

LISTE DES ABREVIATIONS ET DES SIGLES

An	: <i>Anophèles</i>
BSA	: Bovin serum albumin (albumine de sérum bovin)
CHN-YO	: Centre Hospitalier National Yalgado Ouédraogo
HLA	: Human Leucocyte Antigen (antigène de leucocyte humain)
IgG	: Immunoglobuline G
MSP1	: Merozoite Surface Protein 1 (protéine 1 de surface du mérozoïte)
OMS	: Organisation Mondiale de la Santé
P	: <i>Plasmodium</i>
SALSA	: Sporozoite and Liver stage Antigen (antigène de stade sporozoïtique et hépatique)
SI	: <i>sensus lato</i>
SSP2	: Sporozoite surface protein 2 (protéine 2 de la surface du sporozoïte)
TNF	: Tumor Necrosis Factor (facteur de nécrose des tumeurs)

SOMMAIRE

	Pages
<u>INTRODUCTION</u>	1

PREMIERE PARTIE : GENERALITES

1. <u>REVUE DE LA LITTERATURE SUR LA TRAP DE <i>P.FALCIPARUM</i> ...</u>	2
1.1 Historique.....	2
1.2 Structure.....	2
1.3 Localisations.....	3
1.4 Fonctions.....	4
1.5 Immunologie.....	5
2. <u>CYCLE BIOLOGIQUE DES PLASMODIES CHEZ L'HOMME</u>.....	7
2.1 Phase hépatique.....	7
2.2 Phase sanguine.....	8
2.3 Amorce du cycle sexué ou sporogonique.....	8
3. <u>REPONSE IMMUNE DE L'HÔTE DIRIGEE CONTRE LE PARASITE</u>....	9
3.1 Opsonisation du sporozoïte.....	9
3.2 Blocage de l'invasion des hépatocytes.....	9
3.3 Réponse à médiation cellulaire contre les formes exo-érythrocytaires.....	10
3.4 Opsonisation des mérozoïtes.....	10

3.5 Blocage de l'invasion des globules rouges parasités par les mérozoïtes.....	11
3.6 Effet des médiateurs solubles sur le parasite intracellulaire.....	11
3.7 Action du complément.....	11
3.8 Opsonisation des globules rouges parasités.....	12
3.9 Effet des anticorps anti-gamétocytes.....	12
4. <u>PROTEINE CIRCUMSPOROZOITIQUE (CS) DE <i>P. FALCIPARUM</i>....</u>	13

DEUXIEME PARTIE : NOTRE ETUDE

1. <u>ENONCE DU PROBLEME</u>.....	15
2. <u>OBJECTIFS</u>.....	17
3. <u>METHODOLOGIE</u>.....	18
3.1 Cadre de l'étude.....	18
3.1.1 Centre Hospitalier National -Yalgado OUEDRAOGO.....	18
3.1.2 Autres institutions et services.....	19
3.2 Type d'étude et méthode d'échantillonnage.....	20
3.2.1 Critères d'inclusion.....	20
3.2.1.1 Définition du cas.....	20

3.2.1.2 Définition du témoin.....	21
3.2.2 Critères d'exclusion	21
3.2.3 Définitions opérationnelles.....	22
3. 3 Collecte des données.....	23
3.4 Techniques de laboratoire.....	24
3.4.1 Examen parasitologique.....	24
3.4.2 Glycémie et créatinémie.....	25
3.4.3 Hémogrammes.....	25
3.4.4 Dosage des anticorps	25
3.5 Traitement des patients de l'étude.....	28
3.5.1 Cas	28
3.5.2 Témoins.....	29
3.6 Analyse des données.....	29
4. <u>RESULTATS</u>.....	31
4.1 CARACTERISTIQUES GENERALES DE L'ECHANTILLON.....	31
4.1.1 Fréquences globales.....	31
4.1.2 Répartition des malades selon le mois.....	31
4.1.3 Répartition des malades selon le sexe.....	32
4.1.4 Provenance des malades.....	32
4.1.5 Répartition des malades selon l'âge.....	33

4.2 RESULTATS CLINIQUES ET BIOLOGIQUES.....34

4.2.1 Antécédents.....	34
4.2.1.1 Antécédents de consultation.....	34
4.2.1.2 Antécédents de traitement.....	34
4.2.2 Prophylaxie.....	35
4.2.2.1 Chimio prophylaxie.....	35
4.2.2.2 Utilisation de moustiquaires.....	35
4.2.3 Profil clinique.....	36
4.2.3.1 Température.....	36
4.2.3.2 Prévalence des signes de gravité chez les cas.....	36
4.2.4 Résultats paracliniques.....	37

4.3 RESULTATS IMMUNOLOGIQUES.....38

4.3.1 Réponse immunitaire humorale anti-protéine CS.....	38
4.3.1.1 Séroprévalence anti-protéine CS des malades selon la gravité du tableau clinique.....	38
4.3.1.2 Séroprévalence anti-protéine CS des malades selon la provenance.....	39
4.3.1.3 Séroprévalence anti-protéine CS des malades selon le mois de recrutement.....	40
4.3.2 Réponse immunitaire humorale anti-TRAP : comparaison des témoins et des cas.....	41
4.3.2.1 Séroprévalence anti-TRAP des malades selon la gravité du tableau clinique.....	41

4.3.2.2 Titres moyens des anticorps anti-TRAP des témoins et des cas.....	42
4.3.2.3 Influence de l'âge sur la séroprévalence anti-TRAP des témoins et des cas.....	43
4.3.2.4 Influence de la transmission sur la séroprévalence anti- TRAP des témoins et des cas.....	44
4.3.2.5 Influence de la densité parasitaire sur la séroprévalence anti- TRAP des témoins et des cas...	46
4.4 EVOLUTION DES CAS.....	47
4.4.1 Fréquences.....	47
4.4.2 Réponse immunitaire humorale anti-TRAP des cas et évolution..	48
4.4.3 Titres moyens des anticorps anti-TRAP chez les cas guéris et les cas décédés.....	49
4.4.4 Séroprévalences anti-TRAP pour les signes de gravité.....	50
4.4.5 Influence de l'âge sur la séroprévalence anti-TRAP des cas guéris et des cas décédés.....	51
4.4. 6 Influence de la transmission sur les séroprévalences anti-TRAP des cas guéris et des cas décédés.....	51
4.4.7 Influence de la densité parasitaire sur la séroprévalence anti-TRAP des cas guéris et des cas décédés.....	53

5. <u>DISCUSSION</u>	54
5.1 Limite de l'étude	54
5.2 Moyens prophylactiques et chimiothérapie des accès fébriles	54
5.3 Saisonnalité des cas cliniques	55
5.4 Age des cas et manifestations cliniques	56
5.5 Réponse immunitaire anti-TRAP	56
5.5.1 Anticorps anti-TRAP et apparition du paludisme grave	56
5.5.2 Anticorps anti-TRAP et pronostic des cas de paludisme grave	58
6. <u>CONCLUSION</u>	65
7. <u>SUGGESTIONS</u>	66
8. <u>RESUME</u>	67
9. <u>BIBLIOGRAPHIE</u>	
<u>ANNEXES</u>	

LA FACULTE DES SCIENCES DE LA SANTE A ARRÊTE QUE LES
OPINIONS EMISES DANS LES DISSERTATIONS QUI SERONT
PRESENTÉES DOIVENT ÊTRE CONSIDÉRÉES COMME PROPRES A
LEURS AUTEURS ET QU'ELLE N'ENTEND LEUR DONNER AUCUNE
APPROBATION NI AUCUNE IMPROBATION.

INTRODUCTION

Connu depuis l'antiquité, le paludisme se situe parmi les maladies les plus dévastatrices qui existent de nos jours. Il demeure un grave problème de santé publique dans les pays en voie de développement. Il n'y a toujours pas de vaccin pour le prévenir [61].

Le cycle de développement des plasmodies expose l'hôte à une succession de formes plasmodiales distinctes et associées chacune à des antigènes complexes [48]. La réponse immunitaire à ce stimulus antigénique peut être spécifique ou non spécifique. L'immunité spécifique est la synthèse d'anticorps (immunoglobulines) contre les antigènes des plasmodies. Druilhe a démontré le rôle déterminant des anticorps dans l'immunité contre *P. falciparum* [25].

La mise au point d'un vaccin antipaludique efficace représenterait une addition importante aux outils disponibles pour la lutte antipaludique [61]. Or la mise au point de ce vaccin passe par l'identification d'antigènes immunoprotecteurs capables de conférer une immunité durable surtout contre les formes graves du paludisme [2].

Récemment un antigène a été identifié à la surface des sporozoïtes, il s'agit de la TRAP (THROMBOSPONDIN RELATED ADHESIVE PROTEIN) [68]. Il a été déjà caractérisé et le rôle de l'immunité qu'il induit naturellement dans la protection contre le paludisme est en cours d'évaluation. C'est cette évaluation qui fera l'objet de notre travail.

PREMIERE PARTIE :

GENERALITES

1 . REVUE DE LA
LITTERATURE SUR LA
TRAP DE *PLASMODIUM*
FALCIPARUM

1.1 HISTORIQUE

C'est en 1988 que ROBSON KJH et son équipe ont isolé et séquencé une protéine de 63,3 kilodaltons (kDa).

Cette nouvelle protéine contenait une séquence répétée de peptides WSPCSVTCG (Trp-Ser-Pro-Cys-Ser-Val-Thr-Cys-Gly) déjà identifiée sur la thrombospondine, la properdine et la protéine circumsporozoïte (CS). ROBSON KJH et coll. l'ont appelé "thrombospondin related adhesive protein" (TRAP) [67].

1.2 STRUCTURE

Le gène de la TRAP de *P. falciparum* est localisé dans le chromosome 13 [68].

La TRAP est caractérisée par la présence de la séquence WSPCSVTCG (acides aminés 249-258) commune chez d'autres protéines bien connues. En effet, cette séquence est présente chez les protozoaires en une copie, dans la région II de la protéine CS de *P. falciparum*, dans le "sporozoite surface protein 2" de *Plasmodium yoelii* (PySSP2). Parmi les vertébrés, la protéine F-spondine, la thrombospondine et la properdine contiennent également plusieurs motifs de cette séquence.

La TRAP comporte également une séquence Arginine-Glycine-Acide aspartique (RGD) (acides aminés 307-309) qui est strictement nécessaire à l'activité de plusieurs glycoprotéines adhésives impliquées dans la reconnaissance cellulaire.

La TRAP entière comporte 559 acides aminés et a un poids moléculaire de 63,3 kDa. Sa structure tridimensionnelle n'est pas encore connue [15,67].

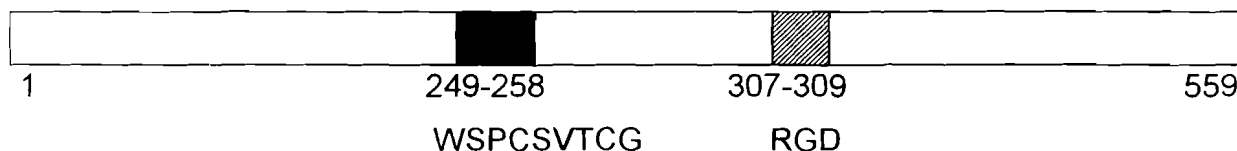


Figure 1: Structure schématique illustrant les positions des séquences WSPCSVTCG et RGD [54]

1.3 LOCALISATIONS

Les premières études avaient montré que les ARN messagers (ARNm) spécifiques de la TRAP étaient détectés sur les globules rouges infectés [15,67]. L'expression de la protéine à ce stade est actuellement l'objet de controverse, car les travaux de ROGERS WO et coll. (1992) [70] n'ont pas confirmé son expression sur les formes sanguines.

Par contre, son expression au niveau des formes pré-érythrocytaires a été l'objet de nombreux travaux : COWAN G et coll. [14], ROGERS WO et coll. [70], MÜLLER HM et coll. [54], ROBSON KJH et coll. [69] ont mis en évidence son expression et sa localisation dans le micronème des sporozoïtes au niveau des glandes salivaires et sur les formes hépatiques du parasite.

1.4 FONCTIONS

**** Propriétés adhésives et pénétration des sporozoïtes dans les hépatocytes.***

ROGERS WO et coll. en 1992 [70], MÜLLER HM et coll. en 1993 [54] ont étudié la cytoadhérence de la protéine recombinante sur les cellules hépatiques et le rôle des anticorps anti-TRAP au cours de l'invasion des hépatocytes par les sporozoïtes. Il ressort des résultats que la TRAP se lie spécifiquement aux sulfatides et à la surface des cellules hépatiques (Hepg2) en utilisant le motif WSPCSVTCG. Les résultats indiquent que les anticorps anti-TRAP inhibent spécifiquement l'invasion des hépatocytes par les sporozoïtes.

**** Rôle de la TRAP dans l'infectivité du sporozoïte***

Les travaux de TOURAY MG et coll. (1992) [80] indiquaient que l'expression de la protéine CS, ne peut à elle seule expliquer les différences de capacité des sporozoïtes d'envahir les glandes salivaires ou d'infecter l'hôte vertébré. D'autres protéines, en plus de la CS sont nécessaires dans le sporozoïte pour l'acquisition de la capacité d'infecter l'hôte vertébré.

C'est dans cet ordre d'idée que l'expression de la TRAP au niveau des sporozoïtes provenant des oocystes, de l'hémocel et des glandes salivaires a été étudiée. ROBSON KJH et coll. (1995) [69] ont montré que les sporozoïtes des glandes salivaires présentant la TRAP et la protéine CS sont les seuls impliqués dans l'infectivité. Ils ont alors conclu que la présence de la TRAP et de la protéine CS est nécessaire à l'acquisition de l'infectivité par le sporozoïte.

Il est par ailleurs maintenant établi que la TRAP est l'équivalent de l'antigène SSP2 de *P. yoelii* (PySSP2). La PySSP2 avait été décrite comme cruciale dans l'invasion de l'hépatocyte par le sporozoïte [15].

1.5 IMMUNOLOGIE

L'inhibition par les anticorps anti-TRAP de l'invasion des hépatocytes par les sporozoïtes a fait supposer que la compréhension de la réponse immunitaire naturelle des populations vivant en zone d'endémie contre cette protéine pourrait ouvrir la voie vers une recherche vaccinale [21].

Ainsi, trois équipes ont entrepris des études pour évaluer le rôle des anticorps anti-TRAP dans la protection contre le paludisme : DOLO A en 1992, 1993 et 1994 au Mali [21]; SCARCELLI E et coll. en 1993 au Mali [75]; BHARADWAJ B et coll. en 1997 en Inde [3].

1° DOLO A et ses collaborateurs ont mené deux études :

Une étude cas-témoins en 1992 visant à évaluer le rôle des anticorps anti-TRAP sur la gravité du paludisme dans le service de pédiatrie de l'hôpital Gabriel TOURE de Bamako, ils ont mis en évidence un rôle protecteur des anticorps anti-TRAP contre la survenue du paludisme grave d'une part et contre son évolution fatale d'autre part.

L'autre étude a été menée dans un district périphérique (à Bancoumana) pendant les saisons de transmission intense en 1993 et 1994. Le rôle protecteur des anticorps anti-TRAP y a été évalué entre autre. Mais cette fois-ci la protection n'a pas été mise en évidence [21].

2° SCARCELLI E et ses collaborateurs ont montré que les niveaux des antigènes TRAP variaient selon l'âge ; que la réponse immunitaire anti-TRAP était durable chez les adultes et les grands enfants, mais de courte durée chez les jeunes enfants.

Ils ont aussi montré que la présence d'anticorps anti-TRAP chez les grands enfants (6-10 ans) avant le début de la saison de transmission corrélait positivement avec un contrôle conséquent des densités parasitaires [75].

3° BHARADWAJ B et coll. ont évalué le rôle protecteur de deux peptides qu'ils ont synthétisés à partir de la séquence WSPCSVTCG de la TRAP. L'un des peptides protégeait les rongeurs contre le paludisme, l'autre non [3].

ROBSON KJH et coll. (1990) [68], COWAN G et coll.(1992) [15], DOLO A (1992) [21], MÜLLER HM et coll. (1993) [54] ont établi que la TRAP est un antigène très polymorphe.

Des documents que nous avons consultés, c'est à Bamako que DOLO A [21] a mentionné un titre moyen d'anticorps anti-TRAP de 0,38 chez les témoins et de 0,41 chez les cas.

**2 . CYCLE BIOLOGIQUE
DES PLASMODIES CHEZ
L'HOMME**

Au cours de la piqûre, l'anophèle infesté injecte avec sa salive dans un vaisseau sanguin, des sporozoïtes localisés dans ses glandes salivaires (quelques centaines à quelques milliers). Les sporozoïtes se répartissent rapidement dans tout l'organisme, pénétrant activement et indifféremment dans différents types cellulaires où leur développement avortera [47]. Seuls les survivants ayant gagné le foie et franchi une dernière barrière constituée par les cellules de Küpffer pourront poursuivre leur cycle qui comprend plusieurs phases [47].

2.1 Phase hépatique

Phase silencieuse du cycle, elle fut découverte par Shortt et Garnham en 1948. Après sa pénétration dans l'hépatocyte, le sporozoïte se transforme en trophozoïte. les trophozoïtes de *P.falciparum* et de *P.malariae*, évoluent immédiatement jusqu'à maturité. Pour les trophozoïtes de *P.vivax* et de *P.ovale*, deux possibilités s'offrent alors : certains évoluent immédiatement jusqu'à maturité, les autres restent sous forme uninucléée, forme dormante appelée hypnozoïte. Ces hypnozoïtes seront activés à des époques différentes donnant alors lieu à une schizogonie hépatique à l'origine des rechutes [47].

Schizogonie hépatique ou tissulaire exo-érythrocytaire : le trophozoïte se divise, formant en une à trois semaine(s) un schizonte mature. A maturité, le schizonte hépatique (encore appelé corps bleu) éclate, libérant des mérozoïtes, formes uninucléées qui initieront la phase érythrocytaire [47].

