMA1 antibody was higher in control zone. In 2010, the prevalence of anti-MSP1$_{_42}$ and anti-AMA1 antibody was respectively 62.76% and 54.81% in the intervention zone

while it was respectively 44.22% and 38.44% in the control zone. The difference was statistically significant ($p < 10^{-3}$). In 2011, one year after SMC implementation, the seroprevalence rate of anti-MSP1$_{42}$ and AMA1 antibody was 24.36% and 22.18% respectively in control area. However in the IPT zone, the prevalence of both antibodies was 17%.

In the SMC zone, between 2010 and 2011, the prevalence of anti-MSP1_42 antibody decreased by 2.5 folds. For anti-AMA1 antibody the prevalence rate decreased by 0.5 folds.

Multivariate analysis showed that the seroprevalence of anti-AMA1 and anti-MSP1$_{42}$ increases with age and *Plasmodium falciparum* carriage. However a decrease of anti-AMA1 and anti-MSP1 antibody was observed according to the area and the period of study. In children over 5 years old, seroprevalence of anti-MSP1$_{42}$ and anti-AMA1 antibody was higher with respectively 39.7% [aOR = 1.07; 95% CI (0.75 - 1.54), p value = 0.68] and 39% [aOR= 1.17; 95% CI (0.81 - 1.68), p value = 0.38]. The production of anti-MSP1 and anti-AMA1 antibody was more important in children with malaria infection compared to subject without malaria infection. In children with malaria infection, seroprevalence of anti-MSP1$_{42}$ and anti-AMA1 was respectively 40.94% [aOR = 1.13; 95% CI (0.77 - 1.63); p value = 0.22] and 37.01% [aOR= 1.16; 95% CI (0.81-1.69); p value = 0.44]. The prevalence of antibody was lower in SMC area compared to control zone. Prevalence of anti-MSP1 and anti-AMA1 was respectively 30.63% [aOR= 0.53; 95% CI (0.43 - 0.66), p value $<10^{-3}$] and 27.68% [aOR = 0.56; 95% CI (0.45 -0.71), p value $<10^{-3}$] in SMC area. This shows a protective effect of intermittent preventive treatment to 47% for MSP1$_{42}$ and 44% for AMA_1. In control zone, the prevalence of both antibodies was 47.47% and 41.82%.

Depending on the year, the prevalence of both antibodies was higher in 2010 compared to 2011. In 2011, the prevalence of anti-MSP1$_{42}$ antibody was 20.03% [aOR = 0.23; 95% CI (0.18 - 0.28), p value <10-3]. For anti-AMA1 antibody, it was 19.08% [OR = 0.29; 95% CI (0.24 - 0.37), p value <10-3]. These results showed a protective effect of IPT about 80% (Table 5 and 6). Sex, anemia and nutritional status had no significant influence on the production of anti-MSP1$_{42}$ and anti-AMA1 antibody.

5. Discussion

In malaria-endemic areas, the majority of malaria cases occur in children and this poses a serious public health problem. To reduce malaria burden in children, WHO adopted seasonal malaria chemoprevention as a preventive strategy of malaria in children [6,7]. This strategy has allowed a significant reduction of malaria morbidity and mortality in endemic areas. However, the influence of SMC on acquired immunity is not well documented [8]. This aspect needs to be well documented because some molecules such as Sulfadoxine and Artesunate used in this preventive strategy may have immunosuppressive effects [9,13].

In this context, a study was conducted in the south-eastern part of Senegal (Velingara) in order to assess the immunological effects of intermittent preventive treatment with Sulfadoxine-Pyrimethamine (SP) and Amodiaquine (AQ) in children under 10 years. The study showed a decrease of *P. falciparum* carriage between 2010 and 2011. This reduction in malaria prevalence is confirmed by results from the national malaria surveys [17,18].

The results of this study showed a decrease of anti-MSP1$_{_42}$ and anti-AMA1 antibody between 2010 and 2011. It was higher in subjects who received IPT with SP plus AQ. Overall, the prevalence of malaria antibody decreased between 2010 and 2011. After the SMC implementation, the decrease of malaria antibody prevalence was higher in the area with the intervention compared to the control area. Similar results were found by other authors. A study of immunological consequences of intermittent preventive treatment in Senegalese children showed low prevalence of malaria antibody in children who IPT compared with the control group [8]. In Gambia a decrease of antibody production was observed in children who received IPT with Pyrimethamine and Dapsone [20].

Our results were in accordance with what was observed in Ghanaian children with a reduction of IgG antibody prevalence six months after taking a single dose of SP [21]. However, other studies have shown that there was no significant difference in antibody production between IPT group and control group [22-24].

Overall, SMC implementation resulted in reduction of production of protective antibodies. This has led to an increased risk of children's susceptibility to malaria infection. Indeed, one year after the implementation of SMC, prevalence of malaria parasitaemia was higher in areas where children had access to SMC compared to the control area. This seems to be related to a rebound effect as previously described in other similar studies. A study in Ghana showed an increase of malaria incidence by 62% in children who had access to intermittent preventive treatment one year after intervention [19].

In multivariate analysis, the results showed that the prevalence of antibody anti-MSP1$_{_42}$ and anti-AMA1 varied with age, *Pf* carriage and the study period and area. Antibody production increases with age and *Pf* carriage. This has been shown by other authors [25-28]. As age increases, the production of antibodies increases. These findings are consistent with the results of a study conducted in northern Senegal that showed an increase in the production of IgG depending on age [29]. Another study conducted in Senegal showed that the production of antibodies increases with age, especially after 5 years. [30] These results are consistent with those found in Ghana that showed an increase in the production of IgG and anti MSP1$_{_42}$ AMA1 with age [31].

Antibody prevalence increases with *Plasmodium falciparum* carriage. Malaria antibody was more important in children with *P.f* infection compared to children without *Pf* infection. Similar results were found in Mozambique and Ghana with a production of larger antibody in malaria patients [32,21].

The prevalence of anti-MSP1$_{_42}$ and anti-AMA1antibody was lower in 2011 than in 2010. The low prevalence of malaria antibody may be due by the decrease of malaria prevalence and on the other by the effect of intermittent preventive treatment. Sex, anemia and nutritional status had no significant influence on the production of malaria antibodies.

Conclusion

SMC is an effective strategy for malaria prevention in children under 10 years. The strategy can as well induce a decrease of IgG anti-AMA1 and anti-MSP1$_{42}$ which are associated with the protection against malaria. Consequently this strategy needs to be renewed each year in areas where malaria is highly seasonal to avoid a resurgence of malaria, while promoting the use of other antimalarial interventions.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Authors' contributions

KS, RCT, DS, MN, AS, MLT, ID, ACL, AA, MCS, MN, ASB, JLN, DN, OF, TD, YD, ON, OG, and BF conceived and designed the study. KS and RCT monitored the data collection. KS, MN, AS, and MLT collected data in the site. KS analysed the data and wrote the first draft of the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

Acknowledgments

We thank all patients who agreed to participate in the study. We also acknowledge Dr Patrick Duffy and Dr Richard Shimp from NIH/NIAID (National Institutes of Health/National Institute of Allergy and Infectious Diseases) and Daniel Dodo, from

Noguchi Memorial Institute for Medical Research, University of Ghana, Legon, Ghana) who provided the antigens.

6. References

1. WHO (2013): World malaria report
(Available :(http://www.who.int/malaria/publications/world_malaria_report_2013)

2. Cissé B, Cheikh Sokhna, Denis Boulanger et al. **Seasonal intermittent preventive treatment with artesunate and sulfadoxine pyrimethamine for prevention of malaria in Senegalese children: a randomised, placebo-controlled, double-blind trial.** *Lancet* 2006; **367**: 659–67

3. Dicko A, Sagara I, Sissoko MS, Guindo O, Diallo AI, Kone M, *et al*: **Impact of intermittent preventive treatment with sulphadoxine-pyrimethamine targeting the transmission season on the incidence of clinical malaria in children in Mali**. *Malar J* 2008, **7:**123.

4. Kweku M, Liu D, Adjuik M, Binka F, Seidu M, Greenwood B, *et al*: **Seasonal intermittent preventive treatment for the prevention of anaemia and malaria in Ghanaian children: a randomized, placebo controlled trial**. *PLoS One* 2008, **3**:4000.

