

Centre Universitaire des Sciences de la Santé
C U S S

Année Académique 1987 - 1988

TRANSFERT D'ANTICORPS ANTI-PROTEINE
"CIRCUMSPOROZOÏTAIRE" DE PLASMODIUM
FALCIPARUM DE LA MERE A L'ENFANT
DANS LA VILLE DE YAOUNDE



Thèse en vue de l'Obtention du Doctorat en Médecine

Présentée et soutenue publiquement en
Novembre 1988

Par

SINGWE Madeleine

Directeur de Thèse: Professeur **J. L. NGU**
Co-Directeur de Thèse: Docteur **Rose LEKE**

S O M M A I R E

Pages

PREMIERE PARTIE

Personnel Administratif et Enseignant du CUSS...	I
Dédicaces.....	V
Remerciements.....	VII
Liste des Figures.....	X
Liste des Tableaux.....	XI
Abréviations.....	XII
Résumé.....	XIII
Summary.....	XVI

DEUXIEME PARTIE

Introduction.....	1
Objectifs de l'Etude.....	3

TROISIEME PARTIE

Revue de la Littérature	
1. Rappels Historiques.....	4
2. Epidémiologie du Paludisme.....	5
3. Rappels Cliniques sur le Paludisme.....	9
4. Diagnostic du Paludisme.....	13
5. Contrôle du Paludisme.....	14
6. Paludisme et Immunologie.....	16

QUATRIEME PARTIE

Méthodologie

1. Cadre d'Etude.....	33
2. Période d'Etude.....	34
3. Echantillon de la Population Etudiée.....	34
5. Les Prélèvements.....	35
6. Préservation des Echantillons.....	36
7. Etude Parasitologique des Prélèvements.....	37
8. Détection d'anticorps Antiprotéine circumsporozoïtaire de <u>P. falciparum</u> utilisant le peptide (NANP)40 et la technique ELISA (Enzyme linked immunosorbent assay).....	40

CINQUIEME PARTIE

Résultats.....	46
Discussion.....	65
Conclusion.....	71

SIXIEME PARTIE

Bibliographie.....	72
Annexes.....	80

P R E M I E R E P A R T I E

PERSONNEL ADMINISTRATIF ET ENSEIGNANT DU CUSS

(CUSS - STAFF)

PERSONNEL ADMINISTRATIF

1. CARTERET Pierre.....Directeur
2. NASAH TATCHWENLIE Boniface.....Directeur Adjoint
3. HAGBE Paul.....Coordinateur Technique
4. EIMO MALONGA Elisée.....Conseiller Pédagogique
5. MBUNTUM Francis FAI.....Secrétaire Général
6. KOUEKE Paul.....Coordinateur U.S.B.(a.i)
7. NASAH TATCHWENLIE Boniface.....Coordinateur U.S.C.
8. ETOUNDI ESSOMBA MANY.....Coordinateur U.S.P.
9. BOUMSONG Vincent.....Bibliothécaire
10. NGOUMOU MBARGA Philippe.....Intendant.

PERSONNEL ENSEIGNANT

PROFESSEURS

1. ABONDO Antoine.....Anatomie Pathologique
2. CAMARA Mady.....Neuro-Chirurgie
3. CARTERET Pierre.....Physiologie Humaine
4. ESSOMBA René.....Clinique Chirurgicale
5. ETOUNDI ESSOMBA MANY.....Médecine Préventive et Hygiène.
6. HAGBE Paul.....Cardiologie/Médecine/Interne
7. KAPTUE NOCHE Lazare.....Hématologie
8. LANTUM NONI Daniel.....Santé Publique
9. MAKANG MA MBOG Mathias.....Neuro-Psychiatrie et Psychologie Médicale.
10. MBEDE Joseph.....Pédiatrie
11. NASAH TATCHWENLIE Boniface.....Gynécologie/Obstétrique
12. NGU ANOMAH Victor.....Clinique Chirurgicale
13. NGU LIFANGI Jacob.....Méd. Interne/Néphrologie et Immunologie
14. NKOULOU Hubert.....Pédiatrie
15. OBOUNOU AKONG Dominique.....Anatomie Humaine

MAITRES DE CONFERENCES

1. BEJANGA Beltus.....Chirurgie Générale
2. EIMO MALONGA.....Chirurgie Générale
3. EDZOA Titus.....Chirurgie Générale
4. JATO Johnson.....Chimie Pharmacologique
5. KAMDOM MOYO Joseph.....Gynécologie/Obstétrique
6. KOUEKE Paul.....Dermatologie/Vénérologie
7. LEKE Robert Ivo.....Gynécologie/Obstétrique
8. McMOLI Theodosia.....Ophtalmologie
9. MUNA Walinjom.....Médecine Interne/Cardiologie
10. NGU BLACKETT Kathleen.....Médecine Interne/Cardiologie
11. NGUEMATCHA Roger.....Microbiologie/Virologie
12. NJIKAM KAYA Laurence.....Pharmacie Galénique
13. TSALA MBALA Pierre.....Physiologie Humaine
14. ZOUNG KANYI Jimy.....Urologie

CHARGES DE COURS.

1. ABENA née OBAMA Marie Thérèse.....Pédiatrie
2. ABOLO MBENTI Louis.....Chirurgie Générale
3. ANGWAFOR III FRU.....Chirurgie/Urologie
4. ASONGANYI Tazoacha.....Biochimie/Immunologie
5. ATCHOU Guillaume.....Physiologie
6. BENGONO née CISSE TOURE G..... O.R.L.
7. BIWOLE SIDA Magloire.....Médecine Interne/Gastro-
Entérologie
8. BOUM Bernard.....Biochimie
9. DJOUMESSI Sosthène.....Biochimie
10. DOH Anderson.....Gynécologie/Obstétrique
11. DOUMBE Pierre.....Pédiatrie
12. ETAME Ewane.....Sociologie Médicale
13. FOMULU Joseph Nelson.....Gynécologie/Obstétrique
14. FOU DA ONANA Alexandre..... O.R.L.
15. GONSU Fotsin Joseph.....Anatomie/Radiologie
16. KAGO Innocent.....Pédiatrie
17. KOUAM Luc.....Gynécologie/Obstétrique
18. KOUDA ZE Alexandre.....Médecine Interne/Gastro-
Entérologie

19. LANDO Gabriel.....Immunologie
20. LEKE née NGANA FOMBANG Rose..Parasitologie/Immunologie
21. LENTHE née SINATA Shiro.....Microbiologie
22. LOHOUE née PETMY Julienne....Parasitologie/Mycologie
23. MBAKOP André.....Anatomie Pathologique
24. MBARGA MENGUE Thadée.....Psychiatrie
25. MENGOT B.E.N.....Anesthésiologie/Réanimation
26. MINYEM Jean Rudolphe.....Chirurgie/Orthopédie
27. MOAMPEA MBIO née NGBANGAKO...Anatomie/Pathologique
28. MOYOU SOMO Roger.....Parasitologie
29. NDJITUYAP NDAM Elie C.....Méd. Interne/Gastro-Entérologie
30. NDOBO Pierre.....Médecine Interne/Cardiologie
31. NDUMBE Martin Peter.....Microbiologie/Immunologie
32. NGASSA CHANCHU Pius.....Gynécologie/Obstétrique
33. NGOGANG Jeanne.....Biochimie
34. NKAM Maurice.....Thérapeutique/Réanimation
35. OSSONDO NLOM née
LANDAU Marlène.....Anatomie Pathologique
36. POLL GOUATER Henri.....Biochimie
37. SIMO MOYO Justin.....Anesthésiologie/Réanimation
38. SOSSO Maurice.....Chirurgie Générale
39. TAKONGMO Samuel.....Chirurgie Générale
40. TAKOR TAKOR Thomas.....Histologie/Embryologie
41. TCHOKOTEU.....Pédiatrie
42. TETANYE EKOE.....Pédiatrie
43. YOUMBISSI TCHETAGNI J.....Médecine Interne/Néphrologie

ASSISTANTS

1. AMOUGOU Jean Félix.....Anatomie
2. ANAYANGWE née Nwigwe Stella...Santé Publique
3. ASHU EBEN BALIMBA.....Gynécologie/Obstétrique
4. AWASUM Helen.....Soins Infirmiers
5. BEFIDI MENGUE Robert.....Pédiatrie
6. DIFANG Charles.....Médecine Légale
7. KUM NJI Philip.....Santé Publique

8. JUIMO Alain Georges.....	Radiologie
9. MBAKOB Gabriel.....	Physiologie
10. MELI Jean.....	Santé Communautaire
11. MONNY LOBE Marcel.....	Hématologie
12. NDOUMOU Alain.....	Médecine Interne/ Pneumologie
13. NKUO Theresia KEMBENG.....	Parasitologie
14. SOW Mamadou.....	Chirurgie Générale
15. WANKAH Christian.....	Santé Publique

CYCLE PROMOTIONNEL (CESSI)

1. BOUDJIKO YOUKEKA Pierre
2. BOLLANGA Elise
3. JATO Myriam
4. NASAH Dorothy
5. NGUEMATCHA Juliette
6. NOUMSI André
7. OMOLOKO Cécile
8. OUSMANOU NASSOUROU
9. SIRI Lydia ALANGEH.

D E D I C A C E S

- . A *MON SEIGNEUR* et *MON DIEU*

Tu as réalisé ce travail, il t'appartient.

- . A mes *Parents*

Papa KAMAGUE et Papa NGUEMATCHA

Maman Justine et Maman Juliette,

Vous avez fait tant de sacrifices pour moi.

Vous êtes indissociables dans mon coeur.

Recevez toute mon affection.

- . A mes *frères et soeurs.*

*Esther, Denise, Virginie, Roger, Christelle, Colette,
Robert, Mireille.*

*Que ce travail vous incite à faire mieux
que moi.*

*Christelle, tu es non seulement ma soeur, mais aussi
une très grande amie malgré ton jeune âge.*

- . A ma *grand-mère Ngandeu Elisabeth*

Toute mon affection.

- . A ma *tante : Mme YOUUMBI Colette : tu es une adorable maman.*

- . A mon *Oncle KAMENI Robert :*

Ce travail est aussi le tien.

- . A mon *beau frère DJAPPI Louis Paul.*

- . A mes *deux nièces.*

DJAPPI Yolande et DJAPPI Agnès

- . A *Jaqueline FANKAM*

- . A *M. et Madame NJIKAM Lawrence*

- . A *Mr. et Madame FREEMAN*

- . *Au petit KAMDEM Hervé.*
- . *A tous mes oncles Papa Pierre, Isaac, Zacharie, Papa Pierre TICHEMBOUE.*
- . *A toutes mes cousines*
- . *A tous mes cousins*
- . *A Roger Ngandeu NAWÉ*
- . *A mes amies : Marie Laure, Suzanne, Christine, Rose, Geneviève, Madeleine TCHOMENI, Klara.*
- . *A Yssouf BAMBA, Alphonse SIAM, Achille ZOGO, Dieudonné KOLOKO.*
- . *A mon cousin NGUEMACHI Pierre*
- . *A Ebenezer KAMGAING FOKO*
- . *A Mme KAMDEM née TCHUENKO Augustine.*
- . *A Monsieur KEMOGNE Justin*
- . *A Monsieur YOUMBI Moïse et famille*
- . *A Marquise et Emile TANAWA : Amitiés.*
- . *A la famille NSOTA MBANGO à Yaoundé.*
- . *A la famille MOYOU-SOMO à Kumba.*
- . *A mes camarades :*
 - Baboni, Nsali, Jon, Epopa, Djiena, Ebong, Ebongue, Ndasi, Ngounou Noubissie*
- . *Et à tous les autres camarades de Promotion*

Pour nos efforts communs.

REMERCIEMENTS

=====

. Au jury :

Nous sommes très sensibles à l'honneur que vous nous faites en acceptant de juger ce travail.

Trouvez ici le témoignage de notre reconnaissance et respectueux estime.

. A Monsieur le Professeur J.L. NGU

Vous nous avez suggéré ce travail que vous avez suivi et dirigé avec un intérêt constant.

Permettez-nous de vous exprimer notre respectueuse admiration pour votre compétence et vos grandes qualités.

Soyez assuré de notre très vive reconnaissance.

. A Madame le Docteur Rose LEKE.

Vous avez accepté dès le premier jour et avec plaisir de diriger ce travail.

Nous admirons la simplicité, la bonté, la constante disponibilité qui font de vous un maître prestigieux et respectable.

Veillez croire à l'assurance de notre vive gratitude.

. Au Professeur SAME EKOBO,

Vos conseils et encouragements retentissent encore dans nos oreilles !

Trouvez ici l'expression de notre profond respect.

. Au Docteur MOYOU-SOMO,

*Votre bienveillance est sans limite
votre spontanéité, votre ardeur au travail
et vos encouragements nous ont fortement marqués.*

Croyez en l'assurance de notre très vive reconnaissance.

. *Au Docteur NDOUNG : toute notre reconnaissance.*

. *Au Docteur André MBAKOP pour l'aide apporté dans la réalisation de ce travail.*

. *Au Docteur NDUMBE Peter.*

Toute notre reconnaissance.

. *Au Docteur LANDO,*

Votre disponibilité constante nous a marqué.

Trouvez ici l'expression de notre profonde gratitude.

. *Au Docteur ASONGANYI*

Recevez ici nos très respectueux remerciements.

. *Au Docteur Theresa NKUO :*

Pour vos encouragements.

. *Au Docteur NZENKENG*

Pour l'aide apportée dans la réalisation de ce travail.

. *A tous nos maîtres du C.U.S.S.*

Vous avez guidé nos premiers pas dans ce métier.

Nous espérons ne pas vous decevoir

Soyez assurez de notre très vive reconnaissance.

. *A toutes les femmes qui ont bien voulu participer à cette étude.*

. *A Yaya, Samuel, Edmond, Medjo du laboratoire de Parasitologie du CHU et laboratoire d'immunologie du CUSS.*

. *A toutes les sage-femmes de l'Hôpital Central de Yaoundé :*

Vous avez été très aimables.

. *A Mr. Alphonse SOH*

. *A Mr. NGWET*

. *A Mr. ONANA AWANA*

- . *A Régine qui a non seulement fait la mise en page de cet ouvrage, mais qui aussi était d'un très grand reconfort moral.*

- . *A tous ceux qui de près ou de loin ont participé à l'élaboration de ce travail.*

<u>LISTE DES FIGURES</u>		<u>Pages</u>
Figure 1	: Répartition des parturientes selon l'âge	48
Figure 2	: Répartition des parturientes en fonction de la partié.....	49
Figure 3	: Relation entre le taux d'IgG anti (NANP)40 et parasitémie. Chez la mère.....	55
Figure 4	: Relation entre infestation placentaire et taux d'IgG chez la mère.....	58
Figure 5	: Correlation entre les taux d'IgG anti (NANP)40 chez la mère et l'enfant.....	62

LISTE DES TABLEAUX

Pages

<i>Tableau 1 : Population de nouveau-nés étudiés.....</i>	50
<i>Tableau 2 : Prévalence de <u>P. falciparum</u> chez les parturientes.</i>	50
<i>Tableau 3 : Densité parasitaire observée chez les parturientes. porteuses de formes érythrocytaires de <u>P. falciparum</u> classement en fonction de la parité.....</i>	51
<i>Tableau 4 : Prévalence de l'infestation placentaire chez les parturientes.....</i>	51
<i>Tableau 5 : Prévalence d'IgG anti(NANP)40 chez les parturientes.</i>	53
<i>Tableau 6 : Prévalence d'IgG anti(NANP)40 chez les parturientes avec parasitémie.....</i>	53
<i>Tableau 7 : Influence de la parasitémie sur la séropositivité... </i>	54
<i>Tableau 8 : Prévalence d'IgG anti(NANP)40 chez les parturientes qui ont un placenta infesté.....</i>	57
<i>Tableau 9 : Influence de l'infestation placentaire sur la séropositivité de la mère.....</i>	57
<i>Tableau 10 : Prévalence d'IgG anti(NANP)40 chez les nouveau-nés.....</i>	60
<i>Tableau 11 : Prévalence d'IgG anti(NANP)40 chez les nouveau-nés classés par sexe.....</i>	60
<i>Tableau 12 : Analyse du passage transplacentaire des IgG anti(NANP)40 de la mère à l'enfant.....</i>	61
<i>Tableau 13 : Infestation placentaire et transmission materno-foetale s'IgG anti(NANP)40.....</i>	64

- > = Supérieur
- Nbre = nombre
- % = pourcentage
- CSP = circumsporozoïte protein ou protéine circumsporozoïtaire
- Ig = Immunoglobulaire
- IgG = Immunoglobuline de la classe G.
- "Snaggs" = serum normal agglutinators.
- (NANP)_n =
- TP = témoin positif
- TN = témoin négatif
- Se = Seuil
- Sr = Serum de référence
- PDOM = taux d'anticorps de la mère exprimé en pourcentage par rapport au serum de référence.
- PDOE = taux d'anticorps chez l'enfant exprimé en pourcentage par rapport au serum de référence.
- SND = Ecart Réduit
- DO = Densité Optique

R E S U M E

Le paludisme est une affection parasitaire due à des sporozoaires du genre *Plasmodium*. C'est une maladie qui sévit dans les régions tropicales et subtropicales, frappant le plus souvent les enfants de 0 à 5 ans et les femmes enceintes. Cette affection (surtout le paludisme à *P. falciparum*) est redoutable et très meurtrière (OMS 1984), causant environ 1 Million de décès annuels dont la plupart sont les enfants (Gentillini 1986).

La lutte contre cette maladie qui jusqu'alors a été basée sur l'éradication des vecteurs à l'aide des méthodes chimiques, l'usage de la chimiothérapie et de la chimioprophylaxie pour l'élimination des parasites n'a pas donné de résultats satisfaisants. Les recherches sur les méthodes immunologiques de prévention tel le vaccin antipaludique sont en cours.

