

REPUBLIQUE DU CAMEROUN

*Paix - Travail - Patrie*

\*\*\*\*\*

UNIVERSITE DE YAOUNDE I

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET

PHYSIOLOGIE ANIMALES

\*\*\*\*\*

LABORATOIRE DE PARASITOLOGIE

ET ECOLOGIE



REPUBLIC OF CAMEROUN

*Peace - Work - Fatherland*

\*\*\*\*\*

UNIVERSITY OF YAOUNDE I

FACULTY OF SCIENCE

DEPARTMENT OF ANIMAL

BIOLOGY AND PHYSIOLOGY

\*\*\*\*\*

LABORATORY OF

PARASITOLOGY AND ECOLOGY

**Infection rubéolique chez les femmes enceintes à  
Yaoundé, Cameroun: statut sérologique et  
détection du génome viral**

THESE

Présentée en vue de l'obtention du Diplôme de Doctorat / Ph.D en  
Biologie des Organismes Animaux

Par : **MAKEMGUE Louise Stéphanie**

D.E.A en Parasitologie et Ecologie

Sous la direction de

**TCHUEM TCHUENTE Louis-Albert**

**Professeur Université de Yaoundé I**

**ENO Anna Aret**

**Chargé de cours Université de Yaoundé I**

**Année Académique : 2018**



UNIVERSITÉ DE YAOUNDÉ I  
UNIVERSITY OF YAOUNDE I  
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE  
ET PHYSIOLOGIE ANIMALES

B.P. 812- TEL: (237) 222-22-56-59  
Fax: (237) 222-23-53-88  
CAMEROUN



FACULTE DES SCIENCES  
FACULTY OF SCIENCE

## ATTESTATION DE CORRECTION

Nous soussignés, membres du jury de soutenance de **Thèse de Doctorat/Ph.D** de Biologie des Organismes Animaux (option : **Parasitologie et Ecologie**) de Madame **MAKEMGUE Louise Stéphanie**, matricule **03V373**, soutenance autorisée par correspondance N° **181170/UYI/VREPDTIC/DAAC/DEPE/SPD** de Monsieur le Recteur de l'Université de Yaoundé I en la date du 20/07/2018, attestons que les corrections exigées à la candidate lors de cette évaluation faite le 27/07/2018 ont réellement été effectuées et que le présent document peut être déposé sous sa forme actuelle.

En foi de quoi, la présente attestation lui est délivrée pour servir et valoir ce que de droit.

Fait à Yaoundé le **23 OCT 2018** .....

Examineur

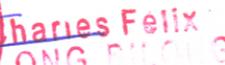
  
R. Megnekou

Le Président du jury

  
M. NOLA



Le Chef de Département

  
Charles Felix  
LONG BILONG  
PROFESSEUR

<b>UNIVERSITÉ DE YAOUNDÉ I</b> <b>Faculté des Sciences</b> Division de la Programmation et du Suivi des Activités Académiques		<b>THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I</b> <b>Faculty of Science</b> Division of Programming and Follow-up of Academic Affairs
<b>LISTE DES ENSEIGNANTS PERMANENTS</b>		<b>LIST OF PERMANENT TEACHING STAFF</b>

## ANNÉE ACADEMIQUE 2017/2018

(Par Département et par Grade)

**DATE D'ACTUALISATION: 10 Mars 2018**

### ADMINISTRATION

**DOYEN:** AWONO ONANA Charles, *Professeur*

**VICE-DOYEN / DPSAA:** DONGO Etienne, *Professeur*

**VICE-DOYEN / DSSE:** OBEN Julius ENYONG, *Professeur*

**VICE-DOYEN / DRC:** MBAZE MEVA'A Luc Léonard, *Maitre de Conférences*

**Chef Division Administrative et Financière:** NDOYE FOE Marie C. F., *Maitre de Conférences*

**Chef Division des Affaires Académiques, de la Scolarité et de la Recherche :** ABOSSOLO Monique, *Maitre de Conférences*

<b>1- DÉPARTEMENT DE BIOCHIMIE (BC) (41)</b>			
N°	NOMS ET PRÉNOMS	GRADE	OBSERVATIONS
1	FEKAM BOYOM Fabrice	Professeur	En poste
2	MBACHAM FON Wilfried	Professeur	En poste
3	MOUNDIPA FEWOU Paul	Professeur	Chef de Département
4	NINTCHOM PENLAP V. épouse BENG	Professeur	En poste
5	OBEN Julius ENYONG	Professeur	En poste
6	ATOGHO Barbara Mma	Maître de Conférences	En poste
7	BELINGA née NDOYE FOE M. C. F.	Maître de Conférences	Chef DAF / FS
8	BIGOGA DIAGA Jude	Maître de Conférences	En poste
9	BOUDJEKO Thaddée	Maître de Conférences	En poste
10	EFFA NNOMO Pierre	Maître de Conférences	En poste
11	FOKOU Elie	Maître de Conférences	En poste
12	KANSCI Germain	Maître de Conférences	En poste
13	NANA Louise épouse WAKAM	Maître de Conférences	En poste
14	NGONDI Judith Laure	Maître de Conférences	En poste
15	NGUEFACK Julienne	Maître de Conférences	En poste
16	NJAYOU Frédéric Nico	Maître de Conférences	En poste
17	ACHU Merci BIH	Chargée de Cours	En poste
18	DEMMANO Gustave	Chargé de Cours	En poste
19	DJOKAM TAMO Rosine	Chargée de Cours	En poste
20	DJUIDJE NGOUNOUE Marcelline	Chargée de Cours	En poste
21	DJUIKWO NKONGA Ruth Viviane	Chargée de Cours	En poste

22	EVEHE BEBANDOUE Marie-Solange	Chargée de Cours	En poste
23	EWANE Cécile Anne	Chargée de Cours	En poste
24	KOTUE KAPTUE Charles	Chargé de Cours	En poste
25	LUNGA Paul KEILAH	Chargé de Cours	En poste
26	MBONG ANGIE M. Mary Anne	Chargée de Cours	En poste
27	MOFOR née TEUGWA Clotilde	Chargée de Cours	Inspecteur de Service MINESUP
28	NJAYOU Frédéric Nico	Chargé de Cours	En poste
29	Palmer MASUMBE NETONGO	Chargé de Cours	En poste
30	TCHANA KOUATCHOUA Angèle	Chargée de Cours	En poste
31	PACHANGOU NSANGO Sylvain	Chargé de Cours	En poste
32	DONGMO LEKAGNE Joseph Blaise	Chargé de Cours	En poste
33	FONKOUA Martin	Chargé de Cours	En poste
34	BEBOY EDZENGUELE Sara Nathalie	Chargée de Cours	En poste
35	DAKOLE DABOY Charles	Chargée de Cours	En poste
36	MANANGA Marlyse Joséphine	Chargée de Cours	En poste
37	MBOUCHE FANMOE Marceline Joëlle	Assistante	En poste
38	BEBEE Fadimatou	Assistante	En poste
39	TIENTCHEU DJOKAM Leopold	Assistant	En poste

<b>2- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES (BPA) (44)</b>			
1	BILONG BILONG Charles-Félix	Professeur	<b>Chef de Département</b>
2	DIMO Théophile	Professeur	En Poste
3	DJIETO LORDON Champlain	Professeur	En poste
4	ESSOMBA née NTSAMA MBALA	Professeur	<i>V. Doyen/FMSB/UIYI</i>
5	FOMENA Abraham	Professeur	En Poste
6	KAMTCHOUING Pierre	Professeur	EN POSTE
7	NJAMEN Dieudonné	Professeur	En poste
8	NJIOKOU Flobert	Professeur	En Poste
9	NOLA Moïse	Professeur	En poste
10	TAN Paul VERNYUY	Professeur	En poste
11	TCHUEM TCHUENTE Louis Albert	Professeur	<i>Coord. Progr. MINSANTE</i>
12	AJEAGAH Gidéon AGHAINDUM	Maître de Conférences	<b>Chef Service DPER</b>
13	DZEUFIET DJOMENI Paul Désiré	Maître de Conférences	En poste
14	FOTO MENBOHAN Samuel	Maître de Conférences	En poste
15	KAMGANG René	Maître de Conférences	<i>C.S. MINRESI</i>
16	KEKEUNOU Sévilor	Maître de Conférences	En poste
17	MEGNEKOU Rosette	Maître de Conférences	En poste

18	MONY Ruth épouse NTONE	Maître de Conférences	En Poste
19	TOMBI Jeannette	Maître de Conférences	En poste
20	ZEBAZE TOGOUET Serge Hubert	Maître de Conférences	En poste
21	ALENE Désirée Chantal	Chargée de Cours	En poste
22	ATSAMO Albert Donatien	Chargée de Cours	En poste
23	BELLET EDIMO Oscar Roger	Chargé de Cours	En poste
24	BILANDA Danielle Claude	Chargée de Cours	En poste
25	DJIOGUE Séfirin	Chargée de Cours	En poste
26	DONFACK Mireille	Chargée de Cours	En poste
27	GOUNOUE KAMKUMO Raceline	Chargée de Cours	En poste
28	LEKEUFACK FOLEFACK Guy B.	Chargé de Cours	En poste
29	MAHOB Raymond Joseph	Chargé de Cours	En poste
30	MBENOUN MASSE Paul Serge	Chargé de Cours	En poste
31	MOUNGANG Luciane Marlyse	Chargée de Cours	En poste
32	MVEYO NDANKEU Yves Patrick	Chargée de Cours	En poste
33	NGOUATEU KENFACK Omer Bébé	Chargé de Cours	En poste
34	NGUEGUIM TSOFACK Florence	Chargée de Cours	En poste
35	NGUEMBOK	Chargé de Cours	En poste
36	NJATSA Hermine épouse MEGAPTCHE	Chargée de Cours	En Poste
37	NJUA Clarisse Yafi	Chargée de Cours	<b>CD/UBa</b>
38	NOAH EWOTI Olive Vivien	Chargée de Cours	En poste
39	TADU Zephyrin	Chargée de Cours	En poste
40	YEDE	Chargée de Cours	En poste
41	ETEME ENAMA Serge	Assistant	En poste
42	KANDEDA KAVAYE Antoine	Assistant	En poste
43	KOGA MANG DOBARA	Assistant	En poste

### **3- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE VÉGÉTALES (BPV) (26)**

1	AMBANG Zachée	Professeur	Chef Division/UYII
2	BELL Joseph Martin	Professeur	En poste
3	YOUMBI Emmanuel	Professeur	<b>Chef de Département</b>
4	MOSSEBO Dominique Claude	Professeur	En poste
5	BIYE Elvire Hortense	Maître de Conférences	En poste
6	DJOCGOUE Pierre François	Maître de Conférences	En poste
7	KENGNE NOUMSI Ives Magloire	Maître de Conférences	En poste
8	MALA Armand William	Maître de Conférences	En poste
9	NDONGO BEKOLO	Maître de Conférences	<i>CE / MINRESI</i>
10	NGONKEU MAGAPTCHE Eddy L.	Maître de Conférences	En poste
11	ZAPFACK Louis	Maître de Conférences	En poste
12	MBARGA BINDZI Marie Alain	Maître de Conférences	CT/Univ Dschang

13	MBOLO Marie	Maître de Conférences	En poste
14	ANGONI Hyacinthe	Chargée de Cours	En poste
15	MAHBOU SOMO TOUKAM. Gabriel	Chargé de Cours	En poste
16	ONANA JEAN MICHEL	Chargé de Cours	En poste
17	GOMANDJE Christelle	Chargée de Cours	En poste
18	NGODO MELINGUI Jean Baptiste	Chargé de Cours	En poste
19	NGALLE Hermine BILLE	Chargée de Cours	En poste
20	NGOUO Lucas Vincent	Chargé de Cours	En poste
21	NSOM ZAMO Annie Claude épouse PIAL	Chargée de Cours	<i>Expert national /UNESCO</i>
22	TONFACK Libert Brice	Chargé de Cours	En poste
23	TSOATA Esaïe	Chargé de Cours	En poste
24	DJEUANI Astride Carole	Assistante	En poste
25	MAFFO MAFFO Nicole Liliane	Assistante	En poste
26	NNANGA MEBENGA Ruth Laure	Assistante	En poste
27	NOUKEU KOUAKAM Armelle	Assistante	En poste

#### **4- DÉPARTEMENT DE CHIMIE INORGANIQUE (CI) (33)**

1	AGWARA ONDOH Moïse	Professeur	<i>Vice Recteur Univ ,Bamenda</i>
2	ELIMBI Antoine	Professeur	En poste
3	Florence UFI CHINJE épouse MELO	Professeur	<b>RECTEUR</b> <i>Univ.Ngaoundere</i>
4	GHOGOMU Paul MINGO	Professeur	<i>Directeur Cabinet PM</i>
5	LAMINSI Samuel	Professeur	En poste
6	NANSEU Njiki Charles Péguy	Professeur	En poste
7	NDIFON Peter TEKE	Professeur	<b>ISI MINRESI/Chef de Département</b>
8	NENWA Justin	Professeur	En poste
9	NGAMENI Emmanuel	Professeur	<i>DOYEN FS Univ. Dschang</i>
10	BABALE née DJAM DOUDOU	Maître de Conférences	<i>Chargée Mission P.R.</i>
11	DJOUFAC WOUMFO Emmanuel	Maître de Conférences	En poste
12	KEMMEGNE MBOUGUEM Jean C.	Maître de Conférences	En poste
13	KONG SAKEO	Maître de Conférences	<i>Chargé de Mission au P. M.</i>
14	NDIKONTAR Maurice KOR	Maître de Conférences	<i>Vice-Doyen Univ. Bamenda</i>
15	NGOMO Horace MANGA	Maître de Conférences	<i>VC/UB</i>
16	NJIOMOU C. épouse DJANGANG	Maître de Conférences	En poste
17	YOUNANG Elie	Maître de Conférences	En poste
18	ACAYANKA Elie	Chargé de Cours	En poste
19	EMADACK Alphonse	Chargé de Cours	En poste

20	KAMGANG YOUBI Georges	Chargé de Cours	En poste
21	NDI NSAMI Julius	Chargée de Cours	En poste
22	NJOYA Dayirou	Chargé de Cours	En poste
23	PABOUDAM GBAMBIE A.	Chargée de Cours	En poste
24	TCHAKOUTE KOUAMO Hervé	Chargé de Cours	En poste
25	BELIBI BELIBI Placide Désiré	Chargé de Cours	En poste
26	CHEUMANI YONA Arnaud M.	Chargé de Cours	En poste
27	NYAMEN Linda Dyorisse	Chargée de Cours	En poste
28	KENNE DEDZO GUSTAVE	Chargé de Cours	En poste
29	KOUOTOU DAOUDA	Chargé de Cours	En poste
30	MAKON Thomas Beauregard	Chargé de Cours	En poste
31	MBEY Jean Aime	Chargé de Cours	En poste
32	NCHIMI NONO KATIA	Chargé de Cours	En poste
33	NEBA nee NDOSIRI Bridget NDOYE	Chargé de Cours	En poste
<b>5- DÉPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE (CO) (34)</b>			
1	DONGO Etienne	Professeur	<b>Vice-Doyen / DPSAA</b>
2	GHOUMU TIH Robert Ralph	Professeur	Dir IBAF/UDS
3	MBAFOR Joseph	Professeur	En poste
5	NGOUELA Silvère Augustin	Professeur	En poste
6	NKENGFAK Augustin Ephraïm	Professeur	<b>Chef de Département</b>
7	NYASSE Barthélemy	Professeur	<i>Directeur/UN</i>
8	PEGNYEMB Dieudonné Emmanuel	Professeur	<i>Directeur/ MINESUP</i>
9	WANDJI Jean	Professeur	En poste
10	Alex de Théodore ATCHADE	Maître de Conférences	<i>DEPE/ Rectorat/UYI</i>
11	FOLEFOC Gabriel NGOSONG	Maître de Conférences	<i>En poste</i>
12	KEUMEDJIO Félix	Maître de Conférences	En poste
13	KOUAM Jacques	Maître de Conférences	En poste
14	MBAZOA née DJAMA Céline	Maître de Conférences	En poste
15	NOUNGOUE TCHAMO Diderot	Maître de Conférences	En poste
16	TCHOUANKEU Jean-Claude	Maître de Conférences	<i>VR/ UYII</i>
17	YANKEP Emmanuel	Maître de Conférences	En poste
18	TIH née NGO BILONG E. Anastasia	Maître de Conférences	En poste
19	MKOUNGA Pierre	Maître de Conférences	En poste
20	NGO MBING Joséphine	Maître de Conférences	En poste
21	TABOPDA KUATE Turibio	Maître de Conférences	En poste
22	KEUMOGNE Marguerite	Maître de Conférences	En poste
23	AMBASSA Pantaléon	Chargé de Cours	En poste
24	EYONG Kenneth OBEN	Chargé de Cours	En poste
25	FOTSO WABO Ghislain	Chargé de Cours	En poste

26	KAMTO Eutrophe Le Doux	Chargé de Cours	En poste
27	NGONO BIKOBO Dominique Serge	Chargé de Cours	En poste
28	NOTE LOUGBOT Olivier Placide	Chargé de Cours	Chef Service/Minesup
29	OUAHOUE WACHE Blandine M.	Chargée de Cours	En poste
30	TAGATSING FOTSING Maurice	Chargé de Cours	En poste
31	ZONDENDEGOUMBA Ernestine	Chargée de Cours	En poste
32	NGOMO Orléans	Chargée de Cours	En poste
33	NGNINTEDO Dominique	Assistant	En poste
<b>6- DÉPARTEMENT D'INFORMATIQUE (IN) (25)</b>			
1	ATSA ETOUNDI Roger	Professeur	<b>Chef de Département</b>
2	FOUDA NDJODO Marcel Laurent	Professeur	<i>Chef Dpt ENS/Chef Div Sys.MINESUP</i>
3	NDOUNDAM René	Maître de Conférences	En poste
4	KOUOKAM KOUOKAM E. A.	Chargé de Cours	En poste
5	CHEDOM FOTSO Donatien	Chargé de Cours	En poste
6	MELATAGIA YONTA Paulin	Chargé de Cours	En poste
7	MOTO MPONG Serge Alain	Chargé de Cours	En poste
8	TINDO Gilbert	Chargé de Cours	En poste
9	TSOPZE Norbert	Chargé de Cours	En poste
10	WAKU KOUAMOU Jules	Chargé de Cours	En poste
11	TAPAMO Hyppolite	Chargé de Cours	En poste
12	ABESSOLO ALO'O Gislain	Assistant	En poste
13	BAYEM Jacques Narcisse	Assistant	En poste
14	DJOUWE MEFFEJA Merline Flore	Assistante	En poste
15	DOMGA KOMGUEM Rodrigue	Assistant	En poste
16	EBELE Serge	Assistant	En poste
17	HAMZA Adamou	Assistant	En poste
18	KAMDEM KENGNE Christiane	Assistante	En poste
19	KAMGUEU Patrick Olivier	Assistant	En poste
20	KENFACK DONGMO Clauvice V.	Assistant	En poste
21	MEYEMDOU Nadège Sylvianne	Assistante	En poste
22	MONTHÉ DJIADEU Valéry M.	Assistant	En poste
23	JIOMEKONG AZANZI Fidel	Assistant	En poste
<b>7- DÉPARTEMENT DE MATHÉMATIQUES (MA) (35)</b>			
1	BEKOLLE David	Professeur	<i>Vice-Recteur UN</i>
2	BITJONG NDOMBOL	Professeur	<i>En poste</i>
3	DOSSA COSSY Marcel	Professeur	En poste
4	AYISSI Raoult Domingo	Maître de Conférences	<b>Chef de Département</b>
5	EMVUDU WONO Yves S.	Maître de Conférences	<i>CD/ MINESUP</i>
6	NKUIMI JUGNIA Célestin	Maître de Conférences	En poste

7	NOUNDJEU Pierre	Maître de Conférences	En poste
8	TCHAPNDA NJABO Sophonie B.	Maître de Conférences	Directeur/AIMS Rwanda
9	AGHOUKENG JIOFACK Jean Gérard	Chargé de Cours	Chef Cellule MINPLAMAT
10	CHENDJOU Gilbert	Chargé de Cours	En poste
11	FOMEKONG Christophe	Chargé de Cours	En poste
12	KIANPI Maurice	Chargé de Cours	En poste
13	KIKI Maxime Armand	Chargé de Cours	En poste
14	MBAKOP Guy Merlin	Chargé de Cours	En poste
15	MBANG Joseph	Chargé de Cours	En poste
16	MBEHOU Mohamed	Chargé de Cours	En poste
17	MBELE BIDIMA Martin Ledoux	Chargé de Cours	En poste
18	MENGUE MENGUE David Joe	Chargé de Cours	En poste
19	NGUEFACK Bernard	Chargé de Cours	En poste
20	POLA DOUNDOU Emmanuel	Chargé de Cours	En poste
21	TAKAM SOH Patrice	Chargé de Cours	En poste
22	TCHANGANG Roger Duclos	Chargé de Cours	En poste
23	TCHOUNDJA Edgar Landry	Chargé de Cours	En poste
24	TETSADJIO TCHILEPECK M. E.	Chargée de Cours	En poste
25	TIAYA TSAGUE N. Anne-Marie	Chargée de Cours	En poste
26	DJIADEU NGAHA Michel	Assistant	En poste
27	MBIAKOP Hilaire George	Assistant	En poste
28	NIMPA PEFOUNKEU Romain	Assistant	En poste
29	TANG AHANDA Barnabé	Assistant	Directeur/MINTP

### **8- DÉPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE (MIB) (13)**

1	ESSIA NGANG Jean Justin	Professeur	DRV/IMPM
2	ETOA François Xavier	Professeur	Chef de Département Recteur Université de Douala
3	NWAGA Dieudonné M.	Maître de Conférences	En poste
4	NYEGUE Maximilienne Ascension	Maître de Conférences	En poste
5	SADO KAMDEM Sylvain Leroy	Maître de Conférences	En poste
6	BOYOMO ONANA	Maître de Conférences	En poste
7	RIWOM Sara Honorine	Maître de Conférences	En poste
8	BODA Maurice	Chargé de Cours	En poste
9	BOUGNOM Blaise Pascal	Chargé de Cours	En poste
10	ENO Anna Aret	Chargée de Cours	En poste
11	ESSONO OBOUGOU Germain G.	Chargé de Cours	En poste
12	NJIKI BIKOÏ Jacky	Chargée de Cours	En poste
13	TCHIKOUA Roger	Chargé de Cours	En poste

### **9.DEPARTEMENT DE PYSIQUE(PHY)**

1	ESSIMBI ZOBO Bernard	Professeur	En poste
2	KOFANE Timoléon Crépin	Professeur	En poste
3	NDJAKA Jean Marie Bienvenu	Professeur	<b>Chef de Département</b>
4	NJOMO Donatien	Professeur	En poste
5	PEMHA Elkana	Professeur	En poste
6	TABOD Charles TABOD	Professeur	Doyen Univ/Bda
7	TCHAWOUA Clément	Professeur	En poste
8	WOAFO Paul	Professeur	En poste
9	EKOBENA FOU DA Henri Paul	Maître de Conférences	<i>Chef Division. UN</i>
10	NJANDJOCK NOUCK Philippe	Maître de Conférences	<i>Sous Directeur/ MINRESI</i>
11	BIYA MOTTO Frédéric	Maître de Conférences	<b>DG/HYDRO Mekin</b>
12	BEN- BOLIE Germain Hubert	Maître de Conférences	CD/ENS/UN
13	DJUIDJE KENMOE épouse ALOYEM	Maître de Conférences	En poste
14	NANA NBENDJO Blaise	Maître de Conférences	En poste
15	NOUAYOU Robert	Maître de Conférences	En poste
16	SIEWE SIEWE Martin	Maître de Conférences	En poste
17	ZEKENG Serge Sylvain	Maître de Conférences	En poste
18	EYEBE FOU DA Jean sire	Maître de Conférences	En poste
19	FEWO Serge Ibraïd	Maître de Conférences	En poste
20	HONA Jacques	Maître de Conférences	En poste
21	OUMAROU BOUBA	Maître de Conférences	<i>En poste</i>
22	SAIDOU	Maître de Conférences	Sous Directeur/Minresi
23	SIMO Elie	Maître de Conférences	En poste
24	BODO Bernard	Chargé de Cours	En poste
25	EDONGUE HERVAIS	Chargé de Cours	En poste
26	FOUEDJIO David	Chargé de Cours	En poste
27	MBANE BIOUELE	Chargé de Cours	En poste
28	MBINACK Clément	Chargé de Cours	En poste
29	MBONO SAMBA Yves Christian U.	Chargé de Cours	En poste
30	NDOP Joseph	Chargé de Cours	En poste
31	OBOUNOU Marcel	Chargé de Cours	DA/Univ Inter Etat/Sangmalima
32	TABI Conrad Bertrand	Chargé de Cours	En poste
33	TCHOFFO Fidèle	Chargé de Cours	En poste
34	VONDOU Derbetini Appolinaire	Chargé de Cours	En poste
35	WOULACHE Rosalie Laure	Chargée de Cours	En poste
36	ABDOURAHIMI	Chargé de Cours	En poste
37	ENYEGUE A NYAM épse BELINGA	Chargée de Cours	En poste
38	WAKATA née BEYA Annie	Chargée de Cours	<i>Sous Directeur/ MINESUP</i>

39	MVOGO ALAIN	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
40	CHAMANI Roméo	Assistant	En poste
41	MLI JOELLE LARISSA	Assistante	<i>En poste</i>
<b>10- DÉPARTEMENT DE SCIENCES DE LA TERRE (ST) (42)</b>			
1	NDJIGUI Paul Désiré	Professeur	<b>Chef de Département</b>
2	BITOM Dieudonné	Professeur	<i>Doyen / FASA / UDs</i>
3	NZENTI Jean-Paul	Professeur	En poste
4	KAMGANG Pierre	Professeur	En poste
5	MEDJO EKO Robert	Professeur	<i>Coseiller Technique/UYII</i>
6	FOUATEU Rose épouse YONGUE	Maître de Conférences	En poste
7	NDAM NGOUPAYOU Jules-Remy	Maître de Conférences	En poste
8	NGOS III Simon	Maître de Conférences	DAAC/Uma
9	NJILAH Isaac KONFOR	Maître de Conférences	En poste
10	NKOUMBOU Charles	Maître de Conférences	En poste
11	TEMDJIM Robert	Maître de Conférences	En poste
12	YENE ATANGANA Joseph Q.	Maître de Conférences	<i>Chef Div. /MINTP</i>
13	ABOSSOLO née ANGUE Monique	Maître de Conférences	<i>Chef div. DAASR / FS</i>
14	GHOGOMU Richard TANWI	Maître de Conférences	CD/UMa
15	MOUNDI Amidou	Maître de Conférences	<i>Chef Div. MINIMDT</i>
16	ONANA Vincent	Maître de Conférences	En poste
17	TCHOUANKOUE Jean-Pierre	Maître de Conférences	En poste
18	ZO'O ZAME Philémon	Maître de Conférences	<i>DG/ART</i>
19	MOUNDI Amidou	Maître de Conférences	<i>CT/ MINIMDT</i>
20	BEKOA Etienne	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
21	BISSO Dieudonne	Chargé de Cours	<i>Directeur/Projet Barrage Memve'ele</i>
22	ESSONO Jean	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
23	EKOMANE Emile	Chargé de Cours	<i>En pste</i>
24	FUH Calistus Gentry	Chargée de cours	<i>Sec. D'Etat/MINMIDT</i>
25	GANNO Sylvestre	Chargé de Cours	En poste
26	LAMILEN BILLA Daniel	Chargé de Cours	En poste
27	MBIDA YEM	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
28	MINYEM Dieudonné-Lucien	Chargé de Cours	<i>CD/Uma</i>
29	MOUAFUO Lucas	Chargé de Cours	En poste
31	NGO BELNOUN Rose Noël	Chargée de Cours	En poste
32	NGO BIDJECK Louise Marie	Chargée de Cours	En poste
33	NGUETCHOUA Gabriel	Chargé de Cours	CEA/MINRESI
34	NYECK Bruno	Chargé de Cours	En poste
35	TCHAKOUNTE J. épouse NOUMBEM	Chargée de Cours	<i>CT / MINRESI</i>
36	METANG Victor	Chargé de cours	En poste

37	NOMO NEGUE Emmanuel	Chargé de cours	En poste
38	TCHAPTCHET TCHATO De P.	Chargé de cours	En poste
39	TEHNA Nathanaël	Chargé de cours	En poste
40	TEMGA Jean Pierre	Chargé de cours	En poste
41	MBESSE CECILE OLIVE	Chargée de cours	En poste
42	ELISE SABABA	Chargé de cours	En poste
43	EYONG JOHN TAKEM	Assistant	En poste
44	ANABA ONANA Achille Basile	Assistant	En poste

### Répartition chiffrée des Enseignants de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I

NOMBRE D'ENSEIGNANTS					
DÉPARTEMENT	Professeurs	Maîtres de Conférences	Chargés de Cours	Assistants	Total
B.C.	5 (1)	10 (5)	20 (10)	3 (1)	<b>39 (16)</b>
B.P.A.	11 (1)	9 (3)	20 (8)	3 (5)	<b>43 (17)</b>
B.P.V.	4 (0)	9(2)	10 (2)	4 (4)	<b>27 (8)</b>
C.I.	9(1)	8(2)	16 (4)	0 (2)	<b>33 (9)</b>
C.O.	8 (0)	13 (3)	8 (2)	1 (0)	<b>30 (5)</b>
I.N.	3 (0)	1 (0)	8 (0)	12 (3)	<b>24 (3)</b>
M.A.	3 (0)	5 (0)	18 (1)	4 (0)	<b>30 (1)</b>
M.B.	2 (0)	5 (2)	6 (2)	0 (0)	<b>13 (4)</b>
P.H.	8 (0)	17 (0)	15 (2)	2 (1)	<b>42 (3)</b>
S.T.	5 (0)	15 (2)	22 (3)	2 (0)	<b>44 (5)</b>
<b>Total</b>	<b>58 (3)</b>	<b>92(19)</b>	<b>144 (33)</b>	<b>31(16)</b>	<b>325(71)</b>

Soit un total de **325(71)** dont :

- Professeurs **58 (3)**
- Maîtres de Conférences **92 (19)**
- Chargés de Cours **144 (33)**
- Assistants **31 (16)**

( ) = Nombre de Femmes

## DEDICACE

*Je dédie ce travail de recherche à:*

*Mes parents feu TSAGUE Victor et MOMO Sabine, pour les nombreux sacrifices consentis dans l'accomplissement de mon éducation. Je leur dis «Merci» du fond du cœur. Mes frères et sœurs pour tout le soutien et l'assistance dont j'ai bénéficié durant toute ma formation.*

## REMERCIEMENTS

Le présent travail a été réalisé au sein du laboratoire de Parasitologie et d'Ecologie, du Département de Biologie et de Physiologie Animales, de la Faculté des Sciences, de l'Université de Yaoundé I, dirigé par le Docteur ENO Anna ARET et supervisé par le Professeur TCHUEM TCHUENTE Louis-Albert. Ce travail a bénéficié d'une collaboration entre ce laboratoire de l'Université de Yaoundé I, le laboratoire d'Analyses de Biologie Médicales, de l'Institut Pasteur de Dakar au Sénégal et le Centre National de Référence Rubéole (CNR) des Infections Rubéoleuses et Materno-foetales de Paris en France (sous la supervision du Professeur VAULOUP FELLOUS Christelle).

La réalisation de ce travail n'a été possible que grâce à la contribution de nombreuses personnes à qui je tiens à exprimer ma profonde gratitude.

Je remercie infiniment le Dr ENO Anna ARET d'avoir accepté d'encadrer ce travail, pour les discussions scientifiques enrichissantes et ses encouragements. Ses précieuses connaissances dans le domaine, la rigueur de son raisonnement, ses conseils et orientations m'ont été d'une grande aide pour mener à bien ce travail. Qu'elle trouve ici l'expression de ma respectueuse gratitude et de ma vive reconnaissance.

Je remercie énormément le superviseur de thèse, le Professeur TCHUEM TCHUENTE Louis-Albert, pour l'intérêt qu'il a accordé pour cette thèse. Pr TCHUEM TCHUENTE a suivi ces travaux avec intérêt constant et une confiance imperturbable en leurs réussites. Son savoir et ses talents multiples m'ont profondément inspiré tout au long de ce travail. Qu'il trouve ici l'expression de tout mon respect, le témoignage d'une sincère gratitude et l'expression de ma très grande considération.

J'exprime mes profonds remerciements au Pr VAULOUP FELLOUS Christelle de m'avoir permis de réaliser une partie de ce travail au sein de son laboratoire (laboratoire spécialisé Rubéole du CNR des Infections materno-foetales de Paris), de m'avoir fait bénéficier de ses connaissances théoriques et expérimentales, pour ses conseils précieux et pour m'avoir fait confiance tout le long de cette thèse en m'aidant à orienter ce travail selon des aspirations pertinentes. J'exprime toute ma reconnaissance et mes remerciements les plus vifs.

J'exprime mes profonds remerciements au Pr Cheikh SAAD BOUH BOYE de l'Université Cheikh Anta Diop, de m'avoir permis de réaliser une partie de ce travail au sein du laboratoire de Virologie de l'Institut Pasteur de Dakar au Sénégal, pour ses précieux conseils et

pour son entière disponibilité à m'écouter. J'exprime toute ma reconnaissance et mes sincères remerciements.

Je tiens à remercier très sincèrement le Professeur KEKEUNOU Sévilor pour sa disponibilité dans les analyses statistiques de ce travail et pour tous ses précieux conseils.

Je tiens à remercier le Docteur BERCIION Raymond, Chef de service du laboratoire d'Analyses de Biologie Médicales de l'Institut Pasteur de Dakar pour avoir mis à ma disposition tous les appareils et les conditions nécessaires à la réalisation de ce travail.

Je tiens à remercier les techniciens et techniciennes des deux laboratoires ci-dessus cités, pour m'avoir assisté de très près dans la réalisation de mes différentes manipulations. Le travail présenté n'aurait pas abouti sans leur aide précieuse.

Je remercie le personnel du Dispensaire catholique de Nkol-Eton et de la clinique la passerelle, qui m'a assisté dans l'éducation des patientes et dans le prélèvement des échantillons sanguins.

A tous les enseignants du Département de Biologie et Physiologie Animales de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I, je leur suis reconnaissante pour la formation qu'ils m'ont garantie tout au long de mon parcours universitaire. Qu'ils trouvent ici l'expression de tout mon respect et de ma très grande considération.

A mes camarades de laboratoire, TONYE III Daves Stéphane et YONGHO GUYA Christelle, pour leurs conseils et leurs orientations dans le bon déroulement de mon travail.

A mes camarades de promotion ABOLOGO AZEME Larissa, TCHOUEMENE LABOU Judith, MELACHIO TANEKOU Trésor, je leur dis merci pour avoir participé chacun à sa manière à la réalisation de ce travail.

Au Père BETBESE Miquel, pour ses prières, son assistance morale et financière, qui m'ont permis à chaque fois que je me sentais découragée de me relever et d'avancer avec confiance. Qu'il trouve ici ma sincère reconnaissance.

Que tous ceux qui m'ont apporté une aide, aussi petite soit-elle, et dont les noms ne figurent pas ici, trouvent l'expression de ma profonde gratitude.