5. Schellenberg D, Menendez C, JAponte JJ, Kahigwa E, Tanner M, Mshinda H, *et al*. **Intermittent preventive antimalarial treatment for Tanzanian infants: follow-up to age 2 years of a randomised, placebo-controlled trial.** *Lancet* 2005; **365**: 1481–83

6. WHO (2012): **Seasonal Malaria Chemoprevention (SMC) for Plasmodium falciparum malaria control in highly seasonal transmission areas of the Sahel sub regions in Africa**.
(Available:http://whqlibdoc.who.int/publications/2009/9789241563901_eng.pdf)

7. Cairns M, Roca-Feltrer A, Garske T, Wilson AL, Diallo D, Milligan PJ, **et al**: **Estimating the potential public health impact of seasonal malaria chemoprevention in African children.** *Nat Commun* 2012, **3**:881.

8. Boulanger D, Sarr J.B, FilloL F, Sokhna C, Cisse B, Schacht A.M, *et al*. **Immunological consequences of intermittent preventive treatment against malaria in Senegalese preschool children.** *Malar J* 2010, **9**:363

9. Bygbjerg IC, Flachs H: **Effect of chloroquine on human lymphocyte proliferation**. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1986, 80**:**231-235.

10. Tine RC, Faye B, Ndour CT, Ndiaye JL, Ndiaye M, Bassene C et al (2011). **Impact of combining intermittent preventive treatment with home management of malaria in children less than 10 years in a rural area of Senegal: a cluster randomized trial.** *Malar J* 10:358

11. Tine RC, Faye B, Ndour CT, Sylla K, Sow D, NDiaye M et al (2011 **Parasitic Infections among Children under Five Years in Senegal: Prevalence and Effect on Anaemia and Nutritional Status.** *ISRN Parasitology*, 2013, 272701, 6

12. Corran P.H, 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**.
Malar J 2008, **7**:195.

13. Drakeley C.J, Corran P.H, Coleman P.G, Tongren J.E, McDonald S.L, Carneiro I, *et al*. **Estimating medium- and long-term trends in malaria transmission by using serological markers of malaria exposure**. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005, **102**:5108–5113.

14. Kocken CH, Withers-Martinez C, Dubbeld MA, Van Der WA, Hackett F, Valderrama A et al. **High-level expression of the malaria blood-stage vaccine candidate**

Plasmodium falciparum **apical membrane antigen1 and induction of antibodies that inhibit erythrocyte invasion.** *Infect Immun* 70:4471–4476

15. Shimp RL, Martin LB, Zhang Y, Henderson BS, Duggan P et al. **Production and characterization of clinical grade *Escherichia coli*-derived *Plasmodium falciparum* 42-kDa merozoite surface protein 1 (MSP142) in the absence of an affinity tag.** *Protein Expr Purif* 50:58–67

16. Guitard J, Cottrell G, Magnouha N.M, Salanti A, Li T, Sow S, *et al*. **Differential evolution of anti-VAR2CSA- IgG3 in primigravidae and multigravidae pregnant women infected by *Plasmodium falciparum***. *Malar J* 2008, **7**:10

17. Agence Nationale de la Statistique et de la Démographie (ANSD), Sénégal. **Enquête nationale sur le paludisme 2008-2009 Juillet 2009**. (Available: http://www.ansd.sn/ressources/rapports/EDS-continue_2008-2009.pdf).

18. Agence Nationale de la Statistique et de la Démographie (ANSD), Sénégal. **Enquête Démographique et de Santé Continue au Sénégal 2012-2013.** (Available :http://www.ansd.sn/ressources/rapports/EDS-continue_2012-2013.pdf).

19. Kweku M, Liu D, Adjuik M, Binka F, Seidu M, Greenwood B, *et al*: **Seasonal intermittent preventive treatment for the prevention of anaemia and malaria in Ghanaian children: a randomized, placebo controlled trial**. *PLoS One* 2008, **3:**4000

20. Otoo L, Snow RW, Menon A, Byass P, Greenwood B. **Immunity to malaria in young Gambian children after a two-year period of chemoprophylaxis**. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1988, **82**:59-65.

21. Schreiber N, Kobbe R, Adjei S, Adjei O, Klinkert MQ, May J**: Immune responses after single-dose sulphadoxine-pyrimethamine indicate underestimation of protective efficacy of intermittent preventive treatment in infants.** *Trop Med Int Health* 2007, **12:**1157-1163

22. Quelhas D, Puyol L, Quinto L, Serra-Casas E, Nhampossa T, Macete E, *et al*: **Impact of intermittent preventive treatment with sulfadoxine-pyrimethamine on antibody responses to erythrocytic-stage *Plasmodium falciparum* antigens in infants in Mozambique**. *Clin Vaccine Immunol* 2008, **15**:1282-1291.

23. Quelhas D, Jiménez A, Quintó L, Serra-Casas E, Mayor A, Cisteró P, *et al*. **IgG against Plasmodium falciparum variant surface antigens and growth inhibitory antibodies in Mozambican children receiving intermittent preventive treatment with sulfadoxine-pyrimethamine.** *Immunobiology*. 2011, **7:**793-802.

24. Nhabomba AJ, Guinovart C, Jiménez A, Manaca MN, Quintó L, Cisteró P, *et al*. **Impact of age of first exposure to Plasmodium falciparum on antibody responses to malaria in children: a randomized, controlled trial in Mozambique**.

Malar J, 2014, **27**;13:121

25. Cook J, Reid H, Iavro J, Kuwahata M, Taleo G, Clements A, *et al*. **Using serological measures to monitor changes in malaria transmission in Vanuatu.** *Malar J* 2010, **9**:169

26. Aguirre A, Cuentos A, Speybroeck N, Cook J, Mancilla J, Soto V, *et al*. **Assessing malaria transmission in a low endemiciy area of north-western Peru.**
Malar J 2013, **12**:339

27. Dodoo D, Aikins A, Kusi K.A, Lamptey H, Remarque E, Milligan P, *et al*. **Cohort study of the association of antibody levels to AMA1, MSP119, MSP3 and GLURP with protection from clinical malaria in Ghanaian children.** *Malar J* 2008, **7**:142

28. Oduro R.A, Conway D. J, Schellenberg D, Satoguina J, Greenwood B.M and Bojang K.A **Sero-epidemiological and parasitological evaluation of the heterogeneity of malaria infection in the Gambia.** *Malar J* 2013, **12**:222

29. Sarr JB, Remoue F, Samb B, Dia I, Guindo S, Sow C, Maiga S, Tine S, Thiam C, Schacht AM, Simondon F, Konate L, Riveau G: **Evaluation of antibody response to *Plasmodium falciparum* in children according to exposure of *Anopheles gambiae* s.l or *Anopheles funestus* vectors.** *Malar J* 2007, **6:**117.

30. Perraut R, Richard V, Varela ML, Trape JF, Guillotte M, Tall A, *et al*. **Comparative analysis of IgG responses to *Plasmodium falciparum* MSP1p19 and PF13-DBL1α1 using ELISA and a magnetic bead-based duplex assay (MAGPIX®-Luminex) in a Senegalese meso-endemic community.** *Malar J* 2014, **13**:410

31. Dodoo D, Atuguba F, Bosomprah S, Ansah N, Ansah O, Lamptey H, *et al*. **Antibody levels to multiple malaria vaccine candidate antigens in relation to clinical malaria episodes in children in the Kasena-Nankana district of Northern Ghana.**

Malar J 2011, **10**:108

32. Quelhas D, Puyol L, Quinto L, Serra-Casas E, Nhampossa T, Macete E, *et al*: **Impact of intermittent preventive treatment with sulfadoxine-pyrimethamine on antibody responses to erythrocytic-stage *Plasmodium falciparum* antigens in infants in Mozambique.** *Clin Vaccine Immunol* 2008, **15:**1282-1291.

.

Figures

Figure 1

Figure title: *Pf* malaria prevalence in 2010 and 2010 in SMC and Control area.

Legend: *Pf* malaria prevalence in 2010 and 2010 in SMC area and Control area. Malaria prevalence was more important in 2010 compared to 2011. After intervention *P. falciparum* carriage was higher in SMC area compared to Control area. χ^2 test was used to compare the prevalence between two areas. The difference was not significative (p = 0.19). Black: SMC area. Grey: Control area.

