

BURKINA FASO

UNIVERSITE DE OUAGADOUGOU CENTRE NATIONAL DE RECHERCHE
ET
DE FORMATION SUR LE PALUDISME

UNITE DE FORMATION ET DE
RECHERCHE EN SCIENCE
DE LA SANTE (UFR/SDS)

SECTION PHARMACIE

Année Universitaire 2002-2003

Thèse N°

Polymorphisme allélique du gène MSP-2 de Plasmodium falciparum et pathogénie de l'anémie palustre sévère chez des enfants de 0 à 5 ans de la province du Boulgou (Burkina Faso)

THESE

Présentée et soutenue publiquement le 03 avril 2003

pour l'obtention du **DOCTORAT en PHARMACIE**

(diplôme d'état)

Par

SOULAMA Issiaka

Né le 05 juin 1973 à Banfora (Burkina Faso)

Directeur de Thèse

Pr. Ag. Mamadou SAWADOGO

Co-directeur

Dr Sodiomon B. SIRIMA

JURY

Président : Pr. T. Robert GUIGUEMDE

Membres : Pr. Ag. Ludovic Kam
Pr. Ag. Mamadou SAWADOGO
Dr Laurent OUEDRAOGO
Dr Sodiomon B. SIRIMA

UNIVERSITE DE OUAGADOUGOU

Unité de formation et de Recherche des Sciences de la Santé (UFR/SDS)

LISTE DES RESPONSABLES ADMINISTRATIFS

Directeur	Pr. Amadou SANOU
Directeur Adjoint	Pr. Ag. Y. Joseph DRABO
Coordonnateur de la Section Pharmacie	Pr. Ag. Mamadou SAWADOGO
Coordonnateur de la Section Médecine	Pr. Amadou SANOU
Coordonnateur de la Section Techniciens Supérieurs	Pr. Blaise KOUDOGBO
Directeur des Stages de la Section Médecine (Ouagadougou)	Pr. Ag. Y. Joseph DRABO
Directeur des Stages de la Section de Pharmacie	Dr Jean Baptiste NIKIEMA
Secrétaire Principal	M. Fakouo TRAORE
Chef de Service Administratif et Financier (CSAF)	M. Harouna TATIETA
Responsable de la Bibliothèque	Mme Mariam TRAORE
Chef de la Scolarité	Mme Kadi ZERBO
Secrétaire du Directeur	Mme Edwige BONKIAN
Secrétaire du Directeur Adjoint	Mme Hakiéta KABRE

UNIVERSITE DE OUAGADOUGOU

Unité de formation et de Recherche
des Sciences de la Santé
(UFR/SDS)

LISTE DES ENSEIGNANTS DE L'UFR/SDS AU TITRE DE L'ANNEE 2002 / 2003

ENSEIGNANTS PERMANENTS

Professeurs titulaires (09)

Rambré Moumouni	OUIMINGA	Anatomie organogénèse et chirurgie
Hilaire (in memoriam)	TIENDREBEOGO	Sémiologie et Pathologies médicales
Tinga Robert	GUIGUEMDE	Parasitologie
Bobilwindé Robert	SOUDRE	Anatomie -Pathologique
Amadou SANOU		Chirurgie Générale et Digestive
Innocent Pierre	GUISSOU	Pharmacologie et Toxicologie
Bibiane	KONE	Gynécologie - Obstétrique
Alphonse	SAWADOGO	Pédiatrie
Blaise	SONDO	Santé Publique

Professeur associé (01)

Blaise

KOUDOGBO

Toxicologie

Maîtres de Conférences (27)

Julien

YILBOUDO

Orthopédie -
Traumatologie

Kongoré Raphaël

OUEDRAOGO

Chirurgie -
Traumatologie

François René

TALL

Pédiatrie

Jean

KABORE

Neurologie

Joseph Y.

DRABO

Médecine Interne/
Endocrinologie

Jean

LANKOANDE

Gynécologie -
Obstétrique

Issa

SANOU

Pédiatrie

Ludovic

KAM

Pédiatrie

Adama

LENGANI

Néphrologie

Oumar

TRAORE N°1

Orthopédie-
Traumatologie

Kampadilemba

OUBA

Oto-Rhino-Laryngologie

Piga Daniel

ILBOUDO

Gastro-entérologie

Albert

WANDAOGO

Chirurgie Pédiatrique

Adama

TRAORE

Dermatologie Vénérologie

Mamadou

SAWADOGO

Biochimie

Arouna

OUEDRAOGO

Psychiatrie

Joachim

SANOU

Anesthésie -Réanimation

Théophile L.

TAPSOBA

Biophysique - Médecine
Nucléaire

Daman	SANO	Chirurgie Viscérale
Patrice	ZABSONRE	Cardiologie
Jean Gabriel	OUANGO	Psychiatrie
Georges	KI-ZERBO	Maladies Infectieuses
Rabiou	CISSE	Radiologie
Blami	DAO	Gynécologie- Obstétrique
Alain	BOUGOUMA	Gastro-Entérologie
Michel	AKOTIONGA	Gynécologie - Obstétrique
Rasmata	OUEDRAOGO/TRAORE	Bactério - Virologie

Mâtres-Assistants (33)

