

N° Ordre :.....

UNIVERSITE OUAGA I
Pr JOSEPH KI-ZERBO

ECOLE DOCTORALE
SCIENCES ET TECHNOLOGIES



Département de Biochimie
Microbiologie-Biologie Moléculaire

Année académique: 2016 - 2017

BURKINA FASO

Unité - Progrès - Justice



Unité de Recherche
Clinique de Nanoro (URCN)

Mémoire

Présenté par :

KABORE W.O. Benjamin

Pour l'obtention du

Diplôme d'Etudes Approfondies

en Biologie Moléculaire Appliquée et Enzymologie

Thème :

**Profil des immunoglobulines G (IgG) anti VAR2CSA impliquées
dans la protection contre le paludisme placentaire chez les
femmes enceintes à Nanoro, Burkina Faso**

Soutenu le 27 Décembre 2017, devant le jury composé de :

Directeur de mémoire :

Pr Jacques SIMPORE

Professeur Titulaire, URF-SVT/ UO I-PJKZ

Co-Directeur :

Dr Hermann SORGHO

Chargé de Recherche, IRSS/CNRST

JURY :

Président :

Dr Serge DIAGBOUGA

Directeur de Recherche, IRSS/CNRST

Membres :

- Pr Jacques SIMPORE

Professeur Titulaire, URF-SVT/ UO I-PJKZ

- Dr Hermann SORGHO

Chargé de Recherche, IRSS/CNRST

- Dr Christelle NADEMBEGA

Maître Assistant, UFR-SVT/UOI-PJKZ

Dédicaces

Je dédie ce mémoire à,

Mon père, Jean Claude Pathé KABORE,

Ma courageuse et dévouée mère Gaye Coumba DIOP, qui depuis mon enfance n'a cessé de m'appuyer et conseiller. Elle est sans doute la personne qui a été la plus déterminante dans mes études. Puisse DIEU TOUT PUISSANT lui accorder une longue vie « amen».

A Awa DJAWARRA

A mes frères et sœurs pour leur soutien moral et leur engagement dans les moments subtiles de ma scolarité, vos apports m'ont été inestimables.

*Mes oncles Vincent, Laurent et Michel SEDOGO, pour leur soutien et encouragement sans faille. Leur instruction et leur effort ont compté énormément dans ma vie
« Que Dieu vous bénissent».*

A toute ma famille, merci pour votre soutien.

Remerciements

Au terme de ce travail, je voudrais rendre grâce à DIEU et exprimer mes remerciements à tous ceux qui de près ou de loin ont soutenu et œuvré à son aboutissement.

L'élaboration du présent travail a requis le soutien de nombreuses personnalités et de plusieurs structures, sans lesquelles l'accès aux ressources nécessaires n'aurait été possible.

Ce travail a été réalisé aux Laboratoires de Recherche et de l'Unité de Recherche Clinique de Nanoro (URCN).

Mes plus vifs remerciements s'adressent tout d'abord :

Au Pr Jacques SIMPORE, Professeur Titulaire de Génétique et de Biologie moléculaires à l'Université Ouaga I Pr Joseph KI-ZERBO, Directeur du CERBA/LABIOGENE, Recteur de l'Université Saint Thomas d'Aquin, notre Directeur de mémoire.

Pour votre grande patience à mon égard, vous m'avez initié à la recherche scientifique et accepté de m'encadrer et de diriger ce mémoire malgré vos multiples engagements professionnels.

Nous avons un profond respect en vers vous.

Au Pr Halidou TINTO, Directeur de Recherche, IRSS/CNRST.

Pour m'avoir accueilli dans votre équipe de recherche.

Je vous remercie énormément pour les moyens logistiques, techniques, scientifiques et autres dont j'ai bénéficié enfin de pouvoir réaliser ce travail.

Nous avons une grande admiration à votre égard.

Au Dr Innocent VALEA, Attaché de Recherche, Responsable assurance qualité de l'URCN/IRSS, Directeur du Centre National de Recherche et de Formation sur le Paludisme (CNRFP)

Pour votre soutien sans faille dans la réalisation de ce travail.

Vous n'avez pas hésité un seul instant pour me soutenir.

Vous m'avez énormément aidé à obtenir tous les moyens et financements nécessaires.

Ce travail n'aurait pas pu voir le jour sans votre accompagnement et je vous remercie mille fois.

Vous avez notre éternelle reconnaissance.

Au Dr Serge DIAGBOUGA, Directeur de Recherche, IRSS/CNRST.

Pour avoir accepté de présider notre jury.

Au Dr Maminata TRAORE, Maître de Recherches, Directrice scientifique de l'URCN.

Pour avoir coordonné et dirigé le projet de recherche COSMIC et acceptée de corriger notre travail.

Je remercie également

Dr Hermann SORGHO, Chargé de Recherches à l'IRSS Centre Ouest.

Pour avoir accepté de codiriger et de corriger notre travail.

Dr NADEMBEGA Christelle, Maître Assistant, Université de Ouaga I Pr Joseph KI-ZERBO.

Pour avoir acceptée de juger notre travail

Dr Florencia DJIGMA, Maître-Assistant, Université de Ouaga I Pr Joseph KI-ZERBO

Pour avoir acceptée de corriger notre travail

Magloire NATHAMA, Ingénieur de recherche et responsable des laboratoires de l'URCN/IRSS, pour ton encouragement et ton soutien sans faille, dès que je suis venu t'exposer mon projet de D.E.A. Merci encore pour tous.

Ousmane TRAORE, Ingénieur de recherche, pour avoir supervisé ce travail.

Mais aussi pour tes conseils, ta complicité et ton implication à cœur ouvert et à cœur joie.

Merci d'avoir cru en moi à un moment clé de ma vie, je n'aurais pas pu réaliser ce travail sans ton soutien « Soit récompensé ».

Palpougouni LOMPO, Ingénieur de Recherche Responsable du laboratoire de biologie clinique de Nanaro.

Pour m'avoir soutenu et encouragé.

Ensuite mes gratitude vont :

Au Pr Philippe DELERON, Directeur de l'a Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de l'université Paris Descartes-IRD, Responsable du département d'immunologie à l'institut Pasteur, spécialiste du paludisme.

Pour votre aide précieuse lors de notre quête pour l'acquisition des antigènes pour la réalisation de ce travail. Vous nous avez recommandé au Pr SALANTI, et accepté de conserver nos échantillons à l'IRD-Paris. Pour votre soutien et votre gentillesse recevez nos sincères gratitudees.

Au Pr Ali SALANTI, Professeur d'immunologie et de microbiologie à l'université de Copenhague/DANEMARK-Faculté de Science de la Santé.

Pour votre disponibilité et votre soutien inestimable et sans réserve envers nous.

Vous nous avez donné gracieusement les protéines recombinantes et vous les avez acheminés à Paris. Votre contribution dans la réalisation de ce travail est inestimable.

Recevez ici notre profonde reconnaissance.

Mes sincères remerciements vont encore :

Aux Dr Noel ROUAMBA, Dr Bérenger KABORE, à Paul SONDO, Salou DIALLO pour vos différentes contributions et apports, et surtout pour vos encouragements.

Au Dr Toussaint ROUAMBA, pour m'avoir aidé à analyser les données de notre travail.

Enfin, je remercie

Toute l'équipe de l'URCN, et en particulier mes collègues du laboratoire de recherche clinique, Dissa, Yonli, Sourabie, Hein, Yao, Brama, David, Karim, Sagnon, Daouda, Achile, Karama, Yougbare, pour leurs différentes contributions. Aux Médecins, aux infirmières et infirmiers, aux agents et superviseurs de terrain, à l'équipe du SSDS, du Data-management, du IT management, aux différents partenaires de l'URCN pour leurs implications dans le projet COSMIC.

A toute ma famille, merci pour votre soutien.

Les personnes qui m'ont apporté de l'aide sont nombreuse et je vous assure de ma profonde gratitude.

Table des Matières

Dédicaces	i
Remerciements	ii
Table des Matières	v
Liste des Tableaux et Figures	vii
Sigles et Abréviations	viii
Résumé	ix
Abstract	x
INTRODUCTION	1
1. Objectifs	2
1.1. Objectif principal	2
1.2. Objectifs spécifiques	2
I. GENERALITES SUR LE PALUDISME	3
I.1. Parasites du paludisme	3
I.2. Cycle biologique du parasite	3
I.3. Mode de transmission	5
I.4. Diagnostic biologique du paludisme	5
I.5. Les moyens de lutte contre le paludisme	6
I.6. Paludisme associé à la grossesse	6
I.6.1. Aspect épidémiologique et parasitologique	6
I.6.2. PfEMP-1	7
I.6.3. VAR2CSA	8
I.7. Aspect Immunologique	9
II. MATERIEL ET METHODES	11
II.1. Site de l'étude	11
II.2. Description de l'étude	11
II.2.1. Résumé du projet COSMIC	11
II.2.2. Notre étude	11
II.3. Taille et collecte des échantillons	12
II.4. Considérations éthiques	12
II.5. Analyse de la réponse humorale des participantes	12
II.5.1. Principe de la technique ELISA indirect	13
II.5.2. Procédure d'analyse	13
II.5.2.1. Tampon et solutions	13
II.5.2.2. Mode opératoire	13
II.5.3. Lecture au spectrophotomètre	14

II.6. Analyse statistique des données	15
III. RESULTATS	16
III.1. Caractéristiques générales de la population de l'étude	16
III.1.1. Prévalence du paludisme.....	17
III.1.2. Traitement préventif intermittent par la sulfadoxine pyriméthamine	17
III.2. Analyse de la réponse humorale des femmes enceintes.....	17
III.3. Réponse anticorps VAR2CSA en fonction de la gestité	18
III.4. Réponse anticorps VAR2CSA et infection à <i>P. falciparum</i>	19
III.5. Réponse anticorps VAR2CSA et traitement préventif intermittent par la sulfadoxine pyriméthamine (TPI-SP)	20
IV. DISCUSSION	22
IV.1. Réactivité des IgG anti-domaines DBL5 et ID1-ID2a.....	22
IV.2. Influence de la gestité sur les niveaux d'anticorps VAR2CSA	22
IV.3. Influence des niveaux d'anticorps VAR2CSA sur l'infection à <i>P. falciparum</i>	24
IV.4. Influence du traitement préventif intermittent par la Sulfadoxine-Pyriméthamine (TPI-SP) sur les niveaux de production d'anticorps anti-VAR2CSA.	25
V. CONCLUSION ET PERSPECTIVES	27
V.1. Conclusion	
V.2. Perspectives	27
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	Erreur ! Signet non défini.

Liste des Tableaux et Figures

Liste des Tableaux

Tableau I : Caractéristiques générales de la population de l'étude.....	16
Tableau II : Réponses anticorps VAR2CSA en fonction de la gestité.....	19
Tableau III : Réponses anticorps anti-VAR2CSA en fonction de la présence ou absence d'une infection à <i>P. falciparum</i>	21
Tableau IV : Réponses anticorps anti-VAR2CSA en fonction du nombre de doses SP reçues.....	21

Liste des Figures

Figure 1 : Cycle de développement de <i>P. falciparum</i> chez l'homme et chez l'anophèle.	5
Figure 2 : Antigènes de surface du globule rouge parasité par <i>P. falciparum</i> et structure de la protéine PfEMP1	8
Figure 3 : Niveaux des immunoglobulines anti-domaines VAR2CSA.....	18

Sigles et Abréviations

AT	: Agent de Terrain
ASC	: Assistant de Santé Communautaire
AVS	: Antigène Variant de Surface
COSMIC	: Community-based scheduled screening and treatment of malaria in pregnancy for improved maternal and infant health
CPN	: Consultation Périnatale
CSA	: Chondroïtine Sulfate A
DBL	: Duffy Binding Like
ELISA	: Enzyme Linked Immunosorbent Assay
EI	: Erythrocytes Infectés
ID1-ID2a	: Inter-Domaine 1- Inter-Domaine 2a
IgG	: Immunoglobuline G
OMS	: Organisation Mondiale de la Santé
PBS	: Phosphate Buffer Salin
PfEMP1	: <i>Plasmodium falciparum</i> Erythrocyte Membrane Proteine 1
SSDS	: Système de Surveillance Démographique et de Santé
SP	: Sulfadoxine-Pyrimétamine
TPIg	: Traitement Préventif Intermittent pendant la grossesse
VAR2CSA	: Variable Antigène de Surface 2- Chondroïtine Sulfate A

Résumé

Le paludisme placentaire causé par la séquestration des érythrocytes infectés par *P. falciparum* dans le placenta, constitue un risque majeur de morbidité maternelle et un mauvais pronostic pour l'issue de la grossesse. Les femmes enceintes développent des anticorps protecteurs spécifiques aux antigènes variables de surface des érythrocytes infectés par *P.falciparum*. La cible majeure de ces anticorps dans le plasma des femmes enceintes infectées est VAR2CSA (Variant Antigen 2 Chondroïtine Sulfate A)

L'objectif de cette étude était d'analyser le profil des immunoglobulines G et des sous-classes IgG1 et IgG3 dirigées contre les domaines DBL5 et ID1-ID2a de VAR2CSA afin de déterminer leur rôle dans l'acquisition de l'immunité contre le paludisme placentaire chez les femmes enceintes au cours du 3^{ème} trimestre de la grossesse.