# SOMMAIRE

<b>DEDICACE.....</b>	<b>xi</b>
<b>REMERCIEMENTS.....</b>	<b>xii</b>
<b>LISTE DES ABBREVIATIONS.....</b>	<b>xvi</b>
<b>LISTE DES FIGURES.....</b>	<b>xvii</b>
<b>RESUME.....</b>	<b>xix</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>xxi</b>
<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>1</b>
<b>CHAPITRE I: REVUE DE LA LITTERATURE.....</b>	<b>6</b>
I.1. Virus de la rubéole .....	7
I.1.1. Structure du virus.....	7
I.1.2. Génome .....	7
I.1.3. Réplication du génome.....	8
I.1.4. Protéine C.....	9
I.1.5. Protéines d'enveloppe .....	10
I.2. Rubéole .....	<b>11</b>
I.2.1. Historique.....	11
I.2.2. Manifestations cliniques .....	11
I.2.3. Transmission .....	12
I.2.4. Rubéole congénitale.....	13
I.3. IMMUNITE .....	17
I.3.1. Rappels sur le système immunitaire.....	17
I.3.2. Mécanismes de défense spécifique .....	18
I.4. Vaccination .....	20
I.4.1. Stratégies préconisées .....	21
I.4.2. Séroconversion et persistance des anticorps après vaccination .....	22
I.4.3. Vaccination dans le monde .....	23
I.4.4. Vaccination rubéolique et stratégie de l'élimination de la rubéole au Cameroun.....	23
I.4.5. Effets indésirables des vaccins de la rubéole .....	25
I.5. Surveillance de la rubéole .....	25
I.5.1. Enquêtes sérologiques.....	26
I.5.2. Enquêtes sérologiques de la population stratifiée sur l'âge. ....	26
I.6. Diagnostic biologique de la rubéole .....	26
I.6.1. Diagnostic indirect .....	26
I.6.2. Diagnostic direct .....	28
<b>CHAPITRE II: MATERIEL ET METHODES .....</b>	<b>32</b>

II.1. Matériel.....	33
II.1.1. Considérations éthiques .....	33
II.1.2. Choix du site de l'étude .....	33
II.1.4. Population et cadre de l'étude.....	34
II.1.5. Prélèvement et conditionnement des échantillons sanguins .....	35
II.2. Méthodes .....	36
II.2.1. Tests sérologiques.....	36
II.2.1.1. Recherche des IgG anti-virus de la rubéole (RV-IgG) .....	36
II.2.2. Tests moléculaires .....	42
II.2.2.1. Extraction du génome viral.....	42
II.2.3. Analyses des données .....	44
<b>CHAPITRE III: RESULTATS ET DISCUSSION .....</b>	<b>46</b>
III.1. Résultats .....	47
III.1.1. Données démographiques.....	47
III.1.2. Données socioéconomiques .....	48
III.1.3. Parité.....	49
III.1.4. Caractéristiques cliniques.....	49
III.1.5. Antécédents obstétricaux.....	50
III.1.6. Résultats sérologiques .....	51
III.1.7. Résultats moléculaires .....	69
III.1.8. Confirmation des véritables cas de primo-infection à l'aide de l'avidité et de la PCR.....	71
III.1.9. Probabilité de Stimulation polyclonale .....	71
III.1.10. Infections probables avec RV-IgM fugaces .....	72
III.1.11. Réinfection .....	72
III.2. Discussion .....	72
III.2.1. Séroprévalence des RV-IgG chez les femmes enceintes au Cameroun .....	72
III.2.2. Prévalence des RV-IgM et datation de l'infection par mesure de l'avidité des RV-IgG chez les femmes enceintes au Cameroun .....	78
III.2.3. Résultats moléculaires.....	82
<b>CONCLUSION, RECOMMANDATIONS ET PERSPECTIVES .....</b>	<b>85</b>
CONCLUSION .....	86
RECOMMANDATIONS .....	88
PERSPECTIVES.....	89
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....</b>	<b>90</b>
<b>ANNEXES.....</b>	<b>100</b>
<b>PUBLICATIONS TIREES DE LA THESE .....</b>	<b>109</b>

## LISTE DES ABBREVIATIONS

<b>ADN</b>	:	Acide Désoxyribonucléique
<b>ARN</b>	:	Acide Ribonucléique
<b>BCG</b>	:	Bacille Calmette Guérin
<b>CDC</b>	:	Center of Disease Control
<b>DDR</b>	:	Date des Dernières Règles
<b>DO</b>	:	Densité Optique
<b>DPA</b>	:	Date Probable d'Accouchement
<b>DTC</b>	:	Diphthérie Tétanos Coqueluche
<b>IA</b>	:	Indice d'Avidité
<b>IgA</b>	:	Immunoglobuline A
<b>IgE</b>	:	Immunoglobuline E
<b>IgG</b>	:	Immunoglobuline G
<b>IgM</b>	:	Immunoglobuline M
<b>LABM</b>	:	Laboratoire d'Analyses Biomédicales
<b>OMS</b>	:	Organisation Mondiale de la Santé
<b>PBS</b>	:	Polybutylène Succinate
<b>PCR</b>	:	Polymerase Chain Reaction
<b>PEV</b>	:	Programme Elargi de Vaccination
<b>PI</b>	:	Primo-infection
<b>POD</b>	:	Peroxydase
<b>ROR</b>	:	Rougeole Oreillon Rubéole
<b>RT</b>	:	Retrotranscriptase
<b>RV</b>	:	Rubella Virus
<b>SA</b>	:	Semaine d'Aménorrhée
<b>SRC</b>	:	Syndrome de Rubéole Congénitale
<b>URL</b>	:	Unité Relative de Lumière
<b>VAR</b>	:	Vaccin antirougeole
<b>WHO</b>	:	“World Health Organization”

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1:</b> Structure du virus de la rubéole au microscopie électronique G×100000, .....	7
<b>Figure 2:</b> Organisation du génome du virus de la rubéole.....	8
<b>Figure 3:</b> Cycle de réplication du virus de la rubéole.....	9
<b>Figure 4:</b> Séquence peptidique de la glycoprotéine E1, montrant les différents domaines.....	10
<b>Figure 5:</b> Symptômes cutanés de la rubéole: A- Eruption ; B- Exanthème maculeux non prurigineux.....	12
<b>Figure 6:</b> Cinétique des anticorps rubéoliques au cours de la primo-infection et de la réinfection.....	19
<b>Figure 7:</b> Étapes à suivre dans le cas d'un diagnostic direct d'un cas de rubéole. ....	29
<b>Figure 8:</b> Répartition géographique des génotypes rubéoleux sur la période 2010-2015 .....	30
<b>Figure 9:</b> Répartition de la population d'étude en fonction du trimestre de grossesse. ....	48
<b>Figure 10:</b> Répartition des patientes en fonction du lieu de résidence. ....	48
<b>Figure 11:</b> Répartition de la population d'étude en fonction de la parité. ....	49
<b>Figure 12:</b> Résultats d'Immunoblot à partir des sérums RV-IgG négatifs ou équivoques sur Siemens.....	53
<b>Figure 13:</b> Résultat d'Immunoblot à partir des sérums RV-IgG négatifs ou équivoques sur Architect.....	53
<b>Figure 14:</b> Proportion des femmes en fonction de leur statut sérologique en RV-IgG. ....	54
<b>Figure 15:</b> Séroprévalence des RV-IgG par tranche d'âge. ....	54
<b>Figure 16:</b> Séroprévalence des RV-IgG par trimestre de grossesse. ....	55
<b>Figure 17:</b> séroprévalence des RV-IgG par niveau d'étude.....	55
<b>Figure 18:</b> Séroprévalence des RV-IgG par nombre d'avortements spontanés. ....	56
<b>Figure 19:</b> Séroprévalence des RV-IgG par nombre d'enfants perdus. ....	56
<b>Figure 20:</b> Séroprévalence des RV-IgG en fonction du lieu de résidence.....	57
<b>Figure 21:</b> Séroprévalence des RV-IgG par parité. ....	57
<b>Figure 22:</b> Proportion des patientes en fonction de leur statut sérologique en RV-IgM. ....	58
<b>Figure 23:</b> Pourcentage de cas de positivité pour les RV-IgM par tranche d'âge. ....	60
<b>Figure 24:</b> Avidité des RV-IgG et indice des RV-IgM sériques. ....	62
<b>Figure 25:</b> Proportion des femmes en fonction de leur statut sérologique en RV-IgG'. ....	64
<b>Figure 26:</b> Proportion des femmes en fonction de leur statut sérologique en RV-IgM'. ....	65
<b>Figure 27:</b> Taux d'avidité des RV-IgG et datation de l'infection.....	66
<b>Figure 28:</b> Nombre de Cas de primo-infection et âge gestationnel. ....	68
<b>Figure 29:</b> Cas d'infections récentes par parité. ....	68
<b>Figure 30:</b> Conditions requises pour la réalisation de la PCR lors du premier échantillonnage. ....	69
<b>Figure 31:</b> Conditions requises pour la réalisation de la PCR lors du deuxième échantillonnage. ....	70

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau I :</b> Fréquence de l'infection congénitale en fonction de l'âge gestationnel de survenue de la rubéole maternelle (Miller <i>et al.</i> , 1982). .....	14
<b>Tableau II :</b> Malformations congénitales chez les enfants nés de mères infectées par le virus de la rubéole à différents stades de la grossesse (Miller <i>et al.</i> 1987).....	15
<b>Tableau III :</b> Mécanisme de la réponse immunitaire spécifique à médiation humorale et cellulaire .....	20
<b>Tableau IV :</b> Calendrier de vaccination infantile au Cameroun.....	24
<b>Tableau V :</b> Progrès accomplis à l'échelle mondiale dans les activités de lutte et d'élimination de la rubéole et du syndrome de rubéole congénitale (SRC) – Régions OMS. (WHO, 2015). .....	25
<b>Tableau VI :</b> Apparition des marqueurs biologiques de l'infection par le virus de la rubéole (Icenogle et Bellini, 2003).....	28
<b>Tableau VII :</b> Composition des réactifs du coffret pour urée (30 tests).....	39
<b>Tableau IX :</b> Appréciations de la force de lien statistique du V de Cramer .....	45
<b>Tableau X :</b> Répartition des patientes par tranche d'âge .....	47
<b>Tableau XI :</b> Répartition des patientes en fonction des caractéristiques cliniques .....	50
<b>Tableau XII :</b> Distribution des patientes en fonction des caractéristiques de reproduction.....	50
<b>Tableau XIII :</b> Séroprévalence des RV-IgG en fonction du réactif utilisé. ....	51
<b>Tableau XIV :</b> Titre des anticorps IgG antirubéoliques par la technique Architect.....	52
<b>Tableau XV :</b> Cas de discordances entre la technique immuno-enzymatique microparticulaire automatisée et la technique immuno-enzymatique en microplaque.....	52
<b>Tableau XVI :</b> Indice des RV-IgM en fonction des titres de RV-IgG.....	59
<b>Tableau XVII :</b> Profil clinique des patientes à signes cliniques évocateurs .....	59
<b>Tableau XVIII :</b> Résultat du test d'avidité des RV-IgG chez les patientes avec suspicion de rubéole. ....	61
<b>Tableau XIX :</b> Avidité des RV-IgG en fonction de la présence ou non des signes cliniques .....	63
<b>Tableau XX :</b> Indice des RV-IgM et avidité des RV-IgG vis-à-vis du nombre d'avortements spontanés.....	64
<b>Tableau XXI :</b> Cas clinique N° 1: séroconversion .....	65
<b>Tableau XXII :</b> Cas clinique N° 2: Séroconversion .....	65
<b>Tableau XXIII :</b> Cas clinique N° 3: séroconversion .....	66
<b>Tableau XXIV :</b> Infections récentes obtenus après mesure du taux d'avidité .....	67
<b>Tableau XXV :</b> Résultats de la PCR .....	70
<b>Tableau XXVI:</b> Cas de Primo-infections récentes avec risque de SRC .....	71
<b>Tableau XXVII :</b> Positivité en RV-IgM et Stimulation polyclonale .....	71
<b>Tableau XXVIII:</b> Cas de positivité en PCR et RV-IgM fugaces.....	72
<b>Tableau XXIX:</b> Réinfection avec avidité modérée sur le premier prélèvement .....	72

## RESUME

La rubéole est une infection qui peut avoir des conséquences redoutables pour le fœtus connues sous le nom de Syndrome de la Rubéole Congénitale (SRC). Pendant la grossesse, le dépistage des anticorps rubéoliques a pour but d'une part de déterminer le statut immunitaire de la patiente, d'autre part de faire, le cas échéant le diagnostic d'une primo-infection rubéolique. Au Cameroun, la rubéole n'est pas documentée et la maladie représente toujours un fardeau pour les enfants nés de mères infectées. L'objectif de ce travail est de déterminer le statut immunitaire des femmes enceintes vis-à-vis de la rubéole et d'évaluer l'incidence de la rubéole gravidique. L'étude s'est déroulée du 1<sup>er</sup> Juillet 2012 au 30 décembre 2016, dans deux centres hospitaliers de la ville de Yaoundé notamment au Dispensaire Catholique de Nkol-Eton et à la clinique la Passerelle d'Oyom-Abang. Après approbation du Comité National d'Ethique, 552 femmes enceintes ont été prélevées. Après centrifugation du sang, les sérums ont été aliquotés et conservés à -20°C puis à -80°C. La détermination des RV-IgG et RV-IgM a été effectuée sur «Architect system ci4100» grâce à la technique immunoenzymatique microparticulaire automatisée. La recherche des RV-IgG a également été réalisée par la technique immunoenzymatique en microplaque sur Siemens Enzygnost. Les cas équivoques en RV-IgG ont été confirmés grâce au test immunoblot. La mesure de l'avidité a été réalisée par la technique immunoenzymatique en microplaque sur Siemens Enzygnost. La détection du génome viral a été effectuée par PCR en temps réel (RT-PCR). Les données ont été analysées grâce aux différentes procédures des logiciels Excel et SAS.

Les caractéristiques cliniques et les antécédents obstétricaux ont révélé que 372 (67,39%) patientes étaient multipares et 180 (32,61%) primipares ( $P < 0,0001$ ) ; 137 (24,8%) avaient eu des antécédents d'avortements spontanés comparées à 415 (78,2%) qui n'en avaient jamais eu ( $P < 0,0001$ ) ; 343 (62,1%) avaient 1 à 3 enfants vivants et 180 (32,6) n'avaient aucun enfant vivant ( $P < 0,0001$ ). La fièvre a été observée chez 104 (18,8%) patientes, l'éruption maculopapuleuse chez 161 (29,2%) et les deux symptômes chez 48 (8,7%) ( $p > 0,05$ ). L'on a observé une différence statistiquement significative entre les patientes vivant en zone urbaine (84,24%) et celles vivant dans d'autres zones ( $p < 0,0001$ ). A l'aide de la technique immunoenzymatique microparticulaire automatisée, la proportion des femmes séropositives en RV-IgG, a été de 91,30% (504/552) et celle des femmes ayant un résultat équivoque de 4,17% (23/552) ( $p < 0,0001$ ). A l'aide de la technique immunoenzymatique en microplaque, ces proportions ont été respectivement de 91,67% (507/552) et de 3,98% (22/552) ( $p < 0,0001$ ). Le test de confirmation d'immunoblot a révélé au total la présence des RV-IgG dans le sérum de 538 (97,46%) patientes. Le taux de séropositivité aux RV-IgG a été plus élevé chez les patientes âgées de 20 à 28 ans (54,71%) comparé à celui des autres

tranches d'âge ( $p=0,02$ ). Le taux si élevé de séropositivité serait dû à une circulation continue et à l'endémicité de la rubéole au Cameroun. Des 137 patientes qui avaient eu des avortements spontanés, 135 (98,54%) ont été positives aux RV-IgG ( $P<0,0001$ ). Les avortements spontanés seraient la résultante de l'infection à la rubéole. Le taux de séropositivité aux RV-IgG a été plus élevé (82,07%), chez les patientes vivant en zone urbaine que chez celles vivant en banlieue (14,67%) et en zone rurale (0,72%) ( $p=0,94$ ). Cette forte séropositivité en zone urbaine pourrait être due à la forte densité des populations dans cette zone favorisant ainsi une grande aisance dans la propagation dudit virus. Notre étude a révélé que 97,46 % des patientes ont été immunisées contre la rubéole et 2,54% ont été non immunisées ( $P<0,0001$ ). Toutes les patientes ayant déclaré n'avoir pas été vaccinées, cette immunité serait d'origine naturelle. La recherche des RV-IgM a révélé la présence de ces anticorps chez 11 (2%) patientes ( $P<0,0001$ ). Ce qui indique possiblement une primo-infection récente représentant pour les bébés de ces patientes un grand risque d'embryofoetopathie. Les femmes multipares ont été les plus positives en RV-IgM avec un pourcentage de 72,73%. L'incidence de la rubéole en cours de grossesse et par conséquent le risque de survenue d'un éventuel SRC a été de 45,4% dans notre étude ( $P<0,0001$ ). La mesure de l'avidité a montré que 14,3% des femmes ont présenté un indice d'Avidité (IA)  $<$  à 50%, 14,3% un IA compris entre 50 à 70 % et 71,4% un IA compris entre 70 et 90%. En plus, cette étude a révélé 4 (19%) cas de faibles avidités correspondant à des cas de primo-infections. Des cas de faibles avidités à des âges gestationnels de 25 SA et de 14 SA ont correspondu à des risques de transmission équivalents à 25 et à 70% respectivement. Des 152 patientes prélevées en deux reprises, 3(1,97%) cas cliniques ont correspondu à une augmentation significative des titres d'anticorps ( $p>0,05$ ) synonymes d'une séroconversion. La détection du génome viral par PCR a révélé que, des 37 sérums testés à la PCR, 8 (21,62%) ont été positifs. Le virus était probablement présent dans le sérum de ces dernières lors du prélèvement témoignant ainsi d'une infection récente avec conséquences graves pour le fœtus.

La forte positivité en RV-IgG en l'absence d'un programme vaccinal témoigne d'une circulation continue des souches du virus de la rubéole au Cameroun. Ce travail a montré l'efficacité de l'avidité dans le diagnostic rubéolique prénatal au Cameroun. Les cas de faible avidité et/ou de primo-infections observés ont permis de révéler des précisions sur le fardeau que représente le SRC chez le fœtus. Par conséquent, le programme élargi de vaccination devrait intégrer ce vaccin dans son programme pour une couverture maximale.

**Mots clés:** Rubéole, femmes enceintes, SRC, statut immunitaire, avidité, primo-infection, RV-IgG, RV-IgM, génome viral, Cameroun.

## ABSTRACT

Rubella is an infection that can have dreadful consequences for the fetus known as Congenital Rubella Syndrome (CRS). During pregnancy, the purpose of screening for rubella antibodies is to determine the immune status of the patient and, where appropriate, to diagnose a primary rubella infection. In Cameroon, rubella is not documented and the disease still represents a burden for children born to infected mothers. The aim of this work is to determine the immune status of pregnant women against rubella and to assess the incidence of rubella during pregnancy. The study was conducted from July 1, 2012 to December 30, 2016, in two hospitals in the city of Yaoundé, including the Catholic Dispensary of Nkol-Eton and Passerel Oyom-Abang Clinic. After the approval of the National Ethics Committee, samples were collected from 552 pregnant women. After centrifugation of the blood, the sera were aliquoted and stored at  $-20^{\circ}\text{C}$  and then at  $-80^{\circ}\text{C}$ . The determination of RV-IgG and RV-IgM was performed on "Architect system ci4100" (Abbott Park, USA) using automated microparticle enzyme-linked immunosorbent technic. The search of RV-IgG has also been carried out using the microplate enzyme-linked immunosorbent technic on Siemens Enzygnost. Equivocal cases of IgG were confirmed by the immunoblot test. The avidity measurement was performed by the microplate enzyme-linked immunosorbent technic on Siemens Enzygnost. The detection of the viral genome was carried out by real-time PCR (RT-PCR). The data were analyzed by the various Excel and SAS software procedures.

Clinical characteristics and obstetrical history revealed that 372 (67.39%) patients were multiparous and 180 (32.61%) primiparous ( $P < 0.0001$ ); 137 (24.8%) had had a history of spontaneous abortions compare to 415 (78.2%) who had never had ( $P < 0.0001$ ) ( $P < 0.0001$ ), 343 (62.1%) had 1 to 3 living children and 180 (32.6) had no living child ( $P < 0.0001$ ). Fever was observed in 104 (18.8%) patients, maculopapular rash in 161 (29.2%) and both symptoms in 48 (8.7%) ( $p > 0.05$ ). There was a statistically significant difference between patients living in urban areas (84.24%) and those living in other areas ( $p < 0.0001$ ). Using automated microparticle Enzyme-linked immunosorbent technic, the proportion of sero-positive women with RV-IgG was 91.30% (504/552) and that of women with an equivocal result of 4.17% (23/552) ( $p < 0.0001$ ). Using the microplate-linked immunosorbent technic, these proportions were respectively 91.67% (507/552) and 3.98% (22/552) ( $p < 0.0001$ ). The immunoblot confirmation test revealed the presence of RV-IgG in the serum of 538 (97.46%) patients. The rate of seropositivity to RV-IgG was higher in patients aged 20 to 28 years (54.71%) compared to those of other age groups ( $P = 0.02$ ). The high rate of seropositivity is thought to be due to the

continuous circulation and endemicity of rubella in Cameroon. Of the 137 patients who had spontaneous abortions, 135 (98.54%) were RV-IgG positive ( $P < 0.0001$ ). Spontaneous abortions are the results of rubella infection. The rate of seropositivity to RV-IgG was higher (82.07%), in urban patients than in suburban (14.67%) and rural (0.72%) patients ( $p = 0.94$ ). This high seropositivity in urban areas could be due to the high density of the populations in this areas which enables a great ease in the spread of said virus. Our study showed that 97.46% of patients were immunized against rubella and 2.54% were unimmunized ( $P < 0.0001$ ). All the patients who declared that they had not been vaccinated, this immunity would be of natural origin. RV-IgM testing revealed the presence of these antibodies in 11 (2%) patients ( $P < 0.0001$ ). This may indicate a recent primary infection representing for babies of these patients a high risk of embryofetopathy. Multiparous women were the most positive in RV-IgM with a percentage of 72.73%. The incidence of rubella during pregnancy and therefore the risk of occurrence of a possible CRS was 45.4% in our study ( $P < 0.0001$ ). The avidity measurement showed that 14.3% of women had an Avidity Index (AI)  $< 50\%$ , 14.3% an AI between 50-70% and 71.4% an AI included between 70 and 90%. In addition this study revealed 4 (19%) cases of low avidities corresponding to cases of primary infections ( $P < 0.0001$ ). Cases of low avidities at gestational ages of 25 SA and 14 SA corresponded to transmission risks of 25 and 70%, respectively. Of the 152 samples tested twice, 3 (1.97%) clinical cases corresponded to a significant increase in antibody titres ( $p > 0.05$ ), synonymous with seroconversion. The detection of the viral genome by PCR revealed that of the 37 sera tested with PCR, 8 (21.62%) were positive. The virus was probably present in the serum of the latter during the sera collection, testifying to a recent infection with serious consequences for the fetus.

The high positivity of RV-IgG in the absence of a vaccination program is indicative of a continuous circulation of strains of rubella virus in Cameroon. This work has shown the effectiveness of avidity in prenatal rubella diagnosis in Cameroon. Cases of low avidity and/or primary infections observed revealed details of the burden of CRS on the fetus. It is therefore, recommended that the Expanded Program on Immunization should incorporate this vaccine into its program for maximum coverage.

**Key words:** Rubella, pregnant women, CRS, immune status, avidity, primary infection, RV-IgG, RV-IgM, viral genome, Cameroon.

# **INTRODUCTION**

La rubéole, connue sous le nom de «roseola epidemica», est une infection virale bénigne survenant généralement dans l'enfance. Son importance en santé publique est due aux effets potentiellement dévastateurs que peut exercer le virus sur le fœtus en développement (Dontigny *et al.*, 2008). Si elle survient durant la grossesse, en particulier au cours du premier trimestre, elle peut entraîner un avortement spontané, la mort fœtale, la mortinaissance ou la naissance d'un enfant atteint de malformations congénitales appelées Syndrome de Rubéole Congénitale (SRC) (Robertson *et al.*, 2003). En l'absence de grossesse, cette maladie se manifeste habituellement, sur le plan clinique, sous forme d'une légère infection spontanément résolutive. Dans ce cas, les principaux symptômes observés sont: la fièvre, la lymphadénopathie et l'éruption cutanée maculo-papuleuse généralisée (Brooks *et al.*, 2013).

Le virus rubéoleux est la principale cause évitable de défauts de naissance (Roberston *et al.*, 2003; De santis *et al.*, 2006). À l'échelle mondiale, plus de 100 000 nourrissons naissent chaque année avec un Syndrome de Rubéole Congénitale, pour la plupart dans des pays qui n'ont pas introduit de vaccin à valence rubéole (Dewan et Gupta, 2012). En 2011, l'OMS a actualisé des orientations concernant la stratégie à privilégier pour introduire ce vaccin dans les calendriers de vaccination systématique nationaux. Elle préconisait que cette campagne de vaccination vise les enfants de 9 mois à 15 ans. Il s'agissait d'un plan stratégique mondial contre la rougeole et la rubéole (2012-2020) et d'un plan d'action mondial prévoyant l'élimination de la rougeole, de la rubéole et du SRC dans au moins cinq régions de l'OMS d'ici à 2020 (WHO, 2013). En 2012, 132 Etats membres de l'OMS y compris trois pays africains avaient intégré le vaccin contre la rubéole dans leur programme de vaccination infantile, ce qui représentait une hausse de 33% par rapport aux 99 Etats membres qui l'avaient fait en 2000 (CDC, 2013). Ainsi le Rwanda est devenu le premier pays d'Afrique subsaharienne à intégrer la vaccination contre la rubéole dans le cadre de leur stratégie de vaccination, suivi du Ghana et du Sénégal (Lessler et Metcalf, 2013).

L'immunisation induite par une infection naturelle ou par une vaccination entraîne l'apparition d'une immunité qui persiste durant toute la vie (Plotkin *et al.*, 1998). Toutefois, cette immunité est relative et non absolue. Le risque de réinfection et de virémie dépend de l'augmentation du titre d'anticorps dans un contexte de contagé rubéolique, chez un sujet antérieurement immunisé (Picone et Grangeot, 2005). Actuellement, il existe des moyens de diagnostic efficaces, qui reposent sur la sérologie. Toutefois, beaucoup de notions fausses peuvent entraîner des conclusions inexactes. En effet, un titre d'anticorps faible ne signifie

pas systématiquement que le sujet n'est pas protégé et un titre d'anticorps élevé n'est pas synonyme d'une primo-infection récente (Callen, 2000). De plus, si les IgM sont toujours présentes lors des primo-infections, elles peuvent être positives plusieurs mois après primo-infection ou vaccination, ou suite à une stimulation polyclonale du système immunitaire (Bukbuk *et al.*, 2002). C'est ainsi, qu'il a été démontré que seul le test d'avidité peut aider à situer le moment de l'infection et résoudre le problème d'interprétation, en particulier chez la femme enceinte (Picone et Grangeot, 2005). La mesure de l'avidité des IgG de la rubéole est plus particulièrement indiquée dans le cas du diagnostic d'une rubéole chez une femme enceinte en présence de signes cliniques ou d'IgM positives (Dontigny *et al.*, 2008). Par ailleurs, la PCR doit être privilégiée en population générale dans le cadre de la surveillance de la rubéole (Hofmann et Liebert, 2005).

Grâce à la politique de vaccination, la maladie devient, de plus en plus rare, dans les pays occidentaux et elle a été éliminée du continent américain en 2002 (WHO, 2008). Cependant, en Afrique, on observe une poussée épidémiologique avec des prévalences atteignant 95,3% au Mozambique en 2002 (Barreto *et al.*, 2006), 95% au Burkina Faso en 2007 (Tahita *et al.*, 2013), 93,1% au Nigéria en 2012 (Okikiola *et al.*, 2015), 92,6% en Tanzanie en 2013 (Mwambe *et al.*, 2014) et 58,97% au Congo en 2014 (Zanga *et al.*, 2017). Au Cameroun, l'épidémiologie de la rubéole reste mal connue, puisque la maladie n'est pas à déclaration obligatoire. Cependant, des études très restreintes, à l'échelle régionale concernant uniquement la recherche des anticorps IgG chez les femmes enceintes ont rapporté des prévalences de 83,9% (Ndumbe, 1992) et 88,6% (Fokunang *et al.*, 2010). Une étude s'est également déroulée au Cameroun de 2008 à 2014 (Nimpa *et al.*, 2017) chez les patients ayant une suspicion de rougeole. Seules les IgM ont été recherchées chez ces derniers.

La surveillance de la rubéole n'est pas effective au Cameroun. A l'issue de l'initiative de l'élimination de la rougeole et le contrôle de la rubéole lancée en 2011, le PEV (Programme Elargi de Vaccination) a introduit, en novembre 2015, suite à la demande de soutien au RR (Rougeole, Rubéole) présentée à GAVI, une campagne de vaccination qui s'est déroulée sur toute l'étendue du territoire national. Cette campagne a ciblé les enfants âgés de 9 mois à 14 ans dans 181 districts, ce qui représentait 8 966 158 enfants (BUCREP, 2010), soit 40% de la population totale estimée du pays en 2015 (ANADOC, 2017). En procurant, certes, un faible coût et une simplification de la gestion du programme, cette vaccination reste cependant, d'efficacité incertaine. En effet, elle n'a pas inclus les femmes en âge de procréer qui représentent le groupe à risque pour l'infection.

Dans le cadre de notre étude, l'absence d'une couverture vaccinale chez les femmes en âge de procréer augmenterait considérablement le risque de survenue d'une infection rubéoleuse au cours de la grossesse. Le dépistage prénatal de la rubéole conserve ainsi son intérêt pour une fraction de la population non vaccinée. Fort de ce constat, il serait intéressant de savoir: est-ce que les femmes incluses dans notre étude sont-elles toutes immunisées? Celles immunisées sont-elles protégées ou restent-elles susceptibles d'induire un SRC chez le fœtus? En outre, quel est le titre d'anticorps garantissant leur protection vis-à-vis des réinfections? Quelle est la place des IgM spécifiques dans le schéma de dépistage sérologique de ces patientes? A cet effet, trois approches ont été abordées: la première concerne la détermination du statut immunitaire chez les parturientes à l'aide des sérologies IgG et IgM. La deuxième porte sur la datation de l'infection chez ces parturientes par une mesure de l'avidité afin de déceler des cas de primo-infections. La troisième démarche concerne l'identification du génome viral chez ces femmes enceintes afin d'envisager une éventuelle recherche des souches du virus circulant au Cameroun ultérieurement.

## **Hypothèses et objectifs de l'étude**

### **Hypothèses**

L'infection rubéolique chez les femmes enceintes à Yaoundé sera étudiée sur la base des hypothèses suivantes:

- Le titre maximal des anticorps au plateau, ainsi que le titre résiduel, peuvent être extrêmement variables. Un titre élevé d'anticorps n'est pas en soit un marqueur de primo-infection récente;
- l'observation d'une séroconversion est souvent corrélée à une primo-infection; cependant, il peut arriver qu'une apparente séroconversion ne représente, en fait, qu'une augmentation des Ac, non systématiquement liée à une primo-infection;
- si les IgM spécifiques sont pratiquement toujours détectées au cours des primo-infections récentes (datant de moins de 2 mois), lorsque l'on utilise des techniques suffisamment sensibles, elles peuvent aussi être mises en évidence dans de nombreuses autres situations: longtemps après une primo-infection, lors d'une réinfection et lors d'une stimulation polyclonale du système immunitaire;
- lorsque des IgM rubéoliques sont détectées en dehors d'un contexte clinique évocateur et en l'absence de vaccination récente, la mesure de l'indice d'avidité peut aider à mieux résoudre le problème d'interprétation sérologique;

- si un faible indice d'avidité est corrélé, de façon formelle, à une primo-infection récente (moins de 1 à 2 mois), un indice relativement élevé ne permet pas de différencier une infection semi-récente (> 2- 3 mois) d'une infection plus ancienne.

### **Objectifs**

Le présent travail a été effectué avec pour objectif principal de déterminer le statut immunitaire des femmes enceintes vis-à-vis de la rubéole et d'évaluer l'incidence de la rubéole gravidique.

Plus spécifiquement, nous nous proposons de:

- déterminer les taux d'anticorps IgG et IgM afin d'évaluer le statut immunitaire chez chaque parturiente;
- vérifier des cas de séroconversion chez les parturientes ayant été prélevées deux fois en l'espace de deux semaines;
- faire le diagnostic d'une primo-infection en début de grossesse par mesure de l'indice d'IgM;
- soulever l'importance du test d'avidité afin de mieux résoudre le problème d'interprétation, chez la femme enceinte, puisque, la détection des IgM, seule, ne peut différencier entre une infection primaire et une réinfection;
- confirmer la présence effective du virus de la rubéole chez ces parturientes par la recherche du génome viral par PCR.

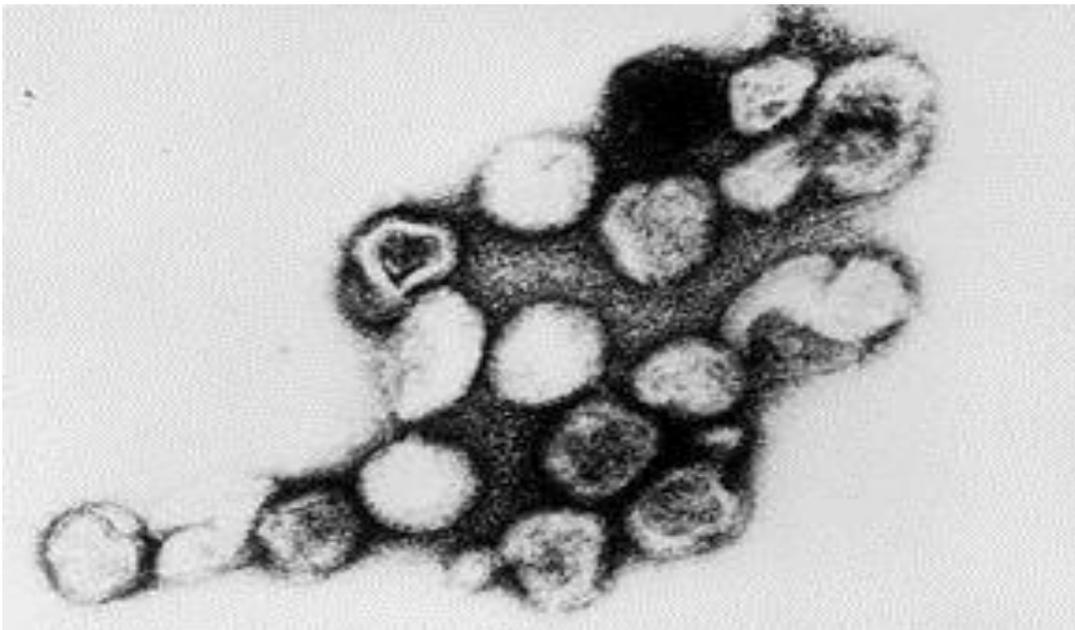
Outre l'introduction, la conclusion, les recommandations et les perspectives, cette thèse est subdivisée en trois chapitres. Le premier chapitre présente la revue de la littérature portant sur les caractéristiques du virus de la rubéole, les manifestations cliniques de la maladie, les méthodes de détection fiables ainsi que les stratégies préconisées par l'OMS pour l'éradiquer. Le deuxième chapitre rend compte du matériel et des méthodes utilisés. Les résultats et leur discussion constituent le troisième chapitre.

# **CHAPITRE I: REVUE DE LA LITTERATURE**

## I.1. Virus de la rubéole

### I.1.1. Structure du virus

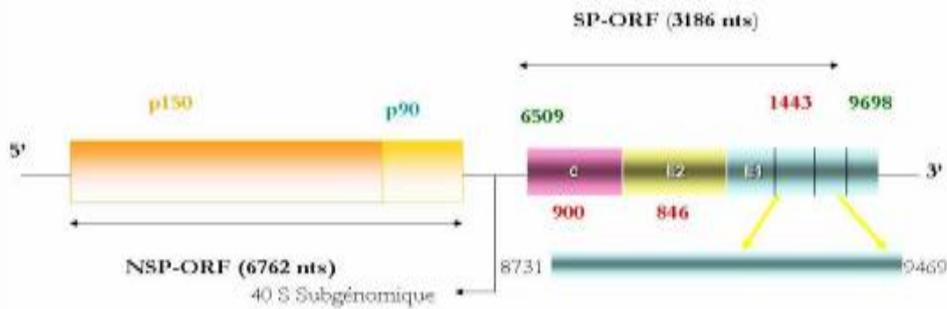
Le virus de la rubéole appartient à la famille des *Togaviridae* et au genre *Rubivirus* dont il n'existe qu'un sérotype. La particule virale ayant de 60 à 70 nm de diamètre, possède une capsidie icosaédrique, de 40 nm de diamètre, renfermant un ARN simple brin et est entourée d'une enveloppe lipidique portant des spicules de 6-8 nm faites de glycoprotéines virales (Figure 1) (Zheng *et al.*, 2003).



**Figure 1:** Structure du virus de la rubéole au microscope électronique G×100000, (Zheng *et al.*, 2003).

### I.1.2. Génome

Le génome viral est constitué d'un ARN monocaténaire linéaire, de polarité positive et de taille comprise entre 10 à 12 kilobases (9672 nts). Il contient deux cadres ouverts de lecture (Open Reading Frame, ORFs). L'extrémité 5' est méthylée et l'extrémité 3' est polyadénylée. La région proximale 5' (42-6388) code pour la polyprotéine p200, précurseur de la protéine non structurale NSPs-ORF p150 et p90 (Figure 2) (Frey, 1994).



**Figure 2:** Organisation du génome du virus de la rubéole (Frey, 1994).

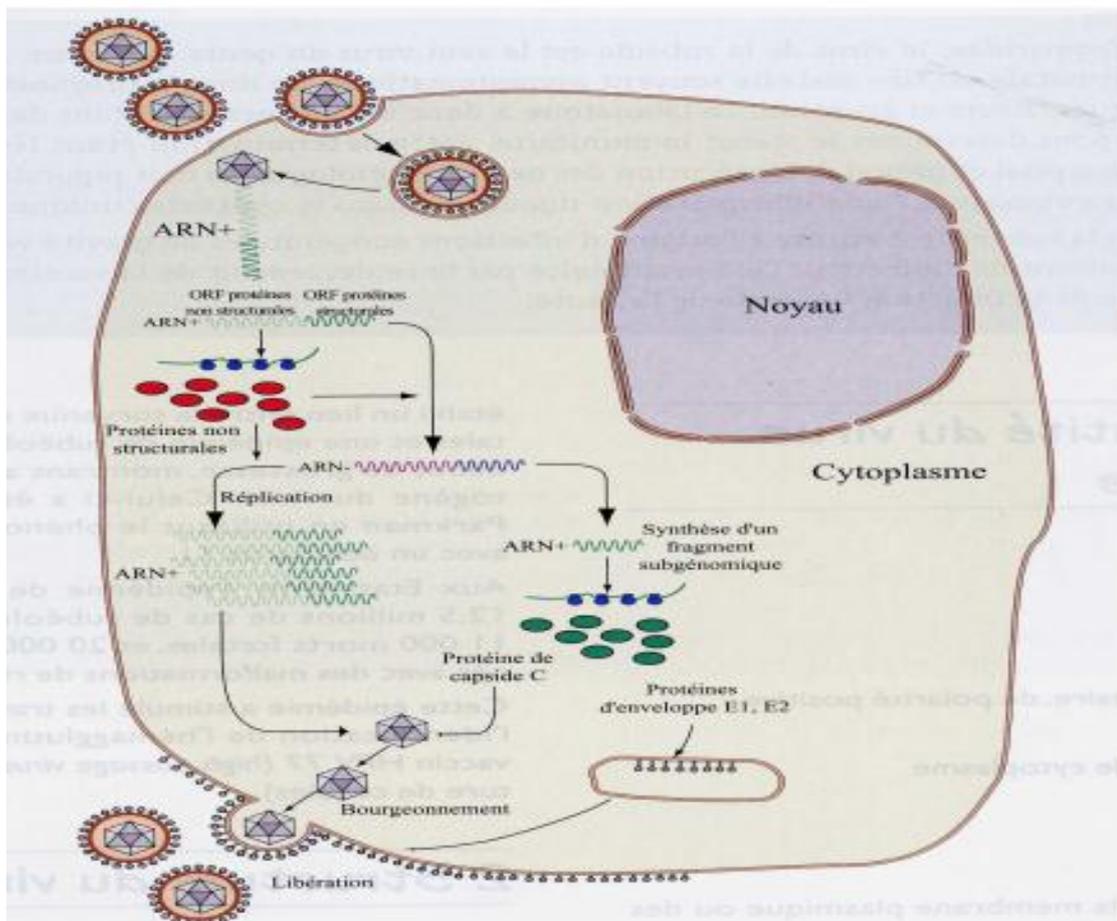
La région proximale 3' (6509-9700 nts) code pour les protéines structurales SP-ORFs: la protéine de capsid C et les deux glycoprotéines d'enveloppe E1 (57Kb) et E2 (42-47 Kb). Après glycosylation (gE1 et gE2), les protéines E1 et E2 hérissent de spicules l'enveloppe lipidique émanant des membranes cellulaires (Shigetaka *et al.*, 1997).

Les épitopes antigéniques induisant la synthèse d'anticorps neutralisants et hémagglutinants sont localisés sur la glycoprotéine E1. En ce qui concerne la glycoprotéine E2, un épitope impliqué dans la neutralisation a également été décrit; cependant, dans le virion mature, la glycoprotéine E2 serait relativement inaccessible aux immunoglobulines. Les virus de la rubéole présentent une faible variabilité génomique, et ne se répartissent qu'en deux génotypes (ou clades).

### I.1.3. Réplication du génome

Le virus de la rubéole requiert, pour sa réplication, une ARN polymérase ARN dépendante. L'ARN du virus est traduit directement par les ribosomes cellulaires, en protéines dont l'ARN polymérase ARN dépendante et des protéines de structure (Lee et Bowden, 2000). Etant donné que le virus de la rubéole est un virus à enveloppe, l'entrée dans la cellule nécessite une étape d'attachement suivie d'une étape de fusion avec la membrane cellulaire permettant de libérer le génome infectieux dans le cytoplasme (Lokman *et al.*, 2006). Le virus de la rubéole se fixe à la surface des cellules cibles grâce aux glycoprotéines d'enveloppe. Il rentre dans la cellule par endocytose et relargue sa nucléocapside dans le cytosol (Wolinsky, 1996). Les récepteurs cellulaires du virus de la rubéole sont encore mal connus. La réplication du virus de la rubéole a lieu dans le cytoplasme. Après décapsidation, les deux tiers 5' terminaux de l'ARN 40S sont traduits en polypeptides non structuraux nécessaires pour la synthèse d'un ARN complémentaire de polarité négative. Cette phase de synthèse donne naissance à des ARN en partie double brin, les intermédiaires de réplication. L'ARNm 24S est ensuite traduit en protéine C et glycoprotéine E1 et E2 qui entrent dans la structure des

nouveaux virions. La protéine de capsid se combine à l'ARN 40S pour former la nucléocapsid. Le virus acquiert son enveloppe par bourgeonnement à partir des membranes intracellulaires ou de la membrane plasmique de la cellule cible. Cette enveloppe est faite de lipides de l'hôte et des glycoprotéines du virus E1 et E2 qui hérissent l'enveloppe sous forme de spicules. (Lokman *et al.*, 2006).