Il est connu que, les individus vivant en zone d'endémie palustre produisent des anticorps qui les protègent contre le paludisme. Bruce-Chwatt (1985 a et b) rapporte que, les mères hyperimmunes vivant dans ces régions transfèrent passivement ces anticorps à leurs foetus in utero. Les études récentes en relation avec la recherche sur un vaccin ^{anti}/paludique ont montré l'importance de la protéine circumsporozoïtaire (CSP) de *P. falciparum* comme étant immunodominante ; les anticorps produits contre cette protéine seraient en relation avec la protection. Cette protéine peut de nos jours être obtenue grâce au génie génétique ou par synthèse peptidique. Elle peut être utilisée pour évaluer la réponse humorale au cours du paludisme.

Nous avons utilisé le peptide synthétique (NANP)40 pour évaluer la réponse humorale chez les parturientes et leurs nouveau-nés afin de déterminer s'il y a transmission materno-foetale d'anticorps anti CSP de *P. falciparum*

Nos objectifs sont les suivants :

- Déterminer la prévalence d'immunoglobulines G anti protéine circumsporozoïtaire de P. falciparum chez les parturientes.

- Déterminer la prévalence d'immunoglobulines G anti protéine circumsporozoïtaire de P. falciparum chez leurs nouveau-nés.

- Déterminer la corrélation entre les taux d'immunoglobulines G anti protéine circumsporozoïtaire de P. falciparum chez les nouveau-nés et ceux observés chez leurs mères.

Cette étude, a été faite à Yaoundé. Elle a porté sur 140 parturientes, 140 nouveau-nés des deux sexes de ces parturientes et 125 de leurs placentas. Elle s'est déroulée en deux étapes.

Nous avons d'abord recherché P. falciparum chez ces sujets en faisant un frottis mince et une goutte épaisse. Un examen parasitologique du placenta a été aussi fait.

Ensuite, nous avons recherché dans leurs serums, des immunoglobulines G anti protéine circumsporozoïtaire de P. falciparum utilisant comme antigène le peptide synthétique (NANP)40, comme antiglobuline l'antiglobuline humaine IgG et la technique ELISA.

Nos résultats sont les suivants :

- 10,72% des parturientes sont porteuses de formes érythrocytaires de P. falciparum.

- 25,6% des placentas sont infestés par P. falciparum.

- 1/140 nouveau-né (soit 0,71%) est porteur de P. falciparum.

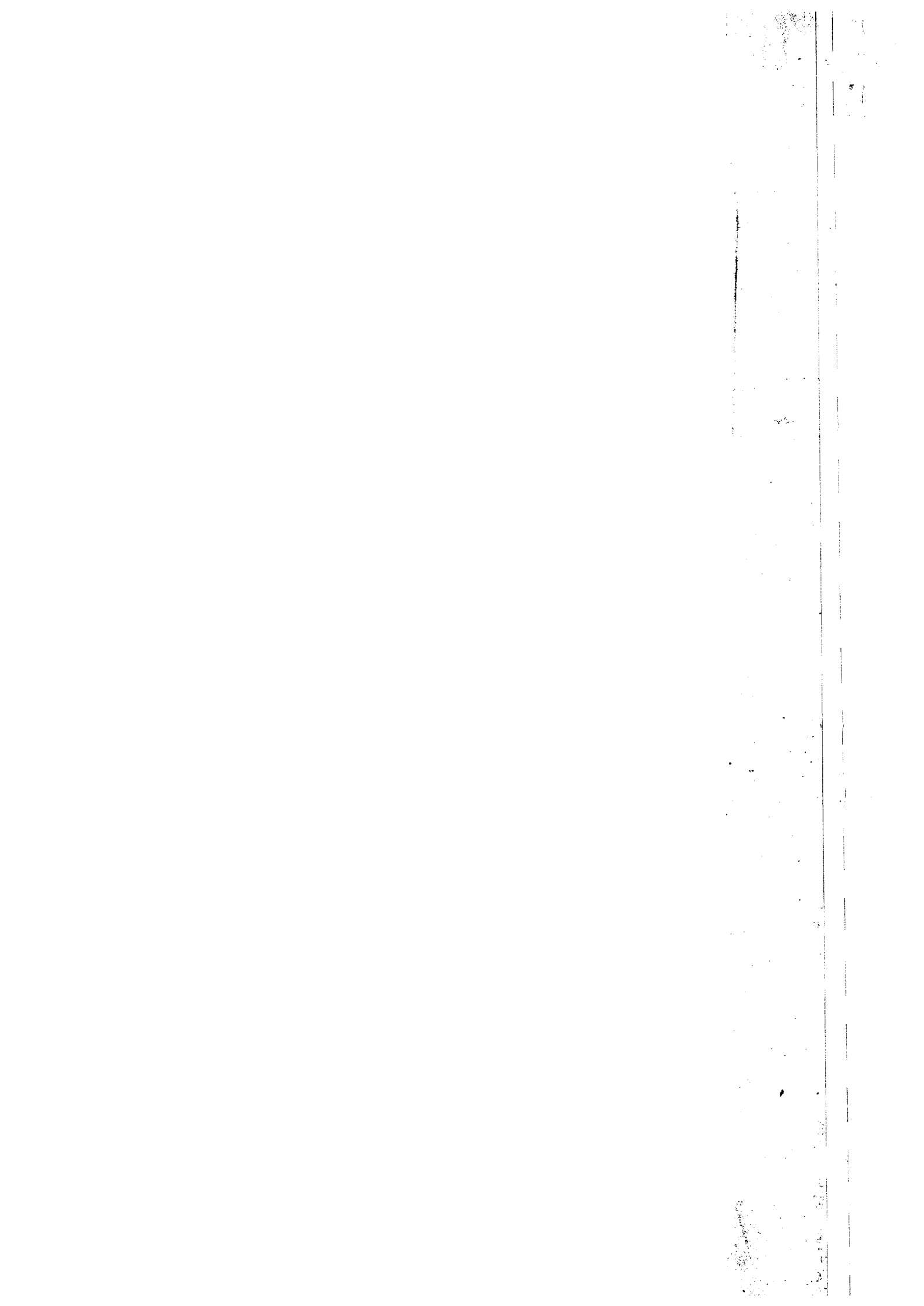
Nous avons démontré la présence d'immunoglobulines G anti (NANP)40 chez certaines de ces parturientes et leur nouveau-nés. Ainsi,

.22,86 % des parturientes sont séropositives

. 21,43 % des nouveau-nés ont des IgG anti (NANP)40 de P. falciparum.

Parmi les mères ayant ces immunoglobulines G, 68,75 % d'entre elles les ont transmis à leur nouveau-nés. Il y a une corrélation positive ($r=0,759$) entre les taux d'immunoglobulines G anti (NANP)40 observés chez les nouveau-nés et ceux observés chez leurs mères.

Il est cependant intéressant de noter que, parmi tous les nouveau-nés ayant des IgG anti (NANP)40, 8/30 (26,66%) d'entre eux (soit une prévalence de 5,71% si on considère l'ensemble des nouveau-nés) sont issus des mères seronégatives ; ceci suggère la possibilité d'une synthèse in utero d'IgG anti (NANP)40 dans ces cas. La complexité du sujet est discutée. Une étude plus approfondie devra être faite pour résoudre cette question.



SUMMARY

Malaria is a parasitic disease due to plasmodia. It is frequent in tropical and subtropical areas. Children of 0 to 5 years old and pregnant women are at high risk. About one million people die each year because of malaria. (Gentillini 1986).

Efforts to control this disease have been tried mainly by eradication of vectors with chemical agents, of parasites with chemotherapy and chemoprophylaxis. These have had limited success. Alternative methods are now being considered and these include the use of immunological control measures such as vaccination.

It is known that people living in malaria endemic areas produce protective antibodies against plasmodia. Bruce-Chwatt (1985a et b) reported that highly immune mothers in these areas passively transfer antibodies to foetus in utero. Recent studies in relation to the search for a malaria vaccine have shown the importance of the circumsporozoite protein of P. falciparum as being immunodominant and that antibodies to his protein may be related to protection. This protein can now be obtained by recombinant DNA techniques or by peptide synthesis, and used to evaluate antibody responses acquired by natural infections.

We have used the synthetic peptide (NANP)40 to measure antibody responses in pregnant women at birth and new born babies to determine whether or not there is materno foetal transmission of anti CSP antibodies.

Our objectives were the following :

- to determine the prevalence of IgG antibodies against the CSP of P. falciparum in pregnant women.

- to determine prevalence of IgG antibodies against CSP of P. falciparum in their new born babies.

- to determine correlate levels of IgG antibodies against CSP of P. falciparum found in those new born babies with those of their mothers.

Our study was carried out in Yaoundé. Our study group comprised 140 pregnant women and their new born. (140 in all). We also examined 125 placentas and the blood of all the women and their babies for the presence of P. falciparum.

P. falciparum CSP antibodies levels (IgG Isotype) were determined in the sera of our subjects using the synthetic peptide (NANP)40 as antigen in an ELISA based test.

Our results are the following

- 10.72 % of the pregnant women had P. falciparum in their blood.

- we found 25.60% of placental parasitisation.

- 1/140 of those new-born babies (0.71%) had P. falciparum in the blood.

- IgG antibodies against (NANP)40 were detected in 22.86% of pregnant women.

- Of the 140 new-born babies, 21,43% were positive for (NANP)40 antibodies.

- 68,8% of the positive mothers transmitted antibodies against (NANP)40 to their offspring. There was a positive correlation ($r=0,759$) between the antibody levels in the mothers and those in their offspring.

Interestingly 8/30 (26,66%) of children positive

for anti (NANP)40 were from sero-negative mothers. This raises a possibility of in utero production of anti (NANP)40 antibodies in these cases. The complexity of the subject is discussed. It is recommended that more indepth study are undertaken to answer this question.

DEUXIEME PARTIE

◦
INTRODUCTION

Le paludisme est une érythrocytopathie due à un protiste sporozoaire du genre plasmodium. C'est une affection qui reste redoutable et qui est considérée comme la maladie mondiale la plus meurtrière et la plus répandue. (OMS, 1984). Plus d'un million de cas de décès annuels dont la plupart sont des enfants, sont enregistrés. (Gentilini, 1986). Les enfants de moins de cinq ans et les femmes enceintes sont des sujets à haut risque pour cette affection qui sévit fortement dans les régions tropicales et subtropicales. (Cohen, et al, 1982 ; Gentillini, 1986). Dans ces régions en effet, la survenue du paludisme en grossesse est une cause fréquente d'anémie chez la mère, d'avortement, de prématurés, de naissance d'enfants à faible poids, de mort in utero. (Kortman, 1972, Bruce-Chwatt, 1985 a et b ; Talla, 1978, Nasah et al 1982).

Le programme d'éradication du paludisme, qui était jusqu'alors basé sur l'usage d'insecticides à effet remanent et la chimioprophylaxie de masse, (OMS, 1984), a été révisé devant l'apparition des résistances des anophèles vecteurs aux insecticides et des plasmodiums aux antipaludéens. Seule la protection des groupes à risque est actuellement conseillée (Gentillini, 1986).

Mais l'éradication globale du paludisme étant irréalisable dans un avenir prévisible à l'aide de ces moyens, la mise au point de nouvelles armes s'avère nécessaire. Ainsi, le développement d'un vaccin antipaludique préoccupe beaucoup d'esprits, d'où la nouvelle ligne de recherche sur les phénomènes immunitaires observés au cours du paludisme ; ce, d'autant plus que le Plasmodium possède plusieurs stades antigéniques capables d'induire une immunité protectrice chez l'hôte :

- Sporozoïte : avec sa principale protéine de surface la "circum-sporozoïte protein" (CSP).

- Parasites des stades sanguins asexués avec les antigènes S, la "Glycophorin-binding Protein", les antigènes de surface de mérozoïte, antigènes de surface érythrocytaires,...

- Parasites des stades sexués avec le "gamete surface antigen" et "ookinete antigens".

Il est généralement admis que, dans les régions d'endemie palustre, les sujets autochtones présentent un certain degré d'immunité contre le paludisme. (Nardin, et al, 1979 ; Bruce-Chwatt, 1985a ; Tapchaisri, et al, 1985). De plus, les femmes enceintes de ces régions transfèrent passivement une immunité protectrice à leurs nouveau-nés d'où la rareté du paludisme congénital avant l'âge de six mois (Bruce-Chwatt 1985 et b).

Il semblerait cependant qu'il y ait, au cours du paludisme et aussi pendant la grossesse, une immunosuppression. La femme enceinte est ainsi exposée à de complications graves de la maladie. Son foetus n'en est pas épargné. (Adriaan, et al, 1980, Bruce-Chwatt, 1985a).

C'est dans le but d'avoir des données de base sur les phénomènes immunologiques existants au cours du paludisme dans nos populations (femmes enceintes et nouveau-nés) avant leur éventuelle participation aux essais de vaccination antipaludique que nous avons mené cette étude.

OBJECTIFS DE L'ETUDE

- 1. Objectif général*
- 2. Objectifs spécifiques.*

Objectif Général:

Déterminer la prévalence de transfert d'immunoglobulines G anti CSP de P. falciparum de la mère à l'enfant à Yaoundé.

Objectifs spécifiques:

1. Déterminer la prévalence d'immunoglobulines G anti CSP de P. falciparum dans notre population de femmes enceintes.
2. Déterminer la prévalence d'immunoglobulines G anti CSP de P. falciparum dans notre population de nouveau-nés.
3. Déterminer la corrélation entre le taux d'immunoglobulines G chez la mère et celui observé chez le nouveau-né.

TROISIEME PARTIE

REVUE DE LA LITTERATURE

1. Rappels Historiques

Avant 1630, on distinguait déjà, parmi les fièvres intermittentes, la "fièvre des marécages". En 1630, Don Francisco Lopez apprend des indiens du Pérou les vertus de l'écorce du quinquina ; les fièvres sont alors divisées en deux groupes, selon leur sensibilité ou leur résistance à cette drogue.

L'alcaloïde actif de quinquina est isolée par Pelletier et Caventou en 1820. Lavecan, 1880, découvre l'agent pathogène du paludisme.

J. Carlos et Finlay (1881) démontrent qu'un moustique est capable d'inoculer la fièvre. Trois ans plus tard, Laveran émet l'hypothèse selon laquelle les moustiques pourraient bien jouer un rôle dans la transmission du paludisme. Ensuite, Grassi et al (1898) donnent la première description du plasmodium chez l'anophèle. Machiafava et al, en 1890 découvrent trois espèces plasmodiales parasites de l'homme. Plasmodium falciparum, Plasmodium vivax, Plasmodium malariae.

Plasmodium ovale a été quant à lui identifié par Stephen en 1922 comme quatrième espèce plasmodiale parasite de l'homme.

Peu avant la deuxième guerre mondiale, l'on découvre la chloroquine, premier antipaludique de synthèse.

Toujours dans le courant des années 1945, les insecticides de contact sont utilisés contre le vecteur.

Mais depuis 1965, l'avenir s'est assombri de la découverte des souches de Plasmodium falciparum résistantes aux amino-4 quinoléines, antipaludiques de synthèse largement utilisés.

Depuis 1968, l'OMS, dans son programme d'éradication du paludisme est orientée vers : la lutte antivecteur, la recherche de nouveaux anti-paludéens de synthèse à longue durée d'action, la recherche sur un vaccin, et, parlant du vaccin plus récemment, des succès ont été obtenus en expérimentation animale et l'on a aussi réussi la première culture in vitro de *P. falciparum* en 1976.

2. Epidémiologie du Paludisme.

2.1. Plasmodium falciparum, son vecteur et son cycle.

2.1.1. Plasmodium falciparum.

Plasmodium falciparum est un protozoaire tissulaire de la classe des sporozoaires, famille des Hemosporidies, genre plasmodium, espèce falciparum. Elle est l'espèce la plus redoutable et est largement repandue dans les regions chaudes, un peu rare dans les montagnes tropicales et les régions froides.

C'est une espèce plasmodiale qui détermine la fièvre tierce maligne, l'accès pernicieux, le paludisme viscéral et la fièvre bilieuse hémoglobinurique. Elle parasite toutes les hématies quelque soit l'âge, mais préferablement les vieilles hématies.

2.1.2. Vecteurs

Comme toutes les autres espèce plasmodiales, P. falciparum est transmis par des anophèles femelles. Les anophèles sont des diptères nématocères de la famille des culidées. De nos jours, environ 400 espèces d'anophèles sont connues,

mais *Anophèle gambiae*, *A. funestus*, et *A. maculis Penius* sont considérés comme espèces majeures entretenant l'endémie palustre (Beausoleil, 1984 ; Gentillini, 1986).

2.1.3. Cycle biologique des plasmodies (cf. annexe 1).

Le cycle biologique de *P. falciparum* est superposable à celui des autres plasmodiums parasites de l'homme sauf que son cycle exoerythrocytaire dure 7 à 15 jours ; il n'y a pas de cycle exoerythrocytaire secondaire.

Le plasmodium est inoculé à l'homme à l'occasion d'un repas sanguin par une anophèle femelle. L'évolution se fera ensuite en suivant deux cycles : cycle schizogonique ou asexué et cycle sporozonique ou sexué.

2.1.3.1. Cycle schizogonique ou asexué

Il se déroule en deux étapes :

- étape exocrythrocytaire
- étape endo erythrocytaire.

2.1.3.1.1. Etape exoerythrocytaire

L'anophèle femelle inocule à l'hôte des sporozoïdes avec la salive anticoagulante et agglutinante. Les sporozoïtes passent dans les cellules hépatiques une demi-heure plus tard en empruntant la circulation sanguine. Ensuite, chaque sporozoïte pénètre dans un hépatocyte où ils se "cachent" sous le nom de cryptozoïte. Ceux-ci grossissent, leur noyau se divise pour donner un corps bleu, basophile, volumineux contenant de nombreux noyaux, déformant l'hépatocyte hôte et repoussant son noyau en périphérie. L'éclatement du corps bleu libère de nombreux merozoïte, qui, pour la plupart, s'embolisent dans les capillaires sinusoïdaux et passent dans

la circulation, amorçant les premières schizogonies sanguines.

Pour P. vivax, P. malariae, P. ovale, certains mérozoïtes restent dans le foie, pénètrent dans les hépatocytes sains, effectuent un cycle exoérythrocytaire secondaire (schizogonie tissulaire secondaire).