Dans cette étude, la technique ELISA a été utilisée pour mesurer et comparer les niveaux d'immunoglobuline G (IgG) et sous-classes IgG1 et IgG3 dans le plasma des femmes enceintes en fonction de la gestité, de l'infection palustre et du nombre de dose desulfadoxine-pyrimétamine (SP) reçu.

Au total, 270 femmes âgées de 15 à 42 ans ont été incluses dans cette étude entre le 05 Janvier et le 09 Novembre 2015. Les femmes multigestes représentaient 81,9 % de la population d'étude, tandis que les primigestes représentaient 18,1 %.

Les résultats de notre étude ont permis de montrer que les niveaux de production des anticorps IgG1 dirigés contre les domaines cibles de VAR2CSA dépendaient de la gestité.

Les niveaux élevés d'anticorps IgG1 et d'une manière moindre les IgG3 dirigées contre les domaines DBL5 et ID1-ID2a retrouvés chez les primigestes infectés, suggère un rôle protecteur de ces anticorps.

Le traitement préventif intermittent à la sulfadoxine-pyrimétamine ne semble pas avoir d'influence sur les niveaux de production d'anticorps chez les femmes enceintes.

Les domaines DBL5 de VAR2CSA pourraient présenter un avantage biologique intéressant dans le développement d'un candidat-vaccin contre le paludisme placentaire.

Mots-clés : Paludisme, grossesse, Immunoglobulines G (IgG), VAR2CSA.

Abstract

Placental malaria caused by sequestration of *Plasmodium falciparum*-infected erythrocytes in the placenta constitutes a major risk of maternal morbidity and a poor prognosis for pregnancy outcome. Pregnant women develop protective antibodies specific for the variable surface antigens of erythrocytes infected with *P. falciparum*. The major target of these antibodies in the plasma of infected pregnant women is VAR2CSA (Variant Antigen 2 Chondroitin Sulfate A)

The objective of this study was to analyze the profiles of the IgG and IgG1 and IgG3 subclass directed against the DBL5 and ID1-ID2a domains of VAR2CSA to determine their role in the acquisition of immunity against placenta malaria in pregnant women during the 3rd trimester of pregnancy.

In this study, the ELISA technique was used to measure and compare IgG, IgG1 and IgG3 levels in pregnant women's plasma according to pregnancy, malaria infection, and number of patient's dose of sulfadoxine-pyrimetamine (SP) received.

A total of 270 women aged 15 to 42 years were included in this study between 05th January and 09th November 2015. Multi-female women accounted for 81.9% of the study population, while primigest women accounted for 18.1%. %.

The results of our study showed that levels of IgG1 antibody production directed against VAR2CSA target domains depended on gestationality.

The high levels of IgG1 antibodies and, to a lesser extent, IgG3 directed against the DBL5 and ID1-ID2a domains found in infected primigests, suggests a protective role for these antibodies.

Intermittent preventive treatment with sulfadoxine-pyrimetamine does not appear to influence antibody production levels in pregnant women.

The DBL5 domains of VAR2CSA may have an interesting biological advantage in the development of a candidate vaccine against placental malaria in this study, the ELISA technique was used to measure and compare antibody levels in the plasma of pregnant women with malaria infection and intermittent preventive treatment with sulfadoxine-pyrimetamine (IPT-SP) according to the gravidity.

Keys words: Malaria, Pregnancy, Immunoglobulin G (IgG), VAR2CSA.

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Le paludisme chez la femme enceinte de par son ampleur et ces conséquences sur la femme et le fœtus demeure un problème majeur de santé publique en Afrique sub-saharienne (WHO 2016).

En effet, on dénombre environs, 32 millions de grossesses chaque année dans cette partie du monde, exposant celles-ci à un risque plus élevé de contracter le paludisme.

Parmi les facteurs de risque maternels liés au paludisme pendant la grossesse on peut citer l'âge de la mère, la parité et l'âge de la gestation. Indépendamment de la parité, les jeunes femmes enceintes (en particulier les adolescentes) sont plus à risque de contracter le paludisme que les femmes enceintes plus âgées (Desai *et al.*, 2007).

Dans les zones où le paludisme est endémique, les primipares sont à un niveau de risque plus élevé de contracter le paludisme comparativement aux multipares (Kalilani *et al.*, 2010).

Dans les zones où le paludisme est endémique, les primipares sont à un niveau de risque plus élevé comparativement aux multipares (Kalilani, Mofolo *et al.* 2010).

Enfin, il est connu depuis bien longtemps que le paludisme associé à la grossesse (PAG) est caractérisé par la séquestration des érythrocytes infectés par le *P.falciparum* dans le placenta.

Le facteur majeur dans la photogénèse du paludisme gestationnel réside dans la capacité des érythrocytes infectés par les formes matures de *P. falciparum* à être séquestrés dans le placenta (Megnekou, Staalsoe *et al.* 2005, Costa, Avril *et al.* 2006).

Cette séquestration est attribuée à l'interaction entre les protéines parasitaires exprimées à la surface des érythrocytes infectés et les récepteurs placentaires localisés sur le syncytiotrophoblastes (Fried and Duffy 1996).

Parmi ces protéines parasitaires exprimées à la surface des érythrocytes infectés, VAR2CSA est la protéine majeure impliquée dans le phénomène de séquestration. Cet antigène fait l'objet de plusieurs études pour une meilleure compréhension et une amélioration de la prise en charge du paludisme au cours de la grossesse. La protéine VAR2CSA est très polymorphe, et ses différents variants partagent des sites antigéniques communs, ce qui fait de lui un candidat-vaccin potentiel contre le paludisme placentaire (Barfod, Dobrilovic *et al.* 2010).

Par ailleurs, des études ont permis d'identifier les immunoglobulines G (IgG) anti VAR2CSA comme étant les anticorps impliqués dans l'acquisition de l'immunité contre le paludisme associé à la grossesse (Hviid 2005, Tuikue Ndam, Salanti *et al.* 2006).

Les anticorps cytophyliques IgG1 et IgG3 sont les principales sous-classes d'immunoglobines impliquées dans cette protection (Megnekou, Staalsoe et al. 2005). Elles sont responsables de l'élimination des pathogènes à travers leur capacité d'opsonisation, de sensibilisation des cellules NK, et de l'activation du système du complément (Mina-Osorio and Ortega 2004).

Ces anticorps spécifiques s'acquièrent au fil des grossesses, expliquant ainsi la susceptibilité plus accrue chez les femmes lors des premières grossesses.

Depuis l'utilisation des mesures préventives contre le paludisme, l'acquisition des anticorps antiparasitaires placentaires semble être réduite grâce à la diminution de l'incidence du paludisme pendant la grossesse, ce qui retarderait l'installation d'une immunité antipalustre protectrice (Diouf, Tine et al. 2011).

Le but de cette étude est d'analyser au cours du troisième trimestre de la grossesse, le profil des IgG et des sous-classes IgG1 et IgG3 dirigées contre 2 domaines de la protéine VAR2CSA, fortement immunogènes et qui seraient impliqués dans la protection contre le paludisme placentaire.

Dans notre étude nous allons montrer comment les niveaux de production des immunoglobulines G et ces sous-classes IgG1 et IgG3 spécifiques à la protéine VAR2CSA influencent la susceptibilité des femmes enceintes au paludisme au cours du troisième trimestre de la grossesse en fonction de la gestité et du nombre de doses de sulfadoxine-pyrimétamine (SP) reçues.

1. Objectifs

1.1. Objectif principal

L'objectif principal est d'analyser le profil des immunoglobulines G (IgG) et des sous-classes IgG1 et IgG3 dirigées contre les domaines DBL5 et ID1-ID2a de l'antigène VAR2CSA afin de déterminer leur rôle dans la susceptibilité des femmes enceintes au paludisme au cours de la grossesse.

1.2. Objectifs spécifiques

- ✓ Mesurer les niveaux d'IgG et sous-classes IgG1 et IgG3 anti-VAR2CSA ;
- ✓ Comparer les niveaux d'IgG et sous-classes IgG1 et IgG3 chez les femmes enceintes en fonction de la gestité.
- ✓ Comparer les niveaux d'IgG et sous-classes IgG1 et IgG3 chez les femmes enceintes en fonction de la présence ou absence de paludisme à *Plasmodium falciparum*.

- ✓ Comparer les niveaux d'IgG et sous-classes IgG1 et IgG3 chez les femmes enceintes en fonction de la prise du traitement préventif intermittent à la sulfadoxine-pyriméthamine.

GENERALITES

I. GENERALITES SUR LE PALUDISME

Il existe de très nombreuses espèces de *Plasmodium* (plus de 140) parasites des vertébrés, mais seulement 5 espèces infectent l'homme : *P. falciparum*, *P. malariae*, *P. ovale*, *P. vivax* et *P. knowlesi*.

Plasmodium falciparum est responsable d'environ 80 % des infections de tous les cas de paludisme ainsi que 90% des décès(WHO 2016). Cette espèce plasmodiale est très rependue dans les régions d'Afrique tropicale, d'Amérique latine, et d'Asie. *P. vivax* est largement repartit sur tous les continents sauf en Afrique de l'Ouest et Centrale, à cause de l'absence du récepteur du facteur Duffy, chez les populations d'Afrique noire(Mercereau-Puijalon and Ménard 2011).

Plasmodium ovale est une espèce plus rare et est présent surtout en Afrique Centrale et de l'Ouest et dans certaines régions du Pacifique et provoque une fièvre tierce bénigne, comme *P. vivax* dont il est très proche.

P. malariae sévit en Afrique tropicale avec quelques foyers en Afrique du Nord mais aussi en Amérique Centrale et du Sud et en Asie (Iran). Quant à *P. knowlesi*, il sévit en Asie du Sud Est (particulièrement en Malaisie, à Bornéo), en zone forestière car il est étroitement lié à la répartition des singes macaques, son hôte habituel et de son vecteur piquant l'homme et le singe. Il est morphologiquement proche de *P. malariae*. Il se différencie des autres espèces par un cycle érythrocytaire de 24 heures responsable d'une fièvre quotidienne.

I.1. Parasites du paludisme

Les parasites du paludisme encore appelées *Plasmodium* sont des protozoaires parasites de 1 à 2 μm , appartenant à l'embranchement des *Apicomplexa*, à la sous-classe des *Hematozoa*, à l'ordre des *Haemosporida* et à la famille des *Plasmodidae*(Talman, Domarle et al. 2004).

La coloration au May-Grünwald-Giemsa montre qu'il est constitué d'un cytoplasme bleu pâle entourant une vacuole nutritive claire, d'un noyau rouge et d'un pigment brun-doré ou noir (hémozoïne).

I.2. Cycle biologique du parasite

Le cycle biologique du parasite est complexe (**Figure1**). Il est caractérisé par une reproduction asexuée chez un hôte vertébré (hôte intermédiaire), suivi d'une reproduction sexuée chez l'Anophèle femelle (hôte définitif).