**Figure 3:** Cycle de réplication du virus de la rubéole (Lokman *et al.*, 2006).

#### I.1.4. Protéine C

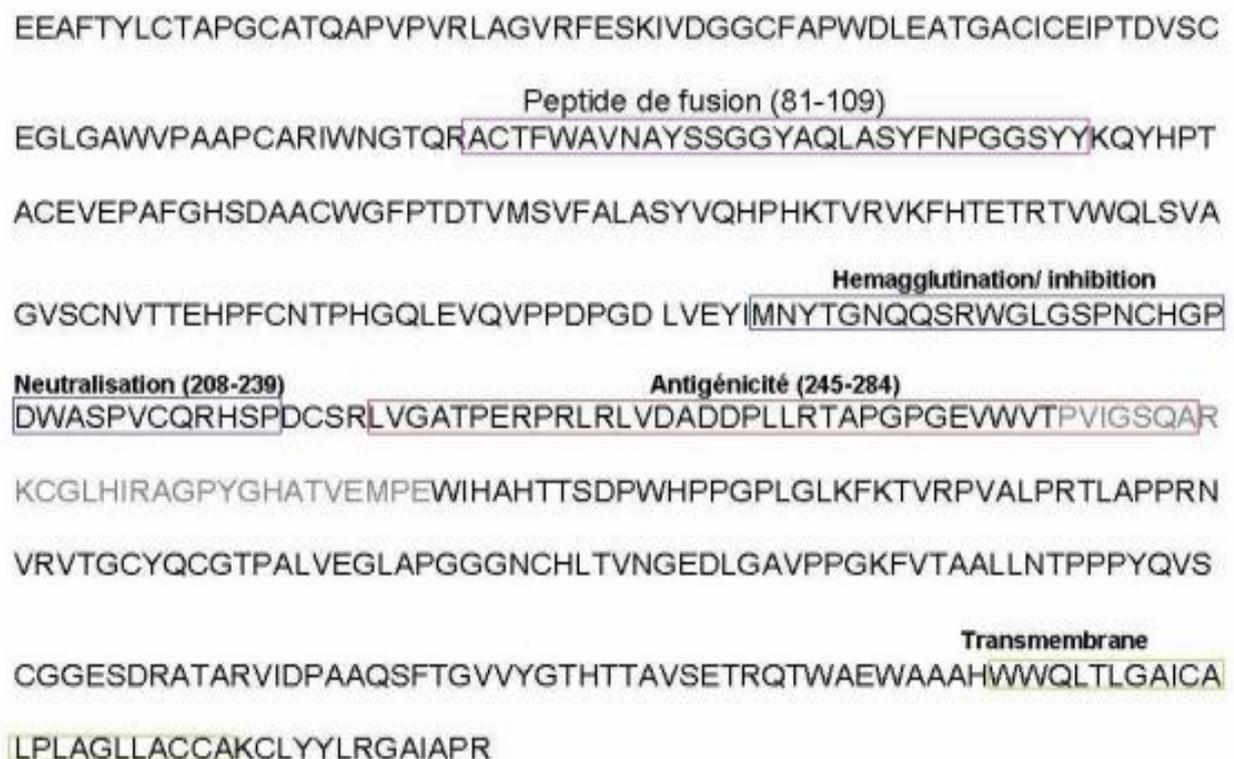
L'analyse de la séquence peptidique de la région N terminale de la protéine C montre qu'elle est hydrophile, riche en résidus proline et arginine et qu'elle interagit avec l'ARN (Frey, 1994). La protéine C joue un rôle important dans la réplication du virus, sa phosphorylation modifiant la réplication du virus (Lokman *et al.*, 2006). La région principale dans la protéine C est située dans les résidus amino-acides 28 à 56 qui contient le résidu Ser 46 qui semble jouer un rôle dans la régulation de la phosphorylation de la protéine de capsid. L'importance de la phosphorylation de la capsid, dans la réplication du virus a été démontrée

en utilisant des mutants à capsidе déphosphorylée. L'effet cytopathique suite à la déphosphorylation est moindre (Law *et al.*, 2001).

### I.1.5. Protéines d'enveloppe

La glycoprotéine E1 du virus de la rubéole porte les déterminants impliqués dans la fonction de l'hémagglutination (Waxham et Wolinsky, 1985). L'hémagglutinine est présente sur l'enveloppe virale sous forme de spicules. C'est par son intermédiaire que se fait la réaction entre le virus et les récepteurs cellulaires, ce qui permet la fixation et la pénétration du virus. Les deux glycoprotéines E1 et E2 forment un hétéro dimère où la protéine E1 est la plus exposée et la plus immuno-dominante pour la réponse humorale induite par le virus (Frey *et al.*, 1998).

Par l'utilisation d'anticorps monoclonaux, l'implication de différents sites de la séquence E1 a été mise en évidence, dans la fusion membranaire (Ala-81, Tyr-109) et dans la neutralisation du virus (Asp-208, Pro-239), le domaine antigénique étant situé dans la séquence peptidique Met-245, Pro-284 (Figure 4).



**Figure 4:** Séquence peptidique de la glycoprotéine E1, montrant les différents domaines (Shigetaka *et al.*, 1997). Le rôle de la glycoprotéine E2 reste encore mal connu. Cependant, la réponse immunitaire humorale est connue pour être induite par la protéine E2 (Shigetaka *et al.*, 1997).

Par ailleurs, bien que le rôle biologique de la glycoprotéine E2 ne soit pas bien défini, des épitopes spécifiques et, probablement, au moins un domaine neutralisant, lui ont été attribués (Cordoba *et al.*,2000; Law *et al.*,2001). Cependant, le hétérodimère E2 /E1 semble jouer un rôle dans la réplication virale. De ce fait, la mutation de la Cys 470 et de la Leu 471, dans le domaine transmembranaire de la protéine E1, en altérant la formation du complexe E2 /E, altère, par conséquent, la réplication du virus (Jiansheng and Shirley, 1999).

## **I.2. Rubéole**

### **I.2.1. Historique**

C'est à la suite d'une épidémie de rubéole qui a touché, en 1940, plusieurs milliers de personnes en Australie, qu'un ophtalmologiste Norman Gregg, en 1941, observa un grand nombre de cataractes congénitales, et en contactant d'autres ophtalmologistes australiens, 78 cas, ont alors été recensés. L'examen des cataractes révèle que toutes les couches du cristallin étaient atteintes, à l'exception de la couche la plus externe, signifiant une atteinte précoce, lors du développement. L'interrogatoire, effectué auprès des mères des enfants atteints, a permis de faire le lien entre les cataractes et l'épidémie de la rubéole survenue quelques mois plus tôt. La corrélation entre ces cataractes et cette grave épidémie fut l'élément déclencheur de l'établissement d'un lien entre infection maternelle en cours de grossesse et malformations congénitales fœtales (Stan, 1999). Ce n'est, qu'en 1962, que le test de neutralisation a été développé et que le virus de la rubéole a été isolé sur cultures cellulaires (Stan, 1999).

### **I.2.2. Manifestations cliniques**

La primo-infection rubéoleuse débute, après une période d'incubation de 13 à 20 jours, par une éruption maculopapuleuse. Cette éruption commence au visage et s'étend rapidement au tronc et aux extrémités. La durée de cette éruption est en moyenne de trois jours. Elle peut parfois être très intense, morbiliforme (petites lésions maculopapuleuses, d'un rose plus clair que dans le cas de la rougeole), scarlatiniforme voire purpurique mais elle peut faire défaut dans environ la moitié des cas d'infection rubéolique. Elle s'accompagne, généralement, d'une fièvre modérée (+38 à +38,5°C) et de multiples adénopathies mobiles, non douloureuses, en particulier, cervicales postérieures. La coalescence des lésions entraîne la formation d'un érythème diffus (Ray, 1993) (Figures 5 et 6). Cette description, commune, ne doit pas faire oublier que 50% des primo-infections rubéoleuses n'ont pas d'expression clinique, et que, l'éruption, lorsqu'elle est présente, est en général non spécifique (Merrer *et al.*, 1999). De ce

fait, seul le diagnostic virologique et en particulier, la sérologie apportera les preuves de l'infection rubéoleuse.

À l'exception de la rubéole congénitale, les complications de la rubéole sont limitées et lorsqu'elles existent, elles se retrouvent, plus fréquemment, présentes chez l'adulte que chez l'enfant (Reef *et al.*, 2006). L'arthrite, complication fréquente de la maladie et, plus particulièrement chez les femmes, guérit habituellement sans séquelles. D'autres complications plus graves telles que l'hémorragie secondaire à une thrombocytopénie ou une vasculite (1 cas sur 3000) ou encore une encéphalite (1 cas sur 5000) sont très rares (Gershon, 1995).

L'infection entraînerait l'apparition d'une immunité de type cellulaire et l'apparition de plusieurs types d'anticorps sériques tels que les IgG et les IgM (Desinor *et al.*, 2004). Ces manifestations spontanément résolutive en quelques jours, entraînent une immunité durable qui n'empêche pas cependant la survenue de réinfections asymptomatiques.



**Figure 5:** Symptômes cutanés de la rubéole: A- Eruption ; B- Exanthème maculeux non prurigineux.

### **I.2.3. Transmission**

Le virus se propage, par l'intermédiaire de contacts interhumains directs par voie respiratoire. Lors de la virémie (8 à 10 jours avant l'éruption), le virus diffuse vers les ganglions lymphatiques régionaux où s'effectue la multiplication virale. Sept à neuf jours après l'infection, les virus, présents dans la circulation sanguine, sont acheminés vers les différents tissus. La virémie maximale est atteinte entre le 10<sup>ème</sup> et le 17<sup>ème</sup> jour, pour se terminer au moment de l'éruption maculopapuleuse qui survient, en général, entre le 16<sup>ème</sup> et le 18<sup>ème</sup> jour, après l'infection. Pendant ce temps, le virus est excrété dans les sécrétions

nasopharyngées où il est présent, pendant les deux semaines qui cernent l'éruption. De ce fait, la personne infectée est contagieuse 7 jours avant à 7 jours après l'éruption. L'homme, étant le seul réservoir connu, la transmission interhumaine se fait alors directement par inhalation de particules infectantes.

Dans le cas de l'infection de la femme enceinte, au cours de la virémie, le virus infecte le placenta et peut se transmettre au fœtus. Bien que la majorité des transmissions soit observée au cours d'une primo-infection rubéoleuse chez la femme enceinte, de très rares cas de transmission de la mère à l'enfant ont été décrits, suite à des réinfections maternelles (Thomas, 1998).

## **I.2.4. Rubéole congénitale**

### **I.2.4.1. Définition**

Plusieurs critères permettent de définir le syndrome de la rubéole congénitale. C'est une rubéole pouvant entraîner des malformations ou la mort du fœtus. Ces malformations sont réparties en deux groupes:

Groupe A:

- Cataractes ;
- glaucome congénital;
- cardiopathie congénitale;
- perte de l'ouïe;
- rétinopathie pigmentaire.

Groupe B :

- Purpura;
- Splénomégalie;
- Microcéphalie;
- retard de développement;
- méningo-encéphalite;
- raréfaction osseuse radiologique;
- ictère débutant les 24 heures après la naissance.

Par définition, le syndrome de la rubéole congénitale est observé chez tout nourrisson de moins d'un an ou tout enfant mort-né présentant au moins deux des affections du groupe A ou une des affections du groupe A et une des affections du groupe B (Robertson *et al.*, 2003).

Cependant il peut y avoir des cas de rubéole congénitale symptomatiques ne répondant pas aux critères de SRC.

#### I.2.4.2. Risque de transmission de l'infection rubéoleuse

Le risque d'infection fœtale est variable selon l'âge gestationnel. Miller *et al* (1982) (tableau I) ont montré que lorsqu'une primo-infection rubéolique survient avant la 11<sup>ème</sup> semaine d'aménorrhée (SA), la fréquence de l'infection fœtale est très élevée (90%), puis elle décroît progressivement pour atteindre 25% entre la 23<sup>ème</sup> et la 26<sup>ème</sup> SA. La fréquence de l'infection fœtale augmente à nouveau au 3<sup>ème</sup> trimestre pour atteindre 100% à la fin de la grossesse. D'après une étude publiée par Daffos en 1992, le taux de transmission serait de 57% lorsque l'infection maternelle survient entre la 4<sup>ème</sup> et la 6<sup>ème</sup> SA, de 66% entre la 7<sup>ème</sup> et la 12<sup>ème</sup> SA et de 45% entre la 13<sup>ème</sup> et la 18<sup>ème</sup> SA.

Si la conception a lieu après l'éruption, le risque d'infection fœtale est vraisemblablement extrêmement faible puisque l'éruption coïncide avec l'apparition des anticorps et la fin de la virémie. Ainsi, Enders *et al* (1988) n'ont mis en évidence aucun cas de rubéole congénitale chez les enfants dont la mère avait fait une infection rubéolique avant les dernières règles et jusqu'à 11 jours après. Par ailleurs, sur cinq sujets étudiés, une seule infection fœtale a été rapportée par ces auteurs, lorsque l'infection maternelle avait eu lieu entre 12 et 14 jours après les dernières règles.

**Tableau I:** Fréquence de l'infection congénitale en fonction de l'âge gestationnel de survenue de la rubéole maternelle (Miller *et al.*, 1982).

Stade de la grossesse (en SA)	Nombre d'enfants examinés	Nombre d'enfants infectés
<11	10	9 (90%)
11-12	6	4 (67%)
13-14	18	12(67%)
15-16	36	17 (47%)
17-18	33	13 (39%)
19-22	59	20 (34%)
23-26	32	8 (25%)
27-30	31	11 (35%)
31-36	25	15 (60%)
>36	8	8 (100%)
Total	258	117 (45%)

Légende:

SA: Semaine d'Aménorrhées

### I.2.4.3. Risque de survenue d'anomalies congénitales

D'après les études de Miller *et al* (1987) (tableau II), lorsque l'infection maternelle a lieu avant la 11<sup>ème</sup> SA, les risques de survenue d'anomalies congénitales sont élevés (70% à 100%). Après la 18<sup>ème</sup> SA, le risque semble nul. Entre la 11<sup>ème</sup> et la 18<sup>ème</sup> SA, la fréquence des malformations est variable.

**Tableau II** : Malformations congénitales chez les enfants nés de mères infectées par le virus de la rubéole à différents stades de la grossesse (Miller *et al* 1987).

Stade de la grossesse (en SA)	Enfants infectés				Risque total d'anomalies (%)
	enfants suivis	Avec malformations cardiaques et autres	Avec surdité isolée	Avec anomalies(%)	
< 11	9	5	4	100	90
11-12	4	0	2	50	33
13-14	12	0	2	17	11
15-16	14	0	7	50	24
17-18	10	0	0	0	0
>18	53	0	0	0	0
Total	102	5	15	20	0

Légende :

SA: Semaine d'Aménorrhées

### I.2.4.4. Manifestations postnatales de l'infection congénitale

Une infection fœtale sans manifestation clinique est possible quelque soit le moment où elle se produit (CDC, 1990). Après une infection *in utero*, le virus peut persister chez l'enfant durant des mois ou des années, après la naissance. Les mécanismes viraux des malformations congénitales et des anomalies d'apparition tardive sont encore mal compris (Frey, 1997). Les anomalies les plus fréquemment rencontrées chez les nouveau-nés sont par ordre décroissant, la perte d'audition, la déficience intellectuelle, les malformations cardiaques et les pathologies oculaires (Frey, 1997). L'infection fœtale serait associée de façon constante à des anomalies congénitales (cardiaques ou auditives), si elle survient dans les dix premières semaines de la grossesse. Par ailleurs, la fréquence de ces manifestations diminue, après dix semaines, bien que, plus du tiers des enfants présente un problème de surdité en tant que seule

manifestation clinique. Même si la majorité des enfants infectés in utero sont asymptomatiques à la naissance, certains auront des manifestations tardives en lien avec l'infection congénitale rubéoleuse. Ainsi, 20 à 25% des enfants nés sans déficit auditif, deviennent sourds à l'âge de 7 ans. Vingt pour cent des individus nés avec un SRC ont un diabète après l'âge de 35 ans, 5% ont des problèmes thyroïdiens et 10% ont des problèmes visuels comme le glaucome (Best *et al.*, 2005).

#### **I.2.4.5. Réinfection maternelle**

La primo-infection rubéolique guérit en laissant une immunité durable; cependant, les réinfections symptomatiques ou asymptomatiques ne sont pas complètement exclues. Pour définir les risques associés à une réinfection maternelle, il est nécessaire que les critères définissant la réinfection soient clairement établis; en effet dans le passé, de nombreux rapports faisant état de malformations fœtales étaient discutables, en raison de données insuffisantes pour établir avec certitude le diagnostic de réinfection. En Angleterre, une commission du Medical Research Council a recommandé d'établir le diagnostic de réinfection sur les critères suivants: augmentation du taux des anticorps en présence ou non d'une réponse IgM spécifique chez un sujet antérieurement immunisé (Best, 1991). Si les échantillons sériques prélevés avant la réinfection ne sont pas disponibles pour être retestés, l'immunité antérieure est attestée si des résultats positifs ont été observés sur deux échantillons sériques différents ou s'il y'a eu un contrôle sérologique positif suite à une vaccination. En fait, on ne peut véritablement parler de réinfection que si l'ascension du taux des anticorps est observée dans un contexte clinique évocateur (contage et/ou signes cliniques) chez un sujet préalablement immunisé. Une augmentation isolée du titre des anticorps n'est pas obligatoirement liée à une réinfection. Le plus souvent, cette augmentation est due à une stimulation non spécifique du système immunitaire (Huraux *et al.*, 2003).

#### **I.2.4.6. Epidémiologie de la maladie**

La rubéole est une maladie infectieuse, certes bénigne chez l'enfant mais, gravissime chez le fœtus en raison du risque élevé d'embryofoetopathie en particulier en cas d'infection maternelle avant 12 semaines d'aménorrhée. L'incidence varie en fonction de l'âge et de la zone géographique (Six *et al.*, 2003). Aux Etats-Unis, l'épidémie de 1964-1965 a engendré 12,5 millions de cas de rubéole post-natales et 20 000 enfants sont nés avec des signes cliniques de rubéole congénitale (Oreinstein *et al.*, 1984). Depuis 1969, l'incidence de la rubéole a chuté de façon importante aux Etats-Unis grâce aux campagnes de vaccination.

Dans la plupart des pays ayant mis en place une politique vaccinale (Australie, Finlande, France, Grande Bretagne, Suède...), le nombre de cas de rubéole enregistré chaque année a fortement diminué. L'importation des cas de rubéole et l'immigration d'individus ayant une réceptivité à la rubéole et provenant de régions qui n'ont pas de programme de vaccination sont des problèmes importants pour les pays dotés du programme d'immunisation contre la rubéole (Charbonneau and De Wals, 1997). Dans les pays en développement, le virus continue de circuler. Dans certains pays en développement, 45% des femmes en âge de procréer sont réceptives au virus. En l'absence d'un programme de vaccination, la rubéole se présente comme une infection fréquente touchant les enfants de 3 à 15 ans (50% des infections rubéoliques ont lieu avant 10 ans et 80% avant l'âge de 15 ans) (CDC, 2000). Lorsque la rubéole sévit de façon endémique, on note une recrudescence saisonnière (fin hiver-début printemps) et des épidémies apparaissent tous les 6 à 9 ans.

Au Cameroun, l'épidémiologie de la rubéole reste mal connue, puisque la maladie n'est pas à déclaration obligatoire. Cependant, des études très restreintes, à l'échelle régionale, réalisées à Yaoundé concernant la séroprévalence des anticorps IgG chez les femmes enceintes ont rapporté une susceptibilité de 16,1% (étude menée en 1992 par Ndumbe) à 9% (étude menée en 2010 par Fokunang,). En effet le pourcentage de femmes susceptibles de s'infecter a chuté au fil des ans. En l'absence de données épidémiologiques de la maladie et encore d'un programme de vaccination en vigueur, il est difficile de savoir si ceci reflète une augmentation de la circulation du virus sauvage.

### **I.3. IMMUNITE**

#### **I.3.1. Rappels sur le système immunitaire**

Le système immunitaire d'un organisme est un ensemble coordonné d'éléments de reconnaissance et de défense qui discrimine le «soi» du «non-soi». Ce qui est reconnu comme non-soi est détruit, comme les pathogènes: virus, bactéries, parasites, certaines particules ou molécules «étrangères» (dont certains poisons). Il est responsable du phénomène de rejet de greffe. Il existe deux types de mécanismes de défense: Les mécanismes de défense non-spécifique ou innée ou naturelle (cas de la protection de la peau et des muqueuses, de l'acidité gastrique, des cellules phagocytaires ou des larmes), les mécanismes de défense spécifique (cas de l'action dirigée des lymphocytes et de la production d'anticorps spécifiques, caractérisé par la spécificité et la Reconnaissance du soi et du non-soi) (Fields, 1996).

## **I.3.2. Mécanismes de défense spécifique**

### **I.3.2.1. Immunité à médiation cellulaire**

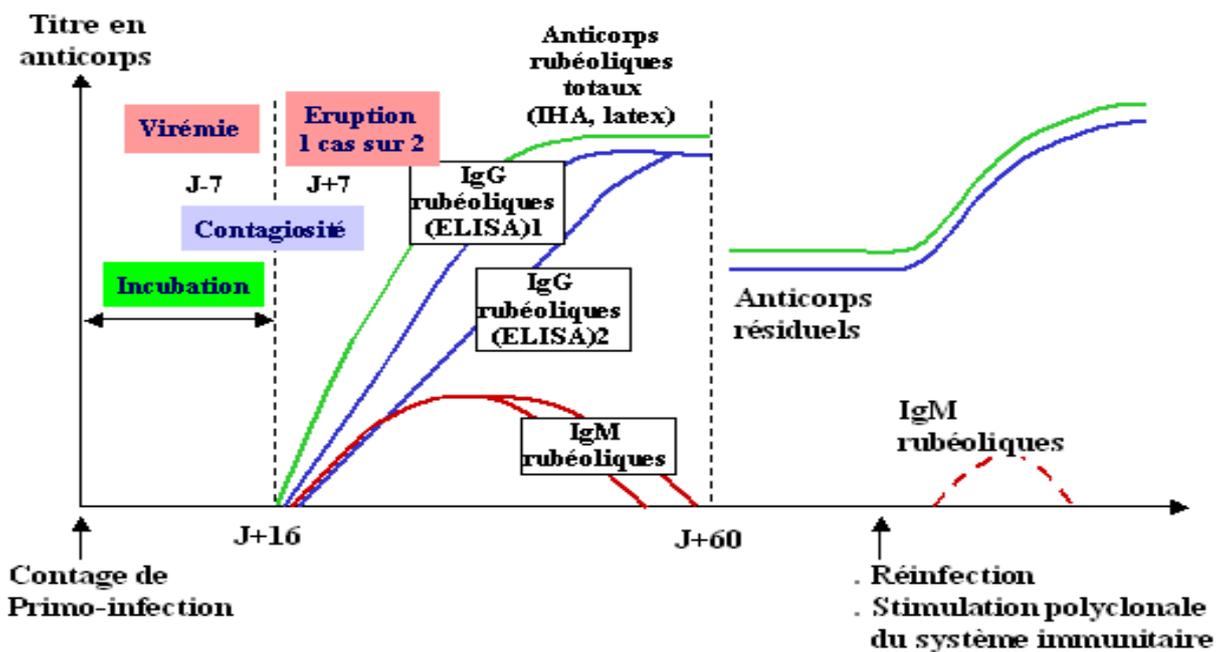
La réponse cellulaire apparaît indispensable à l'élimination de l'infection. Elle fait intervenir des lymphocytes T cytotoxiques et des lymphocytes T auxiliaires CD4 + (Th). Bien que la prolifération des lymphoblastes, des cellules T cytotoxiques et de la sécrétion de cytokine est évidente, elle reste, cependant, de courte durée et peu concluante. Les peptides comportant la protéine de la capsid C du VR et, plus particulièrement la séquence immuno-dominante allant de l'acide aminé en position C255 jusqu'à l'acide aminé en position C280, sont présentes à la surface des cellules représentant l'antigène (CPAg), avec les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH classe II) (Fields, 1996). Quant à la protéine E2, elle peut également contenir des épitopes susceptibles d'être efficacement présentés par les molécules du CMH. De plus, un peptide de 82 acides aminés de la protéine E1 semble être l'inducteur le plus actif de la réponse proliférative des cellules lymphocytes CD4+ (Mitchell, 1999). Comme dans toutes les infections virales, les CD8+ interviennent majoritairement pour l'élimination des cellules infectées, du fait de la présence de la molécule CMH II sur toutes les cellules de l'organisme. En effet, les CD8+ sont détectées dans le sang, au moment de l'éruption. Cette réaction immunitaire s'est avérée être HLA/A2 liée (Toyoda, 1999).

La souche vaccinale atténuée RA27/3 conserve plusieurs épitopes immunodominants sur chacune des trois protéines structurales virales, spécifiquement. Les résidus 275-285 et 402-422 sont préservés sur la glycoprotéine de l'enveloppe E1, les résidus 54-72 sur la glycoprotéine de l'enveloppe E2 et les résidus 14-29 sur la protéine de la capsid (Toyoda, 1999).

### **I.3.2.2. Immunité humorale**

Les lymphocytes B, activés par les lymphocytes T auxiliaires spécifiques des protéines virales prolifèrent et secrètent des anticorps qui neutralisent les particules virales ou participent, par des mécanismes de cytotoxicité dépendant des anticorps à la lyse des cellules infectées. Les anticorps sont détectés juste après le début de l'éruption cutanée (Fields, 1996). Le pic des IgM est atteint entre le 10<sup>ème</sup> et le 17<sup>ème</sup> jour puis, le déclin est observé au moment de l'éruption maculopapuleuse. Les anticorps du sérum s'attachent rapidement à l'hémagglutinine, protéine de surface. Cette réaction servait en tant que principe de base pour le test de l'inhibition d'hémagglutination (IHA), réaction à la fois aisée et sensible, mais moins spécifique que les réactifs ELISA actuellement utilisés pour le sérodiagnostic de la rubéole (Gold, 1996).

La souche vaccinale RA27/3 déclenche des réactions immunitaires humorales et cellulaires identiques à celles observées après une infection naturelle. La production des IgM, des IgG, et des IgA est alors activée. Cependant, la quantité des anticorps suite à ces réponses est légèrement inférieure à celle émise lors d'une infection naturelle. Après la vaccination, les anticorps IgM apparaissent dans le sang et persistent pendant deux mois avant que les IgG n'apparaissent (Plotkin *et al.*, 1998). La figure ci-contre représente la cinétique des anticorps rubéoliques au cours de la primo-infection et de la réinfection.



**Figure 6:** Cinétique des anticorps rubéoliques au cours de la primo-infection et de la réinfection

La molécule E1, est à l'origine de la production d'anticorps neutralisants, par l'intermédiaire de plusieurs sites impliqués dans l'attachement du virus à la membrane de la cellule hôte (Fields, 1996). La molécule E2, quant à elle, bien que, encore mal étudiée, a pu être liée à l'infection du VR, puisque une fraction de la glycoprotéine E2 a été isolée (Schwarzer, 1997). Des épitopes E2, cachés sous la protéine E1 dans le complexe dimère E1-E2, et non facilement accessibles par le système immunitaire ont été mis en évidence (Soldani *et al.*, 1990 ; Shigetaka *et al.*, 1997). Le tableau ci-dessous résume les mécanismes de réponse immunitaire spécifique à médiation humorale et cellulaire.

**Tableau III** : Mécanisme de la réponse immunitaire spécifique à médiation humorale et cellulaire

Type de réponse	Molécule ou cellule sécretrice	Activité
Humorale	Anticorps(particulièrement l'IgA sécrétoire)	Bloquent la liaison du virus aux cellules hôtes.
	Anticorps IgG, IgM et IgA	Bloquent la fusion de l'enveloppe virale et de la membrane plasmique de la cellule hôte
	Anticorps IgG	Augmente la phagocytose des particules virales.
	Anticorps IgM	Agglutine les particules virales Neutralise les particules virales.
A médiation cellulaire	IFN- $\gamma$ sécrété par les cellules T <sub>H</sub> ou les CTL	A une activité antivirale directe.
	Lymphocytes T cytotoxiques(CTL)	Tuent les cellules du soi infectées par un virus.
	Cellules NK et macrophages	Tuent les cellules infectées par un virus cytoxicité cellulaire dépendante des anticorps.

Légende:

IFN- $\gamma$ : Interféron  $\gamma$

CTL: Cytotoxic T Lymphocyte

**I.4. Vaccination**

L'objectif principal de la vaccination est d'éviter qu'une primo-infection rubéoleuse survienne en cours de grossesse. Les souches vaccinales RA 27/3, HPV/77 et Cendehill ont été développées après l'isolement du virus rubéoleux sur cultures cellulaires vers la fin des années 1960. Seul le vaccin utilisant la souche atténuée RA27/3 fût sélectionnée, en raison de son immunogénicité. Il est actuellement généralement administré sous forme de vaccin trivalent (ROR) puisque combiné avec le vaccin de la rougeole et celui des oreillons (ROR VAX ®). Le vaccin trivalent ROR contient la souche *Edmonston 749D*, pour le virus de la rougeole, la souche *Wistar RA27/3M*, pour le virus de la rubéole et la souche *Jeryll Lynn*, pour le virus des oreillons (Miller *et al.*, 1991).

#### **I.4.1. Stratégies préconisées**

Si le but de la vaccination est la réduction du nombre des cas de rougeole et/ou l'élimination de la rubéole, les épidémiologistes américains, britanniques et français ont préconisé des stratégies différentes.

Au Royaume-Unis, il a en premier lieu été supposé que, la protection conférée par le virus naturel était préférable à celle requise par le vaccin puisqu'il n'y avait aucune certitude que l'immunité induite par la vaccination avait un effet durable ; dans ce sens, les femmes vaccinées à un âge jeune, pouvaient être réceptives des années après. Ainsi, la stratégie consisterait à laisser le virus circuler librement dans la population, afin d'avoir un maximum de filles qui contractent la rubéole durant l'enfance et à vacciner les adolescentes et les femmes adultes en âge de procréer. Cependant, cette vaccination dite sélective a dû être abandonnée après dix-huit années, car les cas de SRC continuaient à apparaître, puisque entre 1987-1988, 60 enfants sont nés avec un SRC (Miller *et al.*, 1991). Ainsi, depuis 1988, la stratégie a changé et les jeunes enfants sont aussi vaccinés. Il a alors été noté une diminution importante des cas d'infections chez les femmes enceintes, suite à la diminution importante de la circulation du virus dans la population (Miller *et al.*, 1991). Ainsi, le registre de Manchester, ayant une population annuelle de 40 000 parturientes, a permis d'évaluer à 1% la proportion des femmes enceintes et réceptives à la rubéole en 1990. Entre 1984 et 1987, 10% des hommes testés dans la même région, avait un test négatif (Miller *et al.*, 1991). Il s'est alors avéré que dans la majorité des régions du Royaume-Unis, le taux de réceptivité chez les femmes en âge de procréer est inférieur à 2%, depuis 1990 (Berkeley *et al.*, 1991).

Aux États-Unis, la stratégie préconisée au début des années 70, consistait à vacciner tous les enfants âgés d'un an, avec un rattrapage à l'âge pré-pubertaire, l'objectif étant d'interrompre la circulation du virus dans la population et de protéger indirectement les femmes adultes. Rapidement, le cycle des épidémies s'est modifié sans pour autant avoir un effet important sur l'incidence de la rubéole chez les personnes de plus de 15 ans et par conséquent, sur l'incidence des cas de SRC (Bart *et al.*, 1985). À partir de 1980, des recommandations plus strictes ont été émises pour la vaccination des adolescentes et des femmes en âge de procréer. Durant les années qui ont suivi, les taux de rubéole et de SRC ont diminué (Cochi *et al.*, 1989). En 1991, une recrudescence des éclosions de la rubéole est survenue dans certaines régions des Etats-Unis. Parmi les 1401 cas rapportés, 28% étaient âgés de plus de 20 ans. Durant la même année, 31 enfants sont nés avec un SRC.

En France, l'impact de la vaccination sur l'incidence des infections rubéoleuses n'a été significatif qu'après l'introduction du vaccin trivalent dans le calendrier vaccinal du nourrisson en 1983. Entre 1984 et 1992, les taux d'incidence des infections rubéoleuses en cours de grossesse ont fortement diminué passant de 39,6 cas à 3,5 cas pour 100 000 naissances vivantes (NV). En 1993-1994, 1997 et 2000, des pics d'incidence ont été mis en évidence, avec des taux respectifs de 10,1;12,0 et de 7,8 cas pour 100 000 NV (Six *et al.*, 2003). Depuis le nombre d'infections rubéoleuses en cours de grossesse recensées en France métropolitaine a été de 39 en 2001, 21 en 2002 et 15 en 2003. Ceci correspond à des taux d'incidence respectifs de 5,06; 2,76 et 1,97 pour 100 000 NV (Six *et al.*, 2003).

#### **I.4.2. Séroconversion et persistance des anticorps après vaccination**

Lors d'une infection naturelle, le taux des anticorps contre la rubéole, est de quatre à huit fois plus élevé que lorsqu'ils résultent d'une vaccination (Bakshi et Cooper, 1990). De toutes les souches vaccinales, la souche RA 27/3M est la plus immunogène. Les essais cliniques montrent une séroconversion dans 95 à 100% des cas et de 56 à 96% des cas, après une vaccination, respectivement avec la souche RA 27/3M et la souche Cendehill. Suite à une vaccination avec la souche atténuée HPV-77, le taux de séroconversion est de 90% chez les adultes et de 97% chez les enfants (Best, 1991). L'administration du vaccin contenant la souche RA 27/3M montre une sérologie négative dans 1% des cas, après une période s'échelonnant entre 10 à 21 ans et dans 4% des cas après 14 ans alors qu'un taux d'anticorps faible a été décelé dans 5% des cas, après 10 à 21 ans (Best, 1991) et 6 à 16 ans (Cote *et al.*, 1993). Cependant, une sérologie négative a été révélée chez les personnes immunisées, 10 à 21 ans après l'administration, dans 7% des cas, lorsque le vaccin comportait la souche HPV-77 et dans 3% des cas, lors d'une vaccination avec la souche Cendehill (Best, 1991).

La revaccination des sujets qui n'ont pas développé d'anticorps après une première vaccination (échec primaire) a permis d'induire une séroconversion dans 70 à 80% des cas. En effet, la revaccination chez les enfants provoque une élévation significative du titre des anticorps, tandis que, chez les adultes séronégatifs ayant été déjà vaccinés durant l'enfance, la revaccination provoque une séroconversion dans pratiquement tous les cas (Cote *et al.*, 1993). Aucun effet indésirable n'a par ailleurs été mentionné après une revaccination.

### **I.4.3. Vaccination dans le monde**

Dans le contexte de l'élimination et du contrôle de la rougeole et de la rubéole, les programmes de vaccination des pays mènent des activités de vaccination supplémentaires (AVS) pour réduire le nombre d'individus susceptibles. Pour obtenir une immunité nécessaire à l'interruption de la transmission de la rougeole, une campagne rougeole seule ou Rougeole-Rubéole doit atteindre au moins 95% de la population cible.

### **I.4.4. Vaccination rubéolique et stratégie de l'élimination de la rubéole au Cameroun**

Depuis l'année 2004, les responsables du Programme Elargi de Vaccination (PEV) ont introduit un vaccin contre la rougeole au Cameroun. Il s'agit du VAR (Vaccin antirougeoleux). Les intérêts de cette prévention devraient être multiples, puisqu'elles sont destinées à diminuer la morbidité et la mortalité associées à cette maladie. Au Cameroun, tous les vaccins sont pris en charge par le PEV jusqu'à l'âge de 9 mois. Malheureusement, le vaccin ROR n'est pas inclus et n'est recommandé qu'à l'âge de 12 mois. En outre ce vaccin recommandé à cet âge n'est pas gratuit et n'est par conséquent pas à la portée de tous les parents, Ce qui rend la couverture vaccinale non atteinte.

Le programme de vaccination Rougeole a entraîné une diminution importante de la circulation du virus sauvage de la rougeole. Cependant, en ce qui concerne la rubéole, ce n'est qu'en mai 2015, à l'issue de la demande de soutien au RR présentée à Gavi qu'une campagne de vaccination s'est déroulée sur toute l'étendue du territoire national. Cette campagne a ciblé les enfants âgés de 9 mois à 14 ans dans 181 districts, ce qui représente 8 966 158 enfants (selon le dernier recensement de la population en 2005) (BUCREP, 2010), ou 40% de la population totale estimée du pays en 2015 (ANADOC, 2017).

**Tableau IV** : Calendrier de vaccination infantile au Cameroun

AGE	VACCINS/VACCINES	MALADIES/DISEASES
A la naissance At birth	BCG	Tuberculose/Tuberculosis
A 1 mois <sup>1/2</sup> At 1 <sup>1/2</sup> months	DCT-HEP B1+Hib1	Diphtérie/Tétanos/Coqueluche/Hépatite des infections à Hib*
A 2 mois <sup>1/2</sup> At 2 <sup>1/2</sup> months	DCT-HEP B2+Hib2	Diphtérie/Tétanos/Coqueluche/Hépatite des infections à Hib*
A 3 mois <sup>1/2</sup> At 3 <sup>1/2</sup> months	DCT-HEP B3+Hib3	Diphtérie/Tétanos/Coqueluche/Hépatite des infections à Hib*
A 1 mois <sup>1/2</sup> At 1 <sup>1/2</sup> months	Pneumo 1	Infection à pneumocoque/Infection due to pneumococcus
A 2 mois <sup>1/2</sup> At 2 <sup>1/2</sup> months	Pneumo 2	Infection à pneumocoque/Infection due to pneumococcus
A 3 mois <sup>1/2</sup> At 3 <sup>1/2</sup> months	Pneumo 3	Infection à pneumocoque/Infection due to pneumococcus
A la naissance/at birth	VPO-0	Poliomyélite/Poliomyelitis
A 1 mois <sup>1/2</sup>	VPO-1	Poliomyélite/Poliomyelitis
A 2 mois <sup>1/2</sup>	VPO-2	Poliomyélite/Poliomyelitis
A 3 mois <sup>1/2</sup>	VPO-3	Poliomyélite/Poliomyelitis
A 6 mois At 6 months	VIT.A	Avitaminose/Avitaminosis
A 9 mois At 9 months	VAR	Rougeole/Measles
	VAA	Fièvre jaune/Yellow fever

\* Diphtheria/Tetanus/Whooping Cough/Hepatitis B

#### I.4.5. Effets indésirables des vaccins de la rubéole

En dehors des effets indésirables habituels (fièvre, éruption cutanée, œdème au point d'injection), des effets spécifiques ont été décrits sans toutefois remettre en cause les stratégies vaccinales. Une association entre la vaccination antirubéolique et l'apparition des symptômes articulaires chez l'enfant et chez l'adulte a été mise en évidence. Ainsi, des cas d'arthrite chronique associés à la vaccination contre la rubéole et soumis au Programme Américain d'Indemnisation des Accidents Vaccinaux ont été rapportés. Les cas d'autisme dûs au ROR ont été par la suite invalidés (Weibel et Benor, 1996). Une relation de cause à effet a alors été retenue entre certains cas, avec un délai d'apparition compris entre une à six semaines, après la vaccination.

#### I.5. Surveillance de la rubéole

La surveillance de la rubéole et du SRC est essentielle pour avant et après l'introduction du vaccin, ainsi que pour documenter la circulation du virus et recenser les enfants atteints de SRC. L'OMS préconise que cette surveillance soit faite en population générale mais certains pays comme la France, effectuent une surveillance plus ciblée sur les femmes enceintes et le SRC. (Tableau V). De plus, les systèmes de surveillance ne sont pas tous d'une efficacité comparable et le nombre de cas est sous-estimé en Afrique et en Asie.

**Tableau V** : Progrès accomplis à l'échelle mondiale dans les activités de lutte et d'élimination de la rubéole et du syndrome de rubéole congénitale (SRC) – Régions OMS. (WHO, 2015).