Figure 1

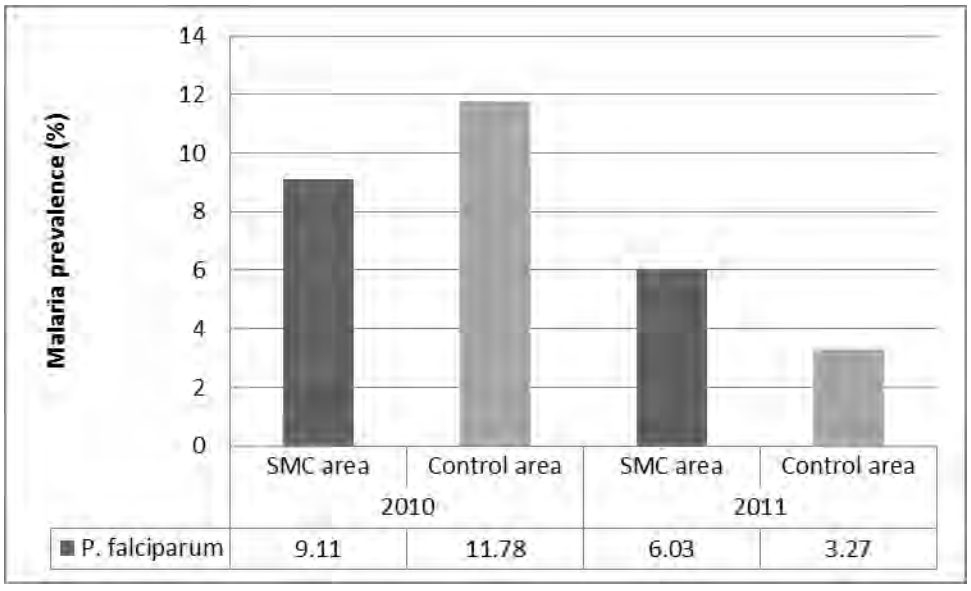
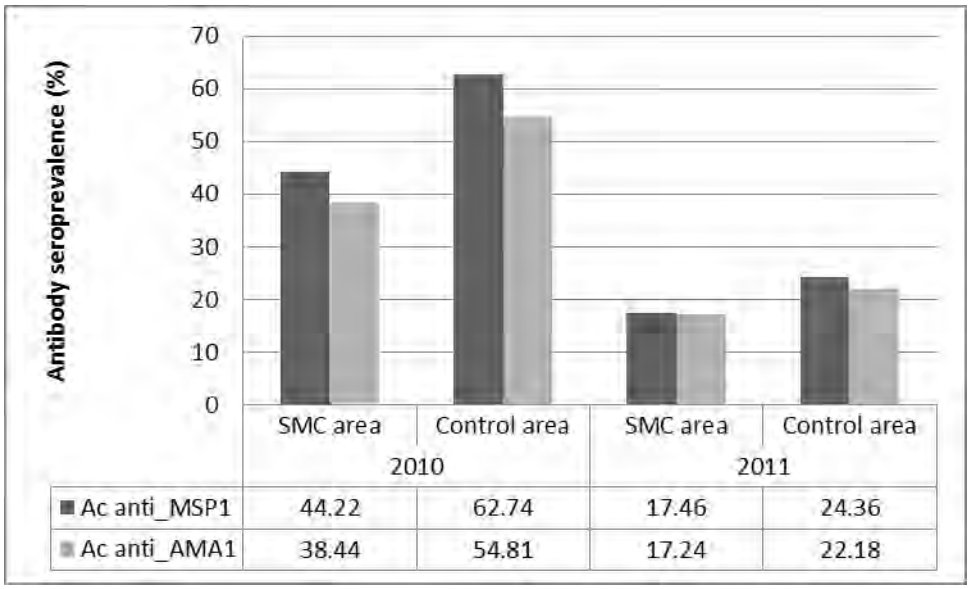


Figure 2:

Figure title: Seroprevalence of anti-MSP1_$_{42}$ and anti-AMA1 antibodies in 2010 and 2011 in SMC and Control area.

Legend: Seroprevalence of IgG antibody to AMA1 (Apical Membrane Protein) and MSP1_$_{42}$ (Merozoite Surface Protein) in 2010 and 2011. Seroprevalence of both antibodies was more important in 2010 compared to 2011. Significant reduction of anti-MSP1_42 and anti-AMA1 antibody was observed after intervention in SMC area ($p<10^{-3}$). Black: anti-MSP1_$_{42}$ antibody. Grey: anti-AMA1 antibody.

Figure 2



Tables

Table 1: Characteristics of study population

	2010 (N=866)	2011 (N=745)
Zone		

SMC (+)	450	470
SMC (-)	416	275
Mean age (year)	4.5 ± 2.7	4.02± 2.3
Age group		
< 1	86 (58.9%)	83 (11.23%)
[1 - 4 ans]	344 (34.4%)	415 (56.16%)
[5 - 10 ans]	436 (60.64%)	241 (32.61%)
Sex		
Female	443 (51.15%)	341 (46.14%)
Male	423 (48.85%)	345 (46.68%)
Missing	-	53 (7.17%)
Hb mean (g/dl)	8.5 ± 3,4	9.3± 1,8
Anemia (Hb<11 g/dl)		
Yes	668 (77.14%)	575 (77.81%)
No	198 (19.8 %)	164 (22.19%)
Nutritional status		
Stunting	661 (35.44%)	530 (33.02%)
Underweight	497 (26.65%)	444 (27.66%)
Wasting	196 (10.51%)	210 (13.08%)

Table 2: Mean production of IgG anti-MSP1$_{42}$ and anti-AMA1 in 2010 and 2011

	Mean (AU)	CI (95%)	P value
IgG Anti-MSP1			
2010	23.2	20.2 – 26.2	
2011	11.8	11.1 – 12.4	
Mean difference	11.4	8.3 – 14.5	$<10^{-3}$
IgG anti-AMA1			
2010	17.2	14.6 – 19.6	
2011	9.9	8.9 – 10.8	
Mean difference	7.2	4.5 – 9.9	$<10^{-3}$

Table 3: IgG production in 2010 and 2011 depending on the area (SMC + / SMC -)

2010			
Mean (AU)	**SMC area (N=450)**	**Control area (N=416)**	**p value**
IgG anti-MSP1 (95% CI)	25.2 (21.8 – 28,5)	17.9 (13.8 – 22.1)	$<10^{-3}$
IgG anti-AMA1 (95% CI)	22.1 (18.3 – 25,9)	10.6 (8.5 – 12.6)	$<10^{-3}$
2011			
	SMC area (N=464)	**Control area (N=275)**	**p value**
IgG anti-MSP1 (95% CI)	10.6 (9.7 – 11,5)	12.7 (11.5 – 13.4)	$<10^{-3}$
IgG anti-AMA1 (95% CI)	8.7 (7.7 – 9,7)	11.9 (9.9 – 13.8)	$<10^{-3}$

Tableau 4: IgG production in SMC area and control area depending to the year

Control area			
	Mean	**95% CI**	**P value**
IgG anti-MSP1			
2010	17.9	9.78 – 11.5	
2011	10.6	13.8 – 22.05	
Mean difference	7.2	2.1 – 12.3	$<10^{-3}$
IgG anti-AMA1			
2010	10.6	8.5 – 12.6	
2011	11.9	9.9 – 13.8	
Mean difference	-1.3	-4.2 – 1.6	0,38
SMC area			

	Mean	95% CI	P value
IgG anti-MSP1			
2010	22.1	18.3 – 25.9	
2011	8.7	7.7 – 9.7	
Mean difference	13 ?4	9.5 – 13.3	$<10^{-3}$
IgG anti-AMA1			
2010	25.2	21.8 – 28.5	
2011	12.5	11.5 – 13.4	
Mean difference	12.7	9.3 – 16.1	$<10^{-3}$

Table 5: Multivariate adjusted analysis for the risk factors of anti-MSP1$_{_42}$ antibodies

	Number (%)	OR (95% CI)	ORa (95% CI)	p value
Age group				
< 1 an	66 (39.05%)	1	1	
[1 - 4 ans]	273 (35.9%)	0.87 (0.62–1.23)	0.88 (0.63-1.25)	0.49
[5 - 10 ans]	269 (39.7%)	1.03 (0.73–1.45)	1.07 (0.75-1.54)	0.68
Sex				
Female	298 (37.82%)	1	1	
Male	293 (38.35%)	1.02 (0.8-1.25)	1.01 (0.83-1.26)	0.81
Nutritional status				
Stunting	228 (43,02%)	1,4 (1,1-1,7)	0,9 (0,68-1,18)	
Underweight	162 (36.5%)	0.92 (0.73 (1.15)	0.91 (0.68-1.22)	0.55
Wasting	55 (26.19%)	0.54 (0.39-0.75)	0.83 (0.56-1.22)	0.37
Anemia				
No	130 (35.91%)	1	1	
Yes	478 (38.46%)	1.1 (0.87-1.42)	1.08 (0.82-1.43)	0.55
Malaria *Pf*				
No	556 (37.62%)	1	1	
Yes	52 (40.94%)	1.15 (0.79-1.66)	1.13 (0.77-1.63)	0.22
Area				
Control area	328 (47.47%)	1	1	
SMC area	280 (30.63%)	0.48 (0.39-0.6)	0.53 (0.43-0.66)	$<10^{-3}$