Pour P. falciparum, au bout de sept jours de milliers de mérozoïtes sont formés et à la longue, l'hépatocyte va éclater et libérer les mérozoïtes. Ces mérozoïtes vont passer dans la circulation pour pénétrer dans l'érythrocyte.

2.1.3.1.2. Etape endocytaire:

Elle est marquée par la pénétration des mérozoïtes dans les hématies. Les mérozoïtes provenant du foie sont limités par une pellicule de trois membranes distinctes, 2 internes et une externe ; au cours de leur vie plasmatique, ils acquièrent une couche périphérique "la surface coat" constituée d'anticorps de surface. Ils pénètrent rapidement dans les globules rouges par endocytose en se débarrassant de leurs membranes pelliculaires et leurs antigènes de surface (Mc Larren et coll, 1979) en trois étapes :

- Reconnaissance et attachement du mérozoïte sur globule rouge par l'intermédiaire des récepteurs membranaires;

- Déformation et invagination du globule rouge.

- Fermeture du globule rouge. Ce parasite emprisonné prend le nom de trophozoïte : celui-ci possède une volumineuse vacuole nutritive qui refoule en périphérie son noyau et son cytoplasme. Il grossit et son noyau se divise : c'est alors un schizonte multinucléé qui se charge de pigment malarique ou hemozoin. La croissance des noyaux dont chacun s'entoure d'une plage cytoplasmique forme un corps en rosace qui va se dilater et éclater. Cet éclatement libère des mérozoïtes

qui vont parasiter les hématies dans lesquelles s'individualisent les sporozoïtes.

L'éclatement des rosaces est synchrone de l'accès fébrile du à l'Hemozoïne qui sera phagocyté et stockée dans la rate par les leucocytes mélanifères et les histrocytes.

La durée de la schizogonie erythrocytaire est de 48 heures pour les fièvres tierces et 72 heures pour les fièvres quartes. Le nombre de merozoïte varie de 6 à 32 selon l'espèce.

La repetition des cycles erythrocytaires augmente avec la parasitémie qui peut atteindre le seuil pyrogène qui est de l'ordre de 15 à 20.000 parasites par millimètre cube de sang en zone de savane à transmission permanente avec recrudescence saisonnière (C. Baudin à Bobo-Dioulasso, et al) cité par Cheumaga 1987) et de 10.000 parasites par millimètre cube en zone de transmission continue, zone forestière (Carnevalle, et al, au Congo Brazzaville) cité par Cheumaga 1987.

2.1.3.2. Cycle sporozonique ou sexué:

2.1.3.2.1. Chez l'homme:

Il débute à l'intérieur du globule rouge. Certains schizontes, après plusieurs schizogonies vont se différencier en éléments sexués mâles ou femelles qui sont des gamètes ou gamontes.

2.1.3.2.2. Chez le moustique

Les gametocytes sont prélevés chez l'homme par le moustique et vont subir une série de transformation pour devenir microgametocytes puis macrogamètes prêts à être fécondés. De la fécondation, naîtra un ookinette qui deviendra oocyste, puis sporocyste. La paroi du sporocyste va se rompre pour libérer les sporozoïtes qui vont migrer dans les glandes salivaires par le phénomène de chimiotropisme positif où ils envahissent les acinis. Ce cycle dure : 12 jours pour

P. falciparum

9 jours pour *P. vivax*

15 jours pour *P. ovale*

30 jours pour *P. malariae*.

3. Rappels cliniques sur le paludisme

3.1. Forme type.

Le paludisme est une erythrocytopathie due à un hématozoaire du genre plasmodium, transmis par un moustique, l'anophèle femelle. Environ un milliard de personnes dans le monde sont exposés au paludisme.

Cette affection se manifeste par trois signes fonctionnels majeurs :

- une fièvre continue de début brutal accompagnée de céphalées et de malaise général.
- des troubles digestifs : anorexie, nausées avec ou sans vomissements, crampes épigastriques et diarrhée.
- une oligurie.

L'examen physique révèle une tension artérielle pincée, une langue saburrale, une hépatomégalie modérée et sensible.

3.2. Paludisme de la mère et l'enfant.

3.2.1. Paludisme et grossesse

Le paludisme surtout à *P. falciparum* est très redoutable chez la femme enceinte.

3.2.1.1. Accès palustre de la femme enceinte

Selon Lewi et al (1973), Morley (1975) et Lawson et al (1977), l'on note une haute incidence et une grande sévérité de paludisme chez la femme enceinte. Gentillini (1986) pense que la femme en est plus susceptible aux trois derniers mois de grossesse. De plus, la femme enceinte fait beaucoup plus d'accès perniciose palustre que la femme non enceinte. Kortman (1972) attribue ces observations au fait que la réponse immunitaire décroît pendant la grossesse. Les complications du paludisme chez la femme enceinte sont nombreuses et graves.

3.2.1.2. Complications du paludisme en grossesse.

3.2.1.2.1. Anémie

L'anémie hémolytique est très fréquente chez la femme enceinte non protégée, vivant en zone où le paludisme sevit de manière endémique. (Kortman, 1972 ; Bruce Chwatt, 1985a).

Au Cameroun, à Yaoundé l'anémie sur grossesse est l'une des grandes causes de mortalité et morbidité maternelle et périnatale. (Nasah et Drouin, 1975).

3.2.1.2.1. Avortement et Prématurité:

Le paludisme surtout à *P. falciparum* est une cause fréquente d'avortement aussi bien précoce que tardif. Pour les avortements précoces, l'on pense que la haute fièvre observée causerait des contractions utérines et entraîner ainsi une expulsion du fœtus. (Lawson, 1977).

L'anémie serait la cause d'avortement tardif au cours du paludisme.

On note aussi une haute incidence d'accouchements prématurés chez les femmes enceintes souffrant de paludisme.

Si l'enfant arrive à survivre il naîtra probablement avec un faible poids de naissance (Bruce Chwatt, 1985a; Galbraith 1980).

3.2.1.2.2. Mort in utero:

Galbraith (1980) pense que la mort in utero survient à cause de l'infection du placenta ; cette infection entraînerait une asphyxie intra partum (Lewis, 1973).

3.2.2. Paludisme congénital:

C'est la transmission du paludisme à l'enfant par sa mère avant ou au moment de l'accouchement. Elle s'observe surtout chez les mères non immunes.

L'idée de la transmission materno-foetale du paludisme a été émise par Hipocrate et dès 1882 plusieurs publications ont été faites à ce sujet (H. Jahier et Georges Fabiani, (1952), cité par Talla, 1978).

B. Lagardère (1983) estime à 0,3% la fréquence de paludisme congénital en zone d'endemie et signale que, huit cas ont été rapportés aux Etats-Unis en vingt quatre ans.

Bruce Chwatt et al, 1985, trouvent trois cas de paludisme congénital sur 4000 naissances soit 0,08 %.

Au Cameroun sa fréquence est estimée à 1,5 % (Talla, 1978).

Plus récemment, à Brazzaville, Zningoula et coll (1988), rapportent quatre nouvelles observations de paludisme congénital à P. falciparum.

Cependant, pour Charmot (1980), le fait que 20 à 30 % des specimens de sang du cordon ombilical contiennent des hématozoaires, mais en faible quantité qui disparaissent en quelques heures, expliquerait le faible taux de paludisme congénital maladie par opposition au paludisme congénital biologique.

3.2.3. Infection du placenta

On note un contraste frappant entre la fréquence d'infection placentaire et la rareté du paludisme congénital. En effet, 20 à 50 % des placentas sont infectés chez les mères non traitées pendant la grossesse et vivant en région d'endemicité palustre (B. Lagardère, 1983 ; Bruce Chwatt, 1985b). Au Cameroun, Talla (1978) trouve 24,25% de placentas infectés.

Plusieurs variations histologiques sont observées sur un placenta infecté. Galbraith, (1980) rapporte le cas de quatre placentas de femmes gambiennes parasités par *P. falciparum* sur les lesquels l'on a observé des erythrocytes contenant le parasite et les monocytes ayant ingeré les pigments malariques, ceci en association avec une nécrose syncytiale focale, une perte des microvillosités syncytiales, une prolifération cytotrophoblastique des cellules.

4. Diagnostic du Paludisme

C'est un diagnostic clinique et biologique.

4.1. Diagnostic clinique:

Il est basé sur les signes et symptômes de la maladie.

4.2. Diagnostic biologique:

Il est fait sur la base d'arguments parasitologiques et immunologiques.

4.2.1. Diagnostic Parasitologique:

C'est le diagnostic de certitude. Le frottis et la goutte épaisse doivent révéler la présence des plasmodies. Seule leur positivité permet d'affirmer formellement que l'on a le paludisme.

Ces examens peuvent être complétés par les examens de présomption tels :

- Hémogramme : révèle une anémie hémolytique, une leucocytose, une leucopénie, ou une hypoplaquettose.

L'on peut aussi observer une diminution du fibrinogène en cas d'accès pernicieux et du facteur V, une augmentation de l'urée plasmatique et de l'azotémie, des troubles hydroélectrolytiques.

4.2.2. Tests immunologiques (Ambroise Thomas, J. Golvan 1984).

Les épreuves immunologiques sont beaucoup plus utilisées pour les enquêtes épidémiologiques que pour le diagnostic rapide de paludisme. On peut ainsi dépister les immunoglobulines G, M, A, E, D dans le serum des sujets. Ces épreuves permettent aussi la surveillance du patient après traitement et le diagnostic d'infections évolutives.

Les principales méthodes utilisées sont :

4.2.2.1. Réaction d'immunofluorescence indirecte (I.F.I.)

C'est la technique la plus utilisée car permet une économie considérable de matériel parasitaire. C'est un test qui a une procédure compliquée et la lecture des résultats est difficile.

4.2.2.2. Test d'Hémalglutination indirecte

Ce test est l'une des anciennes techniques. La technique est basée sur l'agglutination des antigènes malariques en présence d'anticorps.

Mais, cette méthode donne parfois des résultats négatifs avec les sera des sujets récemment infestés et en particulier d'enfants ou de nouveau-nés.

4.2.2.3. Immunodiffusion

Elle nécessite une importante quantité de sang ou de placentas parasités. Après hémolyse, les antigènes plasmodiaux sont extraits par hyperpression à basse température.

4.2.2.4. Test ELISA (Enzyme linked immunosorbent assay test).

Cette technique a été pour la première fois utilisée pour la détection d'anticorps antiplasmodiums par Voller en 1975. Cette méthode serait plus fiable. Elle va aussi bien avec les antigènes somatiques qu'avec les antigènes métaboliques.

5. Contrôle du paludisme:

La lutte contre le paludisme se fait de manière individuelle ou collective. Elle vise à détruire soit le vecteur, soit le parasite lui-même.

5.1. Lutte antivectorielle

5.1.1. Mesure visant à prévenir le contact moustique-homme.

L'usage des moustiquaires imprégnées reste une bonne manière d'éviter les piqûres de moustiques (Bruce Chwatt 1985a).

Il existe aussi dans le commerce des crèmes qui permettent d'éloigner les moustiques. Jadis, l'huile de citronnelle ou d'Eucalyptus était utilisée. La durée d'action

de ces produits était très brève, ce qui justifie l'usage d'indalone de nos jours (Bruce-Chwatt 1985a).

5.1.2. Mesures visant à réduire la densité et la longévité du vecteur.

L'OMS préconise surtout la lutte contre les anophèles adultes endophiles, par l'application régulière sur les murs des habitations d'insecticides à effet remanent tels DDT, Malathion, Propoxur...Malheureusement, depuis 1965 on observe des phénomènes de résistance d'Anophèles gambiae au DDT (OMS, 1984).

L'on utilise aussi certains agents biologiques de lutte tels poissons larvicides, les entomopathogènes. Il existe aussi des larvicides chimiques tel le téméphos (Gentillini, 1986).

5.2. Lutte anti plasmodiale: (Gentillini, 1986). (OMS, 1984).

Elle vise à éliminer le parasite et en prévenir la transmission. Il s'agit ici de conduire une chimioprophylaxie ou une chimiothérapie. Pour cela, l'on a de différents groupes d'antipaludéens aussi bien de synthèse que naturels.

5.2.1. Les antipaludéens naturels et de synthèse.

- Les schizonticides :
 - . antipaludéen naturel : quinine, artémisinine
 - . antipaludéen de synthèse :
 - . amino 4 quinoleine
 - . 4 diguanidines
 - . les antifoliques
- Les gamétocytocides.

Notons que, pour la chimioprophylaxie, il s'agit désormais de protéger uniquement les sujets à risque élevé pour le paludisme qui sont : les femmes enceintes, les enfants de 0-5 ans, les sujets neufs (OMS, 1984). Mais, il semblerait qu'elle n'est plus recommandée pour les enfants de 0-5 ans, car il y aurait interférence avec le développement rapide de résistance aux antipaludéens et un grand risque de rethynopathie due à la chloroquine (Hilton, 1987)..

Depuis presque une décennie, l'on note l'apparition des souches résistantes de P. falciparum aux médicaments antipaludéens. ceci constitue une menace très grave pour la lutte anti malarique. Cette résistance s'est développée à la faveur de l'utilisation massive d'antipaludiques et de l'échec de la lutte contre la transmission de la maladie.

5.2.2. Méthodes immunologiques de lutte contre le paludisme.

C'est la nouvelle voie de recherche sur le paludisme. La mise au point d'un vaccin efficace permettrait un meilleur contrôle de cette affection. Il est donc important de comprendre les phénomènes immunologiques observés au cours du paludisme, phénomènes qui sont intensément étudiés de nos jours.

Il existe plusieurs difficultés car les résultats obtenus chez les oiseaux, singes, rongeurs... ne sont pas toujours superposables au paludisme de l'homme.

6. Paludisme et immunologie

6.1. Rappel sur les immunoglobulines (Letonturier, 1986 ; G. Griscelli et Paupe, 1985).

6.1.1 Synthèse des immunoglobulines chez les vertébrés supérieurs.

6.1.1.1. Chez l'adulte:

Les immunoglobulines apparaissent dans le serum d'un individu normal quelques jours après l'injection de l'antigène. Ces anticorps atteignent d'abord un maximum puis décroissent rapidement. Ils apparaissent de deux manières:

- réponse primaire : est IgM prédominante
- réponse secondaire : est IgG prédominante.

6.1.1.2. Chez le foetus:

Le foetus acquiert des anticorps non seulement passivement mais encore activement. Dès la 10^e-12^es de vie intra-utérine, il possède des éléments nécessaires à la phagocytose, tandis que le système immunocompétent se développe rapidement. Les premières Ig à apparaître sont les IgM.

6.1.1.3. Transfert passif d'anticorps IgG au foetus.

Il se fait dans le cas de l'espèce humaine par voie placentaire. Seules les IgG peuvent effectuer ce transfert grâce à leur fragment Fc. Les IgG apparaissent dans la circulation foetale dès le 3^e et 4^e mois. Leur taux augmente rapidement pour atteindre parfois celui de la mère à la naissance. Ce taux est d'autant plus bas que l'enfant est prématuré et il semblerait que la transmission soit plus faible lors des dernières semaines de grossesse.

6.1.1.4 . Mécanisme de transfert () (Langman, 1984)

Le syncytiotrophoblaste qui est la première couche

à être traversée par les immunoglobulines maternelles. Elle est couverte par des microvillosités qui possèdent des récepteurs spécifiques d'Ig sur leur surface. Les IgG se lient grâce à leur fragment Fc sur ces récepteurs et sont transportées dans les cellules par invagination dans des vésicules spéciales de pinocytose. Ces vésicules les protègent contre la digestion par les enzymes lysosomales. Ceci est un processus actif et non une simple diffusion passive.

6.2. Données immunologiques sur le paludisme.

6.2.1. Défense innée de l'organisme.

Il existe des facteurs génétiques érythrocytaires qui interviennent chez certains sujets leur permettant d'opposer une résistance naturelle au parasite du paludisme dès le premier contact, ceci soit par un blocage du développement du parasite soit par destruction.

6.2.1.1. Antigène Duffy:

Les sujets déficitaires en antigène Duffy sont résistants au Plasmodium vivax. Ceci s'observe largement en Afrique de l'Ouest où la plupart de personnes sont Duffy négatifs (Charmot, 1980 ; Cohen et al, 1982). Le déficit empêche le mérozoïte de se fixer sur la membrane érythrocytaire.

6.2.1.2. Hémoglobine S.

Les formes moins graves de paludisme sont observées chez les sujets AS contrairement à ceux qui sont AA. L'hémoglobine S modifierait simplement la gravité mais sans prévenir l'affection. Charmot (1980) rapporte que la croissance de P. falciparum est ralentie in vitro dans les hématies AS lorsque la tension en oxygène est abaissée. Luzzato (1974) cité par Moyou-Somo (1977) a montré que les mérozoïtes de

P. falciparum in vitro pénètrent aussi bien dans les hématies falciformes que dans les hématies normales. On pense donc qu'il s'agirait non pas d'un obstacle à la pénétration, mais de la qualité de l'hémoglobine.

6.2.1.3. Hémoglobine foetale

Elle apparaît vers la huitième semaine de développement et est faite de deux chaînes α et deux chaînes β . Vers la fin des trois premiers mois de vie elle est progressivement remplacée par l'hémoglobine adulte. Chez certains individus, cette hémoglobine persiste et serait associée à une résistance au paludisme. Ainsi, les érythrocytes des nourrissons de 3 à 6 mois sont moins vite envahis que ceux des nouveau-nés qui possèdent l'hémoglobine F. (Cohen, 1982). Charmot (1980), rapporte qu'in vitro les trophozoïtes de P. falciparum ont une croissance lente dans les hématies contenant l'hémoglobine F.

6.2.1.4. Les Thalassémies

Charmot (1980) et Bruce-Chwatt (1985a) ont rapporté que, selon les expériences in vitro, la croissance de P. falciparum serait altérée dans les hématies B thalassémiques à cause des lésions membranaires secondaires à la faible teneur en hémoglobine.