Région OMS	États membres ayant intégré le vaccin à valence rubéole dans leur calendrier		États membres notifiant des cas de SRC		Nombre de cas de SRC notifiés		États membres notifiant des cas de rubéole		Nombre de cas de rubéole notifiés	
	2000	2014	2000	2014	2000	2014	2000	2014	2000	2014
Période	2000	2014	2000	2014	2000	2014	2000	2014	2000	2014
Afrique	2	7	3	17	0	14	7	44	865	7402
Amérique	31	35	18	35	80	0	25	35	39228	4
Méditerranéorientale	12	15	6	8	0	2	11	19	3122	2945
Europe	40	53	34	35	47	27	41	37	62103 9	640
Asie du Sud-Est	2	6	2	7	26	86	3	10	1165	9263
Pacifique occidentale	12	24	12	12	3	12	15	16	5475	12814
Total	99	140	75	114	156	141	102	161	67089 4	33068

### **I.5.1. Enquêtes sérologiques**

Certes, de nombreuses enquêtes sérologiques sur la rubéole existent mais leurs données doivent être interprétées avec prudence. Les méthodes de détection des IgG spécifiques varient d'une étude à l'autre tout comme le titre considéré comme positif. Plusieurs études recouraient au test d'inhibition de l'hémagglutination (IH) qui constitue le test de référence (Cradock, 1991). D'autres études encore ont eu recours à l'hémolyse sur gel, à l'hémolyse radiale ou à des tests immunoenzymatiques.

### **I.5.2. Enquêtes sérologiques de la population stratifiée sur l'âge.**

Dans certaines circonstances et lorsque les ressources financières et techniques le permettent, un pays peut envisager la réalisation d'une enquête sérologique de la population stratifiée sur l'âge. Les études sérologiques d'une population stratifiée sur une large tranche d'âge permettent d'estimer l'âge spécifique d'acquisition des anticorps contre la rubéole et de concevoir des modèles destinés à évaluer les conséquences des différentes stratégies de vaccination (Icenogle et Bellini, 2003).

## **I.6. Diagnostic biologique de la rubéole**

Le diagnostic d'une infection rubéolique repose essentiellement sur la sérologie. Les signes cliniques sont en effet peu spécifiques, une éruption rubelliforme n'étant d'origine rubéolique que dans un cas sur deux seulement. La recherche directe du virus est possible à partir des prélèvements de gorge ou d'urine par culture ou préférentiellement par PCR. Toutefois, en raison des difficultés pratiques de cet examen, il n'est effectué que dans un très petit nombre de laboratoires spécialisés.

### **I.6.1. Diagnostic indirect**

Pour effectuer correctement un diagnostic d'infection rubéolique, il est nécessaire de connaître parfaitement la cinétique des anticorps au cours de la primo-infection. Les anticorps totaux (IgG, IgA, IgM...) mis en évidence par inhibition d'hémagglutination (IHA) apparaissent quelques jours après le début de l'éruption, soit en moyenne quinze jours après le contagement, atteignent un plateau en un temps variable selon les sujets (trois jours à trois semaines) et la technique utilisée. Les IgM rubéoliques apparaissent quelques jours après le début de l'éruption et disparaissent en général en quatre à douze semaines selon les techniques utilisées. Les IgA sont toujours présentes au moment des signes cliniques et

persistent en général un peu plus longtemps que les IgM spécifiques. Les IgG, détectés notamment par technique ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) apparaissent plus tardivement (3 à 5 jours après le début de l'éruption) et atteignent leur plateau dans un e qui dépend principalement de la technique utilisée. Le titre maximal des anticorps au plateau ainsi que les titres résiduels sont extrêmement variables. Un titre élevé d'anticorps n'est pas en soi un marqueur de primo-infection récente. Un taux stable d'anticorps ne permet pas d'exclure une primo-infection rubéolique récente. Lors d'une réinfection, les IgG augmentent rapidement; les IgM peuvent être présentes ainsi que les IgA (Icenogle et Bellini, 2003).

Outre la mise en évidence des anticorps par inhibition d'hémagglutination (IHA), plusieurs autres techniques sont utilisées :

- la technique immunoenzymatique microparticulaire automatisée qui est une technique ELISA réalisée au moyen de l'automate Architect. Le principe du dosage repose sur la détection immunologique microparticulaire par chimiluminescence (CMIA) pour la détermination quantitative du titre des anticorps IgG dirigés contre le virus de la rubéole dans le sérum ou le plasma humain (Quinn, 2001) ;

- la technique immunoenzymatique en microplaque sur Siemens Enzygnost (Siemens, France) qui est une technique partiellement manuelle. Il s'agit d'un dosage immuno-enzymatique destiné à la détection quantitative des anticorps IgG spécifiques dirigés contre le virus de la rubéole dans le sérum ou le plasma humain (WHO, 1998) ;

- le test d'immunoblot qui est un test qualitatif permettant la détection spécifique des différents anticorps dirigés contre le virus de la rubéole. Pour le recomblot Rubella IgG, du lysat de virus rubéoleux est recueilli dans des cellules Vero. Tous les antigènes spécifiques nécessaires à un diagnostic sérologique fiable sont utilisés: sE1 (58kDa), E2 (42-47kDa), protéine C de nucléocapside (66kDa) et le dimère E1-E2. Les antigènes sont séparés par une électrophorèse en gel SDS. A partir du gel, ces antigènes sont ensuite transférés par électrophorèse sur une membrane de nitrocellulose. Ces membranes sont ensuite utilisées sous forme de tests unitaires (WHO, 1998).

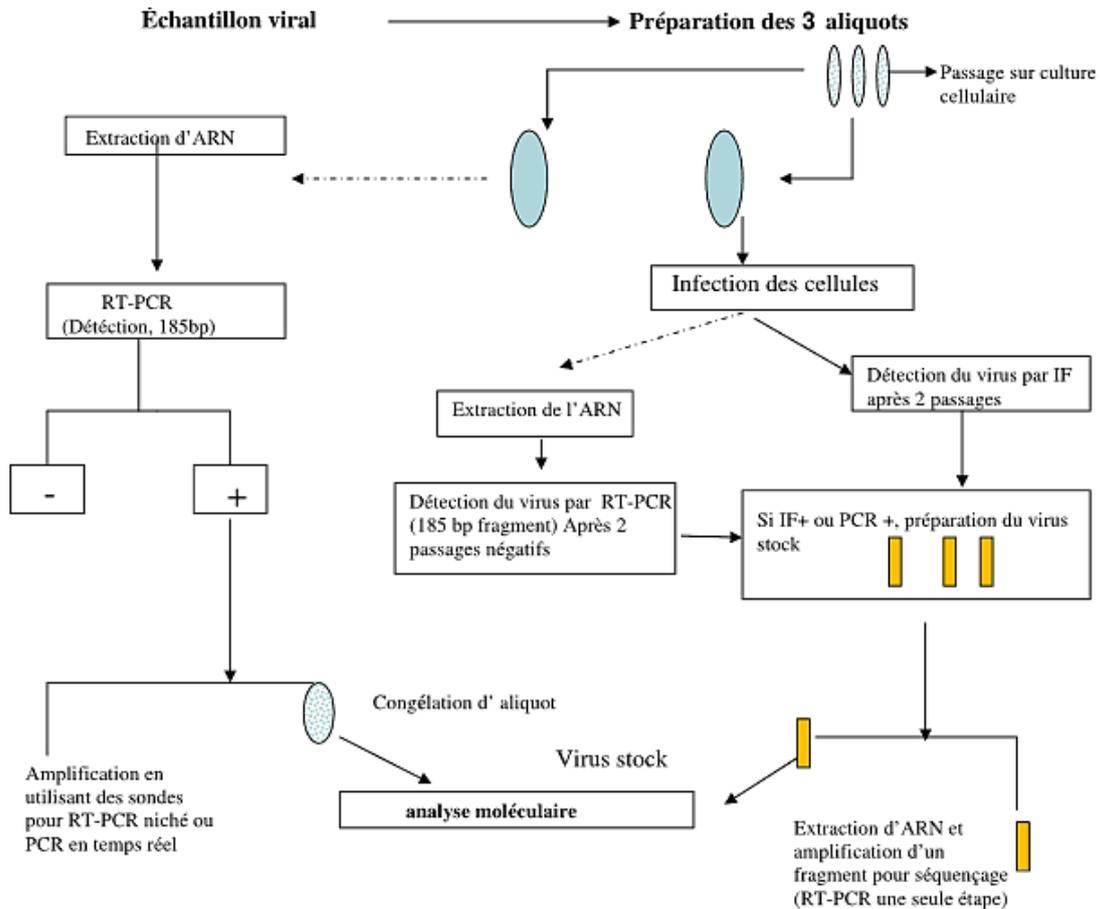
**Tableau VI :** Apparition des marqueurs biologiques de l'infection par le virus de la rubéole (Icenogle et Bellini, 2003)

Critère de diagnostic	Temps où la plupart des cas sont positifs (%)	Exemple où plus de 90% des cas sont positifs	Temps Approximatif pour 50% de déclin
<b>Rubéole postnatale</b>			
Virus dans la gorge par culture, IgM dans le sérum par ELISA	Jour d'éruption (90%)	2 jours avant éruption	4 jours après éruption
IgG dans le sérum par (ELISA), Virus dans le sang (par culture)	Jour d'éruption (50%)	5 jours après éruption	6 semaines après éruption
<b>Syndrome de la rubéole Congénitale</b>			
Virus dans la gorge (par culture)	3 jours après éruption (50%)	8 jours après éruption	1 jour après éruption
IgM dans sérum (par ELISA)	Jour d'éruption (50%)	5 jours avant éruption	3 mois
IgG dans le sérum (par ELISA)	à la naissance (80%)	1 mois	6 mois

Le diagnostic de la primo-infection rubéoleuse repose sur la recherche des IgM spécifiques et lorsqu'elles sont positives, sur la mesure de l'avidité des IgG (Picone et Grangeot-Keros, 2005). L'avidité des IgG est la force de liaison entre un antigène multivalent et les IgG spécifiques correspondants (Picone et Grangeot-Keros, 2005). La détermination de l'avidité ou affinité fonctionnelle permet de distinguer une primo-infection d'une infection ancienne (Thomas et Morgan-Capner, 1991). La mesure de l'avidité peut être effectuée par la technique immunoenzymatique en microplaque sur Siemens Enzygnost qui consiste en l'introduction au cours du test ELISA, d'un agent susceptible de dissocier la liaison Antigène-anticorps (Picone et Grangeot-Keros, 2005).

### I.6.2. Diagnostic direct

C'est la mise en évidence du virus entier, ou de l'un de ses constituants (le génome en général). Des différentes étapes sont à suivre dans le cas d'investigation d'un cas suspect de rubéole postnatale ou dans le cas d'une rubéole congénitale (Figure 7). La figure ci-contre représente les étapes à suivre dans le cas d'un diagnostic direct d'un cas de rubéole.



**Figure 7:** Étapes à suivre dans le cas d'un diagnostic direct d'un cas de rubéole (Caidi *et al.*, 2008).

### I.6.2.1. Isolement et identification du virus de la rubéole

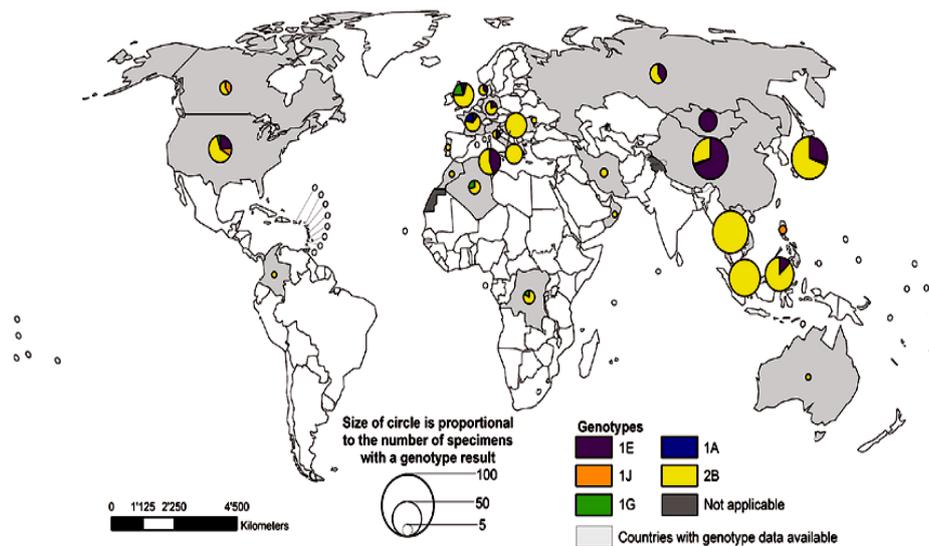
L'isolement du virus de la rubéole (VR) effectué sur la lignée cellulaire Vero, est confirmé par Immuno Fluorescence (IF) indirecte ou par Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction (RT-PCR), l'effet cytopathogène étant peu important. L'isolement peut également être pratiqué sur des cellules Vero/Slam, dans les laboratoires qui isolent aussi le virus de la rougeole sur culture cellulaire. La multiplication du virus de la rubéole sur des lignées cellulaires permissibles peut être utilisée, pour le diagnostic de la maladie postnatale et le SRC/IRC. Le prélèvement nasopharyngé effectué le jour de l'éruption est le prélèvement idéal pour l'isolement viral. La présence du virus dans la gorge diminue rapidement. À partir du 4<sup>ème</sup> jour après le début de l'éruption, seulement 50% des prélèvements sont positifs (Caidi *et al.*, 2008).

### I.6.2.2. Détection par RT-PCR

La PCR consiste en la réplication à la chaîne d'une séquence d'ADN par des enzymes, les ADN polymérase. La PCR est une méthode utilisée pour amplifier les séquences spécifiques de l'ADN d'un mélange complexe d'ADN. À partir d'une molécule simple, plus d'un milliard de copies du produit PCR sont produites. Cependant, la capacité d'amplifier plus d'un milliard de fois les copies augmente, également, la possibilité d'amplifier de fausses séquences d'ADN. La spécificité de la PCR est donc déterminée par la spécificité des amorces utilisées (Caidi *et al.*, 2008).

### I.6.2.3. Séquençage et analyse des séquences

Les groupes phylogénétiques les plus importants du virus de la rubéole, et, qui diffèrent par 8% à 10% de leurs séquences nucléotidiques, ont été distingués puis désignés sous le nom de clades 1 et 2.



**Figure 8:** Répartition géographique des génotypes rubéoleux sur la période 2010-2015 (WHO, 2015).

La taille du cercle est proportionnelle au nombre d'échantillons pour lesquels on dispose d'un résultat de génotypage. Les couleurs permettent de distinguer les différents génotypes.

Les séquences virales concernent les 450 nucléotides du gène codant pour le groupe carboxyle terminal sur la nucléocapside. En date du 28 mars 2016, les données sont disponibles dans la base de données Measles Nucleotide Surveillance (MeaNS), à l'adresse : <http://www.who-measles.org/>. Un fragment de 739 nucléotides (nucléotides 8731 à 9469) dans le gène E1 des virus rubéoleux constitue la fenêtre de séquence standard dans le génome de ces

virus. En date du 28 mars 2016, les données sont disponibles dans la base de données Rubella Nucleotide Surveillance (RubeNS), à l'adresse: <http://www.who-rubella.org/>.

L'analyse phylogénétique des souches du virus de la rubéole est basée sur le séquençage des gènes les plus variables du génome, en général la région codante pour la protéine d'enveloppe E1. Les premières analyses moléculaires ont commencé par le séquençage du fragment de 512 nucléotides de la protéine E1. Après la découverte du génotype 1F, le fragment 512 ne permettait pas de donner une valeur crédible pour le regroupement des virus du génotype 1F. Le fragment 512 est alors remplacé par le fragment 601 (8868-9469), dans la même région variable de la protéine E1. L'analyse phylogénétique a permis alors le même groupement des autres génotypes que le fragment nucléotidique 512 (8771-9282), avec une bonne performance pour les souches du génotype 1F.

Après la découverte du nouveau génotype 1g, le fragment 601 n'a pas permis de regrouper, séparément, les virus du génotype 1B et les virus du génotype 1g. Il convient donc de désigner des amorces spécifiques pour le nouveau fragment, afin de rester dans la même région variable codant la protéine E1. Le choix s'est basé sur le fait de rassembler le fragment 601 et le fragment 512 (Caidi *et al.*, 2008). Cette région est donc obtenue par l'association de la séquence 601 et de la séquence 512, toutes deux couramment utilisées. En effet, l'analyse phylogénétique des séquences du virus du génotype 1B et des séquences du virus du génotype 1g se regroupe, alors, séparément, en respectant le regroupement des autres génotypes. Cette région constituée de 739 nucléotides (8731-9469) est, recommandée par l'OMS, depuis 2005, pour l'analyse du virus de la rubéole en routine, en biologie moléculaire.

Différents programmes bio-informatiques (logiciels), disponibles pour l'analyse phylogénétique sont utilisables. Le programme informatique, reposant sur le principe du «maximum de parcimonie/Maximum Parsimony», à partir d'un ensemble de séquences nucléotidiques alignées, consiste à reconstituer l'arbre phylogénétique, en minimisant le nombre de mutations génétiques (score de parcimonie) apparues, au cours de l'évolution.

La méthode du maximum de vraisemblance/Maximum likelihood, quant à elle, se base, non seulement, sur le nombre des substitutions entre les séquences, mais, également, sur toutes les informations données par une séquence, pour induire la phylogénie la plus vraisemblable.

D'autres méthodes sont acceptables, à condition que l'analyse soit pratiquée sur la série des séquences des souches de référence déjà acceptées par GenBank. L'utilisation des virus de référence, dans l'analyse, doit permettre d'éliminer les ambiguïtés de la caractérisation du virus. L'analyse doit être réalisée avec, au moins, la région recommandée (739 nucléotides) (Caidi *et al.*, 2008).

## **CHAPITRE II: MATERIEL ET METHODES**

## **II.1. Matériel**

### **II.1.1. Considérations éthiques**

La présente étude s'est déroulée de mai 2012 à décembre 2016, comprise entre l'obtention d'une clairance éthique, les prélèvements et l'analyse des échantillons obtenus. En mai 2012, après soumission d'une demande auprès du Comité National d'Ethique, nous avons obtenu une clairance N°210/CNE/SE/12 (annexe 1) dûment signée du Président dudit comité. Nous avons au préalable, obtenu une autorisation des autorités administratives locales de nos sites d'étude. L'objectif et la procédure de l'étude ont été expliqués à ces autorités administratives et aux personnels de santé qui devaient nous assister. Une formation a été organisée dans le but de sensibiliser les participantes sur les manifestations cliniques de la rubéole et les complications fœtales en cas d'infection maternelle rubéoleuse. A l'aide d'un formulaire d'information (annexe 2) qui comportait les risques éventuels et inconvénients, la compensation et la confidentialité, l'inclusion dans l'étude a été proposée à toute femme enceinte, venue en consultation prénatale pendant la période d'étude. Toutes les volontaires ont signé une fiche de consentement éclairé (annexe 3). En outre, toutes les volontaires ont été soumises à un questionnaire (annexe 4) comportant les données démographiques et socioculturelles, les données socioéconomiques, les caractéristiques cliniques, les antécédents obstétricaux et la connaissance de la rubéole.

### **II.1.2. Choix du site de l'étude**

La ville de Yaoundé, ville cosmopolite et capitale politique du Cameroun est un carrefour accueillant des personnes venant de diverses régions du pays. Nous avons collecté les échantillons de sang dans deux centres hospitaliers: Le Centre Hospitalier Catholique de Nkol-Eton et la Clinique «la Passerelle».

Le Centre Hospitalier Catholique de Nkol-Eton est situé au quartier Nkol-Eton, entre les Lycées de Nkol-Eton et «Charles Atangana». La forte densité des patientes venant de divers horizons dans ce centre est due au moindre coût des frais médicaux et surtout à un accueil chaleureux; on y rencontre ainsi les populations de toutes les couches sociales. Les procédures administratives y sont très expéditives; ce qui facilite l'accès et le travail bien fait.

La Clinique «la Passerelle», située au quartier Oyom-Abang, entre le marché d'Oyom-Abang et le carrefour Ntsimi, est un centre spécialisé de gynécologie. La présence d'un personnel dévoué et accueillant favorise la forte affluence pour les consultations prénatales comme pour les accouchements.

## **II.1.3 Critères d'inclusion et d'exclusion à l'étude**

### **II.1.3.1 Critères d'inclusion**

La participation à cette étude n'a été possible que lorsque certains critères étaient respectés. Ainsi, pour y participer, il fallait être enceinte, venir en consultation prénatale, remplir un formulaire d'information, répondre aux questions figurant dans le questionnaire et signer un consentement éclairé.

### **II.1.3.2 Critère d'exclusion**

Le seul critère d'exclusion à cette étude a été pour certaines patientes, le non suivi de leur grossesse dans les différents centres hospitaliers ci-dessus cités.

## **II.1.4. Population et cadre de l'étude**

La présente étude a sollicité plusieurs structures afin de mener à bien les différentes tâches. Ainsi, les prélèvements ont été réalisés au Dispensaire Catholique de Nkol-Eton et à la clinique «la Passerelle» de Yaoundé. La centrifugation du sang prélevé et l'aliquotage des sérums ont été effectués au Laboratoire de Parasitologie et d'Ecologie, du Département de Biologie et de Physiologie Animales, de la Faculté des Sciences, de l'Université de Yaoundé I. La recherche des RV-IgG et des RV-IgM sur Architect system ci4100 (Abbott Park, USA) et la recherche du génome viral par PCR ont été réalisées au Laboratoire d'Analyses de Biologie Médicale (LABM), de l'Institut Pasteur de Dakar au Sénégal. La recherche des RV-IgG et la mesure de l'avidité des RV-IgG par la technique Siemens Enzygnost (Siemens, France), la confirmation des cas équivoques en RV-IgG par le test d'immunoblot (MICROGEN, Allemagne) et la recherche du génome viral par PCR ont été effectuées au Centre National de Référence (CNR) des Infections Rubéoleuses et Materno-fœtales (Laboratoire de Référence OMS) de Paris en France.

D'après la formule de Lorentz (Ramachandran, 2005), l'estimation de la taille minimale de l'échantillon de cette étude a été calculée comme suit :

$$N = \frac{Z^2 \times p \times q}{d^2}$$

Avec:

**N**= taille minimale de l'échantillon

**Z**= 1,96. C'est la valeur centrée réduite qui indique le résultat standard ou le nombre d'écart-types entre une valeur donnée et la moyenne de la population.

**p**= prévalence de l'étude antérieure menée dans la même région sur 100 individus. Fokunang *et al* (2010) ont obtenu lors de leur étude une prévalence de 88,6% dans la ville de Yaoundé, d'où **p**= 0,886.

**d** = 0,05 (5%) qui est la marge d'erreur.

**q** = 1- p = 1-0,886= 0,114

Ainsi:

<b>N=155 échantillons</b>
---------------------------

La taille minimale a donc été estimée à 155 échantillons. Pour cette étude, 552 femmes enceintes ont été incluses.

### **II.1.5. Prélèvement et conditionnement des échantillons sanguins**

Deux séries de prélèvement ont été effectuées: la première série a consisté à prélever 400 patientes une seule fois. La seconde série a consisté à prélever 152 patientes à deux reprises à deux semaines d'écart dans le but d'identifier une éventuelle séroconversion.

Après nettoyage et séchage de la peau à l'aide du coton imbibé d'alcool à 70°, 4 ml de sang ont été prélevés dans une veine ponctionnée au niveau du bras. Une aiguille à usage unique fixée sur un vacutainer portant un tube sec bien étiqueté a été utilisée à cet effet. Les échantillons de sang ont été transportés dans des glacières isothermes à +4°C au laboratoire de Parasitologie et d'Ecologie, du Département de Biologie et de Physiologie Animales, de la Faculté des Sciences, de l'Université de Yaoundé I, dans un délai de quatre heures après les prélèvements. Après centrifugation à 3000 tours par minute pendant 15 minutes, les sérums obtenus ont été aliquotés et conservés progressivement à -20°C à l'Université de Yaoundé I puis à -80°C à l'Institut Pasteur de Dakar et au Centre National de Référence (CNR) des Infections Rubéoleuses et Materno-fœtales de Paris jusqu'à leur analyse.

## **II.2. Méthodes**

### **II.2.1. Tests sérologiques**

#### **II.2.1.1. Recherche des IgG anti-virus de la rubéole (RV-IgG)**

Deux techniques ont été utilisées pour rechercher les RV-IgG.

##### **II.2.1.1.1. Technique immunoenzymatique microparticulaire automatisée sur Architect System.**

La recherche des IgG anti-rubéole a été réalisée au moyen de l'automate Architect system ci4100 (Abbott Park, USA) (Quinn, 2001). Le principe du dosage repose sur la détection immunologique microparticulaire par chimiluminescence (CMIA) pour la détermination quantitative du titre des anticorps IgG dirigés contre le virus de la rubéole dans le sérum ou le plasma humain. Le protocole réalisé par Architect est le suivant.

Le sérum est dilué au 1/10 dans le diluant du kit utilisé. Les microparticules paramagnétiques recouvertes du virus de la rubéole partiellement purifié sont ensuite mis en présence du sérum. Les anticorps IgG dirigés contre la rubéole présents dans l'échantillon se lient aux microparticules recouvertes du virus de la rubéole. Après un premier lavage, le conjugué d'anticorps anti-IgG humain marqué à l'acridinium est ajouté pour former le mélange réactionnel. Après un autre cycle de lavage, les solutions de pré-activation et d'activation sont ajoutées au mélange réactionnel.

La réaction chimiluminescente résultante est mesurée en unités relatives de lumière (URL). Il existe une relation directe entre la quantité d'anticorps IgG dirigés contre la rubéole et présentes dans l'échantillon et les URL détectés par le système optique Architect *i* system.

Selon le fabricant, un résultat est considéré positif, si le taux des RV-IgG est  $\geq 10,0$  UI.mL<sup>-1</sup>, négatif si le taux des RV-IgG est  $\leq 4,9$  UI.mL<sup>-1</sup> et équivoque si le taux des RV-IgG est compris entre 5,0 et 9,9 UI.mL<sup>-1</sup>.

##### **II.2.1.1.2. Technique immunoenzymatique en microplaque sur Siemens Enzygnost Anti rubella virus / IgG.**

La recherche des RV-IgG a également été réalisée par la technique immunoenzymatique en microplaque sur Siemens Enzygnost (Siemens, France) qui est une technique partiellement manuelle. Il s'agit d'un dosage immuno-enzymatique destiné à la détection quantitative des anticorps IgG spécifiques dirigés contre le virus de la rubéole dans le sérum ou le plasma humain. La réalisation du test nécessite une plaque contenant des puits numérotés par paire pour le dépôt des échantillons, des témoins et des réactifs

La procédure a été effectuée une heure après exposition des réactifs à température ambiante. Après dilution des échantillons selon un rapport 1+20 avec du tampon d'échantillon POD coloré en bleu violet (20 µL d'échantillon et de témoins + 400 µL de tampon POD), le mélange a été vortexé. Afin de respecter le schéma de plaque, cette dilution a été faite en double pour un même échantillon; plus explicitement, pour un échantillon l'on a disposé de deux tubes de dilution. Ainsi 200 µL de tampon échantillon POD non coloré ont été distribués dans chaque puits de la plaque. Dans ces mêmes puits, 20 µL d'échantillon dilué antérieurement ont été distribués dans chaque puits de la première paire (A1 contenant de l'antigène du virus de la rubéole et A2 contenant l'antigène de contrôle du virus de la rubéole) et 20 µL d'échantillon dilué dans les paires suivantes selon le schéma de plaque.

Après cette distribution, un mélange a été effectué grâce à une pipette multicanaux, puis la plaque a été recouverte d'un film et placée immédiatement dans l'incubateur. L'incubation des échantillons pendant 1 heure à 37°C s'en est suivie. Après cette première incubation, le film a été retiré puis la plaque a été placée dans un laveur, le programme de lavage à cette étape a été AvRub1. Il s'agit d'un programme effectuant un cycle de lavage avec 0,3 ml de solution de lavage POD par puits.

Après lavage la plaque a été séchée, puis la distribution du conjugué s'en est suivie. En effet, 100 µL de conjugué anti-IgG ont été distribués dans chaque puits; la plaque a été recouverte d'un film protecteur et placée immédiatement à l'incubateur pour une durée d'une heure à 37°C. Au terme de cette deuxième incubation, la plaque a été placée dans le laveur et les puits ont été lavés selon le programme de lavage AvRub2 (trois cycles de lavage à l'aide de 0,3 ml de tampon de lavage POD par puits et par lavage).

Après séchage des puits, 100 µL de substrat ont été distribués dans chaque puits. La plaque a été incubée à température ambiante pendant 30 minutes au terme desquelles 100 µL de solution d'arrêt POD ont été ajoutées dans chaque puits. La plaque a été placée au spectrophotomètre dans les 30 minutes qui ont suivi la distribution de la solution d'arrêt pour lecture des densités optiques.

### **II.2.1.2. Recherche des RV-IgM sur Architect System**

La recherche des RV-IgM a été réalisée grâce à la technique immunoenzymatique microparticulaire automatisée sur Architect system ci 4100 (Abbott Park, USA) (Quinn, 2001). Le principe du dosage repose sur la détection immunologique microparticulaire par

chimiluminescence (CMIA) pour la détection qualitative des anticorps IgM dirigés contre le virus de la rubéole dans le sérum et le plasma humain.

Le sérum est dilué au 1/10 dans le diluant du kit utilisé. Les microparticules paramagnétiques recouvertes du virus de la rubéole partiellement purifié sont mis en présence. Les anticorps IgM dirigés contre la rubéole présents dans l'échantillon se lient aux microparticules recouvertes du virus de la rubéole. Après un premier lavage, le conjugué d'anticorps anti-IgM humain marqué à l'acridinium est ajouté pour former la mélange réactionnel.

Après un autre cycle de lavage, les solutions de préactivation et d'activation sont ajoutées au mélange réactionnel. La réaction chimiluminescente résultante est mesurée en unités relatives de lumière (URL). Il existe une relation directe entre la quantité d'anticorps IgM dirigés contre la rubéole et présentes dans l'échantillon et les URL détectés par le système optique Architect *i* system.

Selon les caractéristiques du fabricant, un résultat est considéré comme positif, si l'indice est  $\geq 1,60$ , négatif si l'indice est  $\leq 1,20$  et équivoque si l'indice est compris entre 1,20 et 1,60.

### **II.2.1.3. Mesure de l'avidité des IgG anti-rubéole**

L'avidité des RV-IgG est la force de liaison entre un antigène multivalent et les IgG spécifiques correspondants. La détermination de l'avidité des RV-IgG a été effectuée par une technique maison (mise au point au Centre National de Référence (CNR) des Infections Rubéoleuses et Materno-fœtales) qui consiste en l'introduction au cours du test ELISA (méthode Siemens Enzygnost décrite précédemment pour la détection des anticorps IgG dirigés contre le virus de la rubéole), d'un agent susceptible de dissocier la liaison Antigène-anticorps (l'agent dénaturant utilisé est l'urée).

La réalisation de ce test a nécessité l'utilisation de deux plaques distinctes: l'une nommée plaque à urée et l'autre plaque sans urée. Outre les réactifs observés à l'annexe 5, l'urée (tableau VII) et le réactif PBS (pour plaque sans urée) ont été utilisés.

**Tableau VII** : Composition des réactifs du coffret pour urée (30 tests)

Tampon urée 4×5ml (liquide)	R1	Tampon TRIS+urée+conservateur
Contrôle de forte avidité 1×1,5ml (liquide)	CH	Sérum humain contenant des IgG anti-rubéole (indice $\geq 0,70$ ) + conservateur.
Contrôle de faible avidité 1×1,5ml (liquide)	CL	Sérum humain contenant des IgG anti-rubéole (indice $\leq 0,30$ ) + conservateur

Ce protocole est identique à celui utilisé pour la détection des anticorps IgG dirigés contre le virus de la rubéole, avec une étape supplémentaire, celle de l'urée et du PBS.

Une heure avant la technique, tous les réactifs ont été ramenés à température ambiante comprise entre 18 et 22°C. Après dilution des échantillons selon un rapport 1+20 avec du tampon d'échantillon POD coloré en bleu violet (20 µL d'échantillon et de témoins + 400 µL de tampon POD), le mélange a été vortexé. Le témoin faible et le témoin fort étaient des sérums de patients à faible avidité et à forte avidité respectivement.

Afin de respecter le schéma de plaque, la dilution a été faite en double pour un même échantillon; en effet, pour un même échantillon l'on a disposé de deux tubes de dilution. Ainsi 200 µL de tampon échantillon POD non coloré ont été distribués dans chaque puits de la plaque. Dans ces mêmes puits, 20 µL d'échantillon dilué antérieurement ont été distribués dans chaque puits de la première paire (A1 contenant de l'antigène du virus de la rubéole et A2 contenant l'antigène de contrôle du virus de la rubéole) et 20 µL d'échantillon dilué dans les paires suivantes selon le schéma de plaque.

Après une incubation d'une heure à 37°C, un cycle de lavage à l'aide du programme AvRub1 a été effectué. Il s'agit d'un programme effectuant un cycle de lavage avec 0,3 ml de solution de lavage POD. Ensuite, 300µL d'urée ont été distribués dans les puits à urée et simultanément 300µL de PSB dans les puits sans urée. Une incubation de 15 minutes à température ambiante (comprise entre 21,3°C et 21,5°C) a suivi, au terme de laquelle trois cycles de lavage ont été effectués à l'aide du programme AvRub 2 (trois cycles de lavage à l'aide de 0,3 ml de tampon de lavage POD par puits et par lavage).

Après séchage des puits, 100 µL de conjugué ont été distribués dans chaque puits, la plaque a été recouverte d'un film protecteur et placée à l'incubateur pour une durée d'une heure à 37°C. Quatre cycles de lavage ont été effectués à l'aide du programme AvRub 3 (quatre cycles de lavage à l'aide de 0,3 ml de tampon de lavage POD par puits et par lavage)

Après séchage des puits, 100 µL de substrat ont été distribués dans chaque puits. La plaque a immédiatement été incubée à température ambiante et à l'obscurité pendant 30 minutes. Au bout de 30 minutes d'incubation à température ambiante et à l'obscurité, 100 µL de solution d'arrêt POD ont été distribuées dans chaque puits afin d'arrêter la réaction.

La lecture de la densité optique à 450/620nm sur un lecteur de plaque a été effectuée. Après obtention des valeurs de densité optique par le spectrophotomètre, l'indice d'avidité a été obtenue est selon la formule suivante:

$$IA \text{ (Indice d'avidité) (IA) (\%)} = \frac{(DO \text{ obtenue après lavage urée} - DOACG)}{(DO \text{ obtenue sans lavage urée} - DOACG)} \times 100$$

Un indice d'avidité (IA) inférieur à 50% est considéré comme faible et est retrouvé lors d'une primo-infection datant de moins d'un mois. Un indice d'avidité (IA) supérieur à 90% est considéré comme élevé et est retrouvé lors d'une primo-infection datant de plus de trois mois. Un indice d'avidité (IA) compris entre 50% et 70% est retrouvé lors d'une primo-infection datant de un à deux mois. Un indice d'avidité (IA) compris entre 70% et 90% est retrouvé lors d'une primo-infection datant de deux à trois mois.

#### **II.2.1.4. Test d'immunoblot**

Le test d'immunoblot (MICROGEN, Allemagne) est un test qualitatif permettant la détection spécifique des différents anticorps dirigés contre le virus de la rubéole. Pour le recomblot Rubella IgG, du lysat de virus rubéoleux est recueilli dans des cellules Vero. Tous les antigènes spécifiques nécessaires à un diagnostic sérologique fiable sont utilisés: sE1 (58kDa), E2 (42-47kDa), protéine C de nucléocapside (66kDa) et le dimère E1-E2. Les antigènes sont séparés par une électrophorèse en gel SDS. A partir du gel, ces antigènes sont ensuite transférés par électrophorèse sur une membrane de nitrocellulose. Ces membranes sont ensuite utilisées sous forme de tests unitaires.

Le protocole d'Immunoblot a été réalisé sur deux jours successifs. Tous les réactifs ont été tempérés à une température ambiante au moins trente minutes avant le début de la manipulation. L'ensemble des procédures ont été réalisées dans l'automate Autolia selon le protocole présenté dans le tableau VIII.

Tableau VIII : Protocole de réalisation du test «Immunoblot» pour la détection spécifique des différents anticorps dirigés contre le virus de la rubéole (ImmunoBlot, MICROGEN, Allemagne)

<b>ETAPE 1 :</b> Disposition de la solution de lavage	→	<b>ETAPE 2 :</b> 01 minute d'incubation	→	<b>ETAPE 3 :</b> Dépôt des membranes puis distribution de 20µL d'échantillon	→	<b>ETAPE 4 :</b> 16 heures d'incubation	→	<b>ETAPE 5 :</b> premier lavage
								↓
<b>ETAPE 10 :</b> préparation du conjugué	←	<b>ETAPE 9 :</b> troisième lavage	←	<b>ETAPE 8 :</b> 05 minutes d'incubation	←	<b>ETAPE 7 :</b> deuxième lavage	←	<b>ETAPE 6 :</b> 5 minutes d'incubation
↓								
<b>ETAPE 11 :</b> séchage	→	<b>ETAPE 12 :</b> disposition du conjugué	→	<b>ETAPE 13 :</b> 60 minutes d'incubation	→	<b>ETAPE 14 :</b> quatrième lavage	→	<b>ETAPE 15 :</b> 05 minutes d'incubation
								↓
<b>ETAPE 20 :</b> Séchage	←	<b>ETAPE 19 :</b> 05 minutes d'incubation	←	<b>ETAPE 18 :</b> Sixième lavage	←	<b>ETAPE 17 :</b> 05 minutes d'incubation	←	<b>ETAPE 16 :</b> cinquième lavage
↓								
<b>ETAPE 21 :</b> Disposition du substrat prêt à l'emploi	→	<b>ETAPE 22 :</b> Incubation jusqu'à la coloration de toutes les bandes du contrôle positif	→	<b>ETAPE 23 :</b> distribution de la solution d'arrêt (eau distillée)	→	<b>ETAPE 24 :</b> 01 minute d'incubation	→	<b>ETAPE 25 :</b> septième lavage
								↓
<b>ETAPE 30 :</b> séchage des membranes et incubation de ces membranes pendant 2 heures à l'obscurité	←	<b>ETAPE 29 :</b> séchage	←	<b>ETAPE 28 :</b> 01 minute d'incubation	←	<b>ETAPE 27 :</b> huitième lavage	←	<b>ETAPE 26 :</b> 01 minute d'incubation

Après incubation, les différentes membranes ont été observées et interprétées en fonction des témoins négatif et positif (annexe 6).

## **II.2.2. Tests moléculaires**

### **II.2.2.1. Extraction du génome viral**

L'extraction de l'ARN viral a été effectuée sur l'automate EasyMag (bioMérieux, France). Son principe est basé sur une lyse suivie d'une purification puis d'une élution des acides nucléiques. Cette méthode comprend deux étapes: la première manuelle et la seconde automatisée.

#### **II.2.2.1.1. Etape manuelle d'extraction**

Après distribution du tampon de lyse intégré (guanidinium) dans les navettes, un volume de 200 µL de l'échantillon ont été ajoutés, puis 30 µL de contrôle interne (DRQ). Après incubation pendant 10 minutes à température ambiante, 50 µL de silice ont été ajoutés. L'ensemble a été homogénéisé avec une pipette multicanaux deux fois. Une fois le mélange obtenu, les navettes ont été insérées à l'EasyMag dans les 10 minutes qui suivaient cette préparation; c'est le début de l'étape automatisée.

#### **II.2.2.1.2. Etape automatisée d'extraction**

Après 10 minutes d'incubation, le portoir des navettes a été placé entre les aimants de capture pour capturer la silice. Il s'en est suivie une distribution des réactifs dans la navette de sorte que chaque puits ait été rempli selon la liste d'échantillons.

Lorsque la capture de silice s'est achevée, la navette s'est avancée dans la zone de mélange où un aimant secondaire a repris la capture des culots de silice grâce à un peigne qui descend dans la navette pour aspirer le liquide. Après aspiration dans la navette, le peigne a été retiré. Après capture finale de la silice, le volume des éluats des ARN purifiés est resté au fond de la navette.