Lady Kadidiatou	TRAORE	Parasitologie
Si Simon	TRAORE	Chirurgie Viscérale
Abdoulaye	TRAORE	Santé Publique
Boubakar	TOURE	Gynéco -Obstétrique
Alain	ZOUBGA	Pneumologie
Boubacar	NACRO	Pédiatrie
Abel	KABRE	Neuro -Chirurgie
Maïmouna	DAO / OUATTARA	ORL
Nicole Marie	KYELEM / ZABRE	Maladies Infectieuses
Antoinette	TRAORE / BELEM	Pédiatrie
Kapouné	KARFO	Psychiatrie
Timothée	KAMBOU	Chirurgie -Urologique
Jean Baptiste	NIKIEMA	Pharmacognosie

Ali	NIAKARA	Cardiologie
André K.	SAMANDOULOUGOU	Cardiologie
Pingwendé	BONKOUNGOU	Pédiatrie
Dieudonné N.	MEDA	Ophthalmologie
Athanase	MILLOGO	Neurologie
Nazinigouba	OUEDRAOGO	Réanimation / Physiologie
Diarra	YE / OUATTARA	Pédiatrie
Laurent	OUEDRAOGO	Santé Publique
Lassina	SANGARE	Bactério -Virologie
Abel Y.	BAMOUNI	Radiologie
Arsène M. D.	DABOUE	Ophthalmologie
Claudine Léonie	LOUGUE/SORGHO	Radiologie
Lucie Valerie Adélaïde	NEBIE	Cardiologie
Moussa	BAMBARA	Gynécologie - Obstétrique
Appolinaire	SAWADOGO	Gastro-Entérologie
Martial	OUEDRAOGO	Pneumo-Phtisiologie
Pascal Antoine	NIAMPA	Dermatologie Vénérologie
Emile	BANDRE	Chirurgie générale et digestive
Issa Touridomon	SOME	Chimie Analytique
Rasmané	SEMDE	Pharmacie Galénique

Assistants (25)

Christian T.	SANOU (in memoriam)	Oto-Rhino - Laryngologie
Doro	SERME (in memoriam)	Cardiologie
Hamadé	OUEDRAOGO	Anesthésie -Réanimation physiologie
Alexis	ROUAMBA	Anesthésie -Réanimation physiologie
Théophile M.	COMPAORE	Chirurgie traumatologique
Rigobert	THIOMBIANO	Maladies Infectieuses
Raphaël	DAKOURE	Chirurgie Digestive
Raphaël	SANOU (in memoriam)	Pneumo-ptisiologie
Oumar	TRAORE N°2 (in memoriam)	Radiologie
Vincent	OUEDRAOGO	Médecine du Travail
Christophe S.	DA	Chirurgie Traumatologique
Aurélien Jean	SANON	Chirurgie Digestive
Barnabé	ZANGO	Chirurgie Urologique
Blandine	THIEBA	Gynécologie-Obstétrique
Abdel Karim	SERME	Gastro-Entérologie
Fatou	BARRO	Dermatologie Vénérologie
GOUMBRI / Olga	LOMPO	Anatomie Pathologique
Moussa	KERE	Santé Publique
Innocent	NACOULMA	Orthopédie- Traumatologie
Françoise Danielle	MILLOGO/TRAORE	Gynécologie - Obstétrique

Théodore Z.	OUEDRAOGO	Santé Publique
André P.	KOALAGA	Gynécologie - Obstétrique
Syranyan	SEKOULE	Psychiatrie
Dieudonné	OUEDRAOGO	Chirurgie maxilo -faciale
Moussa	OUEDRAOGO	Pharmacologie

Assistants Biologistes des Hôpitaux (04)

Idrissa	SANOU	Bactério -Virologie
Harouna	SANON	Hématologie / Immunologie
Jean	SAKANDE	Biochimie
Elie	KABRE	Biochimie

ENSEIGNANTS NON PERMANENTS

UFR des Sciences de la vie et de la terre (UFR/SVT)

et

UFR des Sciences exactes et Appliquées (UFR/ SEA)

Professeurs Titulaires

Akry	COULIBALY	Mathématiques
Sita	GUINKO	Botanique -Biologie Végétale
Guy V.	OUEDRAOGO	Chimie Minérale
Laya	SAWADOGO	Physiologie -Biologie Cellulaire

Laou Bernard	KAM (in memorian)	Chimie
Wendengoudi	GUENDA	Zoologie

Maitres de conférence

Boukary	LEGMA	Chimie -Physique- Générale
François	ZOUGMORE	Physique
Adama	SABA	Chimie Organique
Philippe	SANKARA	Cryptogamie et Phytopharmacie
Gustave	KABRE	Biologie Générale
Abdoulaye	SAMATE	Chimie Organique

Maitres - Assistants

Makido B.	OUEDRAOGO	Génétique
Raymond	BELEMTOUNGOURI	T.P. Biologie Cellulaire
Drissa	SANOU	Biologie Cellulaire

Assistant

Apolinaire	BAYALA (in memoriam)	Physiologie
------------	----------------------	-------------

Institut du Développement Rural (IDR)

Maîtres de Conférences

Didier	ZONGO	Génétique
Georges Annicet	OUEDRAOGO	Biochimie

UFR des Sciences Economiques et de Gestion (UFR/SEG)

Maître-Assistant

Tibo Hervé	KABORE	Economie-Gestion
------------	--------	------------------

UFR des Sciences Juridiques Politiques (UFR/SJP)

Assistant

Jean Claude	TAITA	Droit et Législation
-------------	-------	----------------------