6.2.2. Réponse humorale à l'infection à P. falciparum.

6.2.2.1. Antigènes de P. falciparum et réponse immunitaire:

Le plasmodium subit un cycle de développement en différents stades pendant lesquels il survient des modifications tant morphologiques qu'antigeniques. Il existe plusieurs antigènes spécifiques de stade. Seule une faible proportion d'antigènes est capable d'induire une réponse immunitaire: sporozoïte, les parasites des stades sanguins asexués et les parasites des stades sexués.

6.2.2.1.1. Sporozoïte:

L'antigène majeur du sporozoïte est sa principale protéine de surface appelée "circum sporozoïte protein" ou protéine circumsporozoïtaire (CSP). Cette protéine est différente d'une espèce à l'autre et est synthétisée en grande quantité par les sporozoïtes matures (V. Nussenzweig et R. Nussenzweig, 1986). Son poids moléculaire varie entre 40.000 et 60.000. C'est un antigène dont l'épitope immunodominant est fait de quatre acides aminés qui se répètent plusieurs fois entrecoupés d'autres séquences non répétitives. Les quatre acides aminés de l'épitope immunodominant sont: asparagine, Alanine - Alanine - Proline ou ASn-Ala-ASn-Pro, encore on peut noter NANP. (Bruce-Chwatt 1985a; OMS, 1986). Etant donné que l'épitope NANP se répète plusieurs fois, on note (NANP)_n. Le (NANP)₃ serait la plus petite taille de cette protéine capable d'induire une immunité (Grau, Delgiudice et Lambert) et le (NANP)₄₀ le plus répétitif (OMS 1986). Quelque soit le nombre de fois que l'épitope immunodominant se répète, on sait que le (NANP)_n est fortement immunogène (OMS 1986).

Il y aurait une homologie séquentielle entre la CSP de P. falciparum et celle de P. knowlesi en région I où 9 des 15 acides aminés sont identiques, en région II où 12 des 13 acides aminés sont identiques (Kemp, Coppel et Anders, 1987).

L'infection par les sporozoïtes non atténués induit en général une faible immunité clinique dont le degré varie en fonction des espèces plasmodiales. Dans les zones d'endémie, on note chez les autochtones une régression progressive du paludisme en fonction de l'âge. (Nardin et R. Nussenzweig, 1979 ; Bruce-Chwatt, 1985a ; Tapchaisri, et, 1985) cette résistance à la maladie serait liée à une immunité acquise au cours des réinfections successives et au fil des ans. Cette immunité est de courte durée. C'est une prémunition. (Charmot, 1980, Gentillini, 1986).

Zavala, (1986), utilisant le peptide (NANP) de P. falciparum comme antigène et la méthode ELISA pour détecter les anticorps, trouve chez les gambiens 22% de seropositivité chez les enfants de 1 à 14 ans contre 84% chez les patients de plus de 34 ans.

Nardins Higgins et al, (1979) observent chez les gambiens, utilisant la méthode d'immunofluorescente indirecte et les sporozoïtes viables comme antigène, plus de 90 % de seropositivité chez les sujets de 20 à 49 ans.

Del Giudice et al, (1987) utilisant la méthode ELISA et le (NANP)40 comme antigène dépistent chez des sujets tanzaniens, 49% de seropositivité dans la population générale. Au cours de la même étude, ils étudient les différentes classes d'âge et trouvent 70 % de seropositivité chez les adolescents de 11 à 15 ans contre 100% de seropositivité chez les patients de plus de 40 ans ; ceci corrobore avec l'hypothèse selon laquelle l'immunité au paludisme est fonction de l'âge.

Il existe une corrélation entre le taux d'anticorps dirigés contre une étape antigénique donnée et le niveau de transmission du paludisme ; ce taux serait fonction du nombre de sporozoïtes inoculés à l'homme par le moustique (Druilhe et al, 1986).

Au Cameroun, Nkwate, (1980) utilisant la technique d'hémagglutination indirecte trouve 75% de seropositivité chez les parturientes sous prophylaxie mensuelle contre 70,59% chez celles des parturientes qui suivent une chimioprophylaxie hebdomadaire.

Bruce-Chwatt (1985a), Tapchaisri et al (1985) rapportent que les anticorps sont les immunoglobulines de type IgG, IgM, IgA. La spécificité d'action est reconnue à l'IgG qui est l'anticorps le plus présent dans la circulation.

En cas d'infection, l'IgM apparaît précocément et son taux décroît rapidement contrairement à l'IgG qui se constitue progressivement mais lorsqu'il y a une infection son taux croît très rapidement.

La durée de vie de ces immunoglobulines serait courte. Leur demi-vie serait de 27 jours pour les anticorps anti (NANP)₃₂ d'après une étude menée sur des patients thaïlandais. (OMS, 1986). Leur synthèse est sous un contrôle génétique. Chez la souris la réponse immunitaire au (NANP)_n est contrôlée et liée à la présence d'un allèle particulier sur la région la de complexe d'Histocompatibilité (H-2). (OMS, 1986).

6.2.2.1.2. Parasites des stades sanguins asexués6.2.2.1.2.1. Les antigènes du mérozoïte et la réponse immunitaire.6.2.2.1.2.1.1. Les antigènes sécrétésAntigènes S:

Ce sont des antigènes solubles et thermo stables. Ce sont des polypeptides de masse moléculaire relative (Mr) de 120.000 à 250.000 (OMS, 1984). Ils possèdent différentes séquences répétitives d'acides aminés. Leur fonction n'est pas très bien connue, mais l'on pense qu'ils participeraient à l'évasion immunitaire grâce à sa liaison au mérozoïte comme protéine de membrane périphérique.

Glycophorin - binding Protein (GSP)

C'est une sialoglycoprotéine de surface du globule rouge. Elle médierait pour l'interaction entre le mérozoïte et le globule rouge. Le globule rouge qui en est déficitaire n'est pas susceptible au mérozoïte. (Kemp et al, 1987).

6.2.2.1.2.1.2. Les antigènes de surface du mérozoïtePrecursor of the major merozoïte surface antigènes= PMMSA

Ce sont des protéines dont le poids moléculaire varie entre 190 et 200 kd. Hall et al (1984), Holder (1982) cités par Holder (1988) ont rapporté que, les sujets vivant en zone d'endemie palustre ont des anticorps spécifiques anti-PMMSA. Ces anticorps inhiberaient la croissance intra erythrocytaire du parasite.

6.2.2.1.2.1.3. Les antigènes de surface érythrocytaire.

La surface du globule rouge infecté se modifie pendant l'infection par P. falciparum. Les hématies contenant

les trophozoïtes tardifs et des schizontes présentent à leur surface des protubérances qui leur permettent de se fixer aux cellules endothéliales. Ainsi, les érythrocytes contenant des parasites mûrs sont sequestrés et disparaissent de la circulation périphérique. La production des protuberances serait associée à la synthèse de la protéine riche en histidine. (OMS, 1984).

On distingue :

- Le "ring infected erythrocyte surface antigen" (RESA).

Cette même protéine a été appelée Pf 155 (Perlman, et al, 1984).

Les anticorps anti RESA inhiberaient l'invasion du globule rouge par le mérozoïte.

- "Knob associated histidine rich protein".

Cette protéine serait, chez P. falciparum, localisée sur les protuberances (OMS, 1984).

- "Mature parasite infected erythrocyte(surface antigen = MESA.)".

C'est une protéine qui a un haut poids moléculaire (250 à 280 kd) ; elle est localisée sur la surface de l'érythrocyte infecté et contribuerait à la diversité antigénique entre les différentes souches de P. falciparum. (Kemp, et al, 1987).

6.2.2.1.2.2. Les antigènes du schizonte (OMS, 1984).

Il s'agit de leurs protéines de surface.

Au moment de la rupture des schizontes, des fragments d'antigènes de faible poids moléculaire sont produits et après leur libération, restent sur la membrane des mérozoïtes. Leur masse moléculaire relative est comprise entre

190.000 et 230.000. Ces antigènes sont synthétisés exclusivement par les parasites intraérythrocytaires mûrs et peuvent être mis en évidence à la surface des schizontes et des trophozoïtes. Chez P. falciparum, cette molécule a une masse moléculaire relative de 195.000.

6.2.2.1.3. Parasites des stades sexués: (OMS,1985)

Les antigènes cibles:

Les antigènes cibles des anticorps monoclonaux bloquant la transmission sont localisés sur les gamètes mâles et femelles ce sont :

- "gamète surface" antigens.
- "Ookinette" antigens.

Chez P. falciparum, les antigènes de surface des gamètes aussi bien mâles que femelles ont une masse moléculaire relative variant entre 230.000, 48.000 et 45.000 et une Mr de 25.000 pour les antigènes d'ookinette.

Il n'y aurait pas d'évidence que, les anticorps anti parasites des stades sexués soient synthétisés au cours du paludisme à P. falciparum et même à P. vivax.

6.2.2.2. Transfert d'anticorps anti malariques de la mère à l'enfant.

Il existe dans les zones d'endémie palustre, un transfert congénital d'immunité contre le paludisme de la mère à son nouveau-né. C'est ainsi que, de forts taux d'anticorps anti plasmodium de type IgG sont trouvés chez les nouveau-nés des mères immunes. (Voller et, 1980; Bruce-Chwatt (1985a et b). Le taux de cette immunoglobuline décroira au fil des temps et ce n'est que progressivement que l'enfant pourra acquérir une immunité par synthèse de ses propres IgM, IgG, IgA.

L'IgG dont le PM est de 150.000 traverse la barrière placentaire grâce à son fragment Fc ; il semblerait que sa sous classe IgG₂ ne franchisse pas cette barrière (Bruce-Chwatt, 1985a ; Letonturier, 1986)

L'IgG apparaît dans la circulation foetale dès le 3^e-4^e mois. Son taux croît rapidement et peut atteindre celui de la mère après la naissance. (Letonturier 1986). Cette transmission serait influencée par la prématurité.

Chez l'animal, Desowitz (1973) observe un transfert de l'immunité contre la souche NY4-Z de P. berghei chez le rat. Il rapporte aussi le passage d'IgA anti P. berghei par le colostrum.

6.2.2.3. Paludisme et altération du statut immunitaire.

On note une évidence d'une altération de la réponse immunitaire de la mère pendant la deuxième moitié de la grossesse, ceci serait causé par le taux élevé de corticoïde, de l'hormone gonadotrophine chorionique et de l'œctoprotéine (Adriaan, et al, 1980 ; Bruce-Chwatt 1985a).

Mais, l'expérience chez les souris de souche Suisse C3H/STZ et B10LP infectées artificiellement par P. berghei et devenues enceintes après, montrent une participation du paludisme lui-même dans le phénomène d'immunodépression observée. (Adriaan et al, 1980).

Il est fort probable que ce fait résulte de l'activation des circuits immunorégulateurs par les plasmodiums ou leurs produits (Weidanz, 1982).

6.2.3. Reponse cellulaire au cours du paludisme:

6.2.3.1. Immunité à médiation cellulaire:

Il a été mis en évidence chez des modèles expérimentaux animaux, la participation de l'immunité à médiation cellulaire dans l'immunité protectrice contre le paludisme. (Troye et al 1988). Cette forme d'immunité intervient dans la défense de l'hôte entre les parasites des stades hépatiques et sanguins (OMS 1984 b). Elle est assurée par la cellule T. En effet, au cours du paludisme, il y a induction de la libération, des lymphokines tel γ -interferon (IFN- γ) par les antigènes activant les cellules T. Cette libération stimule les cellules des autres systèmes pour avoir l'effet antiparasitaire. (Troye et al, 1988). L'interferon γ est une lymphokine régulatrice importante et un bon indicateur de l'immunité à médiation cellulaire. (Troye et al 1988), rapportent citant Ojo-Amaize et al, (1984) qu'in vitro, le contact des cellules T avec les sporozoïtes de P. berghei, les stades asexués érythrocytaires et les stades sexués de P. falciparum produisent l'IFN- γ . Cette lymphokine serait aussi produite in vitro en grande quantité par les antigènes stimulant les cellules T chez les sujets cliniquement immunisés contre P. falciparum (Troye et al, 1988).

L'IFN- γ n'a pas d'effet sur les parasites des stades érythrocytaires, mais peut protéger le singe rhesus contre P. cynomolgi (Maheshvari et al, 1986 cités par Troye et al 1988).

L'induction de l'infestation par le sporozoïte entraîne une reponse immunitaire protectrice contrairement à l'infestation par le trophozoïte ; ceci fait penser que l'inhibition survient à l'étape préérythrocytaire ou extra-érythrocytaire du cycle du parasite dans l'hépatocyte. (Troye et al, 1988).

Les cellules cibles de l'IFN- γ seraient les hépatocytes infestés car de petites doses d'IFN- γ Humain inhibent in vitro, le développement de la forme extraerythrocytaire de P. berghei. L'IFN- γ augmente l'expression des antigènes de la classe II du complexe majeur d'histocompatibilité sur les cellules présentant l'antigène pour le déclenchement de l'activité des cellules T "Helper".

Les cultures des monocytes humains dérivant des macrophages activés, l'IFN- γ permettrait l'apparition des formes en crise de P. falciparum - in vitro. (Ockenhouse et al, 1984 cités par Troye et al, 1988). L'inhibition de la croissance du parasite serait due dans ce cas à un mécanisme oxydant sensible aux catalases.

6.2.3.2. Immunité cellulaire non spécifique:

Elle serait assurée par les cellules "natural Killer" (NK) et les macrophages. Les macrophages activés par les agents tel coryne bacterium Parvum, BCG, produisent des médiateurs solubles non spécifiques : "Tumour necrosis factor" (TNF) et "reactive oxygen intermediate" (ROI). Ces substances seraient capables de tuer la forme intracrythrocytaire de plasmodium chez les murines. (OMS, 1984 b). L'activation du macrophage retarderait l'apparition du parasite dans le sang chez la souris infectée de P. yoelie (Playfair 1979 cité par Cohen et al, 1982). Pentalone et Page (1979) cité par Cohen et al, 1982, rapportent que les macrophages activés secrèteraient des enzymes potéolytiques, l'interferon, les médiateurs solubles qui activent les lymphocytes et seraient des facteurs cytotoxiques pour plasmodium. Chez la souris, l'activité des cellules NK varie en fonction des différentes souches et l'on pense qu'elle serait influencée par les gènes liés au complexe H-2 (Cohen et al, 1982). Il n'a cependant pas été démontré clairement que, les cellules NK ou l'interferon affectent directement la croissance et le développement du parasite. La corrélation entre la résistance au Paludisme

et la cellule NK chez l'homme n'a pas été évaluée. (Cohen et al, 1982).

6.3. Facteurs favorisant la survie du plasmodium chez l'hôte. (Cohen et al, 1982).

La persistance et la chronicité du paludisme à P. falciparum fait penser à l'existence d'un mécanisme par lequel le parasite échappe au système immunitaire de l'hôte. Ces facteurs incluraient la location intraérythrocytaire du parasite, leurs variations antigéniques et la modification de la réponse immunitaire de l'hôte.

6.3.1. Location intra erythrocytaire:

Chez le mammifère, le processus de développement extraérythrocytaire du plasmodium (dans l'hépatocyte) ne suscite pas de réaction cellulaire. Ceci fait penser que l'hépatocyte infecté n'exprime pas les antigènes de surface du plasmodium. Le parasite est ainsi protégé de l'attaque immunitaire par sa location intra érythrocytaire qui ne présente pas les antigènes du complexe majeur d'Histocompatibilité chez l'homme (Cohen et al, 1982).

6.3.2. Variations antigéniques:

Il existe une diversité antigénique entre les différentes souches plasmodiales. Les premières différences d'antigenicité ont été observées chez la souris entre les souches de P. berghei. (Cox, 1959 cité par Cohen et al, 1982).

En variant ses antigènes, le parasite est capable d'échapper à la réponse immunitaire préalablement induite par les autres antigènes et même la réponse immunitaire qui survient avec cette infection.

6.3.3. Modification de la réponse immunitaire de l'hôte.

Comme les autres protozooses, le paludisme perturbe la réponse immunitaire, altère la distribution des sous populations de lymphocytes dans la circulation, la rate, les ganglions. Citant Well et al (1979) Cohen et al (1982) notent la baisse de taux des cellules T circulant et une augmentation du taux de cellules B et des cellules nulles, chez les patients Thaïlandais souffrant de paludisme à P. falciparum ou à P. vivax. Le même auteur citant Loose et al (1972) rapporte que cette immunosuppression serait due au fait que, les macrophages soient incapables de présenter les antigènes aux cellules T.

Toujours au cours du paludisme, l'activation polyclonale des lymphocytes susciterait la production d'immunoglobulines non spécifiques ; parmi elles, il existe des auto-anticorps (Houba et al 1974) cité par Cohen et al 1982) qui postuleraient l'association des mitogènes des cellules B avec les plasmodies.

On note aussi la production d'anticorps antilymphocytes de l'hôte.

6.2.4. Les Essais de vaccination

Le développement des vaccins antimalariques est compliqué à cause de la spécificité des antigènes qui induisent une réponse immunitaire protectrice. Ces vaccins sont de trois types :

- vaccins antisorozoïtes
- vaccins antimerozoïtes
- vaccins anti gametocytes.

(Perlman, 1986).

Plusieurs expérimentations humaines et animales ont été faites.

6.2.4.1. Vaccins anti sporozoïtes

- Chez l'animal:

Bruce-Chwatt, (1985 a) citant Sergent, (1910), rapporte l'essai de développement de vaccin grâce à l'injection des sporozoïtes tués de P. relictum provenant des glandes salivaires des moustiques chez les oiseaux.

R. Nussengweig, et al, (1969) immunisent 90 % de souris contre P. berghei ; ces souris ont pu résister à de nouvelles infections pendant deux mois.

Chez l'homme:

Moyou-Somo, (1977) rapporte citant Rieckman et al (1974), des résultats encourageants après exposition des volontaires aux piqûres d'Anophèles Stephensis porteuses de sporozoïtes de P. falciparum, irradiées à 12 krads de rayon-X immédiatement avant le repas sanguin.