Enfin le portoir de la navette a été placé de nouveau en position de capture de la silice. En utilisant des aimants de capture, la silice s'est glissée vers le haut le long de la paroi de la navette et est restée à cette position. Les extraits ont été récupérés et conservés à  $-80^{\circ}\text{C}$  avant la réaction de RT-PCR

### **II.2.2.2. Transcription inverse et amplification génique (RT-PCR)**

Les RT-PCR ont été effectuées à l'Institut Pasteur de Dakar et au CNR des Infections Rubéoleuses Materno-fœtales de Paris selon deux procédures distinctes.

#### **II.2.2.2.1. Transcription inverse et amplification génique (RT- PCR)**

##### **(Première procédure)**

Dans ce cas le MIX rubéole pour l'amplification de l'ARN est un master mix prêt à l'emploi. Après avoir homogénéisé le MIX master, 25µL de ce MIX ont été distribués suivant le schéma de plaque. A chaque puits contenant au préalable ce MIX, 25 µL de produits issus de l'extraction et contrôles ont été ajoutés suivant un schéma de plaque. La plaque a été scellée soigneusement avec un film adéquat, centrifugée puis placée dans le Real-Time PCR System. Les paramètres des cycles de la PCR en temps réel ont été de 30 minutes à +45°C, de 1 minutes à +94°C suivis de 50 cycles comportant chacun 10 secondes à +94°C, et 40 secondes à +60°C. La fluorescence mesurée pendant l'élongation, permet le contrôle du produit PCR. Le produit de la PCR à temps réel a été analysé par le logiciel Rotor-Gene<sup>R</sup> 3000 (6000).

#### **II.2.2.2.2. Transcription inverse et amplification génique (RT- PCR)**

##### **(Deuxième procédure)**

Au CNR, cette PCR en temps réel est celle utilisée dans un but diagnostic. Les amorces utilisées ont été pour l'amorce sens: 5'TGGGCTGTCAACGCCTACT3'et pour l'amorce anti-sens: 5'CGGTAGGGTGGTACTGCTT3'. La sonde utilisée a été: 5'FAM TAC GCG CAG CTG GCC TCT TAC TTC TCA ACC CTG GCG GCA GCT ACT3'. Dans le cas de la PCR en temps réel les deux mélanges MIX utilisés ont été: le MIX rubéole pour l'amplification de l'ARN des patientes et des contrôles et un MIX RICO qui est un gène cellulaire témoin d'extraction et de la qualité du prélèvement.

Concernant le mélange MIX Rubéole, une solution, contenant 12,5 µL de réaction mix 2X; 4 µL d'eau; 1 µL de chaque amorce (10µM); 0,5 µL de sonde; 0,5µL de ROX référence (dilué au 1/10) et 0,5 µL de SuperscriptTaqPlatinum a été préparée.

Pour le mélange MIX RICO, une solution contenant 14 µL de RNA IC1 Premix; 5,5 µL d'eau et 0,5 µL de SuperscriptTaqPlatinum a également été préparée.

Après avoir homogénéisé les MIX, 20 µL de MIX rubéole ont été distribués suivant le schéma de plaque. Parallèlement, 20 µL de MIX RICO ont été distribués. A chaque puits contenant au préalable l'un de ces MIX, 5 µL d'échantillons patientes et contrôles ont été ajoutés suivant un schéma de plaque.

La plaque a été scellée soigneusement avec un film adéquat puis centrifugée à 200 RCF pendant une minute. La plaque a immédiatement été placée dans l'Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR System. Les paramètres des cycles de la PCR en temps réel ont été de

15minutes à +50°C, de 2 minutes à +95°C suivis de 50 cycles comportant chacun 15 secondes à +95°C, et 40 secondes à +60°C. À la fin des 50 cycles, une étape supplémentaire dite d'élongation a été réalisée, pendant 2 minutes, à la température de +72°C. La fluorescence mesurée pendant l'élongation, permet le contrôle du produit PCR. Le produit de la PCR à temps réel a été analysé avec le logiciel ABI Prisme 7500 (AppliedBiosystems).

### **II.2.3. Analyses des données**

#### **II.2.3.1. Données démographiques, socioculturelles et socioéconomiques**

Après exploitation des questionnaires dûment remplis, les données ont été saisies dans le logiciel Excel (version 2007). A l'aide de simples tableaux à doubles entrées, les renseignements sur la répartition de nos patientes en fonction de ces données ont été obtenus. Il a été de même pour la répartition des patientes en fonction des caractéristiques cliniques, des caractéristiques de reproduction et des antécédents obstétricaux.

#### **II.2.3.2. Taux de positivité en RV-IgG et en RV-IgM**

Le test de Chi II nous a permis de comparer les fréquences de positivité en RV-IgG et en RV-IgM en fonction des données relevées ci-dessus. Le principe de ce test est de comparer la fréquence des échantillons indépendants (Bénazeth *et al.*, 2007). Les différences obtenues ont été considérées significatives lorsque la valeur de la probabilité a été inférieure à 5% ( $P < 0,05$ ), au coefficient de sécurité 95%.

La force du Chi II est appréciée à partir du calcul du V de Cramer. En effet, le Chi II indique l'existence ou non d'un lien alors que le V de Cramer indique la force du lien lorsqu'il existe (Bénazeth *et al.*, 2007).

$$V = \sqrt{\frac{\chi^2}{\chi_{max}^2}} \quad \text{avec } \chi_{max}^2 = n[\min(l, c) - 1]$$

$\chi^2$  = valeur de la statistique de  $\chi^2$

n = nombre total d'observation

c = nombre total de colonnes du tableau de contingence

l = nombre total de lignes du tableau de contingence

Le tableau IX ci-contre montre les différents niveaux d'appréciation du Chi II par la force de lien statistique du V de Cramer

**Tableau IX** : Appréciations de la force de lien statistique du V de Cramer

Valeur	Force de lien statistique
0	Absence de relation
[0,05; 0,1]	Très faible
[0,1; 0,2]	Faible
[0,2; 0,4]	Moderée
[0,4; 0,8]	Forte
[0,8; 0,2]	Colinearité

### II.2.3.3. Mesure du taux d'avidité

Le logiciel SAS nous a permis à l'aide du Coefficient de KAPPA d'établir le rapport existant entre les différentes appréciations du niveau d'avidité et la datation de l'infection. Le principe de ce test est de mesurer l'accord entre observateurs lors d'un codage qualitatif en catégories (Bénazeth *et al.*, 2007). En outre le Chi II a permis de comparer le taux d'avidité à la présence ou pas d'avortements spontanés. Le Chi II a également permis de déterminer l'association entre l'âge et l'indice d'avidité. Le traitement des données pour la mesure du taux d'avidité a été réalisé par le logiciel informatique Epi Info 6.

### II.2.3.4. Confirmation par immunoblot

Les fiches de résultats sont présentées à l'annexe 6. Le Coefficient Phi a été employé pour mesurer l'association entre les différents anticorps spécifiques du virus de la rubéole. Le principe du Coefficient Phi est axé sur la mesure d'association entre deux variables qualitatives distinctes à deux modalités (Bénazeth *et al.*, 2007).

## **CHAPITRE III: RESULTATS ET DISCUSSION**

### III.1. Résultats

Les femmes incluses dans l'étude étaient nées entre le 22 août 2000 (13 ans) et le 3 février 1972 (41 ans). Ces patientes étaient des étudiantes, des ménagères, des enseignantes et des personnels de santé. Elles représentaient différentes tranches d'âge, venaient de divers horizons de la ville et présentaient des niveaux d'instruction différents. Cette diversité de la population étudiée, peut donner une idée sur la séroépidémiologie de la rubéole au Cameroun.

#### III.1.1. Données démographiques

##### III.1.1.1. La tranche d'âge

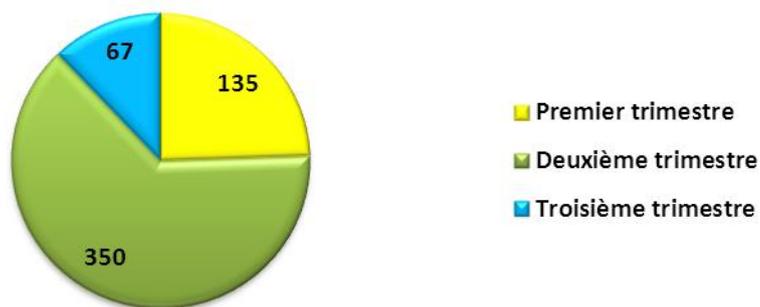
Cette étude a porté sur 552 femmes enceintes venues en consultation prénatale dans deux centres hospitaliers de la ville de Yaoundé. L'âge moyen des patientes a été de 24,1 ans avec un minimum de 13 ans et un maximum de 41 ans. La tranche d'âge comprise entre 21 et 28 ans a été la plus représentée avec 309 patientes soit 56% de la population étudiée ( $P < 0,0001$ ) (Tableau X).

**Tableau X** : Répartition des patientes par tranche d'âge

TRANCHE D'AGE	EFFECTIF	FREQUENCE (%)
13-20	115	20,8
21-28	309	56,0
29-36	107	19,4
37-44	21	3,8
TOTAL	552	100,0

##### III.1.1.2. Le trimestre de grossesse

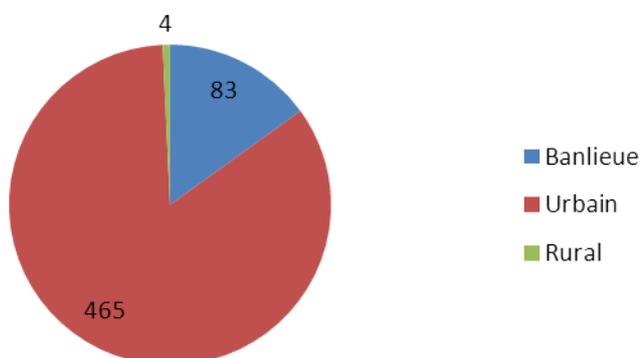
L'âge gestationnel moyen au moment des prélèvements chez les patientes incluses a été de 18,8 SA avec un minimum de 4 SA et un maximum de 37 SA. Lors des prélèvements, plus de la moitié des femmes avaient un âge gestationnel compris entre 13 et 24 SA ( $P < 0,0001$ ) correspondant au deuxième trimestre de la grossesse (Figure 9).



**Figure 9:** Répartition de la population d'étude en fonction du trimestre de grossesse.

### III.1.1.3. Le lieu de résidence

Les patientes participant à l'étude résidaient en majorité (84,24%) en zone urbaine (ville de Yaoundé); une minorité en zone rurale (0,72%) et dans les banlieues (15,04%) de la ville de Yaoundé (Figure 10). Une différence statistiquement significative a été observée entre les patientes vivant en zone urbaine ( $P < 0,0001$ ) comparées à celles vivant en zone rurale et en Banlieue.



**Figure 10:** Répartition des patientes en fonction du lieu de résidence.

### III.1.2. Données socioéconomiques

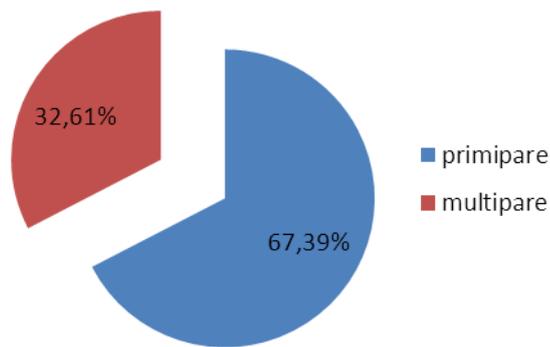
Parmi les patientes incluses dans l'étude, 344 (62,3%) étaient des employées de bureau, 200 (36,2%) des ménagères et 8 (1,5%) des personnels de santé ( $P < 0,0001$ ). Le niveau d'étude de chaque patiente a également été recueilli afin d'établir un éventuel rapport entre le niveau d'étude, la connaissance sur la rubéole et le taux de séropositivité pour le virus de la rubéole. Ainsi, des 552 patientes, 10 (1,8%) n'avaient pas été scolarisées, 50 (9%)

avaient un niveau d'études primaires, 432 (78,3%) un niveau d'études secondaires et 60 (10,9%) un niveau d'étude supérieur ( $P < 0,0001$ ).

Concernant la connaissance sur la rubéole, on a observé que seules 22 patientes soit 3,98% connaissaient la rubéole contrairement à 530 (96%) qui n'avaient jamais entendu parler de cette maladie ( $P < 0,0001$ ). Des 22 patientes qui avaient des connaissances sur la rubéole, une (4,54%) avait un niveau d'éducation primaire; 14 (63,63%) avaient un niveau secondaire et 07 (31,82%) étaient universitaires.

### III.1.3. Parité

Les patientes incluses ont été multipares dans la majorité des cas (372/552) correspondant à un pourcentage de 67,39%. On a observé une différence statistiquement significative entre ces multipares ( $P < 0,0001$ ) et les primipares qui représentaient 32,61% (180/552) (Figure 11).



**Figure 11:** Répartition de la population d'étude en fonction de la parité.

### III.1.4. Caractéristiques cliniques

La présence ou l'absence de deux signes cliniques de la rubéole a été renseignée: la fièvre et une éruption maculopapuleuse (Tableau XI). Ainsi, des 552 patientes incluses dans notre étude, 104 (18,8%) ont eu de la fièvre au moment du prélèvement ( $38,5^{\circ}\text{C}$  à  $40^{\circ}\text{C}$ ), 161 (29,2%) ont présenté une éruption maculopapuleuse ( $P < 0,0001$ ). Un total de 48 (8,7%) patientes ont présenté de la fièvre conjointement à l'éruption.

**Tableau XI : Répartition des patientes en fonction des caractéristiques cliniques**

Indicateurs	Effectif	Fréquence (%)
<b>Fièvre</b>		
Présence	104	18,84
Absence	448	81,16
Total	552	100,0
<b>Eruptions maculopapulaires</b>		
présence	161	29,2
absence	391	70,8
Total	552	100,0
<b>Fièvre et Eruptions conjointement</b>		
Présence	48	8,7
Absence	504	91,3
Total	552	100,0

**III.1.5. Antécédents obstétricaux**

Les antécédents obstétricaux recueillis étaient principalement le nombre d'avortements spontanés, le nombre d'enfants vivants et le nombre éventuel d'enfants morts à la naissance. Parmi les patientes incluses dans l'étude: 137 avaient eu des antécédents d'avortements spontanés soit un pourcentage de 24,8%; 343 (62,1%) avaient 1 à 3 enfants vivants; 29 (5,3%) avaient 4 à 6 enfants vivants (Tableau XII) et 25 (4,5%) avaient perdu 1 à 2 enfants à la naissance. Une différence statistiquement significative a été observée entre les patientes ayant eu 1 à 3 enfants vivants comparées à celles n'ayant pas eu d'enfants vivants ( $P < 0,0001$ ).

**Tableau XII : Distribution des patientes en fonction des caractéristiques de reproduction**

Indicateurs	Effectif	Fréquence (%)
<b>Avortement spontané</b>		
Aucun	415	78,2
1-3	137	24,8
Total	552	100,0
<b>Enfants vivants</b>		
Aucun	180	32,6
1-3	343	62,1
4-6	29	5,3
Total	552	100,0

### III.1.6. Résultats sérologiques

#### III.1.6.1. Recherche des RV-IgG

##### III.1.6.1.1. Evaluation de la séroprévalence pour la rubéole avec deux techniques de recherche des IgG anti-rubéoleuses.

La séroprévalence des RV dans la population d'étude a été évaluée à l'aide de deux techniques: la technique immunoenzymatique microparticulaire automatisée (sur Architect System Abbott Diagnostics®) et la technique immunoenzymatique en microplaque (Siemens Enzygnost Healthcare®). Au total, la recherche des RV-IgG a été effectuée sur 552 échantillons de sérums recueillis et répartis comme suit: 400 échantillons des femmes chez qui nous n'avons effectué qu'un seul prélèvement et 152 patientes chez qui les prélèvements ont été effectués deux fois à l'écart de deux semaines.

A l'aide de la technique immunoenzymatique microparticulaire automatisée, la proportion des patientes séropositives a été de 91,30% (504/552) (tableau XIII). Le taux de patientes séronégatives et celui des femmes ayant un résultat équivoque en RV-IgG ont été respectivement de 4,53% (25/552) et de 4,17% (23/552) ( $p < 0,0001$ ).

A l'aide de la technique immunoenzymatique en microplaque, la proportion de patientes séropositives a été de 91,67% (507/552) (tableau XIII). Le taux de patientes séronégatives et celui des patientes à résultat équivoque en RV-IgG ont été respectivement de 4,35% (24/552) et de 3,98% (22/552) ( $p < 0,0001$ ).

**Tableau XIII** : Séroprévalence des RV-IgG en fonction du réactif utilisé.

Réactif	Architect		Siemens	
	Effectif	Fréquence (%)	Effectif	Fréquence (%)
Positif	504	91,30	506	91,67
Négatif	25	4,53	24	4,35
Equivoque	23	4,17	22	3,98
Total	552	100	552	100

##### III.1.6.1.2. Titre des anticorps IgG antirubéoliques par la technique Architect

Le dépistage sérologique systématique au cours des premières consultations prénatales a pour objectif de déterminer le statut immunitaire de la femme enceinte. Les titres d'anticorps supérieurs à 80UI/mL ont été plus représentatifs (40,4%). Le tableau XIV ci-contre représente les titres des anticorps IgG de toutes les patientes.

**Tableau XIV** : Titre des anticorps IgG antirubéoliques par la technique Architect

Titre	Effectif	Fréquence (%)
RV-IgG<10UI/mL	49	8,88
10< RV-IgG<40 UI/mL	136	24,64
40< RV-IgG<80 UI/mL	144	26,08
RV-IgG>80UI/mL	223	40,4

Légende: UI: Unité Internationale; mL: millilitre

### III.1.6.1.3. Etude comparative entre la technique immuno-enzymatique microparticulaire automatisée et la technique immuno-enzymatique en microplaque.

Nous avons évalué les résultats obtenus à l'aide des deux techniques immuno-enzymatiques pour la détection des RV-IgG. Au total, 545 (98,73%) patientes ont présenté des résultats concordants, c'est-à-dire ont eu les mêmes interprétations du titre des RV-IgG par la technique Architect et par la technique Siemens. Cependant nous avons obtenu 7 (1,26%) cas de discordance (tableau XV) ( $p < 0,0001$ ).

**Tableau XV** : Cas de discordances entre la technique immuno-enzymatique microparticulaire automatisée et la technique immuno-enzymatique en microplaque.

	Architect N	Architect E	Architect P
Siemens N	0/7	0/7	1/7
Siemens E	1/7	0/7	1/7
Siemens P	1/7	3/7	0/7

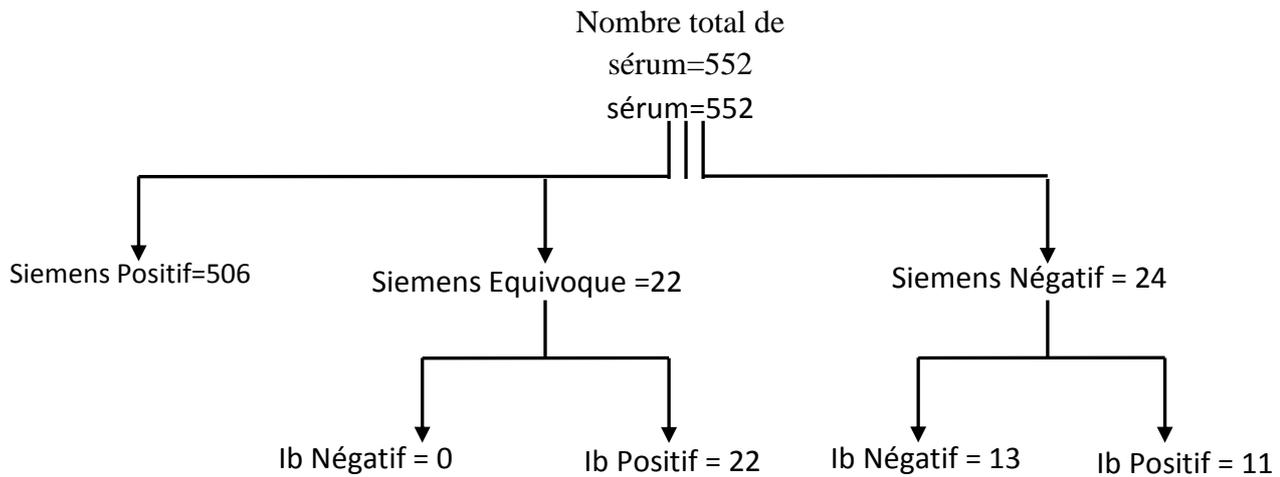
Légende : N: Négatif

E: Equivoque

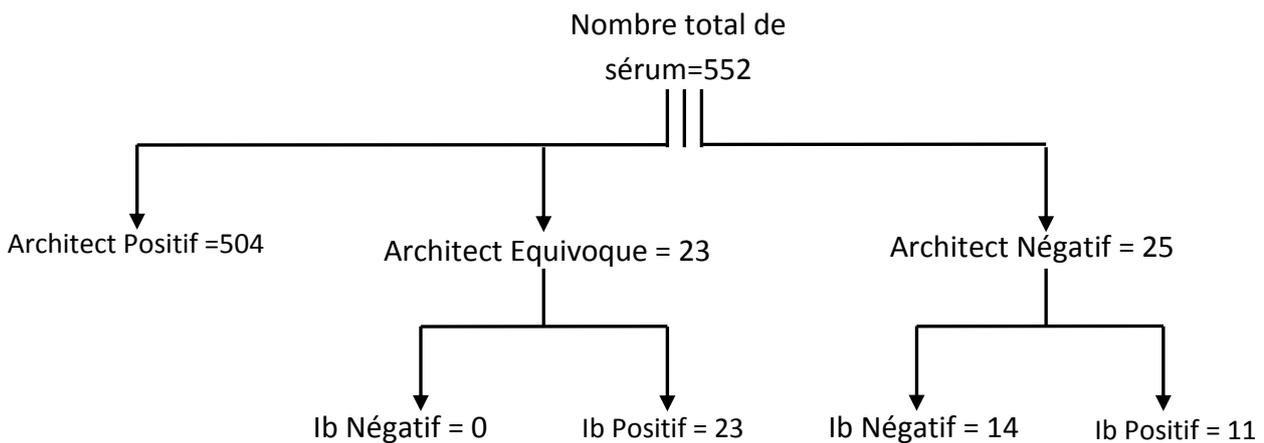
P: Positif

### III.1.6.1.4. Exploration des sérums RV-IgG équivoques et négatifs avec l'une ou l'autre techniques par immunoblot.

Afin de conclure sur le statut sérologique réel des patientes qui avaient un résultat équivoque en RV-IgG avec l'un ou l'autre des réactifs utilisés, nous avons procédé à un test de confirmation dénommé «immunoblot». Nous avons également effectué des tests immunoblot chez des patientes qui avaient un résultat négatif en RV-IgG avec l'un ou l'autre des réactifs utilisés. Au total, tous les sérums dont les résultats étaient négatifs et équivoques aux RV-IgG ont été analysés par immunoblot. Les figures 12 et 13 ci-dessous montrent les résultats obtenus après confirmation par immunoblot.

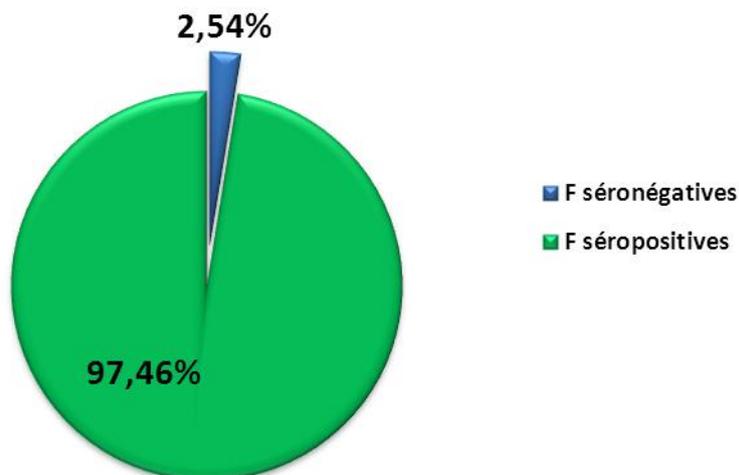


**Figure 12:** Résultats d’Immunoblot à partir des sérums RV-IgG négatifs ou équivoques sur Siemens  
 Légende : Ib :Immunoblot.



**Figure 13:** Résultat d’Immunoblot à partir des sérums RV-IgG négatifs ou équivoques sur Architect  
 Légende : Ib : Immunoblot

Au total, 14 patientes (2,54%) ont été réellement séronégatives contre 538 (97,46%) qui ont été séropositives ( $P < 0,0001$ ) (Figure 14). Ainsi, 14 (2,54%) patientes étaient susceptibles d’être infectées par le virus de la rubéole au cours de la présente grossesse. Nous avons noté qu’à partir des deux techniques, tous les sérums dont les résultats ont été équivoques en RV-IgG ont été positifs en immunoblot.



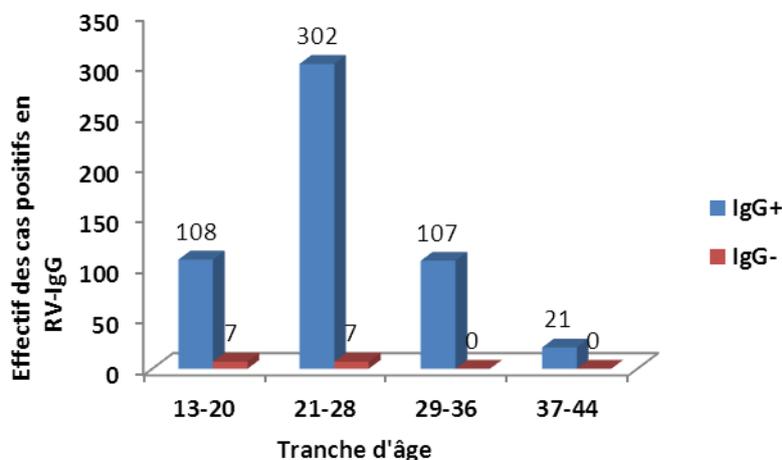
**Figure 14:** Proportion des femmes en fonction de leur statut sérologique en RV-IgG.

### III.1.6.1.5. Détermination du statut immunitaire

Le dosage RV-IgG sur la première sérologie permet de déterminer le statut immunitaire des patientes. A partir du test de confirmation d'immunoblot, nous avons conclu qu'au total, 538 (97,46%) patientes ont été immunisées. Le pourcentage des patientes non immunisées a été de 2,54% ( $P < 0,0001$ ).

### III.1.6.1.6. Séropositivité des RV-IgG en fonction de l'âge

Dans toutes les tranches d'âge, les RV-IgG ont été retrouvées avec une prédominance dans la classe d'âge de 21 à 28 ans (54,71%) suivie de celle de 13 à 20 ans (19,56%) et de celle de 29 à 36 ans (19,38%) (Figure 15). L'on a observé une différence statistiquement significative de positivité entre la tranche d'âge de 21 à 28 ans et les autres tranches d'âge ( $p = 0,02$ ) ( $V = 0,1297$ ).



**Figure 15:** Séroprévalence des RV-IgG par tranche d'âge.

### III.1.6.1.7. Séropositivité des RV-IgG en fonction du trimestre de grossesse.

Le deuxième trimestre a été celui au sein duquel l'on a obtenu le taux le plus élevé de séropositivité en RV-IgG correspondant à un pourcentage de 61,78% suivi du premier trimestre représentant un pourcentage de 24,09% (Figure 16). L'on n'a cependant pas observé de différence significative entre le deuxième trimestre et les autres trimestres de grossesse ( $p=0,44$ ).

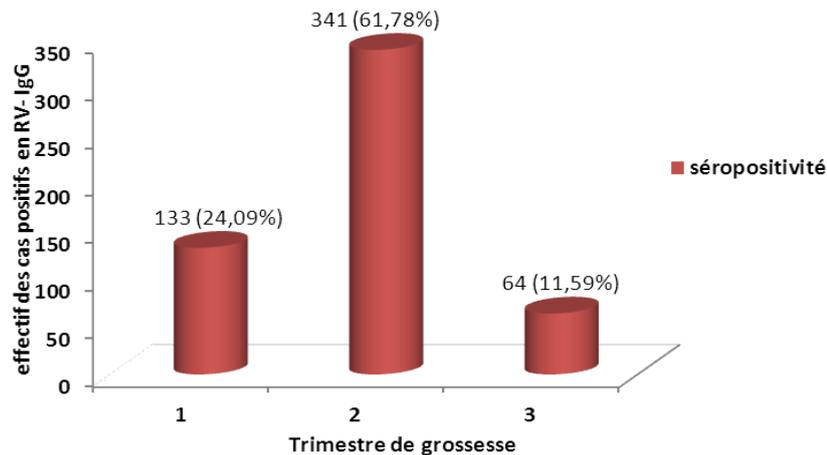


Figure 16: Séroprévalence des RV-IgG par trimestre de grossesse.

### III.1.6.1.8. Séropositivité des RV-IgG en fonction du niveau d'étude

Considérant le niveau d'étude, la plus grande prévalence a été obtenue chez les femmes ayant un niveau secondaire (418/552) soit un pourcentage de 75,72%. Les séropositivités obtenues chez les femmes ayant un niveau supérieur et chez celles ayant un niveau primaire ont été respectivement de 10,87% (60/552) et de 9,06%. Dix patientes non scolarisées ont été positives aux RV-IgG soit un pourcentage de 1,81% (Figure 17). Ainsi 95,65% (528/552) de femmes séropositives aux RV-IgG ont été scolarisées ( $P=0,26$ ).

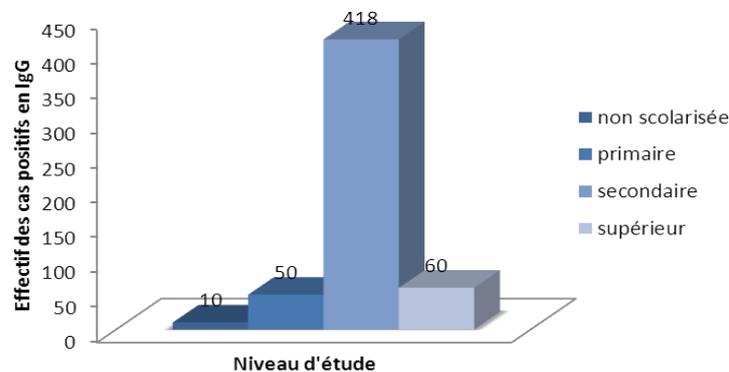


Figure 17: séroprévalence des RV-IgG par niveau d'étude.

### III.1.6.1.9. Séropositivité des RV-IgG en fonction du nombre d'avortements spontanés

Parmi les 552 patientes que comprend notre étude, 137 ont eu des antécédents d'avortements spontanés. Des 137 patientes ayant eu des avortements spontanés, 135 (98,54%) ont été positives aux RV-IgG ( $p < 0,0001$ ) ( $V = 0,3121$ ). L'on a observé que la séropositivité en RV-IgG (77,77%) a été plus élevée chez les femmes ayant eu un seul avortement spontané suivi de celles ayant eu deux avortements ( $p < 0,0001$ ) (Figure 18).

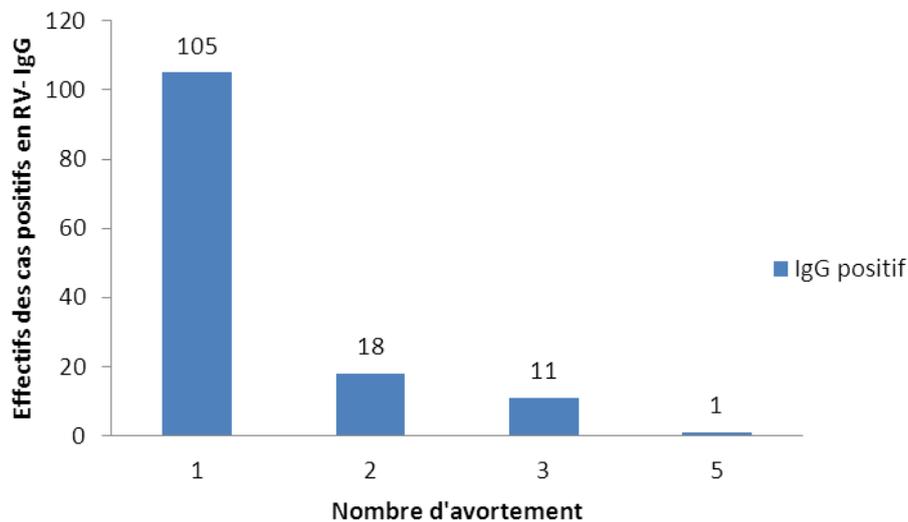


Figure 18: Séroprévalence des RV-IgG par nombre d'avortements spontanés.

### III.1.6.1.10. Séropositivité des RV-IgG en fonction du nombre d'enfant perdus

Toutes les 25 patientes ayant perdu au moins un enfant ont été positives aux RV-IgG avec une prédominance chez les patientes ayant perdu un seul enfant (20/25) soit un pourcentage de 80% suivi de celles ayant perdu 2 enfants (5/25) représentant un pourcentage de 20% ( $p > 0,05$ ) (Figure 19).

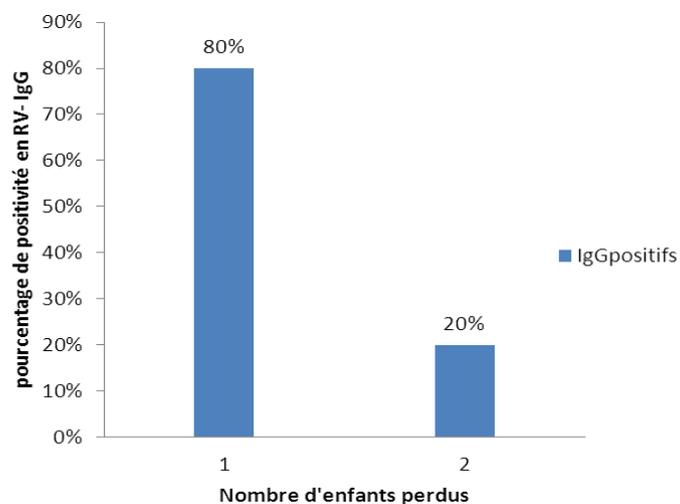


Figure 19: Séroprévalence des RV-IgG par nombre d'enfants perdus.

### III.1.6.1.11. Séropositivité des RV-IgG en fonction du lieu de résidence

Les patientes résidant en zone urbaine ont eu un taux de séropositivité en RV-IgG plus élevé (453/552) avec un pourcentage de 82,07%, suivies de celles résidant en banlieue (81/552) correspondant à 14,67% et de celles résidant en zone rurale (4/552) représentant un pourcentage de 0,72% avec une différence statistique non significative ( $p=0,94$ ) (Figure 20).

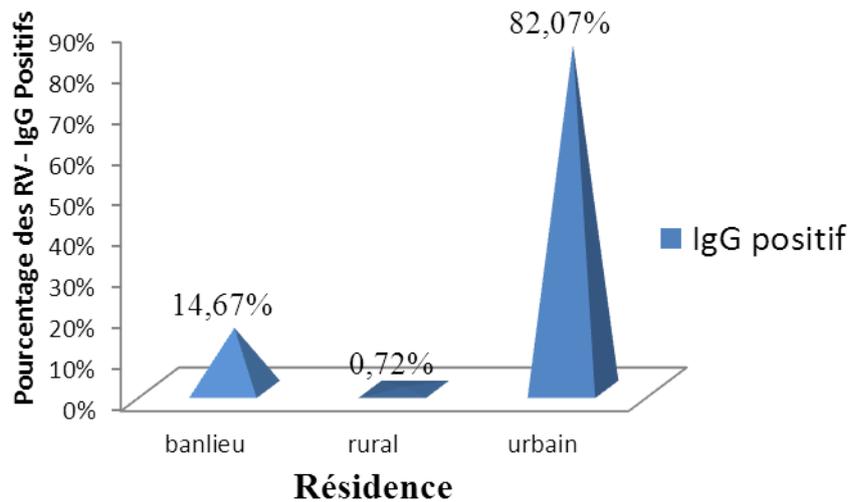


Figure 20: Séroprévalence des RV-IgG en fonction du lieu de résidence.

### III.1.6.1.12. Séropositivité des RV-IgG en fonction de la parité

Les patientes multipares ont eu un taux de séropositivité en RV-IgG plus élevé (68,03%) suivies de celles primipares (31,97%) avec une différence statistiquement significative ( $P<0,0001$ ) ( $V=0,1027$ ) (Figure 21).

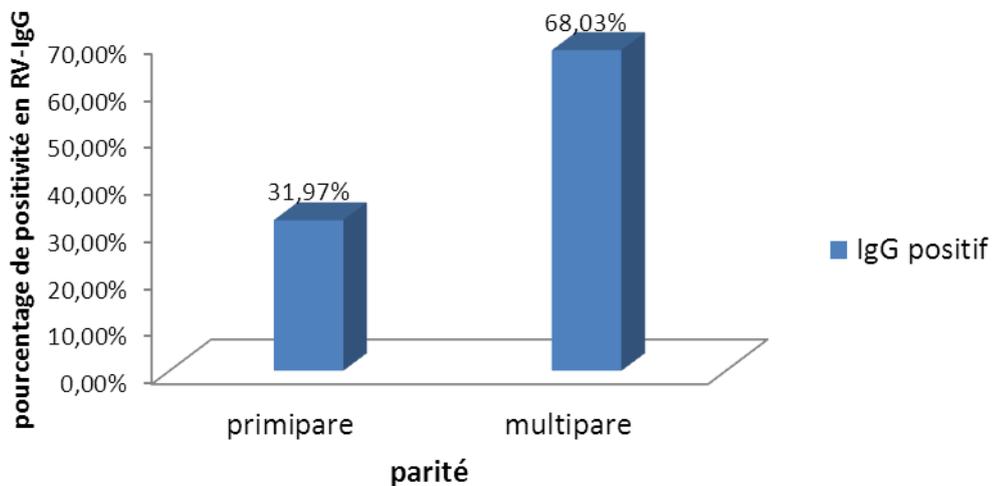


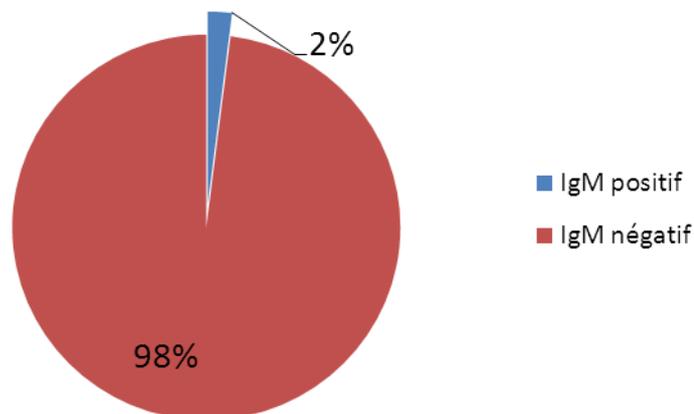
Figure 21: Séroprévalence des RV-IgG par parité.

### III.1.6.1.13. Répartition des patientes séropositives en fonction du type d'anticorps

Des 48 patientes dont les sérums ont été testés sur immunoblot, 36 (75%) ont eu au moins l'un des anticorps E1-E2, C, E1 et E2; 2 (4,16%) ont eu à la fois les anticorps anti-E1, l'anti E2, les antiE1-E2 et l'anti C; 10 (20,83%) ont eu uniquement les anti-E1. Une seule patiente (2,083 %) a uniquement eu les anti-E2. Au total 20,83% des patientes ont été immunisées protégées et 2,083% des patientes ont été immunisées sans anticorps protecteurs anti-E1 (Voir annexe 6 pour photos de différents profils). Les patientes qui ont présenté des anticorps anti-E1 dans leur profil ont été considérées comme immunisées.