Study period				
2010	460 (53.12%)	1	1	
2011	148 (20.03%)	0.22 (0.17-0.27)	0.23 (0.18-0.28)	$<10^{-3}$

Table 6: Multivariate adjusted analysis for the risk factors of anti-AMA1 antibodies

	Number (%)	OR (95% CI)	ORa (95% CI)	p value
Age group				
< 1 an	59 (34.91%)	1	1	
[1 - 4 ans]	219 (28.85%)	0.75 (0.53-1.07)	0.75 (0.52-1.07)	0.11
[5 - 10 ans]	264 (39%)	1.19 (1.84-1.69)	1.17 (0.81-1.68)	0.38
Sex				
Female	273 (34.64%)	1	1	
Male	258 (33.77%)	0.96 (0.77-1.18)	0.96 (0.78-1.19)	0.75
Nutritional status				
Stunting	209 (39.43%)	1,45 (1.16-1.8)	1.09 (0.83-1.44)	0.49
Underweight	143 (32.21%)	0.9 (0.72-1.14)	0.96 (0.7-1.31)	0.81
Wasting	47 (22.38%)	0.52 (0.37-0.74)	0,79 (0.53-1.2)	0.28
Anemia				
No	131 (36.19%)	1	1	
Yes	411 (33.07%)	0.87 (0.68-1.11)	0.97 (0.75-1.27)	0.87
Malaria *Pf*				
No	495 (33.49%)	1	1	
Yes	47 (37.01%)	1.16 (0.8-1.69)	1.16 (0.81-1.69)	0,44
Area				
Control area	289 (41.82%)	1	1	
SMC area	253 (27.68%)	0.53 (0.41-0.65)	0.56 (0.45-0.71)	$<10^{-3}$
Study period				
2010	401 (46.3%)	1	1	
2011	141 (19.08%)	0.27 (0.22-0.34)	0.29 (0.24-0.37)	$<10^{-3}$

CHAPITRE 4 : DISCUSSION GENERALE,

1. Discussion générale

Au Sénégal, le paludisme constitue un problème de santé publique car toujours responsable de morbidité et de mortalité. Ces dernières années, la combinaison des mesures de lutte antipaludique a permis de réduire de manière considérable le fardeau de la maladie. Devant cette baisse de la morbi-mortalité palustre, la pré-élimination du paludisme est envisagée dans certaines zones du pays. Dans ce contexte, de nouvelles approches sont nécessaires pour réévaluer l'épidémiologie du paludisme et évaluer l'impact de certaines interventions. C'est ainsi que les méthodes sérologiques sont proposées comme étant des outils de surveillance fiables pouvant être utilisés dans ce contexte de pré-élimination du paludisme.
C'est dans ce contexte que nous avons réalisé ce travail dans le but d'étudier l'apport des outils sérologiques dans la lutte contre le paludisme à *Plasmodium falciparum* au Sénégal. Trois études ont été réalisées au Centre et au Sud du Sénégal.
L'étude sur la surveillance séro-épidémiologique réalisée au Centre (Kaolack) et au Sud (Vélingara) du pays avait pour objectif d'évaluer la situation séro-épidémiologique du paludisme à *Plasmodium falciparum* au Sénégal. Cette étude a montré une prévalence du paludisme à *Plasmodium falciparum* de 4,99% à la microscopie avec une prévalence plus élevée au Sud (10,3%) comparée à la zone Centre où la prévalence était faible (0,3%). Ces résultats sont similaires à ceux de l'enquête nationale sur le paludisme réalisée entre Novembre 2008 et Janvier 2009 qui avait montré une prévalence globale du paludisme de 5,7% avec une prévalence plus élevée au Sud (Vélingara) 19% contre 7,2% au Centre (Kaolack) [82]. Cette tendance à la baisse du paludisme est retrouvée par les résultats de l'Enquête Démographique et Sanitaire (EDS) de 2012-2013 qui ont montré une prévalence du paludisme à *Plasmodium falciparum* au niveau national de 2,8% avec des niveaux plus élevés au niveau de la zone Sud (9,3%) contre 2,2% au niveau de la zone Centre [83].
Cette différence de prévalence du paludisme entre les deux zones démontre une fois de plus l'hétérogénéité de la transmission du paludisme au Sénégal. Ceci a été démontré par Oduro et al en Gambie et Cook et al au Cambodge [12, 84].

La séroprévalence des anticorps anti-AMA1, anti-MSP1$_{_42}$ et anti-CSP était respectivement de 38,12%, 41,55% et 40,38%. Cette séroprévalence a varié significative entre les deux faciès épidémiologiques étudiés ($p<10^{-3}$) avec une forte séroprévalence dans la zone Sud

(Vélingara) et une séroprévalence plus basse dans la zone Centre (Keur Socé). Des résultats similaires ont été trouvés en Gambie et au Madagascar [9, 12].

Les données de notre étude ont montré que la transmission du paludisme est plus importante au Sud du Sénégal comparée à la zone Centre où la transmission est faible. Ceci vient confirmer les données du programme national de lutte contre le paludisme qui ont trouvé une incidence du paludisme de 12‰ à Kaolack (zone Centre) et une incidence de 21‰ à Kolda (zone Sud) [19].

Vélingara est une zone où toutes les interventions sont mises en œuvre à savoir la couverture universelle en MII, les aspersions intra-domiciliaires, le traitement préventif intermittent chez la femme enceinte et la prise en charge des cas de paludisme simple avec les TDR et les CTA. Malgré cette importante mise en place des interventions dans cette zone, les niveaux de prévalence sont toujours élevés (au tour de 10%). Par contre dans la zone centre (Keur Socé) où il n'existe que la couverture universelle en MII et la prise en charge des cas de paludisme avec les TDR et les CTA, les niveaux de prévalence sont plus faibles.

Ces résultats montrent globalement que les interventions mises en œuvre par le PNLP ont réduit le poids de la maladie dans ces deux zones car la prévalence palustre est passée de 25%-35% à des niveaux de prévalence faibles variant entre 2 et 10%.

Les résultats de cette étude ont montré que la séroprévalence des d'anticorps anti-AMA1, anti-MSP1$_{42}$ et anti-CSP augmente avec l'âge, le portage de *Plasmodium falciparum* et la zone de résidence et est indépendamment associée à la séropositivité. Des résultats similaires ont été trouvés par d'autres auteurs. Cook et al au Vanuatu en 2008 et Aguirre et al entre 2008 et 2010 au Nord du Pérou ont montré que la séroprévalence augmente avec l'âge [15, 85]. Dodoo et al en 2002 ont trouvé un niveau de production des anticorps plus élevé chez les sujets plus âgés [86]. Oduro et al en Gambie et Boulanger et al au Sénégal en 2002 avaient trouvé les même résultats [12, 13].

Les sujets avec portage de *Plasmodium falciparum* produisaient plus d'anticorps que les sujets sans portage de *Plasmodium falciparum*. L'association entre le paludisme et le niveau de production des anticorps a été démontrée par plusieurs études immuno-épidémiologiques [87-94].

Le niveau de production des anticorps était plus important chez les sujets résidant au Sud comparés à ceux résidents dans la zone Centre. Ceci pouvant être lié au fait que la

transmission est plus intense au Sud du Sénégal. Cette variation de la séroprévalence en fonction du lieu de résidence a été démontrée par Oduro et al [12].

Le sexe, le taux d'hémoglobine et le statut nutritionnel n'avaient pas une influence significative sur la production d'anticorps. Ceci a été démontré par Boulanger et al en 2002 au cours d'une étude chez les enfants d'âge préscolaire au Sénégal [13].

Notre étude a montré une prévalence du paludisme qui est basse (4,99%) à la microscopie (10,3% contre 0,03% au Centre). Par contre la sérologie a montré une séroprévalence élevée des anticorps anti-AMA1, anti-MSP1$_{42}$ et anti-CSP. Les niveaux de prévalence parasitaire (microscopie) se superposent à ceux de la sérologie au niveau des deux zones (prévalence parasitaire et séroprévalence plus importante au Sud).