Chez quinze volontaires n'ayant jamais été en contact avec P. falciparum et qui ont reçu un vaccin fait de R32 T et 32, on a identifié dans leur serum par la technique ELISA deux semaines après l'administration du vaccin, des anticorps de type IgG, IgM, IgA anti malariques. (Hockmeyer et Ripley Balou, 1988) ; mais avant cela, Ripley et al, (1987) avaient observés des résultats analogues.

On note cependant l'échec devant une tentative d'immunisation de deux enfants Ouest-Africains à deux occasions contre P. falciparum par inoculation de sporozoïtes provenant d'Anophèles gambiae irradiées (Bray, 1976).

6.2.4.2. Vaccins anti merozoïtes:

Les merozoïtes atténués par irradiation induiraient chez le rat une réponse immunitaire protectrice (Cohen, 1982).

Chez le singe, Cohen (1974) note que l'association des merozoïtes de P. Knowlesi avec l'adjuvant de Freund confère au singe une résistance aux souches homologues et Hétérologues.

L'immunisation avec les polypeptides fusés contenant les fragments de RESA protège le singe Aoutus contre le paludisme (Collins et al 1986).

6.2.4.3. Vaccins anti gamètes:

Un vaccin contre les gamètes viserait à bloquer la transmission. Elle protégerait ainsi la population et non l'individu (OMS 1985).

QUATRIEME PARTIE

METHODOLOGIE

- RECRUTEMENT, MATERIELS ET METHODES.

1. CADRE D'ETUDE

Une série de prélèvements de sang veineux et de placenta en vue de l'étude parasitologique et socio-immunologique a été faite chez des femmes enceintes et leurs nouveau-nés dans les deux maternités (Principale et Tarnier) de l'Hôpital Central de Yaoundé.

Ces prélèvements ont été analysés dans les laboratoires suivants : laboratoire d'immunologie du CUSS/OMS, laboratoire d'immunologie du CUSS, laboratoire de parasitologie du CHU, laboratoire d'anatomie pathologie du CUSS, laboratoire d'hématologie du CHU.

Yaoundé est la capitale politique de la République du Cameroun. Sa population est hétérogène. La population autochtone est Bété.

Le climat est de type équatorial, avec deux saisons pluvieuses et deux saisons sèches :

- . La grande saison des pluies va d'Août à Novembre
- . La grande saison sèche va de Décembre à Avril
- . La petite saison sèche va de Juin à Juillet.

L'encadrement sanitaire est assurée par des formations publiques et privées.

Parmi les formations sanitaires publiques on distingue :

- L'hôpital Central et Annexe Jamot
- Le Centre Hospitalier Universitaire
- Les Dispensaires Urbains
- La PMI : Protection Maternelle et Infantile.

L'Hôpital Central demeure la plus grande formation sanitaire de la ville.

La Maternité Principale quant à elle reçoit la

majeur partie des parturientes en travail.

La ville de Yaoundé est classée comme zone de meso endémicité palustre. L'espèce plasmodiale la plus fréquente est P. falciparum. 90 %. Le vecteur majeur est A. gambiae, (Cornu et al 1986).

2. Période d'étude:

Nous avons effectué nos prélèvements du 1er septembre 1987 au 31 Janvier 1988.

La lecture des lames est faite au jour le jour.

Les analyses sérologiques ont été faites du mois de Juillet 1988 au mois de Septembre 1988.

3. Echantillon de la population étudiée.

Notre échantillon comporte d'une part des femmes enceintes volontaires devant accoucher dans l'une des deux maternités de l'Hôpital Central de Yaoundé. Nous n'avons pas fait de distinction de race, de religion, de parité ou d'âge,

D'autre part, les nouveau-nés issus de ces parturientes.

Pour chaque personne, un questionnaire (cf annexe) est rempli et comporte notamment son nom, son âge, un numéro d'identification, les antécédents médicaux avec insistance sur le paludisme. Les nouveau-nés sont examinés et les données anthropométriques sont portées sur la fiche.

5. Les Prélèvements

5.1. Matériels de Prélèvement:

- . Coton hydrophile stérile
- . Seringues stériles à usage unique
- . Aiguilles stériles à usage unique.
- . Alcool à 90°
- . Tubes secs
- . Etiquettes
- . Lames porte-objet
- . Flacons
- . Microtubes
- . Garrot
- . Formol 10 %
- . Pipettes Pasteur
- . Congelateur.

5.2. Méthode de Prélèvement de sang:

5.2.1. Chez la mère:

Les mamans en travail sont prélevées avant l'accouchement.

Des aiguilles stériles à usage unique sont utilisées. Après avoir placé un garrot sur l'avant bras de la parturiente, la peau est aseptisée à l'alcool. La ponction veineuse est réalisée au pli du coude et 200 de sang sont recueillis dans un tube sec.

5.2.2. Chez l'enfant

Après expulsion du foetus, une ponction de 2cc de sang du cordon est réalisée juste après la section et avant la délivrance.

Chaque échantillon de sang est étiqueté et un frottis/^{mince} et une goutte épaisse sont fait pour chacun d'eux. La goutte épaisse sur une extrémité de la lame, le frottis sur les deux tiers restants. Un trait de crayon gras permettait de separer les deux prélèvements.

L'étiquetage se fait de la manière suivante: si par exemple nous prelevons Mme X son tube portera une étiquette sur laquelle est marquée son nom : Mme X suivi de la lettre a et la date.

Celui du sang du cordon ombilical du nouveau-né portera le nom de sa mère suivi de la lettre b ex: enfant Xb, et le sexe.

5.3. Prélèvement des placentas

Après la délivrance, un petit morceau de placenta est prélevé et placé dans un flacon contenant du formol à 10 % suivi d'un étiquetage.

6. Préservation des échantillons

Le sang prélevé est par la suite (au moins 3 heures après et ne dépassant pas 3 jours) centrifugé à 2000 tours par minutes pendant 10 minutes pour obtenir le serum. Le serum obtenu est mis dans des microtubes en plastiques, puis à nouveau étiquetés, sur l'étiquette on écrit le nom, la date et le numéro du serum. Le numéro de serum est le même pour la mère et son enfant sauf que celui de la mère est suivi de la lettre a et celui de l'enfant de la lettre b.

Tous les serums sont conservés dans un congélateur à -20° en attendant le jour de lecture.

7. Etude parasitologique des prélèvements

7.1. Coloration et lecture des lames de sang

7.1.1 Préparation de la solution de Giemsa:

Elle est préparée en diluant 4ml de Giemsa dans 76 ml d'eau distillée tamponnée à pH 7,2. Cette quantité suffisait pour une vingtaine de lames.

7.2. Coloration:

Les gouttes épaisses sont hemolysées en plongeant les lames verticalement dans un bac à coloration contenant quelques centimètres cube d'eau distillée. Ensuite, les lames sont soigneusement égouttées, puis les frottis sont fixés en retournant les lames et en les plongeant verticalement dans un second bac rempli de colorant de May-Grünwald.

La coloration de l'ensemble se fait ensuite dans la solution de Giemsa diluée.

7.3. Lecture des Lames:

Elle est faite à l'aide d'un microscope binoculaire modèle Zeiss à l'objectif 100 utilisant l'huile d'immersion.

La goutte épaisse est d'abord examinée pour déterminer la présence ou nom de plasmodium. Le frottis est examiné pour identifier l'espace plasmodiale et pour calculer la parasitémie. Cependant pour les faibles infestations, nous utilisons la goutte épaisse pour déterminer la densité parasitaire.

7.3.1. Détermination de la densité parasitaire par
m³ de sang.

La préparation est parcourue d'une extrémité à l'autre en faisant des mouvements de montée et descente.

Nous comptons : simultanément les parasites et les leucocytes et arrêtons à 500 leucocytes [la densité parasitaire est calculée par la formule suivante : (Russel 1963)].

$$N = \frac{6,500 \times n}{500}$$

N = densité parasitaire

n = nombre de parasites comptés simultanément avec 500 leucocytes et

6,500 = estimation de la moyenne des leucocytes par mm³ de sang.

7.2. Etude parasitologique des placentas

7.2.1. Matériels utilisés :

Formol à 10 %

Paraffine

Xylène

Hematoxilline

Eosine

Alcool absolu

Alcool à 95° et 80°

Alcool acide

Carbonate de lithium

Albumine glycérine

baume de canada

Histokinette

Microtome

Bacs à coloration

Refrigérateur

Lames

Lamelles

Microscope binoculaire modèle Zeiss.

7.2.2. Confection des lames

Tous les placentas prélevés sont fixés au formol à 10 %. Ensuite, nous devons :

- les déshydrater dans l'histokinette.
- Couler les blocs à la paraffine puis placer au réfrigérateur pendant au moins 12 H.
- Débitage des blocs au microtome à 5 ou 6µ
- Poser les coupes sur les lames en mettant au préalable une goutte d'albumine glycérine pour faciliter l'adhérence, puis les laisser sécher.
- Ensuite colorer à l'Hématoxilline eosine (HE).
- Déparaffinage de la lame au xylène.
- La passer dans l'alcool absolu (100%) puis dans l'alcool à 95° et à 80°.
- Hydrater en la trempant dans l'eau
- Colorer à l'hématixilline pendant 10 minutes.
- Rincer
- Différencier dans l'alcool acide
- Bleuier avec le carbonate de lithium
- Colorer dans l'éosine pendant 5 minutes
- puis déshydrater à l'alcool et terminer par le xylène.
- Faire le montage au baume du Canada et placer la lamelle en évitant soigneusement la formation des bulles d'air.

7.2.3. Examen des préparations de placenta

Les préparations de placenta sont examinées au microscope binoculaire modèle ZEISS comme précédemment pour la recherche de plasmodium et de pigment malarique.

8. Détection d'anticorps antiprotéine circumsporozoïtaire de P. falciparum utilisant le peptide (NANP)40 et la technique ELISA (Enzyme linked immunosorbent assay).

Les anticorps anti (NANP)40 ont des anticorps dirigés contre la séquence répétitive d'acides aminés (ASM-Ala-ASn-Pro) présents à la surface du sporozoïte de P. falciparum. Ces anticorps sont dépistés dans le serum des individus en utilisant la technique ELISA. Elle est l'une des techniques les plus récentes appliquées à la serologie du paludisme. Elle a une grande spécificité et est facile à utiliser en grandes séries.

8. . Matériels et réactifs

8.1.1. Matériels

- Pipettes pasteur
- Micro pipettes
- Pipettes
- Balance
- pH mètre
- Minute
- Réfrigérateur
- Congelateur
- Verrerie diverse
- Spatule
- plateaux
- spectrophotomètre
- Alvéoles de plaques de microtitration sur lesquels est préalablement fixé par absorption le (NANP)40.
- agitateur magnétique.

8.1.2. Réactifs

- PBS : phosphate buffer saline PH:7,2
- eau distillée
- lait écrémé en poudre
- Tween 20
- citrate trisodique
- acide citrique
- méthanol
- OPD (orthophenyl diamine)
- Peroxidase
- antiglobuline G conjuguée

8.2. Préparation du tampon diluant

Pour 2500 CC d'eau distillée mettre :

- 23,875 g de PBS et bien agiter pour que le liquide soit homogène.
règler le PH à 7,2.
- 1,25 CC de Tween 20 soit 0,05 %.

Pour préparer le liquide de dilution proprement dit :

sortir 250 CC de PBST20 et y mettre 6,25 g de lait écrémé soit 2,5 % : cette solution est appelée PBS T. lait.

8.3. Préparation du tampon citrate 0,1M PH50.

Pour faire 500 CC de tampon de citrate :

a). Mettre 4,202 g d'acide citrique dans 200 ml d'eau distillée.

b). Mettre 5,88 g de citrate trisodique dans 200 CC d'eau distillée à part (différent de la solution A).

Bien agiter chacune des deux solutions.

c). Mélanger 102,5 ml de (A) et 147,5 ml de (B) Ramener l'ensemble à 500 CC en ajoutant l'eau distillée. Le PH à la fin de la préparation doit être égal à 5.

8.4. Préparation de la solution/substrat^{de}

- 50 ml de tampon de citrate
- 50 ul de H₂O₂ (10%)
- 20 mg d'orthophenyl diamine (Merk)

8.5 Les dilutions

Décongeler les serums.

Arranger les tubes en fonction des serums et leurs numeros.

Les dilutions sont faites à 1/200. C'est-à-dire : dans chaque tube sec, on met 2CC de PBS-T-Lait et on y ajoute 10ul de serum correspondant.

- Temoin positif.

On utilise un serum connu qui est fortement positif. On fait 3 dilutions.

1/200

1/600

1/1800

- Témoin négatif :

On utilise les serums d'européens qui n'ont jamais été en contact avec le plasmodium, à la dilution 1/200.

- antiglobuline Humaine IgG

Elle est utilisée à la dilution de 1/2000

8.6. Détection d'anticorps proprement dite.

Nous utilisons pour chaque série, deux plaques de polystyrène : une plaque (NANP)40 (c'est-à-dire sur laquelle l'antigène est fixée) et une plaque PBS. Chaque échantillon de serum est testé sur chacune de ces deux plaques.

Usage des plaques.

Il y a sur chaque plaque des zones réservées: "Blank", TP, TN, échantillons.

TEMOINS		ECHANTILLONS										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A:	TP	1		5	9	13	17	21	25	29	33	37
B:	1/200											
C:	TP											
D:	1/600	2		6	10	14	18	22	26	30	34	38
E:	TP											
F:	1/600	3		7	11	15	19	23	27	31	35	39
G:	TP											
H:	1/200	4		8	12	16	20	24	28	32	36	40

8.1. Procédure:

1. Laver les plaques d'antigènes et de PBS deux fois pendant 5 min avec la solution PBST. Les débarrasser soigneusement de toute trace de liquide de lavage en secouant fortement face en dessous, contre les feuilles de papier filtre.

2. Ajouter 100 ul de serum dilué à 1/200 dans le PBS-T-lait dans chaque cupule, sauf dans la zone dite "Blank" où l'on ne mettra que le PBS-T-lait.

3. Incuber pendant 1 heure à ^{la} température ambiante.

4. Laver 4 fois pendant 5 min avec le PBS-T- et sécher par le procédé précédemment cité.

5. Ajouter 100 ul de conjugué anti IgG peroxidase Cappel diluée à 1/2000 avec PBS-T-lait.

6. Incuber pendant 1 heure à température ambiante.

7. Laver 4 fois 5 min avec PBS-Tween 200 et sécher de la même manière.

8. Ajouter 100ul de substrat OPDA.

9. Incuber pendant 20 minutes dans l'obscurité et à température ambiante.

10. Arrêter la réaction avec 50 ul de H₂SO₄ (2,5N).

8.2. Lecture

Elle se fait à l'aide d'un spectrophotomètre à la longueur d'onde de $\lambda = 492\text{nm}$.

Les valeurs de la plaque PBS sont soustraites de celles de la plaque (NANP)40 pour donner la vraie valeur. Nous avons pour chaque serie, une dilution du contrôle positif à 1/200, 1/600, 1/1800. Les valeurs de densité optique de ces témoins : positifs nous ont permis de tracer une courbe standard de référence à partir de laquelle nous lisons les densités optiques des autres serums.

Le seuil de positivité est déterminé à partir des densités optiques de serums témoins négatifs.

10. Analyse statistique des données

Pour comparer les pourcentages, nous utilisons la formule suivante :

$$\frac{|P_1 - P_2|}{\sqrt{\frac{P_1(100-P_1)}{n_1} + \frac{P_2(100-P_2)}{n_2}}}$$

P_1 = Pourcentage pour premier échantillon

P_2 = Pourcentage pour deuxième échantillon

n_1 = Effectif du premier échantillon

n_2 = Effectif du deuxième échantillon.

Pour le calcul de la corrélation (r) nous utiliserons la formule suivante :

$$r = \frac{\text{COV}(X,Y)}{\text{SD}(X) \cdot \text{SD}(Y)}$$

$$\text{COV}(X,Y) = \text{covariance}(X,Y) = \frac{1}{n} \sum_{\text{totale}} X_i Y_i - \bar{X} \bar{Y}$$

n = population/étudiée

X = population du premier groupe

Y = population du deuxième groupe.

SD = écart type

C I N Q U I E M E P A R T I E

R E S U L T A T S

Les manipulations sérologiques se sont déroulées à sept occasions distinctes. Le même sérum de référence (témoin positif) a été utilisé chaque fois aux dilutions suivantes : 1/200, 1/600, 1/1800. Les échantillons à tester étaient utilisés à la dilution 1/200. La lecture de chaque échantillon s'est faite à l'aide du spectrophotomètre, les taux d'anticorps étant exprimés en densité optique. Etant donné la grande variation obtenue pour le même sérum témoin, (coefficient de variation 5%), nous avons exprimé nos résultats en pourcentage par rapport au sérum de référence. Pour le faire, les densités optiques obtenues pour les trois dilutions du serum témoin positif nous ont permis de tracer une courbe étalon. Cette courbe nous a permis d'exprimer toutes les densités optiques obtenues (pour les serums à tester et les témoins négatifs) en pourcentage sachant que le serum témoin positif dilué à 1/200 est égal à 100%, à 1/600 = 33,33%, 1/1800=11,11% ; ceci contrairement aux méthodes standards qui consistent à donner la concentration d'anticorps en μg , ng, pg, fg.../volume.