### III.1.6.2. Analyse des résultats obtenus pour les RV-IgM

La présence des RV-IgM est très importante car elle permet de renseigner sur une éventuelle infection récente et sur la décision de faire une avidité des RV-IgG. Au total, des 552 patientes incluses dans cette étude, 11 (2%) ont été positives en RV-IgM, susceptibles de faire une infection récente contre 541 (98%) qui ont été négatives ( $P < 0,0001$ ) (Figure 22). Tous les cas positifs en RV-IgM l'ont également été en RV-IgG.



**Figure 22:** Proportion des patientes en fonction de leur statut sérologique en RV-IgM.

Le dosage des RV-IgG et celui des RV-IgM sur la première sérologie permettent de suspecter une primo-infection rubéoleuse récente. Au total il a donc été trouvé pour le premier prélèvement 538 (97,46%) patientes séropositives en RV-IgG et 11(2%) séropositives en RV-IgM. Le tableau XVI ci-contre illustre les cas de positivité en RV-IgM comparativement au titre d'anticorps sériques pour les RV-IgG.

**Tableau XVI** : Indice des RV-IgM en fonction des titres de RV-IgG

N° Anonymat	Titre d'IgG (UI/mL)	Interprétation du résultat sérologique	Indice d'IgM	Interprétation du résultat sérologique
76	100,7	positif	1,26	positif
91	67	positif	4,07/	positif
227	264,4	positif	1,25	positif
237	95,6	positif	1,32	positif
248	20,9	positif	2,61	Positif
267	84,4	positif	1,58	positif
279	13,7	positif	2,43	Positif
312	113,9	positif	2,58	Positif
373	40	positif	1,69	Positif
543	53,7	positif	2,62	Positif
551	92,1	positif	2,03	positif

Légende:

Seuil de positivité aux RV-IgG: 10UI/mL

Seuil équivoque aux RV-IgG: compris entre 5,0 et 9,9 UI/mL

Seuil de positivité aux RV-IgM: 1,6

Seuil équivoque aux RV-IgM: compris entre 1,20 et 1,60; les cas équivoques en RV-IgM ont été considérés positifs.

**III.1.6.2.1. Séropositivité des RV-IgM par signes cliniques évocateurs et en fonction du trimestre d'apparition des éruptions maculopapulaires.**

Les signes cliniques évocateurs et le trimestre de grossesse au cours duquel il y'a apparition des éruptions maculopapulaires peuvent renseigner sur la clinique de la patiente. Nous avons obtenu les résultats suivants : Des 11 patientes qui ont eu des indices d'IgM supérieurs à la valeur seuil, 2 (18,18%) ont eu de la fièvre, 4(36,36%) ont présenté des éruptions maculopapulaires et 2 (18,18%) ont présenté conjointement les deux symptômes. Le tableau XVII ci-dessous présente le profil clinique de trois patientes à signes cliniques évocateurs.

**Tableau XVII** : Profil clinique des patientes à signes cliniques évocateurs

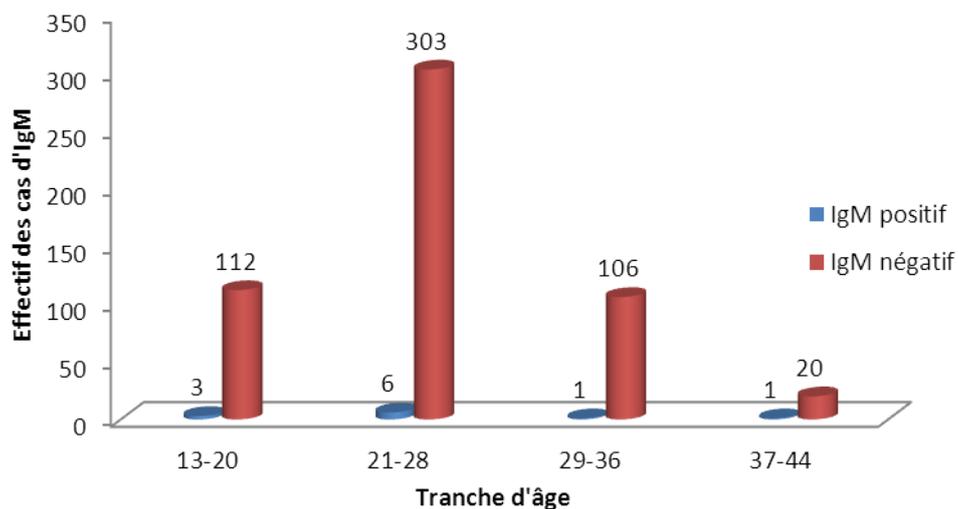
Indice d'IgM	Présence d'éruptions maculopapulaires	Trimestre d'apparition des éruptions maculopapulaires	Trimestre de grossesse de la patiente (SA)	Age de la grossesse (SA)	Présence de la fièvre
4,07	oui	2	2	24SA	non
2,43	oui	1	1	5SA	oui
1,32	oui	1	1	8SA	oui

Légende : SA : Semaine d'Aménorrhée

Il ressort de ce tableau qu'une patiente à indice d'IgM très élevé (4,07) a eu des éruptions maculopapulaires pendant son deuxième trimestre de grossesse. Cette dernière n'a cependant pas eu de fièvre. Deux patientes ont présenté conjointement les deux symptômes et ceux-ci lors de leur premier trimestre de grossesse à 5 et 8 semaines d'aménorrhées.

### III.1.6.2.2. Séropositivité des RV-IgM par tranche d'âge

La classe d'âge au sein de laquelle l'on a obtenu plus de séropositivité en RV-IgM a été celle de 21 à 28 ans soit 54,54%. Les classes d'âge ayant le moins de cas positifs en RV-IgM ont été celles de 29 à 36 ans et de 37 à 44 ans ne représentant qu'un pourcentage de 9,1% chacune (Figure 23). On a observé une différence statistiquement significative de séropositivité en RV-IgM entre les patientes âgées de 21 à 28 ans comparées à celles âgées de 37 à 44 ans ( $p=0,2$ ).



**Figure 23:** Pourcentage de cas de positivité pour les RV-IgM par tranche d'âge.

### III.1.6.2.3. Résultats de la sérologie RV-IgM par parité et par nombre d'avortements spontanés

En tenant compte de la parité, la séroprévalence en RV-IgM a été plus élevée chez les patientes multipares représentant un pourcentage de 72,73% (8/11) suivie des primipares correspondant à 27,27% (3/11). Les femmes n'ayant pas eu d'avortements spontanés sont celles chez qui les cas de RV-IgM positifs ont été les plus retrouvés (72,72%) ( $P<0,05$ ).

### III.1.6.3. Mesure de l'avidité des RV-IgG

La datation de l'infection repose sur la mesure de l'indice d'avidité. Pour différencier entre une infection récente postconceptionnelle susceptible d'infecter le fœtus et une infection

antéconceptionnelle, une confirmation par le test d'avidité a été effectuée. L'avidité des RV-IgG ne peut être mesurée si la concentration des IgG est trop faible. La présence des RV-IgM est généralement synonyme de primo-infection. Les critères permettant de mesurer l'avidité ont été les suivants: Chez toutes les patientes ayant un résultat positif en RV-IgM et en RV-IgG, l'avidité a été mesurée. Pour toutes les patientes dont l'indice d'IgM a été supérieur ou égal à un avec des RV-IgG positifs, la mesure d'avidité a été effectuée. Un total de 21 sérums a été examiné à cet effet et les résultats sont présentés dans le tableau XVIII ci-dessous.

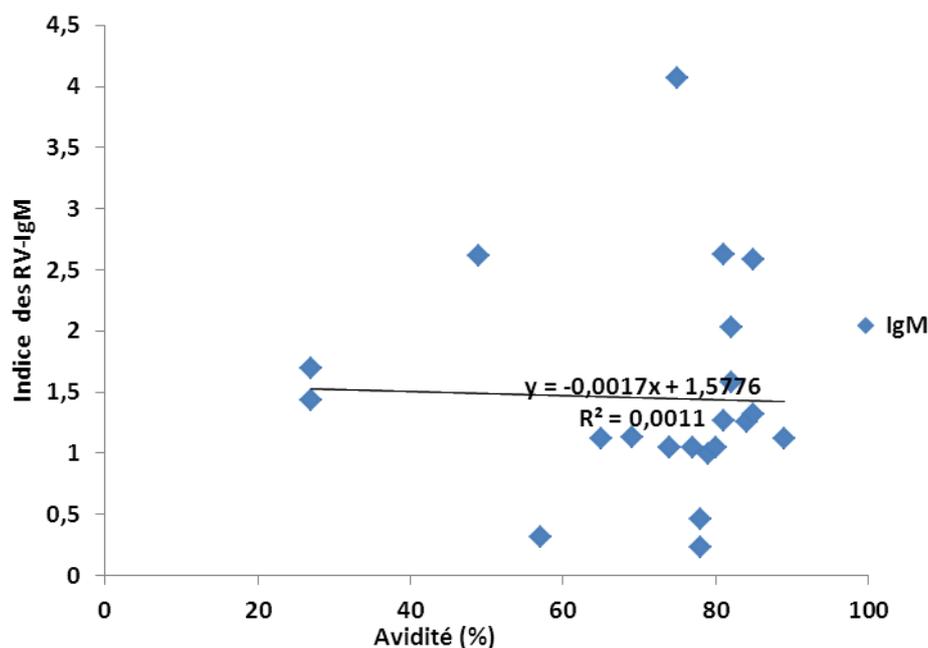
**Tableau XVIII :** Résultat du test d'avidité des RV-IgG chez les patientes avec suspicion de rubéole.

	Effectif	Indice d'avidité des RV-IgG		
		<50%	50-70%	70-90%
IgM(+)IgG(+)	7	3	3	15
IgM(>1)IgG(+)	14	14,28%	14,28%	71,43%

Légende : IgM (+) : IgM positif ; IgG (+): IgG positif

La figure 24 ci-dessous nous montre plusieurs résultats obtenus en fonction de l'Indice des RV-IgM. Ainsi, nous avons observé un cas de très faible avidité (Pourcentage d'avidité=27%) avec un indice de RV-IgM inférieur à la valeur seuil (Indice=1,43; la valeur seuil étant à 1,6). L'on a noté deux cas de faible avidité (<50%) avec des indices de RV-IgM supérieur à la valeur seuil (1,69 et 2,61 respectivement). En outre, une relation proportionnelle entre la présence des RV-IgM et le taux d'avidité a été décelée ( $y = -0,001x + 1,577$ ;  $r^2 = 0,001$ ).

L'on a également noté plusieurs cas de forte avidité (>90%) corrélant avec des indices de RV-IgM faibles, inférieurs à la valeur seuil. Un seul cas dont l'indice de RV-IgM a été très élevé a présenté une avidité élevée.



**Figure 24:** Avidité des RV-IgG et indice des RV-IgM sériques.

#### III.1.6.4. Avidité des RV-IgG en fonction de la présence ou non des signes cliniques et des avortements spontanés

Nous avons obtenu deux cas de faible avidité (tableau XIX, anonymat 248 et 373) avec des indices d'IgM supérieurs à la valeur seuil, 7(33,33%) cas positifs en RV-IgM avec des avidités élevées ( $p < 0,0001$ ). Deux (tableau XIX, anonymat 237 et 267) de ces sept cas ont présenté des signes cliniques.

Il ressort de ce tableau qu'une patiente (tableau XIX, anonymat 279) a eu un résultat positif aux RV-IgG et aux RV-IgM, et une très faible avidité. Cette dernière a également eu de la fièvre et des éruptions maculopapuleuses. La même patiente a antérieurement eu un avortement spontané avec un indice d'IgM très élevé (tableau XX).

**Tableau XIX** : Avidité des RV-IgG en fonction de la présence ou non des signes cliniques

N° Anonymat	Parité et SC	Âge(année)	Age gestationnel (S)	Résultat IgM	Résultat IgG	Interprétation de l'avidité
71	Multipare, pas SC	25	21S	négatif	positif	Modérée
76	Multipare, pas SC	38	25S	positif	positif	Elevée
91	Multipare, éruptions	28	24S	positif	positif	modérée
138	Multipare, pas SC	30	12S	négatif	positif	modérée
148	Multipare, éruptions	20	20S	négatif	positif	Elevée
172	Multipare, éruptions	21	09S	négatif	positif	modérée
178	Multipare, éruptions	22	12S	négatif	positif	modérée
219	Multipare, pas SC	25	24S	négatif	positif	modérée
227	Multipare, pas SC	29	12S	positif	positif	Elevée
237	Multipare, fièvre, éruptions	25	08S	positif	positif	Elevée
247	Primipare, pas SC	26	18S	négatif	positif	Modérée
248	Primipare, pas SC	21	25S	positif	positif	Faible
251	Primipare, fièvre	25	09S	négatif	positif	Elevée
267	Primipare, éruptions	17	24S	positif	positif	Elevée
279	Multipare, fièvre, éruptions	20	05S	positif	positif	Faible
312	Multipare, pas SC	23	24S	positif	positif	Elevée
344	Multipare, pas SC	24	22S	négatif	positif	Elevée
373	Primipare, pas SC	18	14S	positif	positif	Faible
543	Primipare, pas SC	28	10S	positif	positif	Elevée
544	Multipare, éruptions	23	25S	négatif	positif	Elevée
551	Multipare, pas SC	24	19S	positif	positif	Elevée

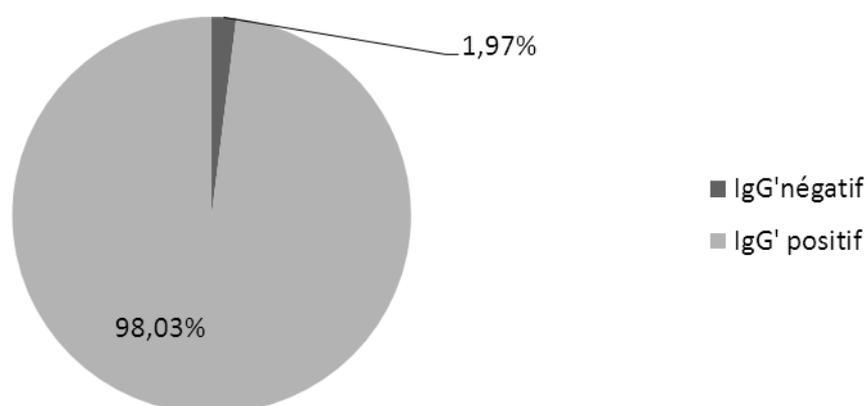
Légende : SC : signes cliniques      S : semaine

**Tableau XX** : Indice des RV-IgM et avidité des RV-IgG vis-à-vis du nombre d'avortements spontanés.

N° d'anonymat	Titre et indice		Age (Année)	Nombre d'avortement	Age gestationnel (SA)	Pourcentage d'avidité (%)
	d'IgG	d'IgM				
237	95,6	1,32	21-28	1	8	85
247	13,5	0,31	21-28	3	18	57
279	13,7	2,43	13-20	1	5	27
373	40	1,69	13-20	1	14	27

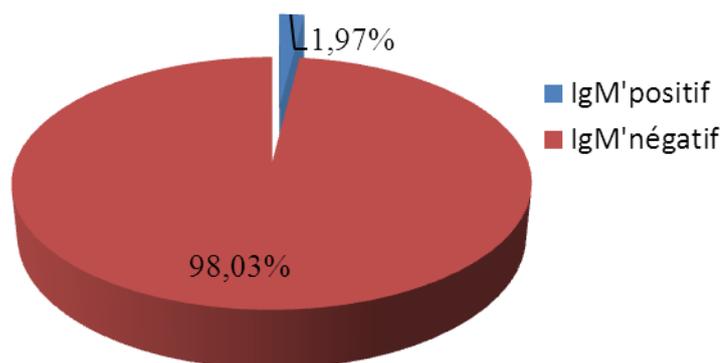
#### II.1.6.4. Séropositivité des RV-IgG' et des RV-IgM' du deuxième échantillonnage

Dans le but de procéder à un suivi de nos patientes, un second échantillonnage a été effectué chez un groupe de patientes. Des 552 patientes, 152 ont été prélevées deux fois en l'espace de deux semaines pour vérification des cas de séroconversions. Au total des 152 échantillons, nous avons obtenu un pourcentage de 98,03% en RV-IgG' positifs et 1,97% en RV-IgG' négatifs de cette deuxième cohorte (Figure 25). Le pourcentage des cas positifs en RV-IgM' a été de 1,97% et celui des RV-IgM' négatifs de 98,03% ( $p < 0,0001$ ) (Figure 26).



**Figure 25**: Proportion des femmes en fonction de leur statut sérologique en RV-IgG'.

Légende : RV-IgG' : anticorps dirigés contre le virus de la rubéole pour le deuxième échantillonnage.



**Figure 26:** Proportion des femmes en fonction de leur statut sérologique en RV-IgM'.

### III.1.6.5. Séroconversion et avidité

La séroconversion est définie comme un changement de statut sérologique chez la même patiente qui est testée deux fois de suite sur différents échantillons (en l'espace de 15 jours). A la lumière de ces résultats nous avons pu conclure à 3 cas (1,97%) de séroconversion. Les tableaux XXI, XXII et XIII suivants montrent les trois cas cliniques de séroconversion obtenus.

**Tableau XXI :** Cas clinique N° 1: séroconversion

Date de prélèvement	IgG Architect	Blot	IgM Architect	Avidité(%)
27 janvier 2015	Equivoque (5,7UI/ml) Seuil : 10UI/ ml)	Positif	Négatif (0,35)	90
10 février 2015	Positif (128,2UI/ ml))	Positif	Négatif (0,29)	98

**Tableau XXII :** Cas clinique N° 2: Séroconversion

Date	IgG Architect	Blot	IgM Architect	Avidité
30 janvier 2015	Equivoque (9,3UI/ ml)	Positif	Négatif (0,58)	57
13 février 2015	Positif (149,2UI/ ml)	Positif	Négatif (0,8)	Non effectuée (sérum insuffisant)

Légende : Non effectuée: en raison des volumes de sérum devenus très petits après plusieurs tests, il a été impossible de réaliser l'avidité chez certaines patientes.

**Tableau XXIII** : Cas clinique N° 3: séroconversion

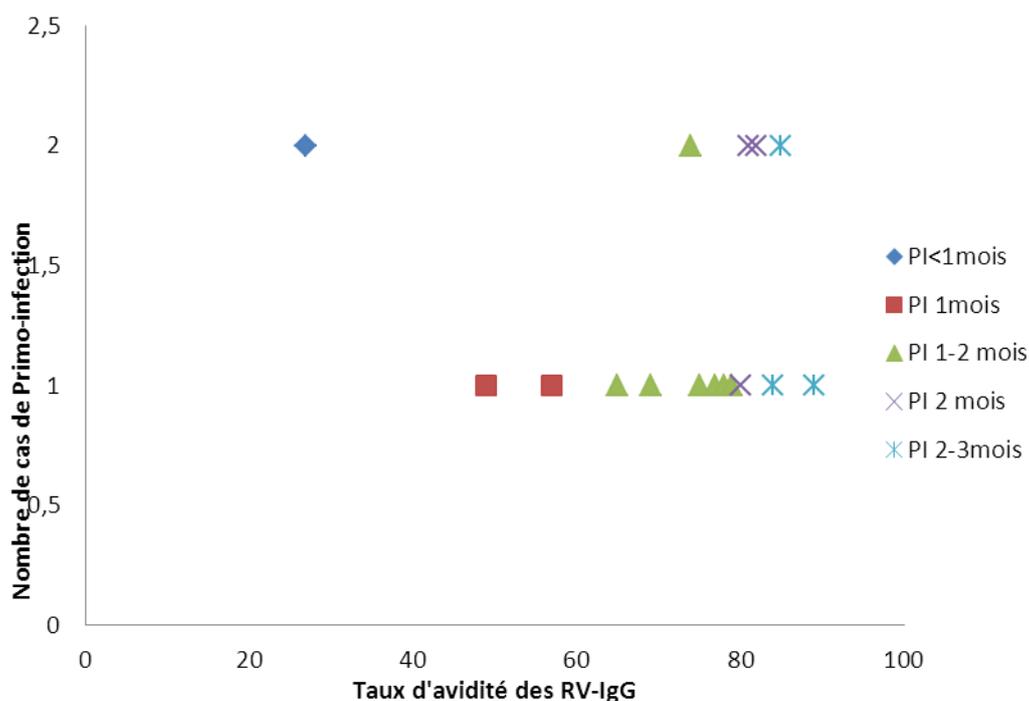
Date	IgG Architect	Blot	IgM Architect	Avidité
3 février 2015	Equivoque (9,9UI/ ml)	Positif	Négatif (0,63)	Non effectuée (sérum insuffisant)
17 février 2015	Positif (74,5UI/ ml)	Positif	Négatif (0,39)	Non effectuée (sérum insuffisant)

Légende: Non effectuée: en raison des volumes de sérum devenus insuffisants après plusieurs tests rendant la mesure de l'avidité impossible chez certaines patientes.

### III.1.6.6. Primo-infections

#### III.1.6.6.1. Primo-infection en fonction de la date de l'infection

A partir de la figure 27 ci-dessous, nous pouvons dater nos primo-infections. Ainsi, les patientes ayant des taux d'avidité à 27 ont présenté une primo-infection inférieure à un mois. Celles ayant des taux d'avidité de 49 à 57 ont présenté une primo-infection datant d'un mois. Les patientes ayant des taux d'avidité de 65 à 79 ont présenté une primo-infection datant d'un à deux mois. Celles ayant des taux d'avidité de 80 à 82 ont présenté une primo-infection datant de deux mois et enfin celles ayant des taux d'avidité de 84 à 89 ont présenté une primo-infection datant de deux à trois mois.



**Figure 27**: Taux d'avidité des RV-IgG et datation de l'infection.

### III.1.6.6.2. Primo-infection en fonction du taux d'avidité

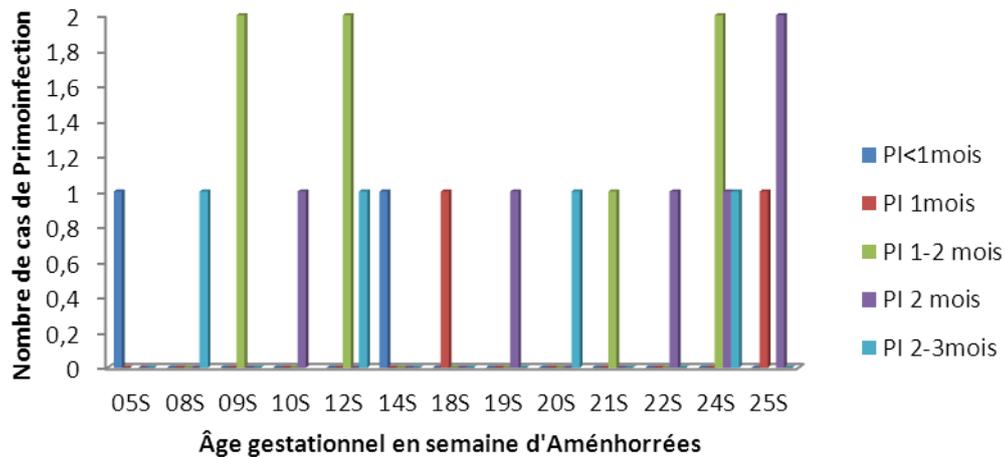
Les résultats des avidités ont permis de conclure quant au type d'infection que présentaient les différentes patientes. Ainsi des 21 patientes dont les échantillons ont été testés à l'avidité, 4 (19%) cas de faibles avidités avec des indices d'IgM positifs correspondant à des cas d'infections récentes ont été révélés. Le tableau XXIV ci-contre présente ces différents cas.

**Tableau XXIV** : Infections récentes obtenus après mesure du taux d'avidité

Anonymat	Parité et SC	Age (année)	Age gestationnel	Résultat IgM	Résultat IgG	Avidité
91	Multipare, éruptions	28	24S	positif	positif	Modérée
248	Primipare, pas SC	21	25S	positif	positif	Faible
279	Multipare, fièvre, éruptions	20	05S	positif	positif	Faible
373	Primipare, pas SC	18	14S	positif	positif	Faible

### III.1.6.6.3. Primo-infection en fonction de l'âge gestationnel

La figure 28 ci-contre montre quelques cas de primo-infections susceptibles d'entraîner des conséquences plus ou moins graves chez le fœtus. Un cas de primo-infection inférieure à un mois chez une patiente dont l'âge gestationnel est de cinq semaines d'aménorrhées (5SA). Deux cas de primo-infection datant d'un à deux mois chez des patientes dont l'âge gestationnel est de douze semaines d'aménorrhées. Un cas de primo-infections datant de moins d'un mois, chez une patiente dont l'âge gestationnel est de 14SA. ( $P < 0,05$ ).

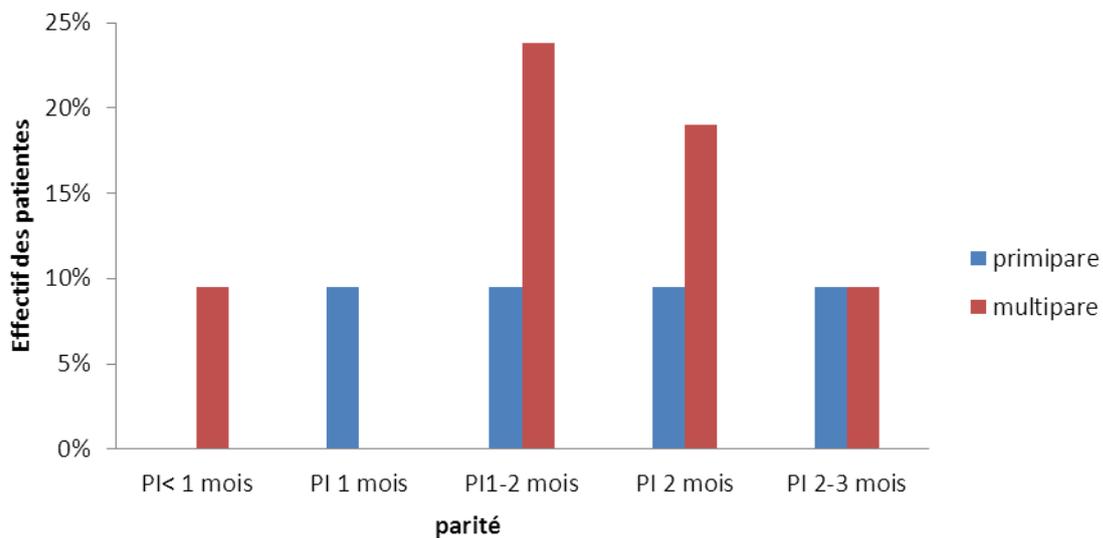


**Figure 28:** Nombre de Cas de primo-infection et âge gestationnel.

Légende: PI: Primo-infection

#### III.1.6.6.4. Primo-infection en fonction de la parité

La grande majorité de patientes qui ont fait une primo-infection datant d'un à deux mois, suivie d'une primo-infection de deux mois représentant des pourcentages respectifs de 23,80% et de 19,04% ont été multipares (Figure 29). Seules les patientes primipares ont fait une primo-infection datant d'un mois correspondant à un pourcentage de 9,52% ( $P < 0,05$ ).

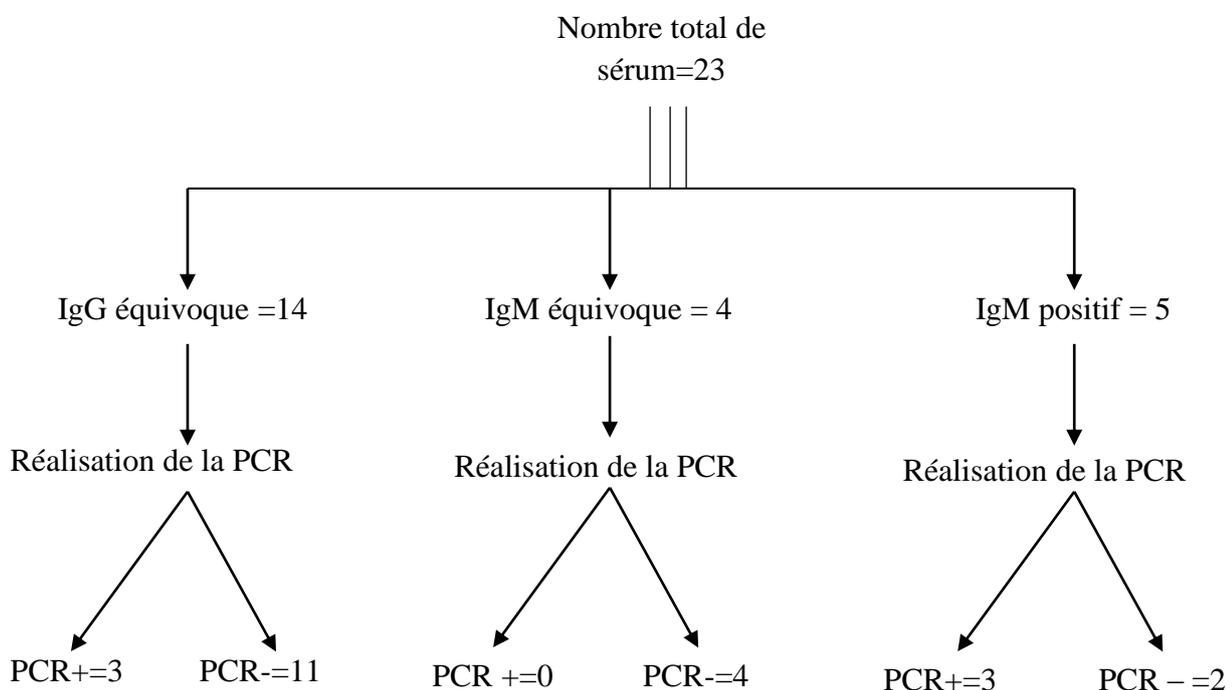


**Figure 29:** Cas d'infections récentes par parité.

### III.1.7. Résultats moléculaires

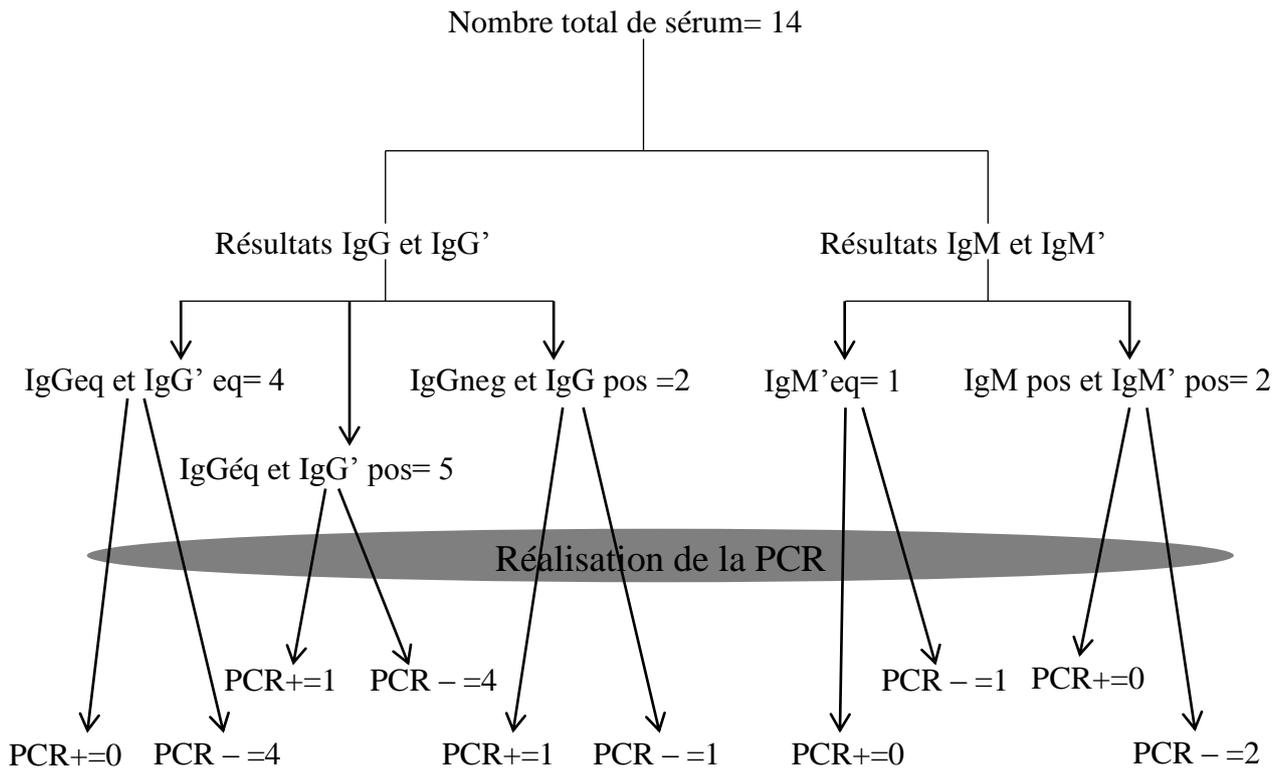
#### III.1.7.1. Conditions requises pour la réalisation de la PCR

Plusieurs critères ont été pris en compte quant au choix effectué pour la réalisation de la PCR dans le but de détecter l'ARN viral dans les sérums testés. Ces critères ont varié selon qu'on soit au premier échantillonnage ou au deuxième. Ainsi, tous les échantillons dont les résultats ont été équivoques en RV-IgG, RV-IgM et positifs en RV-IgM ont été testés à la PCR. Les organigrammes ci-dessous indiquent les conditions requises pour la réalisation de la PCR dans notre étude (Figures 30 et 31).



**Figure 30:** Conditions requises pour la réalisation de la PCR lors du premier échantillonnage.

Légende : PCR+ : PCR positive ; PCR-:PCR négative



**Figure 31:** Conditions requises pour la réalisation de la PCR lors du deuxième échantillonnage.

Légende : eq : équivoque; pos : positif ;neg : négatif

Il ressort des organigrammes ci-dessus que sur 37 sérums testés, 8 (21,62%) ont été positifs à la PCR contre 29 (78,38%) négatifs ( $p < 0,0001$ ). Ces cas positifs correspondent à plusieurs profils obtenus en fonction des titres de RV-IgG, de RV-IgM et du taux d'avidité élucidés précédemment.

### II.1.7.2. Détection du génome viral par PCR

Au total, 8 (21,62%) patientes ont été positives à la PCR avec des valeurs seuils représentés dans le tableau XXV ci-contre.

**Tableau XXV :** Résultats de la PCR

N° Anonymat	CT	Interprétation des résultats
03	25,1(seuil : 23,5)	Positif
91	26,2 (seuil : 23,8)	Positif
112	28,4(seuil : 23,5)	Positif
247	25,2 (seuil : 23,8)	Positif
279	24,7 (seuil : 23,5)	Positif
373	26,2 (seuil : 23,8)	Positif
452	28,1 (seuil : 23,8)	Positif
471	26,2 (seuil : 23,8)	Positif

Légende: CT correspond au nombre de cycle effectué que l'on interprète en fonction de celui de la valeur seuil

### III.1.8. Confirmation des véritables cas de primo-infection à l'aide de l'avidité et de la PCR

Des 8 patientes dont l'ARN viral a été retrouvé dans les sérums (PCR positives), 3(37,5%) ont été positives aux RV-IgM avec des indices respectifs de 4,07; 2,43 et 1,69. De même, la mesure de l'avidité des RV-IgG chez ces dernières a montré des taux d'avidité de 75, 27 et 27% respectivement. Une patiente a présenté conjointement les deux signes cliniques évocateurs d'une infection à la rubéole. En outre, ces patientes étaient à un âge gestationnel à risque de développement du SRC chez leur fœtus en cas de contamination. Les profils de ces patientes sont représentés dans le tableau XXVI ci-contre.

**Tableau XXVI:** Cas de Primo-infections récentes avec risque de SRC

N° Anonymat	IgM	Interprétation	IgG	Interprétation	fièvre	Eruption	SA	PCR	Avidité	Primo-infection
91	4,07	positif	67	positif	non	oui	24SA	positif	75	risque moindre de SRC
279	2,43	positif	13,7	positif	oui	oui	5SA	positif	27	risque élevé de SRC
373	1,69	positif	40	positif	oui	non	14SA	positif	27	risque élevé de SRC

### III.1.9. Probabilité de Stimulation polyclonale

La stimulation polyclonale ne peut être prouvée que si l'avidité est élevée. De plus la PCR se doit d'être négative dans ce cas; ce qui a été observé dans notre étude (tableau XXVII). Nous avons ainsi obtenu deux cas où les RV-IgM ont été positifs sur les deux échantillons prélevés en l'espace de deux semaines et dont la PCR s'est avérée négative. Ces 2 cas ont été considérés comme des cas de stimulation polyclonale du système immunitaire. Les profils de ces patientes sont représentés dans le tableau XXVII ci-après.

**Tableau XXVII :** Positivité en RV-IgM et Stimulation polyclonale

Patiente	IgM	IgG	IgM'	IgG'	avidité	PCR	conclusion
P1	2,62 (p)	53,7 (p)	2,4 (p)	60,4 (p)	81	Négatif	Stimulation polyclonale du SI
P2	2,03 (p)	92,1 (p)	1,88 (p)	108,3 (p)	82 (p)	Négatif	Stimulation polyclonale du SI

Légende: SI: Système Immunitaire

### III.1.10. Infections probables avec RV-IgM fugaces

Des 8 patientes dont l'ARN viral a été retrouvé dans les sérums (PCR positives), 5 (62,5%) ont été négatives aux RV-IgM bien que la PCR ait été positive dans tous ces cas ( $p < 0,0001$ ). Ainsi, tous les 3 cas ci-dessous représentés ayant une avidité modérée ont été considérés comme des cas d'infection probables avec RV-IgM fugaces. Les profils de ces patientes sont représentés dans le tableau XXVIII ci-dessous.

**Tableau XXVIII:** Cas de positivité en PCR et RV-IgM fugaces

Anonymat	RV-IgM	Interprétation	SA	Avidité	PCR	conclusion
003	0,16	négatif	32SA	60	positif	IgM fugace
247	0,31	négatif	18SA	57	Positif	IgM fugace
471	0,44	négatif	19SA	60	positif	IgM fugace

### III.1.11. Réinfection

Nous avons obtenu un seul cas de figure dont les conclusions se sont avérées être celles d'une réinfection (Tableau XXIX). Bien qu'on soit parti d'un statut sérologique équivoque en RV-IgG à un statut positif, laissant croire à une séroconversion, l'absence des RV-IgM, l'obtention d'une avidité modérée sur le premier prélèvement et la PCR positive nous ont orienté vers une réinfection.

**Tableau XXIX:** Réinfection avec avidité modérée sur le premier prélèvement

Prélèvement	IgG	IgM	PCR	Blot	Avidité	conclusion
30 janvier 2015	Equivoque (9,8UI/mL)	Négatif (0,44)	Positif	Positif	60	Réinfection
13 février 2015	Positif (24,1 UI/mL)	Négatif (0,59)	Positif	Positif	83	

## III.2. Discussion

### III.2.1. Séroprévalence des RV-IgG chez les femmes enceintes au Cameroun

L'importance de l'infection rubéoleuse, généralement bénigne voire asymptomatique, réside dans ses effets tératogènes chez le fœtus. En effet lors d'une primo-infection au virus de la rubéole pendant le premier trimestre de la grossesse, le risque d'avortement spontané

augmente d'environ 50%. Les manifestations du SRC chez les enfants survivants peuvent être transitoires (par exemple purpura), permanentes et structurelles, comportant entre autres un risque de surdité, de cardiopathie, ou encore de cataracte; ces manifestations peuvent aussi être à début différé, les enfants peuvent développer un diabète sucré quelques années après leur naissance. Une surdité de perception peut être consécutive à une infection maternelle jusqu'à la 18<sup> me</sup> SA, tandis que la cataracte et les cardiopathies ne surviennent que si l'infection par le virus de la rubéole est antérieure à la 9<sup> me</sup> SA (Miller *et al.*, 1982). L'un des intérêts du diagnostic sérologique est d'aider à la détermination du statut immunitaire vis-à-vis de la rubéole chez les femmes enceintes, ainsi que le diagnostic d'une primo-infection. Les techniques Architect et Siemens sont faciles à mettre en œuvre. Ce sont des techniques validées sur les prélèvements sériques mais aussi sur d'autres types de prélèvement biologiques tels que les écouvillonnages oraux. En outre, la technique immunoblot permet de confirmer des cas équivoques (Kolawole *et al.*, 2014).