Ces résultats montrent que la sérologie pourrait ainsi permettre une meilleure documentation des infections parasitaires sub-microscopiques, notamment dans des zones à faible transmission comme à Keur Socé où nous avons retrouvé une prévalence palustre basse à la microscopie et une séroprévalence des anticorps très élevée. Dans les zones comme Vélingara où la prévalence est toujours élevée malgré les moyens déployés pour la lutte contre le paludisme, il y a la nécessité de faire des études écologiques afin de mieux comprendre les aspects socio-économiques, culturels et géo-climatiques de la zone. Pour mieux orienter les stratégies de lutte dans ces zones, il faudra penser à étudier la dynamique de la transmission du paludisme à travers des enquêtes entomologiques qui permettront d'identifier les espèces anophéliènnes en cause, leur longévité, leur infectivité, leur comportement trophique et l'action létale des insecticides vis-à-vis de ces espèces.

Dans le souci d'accélérer le processus de contrôle du paludisme en vue de l'atteinte du seuil épidémiologique de pré-élimination, la chimioprévention du paludisme saisonnier (CPS) a été mise en œuvre au niveau de la zone Sud. A ce titre, la sérologie ELISA a été utilisée comme outil pour évaluer les potentiels effets de cette stratégie sur le statut immunologique des enfants de moins de 10 ans. Deux études ont été réalisées dans la zone Sud du Sénégal.

Une étude réalisée en 2010 au niveau des zones de Vélingara, Saraya et Tambacounda a montré que la production moyenne d'anticorps anti-GLURP_R0 et anti-AMA1 était plus importante dans la zone contrôle (Tambacounda) comparée à aux zones intervention (Vélingara et Saraya). La séroprévalence des anticorps anti-GLURP_R0 et anti-AMA1 était plus importante dans la zone contrôle comparée aux zones interventions mais sans différence significative. Des résultats similaires ont été trouvés par d'autres auteurs tels que

Boulanger et al qui ont montré que les enfants ayant la CPS produisaient plus d'anticorps que ceux n'ayant rien reçu huit mois après mise en œuvre de la stratégie [13].

Le faible niveau de production des anticorps noté dans les zones d'intervention correspond à un faible développement de l'immunité acquise au courant du paludisme. Ceci pourrait être probablement lié à la stratégie de chimioprévention.

Les résultats de cette étude ont montré que la chimioprévention du paludisme saisonnier a un impact sur le développement de l'immunité chez les enfants de moins 10 ans vivant dans les districts sanitaires de Vélingara et Saraya.

Cependant plusieurs facteurs peuvent influencer l'acquisition de l'immunité tels que l'âge et le statut nutrionnel n'ont pas été étudiés au courant de cette étude, constituant ainsi des limites de cette étude. Une étude avant et après intervention aurait été le meilleur schéma pour mieux apprécier l'effet de la CPS sur le statut immunitaire des enfants.

Vue les limites observées dans cette étude, nous avons réalisé à Vélingara une étude avant (2010) et après (2011) intervention tenant compte de certains facteurs pouvant influencer l'immunité après mise en œuvre de la chimioprévention du paludisme saisonnier.

Cette étude a montré une diminution de la prévalence du paludisme et une baisse de la production d'anticorps anti-MSP1$_{_42}$ et anti-AMA1 entre 2010 et 2011. Cette baisse était plus importante chez les sujets ayant la CPS avec la SP plus AQ.

Le pourcentage de sujets producteurs d'anticorps a baissé entre 2010 et 2011 et elle était plus importante de la zone intervention comparée à la zone contrôle.

Des résultats similaires ont été trouvés par d'autres auteurs. Boulanger et al ont montré une baisse de la production d'anticorps chez les enfants ayant le TPI comparés à ceux du groupe contrôle [13]. En Gambie, Otoo et al ont montré une baisse de la production d'anticorps chez les enfants ayant pris le TPI avec la Pyrimethamine et Dapsone [95]. Une étude réalisée chez des enfants ghanéens a trouvé des résultats similaires 6 mois après traitement préventif intermittent avec la SP [96].

La production d'anticorps varie en fonction de l'âge, du portage de P*f*, de la période d'étude et de la zone. La production d'anticorps augmente avec l'âge et le portage de P*f*. Ceci a été démontré par d'autres auteurs [12, 15]. Plus l'âge augmente, plus la production d'anticorps augmente. Ceci a été démontré par une autre étude réalisée au Sénégal qui a montré que la production d'anticorps augment avec l'âge surtout après 5 ans [97]. Ces résultats sont similaires avec ceux trouvés au Ghana qui ont montré que la production d'IgG anti-MSP1 et anti-AMA1 augmente avec l'âge [84].

La production d'anticorps augmente avec le portage de *Plasmodium falciparum*. Dans notre étude, la production d'anticorps était plus importante chez les sujets infectés par *Plasmodium falciparum*. Ceci a été démontré par d'autres études réalisées au Ghana et en Mozambique qui ont montré une forte production d'anticorps chez les sujets impaludés [98-99].

Les résultats de notre étude ont montré que la production d'anticorps anti-MSP1et anti-AMA1 était plus faible en 2011 qu'en 2010. Ceci pouvant être lié d'une part par une baisse de la transmission palustre et d'autre part par l'effet du traitement préventif intermittent saisonnier.

Les résultats de cette étude ont montré que la chimioprévention du paludisme saisonnier avec la Sulfadoxine-Pyrimethamine (SP) et l'Amodiaquine (AQ) est une stratégie efficace pour la prévention du paludisme saisonnier de l'enfant.

Cette stratégie nécessite d'être renouveler chaque année dans les zones de forte endémicité pour éviter une recrudescence des cas de paludisme. D'autre part, cette stratégie entraine une réduction de la production des anticorps qui sont associés à la protection contre le paludisme.

2. Conclusion et perspectives

Ce travail réalisé dans deux différents faciès épidémiologiques du Sénégal a permis de donner des informations de base sur la situation séro-épidémiologique du paludisme à *Pf* et sur les effets de la CPS sur le statut immunologique des enfants.

Dans les zones éligibles à la pré-élimination du paludisme, les marqueurs sérologiques pourraient être un bon outil de surveillance du paludisme et d'évaluation de l'impact de certaines interventions.

Au vu des résultats montrés par ce travail, il s'avère nécessaire :

- de faire d'autres études séro-épidémiologiques permettant de comparer les différents faciès épidémiologiques du pays,
- dans la zone Nord du pays (Richard Toll) où la pré-élimination du paludisme est envisagée, faire des études séro-épidémiologiques en vue de documenter les infections parasitaires sub-microscopiques et mieux orienter les stratégies de lutte dans l'optique de l'atteinte de l'objectif de pré-élimination,

- d’accompagner la mise en œuvre de la chimioprévention du paludisme saisonnier au Sud du Sénégal, en faisant des études longitudinales sérologiques et moléculaires en vue d’évaluer l’impact de cette intervention sur l’immunité des enfants et de surveiller l’apparition des marqueurs moléculaires de résistance à la Sulfadoxine-Pyriméthamine (SP) et l’Amodiaquine (AQ),

- de faire des études socio-anthropologiques et écologiques dans les zones où la prévalence du paludisme est toujours élevée malgré la forte mise en œuvre des interventions en vue d’étudier l’acceptabilité des interventions par les populations et d’étudier la dynamique des populations anophéliènnes (les espèces anophéliènnes en cause, leur longévité, leur infectivité, leur comportement trophique et l’action létale des insecticides vis-à-vis de ces espèces).