- **Cycle chez l'anophèle**

L'anophèle femelle ingère des gamétocytes de *Plasmodium* lors d'un repas sanguin sur un individu infecté. Ceux-ci migrent vers l'estomac du moustique et se transforment en gamètes (mâles et femelles). Par un processus d'exflagellation du gamète mâle, les gamètes femelles sont fécondés et il en résulte un zygote mobile appelé ookinète. Celui-ci s'implante sous la paroi stomacale en formant un oocyste sphérique. Après une division méiotique suivie par plusieurs mitoses, les sporozoïtes sont générés. Ils se libèrent après éclatement de l'oocyste pour se concentrer au niveau des glandes salivaires en attendant la prochaine piqûre infectante. Ce cycle se déroule entre 10 à 40 jours, suivant la température extérieure et les espèces en cause (Talman, Domarle et al. 2004).

- **Cycle chez l'homme**

Au cours de son repas sanguin, l'anophèle infecté injecte avec sa salive des centaines de sporozoïtes. Ils restent environ une demi-heure dans la circulation sanguine avant de gagner le foie, où ils se développent : c'est la phase hépatique ou pré-érythrocytaire.

- **Phase pré-érythrocytaire**

Au cours de cette phase, les sporozoïtes libérés par l'anophèle envahissent les hépatocytes et prennent le nom de cryptozoïtes. Après environ une semaine de maturation et de division, ils se transforment en schizontes, forme mature du parasite d'environ 40 à 100µm et contenant quelques milliers de noyaux, appelés corps bleus. L'éclatement du schizonte libère de nombreux mérozoïtes qui passent dans la circulation sanguine pour entamer la phase sanguine ou phase érythrocytaire. Le cycle pré-érythrocytaire dure en moyenne 6 jours pour *P.falciparum*, 8 jours pour *P.vivax*, 8-9 jours pour *P.knowlesi*, 9 jours pour *P. ovale* et 13 jours pour *P.malariae*.

- **Phase érythrocytaire**

Au cours de cette phase, les mérozoïtes envahissent les érythrocytes et se transforment en trophozoïtes. Chaque phase érythrocytaire dure 48 heures pour *P.vivax*, *P.ovale* et *P.falciparum*, 72 heures pour *P.malariae*, et 24 heures pour *P.knowlesi*, rythmant ainsi les accès fébriles tels que la fièvre tierce ou quarte pour certaines espèces. Après plusieurs cycles schizogoniques, certains trophozoïtes vont être détournés du cycle érythrocytaire pour former les gamétocytes, première étape d'une phase sexuée ou sporogonique chez l'hématozoaire. Les

gamétocytes continueront leur développement s'ils sont absorbés par un anophèle femelle lors de son repas sanguin pour continuer leur développement en entamant un nouveau cycle.

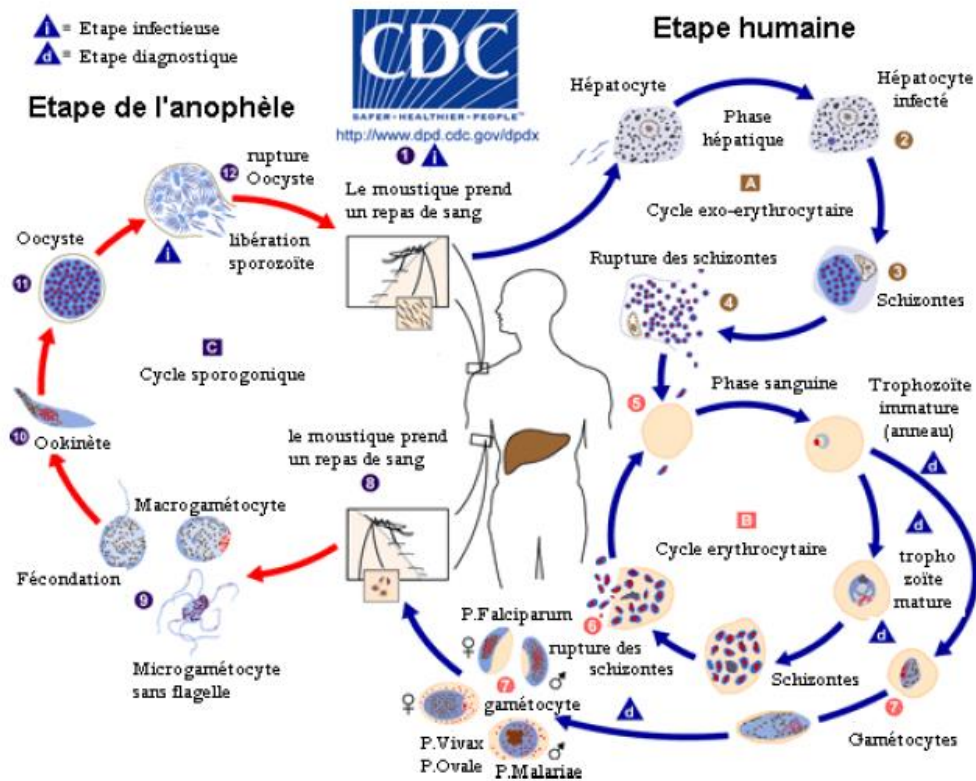


Figure 1 : Cycle de développement de *P. falciparum* chez l'homme et chez l'anophèle.

Source: http://www.dpd.cdc.gov/DPDx/HTML/Image_Library/malariaLifeCycle (consulté le 16/08/2017)

I.3. Mode de transmission

Le paludisme est transmis, par la piqûre d'un moustique, l'anophèle femelle. La phase sanguine du cycle rend possible d'autres modes de contamination : transmission congénitale, transfusionnelle, par greffe d'organe ou transmission accidentelle chez des personnels de santé manipulant du sang contaminé.

I.4. Diagnostic biologique du paludisme

Le diagnostic biologique du paludisme est basé sur les techniques classiques de la goutte épaisse (GE) et du frottis sanguin (FS). Mais au fil du temps d'autres méthodes de diagnostic ont été développées. On peut citer la Quantitative Buffy Coat (QBC) l'utilisation d'un fluorochrome (l'acridine orange) pour fixer les noyaux des parasites ou les méthodes ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay) de détection d'anticorps produits suite à l'infection. Ces dernières années, les tests de détection rapide du *Plasmodium* (TDR) ont connu une

utilisation à grande échelle du fait de leur facilité d'exécution et de leurs sensibilités élevées. Les TDR se reposent sur la détection d'anticorps ou d'antigènes plasmodiaux par immunochromatographie.

Enfin, il y a les techniques de détection de l'ADN parasite par PCR (réaction de polymérisation en chaîne), qui constitue la technique de référence surtout pour la confirmation de l'espèce plasmodiale.

I.5. Les moyens de lutte contre le paludisme

Au fil de l'histoire plusieurs méthodes de contrôle du paludisme ont été développées mais les méthodes les plus utilisées de nos jours sont le traitement à base de médicaments antipaludiques et la lutte anti-vectorielle. La recherche de vaccins antipaludiques a connue des avancées notables cette dernière décennie avec des candidats vaccins tels que RTS,S(Ellis, Sagara et al. 2014).

Cependant, le seul candidat vaccin prometteur pour la prévention du paludisme pendant la grossesse est VAR2CSA (Fried and Duffy 2015) .

I.6. Paludisme associé à la grossesse

I.6.1. Aspect épidémiologique et parasitologique

L'OMS estime que 32 millions de femmes enceintes seraient exposées chaque année au paludisme (WHO 2016). L'intensité de la transmission du paludisme dans une zone géographique donnée détermine l'effet du paludisme sur la grossesse.

Dans les zones de forte transmission, le risque d'infection palustre est élevé chez les femmes primigestes comparées aux multigestes en raison d'une immunité protectrice acquise par ces dernières au cours des grossesses successives impaludées (Desai, ter Kuile et al. 2007).

Les infections sont le plus souvent asymptomatiques et les accès graves sont rares.

Les conséquences du paludisme sur de la grossesse sont essentiellement l'anémie maternelle et le faible poids à la naissance des nouveau-nés (Nosten, Rogerson et al. 2004).

Tandis que dans les zones de faible transmission où les femmes en âge de procréer ont une immunité acquise relativement faible contre le *P.falciparum*, les formes cliniques du paludisme associé à la grossesse sont souvent symptomatiques avec des accès graves, à une anémie sévère et à un risque plus élevé de faible poids de naissance. Les infections palustres entraîneraient des fausses couches spontanées, une prématurité et des mort-nés (Nosten, Rogerson et al. 2004). Pour les femmes enceintes pour la première fois, la réduction du poids à la naissance des nouveau-nés est d'environ 2/3 des cas d'infection observés avec

P.falciparum, mais l'effet semble augmenter avec les grossesses suivantes pour des infections avec *P.vivax*.

Dans ces zones toutes les femmes enceintes quelque que soit leur parité sont concernées par l'infection palustre.

Le paludisme placentaire est caractérisé par une séquestration et une cytoadhérence des érythrocytes infectés par *P. falciparum* dans le placenta.

Lors de l'invasion érythrocytaire, le parasite exprime un facteur de virulence, la protéine PfEMP1, qui est exporté à la surface de la cellule hôte (Flick and Chen 2004). Le tropisme des érythrocytes infectés pour le placenta a été attribué à leur capacité d'adhérence de PfEMP1 à la CSA, sucre présent sur des protéoglycanes localisés dans le placenta (Rowe and Kyes 2004). Le gène surexprimé et impliqué spécifiquement dans l'adhérence de PfEMP1 à la CSA chez les femmes enceintes est VARCSA.

I.6.2. PfEMP-1

C'est une protéine de 200 à 350 kDa codée par la grande famille des multi gènes *var* (60 copies de gènes par génome haploïde) (Chan, Fowkes et al. 2014).

Bien que très polymorphe, elle montre un certain niveau de conservation dans sa structure principale. Elle est constituée d'un nombre variable de domaines Duffy Binding Like (DBL), d'une ou deux régions Cysteine Rich Inter-Domain (CIDR), de domaines C2, d'un domaine transmembranaire (TM) et d'un segment terminal acide (ATS) intracellulaire assez conservé (Smith, Subramanian et al. 2000). Sur la base de leur séquence d'acides aminés, 6 classes de domaines DBL (α , β , γ , δ , ϵ et κ) et 3 classes de domaines CIDR (α , β et γ) ont été proposées (Rask, Hansen et al. 2010).

Les protéines *var* sont différentes les unes des autres par le nombre et le type de domaine DBL et CIDR (Semblat, Raza et al. 2006). On observe en effet, des associations préférentielles entre les divers domaines DBL α et CIDR α . Le site de liaison du récepteur ICAM-1 avec PfEMP-1 réside dans le domaine DBL2 β et la région C2 (Chattopadhyay, Taneja et al. 2004), alors que le site de liaison de CD36 est mise en correspondance avec la région CIDR α (Baruch, Ma et al. 1997). Le site de liaison de la CSA (Chondroïtine Sulfate A) avec les parasites associés à la grossesse se situe entre le domaine DBL1-DBL3 de PfEMP-1 (Srivastava, Gangnard et al. 2011).

En présence d'une immunité antérieure contre un variant de PfEMP-1, le système immunitaire est capable d'inhiber l'adhérence des érythrocytes infectés. Le parasite va changer et exprimer un autre gène *var* de manière à échapper à l'immunité existante. Cette commutation de

l'expression des gènes *var* à la surface des érythrocytes infectés n'a pas seulement pour conséquence de modifier le phénotype d'adhérence des érythrocytes infectés, mais aussi de perturber le développement des anticorps capables d'interférer avec PfEMP-1. Cela contribue à une construction plus lente de l'immunité naturelle acquise contre *P.falciparum* (Hviid 2005). La protéine PfEMP-1 est donc essentielle dans la pathogenèse du paludisme à *P.falciparum* et dans l'induction d'une immunité spécifique.