La sérologie de la rubéole est indiquée chez les immunodéprimés, chez les enfants, chez les femmes en âge de procréer et surtout chez les femmes enceintes. Pour documenter la rubéole au Cameroun, une étude de la séroprévalence des anticorps IgG anti-rubéole qui s'est déroulée du 1<sup>er</sup> Juillet 2012 au 30 décembre 2016 et qui a englobé 552 femmes enceintes habitant le milieu rural, le milieu urbain (Yaoundé) et ses banlieues, a été entreprise. Ainsi, il s'est avéré que sur un total de 552 sérums, la recherche des RV-IgG a révélé 538 (97,46 %) cas positifs. Cette séropositivité est similaire à celles rapportées au Burkina Faso et au Nigéria (95% et 93,1%) en 2013 et en 2015 respectivement (Tahita *et al.*, 2013; Okikiola *et al.*, 2015). Ce taux si élevé de séropositivité serait dû à une circulation continue et à l'endémicité de la rubéole au sein du Continent Africain en général et au Cameroun en particulier. En outre, toutes les femmes incluses dans l'étude ont affirmé n'avoir jamais reçu de vaccin contre la rubéole. Cette forte prévalence pourrait ainsi suggérer la présence du virus de type sauvage (WHO, 2000; Stegmann and Carey, 2002; Dwyer *et al.*, 2001). Aussi, le fait que d'une part l'étude se déroule dans des centres hospitaliers et que d'autre part la plupart des femmes vivent en zone urbaine favoriserait cette forte prévalence. En effet, ceci s'explique par l'aisance avec laquelle le virus se propage chez les populations vivant en zone urbaine. Ceci pourrait également être la résultante d'une sélection de nos patientes excluant les femmes qui ne venaient pas en consultation prénatale. Les études antérieures menées chez différentes populations ont révélé des pourcentages de RV-IgG allant de 53 à 95% (Onakewhor and Chiwuzie, 2011; Mwambe *et al.*, 2014; Okikiola *et al.*, 2015; Tahita *et al.*, 2013). La séroprévalence des RV-IgG à plus de 90% dans les pays où il n'ya pas de programme de

vaccination fait penser à une immunité endémique (Onakewhor and Chiwuzie, 2011). Nous ne pouvons cependant pas conclure que nos cas obtenus découlent d'une immunité endémique puisque quelques données uniquement à l'échelle régionale sont disponibles au Cameroun. L'infection naturelle à rubella virus est suivie d'un taux élevé de protection accompagnée d'une réinfection. Cependant, la réinfection peut survenir sans symptômes et pose un risque mineur pour le fœtus (CDC, 2000).

Dans les pays industrialisés, des prévalences beaucoup plus importantes ont été obtenues grâce aux multiples programmes de vaccination (Nardone *et al.*, 2008). Au Cameroun, un programme de vaccination de l'adolescente et des femmes séronégatives en post-partum immédiat n'a pas encore été instauré, il est donc probable que les taux de réceptivité à la rubéole soient plus importants durant les prochaines décennies. Toutefois, le risque d'infection persiste chez les femmes n'ayant pas bénéficié de programme vaccinal dans l'enfance et le dépistage systématique de la rubéole durant la grossesse doit être instauré pour prévenir la rubéole congénitale. Les femmes qui ont été séronégatives en RV-IgG et qui correspondent à 2,54% ne sont pas immunisées contre cette infection rubéolique. Ce pourcentage correspond au taux de réceptivité à la rubéole dans cette étude. Cette réceptivité est proche de celle décrite chez la femme enceinte au Mozambique il y'a une dizaine d'année (4,7%) (Barreto *et al.*, 2006), mais moins élevée que celle rapportée en 2010 (9%) à Yaoundé au Cameroun (Fokunang *et al.*, 2010). En effet, le pourcentage de femmes susceptibles de s'infecter a chuté au fil des ans. En l'absence de données épidémiologiques de la maladie, il est difficile de savoir si cela reflète une augmentation de la circulation du virus sauvage. Cette faible réceptivité est probablement liée à l'amélioration des conditions socioéconomiques au fil des années d'une part et accentue l'hypothèse d'une endémicité prononcée dans notre pays d'autre part; rendant ainsi difficile la surveillance de la rubéole. Ces femmes séronégatives seraient donc susceptibles de se contaminer au cours de la présente grossesse.

Si on compare les résultats obtenus dans cette étude à ceux d'autres pays n'ayant pas introduit la vaccination systématique contre la rubéole, la proportion de séronégativité en RV-IgG est légèrement inférieure à celle trouvée dans certains pays: Ainsi, à Haiti 95,2% de la population a déjà rencontré le virus avec un taux de séronégativité en RV-IgG de 4,8% (Desinor *et al.*, 2004); en Turquie, le taux de séronégativité est de 20,3% (Yavuz *et al.*, 2008); au Burkina Faso et au Sénégal, 95,0 et 96,2% des femmes enceintes sont immunisées correspondant à des taux de séronégativité respectifs de 5% et 3,8% (Dromigny *et al.*, 2003 ; Tahita *et al.*, 2013). Comme l'importance de l'infection à la rubéole réside dans ses effets tératogènes chez le fœtus, il est recommandé de pratiquer un dépistage prénatal (car 50% des rubéoles sont

asymptomatiques), une surveillance échographique, et un diagnostic prénatal, complété par une immunisation post-partum des femmes non immunisées. Par contre, les chiffres les plus élevés de séronégativité en RV-IgG atteignant les 40% ont été rapportés au Congo et en Thaïlande (Cutts *et al.*, 2000; Zanga *et al.*, 2017). En dehors de la différence des stratégies vaccinales, cette variabilité des séroprévalences de la rubéole est certainement due à plusieurs facteurs, dont le niveau socioéconomique et la densité des populations. Toutefois, il est à noter que dans un pays donné, au fur et à mesure que le niveau socioéconomique s'améliore, l'âge de la primo-infection recule et la proportion des filles qui arrivent à l'âge de procréation en étant encore séronégatives augmente en parallèle avec l'incidence du SRC (Cutts *et al.*, 1997). C'était le cas des pays industrialisés avant qu'ils n'introduisent la vaccination anti-rubéole.

Plus de 200 patientes ont eu un résultat positif en RV-IgG avec des titres supérieurs à 80 UI/ml. Ce titre si élevé des anticorps peut être décrit chez les sujets préalablement immunisés, lors d'une réinfection que lors d'une stimulation polyclonale non spécifique du système immunitaire. Seulement, nous ne pouvons parler de réinfection que s'il existe en plus, une notion de contagion. De plus nous avons trouvé des nombres très élevés de femmes ayant des titres d'anticorps inférieurs à 80 UI/ml et supérieurs à 10 UI/ml. La variabilité individuelle est extrême et dépend de la réponse immunitaire. Il n'y a donc pas de norme en matière de titre d'anticorps rubéoliques, ce n'est pas «une constance biologique» (Picone et Grangeot-Keros, 2005).

Dans toutes les tranches d'âge, les immunoglobulines G ont été retrouvées avec une prédominance dans la classe d'âge de 21 à 28 ans qui regroupait 54,71% des cas. Ceci serait dû au fait que ce soit la tranche d'âge la plus rencontrée en consultation prénatale donc c'est la tranche d'âge la plus surveillée. Etant donnée que la femme se soucie de son état de santé à cet âge car il s'agit le plus souvent de l'âge à la première grossesse. Contrairement à l'étude menée en 2010 à Yaoundé par Fokunang *et al.*, la séropositivité ne croit pas avec l'âge. Ce qui suggère une forte endémicité du virus de la rubéole dans cette région en particulier et au Cameroun en général.

Le deuxième trimestre a été celui au sein duquel le taux de séropositivité en RV-IgG a été le plus élevé, suivi du premier trimestre. Ce résultat corrobore ceux de Agbede *et al.* et de Okikiola *et al.* au Nigéria (Agbede *et al.*, 2011; Okikiola *et al.*, 2015). Ce résultat montre que la quasi-totalité des femmes du second trimestre est immunisée; pour cela leurs bébés ne risquent pas de développer les symptômes du SRC. Cette forte prévalence au deuxième trimestre de grossesse pourrait également s'expliquer par le fait qu'en Afrique, la quasi-

totalité des femmes se présente en consultation prénatale pour la première fois durant leur quatrième et cinquième mois de grossesse correspondant au deuxième trimestre de grossesse.

La plus forte prévalence en RV-IgG (75,72%) retrouvée chez les patientes ayant un niveau secondaire serait due à leur niveau scolaire pas très élevé. De plus, la grande majorité des patientes de notre étude avait un niveau scolaire secondaire. Ce résultat corrobore celui de Jumaid *et al* au Nigéria qui avaient également trouvé une prévalence plus élevée chez les femmes enceintes du niveau secondaire (Junaid *et al.*, 2011). Malgré que la majorité de nos patientes ait un niveau secondaire et supérieur, le taux de connaissance et de transmission de la rubéole était relativement très bas. Cette faible connaissance a également été observée dans une étude au Nigéria (Okikiola *et al.*, 2015). Ceci pose un réel problème; la connaissance d'une maladie et de son mode de transmission est importante dans la prévention et dans le contrôle de cette dernière. De plus, les filles mieux éduquées viennent des niveaux sociaux plus aisés où le suivi médical et donc la vaccination sont mieux effectués. Cette remarque vient accentuer l'hypothèse selon laquelle la vaccination reste le seul moyen efficace de prévention contre le virus de la rubéole.

Bien que la majeure partie des patientes qui participaient à cette étude avaient des enfants vivants, 137 (24,8%) ont dit avoir eu des avortements spontanés qui auraient dû avoir lieu lors de l'organogénèse. Au regard de la relation entre la présence d'avortement spontané et la prévalence de la rubéole, nous avons observé que, des 137 patientes qui ont eu des avortements spontanés, 135 (98,54%) étaient positives aux RV-IgG. Ce résultat montre que les avortements spontanés seraient la résultante de l'infection à la rubéole pour celles qui ont présenté une avidité faible. En effet, le virus de la rubéole passe chez le fœtus lors de la virémie via le placenta (NIP, 2002). Les dommages causés chez le fœtus entraînent une multiplication intense du virus et ainsi une mort rapide chez certaines cellules avec persistance de l'infection virale chez d'autres (Onyenekwe *et al.*, 2000). Cependant, étant donné que l'étude était faite sur une courte période, il est difficile de dire si la survenue du titre d'anticorps précède ou suit la présence d'avortement. Généralement, le virus de la rubéole joue un rôle important dans la survenue des avortements spontanés dans la population étudiée (Best *et al.*, 2005). Cette proportion non négligeable (135/137) de femmes ayant eu des avortements spontanés et positives aux RV-IgG montre très probablement qu'il y'a des cas de rubéole ignorés, et cela est dû à un manque d'informations et de documentations y relatives. Cependant, les patientes ayant eu des taux d'avidité faibles synonymes de primo-infections, auraient pour cause principale d'avortements spontanés des origines (biologiques ou chimiques) autres que le virus de la rubéole (Olajide *et al.*, 2014). Les femmes vivant en

milieu urbain ont été plus atteintes (84,24%) que celles vivant en milieu rural (0,72%). Ceci corrobore deux études faites au Burkina-Faso et en Ethiopie qui ont révélé une séropositivité en RV-IgG plus élevée chez les femmes enceintes vivant en zone urbaine (Tahita *et al.*, 2013; Mitiku *et al.*, 2011). Cette forte séropositivité pourrait être due à la forte densité des populations en zone urbaine favorisant ainsi une grande aisance dans la propagation dudit virus dans cette zone. En effet, le virus de la rubéole se propage par l'intermédiaire de contacts interhumains directs, par voie respiratoire (Picone et Grangeot-Keros, 2005).

La prévalence d'un taux de RV-IgG à 63,03% retrouvée chez les multipares a été plus élevée que 31,97% obtenue chez les primipares. Ceci corrobore l'idée selon laquelle l'immunité augmente avec le nombre de grossesses (Bukbuk *et al.*, 2002 ; Junaid *et al.*, 2011). Les multipares auraient été contaminées par leurs enfants aînés qui ont fait la rubéole; Ainsi les femmes les plus à risque sont celles qui sont enceintes de leur deuxième enfant. La faible prévalence obtenue chez les primipares les laisse moins susceptibles à la rubéole et suggère que leurs fœtus risquent de ne pas développer un SRC car n'ayant pas été contaminée par un enfant malade.

Les symptômes cliniques rapportés par les patientes sont une description de l'infection à rubella virus à plusieurs stages de la pathogénicité (WHO, 2007). Bien que la fièvre soit moins observée chez les patientes, une prédominance des cas d'éruptions maculopapulaires a été obtenue conformément aux études antérieures qui ont montré que la majorité des symptômes de rubéole peuvent être confuses aux maladies similaires avec éruptions causées par d'autres pathogènes viraux et non viraux courants ou par certains médicaments (Hobman et Chantler., 2007). Cependant, le diagnostic clinique ne prouve pas toujours la présence de la rubéole, ainsi observée dans le cas de cette étude. Ceci confirme l'évidence d'une infection au virus de la rubéole au-delà des symptômes cliniques comme observé chez les femmes enceintes dont le sérum est testé positif pour les RV-IgM mais sans symptômes cliniques évocateurs (Dontigny *et al.*, 2008). Les premières données du statut immunitaire vis-à-vis du virus de la rubéole des femmes enceintes rapportés sur le taux de protection, retrouvées dans cette étude ont été de 97,46%, donc immunisées contre la rubéole. L'origine de cette immunisation peut être vaccinale ou infectieuse. Au total, 14 (2,54%) femmes enceintes n'étaient pas immunisées contre la rubéole, c'est un taux relativement faible mais qui reste proche de celui fixé par l'OMS qui est inférieur ou égal à 5% (OMS, 2010). Prenant compte du fait que toutes les patientes aient déclaré n'avoir pas été vaccinées et du fait que le vaccin contre le virus de la rubéole n'est pas obligatoire et introduit dans le calendrier vaccinal national, l'immunité de ces femmes serait d'origine naturelle (OMS, 2010).

### **III.2.2. Prévalence des RV-IgM et datation de l'infection par mesure de l'avidité des RV-IgG chez les femmes enceintes au Cameroun**

Au total, des 552 patientes incluses dans cette étude 11(2%) ont été positives en RV-IgM. Une infection rubéoleuse était probablement en cours chez ces dernières et aurait eu lieu au moins 10 jours plus tôt. Ce qui indique possiblement une primo-infection récente; cette dernière représente pour les bébés de ces femmes enceintes un grand risque d'embryofoetopathie infectieuse connues sous le nom de Syndrome de Rubéole Congénitale (SRC), pouvant avoir des conséquences tératogènes sur le fœtus (Hobman et Chantler, 2007). Par contre la présence des RV-IgM n'est pas toujours synonyme de primo-infection puisqu'elles sont parfois présentes lors de la réinfection, de stimulation non spécifique du système immunitaire ou à l'occasion de persistance plus longue (Grangeot-Keros et Vauloup-Fellous., 2013).

Nous avons obtenu des cas de positivité aux RV-IgM chez des patientes présentant des signes cliniques. De prime à bord pour les cliniciens et gynécologues, c'est uniquement la recherche des IgG spécifiques dans le cadre du dépistage systématique en début de grossesse qui est nécessaire, et écarte totalement la recherche des RV-IgM. S'il y'a présence des RV-IgM en dehors du contact clinique ou biologique, un test d'avidité est obligatoire pour dater l'infection virale (Grangeot-Keros, 2001). Deux cas de suspicion de rubéole avec des titres d'IgM élevés à 4,07 et à 2,43 respectivement, de la fièvre et surtout des éruptions maculopapulaires ont été trouvés dans cette étude. De plus les résultats des PCR nous montrent que ces deux patientes ont été positives à la dite PCR. En effet, la virémie est détectable, en général, 7 jours avant l'éruption (Grangeot-Keros et Vauloup-Fellous., 2013). Ceci voudrait dire que les prélèvements de ces patientes se seraient effectués aux jours environnant la virémie, à moins de 5 SA et de 24 SA, rendant ces dernières susceptibles d'entraîner une rubéole congénitale. Dans les cas observés dans cette étude, ces femmes auraient conçu avant l'éruption; ce qui les prédisposait à un risque d'infection fœtale. Malheureusement, il n'existe pas de traitement pour les femmes infectées. Pour cela, un dépistage de routine pour la recherche des IgM est une bonne pratique, plus précisément pour les femmes dont le statut a été séronégatif lors des grossesses antérieures.

Les anticorps IgM sont présents chez les individus récemment infectés par le virus de la rubéole mais ces anticorps peuvent persister plus d'une année et le test positif doit être interprété avec beaucoup de précautions (Dromigny *et al.*, 2003). La présence de ces anticorps apparus tôt ou tardivement, et les symptômes cliniques tels que les éruptions et la fièvre, laissent croire à une infection rubéoleuse; l'avidité confirme le diagnostic (Hofmann et

Liebert, 2005). Cette étude a montré des cas d'IgM positifs en présence de signes cliniques évocateurs à des SA susceptibles de conclure à une primo-infection avec risque de SRC. L'apparition des éruptions coïncidant avec la virémie nous renseigne sur la période pendant laquelle il y'a eu virémie chez ces patientes; période au cours de laquelle le risque de SRC reste très élevé chez le fœtus. Il est essentiel d'obtenir des informations précises sur la date de l'exposition à la maladie, sur les antécédents relatifs à la vaccination et aussi sur les résultats sérologiques antérieurs. Aucune de nos deux patientes n'avait été vaccinée et n'avait effectué une sérologie antérieurement, ceci rendant l'interprétation difficile.

Les RV-IgM peuvent être mises en évidence dans plusieurs cas de figure:

➤ longtemps après le début d'une primo-infection: en fait, les IgM rubéoliques persistent rarement plus de deux mois après une primo-infection. En revanche, la persistance des IgM pendant plus de six mois voire un an ou plus après la vaccination est la règle (Denoyel *et al.*, 1982);

➤ au cours des réinfections ou en raison de stimulations polyclonales non spécifiques du système immunitaire. On ne peut parler de réinfection que s'il existe en plus une notion de contagion (Grangeot-Keros *et al.*, 1985). Bien que la réinfection soit possible chez les femmes enceintes immunisées, ces réinfections n'ont entraîné qu'un risque d'embryofoetopathie de 8% au cours du premier trimestre de la grossesse (Bullens *et al.*, 2000);

➤ au cours des réactions croisées: cette situation est hypothétique car les réactions croisées décrites dans une seule publication (Kurtz et Anderson, 1985) entre le virus de la rubéole et le parvovirus B19 n'ont jamais été retrouvées;

➤ les IgM rubéoliques ont, lors d'une primo-infection, une cinétique caractéristique: après augmentation de leur titre (qu'il est rarement donné de voir), elles diminuent environ de moitié toutes les trois semaines. Une diminution du titre s'observe également après une vaccination récente, ce qui ne peut pas être le cas dans notre étude, nos patientes déclarant n'avoir pas été vaccinées, encore moins récemment. En conséquence, un titre stable d'IgM spécifiques sur deux prélèvements successifs effectués à deux semaines d'intervalle permet quasiment d'exclure une primo-infection récente (Grangeot- Keros, 2001). Ainsi, lorsque les IgM spécifiques sont présentes en l'absence d'un contexte clinique très fortement évocateur d'une primo-infection rubéolique, il est recommandé d'utiliser des tests complémentaires pour infirmer ou confirmer une primo-infection. Parmi ces tests la mesure de l'avidité des RV-IgG occupe une place de choix.

Le test de l'avidité des RV-IgG est plus spécifique que le test des RV-IgM, pour différencier une primo-infection d'une réinfection ou d'une infection ancienne (>3mois) par

le virus de la rubéole (Rasool *et al.*, 2005). Les données expérimentales confirment que les anticorps IgM sont, également détectés, dans les cas d'une réinfection par le virus de la rubéole, avec une avidité élevée, mais, il faut noter que, la détection des IgM seule, ne peut pas différencier entre une infection primaire et une réinfection (Rasool *et al.*, 2005). En effet, des études sur la sensibilité et la spécificité des tests IgM ont prouvé que, la sensibilité du test IgM, pour le diagnostic de l'infection primaire, est de 76,9% (Tipple *et al.*, 2004). Ainsi, la possibilité d'une réinfection avec un taux des IgG faible, une avidité des IgG élevée et des IgM sériques absents serait envisageable (Cusi *et al.*, 1993). Dans le cas d'une immunisation, suite à une infection naturelle ou après une vaccination, les anticorps anti-IgG sont présents, l'avidité des IgG est élevée et les IgM sont absents (Reis *et al.*, 2004). Cette hypothèse serait envisageable dans notre étude car la quasi-totalité de nos patientes n'ayant pas reçu de vaccin se seraient contaminées de façon naturelle.

Les deux cas de faible avidité avec des indices d'IgM supérieurs à la valeur seuil indiquent la probabilité d'une infection récente avec possibilité de SRC chez les fœtus. De plus ces dernières étaient, lors du prélèvement, à des âges gestationnels de 14SA et 25 SA respectivement. Ainsi, chez la patiente dont l'âge gestationnel était de 14 SA, le risque de transmission est de l'ordre de 70% correspondant à un risque malformatif de 16%, représentant une menace pour le fœtus de cette dernière. Cependant, chez la patiente dont l'âge gestationnel était de 25 SA, le risque de transmission est de l'ordre de 20 à 25%, correspondant à un risque malformatif inférieur à 16%, représentant un risque moindre pour le fœtus (Miller *et al.*, 1982). Deux cas ayant des RV-IgM positifs se sont révélés être corrélés à une avidité élevée. En effet, lors d'une stimulation polyclonale non spécifique du système immunitaire relevée ici par la présence des IgM en absence de primo-infection, l'indice d'avidité est élevé (Bukbuk *et al.*, 2002). En outre, Dans le cas d'une immunisation, suite à une infection naturelle ou après une vaccination, les anticorps anti-IgG sont présents, l'avidité des IgG est élevée et les IgM sont absents. (Reis *et al.*, 2004). D'après les résultats, une patiente a eu un résultat positif aux RV-IgG et aux RV-IgM, une très faible avidité impliquant ainsi une infection en cours qui aurait débuté moins de deux semaines avant la date de prélèvement. En outre, le questionnaire a révélé que cette patiente multipare, était au premier trimestre de sa grossesse. La PCR nous a révélé plus tard un résultat positif pour cette dernière. Les cas de forte avidité avec des indices d'IgM faibles, inférieurs à la valeur seuil sont indicatifs d'une probable infection ancienne et viennent ainsi soutenir l'argument selon lequel une infection ancienne est aperçue si les IgG sont positifs à un titre bien élevé, les IgM absents et une avidité élevée (Dontigny *et al.*, 2008).

L'observation d'une séroconversion est souvent corrélée à une primo-infection; cependant, en ce qui concerne la sérologie de la rubéole, le seuil de positivité des techniques de détection des IgG (ou des Ac totaux) est élevé, se situant à plus de 10 UI/ml (Architect). Dans ces conditions, il peut arriver qu'une apparente séroconversion ne représente, en fait, qu'une augmentation des Ac, non systématiquement liée à une primo-infection. Les résultats de cette présente étude illustrent trois types de séroconversion dans les cas cliniques N° 1, N° 2 et N° 3 observés. Dans tous ces cas cliniques, l'augmentation significative des titres d'anticorps et la positivité au Blot sont compatibles à une séroconversion; cependant la recherche des IgM reste négative sur les deux prélèvements. Le fait pour les RV-IgM d'être négatives montre que toute séroconversion n'est pas corrélée à une primo-infection (Picone et Grangeot-Keros, 2005). En outre, lorsque le titre d'anticorps de l'IgG de la rubéole connaît une hausse significative sans que l'on puisse détecter la présence d'anticorps de l'IgM chez les femmes enceintes, la présence d'une réinfection est probable (Aboudy *et al.*, 1997). Le risque fœtal d'infection congénitale à la suite d'une réinfection maternelle au cours du premier trimestre a été estimé à 8 % (Bullens *et al.*, 2000).

L'incidence de la rubéole en cours de grossesse et des infections rubéoleuses congénitales asymptomatiques a été évaluée. Dans ces situations, nous avons recherché la présence d'immunoglobuline M (IgM) dirigée contre le virus de la rubéole dans le sang de ces femmes enceintes. Lorsque ce test était positif nous évaluons la présence des signes cliniques du SRC chez les nourrissons. Ainsi, des 11 femmes positives aux RV-IgM, 5(45,4%) présentaient des signes cliniques. Ceci suggère donc quelle incidence de la rubéole en cours de grossesse et par conséquent le risque de survenue d'un éventuel SRC a été de 45,4% dans notre étude. En extrapolant à l'échelle nationale le risque de SRC chez les fœtus, le nombre de naissance avec SRC reste très élevé dans un pays où la couverture vaccinale en rubéole n'est pas atteinte.

Cette étude a révélé des cas de primo-infections en fonction de l'âge gestationnel. Le risque d'infection fœtale varie avec l'âge gestationnel (Grangeot-Keros et Vauloup-Fellous., 2013). Les cas de primo-infection datant d'un à deux mois chez des patientes dont l'âge gestationnel est de douze semaines d'aménorrhées seraient également responsables de SRC car l'infection aurait été acquise au premier ou au deuxième mois de la grossesse. En effet, le risque principal de foetopathie entre 11 et 18 SA est la perte d'audition, qui peut se développer tardivement après la naissance (Munro *et al.*, 1987). Au total, tous les cas de

primo-infections obtenus chez les patientes ayant un âge gestationnel inférieur à 20 SA seraient à l'origine des SRC chez leurs fœtus.

### III.2.3. Résultats moléculaires

Dans la plupart des pays africains, y compris le Cameroun, l'Ouganda, la côte d'ivoire, le Gabon et l'Afrique du Sud, la rubéole demeure une maladie non contrôlée et non documentée. L'intérêt de ce travail est de combler les lacunes en ce qui concerne l'épidémiologie moléculaire du virus au Cameroun. La détection du virus de la rubéole par RT-PCR dans le sérum peut aider dans un diagnostic précoce si les échantillons sont obtenus pendant les 4 à 5 premiers jours après l'éruption (Banatvala et Brown, 2004; Vauloup-Fellous *et al.*, 2010). L'avantage d'une RT-PCR est qu'elle aide à l'identification du génome viral. Dans notre étude, des 37 cas amplifiés par RT-PCR, on a observé 8 (21,62%) cas positifs dans le sérum des patientes; ce qui voudrait dire que le virus était présent dans le sérum de ces dernières lors du prélèvement. Trois cas ont été positifs en PCR en présence d'IgM. Ceci confirme l'idée selon laquelle la présence d'IgM est synonyme d'infection récente, donc de présence du génome viral dans le sang et prédispose ainsi à un risque de SRC sévère dangereux pour le fœtus (Vyse et Jin, 2002). Nous avons obtenu deux cas où l'IgM a été positif sur les deux échantillons prélevés en l'espace de deux semaines mais dont la PCR s'est avérée négative. Ces 2 cas ont été considérés comme des cas de stimulation polyclonale du système immunitaire. En effet, lors d'une stimulation non spécifique du système immunitaire, des IgM rubéoliques peuvent être détectées en absence d'infection rubéolique en raison d'une stimulation des lymphocytes B mémoires par des cytokines (Bukbuk *et al.*, 2002).

La recherche des RV-IgM a été négative bien que la PCR ait été positive dans certains cas, considérés comme des cas d'infection avec IgM fugaces. Pour conclure à un cas d'IgM fugace, il faudrait que l'avidité soit faible ou modérée en absence d'IgM (Grangeot-Keros, 2001). L'absence de RV-IgM, l'obtention d'une avidité modérée sur le premier prélèvement et la PCR positive nous ont orienté vers une réinfection. Ce cas clinique de réinfection a été semblable à celui d'une primo-infection.

- Arguments en faveur d'une primo-infection:
  - séroconversion;
  - PCR positive;
  - ascension du taux d'avidité sur les deux prélèvements.
- Arguments en défaveur d'une primo-infection et en faveur d'une réinfection :
  - absence d'IgM sur les deux prélèvements;

- blot Positif;
- avidité modérée sur le premier prélèvement;
- PCR positive sur le deuxième prélèvement;

Le risque de transmission intra-utérine de virus causé par une réinfection maternelle est extrêmement faible (suite à une vaccination ou à une infection naturelle) (Dontigny *et al.*, 2008).

L'importance de la rubéole, du point de vue santé publique, tient à ses effets tératogènes chez le fœtus. La couverture vaccinale des nourrissons contre la rougeole est actuellement supérieure à 80%, dans la majorité des pays en développement, ce qui prouve qu'un programme efficace de lutte contre la rubéole est réalisable. De plus, le vaccin ROR (Rougeole-Oreillons-Rubéole) est disponible dans le secteur privé, même dans les pays qui n'ont pas de programme national de lutte contre la maladie (Guerin, 2000). Il est donc impératif de revoir les principes et les stratégies de la lutte contre la rubéole et le SRC. La décision d'un pays d'introduire le vaccin dépend du taux de la couverture vaccinale contre rougeole. Seuls, les pays ayant une couverture vaccinale élevée, peuvent prétendre utiliser les vaccins combinés rougeole/rubéole (RR) ou rougeole/oreillons/rubéole (ROR). En 2002, 57% des pays (63/110) seulement ont introduit, le vaccin de la rubéole, dans leur programme d'immunisation (Zheng *et al.*, 2003).

Au Cameroun, pays comptant plus de 20 millions d'habitants, la vaccination des enfants n'est prise en charge que jusqu'à l'âge de 9 mois. C'est à partir de l'âge de 12 mois que le vaccin ROR est recommandé sans prise en charge quelconque par le PEV. La décision de vacciner les femmes en âge de procréer doit être précédée par des études sérologiques afin de déterminer l'ampleur de la susceptibilité de l'infection chez les femmes et permettre d'évaluer l'incidence des cas de SRC (Cutts *et al.*, 1997 ; Vynnycky *et al.*, 2003). De nombreux facteurs influencent le choix d'une stratégie de vaccination contre la rubéole. La vaccination de tous les nourrissons pourrait parvenir, à éradiquer la rubéole congénitale, dans trois à quatre décennies et la rubéole chez les petites filles, dans deux à trois décennies (Bar *et al.*, 2004). Quant à la vaccination des femmes adultes, elle parviendrait à éradiquer la rubéole congénitale, immédiatement après la vaccination, à condition que la couverture vaccinale de 100% soit atteinte (Bar *et al.*, 2004). Quelque soit la stratégie choisie, il est toujours important d'atteindre et de maintenir une couverture vaccinale élevée du groupe cible. Il est alors apparu, de part l'expérience de plusieurs pays, qu'il est essentiel d'inclure la vaccination des

femmes en âge de procréer dans toute stratégie (Reef *et al.*, 2002). Il est, aussi, important de définir la tranche d'âge la plus susceptible, en tenant compte du profil de fertilité spécifique du pays, puisque ceci influencera le coût, toutes les femmes en âge de procréer devant être considérées. Pour éviter le risque de vacciner les femmes enceintes, la stratégie habituelle pour les pays qui vaccinent, consiste à vacciner les femmes après leur accouchement. Dans plusieurs pays industrialisés, la sérologie prénatale couplée à une vaccination postnatale des femmes séronégatives s'est avérée difficile à mettre en œuvre (Miller *et al.*, 1987). Il serait plus convenable de vacciner toutes les femmes à leur accouchement, sans sérologie préalable. Il faut comparer le coût du vaccin supplémentaire à celui de la sérologie et la possibilité d'obtenir une couverture vaccinale d'autant plus élevée, sans dépistage sérologique. Cependant, cette stratégie ne protégerait pas les femmes qui attendent leur premier enfant (Cutts *et al.*, 1997). Le vaccin devrait donc être proposé à toutes les femmes, à l'âge de la puberté, en recourant à toutes les occasions possibles. Cependant, la vaccination sélective des adolescentes protégerait uniquement les personnes vaccinées mais n'aurait que peu d'effets sur la transmission de la maladie. Aussi, dans les pays qui ne peuvent pas garantir une couverture vaccinale élevée et régulière pour les enfants, cette stratégie a l'avantage de ne pas déplacer l'âge moyen de l'infection vers l'âge de la procréation. Elle exigerait, cependant, un taux élevé de scolarisation des filles et une bonne liaison entre les établissements scolaires et les autorités sanitaires (Cutts *et al.*, 1997). Le fait que certains pays y compris le Cameroun, se limitent à la seule vaccination des enfants reste, cependant, un problème préoccupant. La couverture vaccinale doit être rigoureusement suivie chez tous les groupes cibles; il suffit d'incorporer les informations relatives à la rubéole dans le système d'enregistrements et de mesures en place pour le programme élargi de vaccination (PEV).

**CONCLUSION, RECOMMANDATIONS  
ET PERSPECTIVES**

# CONCLUSION

Afin de déterminer la susceptibilité de la rubéole chez les femmes enceintes au Cameroun, 552 échantillons ont été testés pour la recherche des immunoglobulines G (IgG) et M (IgM) spécifiques du virus de la rubéole. Ainsi, 97,46% des patientes ont été positives en RV-IgG (IgG positifs). Notre étude nous a permis de conclure que ce taux si élevé de séropositivité en RV-IgG est dû à une circulation continue des souches du virus et par conséquent à l'endémicité de la rubéole au sein du Continent Africain en général et du Cameroun en particulier. Il est également à noter que le fait pour les femmes de n'avoir pas été vaccinées corrélé à cette forte prévalence montre la présence du virus de type sauvage chez ces patientes. La tranche d'âge de 20 à 28 ans a été celle où l'on a noté plus de séropositivité en RV-IgG. Cette tranche d'âge doit être la plus surveillée avant et pendant la grossesse. La rubéole congénitale est une infection grave qui devrait être éradiquée, le risque majeur est bien entendu une atteinte de l'embryon ou du fœtus connu sous le nom de Syndrome de Rubéole Congénitale (SRC). Ce risque dépend du stade d'organogénèse au moment de la transmission du virus. Le virus de la rubéole est susceptible de perturber l'organogénèse, voire d'entraîner un avortement spontané chez la femme enceinte. Cette étude a révélé que 98,54% de patientes ayant déclaré avoir eu des avortements spontanés ont été positives aux RV-IgG. Il existe des cas ignorés d'avortements liés à l'infection rubéolique chez les femmes au Cameroun. La bonne connaissance du statut sérologique de la femme enceinte au cours de la grossesse est capitale pour la prévention du syndrome malformatif chez le fœtus. Notre étude a révélé un taux de réceptivité de 2,54%. Une proportion non négligeable de femmes si l'on estime à l'échelle du territoire national, est encore séronégative en RV-IgG en début de sa grossesse, susceptible de se contaminer en cours et d'entraîner un SRC avec des conséquences graves chez leurs fœtus.

La recherche des RV-IgM est une bonne pratique pour le diagnostic de routine chez une femme en âge de procréer et chez une femme enceinte. Cette étude a révélé que 11 (2%) patientes ont été positives en RV-IgM, synonyme d'infection récente ou en cours. Ces dernières représentent pour leurs fœtus un risque non négligeable d'embryofoetopathie infectieuse. Nous avons également observé qu'en plus de la positivité en RV-IgM chez une femme enceinte, les signes cliniques pour le cas des rubéoles symptomatiques renseignent mieux sur l'interprétation des résultats sérologiques. Les patientes ont présenté deux signes cliniques: la fièvre et les éruptions maculopapulaires.

Les résultats des avidités ont permis de conclure quant au type d'infection que présentaient les différentes patientes, c'est-à-dire de dater l'infection et par la même occasion de conclure à:

- un risque de transmission de l'ordre de 70% chez une parturiente avec un risque malformatif de l'ordre de 16%;
- une confirmation d'une infection en cours chez certaines parturientes (au premier trimestre de la grossesse lors du prélèvement) avec probabilité d'embryofoetopathie;
- une possibilité de déceler des cas de réinfection et de stimulations polyclonales non spécifiques du système immunitaire chez certaines parturientes excluant leurs fœtus à un risque de SRC. Le risque de transmission intra-utérine du virus causé par une réinfection maternelle est extrêmement faible (suite à une vaccination ou à une infection naturelle);
- une présence de RV-IgM fugaces chez certaines parturientes susceptibles d'induire le SRC chez les fœtus. Dans ces cas précis, l'avidité nous a permis de lever l'équivoque d'une positivité en PCR, mais aussi de conclure à des cas d'IgM négatifs.

Le test de l'avidité des IgG est plus sensible que le test des RV-IgM, pour différencier entre une infection primaire et une réinfection par le virus de la rubéole.

Ce travail a révélé 21,62% cas positifs en PCR. Ceci a permis de conclure que ces patientes portaient le génome viral lors des prélèvements. La présence du virus dans le sérum est synonyme de virémie favorisant la survenue du SRC chez le fœtus. Ces cas de PCR nous ont également permis de confirmer les résultats d'avidité pour les cas d'infection récente corrélée à une positivité en RV-IgM.

Ce travail, en plus d'apporter un supplément d'informations sur l'épidémiologie de la rubéole au Cameroun, a permis d'avoir des précisions sur le fardeau que représente le risque d'infection chez le fœtus lorsque sa mère s'infecte durant la grossesse.

# RECOMMANDATIONS

Au regard des résultats obtenus dans ce travail, nous recommandons au Ministère de la santé d'intégrer le vaccin contre le virus de la rubéole dans le Programme Elargi de Vaccination. Ceci passera par plusieurs actions. Il s'agira dans un premier temps d'introduire dans le programme Elargi de vaccination les doses de vaccin ROR allant jusqu'à 14 ans.

Dans le but de compléter une vaccination inachevée chez les enfants ayant reçu le vaccin à l'âge de 12 mois, il serait impératif de vacciner toutes les femmes en âge de procréer. En cas d'antécédents vaccinaux documentés anciens (plus de 10 ans), la persistance d'efficacité doit être contrôlée sérologiquement.

Il serait judicieux de faire vacciner les sujets non-immuns dont l'activité professionnelle consiste à prodiguer des soins aux femmes enceintes et aux enfants.

Il serait plus convenable de vacciner toutes les femmes à leur accouchement, sans sérologie préalable. La couverture vaccinale doit ainsi être rigoureusement suivie chez tous les groupes cibles, c'est-à-dire les enfants jusqu'à l'âge de deux ans, les adolescentes, les femmes en âge de procréer et les femmes en post-partum.

Le diagnostic sérologique est d'une importance capitale dans la prévention d'une rubéole congénitale. Il serait important de prescrire à toute femme venue en consultation prénatale lors de la toute première visite, la recherche simultanée des immunoglobulines G et M. En outre tous les cas dont les interprétations seront équivoques doivent être analysés premièrement par la technique Immunoblot et deuxièmement par une mesure de l'indice d'avidité afin d'informer les patientes sur les risques encourus par leur grossesse.

Nous recommandons au pouvoir public en charge de l'éducation, de promouvoir dans les programmes scolaires, l'éducation de la jeune femme à toutes les infections materno-foetales en insistant sur leur mode de contamination, leurs manifestations et les moyens d'éradication et de prévention.