ENSEIGNANTS VACATAIRES

M.	DAHOU (in mémoriam)	Hydrologie
Dr Annette	OUEDRAOGO	Stomatologie
Dr Adama	THIOMBIANO	Législation Pharmaceutique
Dr Sidiki	TRAORE	Chimie Analytique
M. Mamadou	DIALLO	Anglais
Dr Badiori	OUATTARA	Galénique
Dr Alassane	SICKO	Radiologie
Dr Sylvestre	TAPSOBA	Nutrition

Dr Maminata	TRAORE / COULIBALY	Biochimie
Dr Seydou	SOURABIE	Pharmacognosie / Biochimie
Dr Félix	KINI	Chimie
Dr Lamine	OUEDRAOGO	Biologie Cellulaire
Dr Marie Françoise	OUEDRAOGO	Mathématiques
Mme Cécile	OUEDRAOGO	Anglais

ENSEIGNANTS MISSIONNAIRES

A.U.P.E.L.F.

Pr. Lamine	DIAKHATE	Hématologie (Dakar)
Pr. Abibou	SAMB	Bactério -Virologie (Dakar)
Pr. Mbayang	NDIAYE-NIANG	Physiologie (Dakar)
Pr. Emmanuel	BASSENE	Pharmacognosie/ Phytothérapie (Dakar)
Pr. Mamadou	BADIANE	Chimie Thérapeutique (Dakar)
Pr. Babacar	FAYE	Pharmacologie (Dakar)

Mission Française de Coopération

Pr. Etienne	FROGE	Médecine Légale (Tours)
Pr. Raphaël	DARBOUX	Histologie -Embryologie

Mission de l'Université Libre de Bruxelles (ULB)

Pr. Jean	NEVE	Chimie- Thérapeutique
Pr. Viviane	MOES	Galénique

DEDICACES

A feu mon père.

Mon bonheur serait encore plus immense si tu avais été là, oui en ce moment. Fier de toi, loin de moi, je n'oublierai jamais ces mots de courage, d'intégrité, d'honnêteté que tu m'as appris.

Oui tu as été un digne père, à mon tour d'être un digne fils.

Reposes en PAIX.

A ma mère.

Les mots me manquent pour te traduire ma fierté. Tes conseils, tes encouragements, tes bénédictions et surtout ta patience m'ont permis d'atteindre ce résultat. Que le seigneur t'accorde longue vie afin que tu puisses jouir du fruit de tes peines.

A mes frères et sœurs.

Moussa, Hamadou, Drissa, Mariam, Awa, Aramatou.

Votre chaleur et votre compréhension m'ont toujours aidé. Que les vœux de solidarité familiale qu'ont toujours faits nos parents à notre endroit fassent écho en chacun de nous, afin que nous soyons soudés pour toujours. Ce travail est aussi le vôtre.

A mon oncle et à ma tante.

Vous avez été mes parents adoptifs à Ouagadougou.

Vos conseils et votre hospitalité indéfectible ont été un second souffle pour moi. Ce succès ne serait certainement pas possible sans votre soutien.

Recevez ici, toute ma reconnaissance et ma profonde gratitude.

A ma bien aimée.

Tu as su me reconforter pendant les moments difficiles. Puisse ce travail nous unir davantage.

A Mme et M. Dumont.

Chacune des pages de ce travail porte en elle vos empreintes. Notre amitié est indescriptible. De l'imaginaire nous avons tissé des liens forts et fructueux. Puisse notre histoire d'amitié servir d'exemple à d'autres. Ce travail est aussi le vôtre. Profonde gratitude.

A mes cousins et cousines.

Soungalo, Massara, Makèti, Téra, Mawa, Souleymane, Tiakoumbié.

Vous avez été d'un soutien inestimable pendant mes moments difficiles. Recevez ici, toute ma gratitude et ma profonde reconnaissance.

A mes promotionnaires de P'URS/SDS.

Kafando, Kadeba, Marcel, Sondé, Nathalie, Ines, Barry, Alain, Armel, Amina, Ruth, Siéba et tous les autres internes de Pharmacie et de Médecine.

Le chemin a été long et difficile. Nous avons été unis par ces études, restons toujours solidaires. Ce travail est aussi le vôtre.

En ce moment précis, je pense particulièrement à Neyya Amed (in memoriam) qui nous a quitté brusquement un certain matin de juillet 2002. Reposes en PAIX.

Aux enfants qui ont été impliqués dans ce travail.

Vous avez consenti le plus grand sacrifice à ce travail, en consacrant quelques millilitres de votre sang pour faire comprendre cette triste affection. Puisse ce travail en retour vous être bénéfique.

***A NOS MAITRES
ET JUGES***

A Notre Maître et Président du Jury

Monsieur le Professeur Tinga Robert GUIGUEMDE

*Professeur Titulaire de Parasitologie à l'UFR/SDS
Chef de la section parasitologie du Centre Muraz
(Bobo Dioulasso)*

Cher Maître, nous sommes très sensibles à l'honneur que vous nous faites en acceptant, malgré vos multiples occupations de présider le Jury de notre modeste thèse.

Nous avons eu la chance et le privilège de bénéficier de vos enseignements de qualité à l'UFR/SDS. Votre modestie, votre disponibilité et vos connaissances scientifiques immenses nous ont beaucoup marquées.

Trouvez ici, cher Maître, l'expression de notre sincère reconnaissance, de notre admiration et de notre respectueuse considération.