Les gènes *var* peuvent être classés en 5 groupes majeurs (A-E), basés sur les polymorphismes observés dans les séquences des régions non codantes UPS (Upstream Promoter Sequence) et des régions codantes (Salanti, Resende et al. 2010). Le seul membre du groupe E, var2CSA, est relativement conservé et est associé au phénotype des parasites impliqués dans le paludisme placentaire (Salanti, Resende et al. 2010).

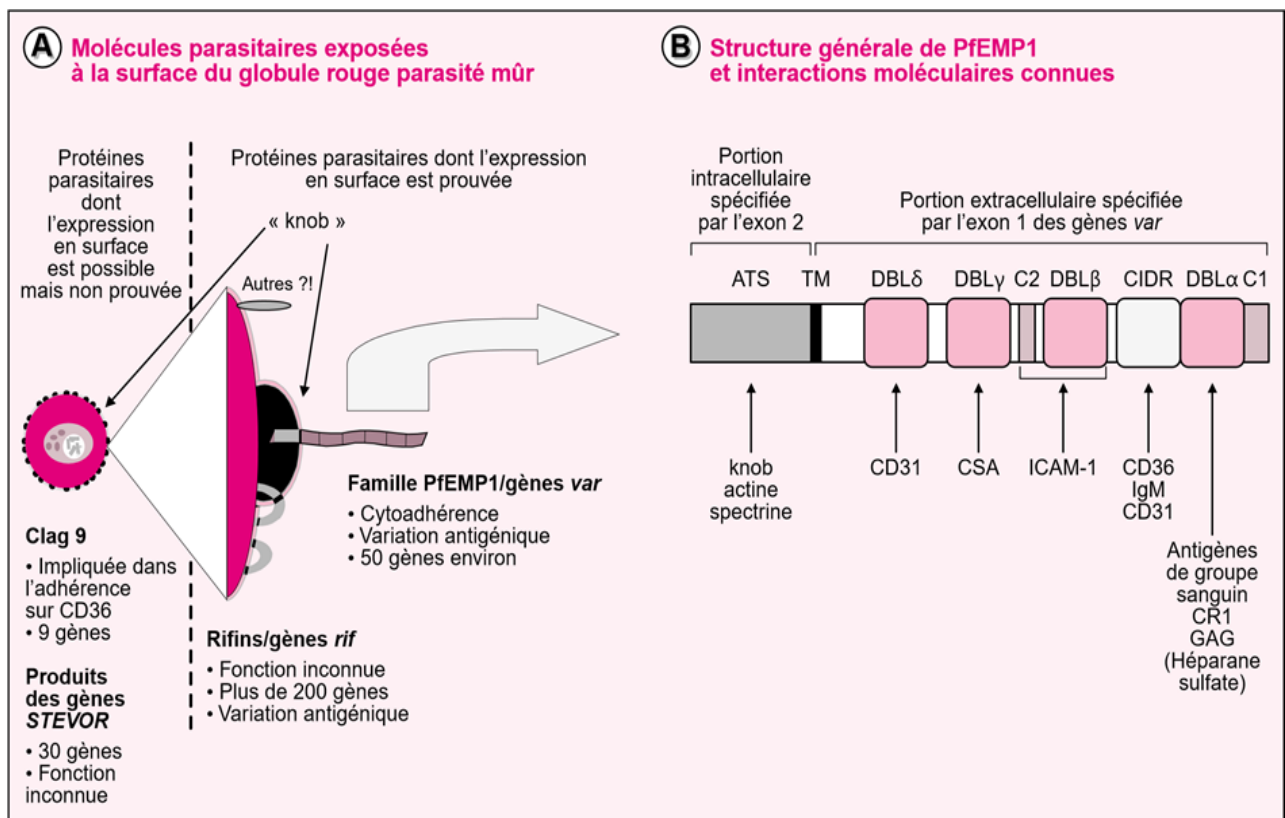


Figure 2 : Antigènes de surface du globule rouge parasité par *P. falciparum* et structure de la protéine PfEMP1.

Source : (Buffet and Scherf 2001).

I.6.3. VAR2CSA

C'est un gène d'environ 350 kDa, composé de 6 domaines DBL et des régions TM et ATS. Les domaines DBL sont de type α et ϵ (DBL1 α , DBL2 α , DBL3 α , et DBL4 ϵ , DBL5 ϵ ,

DBL6ε). Les domaines DBL de type x sont intercalés par des Inter-Domains (ID) riches en cystéine de taille variable qu'on ne retrouve pas dans les autres gènes *var* (Fried and Duffy 2015).

Certains domaines recombinants de VAR2CSA ont été utilisés pour montrer que VAR2CSA est reconnu par les anticorps IgG des plasmas de femmes enceintes vivants dans des zones endémiques de façon parité et sexe spécifique dépendant.

Des sérums immuns dirigés contre les domaines VAR2CSA sont capables de se lier sélectivement à la CSA (Salanti, Dahlback et al. 2004).

Les niveaux élevés d'anticorps anti-VAR2CSA ont été associés à un risque réduit de faible poids de naissance des nouveau-nés (Salanti, Dahlback et al. 2004).

La spécificité de VAR2CSA à la CSA est due aux domaines DBL, dont plusieurs seraient impliqués dans la cytoadhésion des érythrocytes infectés aux tissus trophoblastiques du placenta.

L'élucidation des mécanismes de cytoadhérence des érythrocytes parasités dans le placenta ont permis d'identifier les domaines qui pourraient intervenir dans la conception d'un vaccin contre le paludisme placentaire (Clausen, Christoffersen et al. 2012). La capacité inhibitrice des IgG anti-domaine VAR2CSA a été également démontrée (Tuikue Ndam, Salanti et al. 2006). Ces domaines auraient des propriétés immunogènes importantes dans la stimulation des réponses immunitaires spécifiques contre le paludisme associé à la grossesse.

Les anticorps dirigés contre ces domaines inhiberaient l'adhésion des érythrocytes parasités à la CSA. La protéine VAR2CSA semble être la cible prédominante de l'acquisition naturelle de l'immunité spécifique protectrice contre le paludisme placentaire.

I.7.Aspect Immunologique

Les effets néfastes du paludisme pendant la grossesse sont bien documentés, mais les mécanismes immunologiques qui y sont impliqués sont relativement méconnus.

Durant la grossesse, le système immunitaire maternel est modulé pour favoriser le développement de l'allogreffé fœtale (Kanellopoulos-Langevin, Caucheteux et al. 2003, Mor and Cardenas 2010). Cette immuno-modulation se traduit par une baisse de l'immunité, rendant ainsi les femmes enceintes plus susceptibles aux infections palustres.

Dans les zones où le paludisme est endémique les primipares sont à un niveau de risque plus élevé que les multipares, alors que cela n'est pas le cas chez les sujets vivant dans les zones épidémiques (Hamer, Singh et al. 2009, Rijken, McGready et al. 2012). La prémunition contre le paludisme, s'acquière de façon lente et progressive après une exposition répétée. Chez les

femmes enceintes il se développe une immunité mémoire spécifique contre VAR2CSA en fonction du nombre de grossesses. Ceci explique la susceptibilité des femmes primipares plus accrues à l'infection. Cette mémoire immunologique est composée, d'une part de réponses cellulaires caractérisées par une production élevée de cytokines spécifique des souches parasitaires adhérant à la CSA (Fivet 2002) et d'autre part, des réponses humorales spécifiques caractérisées par des concentrations élevées d'anticorps inhibant l'adhérence des érythrocytes infectés dans le placenta (Tuikue Ndam, Salanti et al. 2006). Les niveaux d'anticorps élevés contre les domaines de la protéine VAR2CSA varient en fonction du niveau de transmission et sont associés à une absence d'infection placentaire chez la femme enceinte (Tutterrow, Avril et al. 2012). L'immunité protectrice contre le paludisme associé à la grossesse nécessite une régulation des réponses cellulaires effectrices par la production d'anticorps, de cytokines et de chimiokines. L'activité des cytokines placentaires modulent la fonction des cellules présentatrices d'anticorps en inhibant ou en stimulant l'expression de molécules à la surface des cellules immunitaires (monocytes, cellules dendritiques, macrophages).

MATERIELS ET METHODES

II. MATERIEL ET METHODES

II.1. Site de l'étude

L'étude a été conduite dans la zone de couverture du système de surveillance démographique et de santé (SSDS) de l'Unité de Recherche Clinique de Nanoro (URCN).

Nanoro est situé à 85 km de Ouagadougou dans la région du centre-ouest.

La base de données du recensement du SSDS de 2016a enregistré 166683 personnes (soit 125 habitants/km²). Les principaux vecteurs de transmission du paludisme dans la zone sont *Anopheles gambiaes.s et arabiensis*. Le parasite prédominant est *P. falciparum* et la transmission du paludisme est intense et saisonnière et coïncide avec la saison des pluies de Juin à Octobre avec un pic au tour d'Octobre à Novembre (Sondo, Derra et al. 2016).

II.2. Description de l'étude

II.2.1. Résumé du projet COSMIC

Cette étude a testé l'hypothèse selon laquelle le dépistage et le traitement programmé à base communautaire (CSST) était plus efficace que le traitement préventif intermittent à la sulfadoxine-pyriméthamine (TPIg-SP) de routine pour la prévention du paludisme pendant la grossesse (Scott, Mens et al. 2014). Il s'agit d'un essai clinique multicentrique contrôlé randomisé en grappe à deux bras qui a concerné 5400 femmes enceintes enrôlées à leur première consultation prénatale (CPN).

Dans le bras d'intervention, en plus du TPIg-SP, les agents de santé communautaire (ASC) effectuaient entre les CPN des tests de dépistage rapide mensuel jusqu'à la dernière semaine de la gestation et toutes les femmes testées positives étaient traitées à l'Artémether Luméfantrine.

A l'accouchement, une biopsie du placenta était réalisée pour la détection des infections placentaires et le poids du nouveau-né enregistré. A chaque contact, un échantillon de sang était recueilli sur des lames pour la GE/FS et papier filtre PCR pour le diagnostic microscopique et moléculaire du paludisme et la détection des marqueurs de résistance à la SP. Pour les femmes qui accouchaient à domicile, les informations ainsi que les prélèvements biologiques (goutte épaisse) étaient collectés par des agents de terrain (AT).

II.2.2. Notre étude

Il s'agit d'une étude transversale descriptive, ancillaire au projet COSMIC chez des femmes enceintes vues en consultations prénatale (CPN) au troisième trimestre de la grossesse dans le district sanitaire de Nanoro. Les participantes provenaient toutes du bras contrôle de la visite

CPN3 de l'étude COSMIC ayant donné un consentement éclairé. Elles ont bénéficié d'un examen clinique réalisé par les infirmières de notre équipe de recherche et les antécédents de maladies, les informations cliniques et les traitements étaient notifiés et consignés sur un formulaire de report des cas (CRF).

II.3. Taille et collecte des échantillons

Au total 270 femmes enceintes ont été enrôlées entre le 05 Janvier et le 09 Novembre 2015. Chez chaque participante, du sang veineux a été collecté dans des tubes stériles contenant de l'EDTA. Après la centrifugation du sang total à 1500 rpm pendant 10 mn à 4°C, 2ml de plasma ont été utilisés pour la détection d'une infection du paludisme et le reste du plasma stocké à -80°C pour la mesure ultérieure des niveaux d'IgG spécifiques à VAR2CSA. La taille minimale de l'échantillon a été calculée en considérant que la prévalence du paludisme placentaire était de 24% dans la zone de l'étude (Natama *et al.*, 2017) avec un niveau de confiance de 95% et une marge d'erreur de 5% selon la formule précédemment décrite (OMS 1991).

$$n = \frac{t^2 \times p(1-p)}{m^2}$$

II.4. Considérations éthiques

Le protocole de l'étude COSMIC a obtenu l'approbation du comité d'éthique institutionnel du Centre Muraz du Burkina Faso le 19 Septembre 2013 (Réf. A 20-2013/CE-CM).

La participation à l'étude était volontaire et précédée par l'obtention d'un consentement libre et éclairé de toutes les participantes. Tous les cas d'infection palustre détectés pendant notre étude ont été traités avec les antipaludiques recommandés au Burkina Faso.