# PERSPECTIVES

A l'issue de ce travail de recherche axé sur le statut sérologique des femmes enceintes à Yaoundé, il est important pour nous de l'étendre afin de combler les lacunes en ce qui concerne l'épidémiologie de la rubéole et les outils de diagnostic nécessaires pour la mise en évidence du virus. Nous nous proposons dans l'avenir et en collaboration avec le ministère de la santé du Cameroun: (1) de faire un état des lieux concernant le statut immunitaire des femmes en âge de procréer dans toutes les régions du Cameroun, (2) de rechercher chez ces dernières les immunoglobulines G et M, (3) de mesurer l'indice d'avidité pour les cas qui seront positifs en IgG et IgM, (4) et d'évaluer le risque de transmission en cas d'éventuelles grossesses.

Le système de surveillance peut être amélioré si la souche qui circule au Cameroun est bien connue. Nous envisageons :

- ❖ de réaliser des sérologies chez les femmes enceintes venant en consultation prénatale dans toutes les régions du Cameroun;
- ❖ d'effectuer pour les femmes dont les sérologies seront positives en IgM, des prélèvements de liquide amniotique ;
- ❖ de rechercher le génome viral par PCR dans ces liquides amniotiques
- ❖ de génotyper tous les cas positifs en PCR afin d'isoler les souches circulant au Cameroun. Grâce à ces souches, nous proposerons des souches vaccinales efficaces pour une meilleure couverture et une éradication du SRC dans notre pays.
- ❖ De faire un suivi sérologique des enfants dont les mamans ont fait une primo-infection pendant la grossesse.

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

- Aboudy Y., Fogel A., Bamea B., Mendelson E., Yosef L., Frank T. 1997. Subclinical rubella reinfection during pregnancy followed by transmission of virus to the fetus. *Journal of Infections* **34**: 237-6.
- Agbede O. O., Adeyemi O. O., Olatinwo A. W., Salisu T. J., Kolawole O. M. 2011. Seroprevalence of antenatal rubella in University of Ibadan Teaching Hospital. *Open Public Health Journal* **4**:10–16.
- ANADOC. 2017. Archive Nationale des Données du Cameroun. *Enquête post-campagne de vaccination contre la rougeole et la rubéole au Cameroun*. Disponible sur le site <http://nada.stat.cm/index.php>.
- Bakshi S., Cooper S. L. Z. 1990. Pediatric vaccination: Update. Rubella and mumps vaccines. *Pediatric Clinics of North America* **37**: 651-668.
- Banatvala J. E. and Brown D. W. 2004. Rubella. *Lancet* **363**:1127–1137.
- Bar-Oz B., Levichek Z., Moretti M. E., Mah C., Andreou S., Koren G. 2004. Pregnancy outcome following rubella vaccination: a prospective controlled study. *American Journal of Medical Genetic* **130**: 52–4.
- Barreto J., Sacramento I., Robertson S. E., Langa J., De Gourville E., Wolfson L., Schoub B. D: 2006. Antenatal rubella serosurvey in Maputo, Mozambique. *Tropical Medicine and International Health* **11(4)**:559–564.
- Bart K. J., Orenstein W. A., Hinman A. R. 1986. The virtual elimination of rubella and mumps from the United States and the use of combined measles, mumps and rubella vaccines (MMR) to eliminate measles. *Developments in biological standardization* **65**:45-52.
- Bart K. J., Orenstein W. A., Preblud S. R., Hinman A. R., Lewis Jr. F.L., Williams N. M. 1985. Elimination of rubella and congenital rubella from the United States. *Pediatric Infectious Disease* **4**:14-21.
- Bénazeth S., Boniface M., Demarquilly C., Lasserre V., Lemdani M., Nicolis I. 2007. *Biomathématiques : analyses, algèbre, probabilités, statistiques*. Elsevier ed MASSON.
- Berkeley M. I., Moffat D., Russell L. 1991. Surveillance of antibody of rubella virus in Grampian: closing the immunity gap. *British Medical Journal* **303**: 1174-1176.
- Best J. M. 1991. Rubella vaccines: past, present and future. *Epidemiology and Infection* **107**: 17-30.
- Best J. M., Cooray S., Banatvala J. E. 2005. Rubella in Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections. *Virology* **2**: 960-92.
- Brooks G. F., Carroll K. C., Butel J. N., Morse S. A., Mietzer T. A. 2013. Rubella (German Measles) Virus. *Jawetz, Melnick, and Adelberg's Medical Microbiology* **4**:607–612.

- BUCREP 2010. Bureau Central des Recensements et des Etudes de Population. *Etat et structure de la population du Cameroun; recensement 2005*. [http://www. statistics- cameroon. org/ downloads/ Rapport\\_ de\\_ presentation\\_ 3\\_ RGPH. Pdf](http://www.statistics-cameroon.org/downloads/Rapport_de_presentation_3_RGPH.Pdf). 67pp.
- Bukbuk D. N., el Nafaty A. U., Obed J. Y. 2002. Prevalence of rubella-specific IgG antibody in non-immunized pregnant women in Maiduguri, north eastern Nigeria. *Central European Journal of Public Health* **10**: 21-3.
- Bullens D., Smets K., Vanhaesebrouck P. 2000. Congenital rubella syndrome after maternal reinfection. *Clinical Pediatric* **39**: 113-16.
- Caidi H., Abernathy E. S., Benjouad A., Smit S., Bwogi J., Nanyunja M., El Aouad R. and Icenogle J. 2008. Phylogenetic analysis of rubella viruses found in Morocco, Uganda, Côte d'Ivoire and South Africa from 2001 to 2007. *Journal of Clinical Virology* **42**:86–90.
- Callen P. W. 2000. *Ultrasonography in obstetric and gynaecology*. 4th ed Philadelphia: WB Saunders. pp. 105-145.
- CDC. 1990. Rubella prevention: recommendations of the Immunization practices Advisory Committee (ACIP). Morbidity and Mortality. *Weekly Report* **9**: 1-18.
- CDC. 2000. Epidemiology and prevention of vaccine-preventable diseases. (6th ed). Atlanta, GA: US Department of Health and Human Services. 22pp.
- CDC. 2013. Rubella and congenital rubella syndrome control and elimination - global progress, 2000-2012. *Morbidity & Mortality Weekly Report* **62(48)**:983-986.
- Charbonneau S and De Wals P. 1997. *Programme d'élimination de la rubéole au Québec*. 64pp.
- Cochi S. L., Edmonds L. D., Dyer K. 1989. Congenital rubella syndrome in the United States, 1970-1985. *American Journal of Epidemiology* **129**: 349-361.
- Cordoba P., Grutadauria S., Cuffini C., Zapata M. 2000. Neutralizing monoclonal antibodies to the E1 glycoprotein epitope of rubella virus mediates virus arrest in Vero cells. *Viral Immunology* **13(1)**: 83-92.
- CoteT.R., Sivertson D., Horan J. M., Lindegren M. L., Dwyer D. M. 1993. Evaluation of a two-dose measles mumps and rubella vaccination schedule in a cohort of college athlete. *Public Health Reports* **108**: 431-435.
- Cradock W. 1991. Laboratory diagnosis of rubella: past, present and future. *Epidemiology and Infection*. **107**:1-5.
- Cusi M. G., Valensin P. E., Cellesi C. 1993. Possibility of reinfection after immunization with RA27/3 live attenuated rubella virus. *Archives of Virology* **129**: 337-40.

- Cutts F. T., Messele T. A. A., Dejene A., Enqueslassie F., Nigatu W. 2000. Sero-epidemiology of rubella in the urban population of Adis Abeba, Ethiopia. *Epidemiology and Infection* **124**: 467-79.
- Cutts F. T., Roberston S. E., Diaz-Ortega J. L., Samuel R. 1997. Control of rubella and congenital rubella syndrome (CRS) in developing countries, Part 1: Burden of disease from CRS. *Bulletin of the World Health Organization* **75**: 55-68.
- De Santis M., Cavaliere A. F., Straface G., Caruso A. 2006. Rubella infection in pregnancy. *Reproduction Toxicology* **21**: 390-8.
- Denoyel G. A., Gaspar A., Peyramond D., 1982. Dumont M. Prolonged excretion of rubella antibody in two pregnant women. *Lancet* **2**: 241.
- Desinor O. Y., Anselme R. J., Laender F., Saint-Louis C., Bien-Aime J. E. 2004. Seroprevalence of antibodies against rubella virus in pregnant women in Haiti. *Panamericana de Salud Pública* **15(3)**: 147-150.
- Dewan and Gupta P. 2012. Burden of congenital rubella syndrome (CRS) in India: a systematic review. *Indian Pediatrics* **49 (5)**: 377-399.
- Dontigny L., Arsenault M., Martel M. 2008. Rubella in pregnancy. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Canada* **30**: 152-8.
- Dromigny J. A., Nabeth P., Gros P., Claude J. D. 2003. Evaluation of the seroprevalence of rubella in the region of Dakar (Senegal). *Tropical Medicine and International Health* **8**:740-3.
- Dwyer D. E., Robertson P. W., Field P. R. 2001. Board of Education of the Royal College of Pathologists of Australasia Broadsheet: Clinical and laboratory features of rubella. *Pathology* **33(3)**: 322-8.
- Enders G., Nickerl-Pacher U., Miller E., Cradock-Watson J. E. 1988. Outcome of confirmed periconceptional maternal rubella. *Lancet* **1**: 1445-6.
- Fields B. 1996. Virology. Philadelphia: Lippincott- Raven Ed. Fields (3rd ed). *Publishers* **1**: 1177-1313; 899-931.
- Fokunang C. N., Chia P., Ndumbe P., Mbu and Atashili. 2010. Clinical studies on seroprevalence of rubella virus in pregnant women of Cameroon regions. *African Journal of Clinical and Experimental Microbiology* **11(2)**: 79-94.
- Frey T. K. 1994. Molecular biology of rubella virus. *Advances in Virus Research* **44**: 69-160.
- Frey T. K. 1997. Neurological aspects of rubella virus infection. *Intervirology* **40**:167-75.
- Frey T. K., Abernathy E., Bosma T. 1998. Molecular Analysis of Rubella Virus: Epidemiology across three Continents, North America, Europe and Asia 1961-1997. *Journal of Infectious Disease* **178**: 642-50.

- Gershon A. A. 1995. Rubella virus. In Mandell G. L. (4th ed). *Principles and practice of infectious diseases*, New York, Churchill Livingstone. 67pp.
- Gold E. 1996. Almost extinct Diseases: Measles, mumps, rubella, and pertussis. *Pediatrics in Review. American Academy of Pediatrics* **17**: 120-125.
- Grangeot-Keros et Vauloup-Fellous. 2013. Rubéole. *EMC Maladies infectieuses* **10(2)** : 1-9.
- Grangeot-Keros L. 2001. L'avidité des IgG: implications en infectiologie. *New England Journal of Medicine* **16**: 87–91.
- Grangeot-Keros L., Nicolas J. C., Bricout F., Pillot J. 1985. Rubella reinfection and the fetus. *New England Journal of Medicine* **313**: 1547.
- Guerin N. 2000. *Actualités sur les vaccins Rougeole, Rubéole et Oreillons*. Revue Française des Laboratoires, octobre, No 326.
- Hedman K., Lappalainen M., Söderlund M., Hedman L. 1993 Avidity of IgG in serodiagnosis of infectious diseases. *Rev Med Microbiol* **4**: 123-129.
- Hobman T., Chantler J. 2007. *Rubella virus*. In: Knipe D. M., Howley P. M., Griffin D. E., Martin. (5th ed) Fields.PA, USA. Lippincott Williams and Wilkins publishers. *Virology* pp 1069-1100.
- Hofmann J., Liebert U. G. 2005. Significance of avidity and immunoblot analysis for rubella IgM positive samples in pregnant women. *Journal of Virological Methods* **130**: 66-71.
- Huraux J. M., Nicolas J. C., Agut H. and Peigue-Lafeuille H. 2003. *Traité de Virologie Médicale* Editions ESTEM .Virus de la rubéole. 37pp.
- Icenogle J. and Bellini W. 2003. *Measles and Rubella viruses*. (8th ed). *Manual of Clinical Microbiology*. 1396 pp.
- Jiansheng Y. and Shirely G. 1999. Mutational analysis, using a Full-Length Rubella virus cDNA clone, of Rubella virus E1 transmembrane and cytoplasmic domains required for virus release. *Journal of Virology* **73 (6)**: 4622-4630.
- Junaid S. A., Akpan K. J., Olabode A. O. 2011. Sero-survey of rubella IgM antibodies among children in Jos, Nigeria. *Virology Journal* **8**: 244.
- Kolawole O. M., Anjorin E. O., Adekanle D. A., Kolawole C. F. and Durowade K. A. 2014. Seroprevalence of Rubella IgG Antibody in pregnant women in Osogbo, Nigeria. *International Journal of Preventive Medicine* **5**: 287-92.
- Kurtz J. B., Anderson M. J. 1985. Cross-reactions in rubella and parvovirus specific IgM tests. *Lancet* **2**: 1356.
- Law L. M., Duncan R., Esmaili A., Nakhasi H. L., HobmanT. C. 2001. Rubella virus E2 signal peptide is required for perinuclear localization of Capsid protein and virus assembly. *Journal of Virology* **75**: 1978–1983.

- Lee J. Y., Bowden D. S. 2000. Rubella virus replication and links to teratogenicity. *Clinical Microbiology* **13**: 571–87.
- Lessler J. and Metcalf C. J. E. 2013. Balancing evidence and uncertainty when considering rubella vaccine introduction. *Plos One* **8(7)**, Article ID e67639.
- Lokman J., Carolina S., Wen-Pin T., Matthew R. D., Frey T.K. and Hobman C. 2006. Analyses of phosphorylation Events in Rubella Virus Capsid Protein: Role in Early Replication Events. *Journal of Virology* 80(14): 6917-6925.
- Merrer J., Perin-Dureau F., Appere C., Palmer P., Santolli F., Jonghe D.E. B. 1999. Formes sévères d'encéphalites au décours d'une infection rubéolique : arguments pour une meilleure couverture vaccinale. *Presse Médicale* **298**: 395-397.
- Miller C. L., Miller E., Waight P. A. 1987. Rubella susceptibility and the continuing risk of infection in pregnancy. *British Medical Journal* **294**: 1277-1278.
- Miller E., Cradock-Watson J. L., Pollock T. M. 1982. Consequences of confirmed maternal rubella at successive stages of pregnancy. *Lancet* **2**: 781-784.
- Miller E., Waight P. A., Vurdien J. E., White J. M., Jones G., Miller B. H., Tookey P. A., Peckham C. S. 1991. Rubella surveillance to December 1990: a joint report from the PHLs and National Congenital Rubella Surveillance Programme. *London England Review* **1(4)**: 33-7.
- Mitchell L.A. 1999. Identification of rubella virus T-cell epitopes recognized in anamnestic response to RA 27/3 vaccine: associations with boost in neutralizing antibody titer. *Vaccine* **17**: 2356-2365.
- Mitiku K., Bedada T., Masresha B. 2011. The epidemiology of rubella disease in Ethiopia: data from the measles case-based surveillance system. *Journal of Infectious Diseases* **204(1)**: 239–42.
- Munro N.D., Sheppard S., Smithells R.W., Holzel H., Jones G. 1987. Temporal relations between maternal rubella and congenital defects. *Lancet* **2**: 201-4.
- Mwambe B., Mirambo M. M., Mshana S. E., Massinde A. N., Kidenya B. R., Denna M., Morona D., Majinge G. and Uwe G. 2014. Sero-positivity rate of rubella and associated factors among pregnant women attending antenatal care in Mwanza, Tanzania. *Pregnancy and Childbirth* **14**: 95-99.
- Nardone A., Tischer A., Andrews N. 2008. Comparison of rubella seroepidemiology in 17 countries: progress towards international disease control targets. *Bulletin of the World Health Organization* **86 (2)**: 118–25.

- Ndumbe P. M., Andela A., Nkemnkeng A. J., Watonsi E., Nyambi P. 1992. Prevalence of infections affecting the child among pregnant women in Yaoundé, Cameroon. *Medical microbiology and immunology* **181** (3): 127-130.
- Nimpa M. M., Ndze V. N., Baonga F., Kobela M., Shey C. W. 2017. Epidemiology of rubella infection in Cameroon: a 7-year experience of measles and rubella case-based surveillance, 2008–2014. *British Medical Journal Open* **7**:1136-2016.
- NIP. 2002. National Immunization Program (3rd ed). *Manual for the Surveillance of Vaccine-Preventable Diseases* 8pp.
- Okikiola M. O., Aminu M., Randawa A. J. and Adejo D. S. 2015. Seroprevalence of rubella-specific IgM and IgG antibodies among pregnant women seen in a tertiary hospital in Nigeria. *International Journal of Women's Health* **7**: 75–83.
- Olajide O., Aminu M., Randawa J A. 2014. Seroprevalence of IgM antibody to rubella virus in Pregnant women in Zaria, Nigeria. *Archives of Medical and Biomedical Research* **1**(4): 129-138.
- OMS. 2010. Lutte contre la rubéole et prévention du Syndrome de Rubéole Congénitale- Progrès accompli au niveau mondial N<sup>o</sup>=15 Octobre 2010. *Relevé épidémiologique hebdomadaire* **85**: 413-424.
- Onakewhor J. U and Chiwuzie J. 2011. Seroprevalence survey of rubella infection in pregnancy at the University of Benin Teaching Hospital, Benin City, Nigeria. *The Nigerian Journal of Clinical Practice* **14**(2): 140 – 145.
- Onyenekwe C. C., Kehinde-Abgeyangi T. A., Ofor U. S., Arinola O. G. 2000. Prevalence of rubella-IgG antibody in women of childbearing age in Lagos, Nigeria. *West African journal of medicine* **19**(1): 23–26.
- Orenstein W. A., Bart K. J., Hinman A. R., Preblud S. R., Greaves W. L., Oster S. W., Stetler H. C., Sirotkin B. 1984. The opportunity and obligation to eliminate rubella from the United States. *Journal of the American Medical Association* **251**: 1988-1994.
- Picone O., Grangeot-Keros L. 2005. Rubéole et grossesse. *EMC-Gynécologie Obstétrique* **2**: 343–353.
- Plotkin., Stanley A., Orenstein., Walter A. 1998. (3rd ed). Philadelphia: W.B. Saunders Company. *Vaccines* pp 222-293, 409-441 and 508-531.
- Quinn F A. 2001. Bulk Reagent Random-Access Analyser: Architect i 2000. The immunoassay. Handbook, 2nd edition; 363-367.
- Ramachandran A. 2005. Epidemiology of diabetes in India, three decades of Research. *Journal of Associate Physicians Indian* **53**: 34-8.

- Rasool H., smayeh., Jalilvand., Talat., Mokhtari., Keramat., Nouri. 2005. Assessment of IgM enzyme immunoassay and IgG avidity assay for distinguishing between primary and secondary immune response to rubella vaccine. *Journal of Virological Methods* **130**: 59-65.
- Ray. 1993. Rubéole. In *Principes de Médecine Interne*. TR Harrison. Ed *Médecine Sciences Flammarion* pp 707-709.
- Reef S. E., Redd S. B., Abernathy E., Zimmerman L., Icenogle J. P. 2006. The epidemiological profile of rubella and congenital rubella syndrome in the United States, 1998-2004: the evidence for absence of endemic transmission. *Clinical Infectious Diseases* (**43**) **3**: 126-32.
- Reef S., Frey., Tery., Theall K., Abernathy E., Icenogle J. and Wharston M. 2002. The changing epidemiology of Rubella in the 1990s. On the Verge of Elimination and New Challenges for Control and Prevention. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases* (**287**): 52-63.
- Reis M. M., Tessaro M. M., Cruz S., Giordano S. A. and Azevedo P. A. 2004. Avidity of IgG for Rubella: An Evaluation of the Need for Implementation at the Materno-Infantil Presidente Vargas Hospital in Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases* **8(3)**: 249-254.
- Robertson S. E., Featherstone D. A., Gacic-Dobo M. and Hersh B. S. 2003. Rubella and congenital rubella syndrome. *Revista Panamericana de Salud Pública* **14 (5)**: 306–315.
- Schwarzer S. 1997. Safety and characterization of the immune response engendered by two combined measles, mumps, and rubella vaccines. *Vaccine* **16**: 298-304.
- Shigetaka K., Minaharab H., Fukushima M. 1997. Molecular Epidemiology of Rubella by Sequences of the Rubella Virus E1 Gene in Three East Asian Countries. *The journal of Infectious Diseases* **176**: 602-16.
- Six C., Bouraoui L., Levy-Bruhl D. 2003. La rubéole chez la femme enceinte et le nouveau-né en France métropolitaine : les données 2001 du réseau Rénarub BEH, N 2. 93pp.
- Soldani P., Spreafico A., Neri P. 1990. Structure of rubella E1 glycoprotein epitopes established by multiple peptide synthesis. *Archives of Virology* **110**: 271-276.
- Stan M. 1999. *Une étude sur les manifestations tardives de la rubéole congénitale au Canada*. L'Association Canadienne de la Surdicécité et de la Rubéole. 20pp.
- Stegmann B. J., Carey J. C. 2002. TORCH Infections. Toxoplasmosis, Other (syphilis, varicella-zoster, parvovirus B19), Rubella, Cytomegalovirus (CMV), and Herpes infections. *Current women's health reports* **2 (4)**: 253–258.
- Tahita M. C., Hübschen J. M., Tarnagda Z., Da E., Charpentier E., Kremer J. R., Muller C. P. and Ouedraogo J. B. 2013. Rubella seroprevalence among pregnant women in Burkina Faso. *Infectious Diseases* **13**: 164.

- Thomas H. I., Morgan-Capner P. 1991. Rubella Specific IgG1 avidity: a comparison of methods. *Journal of virology* **31**: 219-228.
- Thomas L. 1998. Clinical Laboratory Diagnostics. (First ed) *TH-Books*, Frankfurt/Main, Germany, Rubella virus. pp 1253-1255
- Tipples G., Hamkar R., Mohktari-Azad.T., Gray M., Ball J., Head C., Ratnam S. 2004. Evaluation of rubella IgM enzyme immunoassays. *Journal of Clinical Virology* **30**: 233–238.
- Toyoda M. 1999. Expression of interleukin-2 receptor and CD45RO antigen on T lymphocytes cultured with rubella virus antigen, compared with humoral immunity in rubella vaccinees. *Vaccine* **17**: 2051-2058.
- Vauloup-Fellous., Judith M., Hubschen., Abernathy E. S., Icenogle J., Gaidot N., Dubreuil P., Parent-du-Châtelet I., Grangeot-Keros L. and Muller C. P. 2010. Phylogenetic analysis of Rubella Virus involved in Congenital Rubella Infections in France between 1995 and 2009. *Journal Of Clinical Microbiology* **48(7)**: 2530–2535.
- Vynnycky E., Gay, N. J., Cutts F. T. 2003. The predicted impact of private sector MMR vaccination on the burden of Congenital Rubella Syndrome. *Vaccine* **21**: 2708-19.
- Vyse A. J., Jin L. 2002. An RT-PCR assay for detection of rubella virus genome in saliva samples. *Molecular and Cellular Probes* **16 (2)**: 93-97.
- Waxham M. N., Wolinsky J. S. 1985. Detailed immunological analysis of the structural polypeptides of rubella virus using monoclonal antibodies. *Virology* **143(1)**: 153-165.
- Weibel R. E., Benor D. E. 1996. Chronic arthropathy and musculoskeletal symptoms associated with rubella vaccines. A review of 124 claims submitted to the National Vaccine Injury Compensation Program. *Arthritis Rheum* **39(9)**: 1529-34.
- WHO. 1998. Expert Committee on Biological Standardization. Forty-seven report. Geneva. *Technical Report Series*. **878** (ISBN 9241208783): 10.
- WHO . 2007. *Manuals for the laboratory diagnosis of measles and rubella virus infection*. (2nd ed). WHO Geneva, Switzerland. 20pp.
- WHO 2000. Preventing congenital rubella syndrome. *Weekly epidemiology record* **76**: 289-96.
- WHO 2013. Rubella and congenital rubella syndrome control and elimination-Global Progress. *Weekly epidemiological record* **49 (88)**: 521–532.
- WHO. 2008. Global measles and rubella laboratory network update. *Weekly Epidemiological Record* **80**: 384-8.
- WHO. 2015. Measles vaccines: WHO position paper. *Weekly Epidemiological Record* **35(84)**: 349-360.

- Wolinsky J. S. 1996. *Rubella* In: *Fields K. B.N., Howley D. M., Chanock P. M., Menick R. M. and Roizman B. (3nded) Virology*. Philadelphia, Pa: Lipincott –Raven. pp. 899-929.
- Yavuz U., Balci A., Akcali A., Cabar C. 2008. Prevalence of rubella and cytomegalovirus antibodies among pregnant women in northern Turkey. *New Microbiologica* **31**: 451-455.
- Zanga J., Mbanzulu M. K., Kabasele A. F., Ngatu N. G. and Wumba D. R. 2017. Rubella Seroprevalence and real-time PCR detection of RUBV among Congolese pregnant women. *BMC Infectious Diseases* **17(1)**: 250.
- Zheng., Du-Ping., ZhouY. M., Zhao K., Han Y. and Frey T. K. 2003. Characterization of genotype II Rubella virus strains. *Archives of Virology* **148**: 1835-1850.

# **ANNEXES**



## COMITÉ NATIONAL D'ETHIQUE NATIONAL ETHICS COMMITTEE



- N° d'enregistrement : IORG0006538-IRB00007847-FWA00016054 BP 1937, Yaoundé, Tel: (237) 22 21 12 84  
- Arrêté N° 079/A/MSP/DS du 22 octobre 1987 portant création et organisation d'un Comité d'Ethique de la Recherche (CER) impliquant les êtres humains  
[cneprot@yahoo.fr](mailto:cneprot@yahoo.fr)

Yaoundé, le 02 mai 2012

### AUTORISATION N°210/CNE/SE/2012

## CLAIRANCE ETHIQUE

Le Comité National d'Ethique a examiné ce 02 mai 2012, la demande de clairance éthique au projet de recherche intitulé: «**CARACTERISATION MOLECULAIRE DE *Plasmodium falciparum* spp. ET DU VIRUS DE LA RUBEOLE CHEZ LES FEMMES ENCEINTES**» soumis par l'étudiante **MAKEMGUE Louise Stéphanie**, Investigatrice Principale.

Le sujet est digne d'intérêt. Les objectifs de l'étude sont bien définis. Les risques liés à la procédure proposée par l'étudiante (prélèvement sanguin) devront être davantage minimisés en milieu hospitalier et par l'implication du personnel qualifié dans la mise en œuvre du protocole. Par ailleurs, les considérations éthiques sont acceptables. Pour toutes ces raisons, le Comité National d'Ethique approuve pour une période d'un an, la mise en œuvre de la présente version du protocole.

**L'étudiante MAKEMGUE Louise Stéphanie** est responsable du respect scrupuleux du protocole approuvé et ne devra y apporter aucun amendement aussi mineur soit-il sans avis favorable du Comité National d'Ethique. Elle est appelée à collaborer pour toute descente du Comité National d'Ethique pour suivi de la mise en œuvre du protocole approuvé. Le rapport final du projet devra être soumis au Comité National d'Ethique et aux autorités sanitaires du Cameroun.

La présente clairance peut être retirée en cas de non respect de la réglementation en vigueur et des recommandations sus-mentionnées.

En foi de quoi la présente Clairance Ethique est délivrée pour servir et valoir ce que de droit.

LE PRESIDENT

Pr. Lazare KAPTUE

## **Annexe 2:** Formulaire d'information

**Titre : Infection rubéolique chez les femmes enceintes à Yaoundé, Cameroun : statut sérologique et détection du génome viral.**

**Investigateur principal : MAKEMGUE Louise Stéphanie**

**Objectif principal :** Déterminer le statut immunitaire des femmes enceintes vis-à-vis de la rubéole et évaluer l'incidence de la rubéole gravidique. Si la rubéole survient durant la grossesse, en particulier au cours du premier trimestre, elle peut entraîner un avortement spontané, la mort fœtale, la mortinaissance ou la naissance d'un enfant atteint de malformations congénitales appelées syndrome de rubéole congénitale.

**Echantillonnage :** Pour notre étude, 4 ml de sang seront prélevés d'une veine ponctionnée au niveau du bras, au moyen d'une aiguille à usage unique fixée sur un vacutainaire portant un tube sec bien étiqueté.

### **Risques éventuels et inconforts :**

- L'aiguille utilisée lors du prélèvement sanguin causera une légère douleur au point de piqûre. Il est à noter que cette aiguille à usage unique sera immédiatement jetée puis détruite selon la réglementation en vigueur en matière d'hygiène ;
- il peut avoir apparition d'une inflammation au point de prélèvement ;
- dans le cas où la patiente présente des veines inapparentes, la piqûre peut être faite plus d'une fois.

### **Compensations :**

- Le diagnostic de la rubéole sera réalisé gratuitement pour toutes les participantes ;
- les participantes recevront des informations sur les voies de transmission, les risques et les moyens de prévention de ce pathogène ;
- les participantes recevront leurs résultats d'examen ;
- pour les participantes diagnostiquées suspectes de primo-infection susceptible d'entraîner un SRC, il leur sera conseillé de faire un diagnostic postnatal de rubéole.

**Confidentialité :** Les échantillons ne porteront pas votre nom ou autre identification spécifique à votre sujet. Des codes seront attribués à chaque échantillon sanguin. Votre anonymat sera ainsi totalement préservé. Nous ne ferons mention d'aucune identification à votre sujet dans les publications tirées de cette étude.

**Participation volontaire :** Participer à cette étude est volontaire, vous pouvez choisir de ne pas participer ou d'y renoncer à tout moment. En outre, renoncer à y participer ne fera l'objet d'aucune pénalité.

**Annexe 3 : Consentement éclairé**

« Je consens volontairement à participer à cette étude de recherche. J'ai lu et compris les informations, les procédures décrivant cette étude. A ma satisfaction, toutes les questions que j'ai posées ont été répondues et ce consentement a été volontairement signé; dépendant de ma volonté d'y participer. Je comprends que je recevrai une copie de ce formulaire si je le désire ».

Code patiente : .....

**Signature de l'investigateur**

**Signature de la patiente**

## Annexe 4 : Questionnaire

### 1. Identification

DDR..... DPA.....

Numéro d'ordre.....

### 2. Données démographiques et socioculturelles

Age.....

Statut matrimonial M  C

Lieu de résidence .....

Age gestationnel.....

Parité.....

Numéro de téléphone.....

### 3. Données socioéconomiques

Profession.....

Niveau d'étude.....

### 4. Antécédents obstétricaux

- Nombre d'enfants vivants.....
- Nombre d'enfants perdus..... Si oui âge au décès.....
- Nombres d'avortements spontanés.....

### 5. Signes cliniques

• Fièvre oui  non  Température.....

• Eruptions maculopapuleuses oui  non

Lieu d'apparition.....

Moment d'apparition.....

### 6. Connaissances sur la rubéole

- Avez-vous déjà entendu parler de la rubéole ? oui  non   
si oui à quelle occasion ?.....
- Connaissez-vous les voies de transmission de la rubéole ? oui  non
- Connaissez-vous les moyens de prévention de cette maladie ? oui  non

### 7. Vaccination

- Avez-vous déjà entendu parler du vaccin ROR ? oui  non   
si oui à quelle occasion ?.....
- Etes-vous vaccinées contre la rubéole ? oui  non

**Annexe 5: Stabilité et conditions de conservation des réactifs pour rechercher des IgG antirubéoleuses par Siemens**

Matériels/Réactifs	Etat après ouverture	Conservation	Stabilité
Plaqué Enzygnost <sup>R</sup> Anti-virus de la rubéole/IgG Barettes restantes		2-8 <sup>0</sup> C dans le sachet avec un déssicant	8 semaines
Conjugué anti-IgG humaines/POD	diluer 1+50	2-8 <sup>0</sup> C	12mois
		2-8 <sup>0</sup> C	4 semaines
		15-25 <sup>0</sup> C	1 jour
Tampon conjugué microbiol		2-8 <sup>0</sup> C	8 semaines
Référence anti-virus de la rubéole P/N	Diluer 1+20	2-8 <sup>0</sup> C	12 mois
		2-8 <sup>0</sup> C	
Tampon d'échantillon POD		2-8 <sup>0</sup> C	8 semaines
Chromogène TMB		2-8 <sup>0</sup> C	date de péremption
Tampon/substrat TMB		2-8 <sup>0</sup> C	date de péremption
Solution de travail chromogène	Diluer à 1+10	2-8 <sup>0</sup> C	5 jours
		15-25 <sup>0</sup> C contenant fermé porté à l'abri de la lumière	8 heures
Solution de lavage POD	Diluer à 1+19	2-8 <sup>0</sup> C	1 semaine
		18-25 <sup>0</sup> C	24 heures
Solution colorante Bleue pour Enzygmost <sup>R</sup>		2-8 <sup>0</sup> C	date de péremption
Solution d'arrêt POD		2-8 <sup>0</sup> C	date de péremption

Annexe 6 : Observation des membranes après immunoblot

714  
51  
V18

**Auswertebogen**  
Evaluation form

**MIKROGEN**  
molekularbiologische Entwicklungs-GmbH

Datum: 08/12/16      Bearbeiter: St. Plauer

Chargen-Nr.: 471 21071601      Röhrchen-Nr.: AVS1611601      Antikörper-Klasse: \_\_\_\_\_  
 Charge No.      Tube No.      Antibody class

Florianbogen 2-4  
D-82081 Neuried  
Tel. +49 (0)89 54 80 1-0  
Fax +49 (0)89 54 80 1-100

Nr. No.	Probe Sample	recomBlot Rubella Art.Nr. 4802 Art.No.		Nr. No.	Erkannte Banden Antigen bands				Beurteilung Interpretation
		lgG			E1-E2	c	E1	E2	
1	STG 3	+	+	1	-	-	+		
2	STG 6	+	+	2	-	-	+	+	
3	STG 36	+	+	3	+	+	+	+	
4	STG 47	+	+	4	+	+	+	+	
5	STG 55	+	+	5	+	+	+	+	
6	STG 58	+	+	6	+	+	+	+	
7	STG 71	+	+	7	+	+	+	+	
8	STG 82	+	+	8	-	-	+	+	
9	STG 112	+	+	9	-	-	+	+	
10	STG 119	+	+	10	+	+	+	+	
11	STG 130	+	+	11	+	+	+	+	
12	STG 159	+	+	12	-	-	+	+	
13	STG 167	+	+	13	-	-	+	+	
14	STG 171	+	+	14	-	-	+	+	
15	STG 174	+	+	15	-	-	+	+	
16	STG 185	+	+	16	-	-	+	+	
17	STG 188	+	+	17	-	-	+	+	
18	STG 201	+	+	18	-	-	+	+	
19	control(1)	+	+	19					
20	control(2)	+	+	20					

MIKROGEN

Auswertebogen  
Evaluation form

**MIKROGEN**

molekularbiologische Entwicklungs-GmbH

Datum: 12.11.2016  
Date

Bearbeiter: Stephanus  
Testing person

Floriansbogen 2-4

D-82061 Neuried

Tel. +49 (0)89 54 80 1-0

Fax +49 (0)89 54 80 1-100

Chargen-Nr.: Lot: RU 05/1601  
Charge No.

Röhrchen-Nr.: RU 5105/1601  
Tube No.

Antikörper-Klasse:  
Antibody class

Färbezeit:  
Time of dyeing

Nr. No.	Probe Sample	recomBiot Rubella Art.Nr. 4902 A1.No.				Nr. No.	Erkannte Banden Antigen bands				Bewertung Interpretation
		IgG					E1-E2	c	E1	E2	
1	Control Pos	1601	1602	1603	1604	1	+	+	Pos	Pos	
2	STE 207	1601	1602	1603	1604	2	+	-	Pos	Pos	
3	STE 216	1601	1602	1603	1604	3	+	-	Pos	Pos	
4	STB 245	1601	1602	1603	1604	4	-	-	Pos	Pos	
5	STG 270	1601	1602	1603	1604	5	-	-	Neg	Neg	
6	STB 283	1601	1602	1603	1604	6	-	-	Pos	Neg	
7	STG 291	1601	1602	1603	1604	7	-	-	Pos	Neg	
8	STG 319	1601	1602	1603	1604	8	-	-	Pos	Neg	
9	STG 320	1601	1602	1603	1604	9	-	-	Neg	Neg	
10	STG 337	1601	1602	1603	1604	10	-	-	Pos	Pos	
11	STB 350	1601	1602	1603	1604	11	+	-	Pos	Pos	f
12	STG 366	1601	1602	1603	1604	12	+	-	Pos	Pos	f
13	STB 400	1601	1602	1603	1604	13	-	-	Neg	Neg	
14	STB 428	1601	1602	1603	1604	14	+	Neg	Pos	Pos	
15	STG 429BIS	1601	1602	1603	1604	15	+	-	Pos	Pos	
16	STG 459	1601	1602	1603	1604	16	-	-	Neg	Neg	
17	STB 459BIS	1601	1602	1603	1604	17	-	-	Neg	Neg	
18	STB 488	1601	1602	1603	1604	18	-	+	Pos	Pos	f
19	STG 471	1601	1602	1603	1604	19	+	-	Pos	Pos	
20	Control Neg	1601	1602	1603	1604	20	-	-	Pos	Pos	

ADRIUM 031/00

Auswertebogen  
Evaluation form

**MIKROGEN**

molekularbiologische Entwicklungs-GmbH

Datum: 21.12.16  
Date

Bearbeiter: Stephanie  
Testing person

Floriansbogen 2-4

D-82081 Neuried

Chargen-Nr.: RU 09 16.1  
Charge No.

Röhrchen-Nr.: RU 515/16.1 Antikörper-Klasse: \_\_\_\_\_  
Tube No. Antibody class

Färbezeit: \_\_\_\_\_  
Time of dyeing

Tel. +49 (0)89 54 80 1-0

Fax +49 (0)89 54 80 1-100

Nr. No.	Probe Sample	recomBlot Rubella Art.Nr. 4902 Art.No.				Nr. No.	Erkannte Banden Antigen bands				Beurteilung Interpretation
		IgG					E1-E2	c	E1	E2	
1	STE 284	RU 01	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2	STE 288	RU 02	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3	STE 475	RU 03	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4	STE 483	RU 04	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5	STE 490	RU 05	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6	STE 400BIS	RU 06	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7	STE 504	RU 07	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8	STE 504BIS	RU 08	+	+	+	+	+	+	+	+	+
9	STE 537	RU 09	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10	STE 537BIS	RU 10	+	+	+	+	+	+	+	+	+
11	STE 540	RU 11	+	+	+	+	+	+	+	+	+
12	STE 540BIS	RU 12	+	+	+	+	+	+	+	+	+
13	STE 544	RU 13	+	+	+	+	+	+	+	+	+
14	STE 544BIS	RU 14	+	+	+	+	+	+	+	+	+
15	STE 6	RU 15	+	+	+	+	+	+	+	+	+
16	STE 67	RU 16	+	+	+	+	+	+	+	+	+
17	STE 58	RU 17	+	+	+	+	+	+	+	+	+
18	STE 71	RU 18	+	+	+	+	+	+	+	+	+
19	Control Neg	RU 19	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20	Control Pos	RU 20	+	+	+	+	+	+	+	+	+

AP09011A0074.doc

**PUBLICATIONS TIREES DE LA THESE**

### **Publications tirées de la Thèse**

1. Makemgue L S., Eno A A., Tonye D S., Boye C S., Seck A., Bercion R., Vuloup-Fellous C. and TchuemTchunte L A. 2016. Seroprevalence of Rubella IgG antibody in pregnant women in Yaounde, Cameroon. *International Journal of Information Research and Review* **11**: 3008-3012.
2. Eno A A., Makemgue L S., Tonye D S., Boye C S., Seck A., Bercion R., Vuloup-Fellous C. and TchuemTchunte L A. 2018. Seroprevalence of rubella-specific IgM and IgG antibodies among pregnant women in a Catholic Hospital in Yaoundé, Cameroon. *International Journal of Biological and chemical Sciences* **12(3)**: 1123-1130.