Calcul de seuil de positivité

Nous avons eu 17 serums témoins négatifs. Leurs taux d'anticorps ont été exprimés de la même manière que précédemment citée. Pour obtenir la valeur "seuil" nous avons calculé la moyenne de toutes les valeurs de témoins négatifs, et à cette moyenne nous avons ajouté, 3 fois l'écart type. $S = \bar{x} + 3 \sigma$

S= seuil

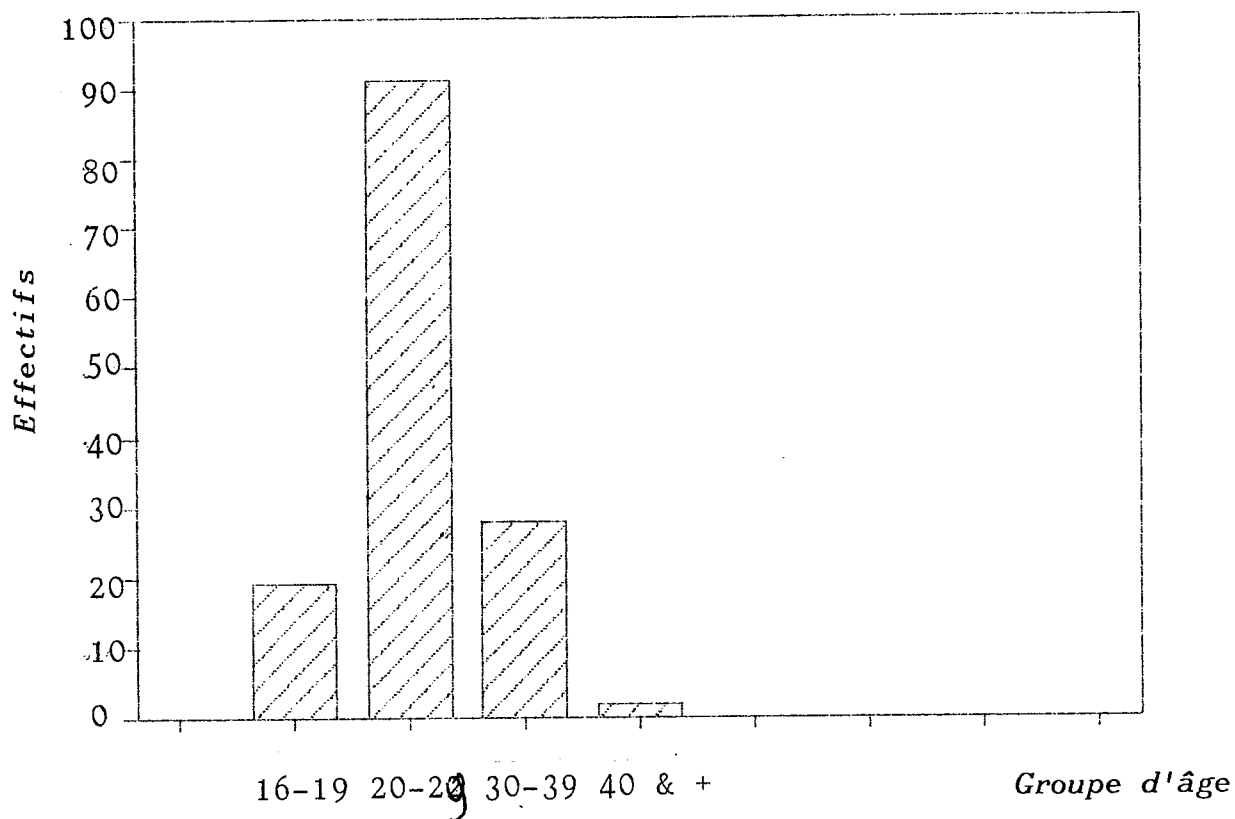
\bar{x} = moyenne

σ = écart type

Nous avons pu ainsi obtenir une valeur seuil égale à 10,02 %.

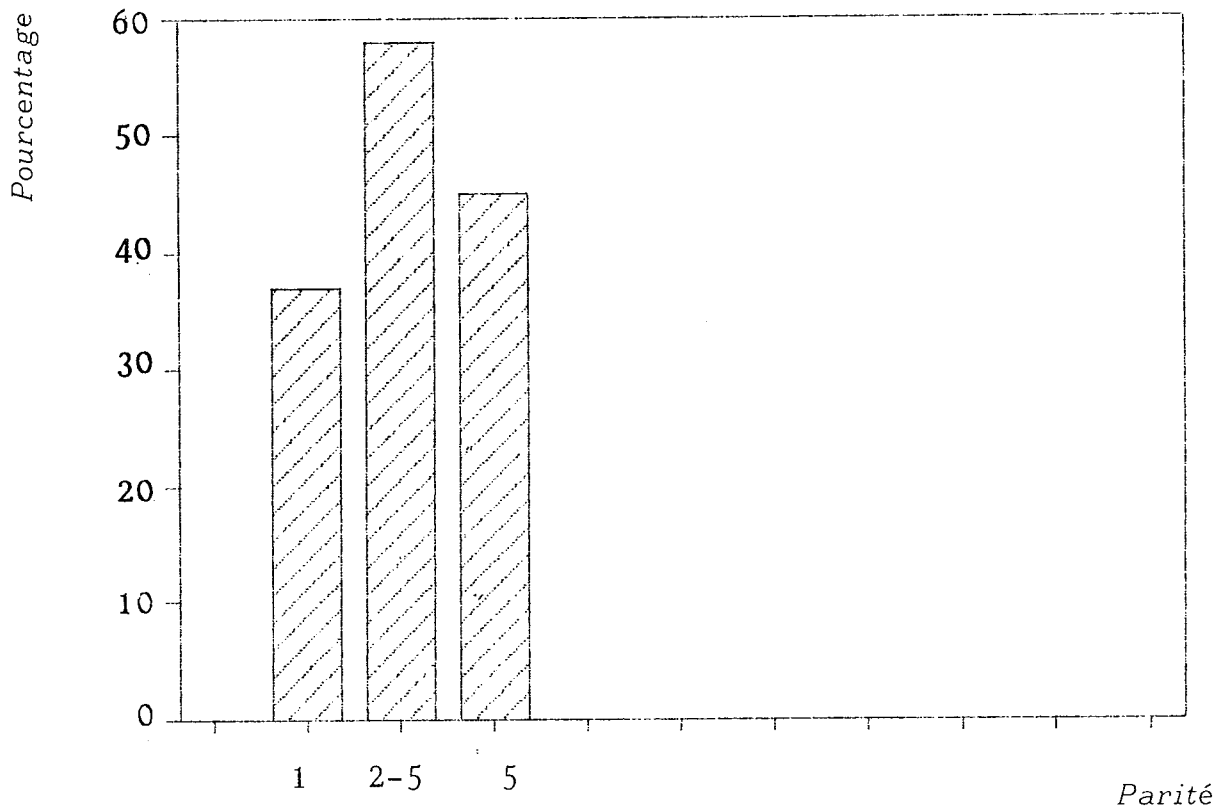
Toutes les valeurs supérieures à 10,02% étaient considérées comme valeurs positives, ce qui veut dire que le sujet a des anticorps (dans notre cas IgG anti (NANP)40) ou alors sujet séropositif. Tous les sujets ayant des valeurs inférieures à 10,02% sont dits séronégatifs ou négatifs. Ils n'ont donc pas d'anticorps.

Fig.1 Répartition des Mères selon l'âge



Notre étude a porté sur 140 parturientes âgées de 15 ans à 43 ans. La tranche d'âge de 20-29 ans est la plus représentée (Tableau 1 et figure 1). L'âge moyen étant de 25 ans.

Fig.2 : Répartition des parturientes en fonction de la parité.



Les multipares (2 à 5 accouchements) sont les plus représentées. (figure 2).

Tableau 1 : Population de nouveau-nés étudiés.

Nombre total de nouveau-nés étudiés	Nombre de Nouveau-nés de sexe masculin	Nombre de Nouveau-nés de sexe féminin
140	65 (46,43%)	75 (53,57%)

140 nouveau-nés issus de ces parturientes ont été examinés. Il y en a 65 (46,43%) de sexe masculin et 75 (53,57%) nouveau-nés de sexe féminin.

Leur poids moyen est de 3050 ± 215 grammes.

Nous n'avons pas eu de jumeaux, ni de prématurés.

Un de ces nouveau-nés présente un hypospadias, les autres n'ayant présenté aucune anomalie cliniquement décelable.

II. ETUDE PARASITOLOGIQUE

Tableau 2 : Prévalence de *P. falciparum* chez les parturientes

Age	Nbre de sujets examinés	Nombre de sujets parasités		Nombre de sujets non parasités	
		Nbre	%	Nbre	%
15-19	19	2	10,53%	17	89,47%
20-29	91	11	12,08%	80	87,92%
30-39	28	2	7,14%	26	92,86%
40-49	2	0	0%	2	100%
Total	140	15	10,72%	125	89,28%

10,72% des parturientes étudiées sont porteuses de formes érythrocytaires de *P. falciparum*.

La tranche d'âge de 20-29 ans semble être la plus touchée. (tableau 2).

Tableau 3: Densité parasitaire observée chez les parturientes porteuses de formes érythrocytaire de P. falciparum: classement en fonction de la parité.

Parité	Nombre de parturientes examinées	Densité Parasitaire moyenne
1	3 (20%)	6421 ₊ 6128
2-5	5 (33,33%)	2700 ₊ 2653
5	7 (46,67%)	3536 ₊ 7389
Total	15,	3834 ₊ 6103

La densité parasitaire est très variable (150 à 21.000 P. falciparum par mm³). Elle est en moyenne de 3834₊ 6103 parasites/mm³.

Elle est plus élevée chez les primipares (6421₊ 6128) que chez les multipares (2700₊ 2653) et les grandes multipares 3536₊ 7389 (Tableau 3)

1 seul nouveau-né parmi les 140 est porteur de forme érythrocytaire de P. falciparum (soit 0,71 %).

Tableau 4: Prévalence de l'infestation placentaire chez les parturientes.

Nombre de placentas examinés	Nombre de placentas infectés	Nombre de placentas non infectés
125	32 (25,6%)	93 (74,4%)

125 placentas ont été examinés, 15 parturientes ayant refusé le prélèvement.

Aucun d'eux ne présente une anomalie macroscopiquement décelable.

32 de ces placentas sont infestés par P. falciparum soit une prévalence de 25,6 % contre 93 (74,4%) qui ne le sont pas.

Le poids moyen de ces placentas est de $701,2 \pm 157,77g$.

Nous n'avons pas observé de différence de poids entre placentas infectés et ceux qui ne le sont pas. (tableau 4).

III ETUDE IMMUNOLOGIQUETableau 5 : Prévalence d'IgG anti (NANP)40 chez les parturientes.

Nombre de parturientes examinées	Nombre de parturientes avec test ELISA positif	Nombre de parturientes avec test ELISA Négatif
140	32 (22,86%)	108 (77,14%)

22,86 % (32) des parturientes sont porteuses d'immunoglobuline G anti(NANP)40 contre 77,14% (108) qui sont négatives. (tableau 5).

Tableau 6 : Prévalence d'IgG anti (NANP)40 chez les parturientes avec parasitémie.

Nombre de parturientes parasitées	Nombre de parturientes parasitées qui ont un test ELISA positif	Nombre de parturientes parasitées qui ont un test ELISA négatif
15	3 (20%)	12 (80%)

20% (3) des parturientes porteuses de formes érythrocytaires de P. falciparum ont un test ELISA positif contre 80 % (12) qui ont un test négatif. (Tableau 6).

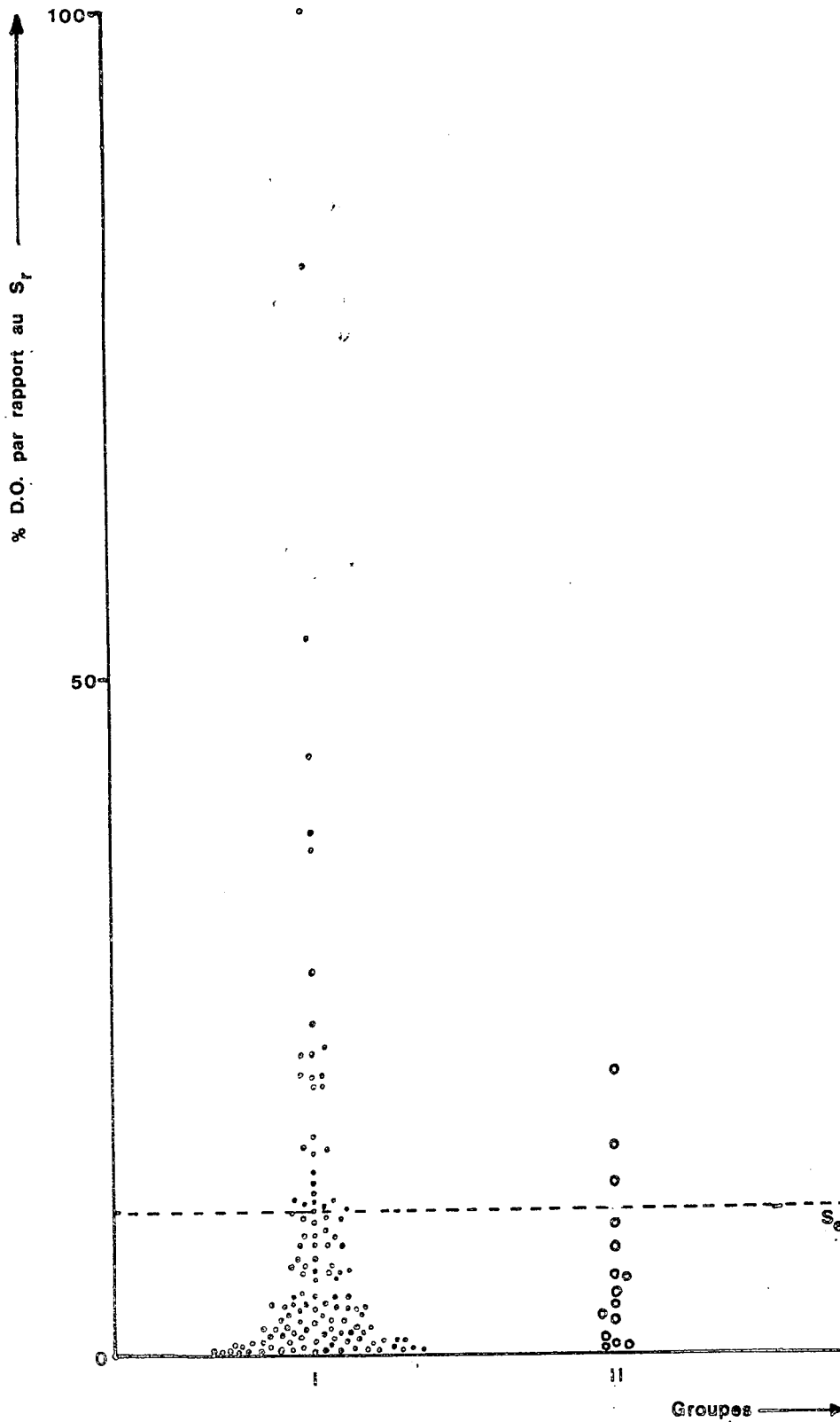
Tableau 7: Influence de la parasitémie sur la séropositivité.

<i>Nombre de parturientes examinées</i>	<i>Parturientes avec anticorps et parasitémie.</i>	<i>Parturientes sans anticorps mais avec parasitémie.</i>
140(100%)	3/32(9,4%)	12/108(11,11%)

9,4% de parturientes avec anticorps sont parasitées contre 11,11 % qui n'ont pas d'anticorps et qui sont parasitées.

La différence observée entre ces deux groupes n'est pas statistiquement significative (SND=0,047 $P > 0,05$) (tableau 7).

FIG. 3 : Relation entre le taux d'anticorps chez les parturientes parasitées et celles qui ne le sont pas.



I - o sujets non parasités.

II - o sujets parasités.

Les parturientes avec parasitémie ont de taux d'anticorps plus bas que celles ne l'ayant pas. Chez les femmes non parasitées, on a trouvé des taux proches et même parfois égaux à celui du serum de référence (Figure 3).

Tableau 8 : Prévalence d'IgG anti (NANP)40 chez les parturientes qui ont un placenta infesté.

Nombre de parturientes avec placentas infestés	Nombre de parturientes avec anticorps.	Nombre de parturientes sans anticorps
32	10(31,25%)	22(68,75%)

Parmi les parturientes ayant une infestation placentaire, 10 (31,25%) sont porteuses d'IgG anti (NANP)40. Contre 22 (68,75%) qui ne le sont pas.

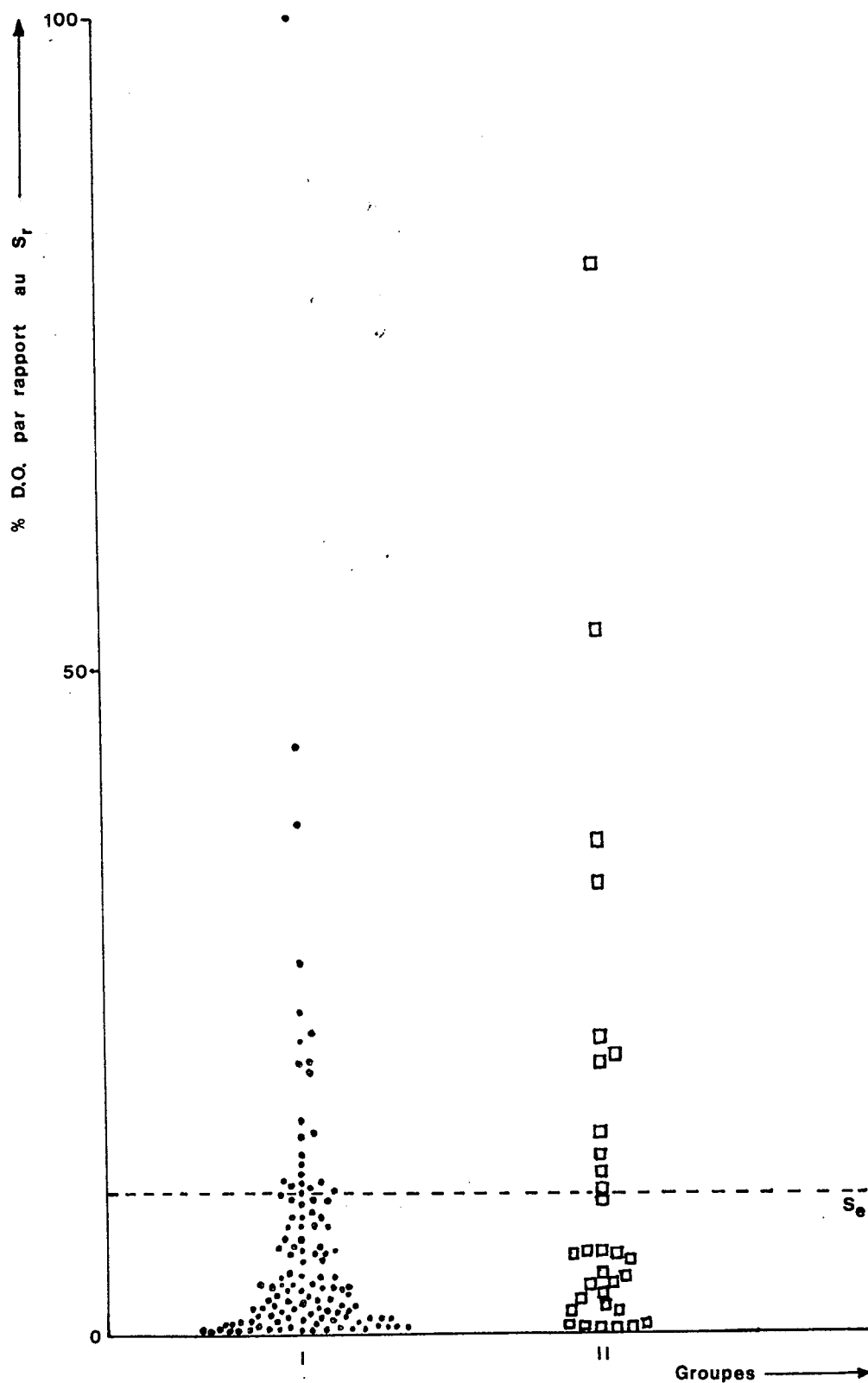
Tableau 9 : Influence de l'infestation placentaire sur la séropositivité de la mère.