II.5. Analyse de la réponse humorale des participantes

Les niveaux de production d'anticorps IgG et des sous-classes IgG1 et IgG3 spécifiques des domaines VAR2CSA ont été mesurés par la technique de l'ELISA indirect.

Antigène VAR2CSA : les domaines ID1-ID2a-FCR3 (75kDa) et DBL5-FCR3 (50kDa) produites à l'Université de Copenhague (Danemark) ont été utilisées dans cette étude.

ID1-ID2a-FCR3 a été produit dans des cellules d'*Escherichia Coli* et purifié par la méthode IEX suivi d'une exclusion de taille. DBL5 quand à lui a été produit dans des cellules d'insectes infectées par des *Baculovirus* SF9 et purifié par la méthode His-tag suivi d'une exclusion de taille.

II.5.1. Principe de la technique ELISA indirect

Le principe du test est basé sur une réaction immuno-enzymatique.

L'antigène spécifique de l'anticorps recherché est préalablement immobilisé sur une plaque de microtitration et va permettre la capture de l'anticorps recherché.

Le complexe immun anticorps antigène ainsi formé est ensuite détecté par l'ajout d'un second anticorps anti IgG humaines couplés à la peroxydase de raifort (HRP, horseradish peroxydase).

En présence de son substrat chromogène le TMB (3,3', 5,5'-Tétraméthylbenzidine), l'enzyme va catalyser son oxydation pour former un complexe de couleur bleue.

La réaction est ensuite arrêtée par l'addition d'acide sulfurique (H₂SO₄) dilué qui fait virer la réaction du bleu au jaune. L'intensité de la coloration obtenue est proportionnelle à la concentration d'anticorps recherchée dont l'absorbance peut être mesurée par spectrophotométrie.

II.5.2.Procédure d'analyse

Tous les réactifs et échantillons ont été ramenés à la température ambiante du laboratoire (18°-25°C) avant leurs utilisations.

II.5.2.1. Tampon et solutions

- Eau distillée
- Tampon PBS pH 7,2(Sigma-P4417).
- Tampon de lavage : solution PBS pH 7,2avec 0,05% de Tween 20TM (Thermofischer - 28352).
- Tampon de dilution et de blocage : PBS pH 7,2 avec 2% de lait écrémé.

II.5.2.2. Mode opératoire

- 1- Distribuer 50µl de solution d'antigène diluée avec une solution tampon PBS (phosphate buffer salin) pH 7,2 à la concentration finale de 1µg/ml dans chaque puits de la plaque (Thermo ScientificTM - 439454); couvrir la plaque avec un film adhésif et incuber pendant 24 heures à 4°C.
- 2- Retirer le film adhésif et verser le contenu des puits et les laver trois fois avec 300µl de solution tampon de lavage.

- 3- Bloquer les sites de fixation de l'antigène non occupés en ajoutant 200µl de solution de blocage dans chaque puits, couvrir la plaque avec un film adhésif et incuber à 4°C pendant 1 heure.
- 4- Arrêter la réaction de blocage, renverser le contenu de chaque puits et ne pas laver.
- 5- Distribuer dans chaque puits 100µl de plasma humain à la concentration optimale pour chaque mesure (1:100 pour le dosage des IgG totaux et 1:50 pour les IgG1 et IgG3), puis couvrir la plaque et incuber à 37°C pendant 1 heure.
- 6- Renverser le contenu des puits et les laver 3 fois.
- 7- Ajouter dans chaque puits 100µl d'anticorps secondaire anti-IgG humaines couplées au HRP, puis couvrir la plaque et incuber à 37°C pendant 1 heure. Les anticorps secondaires ont été respectivement dilués avec une solution tampon de dilution au 1:10000 pour les anticorps de chèvre anti-IgG humaines couplées au HRP (A24470, Life Technology, USA), au 1:2000 pour les anticorps secondaires de souris anti-IgG1 humaines conjuguées au HRP (clone: HP6069, Life Technology, USA) et au 1:1000 pour les anticorps secondaires de souris anti-IgG3 humaines couplées au HRP (clone: HP6047, Life Technology, USA).
- 8- Renverser le contenu des puits et les laver 3 fois.
- 9- Ajouter 100µl de solution de TMB (34022, Thermo Scientific) dans tous les puits, couvrir la plaque et incuber pendant 30mn à l'obscurité à la température ambiante.
- 10- Ajouter 100µl de solution d'arrêt d'acide sulfurique (H₂SO₄ 2M ; Sigma Aldrich-435589) dans chaque puits et lire les densités optiques à 450 nm contre une référence de 620nm entre 10 à 15mn après l'arrêt de la réaction.

II.5.3. Lecture au spectrophotomètre

La lecture des densités optique (DO) a été mesurée avec un lecteur spectrophotomètre Thermo Scientific Multiskan FC doté d'un filtre de 450 nm et de 620 nm, piloté par le logiciel SkanIt®. La déviation standard entre les duplicatas a été fixée à 15%.

La densité optique de chaque échantillon est obtenue en enlevant de la moyenne des duplicatas, la moyenne des puits sans antigène. Le résultat est ensuite converti en unité arbitraire (UA) selon la formule :

$$UA \text{ de l'échantillon} = \frac{[DO \text{ échantillon}]}{[DO \text{ témoin positif}]}$$

Un pool de plasma de 6 hommes vivants dans la zone d'étude a servis de témoins négatifs et ceux de 12 femmes enceintes qui ont montrés une haute réaction avec les antigènes testés ont été utilisés comme témoins positifs.

Les sujets dont les résultats en UA étaient supérieurs à ceux de la moyenne des témoins négatifs plus 2 fois l'écart-type (2SD) ont été considérés comme séropositives.

II.6. Analyse statistique des données

Les données ont été saisies sur un fichier Excel® et analysées à l'aide du logiciel R core Team 3.3.1®. La proportion des séropositives a été déterminée et des comparaisons entre les niveaux d'anticorps IgG et sous-classes IgG1 et IgG3 ont été également effectuée en stratifiant sur la gestité (primigestes et multigestes).

Pour la description de notre population d'étude, nous avons utilisé les proportions pour résumer les variables qualitatives à l'aide du test *t* de Student et de Fischer. Quant aux variables quantitatives, la moyenne (déviation standard) a été utilisée dans le cas où nous avons une distribution normale et dans le cas contraire nous avons utilisé la médiane, puis les intervalles interquartiles en utilisant le test de Wilcoxon.

Le seuil de signification des tests statistiques a été fixé à $p < 0,05$.

RESULTATS

III. RESULTATS

III.1. Caractéristiques générales de la population de l'étude

Notre population était composée de 270 femmes enceintes provenant du bras contrôle de l'étude COSMIC.

Les primigestes représentaient 18,1% des femmes (49/270) avec un âge moyen de 19 ans (15 ans minimum ; 21 ans maximum) ; 75% de ces femmes avaient plus de 19 ans et les 25% avaient moins de 18 ans. Les multigestes étaient les plus nombreuses avec 81,9 % des femmes (221/270) et leur âge moyen était de 27ans (18 ans minimum ; 42 ans maximum).

Soixante-quinze pour cent (75%) des femmes multigestes avaient plus de 30 ans et les 25% avaient moins de 23 ans.

Les secondigestes représentaient 20,4%, celles qui avaient entre 3 et 5 grossesses 48,7% et celles qui avaient plus de 5 grossesses 14,8%.

La différence d'âge entre les primigestes et les multigestes était statistiquement significative ($p=0,001$). Le nombre moyen de grossesses chez les multigestes était de 4 grossesses (2 grossesses minimum et 11 grossesses maximum). La majorité des femmes de cette étude ont affirmé avoir utilisé des moustiquaires imprégnées d'insecticide, soit 86,36% des primigestes et 92,74% des multigestes. Les résultats sont résumés dans le **Tableau I**.

Tableau I: Caractéristiques générales de la population de l'étude

Caractéristiques	Primigestes (n=49)	Multigestes (n=221)	p value
% Femmes	18,1	81,9	-
Age (année) ^a	18 (18-19)	26 (23-30)	<0,001
Gestité ^a	1	4 (3-5)	-
Secondigeste (n, %)	-	55 (20,4%)	-
Gestation 3-5 (n, %)	-	126 (46,7%)	-
Gestation > 5 (n, %)	-	40 (14,8%)	-
% des femmes utilisant des MII	86,36	92,74	-
% du Paludisme à <i>P. falciparum</i> durant l'étude			
Au moins une fois	26,53	14,93	0,003
Plus d'une fois	12,24	4,52	0,762
A la CPN3	18,36	13,57	0,945
% PM+ ^b à l'accouchement	63,88	52,77	0,633
No. Dose SP ^a	3(2-4)	3(2-4)	0,663
0-2	26,53	28,95	
> 2	73,46	71,04	

^aMoyenne, Intervalle Interquartile ; ^bPaludisme Placentaire

III.1.1.Prévalence du paludisme

La prévalence du paludisme à *P.falciparum* était plus élevée chez les primigestes comparativement aux multigestes. Au cours de la troisième consultation prénatale (CPN3), 13,57% (30/221) des multigestes avaient une goutte épaisse positive contre 18,36% (9/49) des primigestes. Plus de 26,53% (13/49) des primigestes ont contracté au moins une fois le paludisme au cours de leurs grossesses, contre 14,93% (33/221) des multigestes ($p = 0,003$).

Par contre, celles qui ont contracté le paludisme plus d'une fois au cours de l'étude étaient d'environ 12,36% (6/49) chez les primigestes contre 4,52% (10/221) chez les multigestes.

Similairement à la tendance observée pour le paludisme simple, l'analyse des biopsies placentaires réalisée à l'accouchement, a montré la même tendance (63,88% pour les primigestes contre 52,77% pour les multigestes). Ici aussi, la différence n'était pas statistiquement significative ($p=0,633$). Il faut noter aussi qu'on ne disposait pas des résultats de la biopsie placentaire exploitables chez 54 femmes (13 primigestes et 41 multigestes):-

III.1.2.Traitement préventif intermittent à la sulfadoxine-pyriméthamine

En moyenne, le nombre de dose de sulfadoxine-pyriméthamine administré aux deux groupes de femme était de 3 doses. Plus de 75% des femmes ont reçu au moins 4 doses de SP et moins de 25% ont reçu moins de 2 doses.

Parmi les primigestes, seule une femme sur les 49 a reçu une dose de SP, dû à son recrutement tardif. Le nombre de dose minimal de TPI-SP recommandé par l'OMS est d'au moins 2 doses. Plus de soixante-treize pour cent (73,46%) des primigestes et 70,58% des multigestes ont reçu au moins 2 doses de SP. Aucune différence significative n'a été observée entre les deux groupes de femmes en termes de traitement préventif antipaludique administré ($p=0,66$).

III.2. Analyse de la réponse humorale des femmes enceintes

Les résultats de l'analyse de la réponse anticorps dirigée contre les antigènes plasmodiales inclus dans notre étude sont présentés dans la Figure 3. D'une manière générale, un plus grand nombre de femmes ont présenté une réponse positive dirigée contre le domaine DBL5 comparativement au nombre de femme ayant une réponse positive anti-domaine ID1-ID2a. Aussi, le nombre de femmes qui avaient une réponse positive au IgG3 anti-DBL5 étaient significativement plus élevé par rapport au nombre de femmes ayant une réponse positive IgG3 anti-ID1-ID2a ($p=0,016$) Les réponses observées étaient par contre similaires pour les IgG totaux et IgG1.