2.2 Phase sanguine

Les mérozoïtes envahissent les globules rouges et arrivent à maturité en se transformant d'abord en trophozoïtes, puis en schizontes dans les 48 heures (*P. falciparum*) ou dans les 72 heures (*P. malariae*). Les globules rouges infectés finissent par éclater en libérant un grand nombre de mérozoïtes qui, à leur tour, envahissent de nouveaux globules rouges et commencent de nouveaux cycles de développement et de reproduction. Les symptômes du paludisme (fièvre, frissons, endolorissements et douleurs) se produisent lorsque le globule rouge infecté par le schizonte éclate [47].

La schizogonie érythrocytaire suit un cycle, caractéristique de chacun des plasmodiums pathogènes pour l'homme, avec pour chaque espèce, une durée constante pour le cycle érythrocytaire et un nombre déterminé de mérozoïtes produits par chaque schizonte (12 à 16 pour *Plasmodium malariae*). La prédilection de *P. vivax* pour les réticulocytes ou de *P. malariae* pour les globules rouges âgés joue à l'avantage de l'hôte puisqu'elle limite, dans une grande mesure, la parasitémie. Au contraire, *Plasmodium falciparum* envahit les hématies quelque soit leur âge, déterminant ainsi une charge parasitaire importante, plus pathogène pour l'homme [47].

2.3 Amorce du cycle sexué ou sporogonique

Après plusieurs cycles asexués schizogoniques, certains trophozoïtes se différencient en éléments sexuels, les gamétocytes mâles et femelles, uninucléés, qui permettront la poursuite du cycle chez le moustique. Après la maturation et la multiplication, les sporozoïtes migrent vers les glandes salivaires du moustique et sont alors prêts à être injectés lors d'un repas sanguin ultérieur [47].

**3 . REPONSE IMMUNE DE
L'HÔTE DIRIGÉE CONTRE
LE PARASITE**

Les différentes formes du parasite (sporozoïtes, mérozoïtes, gamètes et trophozoïtes) sont morphologiquement, fonctionnellement et antigéniquement différentes et de ce fait, l'immunité développée contre les différents stades est spécifique de chaque étape [11].

Nous présenterons les principaux mécanismes immunitaires développés par l'hôte contre le parasite au cours de son cycle de développement.

3.1 Opsonisation du sporozoïte

La phagocytose est connue comme un important moyen de défense de l'infection plasmodiale depuis plus d'un siècle. A la fin du 19e siècle, GOLGI, METCHNIKOFF, MARCHIAFAVA et CELLI ont décrit les macrophages comme des cellules ingérant activement les pigments malariques et d'autres débris du parasite [9,50,76].

Les observations ultérieures sur la phagocytose ont conduit à postuler que l'opsonisation (processus facilitant la phagocytose par dépôt d'anticorps ou d'opsonines sur le parasite) est un moyen important de défense contre le parasite du paludisme [8,30].

3.2 Blocage de l'invasion des hépatocytes

Quand les sporozoïtes ont échappé à la phagocytose, ils envahissent les hépatocytes. Le mécanisme par lequel les sporozoïtes atteignent les hépatocytes n'est pas bien connu. Le processus d'invasion des hépatocytes peut être retardé ou bloqué sous l'effet des anticorps malariques [84]. Des études récentes ont montré que les anticorps anti-TRAP inhibent l'invasion des hépatocytes [54,69].

3.3 Réponse à médiation cellulaire contre les formes exo-érythrocytaires.

Des études sur le modèle animal ont montré que juste après l'invasion de l'hépatocyte, de nombreux sporozoïtes meurent en libérant des antigènes (surtout la protéine CS) dans le cytoplasme des hépatocytes.

Les molécules d'antigènes sont réduites en peptides qui s'associent aux molécules HLA de classe I [11], puis sont transportées à la surface des hépatocytes. C'est la combinaison de peptides antigéniques et de la molécule HLA qui est reconnue par des récepteurs de la surface de lymphocytes T (CD8+) et qui stimule les lymphocytes B qui produisent l'anticorps spécifique [11]. L'immunité à médiation cellulaire englobe aussi la libération de substances cytolytiques ou de cytokines (interféron gamma, interleukine-1, interleukine-6 et les facteurs de nécrose des tumeurs). Les cytokines stimulent la production de métabolites parasitocides dans les hépatocytes infectés, tels que les radicaux d'oxygène et le monoxyde d'azote (NO) [13]. Les cytokines ont montré un effet inhibiteur sur le développement des parasites exo-érythrocytaires [50].

3.4 Opsonisation des mérozoïtes

Les mérozoïtes libérés par les hépatocytes vont infecter les globules rouges (GR). La multiplication asexuée (schizogonie) aboutit à la libération de nouveaux mérozoïtes et d'antigènes [49]. La liaison des anticorps malariques sur les globules rouges (GR) infectés augmente leur sensibilité aux macrophages qui sont munis de récepteurs pour la partie Fc de l'IgG (anticorps opsonisants). Le système réticulo-endothélial (surtout la rate) et l'ensemble des macrophages éliminent la plupart des GR infectés et des mérozoïtes libres par le moyen de la phagocytose et de l'opsonisation [24,40].

3.5 Blocage de l'invasion des globules rouges par les mérozoïtes

Les observations *in vitro* ont montré que les anticorps bloquent l'adhésion des mérozoïtes libres aux globules rouges, par conséquent empêchent leur invasion ultérieure par *Plasmodium falciparum* [40].

3.6 Effet des médiateurs solubles sur le parasite intracellulaire

La rupture des GR infectés entraîne la libération des substances antigéniques. Celles-ci peuvent stimuler les lymphocytes T à produire des cytokines dont le TNF. Cette cytokine peut activer les macrophages à phagocyter les GR et à produire des métabolites parasitocides comme le monoxyde d'azote (NO). D'autres cytokines peuvent stimuler les lymphocytes B à produire des anticorps spécifiques, dont certains favorisent la phagocytose par opsonisation, d'autres bloquent l'infection des GR par les parasites [41].

3.7 Action du complément

La diminution du niveau du complément dans le sérum des paludéens est connue depuis des années [63]. En Afrique de l'Ouest, les enfants souffrant de paludisme à *P. falciparum*, présentent un faible taux de C3 [1]. On estime que les complexes immuns activent le complément qui se fixe à la surface des parasites et entraînent leur lyse.

3.8 Opsonisation des globules rouges parasités

Les expérimentations sur le modèle animal ont montré que la rate est un important site de la phagocytose et de production des anticorps dans l'infection plasmodiale [64,77,86]. Il paraît que la phagocytose et l'hypertrophie splénique concomitante entraînent l'élimination des parasites et des débris des globules rouges de la circulation sanguine [86]. L'érythrophagocytose peut être initiée par la destruction de la membrane des globules rouges, par des constituants du parasite, par des immuns complexes ou par la réaction du complément.

3.9 Effet des anticorps anti-gamétocytes

Les anticorps dirigés contre les antigènes de la surface du gamétocyte ingérés par le moustique peuvent empêcher sa fertilisation et son développement [65].

La liste des mécanismes n'est pas exhaustive, mais donne une idée de la complexité de la réponse immunitaire antipaludique.

4 . PROTEINE
CIRCUMSPOROZOITIQUE
DE P. FALCIPARUM

Elle constitue la majeure partie de l'enveloppe de surface de plasmodium. Son gène et sa structure complète ont été identifiés sur le plasmodium du singe en 1983, puis sur *P. falciparum* en 1984 [11].

Toutes les protéines CS des plasmodiums, quelle que soit l'espèce, ont une structure répétitive particulière. Chez *P. falciparum*, l'épitope (site de liaison avec l'anticorps) dominant est constitué par la répétition en trois exemplaires du tétrapeptide NANP ou (Asparagine-Alanine-Asparagine-Proline). La protéine CS s'exprime sur les sporozoïtes et dans les globules rouges infectés. Elle représente 10 à 30% du produit protéique total du parasite [11].

Les sporozoïtes trouvés dans l'estomac du moustique et qui ont peu ou pas de protéine CS ne sont pas infestants. Le peptide (NANP)₃ apparaît comme l'épitope cellulaire B immunodominant de la protéine CS.

Son rôle dans l'immunité protectrice du paludisme a été démontré chez les rongeurs (souris, lapins) et sa séquence (NANP)₃ est utilisée dans la mise au point de vaccins recombinants synthétiques [9,32].

La prévalence des anticorps anti-(NANP)₃ est couramment utilisée comme un outil de mesure des niveaux de la transmission du paludisme [26,71].

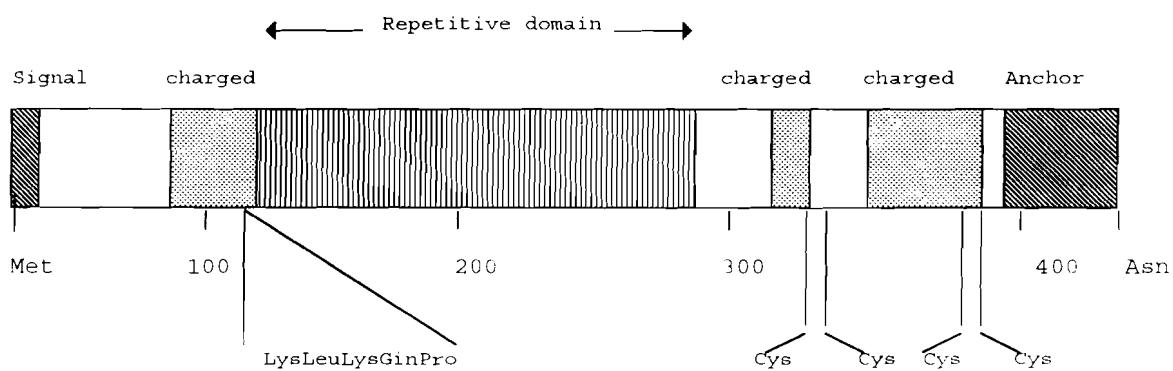


Figure 2 : Structure moléculaire de la protéine CS de *P. falciparum*
(selon NUSSENZWEIG V , NUSSENZWEIG RS, 1989, [58])

DEUXIEME PARTIE :

NOTRE ETUDE

1 . ENONCE DU PROBLEME

Le paludisme à *Plasmodium falciparum* tue plus de 2 millions de personnes en Afrique par an. Ces décès frappent surtout les enfants de 6 mois à 5 ans [53,83]. Le grand drame du paludisme est constitué par les accès graves ; le taux de mortalité à l'hôpital pour le paludisme grave chez l'enfant africain est de 10 à 30 % [16,29].

Au Burkina Faso, la situation du paludisme est préoccupante comme dans la plupart des pays tropicaux. Ainsi la maladie constitue :

- la première cause de morbidité avec plus d'un million et demi de cas chez les enfants de 6 mois à 5 ans [51].
- la première cause de mortalité avec 25,1 % de l'ensemble des décès dans les formations sanitaires du pays en 1992 [52]. Cette forte mortalité est surtout le fait du neuropaludisme (la forme clinique du paludisme grave la plus fréquente) chez les enfants de 6 mois à 5 ans. En effet, 66 à 76 % des cas de neuropaludisme s'observent dans cette tranche d'âge avec une mortalité hospitalière qui était de 23,3% en 1992 [52].

A Ouagadougou, le taux de létalité du paludisme pernicieux dans le service de pédiatrie du CHN-YO était de : 16,9 % en 1991 et de 15,7% en 1992 [12].

Face à cette situation, dans les pays d'endémie à *P.falciparum*, particulièrement pour le jeune enfant, l'O.M.S. s'est fixée pour objectif depuis une décennie, la réduction de la mortalité des formes graves [85].

Actuellement, les efforts consacrés à la lutte contre les accès graves sont portés sur l'amélioration de leur prise en charge dans les services de santé (diagnostic rapide, traitement prompt, orientation de certains cas vers des services spécialisés, éducation des patients) [31]. et sur l'intensification de la recherche de base sur le paludisme grave [11].

Mais les efforts d'amélioration de la prise en charge des cas restent décevants [59,61] ; l'arsenal thérapeutique demeure limité et bien souvent les médicaments

sont très coûteux pour les populations. Même avec les meilleurs soins disponibles, le taux de mortalité à l'hôpital avoisinerait toujours 20% [42,83].

Il est donc apparu nécessaire de développer de nouveaux moyens de lutte et la recherche sur le vaccin antipaludique occupe une place prépondérante dans la stratégie future du contrôle de la maladie. Depuis quelques années une voie de recherche a été abordée, celle du rôle de l'immunité dans la prévention des accès sévères [11,81]. Elle a permis la découverte d'un antigène plasmodial particulier (la TRAP) qui induirait la production d'anticorps protecteurs contre les accès sévères [21] et serait donc un candidat sérieux au vaccin antipaludique [75].

Nous avons entrepris une étude dans des formations sanitaires de la ville de Ouagadougou pour analyser la réponse immunitaire humorale des enfants atteints de paludisme contre cet antigène et apporter notre contribution à la connaissance du rôle des anticorps anti-TRAP dans la limitation de la gravité de l'infection paludéenne .

2 . OBJECTIFS

2.1 Objectif général

Evaluer le rôle de la réponse immunitaire humorale anti-TRAP dans le paludisme de l'enfant à Ouagadougou, en période de haute transmission palustre (Août-Novembre).

2.2 Objectifs spécifiques

- 1° Recruter les enfants de 6 mois à 15 ans atteints de paludisme dans deux formations sanitaires périphériques et dans le service de la pédiatrie du CHN-YO pendant les deux saisons de haute transmission palustre de 1993 et 1994 (Août - Novembre).
- 2° Comparer la séroprévalence anti-TRAP des enfants atteints de paludisme grave avec celle des enfants atteints de paludisme simple en période de haute transmission palustre (Août - Novembre de 1993 et de 1994).
- 3° Décrire les modalités évolutives en fonction de la séroprévalence anti-TRAP chez les cas de paludisme grave hospitalisés dans le service de pédiatrie du CHN-YO.

3 . METHODOLOGIE

3.1 CADRE DE L'ETUDE

3.1.1 Centre Hospitalier National Yalgado Ouédraogo: CHN-YO

Fonctionnel depuis maintenant 35 ans, le CHN-YO est l'hôpital de référence de la province du Kadiogo et des provinces voisines. Il a pour vocation de prodiguer des soins de niveau le plus élevé pour l'ensemble du pays. Il bénéficie d'une autonomie de gestion depuis le 1^{er} janvier 1991. Situé au centre de la ville de Ouagadougou, à proximité du Bois de Boulogne, il comporte 23 services dont la pédiatrie et le laboratoire qui ont servi de cadre pour notre travail.

a) Service de pédiatrie.

Il reçoit les patients de 0 à 15 ans. Les modalités d'accès dans le service sont : l'admission directe et la référence des cas graves. La pédiatrie dispose de 158 lits et se compose de 9 unités dont les deux principales sont : la pédiatrie I ou Urgences pédiatriques et la pédiatrie II.

L'équipe médicale qui est sous la direction d'un professeur agrégé est composée de sept (7) médecins.

Le personnel paramédical comprend 37 personnes, le personnel de soutien 7 personnes.

L'effectif total est de 52 personnes.

b) Service de laboratoire.

Il est dirigé par un professeur titulaire. Il comporte trois (3) sections : anatomie pathologique ; biochimie et la biologie. La biologie se subdivise en : bactériologie, hématologie, sérologie, parasitologie - mycologie.

3.1.2 L'étude s'est faite avec la collaboration :

- a) du Centre National de Lutte contre le Paludisme (CNLP).
- b) de l'Institut de Parasitologie de l'Université la "Sapienza" de ROME (Italie)
- c) de deux formations sanitaires périphériques: le Centre Médical Paul VI (CM Paul VI) et le Centre Médical (CM Saint Camille).

- CM Paul VI

Situé au nord de la ville de Ouagadougou, au secteur 22 à cheval entre la ville et la campagne, il a été ouvert le 06 mai 1985. C'est un établissement sans but lucratif relevant de l'archidiocèse de Ouagadougou, le ministère de la santé qui y envoie des agents.

Nous avons recruté les malades de notre étude au dispensaire (qui reçoit 250 malades en moyenne par jour) et à la SMI (qui reçoit 150 malades en moyenne par jour).

Le personnel soignant du centre médical comptait 4 médecins, 13 infirmier(e)s, 9 sages-femmes. 6 accoucheuses auxiliaires et 10 aide soignant(e)s.

- Centre médical Saint-Camille

C'est aussi une formation sanitaire dirigée par des religieux Camilliens italiens. Il a été créé en 1965 et a un but non lucratif. Le centre médical est essentiellement sous la charge de la mission catholique; le ministère de la santé y affecte des agents.

Nous avons recruté les malades au dispensaire et à la SMI qui reçoivent environ 450 malades par jour.

Le personnel soignant du centre médical comptait 1 médecin, 10 infirmier(e)s, 5 sages-femmes, 11 accoucheuses auxiliaires et 6 aide-soignant(e)s.

Le CHN-YO est le centre de référence de ces centres médicaux.

3. 2 TYPE D'ETUDE ET METHODE D'ÉCHANTILLONNAGE

Nous avons mené une étude transversale cas-témoins sur deux saisons de haute transmission palustre (Août-Novembre de 1993 et de 1994). Le recrutement des cas (paludisme grave) et d'une partie des témoins (paludisme simple) a eu lieu aux urgences pédiatriques du CHN-YO. La plupart des témoins a été recrutée dans les dispensaires et SMI des centres médicaux Paul VI et Saint-Camille. La technique de l'échantillonnage accidentel a été retenue.

3.2.1 Critères d'inclusion

La tranche d'âge concernée a été celle de 6 mois à 15 ans

3.2.1.1 Définition du cas.

Étaient considérés comme cas, les enfants atteints de paludisme grave. Pour la définition du paludisme grave, nous avons utilisé les critères de gravité de Molyneux-Glasgow adoptés par l'O.M.S:

l'observation d'une ou plusieurs des manifestations suivantes associées à une parasitémie positive à *Plasmodium falciparum* (forme asexuée) a fait porter le diagnostic de paludisme grave [70].