BIBLIOGRAPHIE

1. World Health Organization: **World malaria report 2011**. *ISBN 978 92 4 156440 3*. http://www.who.int/malaria/world_malaria_report_2011/en/

2. Programme National de Lutte contre le Paludisme (PNLP). **La stratégie de PECADOM (Prise en Charge à Domicile des cas de paludisme).** *http://www.pnlp.sn/dossier-pecadom.html* World Health Organization:

3. World Health Organization 2008: **Global malaria control and elimination. Technical Consultation Report.** Geneva, (NLM classification: WC 765)

4. World Health Organization: **Malaria elimination: A field manual for low and moderate endemic countries.** *Global Malaria Programme 2007 (NLM classification: WC 765)*

5. World Health Organization: **WHO Policy recommendation On Intermittent Preventive Treatment during infancy with sulphadoxine-pyrimethamine (SP-IPTi) for Plasmodium falciparum malaria control in Africa March 2010** .
   WHO World Malaria Report 2009.
6. Cissé B, Sokhna C, Boulanger D, Milet J, Bâ E.H, Richardson K et al. **Seasonal intermittent preventive treatment with artesunate and sulfadoxine pyrimethamine for prevention of malaria in Senegalese children: a randomised, placebo-controlled, double-blind trial.** *Lancet* 2006; 367: 659–67
7. Schellenberg S, Menendez C, Aponte J, Kahigwa E, Tanner M, Mshinda et al. **Intermittent preventive antimalarial treatment for Tanzanian infants: follow-up to age 2 years of a randomised, placebo-controlled trial.**
   Lancet 2005; 365: 1481–83
8. Programme National de Lutte contre le Paludisme (PNLP). **Rapport d'activité 2008.** *Source RBMME/PNLP,* Dec 2008.
9. Razakandrainibe R, Thonierb V, Ratsimbasoa A, Rakotomalala E, Ravaoarisoa E, Raherinjafy R et al. **Epidemiological situation of malaria in Madagascar: Baseline data for monitoring the impact of malaria control programmes using serological markers.** *Acta Tropica* 111 (2009) 160–167
10. Rogier C, henry M C, Trape J F. **Evaluation épidémiologique du paludisme en zone d'endémie.** *Med Trop* 2009 ; 69 ; 123-124

11. Rogier C. **Paludisme de l'enfant en zone d'endémie : Epidémiologie, Acquisition d'une immunité et Stratégies de lutte.**
Med Trop 2003 ; 63 ; 449-464
12. Oduro R.A, Conway D. J, Schellenberg D, Satoguina J, Greenwood B.M and Bojang K.A. **Sero-epidemiological and parasitological evaluation of the heterogeneity of malaria infection in the Gambia.** *Malar J* 2013, 12:222
13. Boulanger D, Sarr J.B, FilloL F, Sokhna C, Cisse B, Schacht A.M, *et al*. **Immunological consequences of intermittent preventive treatment against malaria in Senegalese preschool children.** *Malar J* 2010, 9:363
14. Mourou J, Coffinet T, Jarjaval F, Cotteaux C, Pradines E, Godefroy L, et al. **Malaria transmission in Libreville: results of a one year survey.**
Malar J 2012, 11:40
15. Aguirre A, Cuentos A, Speybroeck N, Cook J, Mancilla J, Soto V, *et al*. **Assessing malaria transmission in a low endemiciy area of north-western Peru.**
Malar J 2013, 12:339
16. Paludisme en Parasitolgie Mycologie. *ANN O'FEL Edition C et R, 1987, 3 ème Edition*
17. World Health Organization: **World malaria report 2013.** http://www.who.int/malaria/publications/world_malaria_report_2013/en/
18. Programme Nationale de Lutte contre le Paludisme**. Plan stratégique national de lutte contre le paludisme au Sénégal 2011-2015.**
http://www.pnlp.sn/document-strategique.html
19. Programme Nationale de Lutte contre le Paludisme. **Plan stratégique de lutte contre le paludisme au Sénégal 2006- 2010.**
http://www.pnlp.sn/document-strategique.html
20. Programme Nationale de Lutte contre le Paludisme. **Bulletin Epidémiologique Annuel du paludisme. *Février 2015.*** http://www.pnlp.sn/rapport.html
21. Programme Nationale de Lutte contre le Paludisme. **Cadre Stratégique de lutte contre le Paludisme.** http://www.pnlp.sn/rapport.html
22. Davis R, Icke G. **Le paludisme**. *RPH. Laboratory Med. 1998 – 2002*
23. Mouchet J, Carnevale P, Coosemans M, Fontenille D, Ravaonjanahary C, Richard A. **Typologie du paludisme en Afrique.** *Cahiers Santé* 1993; 3: 220-238.
24. Beauvais P. **Beauvais B. Drépanocytose et Paludisme, données actuelles.** .
Arch. Fr. Pédiatr 1986 ; 43: 279-282

25. Organisation Mondiale de la Santé : **Terminologie du paludisme et de l'éradication.** Ed, Genève, 1964
26. Gentillini M. **Médecine Tropicale.** *Flammarion. Médecine-Sciences, Paris :* 5ème édition, 1993
27. Mazier D. **Le paludisme : cycle et biologie des plasmodiums**. *Ed. Market., Ellipses/ Aupelf* 1991 :25-34
28. Chen Q, Schlichtherle M. et Wahlgren, M. **Molecular aspects of severe malaria.** *Clin. Microbiol. Rev.* 13: 439-450, 2000.
29. Newbold, C. *et al*. **Cytoadherence, pathogenesis and the infected red cell surface in *Plasmodium falciparum*.** *Int. J. Parasitol.* 29: 927-937 1999.
30. Luse SA. et Miller LH. ***Plasmodium falciparum*** **malaria. Ultrastructure of parasitized erythrocytes in cardiac vessels.** *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 20: 655-660, 1971.
31. Ho M et White NJ. **Molecular mechanisms of cytoadherence in malaria**. *Am. J. Physiol.* 276: C1231-C1242, 1999.
32. Rogerson SJ, Novakovic S, Cooke BM. et Brown GV. ***Plasmodium falciparum*-infected erythrocytes adhere to the proteoglycan thrombomodulin in static and flow-based systems.** *Exp. Parasitol.* 86: 8-18, 1997.
33. Yipp BG. *et al*. **Synergism of multiple adhesion molecules in mediating cytoadherence of *Plasmodium falciparum*-infected erythrocytes to microvascular endothelial cells under flow.** *Blood* 96: 2292-2298, 2000.
34. Beeson JG. *et al*. ***Plasmodium falciparum*** **isolates from infected pregnant women and children are associated with distinct adhesive and antigenic properties.** *J. Infect. Dis.* 180
35. Gamain B, Smith JD, Miller LH. et Baruch DI. **Modifications in the CD36 binding domain of the *Plasmodium falciparum*** **variant antigen are responsible for the inability of chondroitin sulfate A adherent parasites to bind CD36.** *Blood* 97: 3268-3274, 2001.
36. Ockenhouse CF, *et al*. **Molecular basis of sequestration in severe and uncomplicated *Plasmodium falciparum*** **malaria: differential adhesion of infected erythrocytes to CD36 and ICAM-1.** *J. Infect. Dis.* 1991 ; 164: 163-169.
37. Carlson J, Helmby H, Hill AV, Brewster D, Greenwood BM, Wahlgren M. **Human**

cerebral malaria: association with erythrocyte rosetting and lack of anti-rosetting antibodies. *Lancet,* 1990, 336, 1457-60.

38. Newbold CI, Craig AG, Kyes S, Berendt AR, Snow RW, Peshu N, Marsh K. **PfEMP1, polymorphism and pathogenesis.**

Ann Trop Med Parasitol, 1997, 91, 551-7.

39. Rowe A, Obeiro J, Newbold CI. et Marsh K. **Plasmodium falciparum rosetting is associated with malaria severity in Kenya.**

Infect Immun, 1995, 63, 2323-6.

40. Rowe JA, Moulds JM, Newbold CI, et Miller LHP**. falciparum rosetting mediated by a parasite-variant erythrocyte membrane protein and complement- receptor 1**. *Nature, 1997,* 388, 292-5.

41. Craig A. et Scherf A. (2001) **Molecules on the surface of the Plasmodium falciparum infected erythrocyte and their role in malaria pathogenesis and immune evasion.** *Mol Biochem Parasitol,* 115, 129-43.

42. Flick K, Ahuja S, Chene A, Bejarano MT, Chenn Q. **Optimized expression of Plasmodium falciparum erythrocyte membrane protein 1 domains in Escherichia coli.** *Malar J, 2004, 15;* 3:50.

43. Roberts DJ, Craig AG, Berendt AR, Pinches R, Nashn G, Marsh K, et al. **Rapid switching to multiple antigenic and adhesive phenotypes in malaria.** *Nature, 2004,* 357, 689-92.

44. Flick K, Scholander C, Chen Q, Fernandez V, Pouvelle B, Gysin J, et al. 2001 **Role of nonimmune IgG bound to PfEMP1 in placental malaria.** *Science,* 293, 2098-100.

45. Scherf A, Pouvelle B, Buffet PA. et Gysin J. (2001) **Molecular mechanisms of Plasmodium falciparum placental adhesion.** *Cell Microbiol,* 3, 125-31.

46. Marsh K. **A neglected disease**? *Parasitology* 104:S53-S69, 1992.

47. Trape JF, Rogier C, Konate L, Diagne N, Bouganali H, Canque B, et al. **The Dielmo project: A longitudinal study of natural malaria infection and the mechanisms of protective immunity in a community living in a holoendemic area of Senegal.** *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 51:123-137, 1994

48. Hannet I, Erkeller-Yuksel F *et Coll* - **Developmental and maturational changes in human blood lymphocyte subpopulations.**
Immunol Today 1992 ; 13 : 215-218.