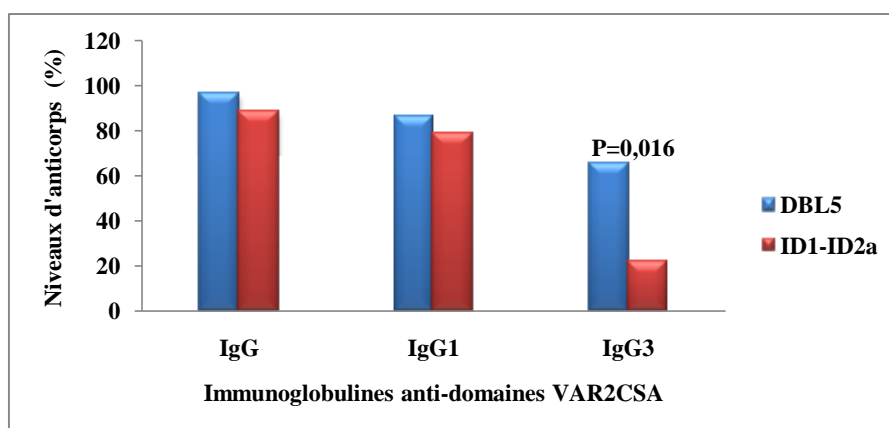


Figure 3: Niveaux des immunoglobulines anti-domaines VAR2CSA

III.3. Réponse anticorps VAR2CSA en fonction de la gestité

Le **Tableau II** présente les titres d'anticorps IgG, IgG1 et IgG3 dirigés contre les domaines DBL5 et ID1-ID2a de VAR2CSA des femmes enceintes en fonction de la gestité.

Les titres moyens d'anticorps IgG anti-DBL5 et anti-ID1-ID2a étaient respectivement $0,97 \pm 0,29$ UA et $0,77 \pm 0,28$ UA pour les primigestes contre respectivement $1,03 \pm 0,28$ UA et $0,89 \pm 0,317$ UA pour les multigestes.

L'analyse des données a révélé que la moyenne de production des niveaux d'IgG des multigestes était plus élevée par rapport aux primigestes. La différence n'était pas statistiquement significative ($p = 0,249$ pour les IgG anti-DBL5 et $p = 0,240$ pour les IgG anti-ID1-ID2a).

Cette similarité dans la production d'anticorps a été aussi observée avec les IgG3 quel que soit le nombre de gestes considéré ($p = 0,528$ pour les IgG3 anti-DBL5 et $p = 0,639$ pour les IgG3 anti-ID1-ID2a).

Par contre pour les IgG1, la différence des moyennes de production d'anticorps était significative ($p < 0,001$ pour les IgG1 anti-DBL5 et $p = 0,004$ pour les IgG1 anti-ID1-ID2a respectivement). Les niveaux de productions moyennes d'anticorps chez les primigestes étaient aussi inférieurs à ceux des multigestes.

Tableau II: Réponses anticorps VAR2CSA en fonction de la gestité

Réponse anticorps	Gestité		p value
	Primigestes (n = 49)	Multigestes (n = 221)	
DBL5 UA (SD)			
IgG	0,97 ± 0,29	1,03 ± 0,28	0,249
IgG1	1,67 ± 1,73	3,02 ± 2,25	<0,001
IgG3	0,77 ± 1,81	1,12 ± 2,3	0,528
ID1-ID2a UA (SD)			
IgG	0,77 ± 0,28	0,89 ± 0,31	0,240
IgG1	1,73 ± 1,99	3,67 ± 4,49	0,004
IgG3	0,20 ± 0,23	0,29 ± 0,45	0,639

III.4. Réponse anticorps VAR2CSA et infection à *P. falciparum*

Nous avons analysé la relation entre les niveaux moyens de production d'IgG dirigées contre les 2 domaines de VAR2CSA avec la présence ou l'absence du paludisme à *P. falciparum* en fonction de la gestité. Globalement, quel que soit l'antigène ou la classe d'immunoglobuline considéré, les femmes qui avaient une infection active avaient des titres d'anticorps plus élevés que celles qui étaient non-infectées (**Tableau III**).

- **Chez les femmes primigestes**

Une comparaison de la moyenne des titres des IgG totaux entre les primigestes ayant ou non une infection active par *P. falciparum* au troisième trimestre de leur grossesse a montré que les primigestes infectés avaient une réactivité plus élevée comparativement aux non-infectées même si la différence n'était pas significative ($p=0,313$ pour les IgG anti-DBL5 et $p=0,584$ pour les IgG anti-ID1-ID2a).

La réponse IgG3 anti-domaine ID1-ID2a est similaire à celle des IgG totaux avec des titres moyens de $0,17 \pm 0,18$ UA et $0,34 \pm 0,37$ UA.

Par contre cette différence de réactivité était significativement plus élevée quand on considère les réponses IgG3 anti-DBL5 et IgG1 anti-DBL5 et anti-ID1-ID2a (respectivement $p=0,018$, $p=0,009$ et $p=0,021$).

- **Chez les femmes multigestes**

A l'instar des résultats observés chez les primigestes, nos résultats ont montré que les niveaux de production des anticorps des multigestes infectées par *P. falciparum* étaient plus élevés que ceux observés parmi les primigestes. Les titres les plus élevés ont été observés avec les titres d'anticorps anti-IgG1 ($3,47 \pm 0,79$ UA pour DBL5 et $4,92 \pm 6,15$ UA pour ID1-ID2a respectivement). Cependant aucune différence statistiquement significative n'a été trouvée dans toutes les comparaisons faites entre multigestes infectées et non-infectées (**Tableau III**).

III.5. Réponse anticorps VAR2CSA et traitement préventif intermittent par la sulfadoxine pyriméthamine (TPI-SP)

Le traitement préventif intermittent par la sulfadoxine-pyriméthamine protège les femmes enceintes contre les infections palustres et réduit par cela même l'exposition au parasite. Ainsi, nous avons analysé les différences des titres d'anticorps dirigées contre nos antigènes cibles en fonction du nombre de prises de SP rapportée par les femmes.

L'ensemble des résultats sont présentés dans le Tableau IV. A la différence du nombre de gestes ou de l'infection palustre dont les analyses sont montrées plus haut, le traitement préventif intermittent ne semble pas influencer la production d'anticorps par les femmes enceintes. Les titres d'IgG totaux ou d'IgG1 et IgG3 sont très proches avec une légère supériorité des titres chez les femmes ayant pris plus de deux traitements avant le troisième trimestre de leur grossesse (**Tableau IV**). Le seul cas où nous avons une différence statistiquement significative est la comparaison des titres IgG1 anti-DBL5 chez les multigestes ($p = 0,012$).

Tableau III: Réponses anticorps anti-VAR2CSA en fonction de la présence ou absence d'une infection à *P. falciparum*

Réponse Anticorps	Primigestes		p value	Multigestes		p value
	Non-infectées (n=40)	Infectées (n=9)		Non-infectées (n = 191)	Infectées (n = 30)	
DBL5 UA (SD)						
IgG	0,96± 0,25	1,01± 0,23	0,313	1,04± 0,24	1,005± 0,20	0,461
IgG1	1,26± 1,20	3,47±2,55	0,009	2,95± 2,16	3,47± 0,79	0,412
IgG3	0,60± 1,87	1,54± 1,34	0,018	1,03± 2,08	1,67± 3,34	0,764
ID1-ID2a UA (SD)						
IgG	0,771± 0,2	0,81± 0,31	0,584	0,87± 0,30	0,99± 0,35	0,080
IgG1	1,38± 1,66	3,25± 2,67	0,021	3,48±4,16	4,92±6,15	0,197
IgG3	0,17± 0,18	0,34± 0,37	0,154	0,29± 0,4)	0,24± 0,39	0,937

Tableau IV: Réponses anticorps anti-VAR2CSA en fonction du nombre de doses SP reçues

Réponse Anticorps	Primigestes		P value	Multigestes		p value
	≤ 2 Dose SP (n = 13)	> 2 Dose SP (n = 36)		≤2 de Dose SP (n = 65)	> 2 Dose SP (n = 156)	
DBL5 UA (SD)						
IgG	0,89 ± 0,31	1,00 ± 0,21	0,239	1,02 ± 0,20	1,04 ± 0,25	0,423
IgG1	1,77 ± 2,33	1,64 ±1,51	0,851	3,66 ±2,43	2,77 ± 2,14	0,012
IgG3	0,70 ± 1,66	0,80 ± 0,85	0,854	1,62 ± 2,72	0,91 ± 2,06	0,063
ID1-ID2a UA (SD)						
IgG	0,69±0,32	0,80±0,26	0,272	0,93±0,32	0,87±0,31	0,171
IgG1	1,72±2,24	1,73±1,92	0,982	4,55±50	3,31±4,42	0,081
IgG3	0,18±0,19	0,20±0,24	0,702	0,28±0,46	0,29±0,45	0,943

DISCUSSION

IV. DISCUSSION

L'objectif principal de cette étude était d'analyser le profil des immunoglobulines G et des sous classes IgG1 et IgG3 anti-VAR2CSA afin de déterminer leur rôle dans la susceptibilité des femmes au paludisme au cours de la grossesse.

Dans cette étude, nous avons voulu vérifier si les niveaux de production des anticorps IgG et des sous-classes IgG1 et IgG3 spécifiques à VAR2CSA avaient une influence sur la susceptibilité des femmes enceintes au paludisme au cours du 3^{ème} trimestre de la grossesse en fonction du nombre de geste et du traitement préventif à la sulfadoxine-pyriméthamine.

Les données de cette étude ont montré d'une part, que la gestité avait une influence sur les niveaux de production des anticorps IgG1 anti-VAR2CSA. D'autre part, que les primigestes infectées par *P.falciparum* ont présenté des niveaux élevés d'anticorps IgG1 principalement et d'une manière moindre des anticorps IgG3 dirigés contre les domaines VAR2CSA impliqués dans la protection contre le paludisme gestationnel. De plus, le traitement préventif intermittent à la sulfadoxine-pyriméthamine ne semble pas influencer la production d'anticorps par les femmes enceintes

IV.1. Réactivité des IgG anti-domaines DBL5 et ID1-ID2a

Les femmes enceintes ont présenté des niveaux de productions d'anticorps IgG et sous-classes IgG1 et IgG3 anti-domaine DBL5 élevés comparativement au domaine ID1-ID2a.

Cela s'expliquerait par le fait que DBL5 est un domaine immuno-dominant de la protéine VAR2CSA. Il existerait en son sein des sites hautement conservés et est plus impliqué dans la réponse immunitaire dirigée contre le paludisme placentaire (Guitard, Andersen et al. 2010).

IV.2. Influence de la gestité sur les niveaux d'anticorps VAR2CSA

Nos résultats montrent que les titres moyens de production des IgG anti-VAR2CSA des primigestes étaient inférieurs à ceux des multigestes.

Babakhanyan et al, ont fait le même constat en ce qui concerne les IgG anti-ID1-ID2a (Babakhanyan, Leke et al. 2014). Ces auteurs ont suggéré que cela reflèterait la réponse du sujet humain à cet antigène car il existerait des hauts niveaux de réactivité anti-ID1-ID2a réactifs au sein de la population générale.

Par contre, plusieurs études ont démontré que les IgG anti-DBL5 étaient dépendants de la parité (Megnekou, Staalsoe et al. 2005, Tuikue Ndam, Salanti et al. 2006, Tuikue Ndam, Denoed-Ndam et al. 2015). Ces anticorps s'acquerraient au cours des grossesses successives.

Nous avons également observé qu'il n'y avait pas aussi de différence significative en ce qui concerne les niveaux moyens de production d'IgG3 entre les multigestes et les primigestes.

Toutes fois, les niveaux d'IgG3 étaient légèrement élevés en faveur des multigestes.

Un résultat similaire a été rapporté dans une étude menée au Cameroun par Magnekou *et al.*, (Megnekou, Staalsoe et al. 2005). Les mêmes auteurs avaient trouvé une différence statistiquement significative entre les niveaux moyens de production des IgG3 des multigestes comparés aux primigestes à Yaoundé (zone de faible transmission) et le contraire à Etoa (zone de forte transmission). Ils ont démontré qu'il y avait une corrélation entre la parité et les niveaux d'anticorps anti-AVS spécifiques avec le degré d'endémicité.

En effet, dans notre zone d'étude, la transmission du paludisme à *P.falciparum* est intense et extrêmement saisonnière ; elle coïncide avec la saison des pluies avec de forts taux d'infections. Dans un tel contexte, les primigestes pourraient rapidement développer une immunité protectrice contre le paludisme placentaire.

L'analyse de nos résultats a montré que les multigestes présentaient des titres moyens de productions d'IgG1 plus élevés que les primigestes. La différence était statistiquement significative. La même conclusion avait été faite par (Megnekou, Staalsoe et al. 2005).