A Notre Maître et Directeur de Thèse

Monsieur le Professeur Agrégé Mamadou SAWADOGO

Maître de conférence de Biochimie à l'UFRRH/SDS

Coordonnateur de la section Pharmacie de l'UFRRH/SDS

Cher maître, malgré vos occupations vous avez accepté de diriger ce travail, cela avec rigueur et disponibilité.

Votre compétence, votre rigueur dans le travail, vos grandes connaissances scientifiques et surtout votre disponibilité pour les étudiants sont les motifs de notre admiration pour vous.

Puisse ce travail satisfaire vos attentes.

Recevez ici, cher Maître, le témoignage de notre profonde gratitude, notre profond respect et notre attachement.

A Notre Maître et Co-Directeur de Thèse

Monsieur le Docteur Sodiomon Bienvenu SIRIMA

Médecin de Santé publique au Centre National de Recherche et de Formation sur le Paludisme

Cher Maître, vous avez co-dirigé ce travail avec rigueur en lui imprimant vos qualités de chercheur et d'épidémiologiste, cela malgré vos multiples sollicitations de toute part.

Nous avons réellement abusé de votre temps, mais vos qualités humaines ont prévalu.

A votre contact, nous avons apprécié votre grande disponibilité pour l'encadrement des étudiants.

Trouvez ici, cher Maître, l'expression de notre respectueuse considération

A notre Maître et Juge

Monsieur le Professeur Agrégé Ludovic KAM

Maître de conférence de Pédiatrie à l'UFR/SDS

Cher Maître, nous sommes très sensibles à l'honneur que vous nous faites en acceptant, malgré vos occupations, de juger ce travail.

C'est un grand plaisir pour nous de vous compter parmi les membres de notre jury.

Recevez ici, cher Maître, nos vifs remerciements.

A notre Maître et Juge

Monsieur le Docteur Laurent OUEDRAOGO

Maître-Assistant de Santé Publique à l'UFR/SDS

Cher Maître, vous nous honorer en acceptant de sacrifier un peu de votre précieux temps pour juger ce travail.

Nous avons eu la chance de bénéficier de vos enseignements de qualité en Santé Publique à l'UFR/SDS.

C'est le moment pour nous, de vous dire Merci et de vous traduire toute notre gratitude et notre profond respect.

REMERCIEMENTS

A tout le personnellement du Centre national de recherche et de formation sur le paludisme.

Au Dr Xavier PITROÏPA, Directeur du Centre National de Recherche et de Formation sur le Paludisme.

Aux Dr Edith SANOGO, Dr Nadine OUATTARA, M. Diallo D, Mme KONVELBO.

Sincère reconnaissance et profond respect.

Aux Dr SAGNON N'Falé, Dr Issa NEBIE, Amidou DIARRA, Mr KONE, Dr Amadou KONATE, Dr TIONO "Les Kôrô"

Votre sens de l'humour, votre disponibilité constante, votre simplicité font de vous des hommes facilement accessibles. Puissent ces principes nous servir d'exemple. Gratitude et reconnaissance pour votre soutien inestimable.

A M. Remy MOREY

Vous qui faites de la formation des étudiants votre leitmotiv au CNRFP, recevez ici, nos sincères remerciements et notre profonde reconnaissance. Puisse votre exemple servir à d'autres coopérants.

A tous les étudiants stagiaires du CNRFP

André Lin (Toi qui à chaque instant a su me donner le coup de pouce nécessaire), Sekou, Mme Yougbaré, Edith, Amariane, Athanase, Bassolé, Moussa. Courage à vous.

Au techniciens de laboratoire du CNRFP

Bénoit (avec qui j'ai beaucoup appris en Biologie moléculaire), Sankara, Albert, Daniel, Désiré, Traoré, Tarama, Mathias, Amathe, Roland.

Au personnel administratif du CNRFP.

Au personnel de la salle de saisie.

Au personnel du laboratoire d'entomologie

Particulièrement à Pierre et Sanou. Merci pour votre collaboration

Aux gardiens du CNRFP

Vous qui êtes toujours là, à chaque instant pour nous faciliter l'accès au Centre. Merci infiniment.

Au personnel du service de pédiatrie du CHR de Tenkodogo

Merci pour votre disponibilité et votre engouement pour ce travail. Puisse ce travail auquel vous avez contribué, satisfaire pleinement vos attentes. Profonde gratitude et bon courage.

AU Dr Issa SOME, Maître assistant de Chimie Analytique à l'UFR/SDS. Merci pour les appuis inestimables reçus pour la saisie et la rédaction de ce document.

A MES AMIS, Dr Soma, Dr Gansane, Dr Nikiema, Ben, Herman, Hamidou, Lassina, Kassoum, Henri Motte, Foster, Ghislain, Moussa, Mathias, Robert, Jacquélin.

Merci pour votre amitié.