49. Mohan K, Stevenson MM. **Acquired immunity to asexual blood stages**; *in Sherman IW (ed): Malaria: Parasite Biology, Pathogenesis and Protection. Washington, ASM Press*, pp. 467-493, 1998.

50. Martinon F, Tschopp J. **NLRs join TLRs as innate sensors of pathogens.**
Trends Immunol. 2005

51. Aderem A, Ulevitch RJ: **Toll-like receptor in the induction of the innate immune response.** *Nature* 406:782-787, 2000.

52. Cohen S, McGregor IA, Carrington S: **Gamma-globulin and acquired immunity to human malaria.** *Nature* 192:733-737, 1961.

53. Currier J, Sattabongkot J, Good MF. **Natural T cells responsive to malaria: Evidence implicating immunological cross-reactivity in the maintenance of αβ+ malaria-specific responses from non-exposed donors.**
Int. *Immunol*. 4:985-994, 1992.

54. Orago AS, Facer CA. **Cytotoxicity of human natural killer (NK) cell subsets for Plasmodium falciparum erythrocytic schizontes: Stimulation by cytokines and inhibition by neomycin.** *Clin. Exp. Immunol*. 86:22-29, 1991.

55. Mavoungou E, Luty AJF, Kremsner PG. **Natural killer (NK) cell-mediated cytolysis of Plasmodium falciparum-infected human red blood cells in vitro.** *Eur. Cytokine Netw*. 14:134-142, 2003.

56. Roland J, Soulard V, Sellier C, Drapier AM, Di Santo JP, Cazenave PA, Pied S. **NK cell responses to *Plasmodium* infection and control of intrahepatic parasite development.** *J. Immunol*. 177:1229-1239, 2006.

54. Bendelac A. **Mouse NK1+ T cells increase during experimental malaria infection and are able to exhibit inhibitory activity against the parasite liver stage in vitro.** *J. Immunol*. 164:1463-1469, 2000.

55. Porcelli SA, Modlin RL. **The CD1 system: Antigen presenting molecules for T cell recognition of lipids and glycolipids.** *Annu. Rev. Immunol*. 17:297-329, 1999.

56. Salerno A, Dieli F. **Role of γδT lymphocytes in immune responses in humans and mice.** *Crit*. Rev. *Immunol*. 18:327-357, 1998.

57. Baird JK, Jones T.R, Danudirgo E.W *et Coll* - **Age-dependent acquired protection against *Plasmodium falciparum* in People having two years exposure to hyperendemic malaria.** *Am J Trop Med Hyg* 1991 ; 45 : 65-76.

58. Baird JK, Purnomo, Basri H *et Coll* - **Age-specific prevalence of *Plasmodium falciparum* among six populations with limited histories of exposure to endemic malaria.** *Am J Trop Med Hyg* 1993; 49: 707-719

59. Baird JK - **Host age as a determinant of naturally acquired immunity to *Plasmodium falciparum*.** *Parasitol Today* 1995; 1 : 105-111.

60. Oeuvray C, Bouharoun-Tayoun H, Gras-masse H, Bottius E, Kaidoh T, Aikawa M et al. **Merozoite surface protein-3: a malaria protein inducing antibodies that promote *Plasmodium falciparum* killing by cooperation with blood monocytes.** *Blood* 1994, 84(5), 1594-1602.

61. Troye-Blomberg P. **Malaria immunity: An overview with emphasis on T cell function**; *in Good MF, Saul AJ (eds):* Molecular Immunological Considerations in malaria Vaccine Development. *Boca Raton, CRC Press* 1994:1-46,

62. McGregor IA, C. S., Cohen S. (1963). **Treatment of East African Plasmodium falciparum malaria with West African human gammaglobulin.**

Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 57:170-175;

63. Hoffman SL, Crutcher JM, Puri SK, Ansari AA, Villinger F, Franke ED, et al. **Sterile protection of monkeys against malaria after administration of interleukin-12.** Nature Med. 3:80-83, 1997.

64. Bouharoun-Tayoun, H. and P. Druilhe (1992). **Plasmodium falciparum malaria: evidence for an isotype imbalance which may be responsible for delayed acquisition of protective immunity.** *Infect Immun* 60(4): 1473-1481.

65. Aidoo M., Udhayakumar V. **Field studies of cytotoxic T lymphocytes in malaria infections: implications for malaria vaccine development.** *Parasitol Today* 2000 16 (2): 50-56.

66. Ho M, Webster HK. **Immunology of human malaria. A cellular perspective.** *Parasite Immunol*. 11:105-116, 1989.

67. Goodier M, Fey P, Eichmann K, Langhorne J. **Human peripheral blood T cells respond to antigens of Plasmodium falciparum.** *Int. Immunol*. 4:33-41, 1992.

68. World Health Organization: **Guidelines for the treatment of Malaria, 2006.**

69. Organisation mondiale de la santé. **Guide pratique pour la prise en charge du paludisme grave**, 3eme Ed 5 (2013)

http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/87012/1/9789242548525_fre.pdf?ua=1

70. Greenwood B. **The use of anti-malarial drugs to prevent malaria in the population of malaria endemic areas.** *Am J Trop Med Hyg. 2004; 70(1):1-7*

71. Organisation mondiale de la santé : **Recommandation de politique générale de l'OMS : Chimioprévention 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.** ***Mars 2012.*** http://www.who.int/malaria/publications/atoz/who_smc_policy_recommendation/fr

72. Tine RC, Faye B, Ndour CT, Ndiaye JL, Ndiaye M, Bassene C, et al: **Impact of combining intermittent preventive treatment with home management of malaria in children less than 10 years in a rural area of Senegal: a cluster randomized trial.** *Malar J* 2011, 10:358.

73. Programme Nationale de Lutte contre le Paludisme. **Rapport Annuel d'activités PNLP 2009**. http://www.pnlp.sn/rapport.html

74. Djogbénou, L. **Vector control methods against malaria and vector resistance to insecticides in Africa.** *Med trop* 2009, 69.2: 160-164.

75. World Health Organization (2006). **Indoor residual spraying: Use of indoor residual spraying for scaling up global malaria control and elimination: WHO position statement**

http://whqlibdoc.who.int/hq/2006/WHO_HTM_MAL_2006.1112_eng.pdf

76. Organisation mondiale de la santé. **L'initiative T3: (Tester, Traiter, Tracer). Améliorer l'accès au diagnostic et au traitement du paludisme et intensifier la surveillance épidémiologique, 2012.**
http://www.who.int/malaria/areas/test_treat_track/fr/

77. Baudon D, Carnevale P, Robert V. **Méthodologie d'évaluation du paludisme en zone d'endémie : aspects actuels.** *Bull.liais.doc-OCEAC ;* 97 Octobre 1991

78. World Health Organization: **Evaluation et surveillance de l'efficacité des antipaludiques pour le traitement du paludisme non compliqué à *Plasmodium falciparum*.** *WHO/HTM/RBM/2003.50*

79. 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.** *Malar J* 2008, 7:195.

80. Drakeley CJ, Corran PH, Coleman PG, Tongren JE, McDonald SL, Carneiro I, *et al*. **Estimating medium- and long-term trends in malaria transmission by using serological markers of malaria exposure.** *Proc Natl Acad Sci USA* 2005, 102:5108–5113.

81. Guitard J, Cottrell G, Magnouha NM, Salanti A, Li T, Sow S, *et al*. **Differential evolution of anti-VAR2CSA- IgG3 in primigravidae and multigravidae pregnant women infected by *Plasmodium falciparum*.** *Malar J* 2008, 7:10.

82. Agence Nationale de la Statistique et de la Démographie (ANSD), Sénégal. **Enquête nationale sur le paludisme 2008-2009**, Juillet 2009. (Available: http://www.ansd.sn/ressources/rapports/EDS-continue_2008-2009.pdf).

83. Agence Nationale de la Statistique et de la Démographie (ANSD), Sénégal. **Enquête Démographique et de Santé Continue au Sénégal 2012-2013.** (Available :http://www.ansd.sn/ressources/rapports/EDS-continue_2012-2013.pdf).

84. Cook J, Speybroeck N, Sochanta T, Somony H, Sokny M, Filip Claes F, *et al*. **Sero epidemiological evaluation of changes in *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* transmission patterns over the rainy season in Cambodia.**

Malar J 2012, 11:86

85. Cook J, Reid H, Iavro J, Kuwahata M, Taleo G, Clements A, *et al*: **Using serological measures to monitor changes in malaria transmission in Vanuatu.**

Malar J 2010, 9:169.