- Coma irréductible de plus de 30 minutes (sans autre cause)
- Convulsions généralisées et répétées
- Anémie sévère (taux d'hémoglobine inférieur à 5 g/dl)
- Insuffisance rénale aiguë (diurèse < 12 ml/kg/24h chez l'enfant, créatinémie > 265 µmol/litre)
- Oedème aigu des poumons (OAP) ou Détresse respiratoire (DR)
- Hypoglycémie sévère (glycémie < 0,40 g/dl)
- Collapsus cardio-vasculaire ou état de choc (pression artérielle systolique < 50 mmHg chez l'enfant de 1 à 5 ans ou inférieur à 70 mmHg chez l'adulte)
- Hémorragie spontanée et prolongée
- Prostration

3.2.1.2 Définition du témoin.

Etaient considérés comme témoins, les enfants atteints de paludisme simple c'est à dire présentant une température axillaire $\geq 38^{\circ}\text{C}$ avec une goutte épaisse positive à *Plasmodium falciparum*.

3.2.2 Critères d'exclusion

Certains enfants malades ont été d'emblée écartés de l'étude :

- ceux qui avaient des causes évidentes de fièvre (abcès, infections respiratoires aiguës, infections O.R.L, rougeole et méningite).
- ceux qui avaient un tableau clinique évocateur de paludisme grave mais dont la goutte épaisse était négative.

3.2.3 Définitions opérationnelles

Nous avons adopté les définitions opérationnelles suivantes :

- a) Prostration : état de faiblesse où l'enfant est incapable de s'asseoir ou de se tenir debout seul, sans cause neurologique apparente.
- b) OAP : présence d'au moins deux des signes suivants :
 - * râles crépitants bilatéraux
 - * expectoration mousseuse et saumonée
 - * présence d'images radiologiques évocatrices
- c) Détresse respiratoire : présence de l'un des signes suivants :
 - * fréquence respiratoire supérieure à 50 cycles/mn chez les enfants de 6 mois à 1 an, ou supérieure à 40 cycles/mn au delà d'un an.
 - * signes de lutte respiratoire (tirage, battement des ailes du nez)
- e) coma : l'appréciation du niveau de conscience a été faite en utilisant les scores de l'échelle de Glasgow adapté aux jeunes enfants par TEASDALE & JENNETT (confère annexe 1). Les enfants présentant un score de Glasgow allant de 0 à 2 ont été considérés comme comateux.

3. 3 COLLECTE DES DONNEES DANS LE SERVICE DE PEDIATRIE DU CHN-YO ET DANS LES CENTRES MEDICAUX

Pour chaque patient répondant aux critères d'inclusion précédemment énoncés, la démarche de recrutement suivante a été adoptée :

1° Information des accompagnants sur les objectifs de l'étude et obtention de leur consentement oral pour l'inclusion du malade dans l'étude.

2° Interrogatoire de l'accompagnant à la recherche d'informations suivantes : identité, âge, secteur ou village de provenance et histoire de la maladie.

3° Examen physique de l'enfant pour:

- apprécier l'état général
- mesurer les constantes : température, poids, parfois la tension artérielle
- procéder à l'examen des différents appareils en recherchant surtout des signes de gravité ou des signes d'autres causes de fièvre pour les témoins.

4° Examens paracliniques

Les gouttes épaisses ont été réalisées et lues sur place.

Un prélèvement sanguin de 5 ml était effectué sur chaque malade recruté pour faire les examens hématologiques, biochimiques et immunologiques.

La détermination de l'espèce plasmodiale et l'évaluation de la densité parasitaire de toutes les lames collectées ont été réalisées dans le laboratoire du CNLP.

Les dosages de la glycémie, de la créatinémie, des taux d'hémoglobine et la réalisation des numérations formule sanguine de tous les échantillons sanguins prélevés furent réalisés par le laboratoire du CHN-YO.

Les données de l'interrogatoire, de l'examen physique, les résultats parasitologiques et l'évolution étaient ensuite consignés sur les fiches d'enquête des patients (confère annexe 2).

Le dosage des anticorps a été réalisé pour les échantillons de 1993 dans le laboratoire d'immunologie du CNLP et pour ceux de 1994 dans le laboratoire d'immunologie de l'Institut de Parasitologie de l'Université la "Sapienza" de Rome.

3.4. TECHNIQUES DE LABORATOIRE

3.4.1 Pour l'examen parasitologique, nous avons effectué une goutte épaisse et un frottis mince colorés au Giemsa 5% pendant 30 minutes. Le diagnostic d'espèce plasmodiale a été effectué sur le frottis mince.

Les densités parasitaires, exprimées en nombre d'hématies parasitées par microlitre de sang ont été calculées à partir de la lecture des gouttes épaisses selon la méthode suivante : le nombre de parasites par microlitre de sang dans une goutte épaisse est établi par rapport au nombre de leucocytes, fixé à 8000 par microlitre. Nous avons utilisé deux compteurs manuels, un pour les parasites et l'autre pour les leucocytes.

a) Quand, après avoir compté 200 leucocytes, nous avons rencontré et identifié 10 parasites ou plus, nous avons noté le nombre de parasites pour 200 leucocytes.

b) Quand, après avoir compté 200 leucocytes, nous avons rencontré 9 parasites ou moins, nous avons continué jusqu'à atteindre 500 leucocytes. Puis nous avons noté le nombre de parasites pour les 500 leucocytes.

Dans les deux cas, le nombre de parasites par microlitre de sang a été obtenu grâce à la formule mathématique suivante :

$$DP = \frac{\text{Nombre de parasites} \times 8000}{\text{Nombre de leucocytes}} \quad (\text{parasites/microlitre})$$

Cela revenait à multiplier le nombre de parasites par 40 quand nous avons compté 200 leucocytes, et à multiplier par 16 quand nous avons compté 500 leucocytes.

Les lames dont la goutte épaisse était défectueuse ont été examinées seulement au niveau du frottis mince et la densité parasitaire calculée à partir du frottis. En estimant à 400 le nombre d'hématies par champ microscopique et à 4 000 000 le nombre d'hématies par microlitre de sang, l'expression de la DP a été la suivante :

$$DP = \frac{\text{Nombre de globules parasités} \times 4\,000\,000}{\text{Nombre de champs examinés} \times 400}$$

3.4.2 Pour le dosage de la glycémie et de la créatinémie, nous avons utilisé un Coulter CPA-LS avec respectivement les KIT Glucose enzymatiques PAP 1200 (Bio-Mérieux code 61273) et les kit Créat Cinétique (Bio-Mérieux code 61162).

3.4.3. Les hémogrammes ont été effectués au Coulter T 540 Plus Hemo.

3.4.4 Immunologie: les dosages des anticorps anti-TRAP et anti-protéine CS de *Plasmodium falciparum* ont été faits par la technique ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay) à partir des sérums prélevés. Le principe de cette méthode consiste à faire réagir l'antigène plasmodial fixé sur des plaques de microtitration avec les sérums des malades. La présence d'anticorps anti-plasmodium dans le sérum est mise en évidence par une réaction colorée en présence du conjugué enzymatique (phosphatase alcaline, anti-immunoglobuline humaine) et de son substrat.

La quantité d'anticorps est proportionnelle à la densité optique (DO), elle-même proportionnelle à l'intensité de la réaction colorée.

NB: nous avons dosé les anticorps anti-protéine CS pour détecter une éventuelle différence de niveau de transmission du paludisme entre les groupes de malades comparés dans notre étude.

Principe de dosage des anticorps:

La procédure comportait une phase préparatoire et une phase opératoire.

Phase préparatoire

Elle a consisté en la préparation des solutions et des plaques de microtitration.

Préparation des solutions tampons

- Tampon carbonate: 100mM Na_2CO_3 pH = 8,4

- Solution 10 fois concentrée de PBS (10 X PBS):

NaCl.....400g

KCl.....10g

KH_2PO_410g

$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$145g

qsp.....5 litres de H_2O

ajuster le pH à l'aide d'une solution diluée d'acide(HCl ou CH_3COOH)

- Solution de blocage ("Blocking buffer"): BSA 1% dans du 2 X PBS.

- Solution de lavage ("Washing buffer"): 2 X PBS + 0,05% de Tween 20.

- Tampon diéthanamine: Diéthanamine buffer pH = 9,8

(48 ml de diéthanamine + 24,5 mg $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ + qsp 500ml de H_2O ; puis ajuster le pH à l'aide d'une solution diluée d'acide).

- Substrat: 5 mg/ml de 4 nitro-phényl-phosphate disodique dans la solution tampon de diéthanolamine, à préparer juste avant de s'en servir.

- Solution d'arrêt (Stop): EDTA 500 mM pH = 8; ajuster le pH à l'aide de pastilles de NaOH.

2° Phase opératoire

Elle comportait les étapes suivantes :

A) Sensibilisation des plaques (coating)

Diluer l'antigène TRAP (ou la protéine CS) à la concentration de 5µg/ml avec le tampon carbonate pour sensibiliser ("coating") la plaque; répartir 50µl par puits de la solution de coating et laisser incuber une nuit à 4°C ("overnight"); laver 10 fois chaque puits avec la solution de lavage; répartir 100 µl par puits de blocking buffer; l'incubation dure 2 heures à 37°C; laver 10 fois.

B) Première réaction immunologique

Répartir 50µl par puits du sérum à tester dilué au 1/200 avec du 2 X PBS , 1% BSA, 0,1% Tween; incuber pendant 1 heure en chambre humide à température ambiante; laver 10 fois comme en A). Les sérums ont été testés en double.

C) Deuxième réaction immunologique

Mettre dans chaque puits 50µl du 2ème anticorps marqué à la phosphatase alcaline (antiglobuline anti-humaine-PA) dilué au 1/5000 avec 2 X PBS; incuber pendant 1 heure de temps en chambre humide à température ambiante; laver 10 fois comme en A).

D) Réaction de coloration

Répartir 50µl par puits de la solution de substrat. Arrêter la réaction après 15 mn avec 50µl de solution stop.

E) Lecture: au spectrophotomètre à la longueur d'onde de 405 nm.

NB: au laboratoire, les puits n'étaient jamais séchés à partir du moment où la manipulation avait débuté.

Détermination des seuils de séropositivité des différents anticorps testés: Les seuils de séropositivité aux différents antigènes ont été déterminés à partir de la moyenne d'absorbance d'une vingtaine de sérums italiens négatifs plus 3 écart-types.

Tableau I: seuils de séropositivité des différents anticorps testés.

Antigènes	Absorbances				
	Minimales	Maximales	Moyennes	Ecart-types	Seuils
TRAP	0,014	0,161	0,07	0,04	0,19
Protéine CS	0,006	0,046	0,02	0,01	0,05

3.5. TRAITEMENT DES PATIENTS DE L'ETUDE

3.5.1. Cas

La prise en charge thérapeutique des patients hospitalisés au CHN-YO a été gratuite et faite conformément au schéma standard de l'OMS :

a) le traitement étiologique a utilisé la quinine :

- 20 mg de sels de quinine par kilogramme de poids passés en 4 heures de perfusion dans du sérum glucosé isotonique : c'est la dose de charge si le malade n'avait pas reçu de quinine dans les 24 dernières heures.
- Puis une dose d'entretien qui a consisté à administrer 10 mg de sels de quinine/kg de poids corporel passés en 4 heures de perfusion, répétée toutes les 8 heures.
- Relais par la voie orale dès que possible avec la chloroquine à la dose de 10 mg/kg par jour pendant 3 jours.

b) les traitements symptomatiques

- Antipyrétique: paracétamol injectable (15mg/kg) toutes les 8 heures si la température était supérieure ou égale à 39 °C.
- Transfusion sanguine: pour correction de l'anémie sévère
- Anticonvulsivants : diazépam ou phénobarbital
- Réhydratation et correction des troubles ioniques : NaCl, KCl, Ca²⁺

3.5.2 Témoins

Ils recevaient gratuitement le traitement complet à titre ambulatoire avec la chloroquine en comprimés de 100 mg à raison de 25 mg/kg répartis en 3 jours et de l'acide acétyl salicylique comprimés de 500 mg à raison de 15 mg/kg toutes les 8 heures.

3.6 ANALYSE DES DONNEES.

⇒ L'ensemble des données a été ensuite saisi sur micro ordinateur et analysé avec le logiciel EPI-INFO version 5.1.

Les tests statistiques utilisés étaient :

- le test de chi carré (χ^2) de PEARSON et le test de FISHER (pour les valeurs inférieures à 5) pour la comparaison des prévalences.

- le test t de Student pour la comparaison des variables numériques continues.

La valeur de $p \leq 0,05$ a été adoptée comme seuil de significativité pour les différents tests statistiques.

⇒ Pour déterminer si oui ou non les anticorps anti-TRAP protégeaient contre la survenue du paludisme grave par rapport à une variable, nous comparions la séroprévalence anti-TRAP des témoins avec celle des cas.

* Si la prévalence des anticorps anti-TRAP chez les témoins était significativement supérieure à celle des cas, nous avons conclu que les anticorps anti-TRAP protégeaient contre la survenue du paludisme grave pour la variable étudiée.

* Si la prévalence des anticorps anti-TRAP chez les cas était significativement supérieure à celle des témoins, ou s'il n'y avait pas de différence significative entre la séroprévalence anti-TRAP des témoins et celle des cas, nous avons conclu que les anticorps anti-TRAP ne protégeaient pas contre la survenue du paludisme grave pour la variable étudiée.

⇒ La provenance a été subdivisée en deux zones:

★ la zone urbaine constituée par les 30 secteurs de Ouagadougou

★ la zone rurale constituée par les villages autour de la ville.

4 . RESULTATS

4.1 CARACTÉRISTIQUES GÉNÉRALES DE L'ECHANTILLON.

4.1.1 Fréquences globales

Durant les deux saisons de haute transmission palustre 1993-1994, nous avons recruté 1626 enfants atteints de paludisme dont 734 cas (paludisme grave) soit 45,1% et 892 témoins (paludisme simple) soit 54,9%. 95,6% des cas et 23,4 % des témoins ont été recrutés au CHN-YO. 67,9% des témoins ont été recrutés à Paul VI. 8,7% des témoins ont été recrutés à Saint-Camille.

4.1.2 Répartition des malades selon le mois

Pendant les mois de l'étude, les malades ont été recrutés dans les proportions qu'indique le tableau II.

Tableau II: Répartition des malades selon le mois

Mois	Cas		Témoins		Total (%)
	n	%	n	%	
Août	108	14,7	110	12,3	218 (13,4%)
Septembre	227	30,9	331	37,1	558 (34,3%)
Octobre	305	41,6	345	38,6	650 (40%)
Novembre	94	12,8	106	12,0	200 (12,3%)
Total	734	100	892	100	1626

Nous avons recruté le maximum de malades en octobre (40%) et en septembre (34,3%).

4.1.3 Répartition des malades selon le sexe

On notait une prédominance masculine dans les deux groupes : (54,9%) chez les cas et (56,5%) chez les témoins. Dans l'échantillon global, le sexe masculin représentait 55,8% et le sexe féminin 44,2%.

Le sexe ratio était de 1,2 ; mais la prédominance masculine n'était pas statistiquement significative ni chez les cas, ni chez les témoins ($\chi^2 = 0,4$ $p = 0,5$).

4.1.4 Provenance des patients

La répartition des malades selon la provenance est indiquée dans la figure 3.

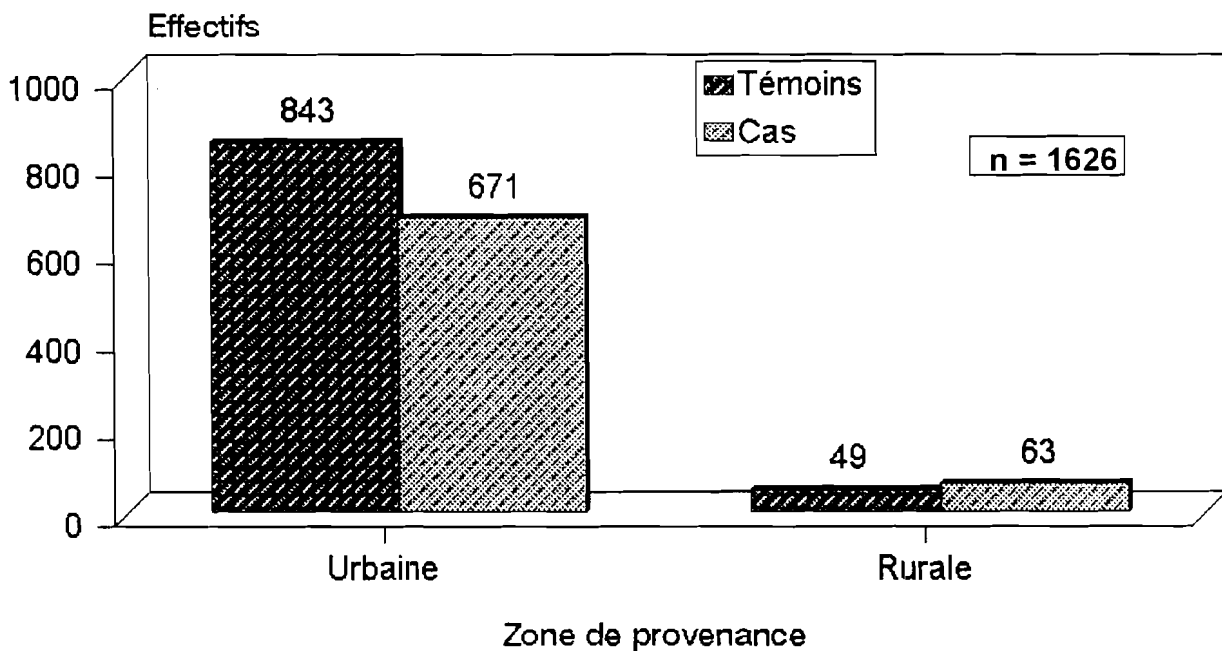


Figure 3: Répartition des malades selon la provenance.