LISTE DES ABREVIATIONS ET SIGLES

ADN : Acide désoxyribonucléique

AMA-1 : Apical membran antigen-1

CHR : Centre hospitalier régional

CNRFP : Centre national de recherche et de formation sur le paludisme

CTAB : Cétyle-triammonium bromide

CSP : Circum sporozoite protein

DTAB : Dodécyle-triammonium bromide

DDT : Dichloro-diphényl-trichloroéthane

DR : Détresse respiratoire

EDTA : Ethylène diamine tétra-acétique

EBA-175 : Erythrocyte binding antigen-175

GDH : Glucose déshydrogénase

GLURP : Glutamate-rich-protein

LSA-1 : Liver stage antigen-1

mmol/L : millimoles/litre

MSP 1, 2,3 : Merozoite surface protein 1,2,3

NAD : Nicotinamide adénine dinucléotide

OAP : Œdème aigu du poumon

OMS : Organisation mondiale de la santé

PNUD : Programme des nations unies pour le développement

PCR : Polymerase chain reaction

PCR-RLFP : Polymerase chain reaction- restriction fragment length polymorphism

PfEMP-1 : *Plasmodium falciparum* erythrocyte membrane protein-1

Pf 332 : *Plasmodium falciparum* 332 antigen

RESA : Ring-infected erythrocyte surface antigen

SERA : Serine repeat antigen

Spf66 : Synthetic peptide of *P.falciparum* 66

UNICEF : Fond des nations unies pour l'enfance

µmol/L : micromoles/litre

QUELQUES DEFINITIONS

Anticorps : protéines de type gamma-globuline produites par l'organisme au contact d'un antigène

Antigène : substance capable de provoquer la formation d'un anticorps spécifique par l'organisme dans lequel elle s'est introduite.

Allèle : un des deux ou plusieurs types de gènes homologues

Chromosome : structures filamenteuses auxquelles est associé le matériel héréditaire des cellules et des virus

Clone : population de cellules issues d'une même cellule mère ou ancêtre

Complexité des souches :

Elle correspond au nombre moyen de clones ou souches de *P. falciparum* chez un individu. Elle s'obtient de la manière suivante : *Somme des souches de P. falciparum présentes chez les sujets infectés / nombre de sujets infectés.*

Conversion : transformation d'un segment génique à un autre qui lui diffère, par mutation, délétion ou insertion

Délétions géniques : perte d'un segment de gène ou d'une base sur un chromosome

Duplication génique : synthèse d'un gène identique à la première

Electrophorèse : méthode de séparation des protéines, d'ADN, d'ARN... par le courant électrique

Gène : segment de chromosome qui code pour un produit fonctionnant (ARN, un polypeptide)

Génome : ensemble des gènes situés sur les chromosomes

Génotype : constitution génétique d'un organisme (par opposition à son aspect physique ou phénotype)

Insertions géniques : addition d'un segment de gène ou d'une base sur un chromosome

Polyclonalité de l'infection

Elle correspond à la proportion d'enfants ayant plus d'un fragment ou clone ou souche.

Polymerase chain reaction (PCR) :

Technique enzymatique permettant l'amplification spécifique (in vitro) d'une séquence nucléotidique précise que l'on désire rechercher ou étudier

Polymorphisme allélique : présence simultanée de plusieurs allèles d'un gène homologue

Nucléotides : éléments constitutifs des acides nucléiques (ADN, ARN)

Translocation génique : transfert d'un segment de chromosome à un autre non analogue

SOMMAIRE

PREMIERE PARTIE

	Pages
I.PROBLEMATIQUE.....	1
II.OBJECTIFS.....	3
III.GENERALITES	
III.1. HISTORIQUE DE LA LUTTE CONTRE LE PALUDISME.....	4
III.2. EPIDEMIOLOGIE DU PALUDISME.....	6
III.2.1. L'ampleur du paludisme	6
III.2.1.1. En Afrique.....	6
III.2.1.2. Au Burkina.....	6
III.2.2. La structure du Plasmodium.....	6
III.2.2.1. La membrane plasmatique.....	7
III.2.2.2. Le cytoplasme.....	8
III.2.2.3. Le noyau.....	8
III.2.3. Les principales espèces plasmodiales.....	8
III.2.3.1. Le <i>Plasmodium falciparum</i>	8
III.2.3.2. Le <i>Plasmodium ovale</i> et le <i>Plasmodium vivax</i>	9
III.2.3.3. Le <i>Plasmodium malariae</i>	9

III.2.4. Le vecteur du paludisme.....	9
III.2.5. Cycle évolutif des Plasmodiums.....	10
III.2.5.1.Cycle chez l'homme.....	10
a. La phase <i>exo érythrocytaire</i>	10
b. La phase <i>érythrocytaire</i>	12
III.2.5.2.Cycle chez le moustique.....	13
III.2.6. Les formes cliniques du paludisme à <i>P. falciparum</i>	13
III.2.6.1. Le paludisme asymptomatique.....	13
III.2.6.2. L'accès palustre simple.....	14
a. <i>Définition</i>	14
b. <i>Physiopathologie</i>	14
III.2.6.3.Le paludisme grave.....	15
a. <i>Définition</i>	15
b. <i>Physiopathologie</i>	15
c. Les formes cliniques.....	17
- La forme <i>cérébrale</i>	18
- Les formes <i>anémiques</i>	18
- Les formes avec <i>hypoglycémie</i>	18
- Les autres formes graves de paludisme.....	19

III.3. POLYMORPHISME GENETIQUE DE <i>PLASMODIUM FALCIPARUM</i>	19
III.3.1. Les mécanismes du polymorphisme génétique de <i>P. falciparum</i>	19
III.3.2. Le génome du <i>P. falciparum</i>	20
III.3.3. Le gène <i>merozoite surface protein 2</i> (MSP-2).....	20
III.3.3.1. Localisation et structure du gène MSP-2.....	21
III.3.3.2. Fonction du gène MSP-2.....	22
III.3.3.3. Polymorphisme du gène MSP-2.....	22