Les IgG1 spécifiques aux antigènes variant de surface associés au paludisme placentaire seraient directement impliqués dans l'acquisition de l'immunité produite contre les effets adverses du paludisme placentaire.

De plus, nos résultats montrent que seuls les niveaux d'IgG1 étaient prédominants.

Cela est conforme aux résultats de Magnekou et al., (Megnekou, Staalsoe et al. 2005).

Les IgG1 sont des anticorps cytophyliques et interviendraient dans les phénomènes d'opsonisation des érythrocytes infectés par *P.falciparum*, ce qui est un élément important dans le contrôle de la parasitémie placentaire et interfèreraient aussi avec l'adhésion des érythrocytes infectés aux protéoglycanes placentaire.

Cela semble être logique car dans la littérature près de 66% des IgG plasmatiques sont constituées par les immunoglobulines de la sous-classe IgG1 (ELEPHANT E. 2012).

Par contre dans l'étude menée par Guitard et al, (Guitard, Cottrell et al. 2008), c'était plutôt la sous-classe d'IgG3 qui était les anticorps prédominants.

Magnekou et al., (Megnekou, Staalsoe et al. 2005) avaient démontré que la production d'IgG3 était inversement proportionnelle à l'âge gestationnel; tandis que celle des IgG1 semble augmenter avec l'âge gestationnel. Cela est en accord avec nos résultats puisque la collecte de nos échantillons a été effectuée au 3^{ème} trimestre de la grossesse.

Globalement nos résultats ont montré que les multigestes avaient des niveaux d'IgG, d'IgG1 et IgG3 anti-VAR2CSA élevés par rapport aux primigestes. Cette augmentation d'anticorps chez les multigestes s'expliquerait par l'acquisition d'anticorps protecteurs contre le paludisme placentaire au cours des grossesses successives.

Cependant, seule la sous-classe d'IgG1 a présenté une différence statistiquement significative entre les multigestes et les primigestes. Suggérant ainsi que les IgG1 joueraient un rôle prédominant dans l'acquisition de l'immunité humorale contre les infections des parasites du paludisme placentaire (Megnekou, Staalsoe et al. 2005).

IV.3. Influence des niveaux d'anticorps VAR2CSA sur l'infection à *P.falciparum*

- **Chez les multigestes**

Nos résultats montrent qu'il n'y avait pas de différence statistique significative entre les niveaux d'anticorps IgG et les niveaux des sous-classes IgG1 et IgG3 anti domaines DBL5 et ID1-ID2a des multigestes infectées et non-infectées. Ces résultats s'expliquent par le fait que les multigestes ont développés une immunité protectrice contre le paludisme placentaire au cours des grossesses successives. Des résultats similaires ont été présentés par Elliot et al. (Elliott, Brennan et al. 2005). Mais ils avaient considéré l'infection placentaire à l'accouchement au lieu de l'infection palustre du sang périphérique.

- **Chez les primigestes**

L'analyse de nos résultats a révélée aussi que les niveaux de production d'IgG3 des primigestes infectées étaient plus élevés par rapport à celles qui n'étaient pas infectées.

La différence était statistiquement significative pour les IgG3 anti-DBL5 ($p=0,018$), par contre elle n'était pas significative pour les IgG3 anti-ID1-ID2a ($p=0,154$).

Nos résultats avaient déjà montré que la séroprévalence des IgG3 anti ID1-ID2a était faible par rapport à celle des IgG3 anti-DBL5. Le domaine DBL5 est spécifique à la grossesse et donc de l'immunité anti-DBL5 qui s'installe au fil des grossesses.

Tandis que l'immunité anti-ID1-ID2a semble être présente au sein de la population générale (Babakhanyan, Leke et al. 2014).

Nous avons aussi observé chez les primigestes infectées, des niveaux élevés d'IgG1 anti-VAR2CSA par rapport aux primigestes non-infectées. De plus, les primigestes sont plus susceptibles à l'infection du paludisme que les multigestes. Elles ont présentés aussi plus d'infection placentaire à l'accouchement que les multigestes, même si la différence n'a pas atteint une significativité statistique. Cela suggère que les anticorps IgG1 principalement, et

d'une manière moindre les IgG3 anti-VAR2CSA joueraient un rôle important dans l'induction de l'immunité protectrice contre le paludisme gestationnel (Megnekou, Staalsoe et al. 2005).

IV.4. Influence du traitement préventif intermittent par la Sulfadoxine-Pyriméthamine (TPI-SP) sur les niveaux de production d'anticorps anti-VAR2CSA.

L'influence directe du traitement préventif intermittent par la sulfadoxine-pyriméthamine sur les niveaux d'anticorps anti-VAR2CSA est très peu connue. La plupart des études ont porté plus son sur l'acquisition des anticorps dirigés contre l'adhésion de la CSA avec la surface des érythrocytes infectés (Staalsoe, Megnekou et al. 2001) ou sur les anticorps anti-DBL5 chez des primigestes seules ou une combinaison de primigestes et de multigestes (Diouf, Tine et al. 2011). Ces anticorps pouvaient soit diminuer (Diouf, Tine et al. 2011) ou soit rester inchangés (Serra-Casas, Menéndez et al. 2010) chez les femmes recevant le traitement préventif intermittent à la sulfadoxine-pyriméthamine.

Babakhanyan et al. (Babakhanyan, Leke et al. 2014) ont suggéré que l'impact du traitement préventif intermittent par la sulfadoxine-pyriméthamine pouvait changer dans des conditions géographiques différentes et nécessitait plus d'investigation.

L'analyse de nos résultats ont montré que le traitement préventif intermittent par la SP n'a pas d'influence sur les niveaux d'anticorps dirigés contre les domaines DBL5 et ID1-ID2a chez les primigestes. Il n'y avait pas de différence statistiquement significative entre les niveaux d'anticorps IgG des primigestes ayant reçu des doses de SP inférieures ou égales à deux doses et celles qui ont reçu plus de deux doses de SP. Ces résultats sont contraire à ceux rapportés dans l'étude de Staalsoe et al. (Staalsoe, Shulman et al. 2004) en ce qui concerne les titres d'IgG totaux. Ces auteurs ont démontré que le TPI avec la SP interférait avec l'acquisition de l'immunité protectrice contre le paludisme à *P.falciparum* associé à la grossesse chez les primigestes en réduisant le niveau d'IgG dans le plasma. Dans cette même étude, ils ont utilisé des isolats placentaires de *P. falciparum* différents de ceux utilisés dans notre étude.

Le nombre de dose de SP n'a pas eu d'influence sur les niveaux de production d'IgG anti-DBL5 et anti-ID1-ID2a ($p=0,423$ et $p=0,171$ respectivement).

Des résultats similaires ont été trouvés en ce qui concerne les niveaux d'IgG3 dirigés contre les domaines DBL5 et ID1-ID2a chez les femmes enceintes ayant reçu des doses de SP inférieures ou égales à deux doses et celles ayant reçu plus de deux doses de SP ($p=0,063$ et $p=0,943$ respectivement).

L'influence du traitement préventif intermittent par la SP sur les niveaux anticorps des sous-classes IgG1 et IgG3 est encore peu étudié donc mal connue.

Nos données montrent que les niveaux d'anticorps IgG1 étaient plus élevés chez les multigestes ayant reçu moins de deux doses de SP. Mais la différence n'était pas statistiquement significative pour les IgG1 anti-ID1-ID2a ($p=0,081$), par contre elle était statistiquement significative pour les IgG1 anti-DBL5 ($p=0,012$). Les niveaux d'anticorps IgG1 anti-DBL5 a diminué avec le nombre de dose de SP chez les multigestes.

Ces données suggèrent que des doses multiples de SP interfèreraient avec l'acquisition d'anticorps IgG1 anti-DBL5 protecteurs contre le paludisme placentaire à *P.falciparum* chez les multigestes.

Dans notre étude, plus de la majorité des femmes ont confirmé utiliser des moustiquaires imprégnées d'insecticide et son incidence sur l'acquisition des anticorps n'a pas été pris en compte. Une étude prospective est souhaitable pour pouvoir évaluer l'impact de l'utilisation des moustiquaires imprégnées d'insecticide et du traitement préventif intermittent sur l'acquisition des anticorps impliqués dans la protection contre le paludisme placentaire.

CONCLUSION

V. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

V.1. Conclusion

Les résultats de cette étude nous ont permis d'analyser le profil immunitaire des IgG anti-VAR2CSA de la femme enceinte pendant la grossesse. Elle nous a permis de montrer que les niveaux d'anticorps de la sous-classe IgG1 augmentaient avec la gestité au cours du troisième trimestre de la grossesse. Les primigestes infectés ont présenté des niveaux de production d'anticorps IgG1 et IgG3 élevés, suggérant que ces anticorps anti domaines VAR2CSA joueraient un rôle important dans l'acquisition de l'immunité protectrice contre le paludisme gestationnel. L'implémentation du traitement préventif intermittent par la sulfadoxine peryméthamine ne semble pas avoir une influence sur les niveaux de production d'anticorps anti-VAR2CSA chez les femmes enceintes en zone endémique.

Les résultats de cette étude soutiennent l'utilisation de ces 2 domaines VAR2CSA dans la recherche d'un candidat-vaccin contre le paludisme placentaire de la femme enceinte.

V.2. Perspectives

Les résultats fournis par la présente étude permettent d'envisager les perspectives suivantes :

- Analyser le profil des immunoglobulines G (IgG) à différentes étapes de la grossesse (au 1^{er}, 2^{ème} trimestre de la grossesse et à l'accouchement) pour une analyse détaillée du profil immunitaire de ces anticorps impliqués dans la protection contre le paludisme placentaire.
- Evaluer l'impact de l'utilisation des moustiquaires imprégnées d'insecticide à longue durée d'action et du traitement préventif intermittent sur l'acquisition des anticorps impliqués dans la protection contre le paludisme placentaire chez les femmes enceintes.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Babakhanyan, A., R. G. Leke, A. Salanti, N. Bobbili, P. Gwanmesia, R. J. Leke, I. A. Quakyi, J. J. Chen and D. W. Taylor (2014). "The antibody response of pregnant Cameroonian women to VAR2CSA ID1-ID2a, a small recombinant protein containing the CSA-binding site." PLoS One **9**(2): e88173.
- Barfod, L., T. Dobrilovic, P. Magistrado, P. Khunrae, F. Viwami, J. Bruun, M. Dahlback, N. L. Bernasconi, M. Fried, D. John, P. E. Duffy, A. Salanti, A. Lanzavecchia, C. T. Lim, N. T. Ndam, M. K. Higgins and L. Hviid (2010). "Chondroitin sulfate A-adhering Plasmodium falciparum-infected erythrocytes express functionally important antibody epitopes shared by multiple variants." J Immunol **185**(12): 7553-7561.
- Baruch, D. I., X. C. Ma, H. B. Singh, X. Bi, B. L. Pasloske and R. J. Howard (1997). "Identification of a region of PfEMP1 that mediates adherence of Plasmodium falciparum infected erythrocytes to CD36: conserved function with variant sequence." Blood **90**(9): 3766-3775.
- Buffet, P. A. and A. Scherf (2001). "Pathogénie du paludisme gestationnel." Médecine Science **17**: 1017-1016.
- Chan, J. A., F. J. Fowkes and J. G. Beeson (2014). "Surface antigens of Plasmodium falciparum-infected erythrocytes as immune targets and malaria vaccine candidates." Cell Mol Life Sci **71**(19): 3633-3657.
- Chattopadhyay, R., T. Taneja, K. Chakrabarti, C. R. Pillai and C. E. Chitnis (2004). "Molecular analysis of the cytoadherence phenotype of a Plasmodium falciparum field isolate that binds intercellular adhesion molecule-1." Mol Biochem Parasitol **133**(2): 255-265.
- Clausen, T. M., S. Christoffersen, M. Dahlbäck, A. E. Langkilde, K. E. Jensen, M. Resende, M. Ø. Agerbæk, D. Andersen, B. Berisha, S. B. Ditlev, V. V. Pinto, M. A. Nielsen, T. G. Theander, S. Larsen and A. Salanti (2012). "Structural and Functional Insight into How the Plasmodium falciparum VAR2CSA Protein Mediates Binding to Chondroitin Sulfate A in Placental Malaria." The Journal of Biological Chemistry **287**(28): 23332-23345.
- Costa, F. T., M. Avril, P. A. Nogueira and J. Gysin (2006). "Cytoadhesion of Plasmodium falciparum-infected erythrocytes and the infected placenta: a two-way pathway." Braz J Med Biol Res **39**(12): 1525-1536.
- Desai, M., F. O. ter Kuile, F. Nosten, R. McGready, K. Asamo, B. Brabin and R. D. Newman (2007). "Epidemiology and burden of malaria in pregnancy." The Lancet Infectious Diseases **7**(2): 93-104.
- Diouf, I., R. C. K. Tine, J. L. Ndiaye, K. Sylla, B. Faye, M. L. Mengue, O. Faye, Y. Dieng, A. Gaye and O. Gaye (2011). "Influence du traitement présomptif intermittent par la sulfadoxinepyriméthamine sur l'acquisition d'anticorps anti-VAR2CSA chez la femme enceinte vivant en zone hypoendémique au Sénégal." Bulletin de la Société de pathologie exotique **104**(4): 277.