91,4% des cas et 94,5% des témoins provenaient de la zone urbaine (les 30 secteurs de Ouagadougou) contre 8,6% des cas et 5,5% des témoins pour la zone rurale.

Des 112 malades de la zone rurale, nous avons enregistré 72 évacuations des provinces voisines soit 4,4% de l'ensemble des malades.

4.1.5 Répartition des malades selon l'âge

La répartition des malades selon 4 tranches d'âge est représentée dans la figure 4. Les cas étaient plus nombreux dans la tranche d'âge 2-4 ans. Les témoins étaient plus nombreux dans les tranches d'âge 0-2 et 2-4 ans. Ensuite le nombre de malades décroissait avec l'âge.

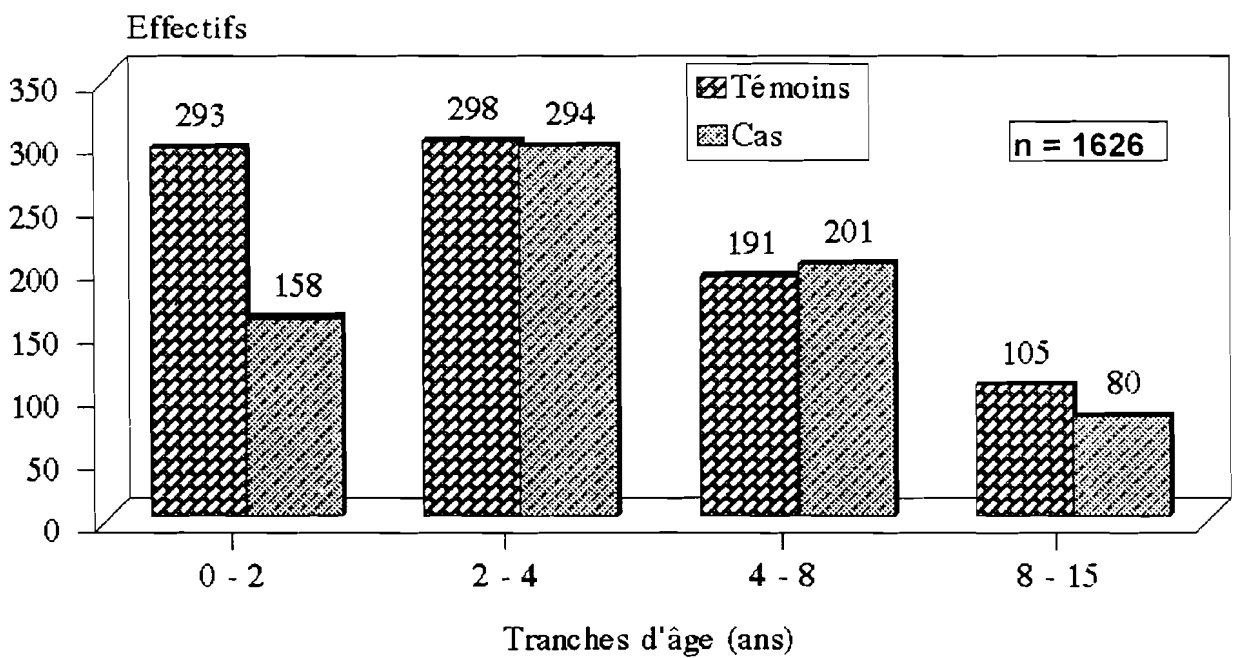


Figure 4: Répartition des malades selon les tranches d'âge.

L'âge moyen (\pm écart-type) des cas était de 4,6 (\pm 3) ans. Celui des témoins était de 4,2 (\pm 3,2) ans. Dans les deux groupes, la différence d'âge moyen était statistiquement significative ($\chi^2 = 16$ $p < 10^{-5}$).

4.2 RÉSULTATS CLINIQUES ET BIOLOGIQUES.

4.2.1 Antécédents

4.2.1.1 *Antécédents de consultation.*

15,3% des patients avaient consulté la semaine qui a précédé leur recrutement.

Les cas étaient plus nombreux à être amenés en consultation la semaine précédente (21,7%) que les témoins (10,3%) . La différence était statistiquement significative ($\chi^2 = 41,5$ $p < 10^{-8}$).

4.2.1.2 *Antécédents de traitement.*

51% des patients avaient reçu un traitement antipaludique la semaine qui a précédé leur recrutement dont 42,6% de cas et 57,4% de témoins. La différence était statistiquement significative ($\chi^2 = 4,2$ $p = 4.10^{-2}$).

La chloroquine était le médicament le plus utilisé avec des taux d'utilisation de 57,8% pour les cas et 38,1% pour les témoins. Ensuite c' était la quinine avec des taux d'utilisation de 37,5% pour les cas et 19,9% pour les témoins.

4.2.2 Prophylaxie

4.2.2.1 *Chimioprophylaxie*

Soixante quatre (soit 3,9%) patients étaient sous chimioprophylaxie , dont 28 cas (3,8%) et 36 témoins (4%).

La différence entre cas et témoins n'était pas statistiquement significative ($\chi^2 = 0,05$ $p = 0,8$).

La chloroquine était le principal médicament de prévention: le taux d'utilisation était de 100 % chez les cas et 93,8 % chez les témoins.

4.2.2.2 *Utilisation de moustiquaires*

Cent vingt quatre patients (soit 7,7%) dormaient sous moustiquaire. Toutes les moustiquaires étaient non imprégnées.

La différence de taux d'utilisation entre cas (5,5%) et témoins (9,5%) était statistiquement significative ($\chi^2 = 9,2$ $p = 2.10^{-3}$).

4.2.3 Profil clinique

4.2.3.1 Température

La température moyenne chez les cas était de $38,6 \pm 3,3^{\circ}\text{C}$ avec des extrêmes de 36°C et 42°C .

La température moyenne chez les témoins était de $39,1 \pm 0,9^{\circ}\text{C}$ avec des extrêmes de 38°C et 42°C .

4.2.3.2 Prévalence des signes de gravité chez les cas

La prévalence des signes de gravité du paludisme à l'admission des cas est donnée dans le tableau III.

Tableau III: Prévalence des signes de gravité chez les cas.

Symptômes	n (734)	%
Coma	366	49,9
Prostration	293	40,0
Convulsion	183	24,9
Anémie sévère	150	21,7
Hypoglycémie	54	7,4
OAP/DR	35	4,8
Hémorragie spont.	11	1,5
Insuffisance rénale	0	0

Le neuropaludisme (coma, prostration et convulsion) et l'anémie sévère étaient les formes graves les plus fréquentes.

4.2.4 Résultats paracliniques

- Parasitémie:

La densité parasitaire moyenne (moyenne géométrique) chez les cas était de $10\,938 \pm 10$ parasites/ μl avec des extrêmes de 4 et 3.269.017/ μl ; celle des témoins était de 8955 ± 9 parasites / μl avec des extrêmes de 3 et 729.416/ μl .

La différence des densités moyennes était statistiquement significative (p du test t < 10^{-6})

- Hémoglobine

Le taux d'hémoglobine moyen chez les cas était de $7,4 \pm 2,8$ g/dl avec des extrêmes de 0,2 et 13 g/dl; celui des témoins était de $8,9 \pm 1,8$ g/dl avec des extrêmes de 5,1 et 14,8 g/dl.

- Glycémie

Le taux de glycémie moyen chez les cas était de $0,9 \pm 0,5$ g/dl avec des extrêmes de 0,1 et 5 g/dl; celui des témoins était de $0,8 \pm 0,5$ g/dl avec des extrêmes de 0,1 et 2,5 g/dl.

- Créatinémie

La créatinémie a été dosée chez 680 malades.

La créatinémie moyenne des cas était de $34 \pm 25,9$ $\mu\text{mol/l}$ avec des extrêmes de 4,4 et 198 $\mu\text{mol/l}$; celui des témoins était de $30,2 \pm 21,3$ $\mu\text{mol/l}$ avec des extrêmes de 0,8 et 202,5 $\mu\text{mol/l}$.

4.3 RÉSULTATS IMMUNOLOGIQUES.

4. 3.1 Réponse immunitaire humorale anti-protéine CS

4.3.1.1 Séroprévalence anti-protéine CS des malades selon la gravité du tableau clinique

La détection des anticorps anti-protéine CS dans le sérum des deux groupes de malades (cas et témoins) a donné les séroprévalences portées dans le tableau IV.

Tableau IV: Réponse immunitaire anti-protéine CS des malades.

Réponse immunitaire anti-protéine CS					
Statut clinique du patient	séropositifs		séronégatifs		Total (%)
	n	%	n	%	
Cas	278	37,9	456	62,1	734 (100%)
Témoins	323	36,2	569	63,8	899 (100%)
Total	601	37	1025	63	1626(100%)

$\chi^2 = 0,5$ $p = 0,5$

La différence de séroprévalence anti-protéine CS des cas (37,9 %) et des témoins (36,2%) n'était pas statistiquement significative comme le montre le tableau IV.

4.3.1.2 Séroprévalence anti-protéine CS des malades selon la provenance

La figure 5 indique les séroprévalences anti-protéine CS des patients selon leur provenance.

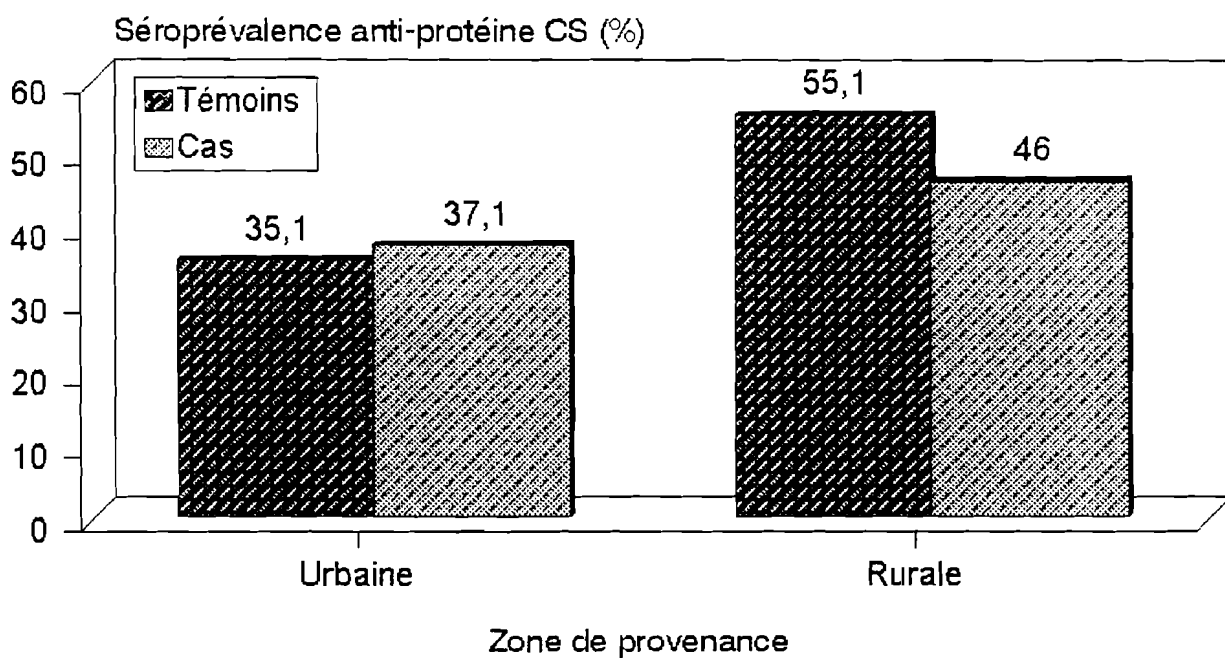


Figure 5: Séroprévalence anti-protéine CS selon la provenance.

Nous n'avons pas mis en évidence de différences significatives entre les cas et les témoins de la zone urbaine pour la séroprévalence anti-protéine CS ($\chi^2 = 0,6$ $p = 0,4$), ni en zone rurale ($\chi^2 = 0,9$ $p = 0,3$).

Par contre, la différence de séroprévalence anti-protéine CS entre la zone rurale (50 %) et la zone urbaine (36%) était statistiquement significative ($\chi^2 = 8,8$ $p = 3.10^{-3}$).

4.3.1.3 Séroprévalence anti-protéine CS des malades selon le mois de recrutement.

Les séroprévalences anti-protéine CS des malades pour les quatre mois sont présentées dans le tableau V.

Tableau V: Séroprévalence anti-protéine CS des malades selon le mois

Séroprévalence anti-protéine CS (%)						
Mois	cas	témoins	χ^2	p	RR	IC
Août	46,3	43,5	0,5	0,7	0,9	0,8 -1,2
Septembre	37,0	36,3	0,03	0,9	1,0	0,9 -1,1
Octobre	36,7	35,3	0,2	0,7	1,0	0,9 -1,1
Novembre	34,0	33,5	0,02	0,9	1,0	0,8 -1,2

Pour chaque mois de l'étude, il n'y avait pas de différence significative entre la séroprévalence anti-protéine CS des cas et celle des témoins.

4. 3. 2 Réponse immunitaire humorale anti-TRAP : comparaison des témoins et des cas

4.3.2.1 Séroprévalence anti-TRAP des malades selon la gravité du tableau clinique

La détermination de la séroprévalence anti-TRAP des témoins et de celle des cas donne les résultats du tableau VI.

Tableau VI: Réponse immunitaire anti-TRAP des malades.

Statut clinique du patient	Réponse immunitaire anti-TRAP				Total
	Séropositifs		Séronégatifs		
	n	%	n	%	
Cas	122	16,6	612	83,4	734 (100%)
Témoins	140	15,7	752	84,3	892 (100%)
Total	262	16,1	1364	83,9	1626 (100%)

$\chi^2 = 0,3$

$p = 0,6$

Nous observons dans le tableau VI que les pourcentages de positifs étaient très proches entre les deux groupes : cas (16,6 %) et témoins (15,7%).
La différence n'était pas statistiquement significative.

4.3.2.2 Titres d'anticorps anti-TRAP des témoins et des cas

Les titres moyens d'anticorps anti-TRAP chez les témoins et les cas sont présentés dans le tableau VII.

Les extrêmes des titres des anticorps anti-TRAP des cas étaient de 0,03 et 1,65

Les extrêmes des titres des anticorps anti-TRAP des témoins étaient de 0,02 et 4,81

Tableau VII: Titre moyen des anticorps anti-TRAP des témoins et des cas.

Statut clinique du patient	Titre moyen d'anticorps anti- TRAP
Cas	0,22
Témoins	0,20

La différence entre les titres moyens était à la limite de la significativité statistique (p du test t = 0,05).

4.3.2.3 Influence de l'âge sur la séroprévalence anti-TRAP des témoins et des cas

Les séroprévalences anti-TRAP des malades pour quatre tranches d'âge sont présentées dans la figure 6.

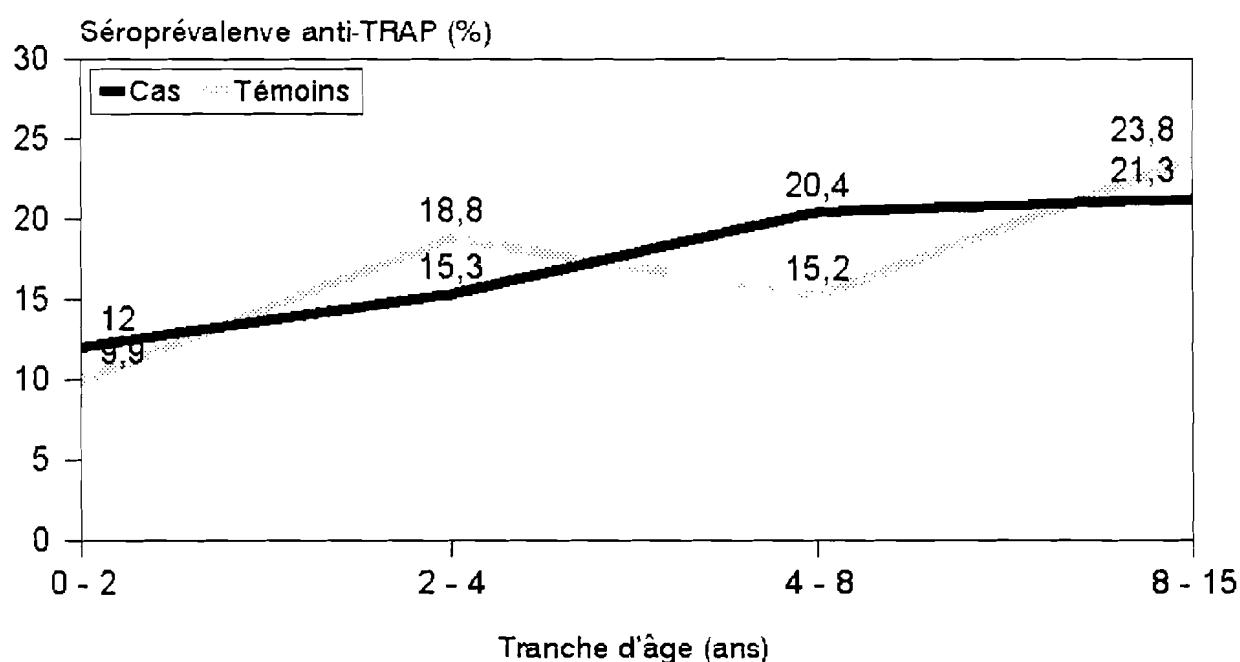


Figure 6: Séroprévalence anti-TRAP des cas et des témoins selon l'âge.