86. Dodoo D, Aikins A, Kusi KA, Lamptey H, Remarque E, Milligan P, *et al*. **Cohort study of the association of antibody levels to AMA1, MSP1_19, MSP3 and GLURP**

with protection from clinical malaria in Ghanaian children.
Malar J 2008, 7:142.

87. Holder AA, Riley EM: **Clinical immunity to *Plasmodium falciparum* malaria is associated with serum antibodies to the 19-kDa C-terminal fragment of the merozoite surface antigen, PfMSP-1.** *J Infect Dis* 1996, 173:765-769.
88. Kitua AY, Lemnge MM, Theander TG. **Cytophilic antibodies to *Plasmodium falciparum* glutamate rich protein are associated with malaria protection in an area of holoendemic transmission**. *Malar J* 2005, 4:48.
89. Meraldi V, Nebie I, Tiono AB, Diallo D, Sanogo E, Theisen M, *et al*. **Natural antibody response to *Plasmodium falciparum* Exp-1, MSP-3 and GLURP long synthetic peptides and association with protection.**
Parasite Immunol 2004, 26:265-272.
90. Dodoo D, Theisen M, Kurtzhals JA, Akanmori BD, Koram KA, Jepsen S, *et al*. **Naturally acquired antibodies to the glutamate-rich protein are associated with protection against *Plasmodium falciparum* malaria.**
J Infect Dis 2000, 181:1202-1205.
91. Theisen M, Dodoo D, Toure BA, Soe S, Corradin G, Koram KK, *et al*. **Selection of glutamate-rich protein long synthetic peptides for vaccine development: antigenicity and relationship with clinical protection and immunogenicity.** *Infect Immun* 2001, 69: 5223-5229.
92. Oeuvray C, Theisen M, Rogier C, Trape JF, Jepsen S, Druilhe P. **Cytophilic immunoglobulin responses to *Plasmodium falciparum* glutamate-rich protein are correlated with protection against clinical malaria in Dielmo, Senegal.** *Infect Immun* 2000, 68:2617-2620.
93. Nahlen BL, Bloland PB, Kaslow DC, Lal AA. **A longitudinal investigation of IgG and IgM antibody responses to the merozoite surface protein-1 19-kiloDalton domain of *Plasmodium falciparum* in pregnant women and infants: associations with febrile illness, parasitemia, and anemia.**
Am J Trop Med Hyg 1998, 58:211-219.
94. Morais CG, Soares IS, Carvalho LH, Fontes CJ, Krettli AU, Braga EM. **IgG isotype to C-terminal 19 kDa of *Plasmodium vivax* merozoite surface protein 1 among subjects with different levels of exposure to malaria in Brazil.**
Parasitol Res 2005,

95. Otoo L, R.W. Snow A. Menon, P. Byass and B.M. Greenwood. **Immunity to malaria in young Gambian children after a two-year period of chemoprophylaxis.** *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1988, 82:59-65.

96. Schreiber N, Kobbe R, Adjei S, Adjei O, Klinkert MQ, May J: **Immune responses after single-dose sulphadoxine-pyrimethamine indicate underestimation of protective efficacy of intermittent preventive treatment in infants.** *Trop Med Int Health* 2007, 12:1157-1163.

97. Sarr JB, Remoue F, Samb B, Dia I, Guindo S, Sow C et al: **Evaluation of antibody response to *Plasmodium falciparum* in children according to exposure of *Anopheles gambiae* s.l or *Anopheles funestus* vectors.**

Malar J 2007, 6:117.

98. Schreiber N, Kobbe R, Adjei S, Adjei O, Klinkert MQ, May J: **Immune responses after single-dose sulphadoxine-pyrimethamine indicate underestimation of protective efficacy of intermittent preventive treatment in infants.** *Trop Med Int Health* 2007, 12:1157-116

99. Quelhas D, Puyol L, Quinto L, Serra-Casas E, Nhampossa T, Macete E, *et al*: **Impact of intermittent preventive treatment with sulfadoxine-pyrimethamine on antibody responses to erythrocytic-stage *Plasmodium falciparum* antigens in infants in Mozambique.** *Clin Vaccine Immunol* 2008, 15:1282-1291.

Auteur : Khadime SYLLA

Paludisme à *Plasmodium falciparum* au Sénégal : Surveillance séro-épidémiologique et Evaluation de l'impact de la Chimioprévention du Paludisme Saisonnier (CPS) sur le statut immunitaire des enfants vivant au Sud du Sénégal

Résumé

Au Sénégal, la combinaison des mesures de lutte antipaludique a permis de réduire la morbi-mortalité palustre. Devant cette baisse, le PNLP s'est inscrit dans un processus d'accélération du contrôle du paludisme en vue de l'atteinte du seuil épidémiologique de pré-élimination. Dans l'optique de cette pré-élimination, la sérologie est proposée comme étant un outil fiable et sensible permettant d'évaluer l'impact des mesures de lutte sur la transmission et sur l'immunité des populations. L'objectif général de ce travail était d'évaluer l'apport de la sérologie dans la surveillance du paludisme et dans la mesure de l'impact de certaines interventions au Sénégal. L'étude évaluant la séro-épidémiologie du paludisme à *Plasmodium falciparum* à Vélingara et à Keur Socé réalisée entre Septembre et Octobre 2010 a montré une prévalence du paludisme à *Plasmodium falciparum* de 4,99% avec une prévalence plus élevée à Vélingara (10,3%) qu'à Keur Socé (0,3%) et une séroprévalence des anticorps anti-AMA1, anti-MSP1 et anti-CSP de 38,12%, 41,55% et de 40,38% respectivement. La séroprévalence des anticorps était plus importante à Vélingara qu'à Keur Socé ($p<10^{-3}$). Les études évaluant l'impact de la chimioprévention du paludisme (CPS) saisonnier avec la avec la Sulfadoxine-Pyrimethamine (SP) et l'Amodiaquine (AQ) sur le statut immunitaire des enfants vivant au Sud du Sénégal en 2010 et 2011 ont montré que cette stratégie est efficace pour la prévention du paludisme saisonnier de l'enfant mais entraine une réduction de la production des anticorps anti-MSP1$_{42}$, anti-AMA1 et anti-GRURP_R0 qui sont associés à la protection contre le paludisme. Ces résultats ont permis de donner des informations sur la situation séro-épidémiologique du paludisme et sur l'impact de la CPS sur l'immunité des enfants. Dans les zones éligibles à la pré-élimination, les marqueurs sérologiques pourraient être un bon outil de surveillance et d'évaluation de l'impact de certaines interventions.

Plasmodium falciparum malaria in Senegal: Sero-epidemiological surveillance and evaluation the impact of the Seasonal Malaria Chemoprevention (SMC) on the immunity of children living in Southern part of Senegal

Summary

In Senegal, significance decrease of malaria transmission intensity has been noted the last years. This has leaded the National Malaria Control Program to outline a vision of malaria elimination. In this context, serology has been proposed as a sensitive and reliable tool for malaria epidemiology assessment and evaluation of malaria intervention on host immunity. The objective of this study was to assess the use of serology in malaria surveillance and the evaluation malaria interventions. The sero-epidemiological study conducted in September and October 2010, showed 4.99% of *Pf* malaria prevalence with high prevalence in Velingara 10.03% compared to Keur Soce 0.3%. Sero-prevalence of anti-AMA1, anti-MSP1 and anti-CSP antibody was 38.12%, 41.55% and 40.38% respectively. The sero-prevalence was more important in Velingara and increased with age, active malaria infection and area of residence. The studies assessing the impact of Seasonal Malaria Chemoprevention (SMC) with single dose of Sulfadoxine-Pyrimethamine (SP) and three doses Amodiaquine (AQ) in children under 10 years in the South-eastern part of Senegal showed that SMC is an effective strategy for malaria prevention but can as well induce a decrease of IgG anti-AMA1, anti-GLURP_R0 and anti-MSP1_42 which are associated with the protection against malaria. These results provide useful information about the sero-epidemiological situation of malaria in Senegal and the impact of SMC on the immunity. In area with declining malaria transmission, serological markers can contribute to improve malaria surveillance and assessment malaria intervention.

Discipline : Sciences de la vie, de la Santé et de l'Environnement

Mots clés: Paludisme, *Plasmodium Falciparum*, Epidémiologie, CPS, Sérologie, Sénégal

Service de Parasitologie-Mycologie, Faculté de Médecine, Pharmacie et Odontostomatologie, UCAD