DEUXIEME PARTIE : NOTRE ETUDE

I. METHODOLOGIE

I.1. RAPPELS DES OBJECTIFS	24
I.2.CADRE DE L'ÉTUDE	24
I.2.1. La province du Boulgou.....	24
I.2.2. Le Centre National de Recherche et de Formation sur le Paludisme.....	25
I.3. TYPE ET PERIODE D'ETUDE	25
I.4. TAILLE DE L'ECHANTILLON	25
I.5. COLLECTE DES DONNEES	26
I.5.1. Définitions opérationnelles.....	26
I.5.2. Collecte de données cliniques.....	28

I.5.2.1. Au service des urgences pédiatriques.....	28
I.5.2.2. Dans les villages de Zano et de Gourganbaga.....	29
I.5.3. Prélèvements biologiques.....	29
I.6. EXAMENS EFFECTUES AU LABORATOIRE.....	30
I.6.1. Examen microscopique des parasites(goutte et frottis mince).....	30
I.6.2. Glycémie.....	31
I.6.3. Hémogramme.....	32
I.6.4. Typage génétique des parasites par la technique de la réaction de polymérisation en chaîne (PCR).....	32
I.6.4.1. Extraction de l 'acide désoxyribonucléique (ADN).....	32
I.6.4.2. Amplification de l 'acide désoxyribonucléique.....	34
I.6.4.3. Électrophorèse sur gel des produits d'amplification.....	38
I.6.4.4. Analyse et interprétation des résultats de la PCR.....	40
I.7. MODES DE TRAITEMENT DES DONNEES.....	40
II. RESULTATS	
II.1. CARACTERISTIQUES DE L'ECHANTILLON.	41
II.1.1.Caractéristiques socio-démographiques.....	42
II.1.1.1. L'âge	42
II.1.1.2. Le sexe.....	43
II.1.2. Caractéristiques cliniques et épidémiologiques.....	44
II.1.2.1. La répartition des cas graves selon les mois	44
II.1.2.2. Le Délai moyen de consultation	44
II.1.2.3. La température	44
II.1.2.4. L'évolution clinique	45

II.1.3. Paramètres biologiques.....	46
II.1.3.1. La densité parasitaire	46
II.1.3.2. La glycémie.	46
II.1.3.3. Le taux d'hémoglobine.....	46
II. 2. LES FORMES ALLELIQUES DU GENE MSP-2 DE P. FALCIPARUM.....	47
II.2.1. La distribution des souches selon l'âge des patients.....	47
II.2.1.1. Prévalence des souches 3D7 de <i>P. falciparum</i>	47
II.2.1.2. Prévalence des souches FC27 de <i>P. falciparum</i>	48
II.2.2. La distribution des souches 3D7 et FC27 de <i>P. falciparum</i> selon le sexe des patients.....	50
II.2.3. La distribution des souches 3D7 et FC27 de <i>P. falciparum</i> selon la période de recrutement des cas graves.....	51
II.2.4. La prévalence des souches 3D7 et FC27 de <i>P. falciparum</i> selon les formes évolutives des cas graves.....	52
II.3. LA POLYCLONALITE DE L'INFECTION à P. FALCIPARUM.....	53
II.4. LA COMPLEXITE DES SOUCHES FC27 ET 3D7 SELON L'AGE DES PATIENTS.....	54
II.5. EVOLUTION DE LA COMPLEXITE DES SOUCHES 3D7+FC27 SELON L'AGE.....	56
II.6. LA COMPLEXITE DES SOUCHES SELON LES FORMES EVOLUTIVES DU PALUDISME.....	57
II.7. INFLUENCE DE LA DENSITE PARASITAIRE SUR LA COMPLEXITE DES SOUCHES.....	57

III. DISCUSSION

III.1. DES LIMITES DE L'ETUDE.....	58
---	-----------

III.2. DE L'AGE ET PREVALENCE DES SOUCHES FC27 ET 3D7 DE <i>P. FALCIPARUM</i>	58
--	-----------

III.3. DE LA PREVALENCE DES SOUCHES ALLELIQUES 3D7 ET FC27 ET DES ENTITES CLINIQUES DU PALUDISME.....	59
--	-----------

III.4. DE LA PREVALENCE DES SOUCHES 3D7 ET FC27 DE <i>P. FALCIPARUM</i> ET DES FORMES EVOLUTIVES DES CAS GRAVES.....	60
---	-----------

III.5. COMPLEXITE DES SOUCHES ET AGE DES PATIENTS.....	61
---	-----------

III.6. COMPLEXITE DES SOUCHES ET ENTITES CLINIQUES.....	62
--	-----------

III.7. COMPLEXITE DES SOUCHES ET DENSITE PARASITAIRE DES CAS GRAVES.....	64
---	-----------

IV.CONCLUSIONS.....	66
----------------------------	-----------

V. RECOMMANDATIONS.....	68
--------------------------------	-----------

VI. RESUME.....	69
------------------------	-----------

VII. BIBLIOGRAPHIE

ANNEXES

L'Unité de Formation et de Recherche en Science De la Santé a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni aucune improbation.