La synthèse des anticorps anti-TRAP augmentait avec l'âge des malades ; de manière non significative chez les cas ($\chi^2 = 6$ $p = 0,1$) mais de manière significative chez les témoins ($\chi^2 = 14,9$ $p = 2.10^{-3}$).

Dans toutes les tranches d'âge, il n'y avait pas de différence significative entre la séroprévalence anti-TRAP des cas et celle des témoins.

0 - 2 ans ($\chi^2 = 0,5$ $p = 0,5$)	4 - 8 ans ($\chi^2 = 1,8$ $p = 0,2$)
2 - 4 ans ($\chi^2 = 1,3$ $p = 0,3$)	8 - 15 ans ($\chi^2 = 0,2$ $p = 0,7$)

4.3.2.4 Influence de la transmission sur la séroprévalence anti-TRAP des témoins et des cas.

A) La figure 7 indique les séroprévalences anti-TRAP selon la zone de provenance.

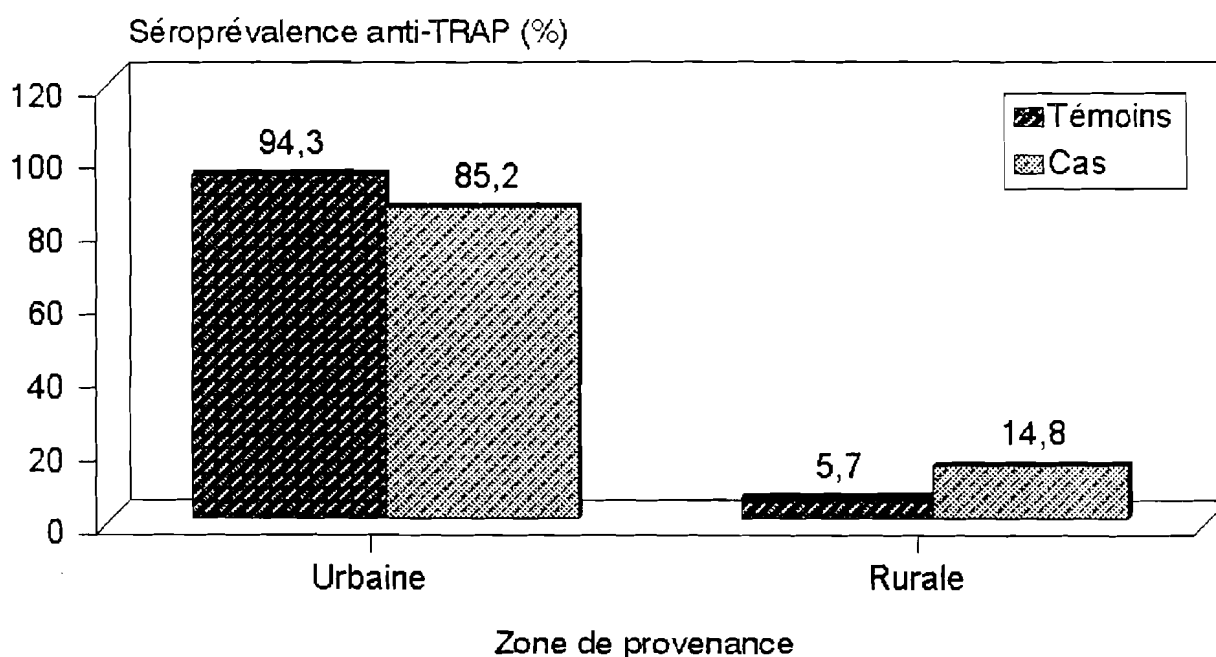


Figure 7: Séroprévalence anti-TRAP des malades selon la provenance.

A l'intérieur de chaque zone, la différence de séroprévalence anti-TRAP entre les cas et les témoins n'était pas statistiquement significative: zone urbaine ($\chi^2 = 0,01$ $P = 0,9$) et zone rurale ($\chi^2 = 2,4$ $p = 0,1$).

B) Les séroprévalences anti-TRAP selon le mois sont présentées dans la figure 8.

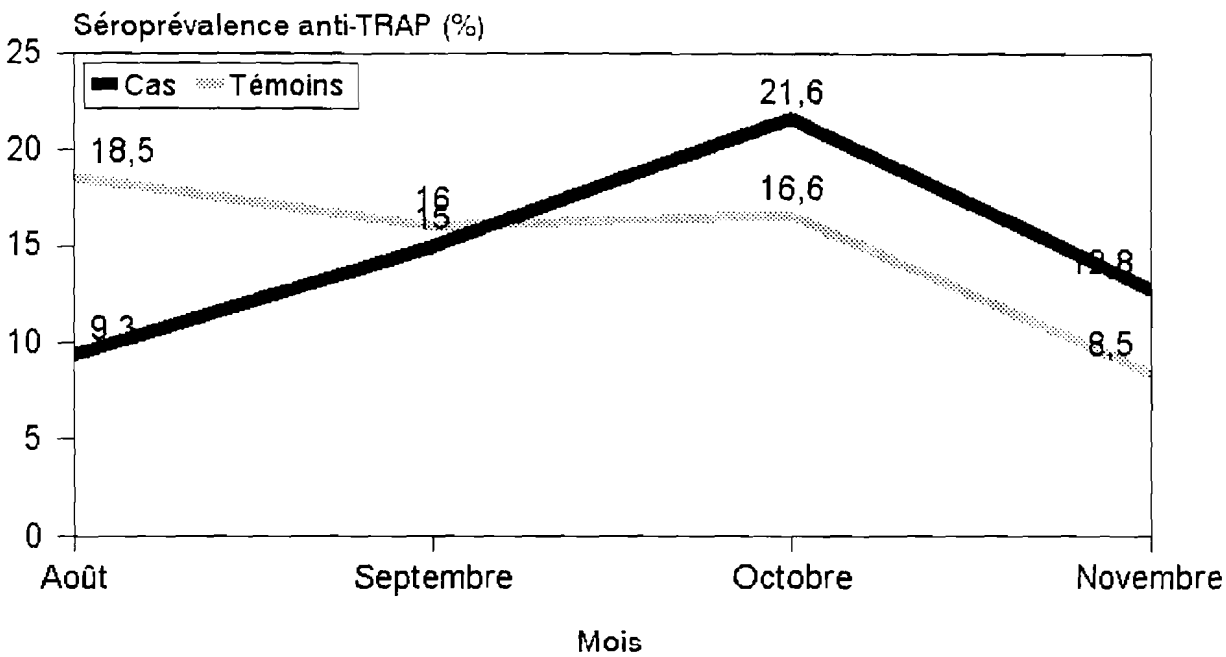


Figure 8: Séroprévalence anti-TRAP des malades selon le mois.

La figure 8 montre que parmi les quatre mois de haute transmission , c'était au mois d'août que la différence de séroprévalence anti-TRAP entre cas et témoins a atteint la limite de la significativité statistique ($\chi^2 = 3,9$ $p = 0.05$).

4.3.2.5 Influence de la densité parasitaire sur la séroprévalence anti-TRAP des témoins et des cas

En faisant 6 classes de densité parasitaire, l'analyse de la réponse immunitaire anti-TRAP chez les cas et chez les témoins donne les résultats du tableau VIII.

Tableau VIII : Réponse immunitaire anti-TRAP des malades selon la densité parasitaire.

Rép.Immunitaire anti-TRAP dans les classes de densité parasitaire (DP)	Cas		Témoins	
	n	%	n	%
D.P = 1-5000 ($\chi^2 = 0,3$ p=0,6)				
séropositifs	40	17,4	48	15,6
séronégatifs	190	82,6	259	84,4
D.P = 5000-10000 ($\chi^2 = 0,9$ p=0,3)				
séropositifs	12	21,8	13	15,3
séronégatifs	43	78,2	72	84,7
D.P = 10000-20000 ($\chi^2 = 0,6$ p=0,5)				
séropositifs	10	12,7	15	16,7
séronégatifs	69	87,3	75	83,3
D.P = 20000-50000 ($\chi^2 = 0,3$ p=0,6)				
séropositifs	24	19	26	16,5
séronégatifs	102	81	132	83,5
D.P = 50000-100000 ($\chi^2 = 1,9$ p=0,2)				
séropositifs	13	14,6	9	8,4
séronégatifs	76	85,4	98	91,6
D.P >100000 ($\chi^2 = 0,9$ p=0,4)				
séropositifs	17	15	23	19,7
séronégatifs	96	85	94	80,3

Rép = réponse

Selon le tableau VIII, les différences entre la séroprévalence anti-TRAP des cas et des témoins n'étaient pas statistiquement significatives.

4.4 Evolution des cas

4.4.1 Fréquences

L'évolution des 734 cas dans le service de pédiatrie du CHN-YO est indiquée dans la figure 9.

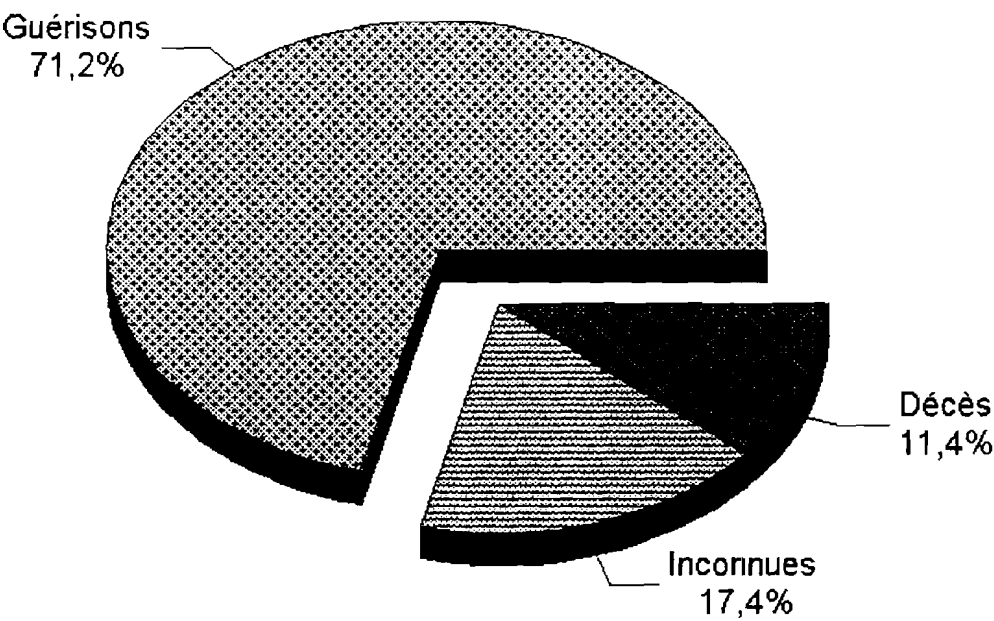


Figure 9: Evolution des cas

Nous avons observé 71,2% de guérison et 11,4% de décès.

Nous procéderons à l'étude de la séroprévalence anti-TRAP chez les malades hospitalisés dont l'évolution a été connue.

4.4.2 Réponse immunitaire humorale anti-TRAP et évolution

La réponse anti-TRAP des cas dont l'évolution était connue est présentée dans le tableau IX.

Tableau IX: Réponse immunitaire anti-TRAP en fonction de l'évolution des cas.

Evolution	Réponse immunitaire anti-TRAP				Total (%)
	Séropositifs		Séronégatifs		
	n	%	n	%	
Cas guéris	87	16,7	435	83,3	522 (100%)
Cas décédés	12	14,3	72	85,7	84 (100%)
Total	99	13,3	84	86,7	606 (100%)

$\chi^2 = 0,3$ $p = 0,6$

Le tableau IX indique que les cas guéris avaient une séroprévalence anti-TRAP de 16,7 % et les cas décédés 14,3% ; la différence n'était pas statistiquement significative.

4.4.3 Titres moyens d'anticorps anti-TRAP chez les cas guéris et les cas
décédés

Les titres moyens d'anticorps anti-TRAP chez les cas guéris et chez les cas
décédés sont indiqués dans le tableau X.

Les extrêmes des titres des anticorps anti-TRAP des cas étaient de 0,03 et 1,65.
Les extrêmes des titres des anticorps anti-TRAP des témoins étaient de 0,03 et 1,52

Tableau X: Titre moyen des anticorps anti-TRAP des Guéris et des décédés.

Evolution	Titre moyen d'anticorps anti- TRAP
Guéris	0,23
Décédés	0,21

La différence entre les titres moyens n'était pas statistiquement significative ($p = 0,3$
selon le test t).

4.4.4 Séroprévalence anti-TRAP selon les signes de gravité.

Chez les cas hospitalisés dont l'évolution a été connue, nous avons comparé les séroprévalences anti-TRAP. Les résultats sont résumés dans le tableau XI.

Tableau XI: Séroprévalence anti-TRAP des cas guéris et des cas décédés selon les signes de gravité.

Signe	Séropr A-TRAP* des cas guéris(%)	Séropr A-TRAP des cas décédés (%)	χ^2	p	RR	IC
Coma	15,7	14,9	0,2	0,9	1,01	0,9 - 1,2
Prostration	16,4	13,3	0,5	0,5	1,03	1 - 1,1
Convulsion	17,6	9,4	1,3	0,3	1,1	1 - 1,3
**Anémie sévé	11,0	8,7	-	0,5	1,1	0,8- 1,5
**Hypoglycémie	16,7	18,2	-	0,6	0,5	0,5 - 2
**OAP/DR	14,3	27,3	-	0,3	0,7	0,3 - 1,7
**Hémorragie	37,5	22,0	-	0,3	1,6	0,9 - 2,8

Séropr A-TRAP * = Séroprévalence anti-TRAP

** = les p ont été obtenus en considérant le test de Fischer (unilatéral)

Pour chaque signe de gravité, les malades décédés avaient une séroprévalence anti-TRAP très proche de celle des malades guéris. Le tableau XI montre que les différences n'étaient pas statistiquement significatives .

4.4.5 Influence de l'âge sur les séroprévalences anti-TRAP des cas guéris et des cas décédés.

Le tableau XII montre dans les tranches d'âge la séroprévalence anti-TRAP des cas qui ont guéri et celle des cas qui sont décédés.

Tableau XII: Séroprévalence anti-TRAP des cas guéris et des cas décédés selon les tranches d'âge

Tranche d'âge (ans)	Séroprévalence anti-TRAP (%)		χ^2	p	RR	IC
	cas guéris	cas décédés				
**0 - 2	10,8	12,5	-	0,5	1,1	0,4 - 3,3
2 - 4	15,3	13,6	0,08	0,7	0,9	0,4 - 1,9
**4 - 8	20,3	23,1	-	0,5	1,2	0,3 - 4,0
**8 - 15	20,9	0,0	-	0,5	-	-

Dans chaque tranche d'âge, il n'y avait pas de différence significative de prévalence anti-Trap entre les cas guéris et les cas décédés.

4.4.6 Influence de la transmission sur la séroprévalence anti-TRAP des cas guéris et des cas décédés.

A) Le tableau XIII indique les séroprévalences anti-TRAP des cas hospitalisés dont l'évolution a été connue selon leur zone de provenance.

Tableau XIII: Séroprévalence anti-TRAP des cas guéris et des cas décédés selon la zone de provenance

Séroprévalence anti-TRAP						
(%)						
Zones de provenance	cas guéris	cas décédés	χ^2	p	RR	IC
Urbaine	16,1	13,3	0,4	0,5	0,83	0,4 - 1,5
Rurale	24,3	22,2	-	0,6	0,9	0,2 - 3,8

Dans toutes les zones de provenance, il n'y avait pas de différence significative entre la séroprévalence anti-Trap des cas guéris et des cas décédés.

B) les séroprévalences anti-TRAP selon le mois sont présentées dans le tableau XIV.

Tableau XIV: Séroprévalence anti-TRAP des cas guéris et des cas décédés selon le mois

Séroprévalence anti-TRAP						
(%)						
Mois	cas guéris	cas décédés	χ^2	p	RR	IC
Août	10,1	8,3	-	0,6	0,8	0,1 - 5,7
Septembre	13,9	18,8	0,5	0,4	1,3	0,6 - 2,9
Octobre	22,6	12,5	1,7	0,2	0,5	0,2 - 1,4
Novembre	10,7	12,5	-	0,6	1,2	0,2 - 8,1

Pour chaque mois, il n'y avait pas de différence significative de prévalence anti-Trap entre les cas guéris et les cas décédés.

4.4.7 Influence de la densité parasitaire sur la séroprévalence anti-TRAP des cas guéris et des cas décédés

En reprenant les 6 classes de densité parasitaire, l'analyse de la réponse immunitaire anti-TRAP chez les cas guéris et chez les cas décédés donne les résultats que montre le tableau XV.

Tableau XV : Réponse immunitaire humorale anti-TRAP des cas guéris et des cas décédés selon la densité parasitaire.

Rép.Immunitaire anti-TRAP dans les classes de densité parasitaire (DP)	Cas guéris		Cas décédés	
	n	%	n	%
D.P = 1-5000 (p unilat. Fischer=0,3)				
séropositifs	23	14,8	5	21,7
séronégatifs	132	85,2	18	78,3
D.P = 5000-10000 (p unilat. Fischer <10⁻⁴)				
séropositifs	10	24,4	1	20,0
séronégatifs	31	75,6	72	80,0
D.P = 10000-20000 (p unilat. Fischer =0,6)				
séropositifs	6	10,5	1	12,5
séronégatifs	51	89,5	7	87,5
D.P = 20000-50000 (p unilat. Fischer =0,2)				
séropositifs	21	23,3	2	11,1
séronégatifs	69	76,7	16	88,9
D.P = 50000-100000(p unilat. Fischer =0,4)				
séropositifs	10	15,9	2	16,7
séronégatifs	76	84,1	10	83,3
D.P >100000 (p unilat. Fischer =0,1)				
séropositifs	14	16,5	0	0,0
séronégatifs	71	83,5	14	16,5

Rép = réponse

Les différences de séroprévalence anti-TRAP des guéris et des décédés n'étaient statistiquement significatives que pour la classe 5000-10000. ($p < 10^{-6}$)

5 . DISCUSSION

5.1 - Limite de l'étude.