Nombre de placentas examinés	Infestation placentaire chez les parturientes avec IgG	Infestation placentaire chez les parturientes sans IgG
125	10/26 (38,46%)	22/99(22,22%)

38,46% (10) des mères ayant accepté l'examen de leur placentas ont une infestation placentaire par P. falciparum et ont des IgG anti (NANP)40 de P. falciparum contre 22,22% qui sont séropositives sans que le placenta soit infesté.

La différence observée entre les deux pourcentages n'est pas statistiquement significative (SND=1,56, $P > 0,05$).

FIG. 4: Relation entre infestation placentaire et taux d'IgG
Chez la mère.



I-● avec placenta infesté

II-□ sans infestation placentaire

Les femmes avec placenta infesté par P. falciparum peuvent avoir des taux d'anticorps qui atteignent 80 % de la valeur du serum de référence.

La séropositivité ne semble pas être affectée par l'infestation placentaire (figure 4).

Tableau 10 Prévalence d'IgG anti (NANP)40 dans les échantillons de sang du cordon ombilical des nouveau-nés.

Nombre de nouveau-nés examinés	Nombre de nouveau-nés positifs	Nombre de nouveau-nés négatifs
140	30 (21,43%)	110 (78,57%)

30 des nouveau-nés examinés sont porteurs d'immunoglobuline G anti (NANP)40 soit une prévalence de 21,43% contre 110 qui ont un test négatif soit une prévalence de 78,55%.

Tableau 11: Prévalence d'IgG anti(NANP)40 chez les nouveau-nés classés par sexe.

Nombre de nouveau-nés 140	Nombre de nouveau-nés de sexe masculin 65	Nombre de nouveau-nés de sexe féminin 75
Nbre avec test positif 30	15 (50%)	15 (50%)

La prévalence d'immunoglobuline G anti (NANP)40 est de 50 % dans les deux sexes.

Tableau 12 : Analyse du passage transplacentaire d'IgG. anti (NANP)₄₀ de la mère à l'enfant.

Nombre de mères positives	Nombre de mères positives avec nouveau-nés positifs.	Nombre de mères positives avec nouveau-nés négatifs.
32	22 (68,75%)	10 (31,25%)

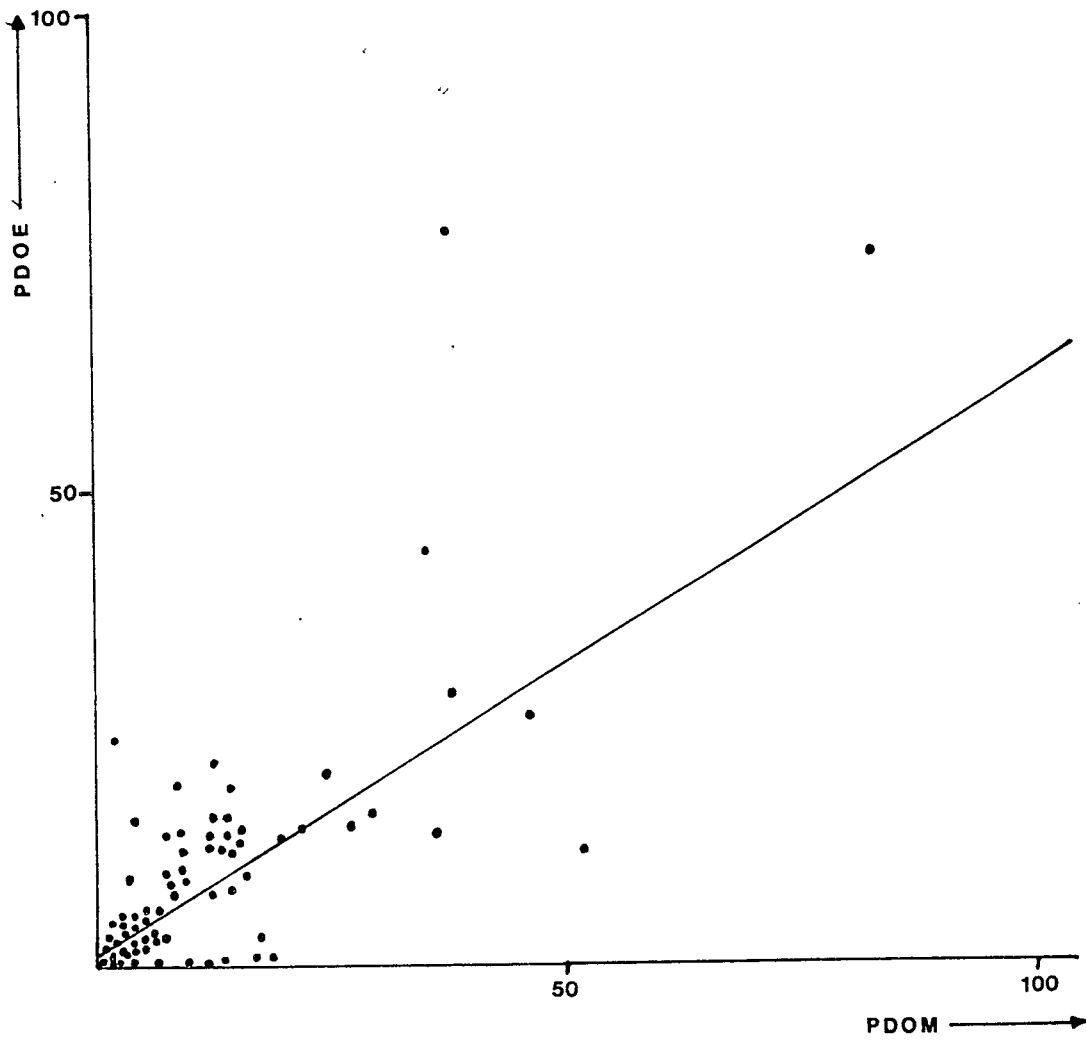
Parmi les 32 mamans ayant un test ELISA positif, 22 ont transmis des IgG anti (NANP)₄₀ à leurs nouveau-nés soit une prévalence de 68,75% contre 10 qui n'en ont pas transmis soit une prévalence de 31,25%.

Nous avons cependant trouvé des anticorps chez 8 nouveau-nés alors que leurs mamans n'en ont pas, soit une prévalence de 26,66 % de nouveau-nés séropositifs et 5,7 % de l'ensemble des nouveau-nés.

1/8 (12,5 %) a le placenta infesté contre 87,85 % qui ont le placenta sain.

2 /8 (25 %) d'entre eux sont issus de mère parasitée contre 75 % qui sont issus des mères saines.

FIG. 5 : Corrélation entre taux d'IgG anti (NANP)40 chez la mère et l'enfant. l'enfant.



$$r = 0,759$$
$$y = 1,39 + 0,61x$$

Nous avons trouvé une forte corrélation entre le taux d'anticorps de la mère et celui de l'enfant. Le coefficient de corrélation est de : $r=0,759$

Tableau 13 : infestation placentaire et transmission materno-foetale d'IgG anti (NANP)40

Nombre de placenta examinés	Transmission avec placenta infecté	Non transmission avec placenta non infecté
125	6/17(32,29%)	4/9(44,44%)

17 patientes qui ont transmis les anticorps à leurs nouveau-nés ont permis l'examen de leur placentas 32,29% (6) d'entre elles ont un placenta infecté par P. falciparum.

9 mères n'ayant pas transmis d'anticorps à leurs nouveau-nés ont permis l'examen de leurs placentas 44,44% (4) d'entre elles ont un placenta infesté.

La différence observée entre les deux groupes n'est pas statistiquement significative. (SND=0,450 $P > 0,05$).

DISCUSSION

Nous avons recherché les anticorps de classe IgG dirigés contre le peptide synthétique (NANP)40 de P. falciparum chez 140 parturientes et leurs nouveau-nés (140 au total), vivant à Yaoundé. Nous avons aussi recherché P. falciparum dans leur sang et leurs placentas.

La tranche d'âge la plus représentée chez les parturientes est celle de 20-29 ans. Cette observation est sans doute due au fait que cette période est celle de grande activité génitale.

Chez ces parturientes la prévalence de P. falciparum est de 10,72%. Jalla (1978) travaillant sur les parturientes à l'Hôpital Central de Yaoundé (Avril-Mai), a trouvé une prévalence plus élevée que nous. Cette différence observée serait due au fait que nous n'avons pas travaillé dans la même période de l'année car la transmission du paludisme a une variation saisonnière. De plus, la sanitation du milieu s'est améliorée et on utilise de plus en plus des systèmes de lutte contre le vecteur : moustiquaires, insecticides... D'une manière générale, les auteurs travaillant actuellement sur les grandes endémies parasitaires au Cameroun (Paludisme, bilharziose...) constatent une regression de ces endémies par rapport aux travaux antérieurs (Cornu et al, 1986).

La densité parasitaire est très variable. Elle est en moyenne de 3834 + 6103 parasites/mm³. Elle est plus élevée chez les primipares. Ces observations corroborent celles de Kortman (1972) Bruce-Chwatt (1985a et b).

Un seul nouveau-né sur les 140 étudiés est porteur de forme érythrocytaire de P. falciparum soit une prévalence de 0,71%.

L'étude des placentas montre 25,6% d'infestation. Ce chiffre est proche de celui trouvé par Talla (1978), Kortman (1972).

On note un grand contraste entre l'infestation placentaire, l'infestation de la mère et celle du nouveau-né.

S'agissant de la partie principale de notre travail à savoir l'étude immunologique, la nécessité d'étudier la transmission materno-foetale d'anticorps anti protéine circumsporozoïtaire (CSP) de P. falciparum est liée au fait que, parmi les vaccins antipaludiques en essais, les immunogènes des sporozoïtes figurent en première ligne. Il a été démontré que, l'épitope immunodominant le plus important de ces protéines de surface de sporozoïte est un tétrapeptide (ASn-Ala-Asn-Pro) qui se repète plusieurs fois dans la protéine : on le note (NANP)_n. (Bruce-Chwatt 1985a ; Nussenzweig. V. et Nussenzweig. R., 1986; OMS, 1986).

De plus, on pense que les anticorps dirigés contre cette protéine protègent contre le paludisme (Nardin et Nussenzweig R., 1979 ; Tapchaisri et al, 1985). La transmission materno-foetale de ces anticorps impliquerait donc le transfert d'une immunité humorale protectrice aux nouveau-nés.

Il a été démontré que l'antigène (NANP)₄₀ qui est une peptide synthétique constitué de 40 unités de l'épitope immunodominant induit la production d'anticorps chez plusieurs souches de souris (Del Giudice et al, 1986) et aussi chez l'homme (Del Giudice et al, 1987) sans qu'on ait besoin de le lier à un porteur antigénique. Les anticorps produits par ces souris réagissent bien contre les extraits de moustiques infestés avec les sporozoïtes de P. falciparum (Del Giudice et al, 1986).

Utilisant ce même antigène, c'est-à-dire le peptide synthétique (NANP)40, nous avons montré chez 140 parturientes étudiées que 22,86% d'entre elles ont des anticorps anti CSP, immunoglobuline de classe G (IgG). Parmi ces femmes séropositives, 68,75 % d'entre elles ont des nouveau-nés séropositifs. Il y a pour la plupart une corrélation positive ($r=0,759$) entre les taux d'anticorps observés chez les mères et ceux observés chez les nouveau-nés.

Il est intéressant de noter que, 26,66% (8/30) des enfants porteurs d'anticorps anti (NANP)40 sont issus des mères séronégatives. Ceci soulève plusieurs questions : à savoir si les 22 nouveau-nés chez qui nous avons détecté les immunoglobulines G anti(NANP)40 les ont reçu de leurs mères par un transfert passif ou alors si certains de ces anticorps chez les nouveau-nés ont été synthétisés in utero. La corrélation positive entre les taux d'anticorps observés chez les mères et ceux observés chez leurs nouveau-nés est en accord avec la transmission materno foetale d'anticorps qui dans ce cas est d'isotype IgG.

Il est connu que l'IgG peut être produite par le foetus in utero pendant le dernier trimestre de la grossesse (Fudenberg et al, 1984 ; tonturier, 1986). Ceci serait une explication plausible pour le cas de ces 8 nouveau-nés séropositifs avec des mamans séronégatives. Cependant ceci n'exclue pas la possibilité que, dans ces 8 cas, les mères avaient des anticorps qui ont été épuisés pour une raison ou une autre (par exemple hypercatabolisme protidique) bien avant les prélèvements. Une manière de résoudre cette question serait alors d'allotyper les IgG de ces mères et celles de leurs enfants, mais aussi de rechercher les IgM chez les enfants. Il y a plusieurs marqueurs allotypiques. Dans le cas des molécules d'IgG

(qui est la classe d'anticorps qui nous concerne dans cette étude), les allèles des facteurs Gm sont hérités de la mère et du père et peuvent permettre de distinguer si les IgG sont d'origine maternelle ou foetale. Si la chaîne légère est du type Kappa (k) les différents marqueurs km pourraient faciliter cette détermination.

Une autre méthode serait la détermination d'anticorps antiglobulines dans le serum de ces patients. Les anti immunoglobulines provenant des serums des sujets normaux ("snaggs") sont généralement utilisés dans la détection des marqueurs d'allotype donné. Le plus souvent, les agglutinateurs anti Gm sont un phénomène transitoire retrouvé chez les "nouveau-nés normaux surtout que les enfants qui n'ont pas le facteur Gm de la mère produisent des anticorps anti Gm maternels. Ainsi donc, si les anticorps anti CSP de classe IgG venant de la mère ont des marqueurs Gm pas présents chez l'enfant, le transfert passif d'immunoglobuline G au fœtus peut induire la production d'anticorps par ce dernier. Cependant, cette méthode ne devra pas exclure la possibilité qu'une partie des anticorps anti (NANP)40 (IgG) retrouvée chez l'enfant pourrait avoir une origine foetale.

Parasitémie maternelle et anticorps

10,72% des parturientes examinées sont porteuses de formes érythrocytaires de P. falciparum. Il n'y a pas de différence significative entre le pourcentage de parturientes séropositives qui ont une parasitémie et celles qui sont séronégatives et qui ont parasitémie. Cependant, la figure 3 suggère que des taux élevés d'immunoglobulines G anti(NANP)40 peuvent protéger contre la parasitémie puisque chez les 3 cas de parturientes avec parasitémie les anticorps sont bas il n'y a pas de parasitémie chez les parturientes avec de fort taux d'anticorps. Ceci suggère

une autre étude plus détaillée pour répondre à la question de savoir si les anticorps protègent contre la parasitémie.

32 des parturientes sur les 125 ayant permis l'examen de leurs placentas ont une infestation placentaire (soit 25,60 %). Il n'y a pas de différence entre le pourcentage de sujets séropositifs qui ont une infestation placentaire et ceux qui sont séronégatifs avec placenta infesté. La figure 4 suggère que le taux d'anticorps n'indique pas si le sujet est à risque pour l'infestation placentaire par P. falciparum. De même, pour le cas des 8 nouveau-nés séropositifs avec des mères séronégatives, l'infestation placentaire n'apparaît pas comme un pré requis pour la production in utero d'immunoglobuline G. Une étude plus approfondie sera faite pour répondre à cette question.

31,25 % des parturientes séropositives n'ont pas transmis d'IgG à leurs nouveaux-nés. Parmi elles, 4 avaient une infestation placentaire. Ceci peut s'expliquer utilisant le concept "Placental Sink" c'est-à-dire que, les antigènes présents dans le placenta absorbent immunologiquement les anticorps, les empêchant de passer dans la circulation foetale. (Faulk, 1983). Ceci explique aussi pourquoi, il n'y a pas toujours de réaction isoimmune contre les antigènes HLA du foetus malgré la présence des IgG anti HLA dans le serum de mère. Dans le cas des anticorps ant sporozoïte (qui nous concernent), il a été démontré qu'il existe une homologie entre les déterminants de l'antigène du stage sanguin de P. falciparum et ceux de la protéine de surface du sporozoïte (Coppel, et al 1985).

Certaines mères séropositives sans infestation placenta n'ont pas transmis d'anticorps à leurs enfants. La transmission transplacentaire d'IgG est un processus actif qui dépend de l'intégrité du placenta et des facteurs tel par exemple le P.H. Dans tous les cas, une étude devra être faite pour savoir l'influence réelle de l'infestation placentaire sur la transmission d'anticorps anti (NANP)₄₀ de P. falciparum.