PREMIERE
PARTIE

I. PROBLEMATIQUE

Le paludisme est de loin la plus importante des maladies parasitaires tropicales dans le monde. Il ferait plus de victimes que toute autre maladie transmissible, à l'exception de la tuberculose [63]. Aussi, de nos jours, le paludisme pose un véritable problème de santé publique dans plus de 90 pays d'Afrique, d'Asie et d'Amérique du sud, représentant au total près de 2,4 milliards de personnes, soit 40% de la population mondiale. L'incidence mondiale estimée par l'OMS en 1998 était de 300-500 millions de cas cliniques par an.

En nombre absolu, le paludisme tue un enfant toutes les 30 secondes, soit environ 3000 enfants de moins de cinq ans par jour.

L'Afrique sub-saharienne à elle seule, représente plus de 90% de tous les cas de paludisme [63].

Le Burkina Faso à l'instar des autres pays de l'Afrique sub-saharienne, n'est pas en marge de cette situation préoccupante.

En effet, le paludisme constitue la première cause de morbidité avec 1,5 millions de cas par an chez les enfants de 6 mois à 5 ans. Il est responsable d'environ 30,1% des consultations en milieu pédiatrique [11,33] et demeure la première cause de fièvre et d'hospitalisation [11,13,33]. C'est aussi la première cause de décès enregistrés dans l'ensemble des formations sanitaires du pays avec un taux de mortalité de 20% [41]. La létalité due au paludisme grave est de 10,42% [42].

Le paludisme, parasitose endémoépidémique, tropicale et intertropicale, est causé à l'homme par un protozoaire du genre *Plasmodium* transmis par un moustique, l'anophèle femelle. Quatre espèces de *Plasmodium* sont à l'origine du paludisme chez l'homme: *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium vivax* et *Plasmodium ovale*. *Plasmodium falciparum* est incontestablement l'espèce la plus redoutable. Il est à l'origine des formes graves du paludisme surtout chez les enfants de moins de cinq ans [46].

En effet à la différence des autres, le *P. falciparum* envahit les hématies quel que soit leur âge. De plus, son polymorphisme génétique engendre une diversité de souches dont certaines sont impliquées dans la gravité du paludisme [3].

En effet à la différence des autres, le *P. falciparum* envahit les hématies quel que soit leur âge. De plus, son polymorphisme génétique engendre une diversité de souches dont certaines sont impliquées dans la gravité du paludisme [3].

La prise en charge du paludisme, notamment des accès graves, nécessite un diagnostic précoce, un traitement approprié, mais aussi l'orientation de certains cas vers des services spécialisés [26]. De nombreuses stratégies de lutte ont été entreprises depuis la découverte du parasite en 1880 et celle de l'anophèle vecteur en 1897 [24].

Cependant, malgré les nombreux efforts consentis, pour diverses raisons, le paludisme demeure toujours une préoccupation majeure : résistance du parasite aux antipaludiques notamment à la chloroquine, résistance du vecteur aux insecticides, difficultés de mise au point d'un vaccin. Cela justifierait la fréquence croissante des formes graves surtout chez les enfants de moins de cinq ans.

Certaines manifestations cliniques du paludisme notamment celles des accès graves à *P. falciparum*, semblent être associés à des gènes parasitaires [3]. Aussi, dans les approches actuelles de lutte contre le paludisme, l'approfondissement des connaissances sur la génétique du parasite s'avère indispensable. Ces connaissances permettront d'établir des relations entre celle-ci et les manifestations cliniques mais aussi pour élaborer un vaccin véritablement efficace [40].

Notre étude consiste à analyser le polymorphisme allélique du gène MSP-2 de *P. falciparum* chez des enfants atteints de paludisme dans la province du Boulgou. A travers cette étude nous analyserons le rôle de ce polymorphisme dans la survenue de l'anémie palustre sévère chez des enfants de 0 à 5 ans.

II. OBJECTIFS

II. LES OBJECTIFS

Nous avons retenu comme « équivalent » opérationnel de l'expression «anémie palustre sévère», l'expression «paludisme grave anémique» pour harmoniser les appellations des trois entités cliniques de notre étude.

II.1. Objectif général

Entreprendre l'étude du rôle des allèles du gène MSP-2 de *P. falciparum* dans la survenue du paludisme grave anémique chez des enfants de 0 à 5 ans de la province du Boulgou.

II.2. Objectifs spécifiques

- Déterminer la fréquence des formes cliniques du paludisme (forme grave anémique, forme grave non anémique et forme non grave) dans la province du Boulgou chez les enfants de 0 à 5 ans.
- Evaluer la fréquence des familles alléliques du gène MSP-2 chez les enfants de 0 à 5 ans présentant un paludisme grave anémique d'une part et non anémique d'autre part.
- Déterminer la fréquence des familles alléliques du gène MSP-2 chez les enfants de 0 à 5 ans présentant un paludisme non grave.
- Comparer les fréquences des familles alléliques du gène MSP-2 ci-dessus obtenues dans les différentes entités cliniques.

III. GENERALITES

III.1. HISTORIQUE DE LA LUTTE CONTRE LE PALUDISME

Problème de santé depuis l'antiquité, le paludisme demeure à l'heure actuelle une véritable préoccupation mondiale.

Pour traiter les accès palustres, les sociétés traditionnelles avaient recours à des plantes médicinales qui furent par la suite décrites par les scientifiques. Ce sont entre autres le quinquina (*Cinchona officinalis* Linn.), le qinghaosu (*Artemisia annua* Linn.), le neem (*Azadirachta indica* A.Juss), le kinqueliba *Combretum micranthum* G.Don), le caicedra [*Khaya senegalensis* (Desv) A.Juss]...