Nous nous sommes contentés du petit nombre d'enfants qui venaient du milieu rural dans notre échantillon pour comparer la zone urbaine et la zone rurale. Un recrutement parallèle en milieu rural nous aurait fourni sans doute un groupe plus représentatif du milieu rural.

Malgré cette limite, cette étude nous a permis d'analyser la réponse immunitaire humorale anti-TRAP des enfants atteints de paludisme recrutés dans des formations sanitaires de Ouagadougou.

5. 2 - Moyens prophylactiques et chimiothérapie des accès fébriles

Très peu de patients (7,7%) dormaient sous des moustiquaires (aucune n'était imprégnée d'insecticide). Ceci est conforme à ce que d'autres auteurs ont déjà obtenu dans notre pays : à Bobo-Dioulasso, en 1992, DAO F avait trouvé que 9,8% des familles utilisaient des moustiquaires pour les enfants [17]. En 1993, à Yéguéresso (village situé à 15 km de Bobo-Dioulasso), COULIBALY N a montré que seulement 2,2% des habitants utilisaient ces matériaux [14]. Les faibles taux d'utilisation révèlent le besoin de connaître les motivations et les difficultés des familles à utiliser les moustiquaires surtout pour les enfants afin de bien élaborer les stratégies de diffusion, puisque plusieurs pays d'Afrique font déjà leur promotion [61].

Le programme national de lutte contre le paludisme ne recommande pas la chimioprophylaxie chez les enfants ; mais préconise plutôt le traitement précoce et correct des accès fébriles [51]. Ces recommandations semblent être bien connues

des populations puisque parmi les malades recrutés, 4% seulement étaient soumis à la chimioprophylaxie antipalustre avec la chloroquine, 50% des témoins et 42% des cas avaient reçu un traitement antipalustre avant leur recrutement. COULIBALY N avait trouvé que 39,7% des malades signalaient un traitement antipalustre à domicile [14].

Mais le taux de 50% trouvé dans notre étude pour le traitement antérieur des témoins était élevé et tend à indiquer que la qualité du traitement précoce des cas présumés de paludisme simple était insuffisante.

La fréquence des traitements antérieurs chez les témoins était significativement supérieure à celle des cas. Cette différence pourrait être due surtout au fait que les signes de début des accès graves sont bien souvent « spectaculaires » et de survenue brutale (raideur, convulsions, révulsion oculaire, perte de connaissance) obligeant les parents à administrer des médications non antipaludiques ou à se référer rapidement vers les formations sanitaires sans administré au préalable un traitement. Plusieurs auteurs : VON VORGELEGT à Ouagadougou [84], TRAPE F et coll. [82], CARME B et coll. à Brazzaville (Congo) [7], LOUIS JP et coll. à Sanaga (Cameroun) [44] ont noté que les populations accouraient vite vers la médecine moderne pour améliorer leur état de santé dans les situations graves.

5. 3 - Saisonnalité des cas cliniques

Nous avons recruté le maximum des malades au mois d'octobre (tableau II). Ce phénomène a été observé par DOLO A à Bamako [21] et par MARSH en Gambie [46]. Cette augmentation des cas cliniques (en particulier des cas graves) en fin de saison de transmission serait due à un taux d'inoculation entomologique plus élevé [21]. Aussi actuellement, il est bien connu que la population de parasites est hétérogène et une hypothèse évoquée est qu'il existerait des souches induisant le paludisme grave qui deviennent plus fréquentes en fin de saison de transmission [21].

5. 4 - Age des cas et manifestations cliniques

Chez les cas, la moyenne d'âge était de 4 ans et 6 mois soit 54 mois. Dans les enquêtes similaires réalisées à Bamako, en Gambie et au Kenya, elle était respectivement de 60 mois [21], de 45 et de 40 mois [29].

Toutes ces moyennes sont situées dans la tranche d'âge 1-5 ans considérée comme groupe à risque du paludisme grave en zone hyper-endémique par l'O.M.S [85].

Pour les manifestations cliniques, le tableau III montre que les complications neurologiques (convulsions, coma et prostration) et l'anémie sévère étaient les plus fréquentes. Ce résultat corrobore ceux de plusieurs auteurs [7,42,46,85]. Nous n'avons noté aucun cas d'insuffisance rénale en 1993. Compte tenu du coût relativement élevé du dosage de la créatinémie et de la rareté de l'insuffisance rénale notée chez l'enfant africain atteint de paludisme grave [85], nous avons retiré la créatinémie de la liste des examens biologiques à faire en 1994.

5. 5 - RÉPONSE IMMUNITAIRE HUMORALE ANTI-TRAP

5. 5.1 - Anticorps anti-TRAP et apparition du paludisme grave.

Le tableau VI montre que la différence de séroprévalence des anticorps anti-TRAP entre les cas et les témoins n'était pas significative; indiquant l'absence d'un rôle protecteur direct des anticorps anti-TRAP contre la survenue du paludisme grave.

a) l'absence de protection a été observée dans toutes les tranches d'âge.

Plusieurs auteurs ont montré que l'une des caractéristiques de l'immunité antipalustre est son développement graduel avec l'âge [19,35,36]. Effectivement

dans notre étude, nous avons observé que la séroprévalence anti-TRAP augmentait avec l'âge des malades recrutés (figure 6). Cependant dans toutes les tranches d'âge, la différence de séroprévalence des anticorps anti-TRAP entre les cas et les témoins n'était pas significative. Nous n'avons pas mis en évidence un rôle protecteur des anticorps anti-TRAP en fonction de l'âge des malades.

b) l'absence de protection a été observée dans les différents niveaux de transmission.

ESPOSITO F et coll. (1988) au Burkina Faso [26], et ROMI R et coll. (1993) à Madagascar [71] ont montré que la séroprévalence anti-protéine CS est un indicateur relativement bon du niveau de la transmission du paludisme auquel les populations sont soumises dans les conditions de transmission hyper-endémique. Partant de cette indication, nous avons analysé les séroprévalences des anticorps anti-protéine CS des cas et des témoins en zone urbaine, en zone rurale et dans les mois de notre étude.

Nous avons obtenu que les séroprévalences des anticorps anti-protéine CS des cas et des témoins étaient très proches dans la zone urbaine de même que dans la zone rurale (figure 5) et dans chacun des quatre mois de recrutement (tableau V). Dans chacune de ces situations, les cas et des témoins étaient soumis presque aux mêmes niveaux de transmission les rendant alors comparables quant à leurs séroprévalences des anticorps anti-TRAP. Or leurs séroprévalences anti-TRAP étaient assez voisines aussi bien dans la zone urbaine, que dans la zone rurale (figure 7) et dans chacun des quatre mois de recrutement (figure 8).

Dans des conditions de transmission presque identiques, les anticorps anti-TRAP ne protégeaient pas les enfants contre la survenue du paludisme grave.

Un autre résultat que la figure 5 a montré était que les séroprévalences des anticorps anti-protéine CS des malades étaient significativement plus importantes en zone rurale. La transmission était donc plus intense en milieu rural par rapport à la zone urbaine.

Au cours d'études entomologiques antérieures, d'autres auteurs en Afrique tropicale ont déjà constaté la prédominance du paludisme dans les zones rurales; notamment au Burkina Faso (Ouagadougou [72,73], Bobo-Dioulasso [43, 66]), en Guinée [6], au Cameroun [27,45], au Zaïre [37], et au Congo [82]. La concordance des résultats sérologiques et des résultats entomologiques est intéressante à relever car elle vient renforcer l'avis des auteurs qui ont indiqué que la séroprévalence anti-protéine CS est un indicateur relativement bon du niveau transmission du paludisme dans les conditions de transmission hyper-endémique.

c) l'absence de protection a été observée dans les différentes classes de densité parasitaire.

Les relations entre les réponses immunitaires anti-TRAP et les densités parasitaires ont été évaluées dans notre étude. Le tableau VII montre que les différences de séroprévalence des anticorps anti-TRAP entre les cas et les témoins dans chaque classe de densité parasitaire n'étaient pas significatives. Il n'y avait pas d'association entre la densité parasitaire et les anticorps anti-TRAP chez les enfants malades.

5.5.2 - Anticorps anti-TRAP et pronostic des cas de paludisme grave.

Pour les enfants qui ont été hospitalisés dans le service de pédiatrie du CHN-YO pour paludisme grave, les anticorps anti-TRAP n'amélioreraient pas leur pronostic (tableau IX) ; quelque soit le signe de gravité qui était concerné (tableau XI), dans toutes les tranches d'âge (tableau XII), quelque soit le niveau de la transmission

(tableau XIII et XIV) sauf dans la classe de densité parasitaire 5000-10000 (tableau XV).

Il ressort de nos résultats immunologiques une absence de protection des anticorps anti-TRAP contre la survenue des formes sévères du paludisme (dans les différentes situations de transmission, dans les tranches d'âge, et dans les classes de densité parasitaire). Quand le paludisme grave survenait, lesdits anticorps n'amélioraient dans aucun cas de figure le pronostic des malades.

Il existe très peu (4) de travaux où le rôle des anticorps anti-TRAP dans le paludisme maladie a été évalué. Nous avons pu comparé leurs résultats aux nôtres

Les travaux de DOLO A et collaborateurs [21].

DOLO A et coll. au Mali ont été les pionniers et les seuls pour le moment à avoir évalué le rôle protecteur des anticorps anti-TRAP contre le paludisme grave au cours de deux études.

- En 1992 DOLO A a conduit la première étude cas-témoin pour évaluer le rôle protecteur des anticorps anti-TRAP dans la prévention du paludisme grave chez les enfants de 1 à 12 ans.

L'étude s'est déroulée à Bamako où les particularités épidémiologiques du paludisme étaient voisines de celles des autres villes africaines (dont Ouagadougou), dans le service de pédiatrie de l'hôpital Gabriel TOURE, pendant la saison de forte transmission palustre (Août - Novembre). La méthodologie utilisée était très voisine de celle que nous avons suivie à Ouagadougou : les renseignements généraux et cliniques, les prélèvements effectués et les examens de laboratoire réalisés étaient les mêmes. Les anticorps anti-TRAP et anti-protéine CS ont été dosés à l'Université de la "Sapienza" de Rome (Italie).

Ils ont enrôlé 132 cas et 347 témoins dans leur étude. Leurs résultats ont montré que les anticorps anti-TRAP protégeaient contre la survenue du paludisme grave quand la transmission est modérée et surtout dans la tranche d'âge 1-3 ans. Ils n'ont pas noté d'association entre densité parasitaire et protection des anticorps anti-TRAP. Mais ils ont aussi montré que les anticorps anti-TRAP avaient une valeur pronostique favorable sur l'évolution des cas.

Au vu des résultats encourageants de Bamako, ils conduisirent une autre étude en 1993, dans le district rural de Bancoumana (à 75 km au sud de Bamako) pour évaluer le rôle protecteur des anticorps anti-TRAP sur un échantillon plus jeune (6 mois - 9 ans). Ils n'ont pas observé la protection des anticorps anti-TRAP [21]. Ils pensent que la protection n'est pas apparue compte tenu du caractère transitoire et éphémère de la réponse immunitaire dans la population d'enfants de 6 mois - 9 ans. Nous notons cependant que c'est dans la tranche d'âge 1-3 ans qu'ils avaient obtenu la protection la plus significative contre le paludisme grave lors de l'étude cas-témoins à Bamako. Nous penchons plus sur l'hypothèse de l'influence de la transmission qui est plus intense en milieu rural.

La divergence des résultats de Bamako et de Ouagadougou pourrait être due à plusieurs facteurs comme les différences de l'épidémiologie du paludisme, les différences des populations et les polymorphismes génétiques des parasites et des antigènes. Aussi il est à noter que les titres moyens des anticorps anti-TRAP à Ouagadougou (témoins = 0,20 cas = 0,22) étaient plus faibles qu'à Bamako (témoins = 0,38 cas = 0,4). Or NUDELMAN et coll. ont rapporté que dans certains cas, le parasite arrive à utiliser certains mécanismes de défense de l'hôte pour améliorer son développement. Ainsi des titres faibles d'anticorps anti-CS chez *P. yoelii* facilitent-ils la pénétration du sporozoïte dans l'hépatocyte [56]. En est-il de même avec les anticorps anti-TRAP chez *P. falciparum* ?

Les autres travaux : deux auteurs ont étudié de façon générale le rôle des anticorps anti-TRAP dans le paludisme :

SCARCELLI E et coll. au Mali en 1993 [75]. Ils ont étudié l'influence des anticorps anti-TRAP sur les parasitémies. Ils ont trouvé que la présence des anticorps anti-TRAP chez les enfants de 6 à 10 ans avant la saison de transmission corrélait positivement avec le contrôle de la parasitémie. DOLO A et nous mêmes avons conduit nos études pendant les périodes de transmission intense, et n'avons pas mis en évidence une association entre la densité parasitaire et les anticorps anti-TRAP chez les enfants malades.

BECK HP et coll. en Papouasie Nouvelle Guinée ont eu des résultats proches des nôtres avec les anticorps anti-protéine CS [4].

BHARADWAJ B et coll. en Inde (1997) ont évalué récemment le rôle protecteur de deux peptides qu'ils ont synthétisé : P60 et P65 contre le paludisme chez le modèle animal [3]. Le peptide P60 était basé sur la séquence WSPCSVTCG commune à la TRAP et la région II de la protéine CS. Le peptide P65 était un homologue de la P60 mais contenait 5 acides aminés en plus sur son extrémité C-terminale. Ils ont obtenu chez les rongeurs une protection partielle contre le paludisme avec la P60 et aucune protection avec la P65.

Pour expliquer la différence, ils ont démontré que la réponse immunitaire anti-P60 était dirigée contre la région N-terminale du peptide alors que la réponse anti-P65 était surtout dirigée contre la région C-terminale du peptide. Ils ont conclu que la structure primitive des peptides reconnus comme épitopes peut influencer le foyer sur lequel la réponse humorale agit [3]. Or le polymorphisme de la TRAP a déjà été mise en évidence [16,22,67].

Ainsi les résultats actuellement disponibles des études d'évaluation du rôle protecteur des anticorps anti-TRAP dans le paludisme sont contrastés. Cependant ils permettent de noter que ces anticorps ne seraient pas protecteurs chez les enfants quand la transmission est intense.

L'antigène TRAP étant un antigène sporozoïtique, nous nous sommes intéressé aux études antérieures qui ont porté sur les anticorps des antigènes de *P. falciparum* de cette famille. Plusieurs auteurs ont constaté que les anticorps anti-sporozoïtes naturels ne conféraient pas du tout de protection contre le paludisme ou qu'ils ne conféraient pas de protection contre le paludisme dans les situations de forte transmission:

HOFFMAN SL et coll. (1987) [34] au Kenya ont montré qu'il y avait peu de chances pour que les anticorps anti-sporozoïtes préviennent les infections palustres dans les zones de forte endémie palustre.

PANG LW et coll. en Thaïlande (1988) [61] ont conduit une étude cas-témoin pour évaluer le rôle protecteur des anticorps anti-sporozoïtes dans les infestations à *P. falciparum* (antigènes R32 Tet32). Les titres d'anticorps obtenus n'ont montré aucune différence significative entre les cas et les témoins.

SCHOFIELD L (1990) [78] au terme d'une étude sur la protéine CS a conclu qu'il est peu probable que les anticorps anti-sporozoïtes produits dans les conditions naturelles ou induits par immunisation avec le parasite lui même entraînent une protection.

BIRTHER H et coll., (1991) [5] au Liberia n'ont pas mis en évidence une protection antipaludique induite par les anticorps anti-sporozoïtes (EENV)₆ et (NANP)₆. Ils ont conclu que les anticorps dirigés contre les antigènes des parasites du paludisme ne sont pas les médiateurs exclusifs utilisés dans l'immunité antipaludique et que c'est

l'association immunité humorale et immunité cellulaire qui est importante dans l'induction et le maintien de l'immunité contre les parasites du paludisme.

D'autres auteurs ont montré que les essais de vaccins incluant essentiellement les antigènes sporozoïtiques ont donné des résultats décevants :

GUIGUEMDE RT [32] et DRABO M [23] (1990) au cours du premier essai vaccinal africain réalisé par le Centre Muraz de Bobo-Dioulasso avec le vaccin ant sporozoïte couplé à l'anatoxine anti-tétanique ((NANP)3-TT) ont montré que les anticorps induits par ce vaccin étaient peu protecteurs.

SALIOU P [74] rapporte que le même vaccin testé aux Etats-Unis n'a induit que de faibles titres d'anticorps.

La TRAP est proche des antigènes de *Plasmodium falciparum* dont les anticorps ont d'abord suscité des résultats prometteurs mais qui n'ont pu être reproduits dans les expériences qui ont suivi. Ce fut le cas par exemple avec la protéine CS [20,25] et la MSP1 [10].

Devant toutes les difficultés à identifier un seul antigène-cible toujours et suffisamment protecteur, plusieurs voies sont envisagées pour aboutir à un vaccin antipaludique efficace.

1° Beaucoup d'auteurs proposent pour la mise au point d'un vaccin antipaludique, l'association dans ce vaccin des principaux antigènes connus de toutes les étapes de développement de *Plasmodium falciparum* [28,33,39,55,57,60,79]. DOOLAN DL et HOFFMAN SL, aux USA (1997) [22] retiennent comme antigènes sporozoïtiques à inclure dans un tel vaccin: la protéine CS, la TRAP/SSP2, et la SALSA.

A ce titre l'antigène TRAP présente un intérêt et nécessite davantage de recherches chez l'homme: identifier des facteurs qui facilitent ou limitent l'activité de ses anticorps, préciser l'impact de la réponse immunitaire cellulaire, préciser les mécanismes d'échappement élaborés par le parasite pour répondre aux anticorps anti-TRAP...

Sans une connaissance large des antigènes à inclure dans le vaccin et de leurs anticorps, leur association peut se révéler inefficace.