Cette étude est la première à notre connaissance à avoir montré la présence d'immunoglobuline G anti (NANP)₄₀ de P. falciparum dans le sang du cordon ombilical chez l'homme.

C O N C L U S I O N

Nos résultats montrent que les parturientes répondent au (NANP)40 en synthétisant les anticorps. Certaines de ces femmes séropositives transmettent ces anticorps (IgG) à leurs foetus in utero.

Pour la plupart, il y a une corrélation entre le taux d'anticorps de classe IgG anti(NANP)40 de P. falciparum chez les nouveau-nés et ceux observés chez leurs mères. Cependant, 8/30 (26,66%) nouveau-nés séropositifs sont issus de mères seronégatives. Ceci suggère la possibilité d'une synthèse in utero d'IgG par le foetus ou par exemple d'un hypercatabolisme protidique chez la mère. L'infestation placentaire n'apparaît pas comme un prérequis pour la production in utero des immunoglobulines G anti CSP. Une étude plus approfondie doit être faite pour répondre à cette question.

TRAVAUX FUTURS

Nous envisageons mener une étude longitudinale chez ces 140 nouveaux-nés, pour voir à partir de quel moment ces derniers produisent activement les immunoglobulines M, G, A, anti (NANP) 40.

SIXIEME PARTIE

B I B L I O G R A P H I E

BIBLIOGRAPHIE

1. ADRIAN A.J.C., VAN ZON and WIJNAND M C ELING : (1980)
Depressed malaria immunity in pregnant mice ;
INFECTION AND IMMUNITY 630-632
2. AMBROISE THOMAS, Y.J. GOLVAN : (1984)
Les nouvelles techniques en parasitologie
1ère édition : Flammarion Médecine Sciences.
3. BRAY, R.S. : (1976)
Vaccination against plasmodium falciparum
a negative result.
TRANSACTION OF THE ROYAL SOCIETY OF TROPICAL
MEDICINE AND HYGIENNE : 70, 258
4. BRUCE-CHWATT L.J. (1985 a)
Essential malariology
Second edition.
5. BRUCE-CHAWATT J.L. (1985 b)
Le point sur le paludisme congénital
AFRIQUE SANTE N° 52 12-21
6. CHARMOT. G : (1980)
Facteurs congénitaux et facteurs génétiques
dans la résistance au paludisme à P. falciparum
en Afrique Tropicale.
MEDECINE TROPICALE 40 : (6)
7. CHEUMAGA B : (1987)
Etude paludométrique comparée en milieux rural
(BANDOUKKA et BAPOUDEU) et urbain (Ville de
Bafang) dans le département du HAUT-NKAM.
THESE DOCTORAT EN MEDECINE C.U.S.S.

8. COHEN SIDNEY AND ELVIO SADUN : (1974)
 Immunology of parasitic infections
 First edition Blackwell Scientific Publications.
9. COHEN SIDNEY AND KENNETHS WARREN : (1985)
 Immunology of parasitic infections.
 Second edition Blackwell Scientific Publications.
10. COLLINS, W.E., R.F., PAPPAIOANOU, M.
 CAMPBELL, G.H., BROWN, G.V., et al : (1986)
 Immunisation of Aotus monkeys with recombinant
 proteins of an erythrocyte surface antigen of
Plasmodium falciparum
NATURE : 323 : 259-62
11. COPPEL, R.L ; FAVALORO, J.M. ; CREWTER, P.E, et al (1985)
 A blood stage antigen of Plasmodium falciparum
 shares determinants with the sporozoite coat
 protein.
PROCEEDING OF NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE : 82
 5121-5125.
12. CORNU, M ; COMBÉ, A ; COUPRIE, B, MOYOU-SOMO ;
 CARTERON, B ; VAN HARTEN, W.H, TRIBOLEY, J ; RIPERT, C. (1986)
 Aspects épidémiologiques du paludisme dans deux
 villages de la région forestière de Manyemen
 (Cameroun-Province du Sud-Ouest).
MEDECINE TROPICALE : 46 (2) 131-139
13. DELGIUDICE G., COOPER, J.A., MERINO, J et al. (1986)
 The antibody response in mice to carrier-free
 synthetic polymers of Plasmodium falciparum
 circumsporozoite repetitive epitope is I-A^b-
 restricted : possible implications for malaria
 vaccines.
JOURNAL OF IMMUNOLOGY : 137 (9) 2952-2955.

14. DELGIUDICE.G, VERDINI.AS, PINORI.M, PESSI.A,
VERHAVE J.P, TOUGNE C, IVANOFF.B, LAMBERT.P.H,
ENGERS HOWARD.D. : (1987)
Detection of Human antibodies against Plasmodium
falciparum sporozoites using synthetic peptides.
JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY : 25 (1)

15. DESOWITZ ROBERT.S : (1973)
Some factors influencing the induction, maintenance
and degree of maternally transmitted protective
immunity to malaria. (Plasmodium berghei)
TRANSACTIONS OF THE ROYAL SOCIETY OF TROPICAL
MEDICINE AND HYGIENE : 67 (2).

16. FABRIS.N, PIANTANELLI.L, AND MUZZIOLO.M : (1977)
Differential effect of pregnancy or gestagens on
humoral and cell-mediated immunity.
CLINICAL AND EXPERIMENTAL IMMUNOLOGY : 28. 306-314

17. FAULK.P.W : (1983)
Immunology of the maternofetal relationship in
Human Pregnancy.
From : Paediatric immunology
Ed by J.F. Soothith, AR. Hayward and BS. Wood.

18. FUDENBERG HUGH.H, PINK.J.R.C., WANG AN-CHUAN,
FERRARA.G.B (ed)
Basic immunogenetics (1984)
Third edition.

19. GALBRAITH ROBERT M, FOX HAROLD, HIST BRADLEY,
GALBRAITH GILLIAN M.P. BRAY RS, FAULK PAGE W : (1980)
The human materno foetal relationship in malaria II.
Histological ultrastructural and immuno pathological
studies of placenta.
TRANSACTIONS OF ROYAL SOCIETY OF TROPICAL MEDICINE
AND HYGIENE : 74(51)

20. GRAU. GEORGE E., GIUSEPPE DEL GIUDICE, and
PAUL HENRI LAMBERT :
Host immune response and pathological expression
in malaria : Possible implication for malaria
vaccine.
WORLD HEALTH ORGANIZATION IMMUNOLOGY RESEARCH AND
TRAINING CENTRE, DEPT OF PATHOLOGY, UNIVERSITY OF
GENEVA.
21. GRISCELLI, J. PAUPE ; C. PONVERT : (1985)
Immunologie fondamentale et immunologie pathologique .
Edition Marketing Ellipses.
22. HILTON David : (1987)
Malaria a new battle plan
CONTACT : N° 95.
23. HOLDER A. ANTHONY (1988)
The precursor to major merozoite surface antigens :
structure and role in immunity.
PROGRESS IN ALLERGY : 41 PP. 7297
24. KEMP. D. J, COPPEL R. L. AND R. F. ANDERS : (1987)
Repetitive proteins and genes of malaria.
ANNUAL REVIEW OF MICROBIOLOGY : 41 : 181-208
25. KORTMAN, H. F. C. M (1972)
Malaria and pregnancy.
THESE Utrecht : Drukkery Elinkwijk.
26. LAGARDERE B : (1983)
Le paludisme de l'enfant.
REVUE DU PRATICIEN N°8 TOME XXXIII.

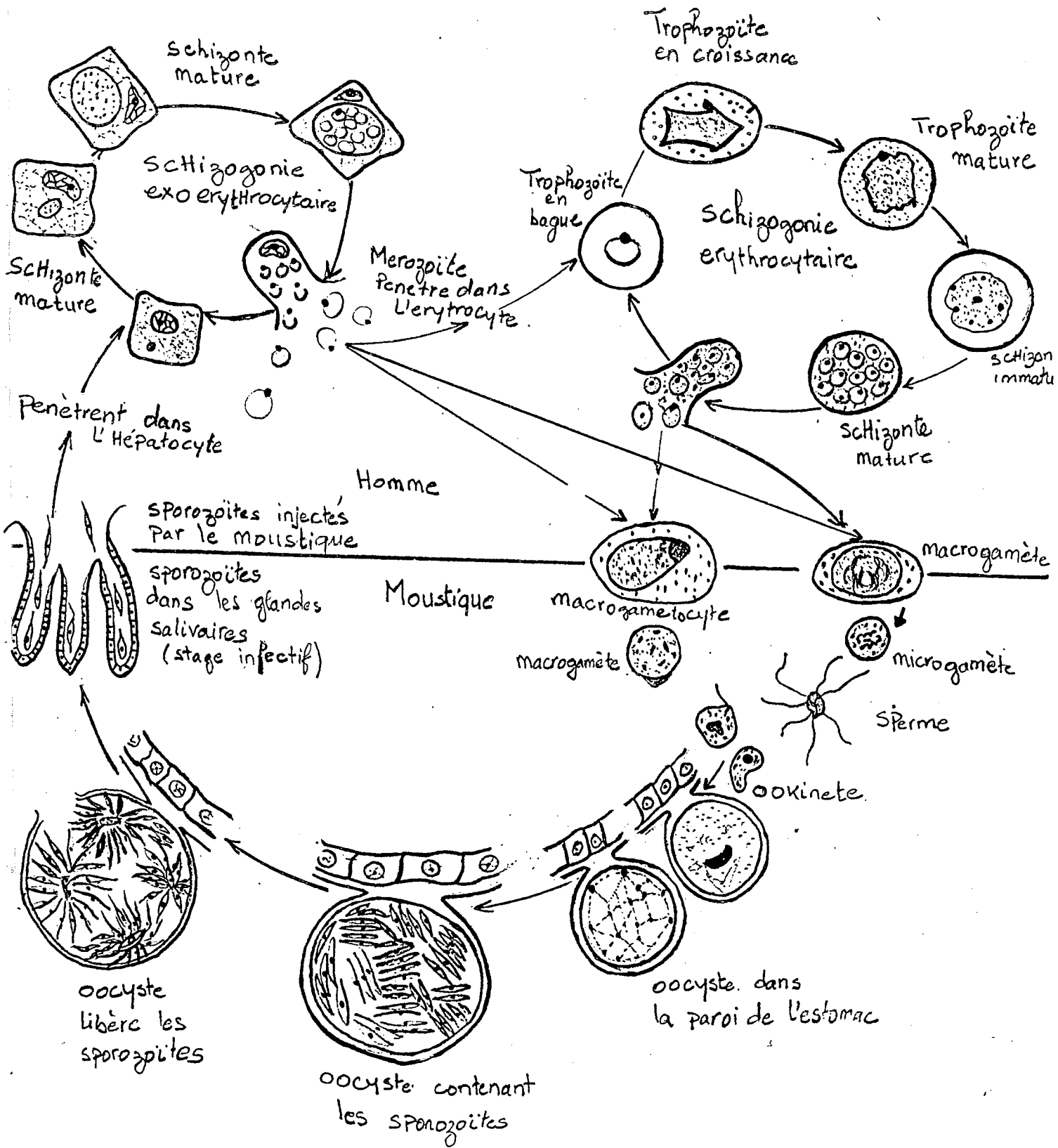
27. LAWSON, J.B et STEWART, DB : (1977)
Malaria and pregnancy
Obstetric and Gynaecology, P. 59
London : Edward Arnald.
28. LEWIS, R., LAWERSEN, N.H. AND BIRNBAM'S : (1973)
Malaria associated with pregnancy.
AMERICAN MEDICAL JOURNAL ; 42 (5) : 696
29. MC GREBOR I.A, ROWE, D.S., WILSON, M.E. and
BILLEWICS W.Z : (1970)
Plasma immunoglobulin concentrations in african
(Gambian) community in relation to season,
malaria and other infection and pregnancy clinical
and experimental
IMMUNOLOGY, 1 (51)
30. MORLEY, D : (1975)
Pediatric priorities in the developping world
P. 252 London Butter-worths.
31. NARDIN E.H, NUSSENZWEIG R.S : (1979)
Antibodies to sporozoites : their occurence in
individuals living in an area of hyperendemic
malaria.
SCIENCE : 206 (2) : 597-599
32. NASAH, BT and DROUIN, P : (1982)
Care of the mother in the tropics.
First edition : CEPER.
33. NUSSENZWEIG.RS, VANDERBERG J, MOST.H : (1969)
Protective immunity produced by the injection of
irradiated sporozoites of Plasmodium berghei IV.
Dose response, specificity and humoral immunity
134-1176.
MILITARY MEDICINE : 134 1176

34. NUSSENZWEIG VICTOR AND NUSSENZWEIG RUTH S : (1986)
 Development of sporozoite malaria vaccine.
AMERICAN JOURNAL OF TROPICAL MEDICINE AND
 HYGIENE 38 (4) : 678-688.
35. O.M.S. : (1984 a)
 Recherche sur les maladies tropicales.
SEPTIEME RAPPORT DU PROGRAMME TDR.
36. O.M.S.:(1984 b)
 Celle-mediated immunity in malaria : Report of
 the Seventh meeting of the scientific Working
 group on the immunology of malaria.
 TDR/IMMAL/SWG (7)/84.3.
37. O.M.S. : (1985)
 Malaria antigens associated with transmission
 blocking immunity :
REPORT OF EIGHT MEETING OF SCIENTIFIC WORKING
 GROUP ON IMMUNOLOGY OF MALARIA.
38. PERLMAN,H., BERZINS,K., WAHLGREN,M ; CARLSSON,J.,
 BJORKMAN,A., et Al : (1984)
 Antibodies in malarial sera to parasite antigens
 in the membrane of erythrocytes infected with
 early asexual stages of plasmodium falciparum.
JOURNAL OF EXPERIMENTAL MEDICINE : 159 : 686-704.
39. PERLMAN.P. : (1986)
 Immunogenicity assays for clinical trials of
 malaria vaccines.
PARASITOLOGY TODAY : 2 (5) PP 127-130.

- 40) RIPLEY.W BALLOU ; SHERWOOD JAMES.A,
FRANKLIN A. NEVA ET AL : (1987)
Safety efficacy of recombinant DNA plasmodium
falciparum sporozoïde vaccin.
THE LANCET : June 68545
41. TALLA, J : (1978)
Transmission materno-foetale du paludisme.
THESE NON PUBLIEE : CUSS YAOUNDE
42. TAPC HAI SRI PRAMVAN, ACHARA ASAVANICH, SUPATRA
LIMSUWAN, SAVANAT THARAVANIJ, AND KHUNYING TRANNAKCHIT
HARINASUTAT:(1985)
Antibodies against malaria sporozoïtes in
patient with acute uncomplicated malaria and
patients with cerebral malaria.
AMERICAN JOURNAL OF TROPICAL MEDICINE AND
HYGIENE 34 (5) 831-836.
43. TERRY,R.J. : (1956)
Transmission of antimalarial immunity (Plasmodium
Berghei) from mother rats to their young during
lactation.
TRANSACTIONS OF THE ROYAL SOCIETY OF TROPICAL
MEDICINE AND HYGIENE. 50 (1).
44. TROYE MARIA BLOMBERG, PETER PERLAMAN : (1988)
T Cell functions in plasmodium falciparum and
others malaras.
PROGRESS IN ALLERGY :(41) 253-257
45. VOLLER.A; BROGGER.CR ; STOREY J. ; MOULINEAUX L: (1980)
A longitudinal study of plasmodium falciparum
malaria in west African Savana using the ELISA
Technique.
BULLETIN OF WORLD HEALTH ORGANIZATION.
33 : (3) 429-438.

- 46) WAYNE.T. HOCKEMEYER, W. RIPLEY BALOV : (1988)
Sporozoïte immunity and vaccine development.
PROGRESS IN ALLERGY : 41 : 1-14
47. WEIDANZ W.P. : (1982)
Malaria and alterations in immune reactivity.
BRITISH MEDICAL BULLETIN : 38 (2) PP 167-172.
48. ZAVALA FIDEL, JAME P. TAM AND ADI MASUDA : (1986)
Synthetic peptides as antigens for the detection
of humoral immunity to P. falciparum sporozoïtes.
JOURNAL OF IMMUNOLOGICAL METHODS 93 : 51-61.
49. ZNINGOULA.S, LOCKO-MAFOUTA, TATY-DAMBOU : (1988)
Paludisme congénital à propos de 4 nouvelles
observations.
POPULATION ET SANTE TROPICALES N° 32 PP 1-3.

A N N E X E S



Transfert d'anticorps anti protéine circumsporozoïtaire
de P. falciparum de la mère à l'enfant.

Questionnaire N°

Date

Nom de la mère.....

Prenom

Age

Adresse

Quartier Habité

Depuis combien de temps êtes-vous à Yaoundé.....

DDR.....

DPA.....

Grossesses antérieures.....

.....

Plantes pendant la présente grossesse.....

.....

.....

Antécédents médicaux.....

.....

.....

Souffrez vous très souvent de paludisme.....

.....

Vous protégez vous contre le paludisme.....

.....

Résumé de l'examen physique.....

.....

.....

Biologie

Parasitologie

Frottis

Goutte épaisse

Sérologie

Résultat du test ELISA

NOUVEAU-NE

Nom.....

Date de naissance.....

Sexe.....

Poids de naissance.....

Paramètre brachial.....

Périmètre cranien.....

Poids du placenta.....

Anomalie placentaire macroscopique.....

Remarques.....

Biologie (Sang du cordon)

Parasitologie

frottis

goutte épaisse sang du cordon

Examen du placenta.....

.....

SERMENT D'HYPOCRATE

-En présence des maîtres de cette école, de mes 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 à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail.

- Admis dans 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 le crime.

- Reconnaissant envers mes maîtres, je tiendrai leurs enfants et ceux de mes confrères pour des frères et s'ils devaient apprendre la médecine ou recourir à mes soins je les instruirai et les soignerai sans salaire ni engagement.

- Si je remplis ce serment sans enfreindre, qu'il me soit donné de jouir heureusement de la vie et de ma profession, honoré à jamais parmi les hommes. Si je viole et que je parjure, puissé-je avoir un sort contraire.