ELEPHANT E. (2012). "Le passage placentaire des immunoglobulines." Bull. Acad Nathe Méd **196**(8): 1600-1612.

Elliott, S. R., A. K. Brennan, J. G. Beeson, E. Tadesse, M. E. Molyneux, G. V. Brown and S. J. Rogerson (2005). "Placental malaria induces variant-specific antibodies of the cytophilic subtypes immunoglobulin G1 (IgG1) and IgG3 that correlate with adhesion inhibitory activity." Infection and immunity **73**.

Ellis, R. D., I. Sagara, O. Doumbo and Y. Wu (2014). "Blood stage vaccines for *Plasmodium falciparum*." Human Vaccines **6**(8): 627-634.

Fivet, N. e. a. (2002). "Cellular immune response to *Plasmodium falciparum* after pregnancy related to previous placental infection and parity." Malaria Journal **1**(1): 16.

Flick, K. and Q. Chen (2004). "var genes, PfEMP1 and the human host." Mol Biochem Parasitol **134**(1): 3-9.

Fried, M. and P. E. Duffy (1996). "Adherence of *Plasmodium falciparum* to chondroitin sulfate A in the human placenta." Science **272**.

Fried, M. and P. E. Duffy (2015). "Designing a VAR2CSA-based vaccine to prevent placental malaria." Vaccine **33**(52): 7483-7488.

Guitard, J., P. Andersen, C. Ermont, S. Gnidehou, N. Fievet, O. Lund, P. Deloron and N. T. Ndam (2010). "*Plasmodium falciparum* population dynamics in a cohort of pregnant women in Senegal." Malar J **9**: 165.

Guitard, J., G. Cottrell, N. M. Magnouha, A. Salanti, T. Li, S. Sow, P. Deloron and N. Tuikue Ndam (2008). "Differential evolution of anti-VAR2CSA- IgG3 in primigravidae and multigravidae pregnant women infected by *Plasmodium falciparum*." Malar J **7**: 10.

Hamer, D. H., M. P. Singh, B. J. Wylie, K. Yeboah-Antwi, J. Tuchman, M. Desai, V. Udhayakumar, P. Gupta, M. I. Brooks, M. M. Shukla, K. Awasthy, L. Sabin, W. B. MacLeod, A. P. Dash and N. Singh (2009). "Burden of malaria in pregnancy in Jharkhand State, India." Malar J **8**: 210.

Hviid, L. (2005). "Naturally acquired immunity to *Plasmodium falciparum* malaria in Africa." Acta Trop **95**(3): 270-275.

Kalilani, L., I. Mofolo, M. Chaponda, S. J. Rogerson and S. R. Meshnick (2010). "The effect of timing and frequency of *Plasmodium falciparum* infection during pregnancy on the risk of low birth weight and maternal anemia." Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene **104**(6): 416-422.

Kanellopoulos-Langevin, C., S. M. Caucheteux, P. Verbeke and D. M. Ojcius (2003). "Tolerance of the fetus by the maternal immune system: role of inflammatory mediators at the foeto-maternal interface." Reprod Biol Endocrinol **1**: 121.

Megnekou, R., T. Staalsoe, D. W. Taylor, R. Leke and L. Hviid (2005). "Effects of pregnancy and intensity of *Plasmodium falciparum* transmission on immunoglobulin G subclass responses to variant surface antigens." Infect Immun **73**(7): 4112-4118.

Megnekou, R., T. Staalsoe, D. W. Taylor, R. Leke and L. Hviid (2005). "Effects of pregnancy and intensity of *Plasmodium falciparum* transmission on immunoglobulin G subclass responses to variant surface antigens." Infection and immunity **73**.

Mercereau-Puijalon, O. and D. Ménard (2011). "Plasmodium vivax et Groupe sanguin Duffy-un dogme en évolution." Bulletin de l'Association des anciens Elèves de l'institut Pasteur **208**: 7.

Mina-Osorio, P. and E. Ortega (2004). "Signal regulators in FcR-mediated activation of leukocytes?" Trends Immunol **25**(10): 529-535.

Mor, G. and I. Cardenas (2010). "The immune system in pregnancy: a unique complexity." Am J Reprod Immunol **63**(6): 425-433.

Nosten, F., S. J. Rogerson, J. G. Beeson, R. McGready, T. K. Mutabingwa and B. Brabin (2004). "Malaria in pregnancy and the endemicity spectrum: what can we learn?" Trends Parasitol **20**(9): 425-432.

OMS (1991). "Determination de la taille d'un échantillon dans des études sanométriques: Manuel pratique/ S.K. Iwanga et S. Memeshow." 1-62.

Rask, T. S., D. A. Hansen, T. G. Theander, A. Gorm Pedersen and T. Lavstsen (2010). "*Plasmodium falciparum* erythrocyte membrane protein 1 diversity in seven genomes--divide and conquer." PLoS Comput Biol **6**(9).

Rijken, M. J., R. McGready, M. E. Boel, R. Poespoprodjo, N. Singh, D. Syafruddin, S. Rogerson and F. Nosten (2012). "Malaria in pregnancy in the Asia-Pacific region." Lancet Infect Dis **12**(1): 75-88.

Rowe, J. A. and S. A. Kyes (2004). "The role of *Plasmodium falciparum* var genes in malaria in pregnancy." Mol Microbiol **53**(4): 1011-1019.

Salanti, A., M. Dahlback, L. Turner, M. A. Nielsen, L. Barfod, P. Magistrado, A. T. Jensen, T. Lavstsen, M. F. Ofori, K. Marsh, L. Hviid and T. G. Theander (2004). "Evidence for the involvement of VAR2CSA in pregnancy-associated malaria." J Exp Med **200**(9): 1197-1203.

Salanti, A., M. Dahlback, L. Turner, M. A. Nielsen, L. Barfod, P. Magistrado, A. T. Jensen, T. Lavstsen, M. F. Ofori, K. Marsh, L. Hviid and T. G. Theander (2004). "Evidence for the involvement of VAR2CSA in pregnancy-associated malaria." J Exp Med **200**.

Salanti, A., M. Resende, S. B. Ditlev, V. V. Pinto, M. Dahlbäck, G. Andersen, T. Manczak, T. G. Theander and M. A. Nielsen (2010). "Several domains from VAR2CSA can induce *Plasmodium falciparum* adhesion-blocking antibodies." Malaria Journal **9**(1): 1-9.

Scott, S., P. F. Mens, H. Tinto, A. Nahum, E. Ruizendaal, F. Pagnoni, K. P. Grietens, L. Kendall, K. Bojang, H. Schallig and U. D'Alessandro (2014). "Community-based scheduled screening and treatment of malaria in pregnancy for improved maternal and infant health in The Gambia, Burkina Faso and Benin: study protocol for a randomized controlled trial." Trials **15**: 340.

Semblat, J.-P., A. Raza, S. A. Kyes and J. A. Rowe (2006). "Identification of Plasmodium falciparum var1CSA and var2CSA domains that bind IgM natural antibodies." Molecular and biochemical parasitology **146**(2): 192-197.

Serra-Casas, E., C. Menéndez, A. Bardaji', L. Quinto', C. Dobano, B. Sigauque, A. Jime'nez, I. Mandomando, S. Chauhan, V., E. Chitnis, C., L. Alonso, P. and A. Mayor (2010). "The Effect of Intermittent Preventive Treatment during Pregnancy on Malarial Antibodies Depends on HIV Status and Is Not Associated with Poor Delivery Outcomes." The Journal of Infectious Diseases **201**: 123-131.

Smith, J. D., G. Subramanian, B. Gamain, D. I. Baruch and L. H. Miller (2000). "Classification of adhesive domains in the Plasmodium falciparum erythrocyte membrane protein 1 family." Mol Biochem Parasitol **110**(2): 293-310.

Sondo, P., K. Derra, D. Nakanabo, S., Z. Tarnagda, A. Kazienga, O. Zampa, I. Valéa, H. Sorgho, E. Owusu-Dabo, J. Ouédraogo, B., T. Guiguemdé, R. and H. Tinto (2016). "Artesunate-Amodiaquine and Artemether-Lumefantrine Therapies and Selection of Pfcrt and Pfmdr1 Alleles in Nanoro, Burkina Faso." pon: 1-10.

Srivastava, A., S. Gangnard, S. Dechavanne, F. Amirat, A. Lewit Bentley, G. A. Bentley and B. Gamain (2011). "Var2CSA Minimal CSA Binding Region Is Located within the N-Terminal Region." PLoS ONE **6**(5): e20270.

Staalsoe, T., R. Megnekou, N. Fievet, C. H. Ricke, H. D. Zornig, R. Leke, D. W. Taylor, P. Deloron and L. Hviid (2001). "Acquisition and decay of antibodies to pregnancy-associated variant antigens on the surface of Plasmodium falciparum-infected erythrocytes that protect against placental parasitemia." The Journal of infectious diseases **184**.

Staalsoe, T., C. E. Shulman, E. K. Dorman, K. Kawuondo, K. Marsh and L. Hviid (2004). "Intermittent preventive sulfadoxine-pyrimethamine treatment of primigravidae reduces levels of plasma immunoglobulin G, which protects against pregnancy-associated Plasmodium falciparum malaria." Infect Immun **72**(9): 5027-5030.

Talman, A. M., O. Domarle, F. E. McKenzie, F. Ariey and V. Robert (2004). "Gametocytogenesis: the puberty of Plasmodium falciparum." Malar J **3**: 24.

Tuikue Ndam, N., L. Denoëud-Ndam, J. Doritchamou, F. Viwami, A. Salanti, A. Nielsen, M., N. Fievet, A. Massougboji, J. Luty, F.A. and P. Deloron (2015). "Protective Antibodies against Placental Malaria and Poor Outcomes during Pregnancy, Benin." Emerging infectious diseases **21**(5): 813-823.

Tuikue Ndam, N. G., A. Salanti, J. Y. Le-Hesran, G. Cottrell, N. Fievet, L. Turner, S. Sow, J. M. Dangou, T. Theander and P. Deloron (2006). "Dynamics of anti-VAR2CSA immunoglobulin G response in a cohort of senegalese pregnant women." *J Infect Dis* **193**(5): 713-720.

Tutterrow, Y. L., M. Avril, K. Singh, C. A. Long, R. J. Leke, G. Sama, A. Salanti, J. D. Smith, R. G. Leke and D. W. Taylor (2012). "High levels of antibodies to multiple domains and strains of VAR2CSA correlate with the absence of placental malaria in Cameroonian women living in an area of high *Plasmodium falciparum* transmission." *Infect Immun* **80**(4): 1479-1490.

WHO (2016). "World malaria report 2016. Geneva: World Health Organization. 2016. Available from: <http://www.who.int/malaria/publications/world-malaria-report-2015/report/en/>." 1-186.