D'ailleurs l'approche de l'association des principaux antigènes dans un vaccin a été presque celle que PATARRAYO M a adoptée depuis maintenant plus d'une décennie pour la mise en oeuvre d'un antigène synthétique, le SPf66 [2]. Le vaccin mis au point contre cet antigène a donné des résultats contradictoires jusque là [38]. En effet, plusieurs travaux antérieurs (en Amérique latine et en Afrique tropicale) ont montré que le vaccin SPf66 était sûr d'emploi, qu'il était immunogène et partiellement efficace sur les infections à *Plasmodium falciparum* [2]. Une étude en 1995 par contre a été entreprise en Gambie et a montré que le SPf66 était sûr d'emploi, qu'il était immunogène mais elle n'a pas réussi à montrer qu'il présentait un effet protecteur significatif [18]. Un essai est en cours en Tanzanie.

2° D'autres auteurs orientent leurs travaux de recherche actuels des vaccins antipaludiques sur la technologie de l'ADN recombinant et sur la chimie des protéines [38].

CONCLUSION

L'étude cas-témoins que nous avons réalisée en milieu pédiatrique à Ouagadougou nous a permis de conclure que:

- la chimioprophylaxie était un moyen de prévention utilisée pour une minorité d'enfants. Ce qui est recommandé au plan national.
- les moustiquaires étaient aussi utilisées pour peu d'enfants. L'OMS encourage actuellement l'utilisation de moustiquaires imprégnées dans les familles.
- le paludisme grave a frappé surtout les enfants de moins de 5 ans à Ouagadougou.
- le taux de létalité était de 11,4% dans le service de pédiatrie du CHN-YO.
- Les anticorps anti-TRAP ne protégeaient pas contre la survenue du paludisme grave.
- Les anticorps anti-TRAP n'influençaient pas favorablement l'évolution du paludisme grave.
- la séroprévalence anti-TRAP augmentait avec l'âge .

SUGGESTIONS

Au terme de l'étude sur la réponse immunitaire humorale anti- TRAP dans le paludisme de l'enfant, nous pouvons faire les propositions suivantes en vue de contribuer à la lutte contre le paludisme grave.

*** AUX AUTORITES POLITIQUES ET ADMINISTRATIVES**

- Sensibiliser les populations sur les formes neurologiques du paludisme chez les enfants de moins de 5 ans, surtout pendant la saison des pluies.
- Sensibiliser les populations sur l'utilisation des matériaux imprégnés comme moyen de lutte contre le paludisme.
- Encourager et soutenir la recherche sur les vaccins contre le paludisme (avec l'appui des partenaires qui interviennent dans le secteur de la santé) :
 - Renforcer les effectifs des chercheurs dans les Institutions de recherche sur le paludisme et favoriser leur formation aux méthodes et techniques indispensables à la recherche sur les vaccins contre le paludisme .
 - Favoriser l'équipement des Institutions de recherche pour la recherche sur les vaccins contre le paludisme .

*** AUX CHERCHEURS**

Accorder aux études du rôle de l'immunité naturelle dans la prévention du paludisme une place de choix pour identifier les particularités épidémiologiques de nos populations. Les données recueillies pourront être utiles à la mise au point de vaccins antipaludiques ou à donner des orientations pour des essais vaccinaux.

TITRE : REPONSE IMMUNITAIRE HUMORALE ANTI-TRAP (Thrombospondin Related Adhesive Protein) dans le paludisme à *Plasmodium falciparum* : étude cas-témoins en milieu pédiatrique à Ouagadougou (Burkina Faso).

RESUME:

A Ouagadougou (capitale du Burkina Faso), pendant les saisons de haute transmission palustre (Août-Novembre) de 1993 et 1994, nous avons mené une étude cas-témoins. Elle visait à étudier la réponse immunitaire humorale anti-TRAP dans le paludisme , chez les enfants de 6 mois à 15 ans . Elle a duré 8 mois et a impliqué le service de pédiatrie du CHN-YO (hôpital de référence) et deux centres de santé périphériques de la ville (Saint- Camille et Paul VI).

Le cas (malade atteint de paludisme grave) a été défini selon les critères de gravité de l'OMS. Le témoin (malade atteint de paludisme simple) a été désigné par une température axillaire supérieure ou égale à 38°C avec présence de *Plasmodium falciparum* dans le sang périphérique, sans cause évidente de fièvre.

Au total, mille six cent vingt six (1626) malades ont été recrutés : 734 cas (âge moyen \pm écart-type = $4,6 \pm 3,02$) recrutés dans le service de pédiatrie CHN-YO et 892 témoins (âge moyen \pm écart-type = $4,2 \pm 3,21$) recrutés dans le service de pédiatrie du CHN-YO et surtout dans les deux centres médicaux de la ville.

- L'analyse des résultats n'a pas montré de différence significative entre la séroprévalence anti-TRAP des cas (16,6%) et celle des témoins (15,7%). Il n'y avait pas non plus de différence significative entre les séroprévalences anti-TRAP des cas guéris (16,7%) et celle des cas décédés (14,3%).

Ces résultats n'ont pas confirmé ceux qui ont été antérieurement obtenus à Bamako (Mali) en 1992, où l'équipe avait noté une relation significative entre séroprévalence anti-TRAP basse et gravité du paludisme et une valeur pronostique positive des anticorps anti-TRAP chez les cas.

MOTS CLES : Paludisme grave/ TRAP/ antigènes de P.f / enfants / Burkina Faso.

Auteur : Amadou Tidiani KONATE 01 BP 3727 OUAGADOUGOU 01

Téléphone : 31-13-88

TITLE : Humoral Immunity Response Against TRAP (Thrombospondin Related Adhesive Proteine) in *Plasmodium falciparum* malaria : case-control study at the Pediatric ward in Ouagadougou (Burkina Faso).

SUMMARY

In Ouagadougou (the capital of Burkina Faso), during the high seasons of malaria transmission, in 1993 and 1994, we have conducted a case-control study . The study aimed to learn the humoral immunity response against the TRAP in *Plasmodium falciparum* malaria among 6 months to 15 years children . The study took place during 8 months and included the Pediatric ward of the National Hospital Center - Yalgado Ouédraogo (NHC-YO) and two urban medical centers (Saint- Camille and Paul VI).

The case (patient with severe malaria) definition was made according to WHO guidelines. The control (patient with non severe malaria) was defined as a clinical illness characterized by an axillary temperature $\geq 38^{\circ}\text{C}$ associated with a *P.falciparum* positive blood film. Patients with patent bacterial infections were not included in the study.

Totally, 1626 patients were recruited : 734 severe malaria patients (mean age \pm Standard Deviation = 4.6 ± 3.0), recruited at the Pediatric ward of the NHC-YO and in 892 non severe malaria patients (mean age \pm Standard Deviation = 4.2 ± 3.2), recruited in the same Hospital but particularly in the two urban medical centers.

The results analysis showed :

- No difference in the anti-TRAP seroprevalence in severe malaria patients (16.6%), and the one of children with non complicated malaria (15.7%).
- No difference in the anti-TRAP seroprevalence in severe malaria patients who cured (16.7%), and the one of those who died (14.3%).

These findings do not confirm previous observations obtained during an analogous study carried out in 1992 in Mali, which showed a negative association between the presence of anti-TRAP antibodies and susceptibility to severe malaria and a negative association between the presence of anti-TRAP antibodies and fatal evolution of severe malaria.

Key words : Severe malaria/ TRAP/ P.f antigens/ children/ Burkina Faso

Author : Amadou KONATE 01 P.O Box :3727 Ouagadougou 01 Phone : 31 13 88

BIBLIOGRAPHIE.

- 1 **ADE-SERRANO MA, EJEZIE GC, KASSIM OO.** Correlation of *Plasmodium falciparum* gametocytemia with complement component titers in rural Nigerian school children. J Clin Microbiol 1981;13:195-198
- 2 **AMADOR R, PATARRAYO ME.** Malaria vaccines. J Clin Immunol 1996;16:183-189
- 3 **BHARADWAJ B, SHARMA P, SAILAJA VN, JOSHI S, CHAUHAN VS.** Immunogenicity of synthetic peptides containing multiple epitopes from malaria antigens. Annals of Trop Med and Parasitology 1997;91:S19-S20
- 4 **BECK HP, FELGER I, KABINTIK S, TAVUL L, GENTON B, ALEXANDER N, BHATIA KK, AL-YAMAN F, HII J, ALPERS M.** Assessment of the humoral and cell-mediated immunity against the *Plasmodium falciparum* vaccine candidates circumsporozoite protein and SPf66 in adults living in highly endemic malarious areas of Papua New Guinea. Am J Trop Med Hyg 1994;51:356-364
- 5 **BIRTHE H, NUAHN TM, ESKILD P, HEDVIG P, EUGENE D, ALOYSIUS PH, ANDERS B, PETER P.** A longitudinal study of seroreactivities to *Plasmodium falciparum* antigens in infants and children living in a holoendemic area of Liberia. Am J Trop Med Hyg 1991;44:191-200
- 6 **BOSMAN A, MODIANO D, VOGLINO MC, PIZZI L, BARTOLONI P, DIALLO KI, DE GIORGI F.** Malaria transmission in a central area of Futa Djallon (GUINEA): results of a parasitological survey during the 1989 rainy season. Parassitologia 1992;34:135-142

- 7 **CARME B, YOMBI B, BOUQUETY J, PLASSARD H, NZINGOULA S, SENG A J, AKANI I.** Child morbidity and mortality due to cerebral malaria in Brazzaville, Congo. A retrospective and prospective hospital study 1983-1989. Trop Med Parasitol 1992; 43: 72-76

- 8 **CELADA A, CRUCHAUD A, PERRIN LH.** Phagocytosis of *Plasmodium falciparum*-parasitized erythrocytes by human polymorphonuclear leukocytes. J Parasitol 1983;69:49-53

- 9 **CELADA A, CRUCHAUD A, PERRIN LH.** Opsonic activity of human immune sera on in vitro phagocytosis of *Plasmodium falciparum* infected red blood cells by monocytes. Clin Exp Immunol 1982;47:635-644

- 10 **CHAPPEL JA, EGAN AF, RILEY EM, DRUILHE P, HOLDER AA.** Naturally acquired human antibodies which recognize the first epidermal growth factor-like module in the *Plasmodium falciparum* merozoite surface protein 1 do not parasite growth in vitro. Infect Immun 1994;62:4488-4494

- 11 **CHARMOT G, MOUCHET J.** Paludisme. Cahiers Santé 1993; 3,337p

- 12 **CNLP.** Paludisme grave chez les enfants et réponse immunitaire anti-Trap. Rapport d'activités Ouagadougou 1993;23p

- 13 **CLARK IA, ROCKETT KA, COWDEN WB.** Proposed link between cytokines, nitric oxide and human cerebral malaria. Parasitology Today 1991;7:205-207

- 14 COULIBALY N.** Etude de l'impact économique du paludisme et du niveau de l'immunité humorale des malades en zone rurale de Bobo-Dioulasso (BURKINA FASO). Thèse de méd, Ouagadougou, 1992;N°07,141p
- 15 COWAN G, KRISHNA S, CRISANTI A, ROBSON KJH.**
Expression of thrombospondin related adhesive protein (TRAP) in *Plasmodium falciparum* sporozoites . The Lancet 1992;339:1412-1413
- 16 DANIS M.** Symptomatology. In GENTILLINI M, PALUDISME.
Paris : Edition Marketing/ Ellipses 1991:87-99
- 17 DAO F.** Evaluation du coût de la lutte antipaludique à l'échelon familial dans la ville de Bobo-Dioulasso (BURKINA FASO). Thèse de Méd, Ouagadougou, 1992;N°10,92p
- 18 D'ALESSANDRO U, LEECH A, DRAKELEY CJ, BENNETT S, OLALEYE BO, FEGAN GW, JAWARA M, LANGEROCK P, GEORGE MO, TARGETT GAT, GREENWOOD BM.** Efficacy trial of malaria vaccine SPf66 in Gambian infants. Lancet 1995; 346: 462-467
- 19 DELORON P, DUVERSEAU T, ZEVALLOS-IPENZA A, MAGLOIRE A, STANFILL PS, PHUC NGUYEN-DINH.** Antibodies to PF155, a major antigen of *Plasmodium falciparum* : seroepidemiological studies in Haiti. Bulletin of the WHO 1987; 65: 339-344
- 20 DELORON P, COT M.** Antibodies to the ring-infected erythrocytes surface antigen and the circumsporozoite protein of *Plasmodium falciparum* in a rural community from Burkina Faso. Trans R Soc Trop Med Hyg 1990;84:191-196

- 21 DOLO A.** Réponse immunitaire Anti-TRAP (Thrombospondin related adhesive protein) et morbidité palustre dans une zone d'hyperendémie palustre du Mali (Afrique de l'Ouest). Thèse PhD, Université de Rome "La Sapienza" 1997;168p
- 22 DOOLAN DL, HOFFMAN SL.** Multigene vaccination against malaria: a multistage, multi-immune response approach. Parasitology Today 1997;13:171-177
- 23 DRABO MK.** Premier essai d'un vaccin contre le paludisme en Afrique : Bobo-Dioulasso (Burkina Faso). Thèse de Méd, Ouagadougou, 1989;N°16,56p
- 24 DRUILHE P, KHUSMITH S.** Epidemiological correlation between levels of antibodies promoting merozoite phagocytosis of *Plasmodium falciparum* and malaria immune status. Infect Immun 1987;55:888-891.
- 25 DRUILHE P, SABCHAREON A, BURNOUF T, OUATTARA D, ATTANATH P, BOUHAROUN-TAYOUN H, CHANTAVANICH P, FOUCAULT C, CHONGSUPHAJASIDDHI T.** Parasitologic and clinical human response to immunoglobulin administration in *falciparum* malaria. Am J Trop Med Hyg 1991;43:297-308
- 26 ESPOSITO F, LOMBARDI S, MODIANO D, ZAVALA F, REEME J, LAMIZANA L, COLUZZI M, NUSSENZWEIG RS.** Prevalence and levels of antibodies to the circumsporozoite protein of *Plasmodium falciparum* in an endemic area and their relationship to resistance against malaria infection. Trans R Soc Trop Med Hyg 1988;82:827-832
-

- 27 FONDJO E, ROBERT V, LE GOFF G, TOTO JC, CARNAVALE P.** Le paludisme urbain à Yaoundé (Cameroun). Etude entomologique dans deux quartiers peu urbanisés. Bull Soc Pathol Exot 1992;85:57-63
- 28 GORDON DM.** Use of novel adjuvants and delivery systemes to improve the humoral and cellular immune response to malaria vaccine candidate antigens. Vaccine 1993;11:591-593
- 29 GREENWOOD B, MARSH K, SNOW R.** Why do some african children develop severe malaria ? Parasitology Today 1991;7:277-281
- 30 GROUX H, GYSIN J.** Opsonization as an effector mechanism in human protection against asexual blood stages of *Plasmodium falciparum* : functional role of IgG subclasses. Res Immunol 1990; 141:529-542
- 31 GUIGUEMDE RT.** La prise en charge des cas de paludisme Paludisme et maladies infectieuses en Afrique 1996;N°5:24-31
- 32 GUIGUEMDE RT , STURCHLER D, OUEDRAOGO JB, DRABO M, ETLINGER H, DOUCHET C, GBARY AR, HALLER L, KAMBOU S, FERNEX M.** Vaccination against malaria initial trial with an anti-sporozoite vaccine, (NANP)₃ - TT (Ro40-2361) in Africa (Bobo Dioulasso, Burkina Faso). Bull Soc Pathol Exot 1990;83:217-227

- 33 HOFFMAN SL, EDELMAN R, BRYAN JP, SCHNEIDER I, DAVIS J, SEDEGAH M, GORDON D, CHURCH P, GROSS M, SILERMAN C, HOLLINGDALE MR, CLYDE D, SZTEIN M, LOSONSKY G, PAPARELLO S, JONES TR.** Safety, immunogenicity, and efficacy of a malaria sporozoite vaccine administered with monophosphoryl lipid, cell wall skeleton of mycobacteria, and squalane as adjuvant. Am J Trop Med Hyg 1994; 51:603-612
- 34 HOFFMAN SL, OSTER CN, PLOWE CV, WOOLLETT GR, BEIER JC, CHULAY JD, WIRTZ RA, HOLLINGDALE MR, MUGAMBI M.** Naturally acquired antibodies to sporozoites do not prevent malaria : vaccine development implications. Science 1987;237:639-642
- 35 HOLLINGDALE MR, HOGH B, PETERSEN E, WIRTZ RA, BJORKMANN A.** Age-dependent occurrence of protective anti-*Plasmodium falciparum* sporozoite antibodies in a holoendemic area of Liberia. Trans R Soc Trop Med Hyg 1989;83:322-324
- 36 JAMSHAD I, ABDUR R, PETER P, KLAUS B.** Humoral immune responses to *Plasmodium falciparum* antigens in children and adults living in a hypoendemic area of Punjab (Pakistan). Am J Trop Med Hyg 1994;51:444-453.
- 37 KARCH S, ASIDI N, MANZAMBI ZM, SALAUN JJ.** La faune anophélienne et la transmission du paludisme humain à Kinshasa (Zaire). Bull Soc Pathol Exot 1992;85:252-255
- 38 KILAMA WL.** Control of malaria in africa. Paludisme et maladies infectieuses en Afrique 1996;N°5:532-37
- 39 KHURANA SK, TALIB VH.** Malaria vaccine. India J Pathol Microbiol 1996;39:433-441

- 40 KHUSMITH S, DRUILHE P, GENTILINI M.** Enhanced *Plasmodium falciparum* phagocytosis merozoite by monocytes from immune individuals. Infect Immun 1982;35:874-879
- 41 KWIATKOWSKI D, TREUTIGER CJ, HEDLUND H, CARLSON J, JEPSON A, TWUMASI P, GREEBWOOD BM, WAHLGREN M.** Rosette formation in *Plasmodium falciparum* isolates and anti-rosette activity of sera from Gambians with cerebral or uncomplicated malaria. Am J Trop Med Hyg 1992;46:503-510.
- 42 LANDO G, DJIOGUE R, DJOUMESSI S.** Intérêt pronostic du dosage du lactate dans le paludisme cérébral chez l'enfant Camerounais. Bull Soc Path Exot 1995;88:152-155
- 43 LOCHOUARN L, GAZIN P.** La transmission du paludisme dans la ville de Bobo-Dioulasso (Burkina Faso). Ann Soc Belge Méd Trop 1993;73:287-290
- 44 LOUIS JP, TREBUCQ A, HENGY C, DJIN-DJON F, JOB HC, FOKOUA S, GELAS H, CARNAVALE P.** Attitudes thérapeutiques et paludisme dans le bassin de la Sanaga(Cameroun). Bull Soc Pathol Exot 1992;85:252-255
- 45 MANGA L, TRAORE O, COT M, MOOH E, CARNAVALE P.** Le paludisme dans la ville de Yaoundé (Cameroun). Etude parasitologique dans deux quartiers centraux. Bull Soc Pathol Exot 1993;86:56-61
- 46 MARSH K, FORSTER D, WARUIRU C, MWANGI I, WINSTANLEY M, MARSH V, NEWTON C, WINSTANLEY P, WARN P, PESHU N, PASVOLL G, SNOW R.** Indicators of life-threatening malaria in african children. N Engl J Med 1995;25: 1399-1403

- 47 MAZIER D.** Cycle et biologie des plasmodiums. In GENTILLINI M, PALUDISME. Paris : Edition Marketing/Ellipses 1991:26-33
- 48 MAZIER D.** Vaccination. In GENTILLINI M, PALUDISME. Paris : Edition Marketing/Ellipses 1991:228-233
- 49 MAZIER D, RENIA L, PIED S, NUSSLER A, MARUSSIG M, LANDAU I, MILTGEN F, GRILLOT D, DEL GIUDICE G, GRAU G.** Hepatic stages of malaria : specific and non-specific factors inhibiting the development. Parassitologia 1993;35:59-63.
- 50 McGREGOR IA, WILSON RJM.** Malaria : Principles and Practice of Malariology volume one. Londres edition Churchill Livingstone 1988;912p
- 51 MINISTERE DE LA SANTE (BURKINA FASO).** Direction de la Médecine Préventive. Programme National de Lutte Antipaludique 1993;28p
- 52 MINISTERE DE LA SANTE (BURKINA FASO).** Direction des Etudes et de la Planification. Statistiques sanitaires 1992;148 p
- 53 MOYOU SR.** Le paludisme grave et compliqué en Afrique Paludisme et Maladies infectieuses en Afrique 1994;N°1:25-26
- 54 MÜLLER HM, RECKMANN I, HOLLINGDALE MR, BUJARD H, ROBSON KJH, CRISANTI A.** Thrombospondin related adhesive protein (TRAP) of *Plasmodium falciparum* binds specially to sulfated glycoconjugated and to HepG2 hepatoma cells suggesting a role for this molecule in sporozoite invasion of hepatocytes. The EMBO Journal 1993;12:2881-2889

- 55 NARDIN EH, NUSSENZWEIG RS.** T cell responses to pre-erythrocytic stages of malaria: role in protection and vaccine development against pre-erythrocytic stages. Ann Rev Immunol 1993;11:687-727
- 56 NUDELMAN S, RENIA L, CHAROENVIT Y, YUAN L, MILTGEN F, BEAUDOIN RL, MAZIER D.** Dual action of anti-sporozoite antibodies in vitro. J Immunol 1989;143:996-1000
- 57 NUSSENZWEIG RS, LONG CA.** Malaria Vaccines: multiple targets Science 1994;265:1381-1383
- 58 NUSSENZWEIG V, NUSSENZWEIG RS.** Rationale for the development of an engineered sporozoite malaria vaccine. Adv Immunol 1989;265:283-334
- 59 OMS.** La mise en oeuvre du plan mondial d'action pour la lutte contre le paludisme 1993 -2000. Rapport d'un groupe d'étude. Série de rapports techniques 1993;N°839,67p
- 60 OMS.** Principes d'expérimentation des vaccins antipaludiques: mémorandum d'une réunion de l'OMS. Bulletin de l'OMS 1986; 64:525-546
- 61 OUMA JH.** Control of malaria in Africa. Paludisme et maladies infectieuses en Afrique 1996;N°5:532-37
- 62 PANG LW, LIMSOMWONG N, KARWACKI J, WEBSTER HK.** Circumsporozoite antibodies and falciparum malaria incidence in children living in a malaria endemic area. Bulletin of the WHO 1988; 66:359-363

- 63 PHANUPHAK P, HANVANICH M, SAKULRAMRUNG R, MOOLLAOR P, SITPRIJA V, PHANTHUMKOSOL D.**
Complement changes in falciparum malaria infection. Clin Exp Immunol 1985;59:571-576
- 64 PONGPONRATN E, RIGANTI M, HARINASUTA T, BUNNAG D.**
Electron microscopiic study of phagocytosis in human spleen in falciparum malaria. Southeast Asian J Trop Med Public Health 1989;20:31-39
- 65 RENER J, CARTER R, ROSENBERG Y, MILLER LH.** Anti-gamete monoclonal antibodies synergistically block transmission of malaria by preventing fertilization in the mosquito. Proc Natl Acad Sci 1980;77:6797-6799
- 66 ROBERT V, GAZIN P, OUEDRAOGO V, CARNEVALE P.** Le paludisme urbain à Bobo-Dioulasso : étude entomologique de la transmission. Cah ORSTOM, sér méd et Parasitol 1986;24:121-128
- 67 ROBSON KJH, HALL JR, JENNINGS MW, HARRIS TJ, MARSH K, NEWBOLD CI, TATE VE, WEATHERALL DJ.** A highly conserved amino-acid sequence in thrombospondin, properdin and in proteins from sporozoites and blood stages of a human malaria parasite. Nature 1988;335:79-82
- 68 ROBSON KJH, HALL JR, DAVIE LC, CRISANTI A, HILL AV, WELLEMS TE.** Polymorphisme of the TRAP gene of *Plasmodium falciparum* . Proc R Soc Lond B Biol Sci 1990;242:205-216

- 69 ROBSON KJH, FREVER U, RECKMANN I, COWAN G, BEIER J, SCRAGG IG, TAKEHARA K, BISHOP DHL, PRADEL G, SINDEN R, SACCHEO S, MULLER HM, CRISANTI A.** Thrombospondin related adhesive protein (TRAP) of *Plasmodium falciparum* : expression sporozoite ontogeny and binding to human Hepatocytes. The EMBO Journal 1995;14:3883-3894
- 70 ROGERS WO, MALIK A, MELLOUK S, NAKAMURA K, ROGERS MD, SZARFMAN A, GORDON DM, NUSSLER AK, AIKAWA M, HOFFMAN SL.** Characterization of *Plasmodium falciparum* sporozoite surface protein 2. Proc Natl Acad Sci 1992; 89:9176-9180
- 71 ROMI R, SABATINELLI G, MAJORI G, RALAMBORANTO L, RAVELOARIFERA F, RANAIVO HARIMINA H.** *Plasmodium falciparum* circumsporozoite a antibody prevalence in Madagascar : a longitudinal study in three different epidemiologic areas. Am J Trop Med Hyg 1994;51:856-863
- 72 ROSSI P, BELLI A, MANCINI L, SABATINELLI G.** Enquête longitudinale sur la transmission du paludisme à Ouagadougou (Burkina Faso). Parassitologia 1986;28:1-15
- 73 SABATINELLI G, BOSMAN A, LAMIZANA L, ROSSI P.** Prévalence du paludisme à Ouagadougou et dans le milieu rural limitrophe en période de transmission maximale. Parassitologia 1986;28:17-31
- 74 SALIOU P.** Perspectives de vaccination contre le paludisme Actes de la Conférence Internationale sur les Stratégies de Lutte contre Les Paludismes, OCCGE 1988:97-101

- 75 SCARCELLI E, TOLLE R, KOITA O, DIALLO M, MÜLLER H.M, FRUEH K, BUJARD H.** Analysis of the human antibody response to thrombospondin related adhesive protein (TRAP) of *Plasmodium falciparum*. Infect Immun 1993;61:3490-3495
- 76 SHEAR HL, BROWN J, GYSIN J, JENSEN JB, THARAVANIJ S.** Human and primate malarial sera inhibit Fc receptor-mediated phagocytosis. Am J Trop Med Hyg 1987;36:234-239
- 77 SHEAR HL, NUSSENZWEIG RS, BIANCO C.** Immune phagocytosis in murine malaria. J Exp Med 1979;149:1288-1298
- 78 SCHOFIELD L.** The circumsporozoite protein of *Plasmodium falciparum* : a mechanism of immune evasion by the malaria parasite. Bulletin of the WHO 1990;68:66-72
- 79 STOUTE JA, SLAOUI M, HEPPNER DG, MOMIN P, KESTER K, DESMONS P, WELLDE BT, GARCON N, KRZYCH U, MARCHAND M, BALLOU WR, COHEN JD.** A preliminary evaluation of a recombinant circumsporozoite protein vaccine against *Plasmodium falciparum* malaria. New Engl J Med 1997; 336:86-99
- 80 TOURAY MG, WARBURG A, LAUGHINGHOUSE A, KRETTI AU, MILLER LH.** Developmentally regulated infectivity of malaria sporozoites for mosquito salivary glands and the vertebrate host. J Exp Med 1992;175:1607-1612
- 81 TOUZE JE, LAROCHE R.** Le point sur le symposium international sur le paludisme. Médecine Tropicale 1991;51:481-483

82 TRAPE JF, QUINET MC, NZINGOULA S, SENG A J, TCHICHELE F, CARME B, CANDITO D, MAYANDA H, ZOULANI A. Malaria and urbanization in central Africa : the exemple of Brazzaville. Part V : pernicious attacks and mortality. Trans R Soc Trop Med Hyg 1987;81:34-42

83 U.S DEPARTEMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES. Paludisme : les défis de la lutte contre le paludisme en Afrique. Atlanta, Georgia : USAID 1994;65p

84 VREDEN SG, SAUERWEIN RW, VERHAVE JP, VAN ROOIJEN N, MEUWSEN JH, VAN DEN BROEK MF. Kupffer cell elimination enhances development of liver schizonts of *Plasmodium berghei* in rats. Infect Immun 1993;61:1936-1939

85 VON VORGELET AD. Utilisation des soins de santé en milieu urbain au Burkina Faso Ouagadougou : résultats d'une enquête par interrogatoire de ménages dans la ville de Ouagadougou. Paris 1991;133 p

86 WARRELL DA, MOLYNEUX ME, BEALES PF. Formes graves et compliquées du paludisme deuxième édition. OMS-division de la lutte contre les maladies tropicales. Trans R Soc Trop Med Hyg 1990;84:1-65

87 WEISS L. The spleen in malaria : the role of barrier cells. Immunol letter 1990;25:165-172

ANNEXES

Annexe 1

Détermination de la profondeur du coma

L'échelle de coma présentée ci-dessous (échelle dite de TEASDALE & JENNETT, 1974) est dérivée de celle de Glasgow. Elle est appliquée aux enfants, même à ceux qui ne parlent pas encore [55].

<u>Paramètres à évaluer</u>	<u>Score</u>
a) Meilleure réponse motrice	
- réaction bien localisée à une stimulation douloureuse*	2
- retrait du membre en cas de stimulation douloureuse**	1
- réponse non spécifique ou absente	0
b) Réponse verbale	
- cri normal	2
- gémissement ou cri anormal	1
- pas de réponse	0
c) Mouvements oculaires	
- correctement dirigés (suit le regard de la mère)	1
- non dirigés	0
<hr/> Total	<hr/> 0-5

*Stimulation douloureuse : frottement de la jointure des doigts de l'observateur contre le sternum de l'enfant.

**Stimulation douloureuse : pression exercée à l'aide d'un crayon tenu horizontalement à la base de l'ongle du gros orteil.

Le score va de 0 à 5 : plus il est bas, plus le coma est profond.

Annexe 2

FICHE D'ENQUETE: ETUDE TRAP EN MILIEU PEDIATRIQUE A OUAGADOUGOU

Nom de l'enquêteur : -----

Date -----

I - Renseignements généraux

Numéro d'identification : |__!__!__!__!__!__|

Nom et prénom : -----

Nom de la mère : -----

Nom du père : -----

Date de naissance : |__!__!__!__!__!__| ou âge: -----

Sexe : |__| 1 = masculin 2 = féminin

Niveau de scolarisation de la mère :

analphabète |__|, alphabétisé |__|

primaire |__| secondaire |__| supérieur |__|

Niveau de scolarisation du père :

analphabète |__|, alphabétisée |__|

primaire |__| secondaire |__|, supérieur |__|

Profession du père :-----

Profession de la mère:-----

Ethnie de la mère : -----

Ethnie du père : -----

Province : Kadiogo |__| Autre (préciser) -----

Secteur ou village :-----

Lieu de recrutement -----

Début de la maladie (date) : |__!__!__!__!__!__|

Notion de diarrhée dans la semaine écoulée (Oui, Non) : |__|

Notion de vomissements la semaine écoulée (Oui, Non) : |__|

Consultations dans la semaine écoulée (Oui , Non) : |__|

Antécédents de traitement antipalustre dans la dernière semaine (Oui, Non) : |__|

Si Oui préciser les médicaments : -----

Chimio prophylaxie (Oui, Non) : |__|

Si Oui préciser les médicaments : -----

Utilisation des moustiquaires (Oui, Non) : |__|

Utilisation des rideaux imprégnés (Oui, Non) : |__|

II - Données cliniques et biologiques

Température (°C) : |__!__,!,__|

Poids : |__!__!,__|

Coma (Oui, Non):|__| Si Oui, préciser le score du coma : |__|

Convulsions (oui, non) |__| ; si oui combien de crises dans les dernières 24 h |__|

Prostration (Oui, Non) : |__|

Oedème aigu du poumon/détresse respiratoire (Oui, Non): |__|

Hémorragie spontanée et prolongée (Oui, Non) : |__|

Si Oui préciser siège hémorragie : -----

Infection ORL (Oui, Non) : |__|

Si oui préciser le type : -----

Infection bronchopulmonaire (Oui; Non) : |__|

Si oui préciser le type : -----

Glycémie (mg/dl) : |__!__!__|

Taux d'hémoglobine (g/litre) : -----

Parasitémie :

TF: |__!__!__!__|, SF: |__!__!__!__|, GF: |__!__!__!__|,

TM: |__!__!__!__|, SM: |__!__!__!__|, GM: |__!__!__!__|,

TO: |__!__!__!__|, SO: |__!__!__!__|, GO: |__!__!__!__|.

Espèce parasitaire : -----

Cas-Témoin : |__|

III- Evolution

Guérison |__|

Décès |__|

Inconnue |__|

Date de sortie |__!__!__!__!__!__|

SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des maîtres de cette école et de mes chers condisciples, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la médecine. Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et n'exigerai pas de salaire au dessus de mon travail.

Admis à l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe; ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser les crimes.

Respectueux et reconnaissant envers mes maîtres, je rendrai à leurs enfants ce que j'ai reçu de leurs pères. Que les hommes m'accordent leur estime si je suis resté fidèle à mes promesses, que je sois couvert d'opprobre si j'y manque.

Vu

Le président du Jury

Vu

Le doyen de la F.S.S

Vu et permis d'imprimer

Le recteur de l'Université de Ouagadougou

TITRE : REPONSE IMMUNITAIRE HUMORALE ANTI-TRAP (Thrombospondin Related Adhesive Protein) dans le paludisme à *Plasmodium falciparum* : étude cas-témoins en milieu pédiatrique à Ouagadougou (Burkina Faso).

RESUME:

A Ouagadougou (capitale du Burkina Faso), pendant les saisons de haute transmission palustre (Août-Novembre) de 1993 et 1994, nous avons mené une étude cas-témoins. Elle visait à étudier la réponse immunitaire humorale anti-TRAP dans le paludisme, chez les enfants de 6 mois à 15 ans. Elle a duré 8 mois et a impliqué le service de pédiatrie du CHN-YO (hôpital de référence) et deux centres de santé périphériques de la ville (Saint- Camille et Paul VI).

Le cas (malade atteint de paludisme grave) a été défini selon les critères de gravité de l'OMS. Le témoin (malade atteint de paludisme simple) a été désigné par une température axillaire supérieure ou égale à 38°C avec présence de *Plasmodium falciparum* dans le sang périphérique, sans cause évidente de fièvre.

Au total, mille six cent vingt six (1626) malades ont été recrutés : 734 cas (âge moyen \pm écart-type = $4,6 \pm 3,02$) recrutés dans le service de pédiatrie CHN-YO et 892 témoins (âge moyen \pm écart-type = $4,2 \pm 3,21$) recrutés dans le service de pédiatrie du CHN-YO et surtout dans les deux centres médicaux de la ville.

- L'analyse des résultats n'a pas montré de différence significative entre la séroprévalence anti-TRAP des cas (16,6%) et celle des témoins (15,7%). Il n'y avait pas non plus de différence significative entre les séroprévalences anti-TRAP des cas guéris (16,7%) et celle des cas décédés (14,3%).

Ces résultats n'ont pas confirmé ceux qui ont été antérieurement obtenus à Bamako (Mali) en 1992, où l'équipe avait noté une relation significative entre séroprévalence anti-TRAP basse et gravité du paludisme et une valeur pronostique positive des anticorps anti-TRAP chez les cas.

MOTS CLES : Paludisme grave/ TRAP/ antigènes de P.f / enfants / Burkina Faso.

Auteur : Amadou Tidiani KONATE 01 BP 3727 OUAGADOUGOU 01

Téléphone : 31-13-88