En 1820 Pelletier et Caventou extraient la *quinine* de l'écorce de quinquina, plante utilisée bien avant par les Indiens du Pérou dans le traitement de la fièvre. Considérée comme le premier antipaludique naturel, la quinine demeure encore de nos jours une molécule très utilisée [24]. Par la suite, la synthèse de la chloroquine en 1934 va ouvrir la voie à toute une série de dérivés de synthèse. L'émergence de ces nouvelles molécules, associée à la synthèse des insecticides de contact tel que le Dichloro-Diphényl-Trichloroéthane (DDT), va permettre à l'OMS de mettre en place un programme d'éradication du paludisme dans les années 1950 et 1960 [24]. Ce programme s'est articulé comme suit :

- de 1944 à 1959, campagne de lutte antivectorielle par le DDT.
- à partir de 1950, une lutte contre l'agent pathogène par une chimioprophylaxie de masse à l'aide de la chloroquine.

Malheureusement, dès les années 1960 on assiste à l'apparition de souches plasmodiales et de vecteurs résistants aux molécules utilisées, respectivement à la chloroquine et au DDT, ce qui va fortement entraver l'atteinte des objectifs du programme.

Cette situation va conduire non seulement au développement de nouvelles molécules médicamenteuses, notamment sulfadoxine, halofantrine, artesunate (molécules actuellement efficaces et actives sur les souches chloroquinorésistantes), mais aussi à d'autres stratégies de lutte et de recherche. C'est ainsi que la stratégie des rideaux imprégnés d'insecticides a été expérimentée dans les années 1980 et 1990.

Un usage élargi de moustiquaires et rideaux imprégnés d'insecticides tels que les pyréthrinés chez les enfants, réduirait la mortalité infantile de 30 % [63].

Par ailleurs, dans le but de mieux connaître le parasite, un programme de cartographie de son génome est actuellement élaboré par un groupe d'organismes de recherche : l'United State National Institute of Health, l'US Department of Defense, le Burroughs-Wellcome Fund et le Wellcome Trust [49].

Le décryptage récent du génome de l'anophèle vecteur par l'Institut Pasteur et la connaissance du génome parasitaire devraient permettre d'appliquer des approches plus rationnelles pour la recherche de vaccins et de médicaments encore plus efficaces. Certes des essais vaccinaux ont été effectués dans différents pays notamment africains comme le Burkina Faso, la Tanzanie ou la Gambie [5,27,36], mais à nos jours aucun vaccin n'a été retenu pour un usage à grande échelle, les protections conférées étant faibles ou de courte durée.

En outre, se fondant sur l'engagement de plus en plus grand des décideurs politiques depuis le sommet d'Amsterdam de 1992, au cours duquel la stratégie mondiale de lutte contre le paludisme a été adoptée, l'OMS a lancé en 1998 aux côtés de l'UNICEF, du PNUD, et de la Banque mondiale, l'initiative "Roll Back Malaria" (Faire reculer le paludisme) [63]. Ce programme a été officiellement lancé au Burkina le 12 juillet 2002 à Koupela.

L'objectif de ce programme est la réduction de 50 % d'ici 2010 de la mortalité liée au paludisme par la prise en charge efficace des cas, la prévention mais aussi la recherche d'un vaccin.

Une nouvelle page de la lutte contre le paludisme est en train de s'écrire [52].

III.2. EPIDEMIOLOGIE DU PALUDISME

III.2.1. L'Ampleur du paludisme

III.2.1.1. En Afrique

Le nombre de sujets atteints de paludisme dans le monde est estimé entre 300 et 500 millions de cas, dont 90% en Afrique subsaharienne. Les formes graves et compliquées de la maladie s'observent surtout chez les enfants âgés de 6 mois à 5 ans. C'est la tranche d'âge à risque, période au cours de laquelle l'enfant perd progressivement l'immunité transmise par la mère sans avoir acquis une immunité suffisante. On estime entre 1,5 et 2,7 millions les décès enregistrés directement liés au paludisme par an [63].

III.2.1.2. Au Burkina Faso

Le paludisme constitue le premier motif de consultation et d'hospitalisation dans les formations sanitaires du Burkina Faso. En 1999, il représentait 30,7 % de l'ensemble des diagnostics posés en consultation médicale, avec une moyenne d'environ 600.000 cas/ an. Dans la même année, on dénombrait chez les enfants de moins de 5 ans environ 80.000 nouveaux cas de paludisme simple et 6.000 cas de paludisme grave. Plus de la moitié des cas graves sont décédés. Les décès liés au paludisme représentent 36,8 % de l'ensemble des décès enregistrés dans les formations sanitaires du pays [42].

III.2.2. La structure du plasmodium (Cf. fig.1)

L'agent pathogène du paludisme est un protozoaire intracellulaire de forme annulaire (unicellulaire) dont la structure comporte trois principales composantes : *une membrane plasmique, un cytoplasme annulaire et un noyau.*

III.2.2 1. La membrane plasmétique

Elle a une nature lipoprotéique. Les protéines ancrées dans cette membrane varient en fonction des stades évolutifs du parasite. Ces protéines développent des fonctions antigéniques ou non à la surface de la membrane [1].

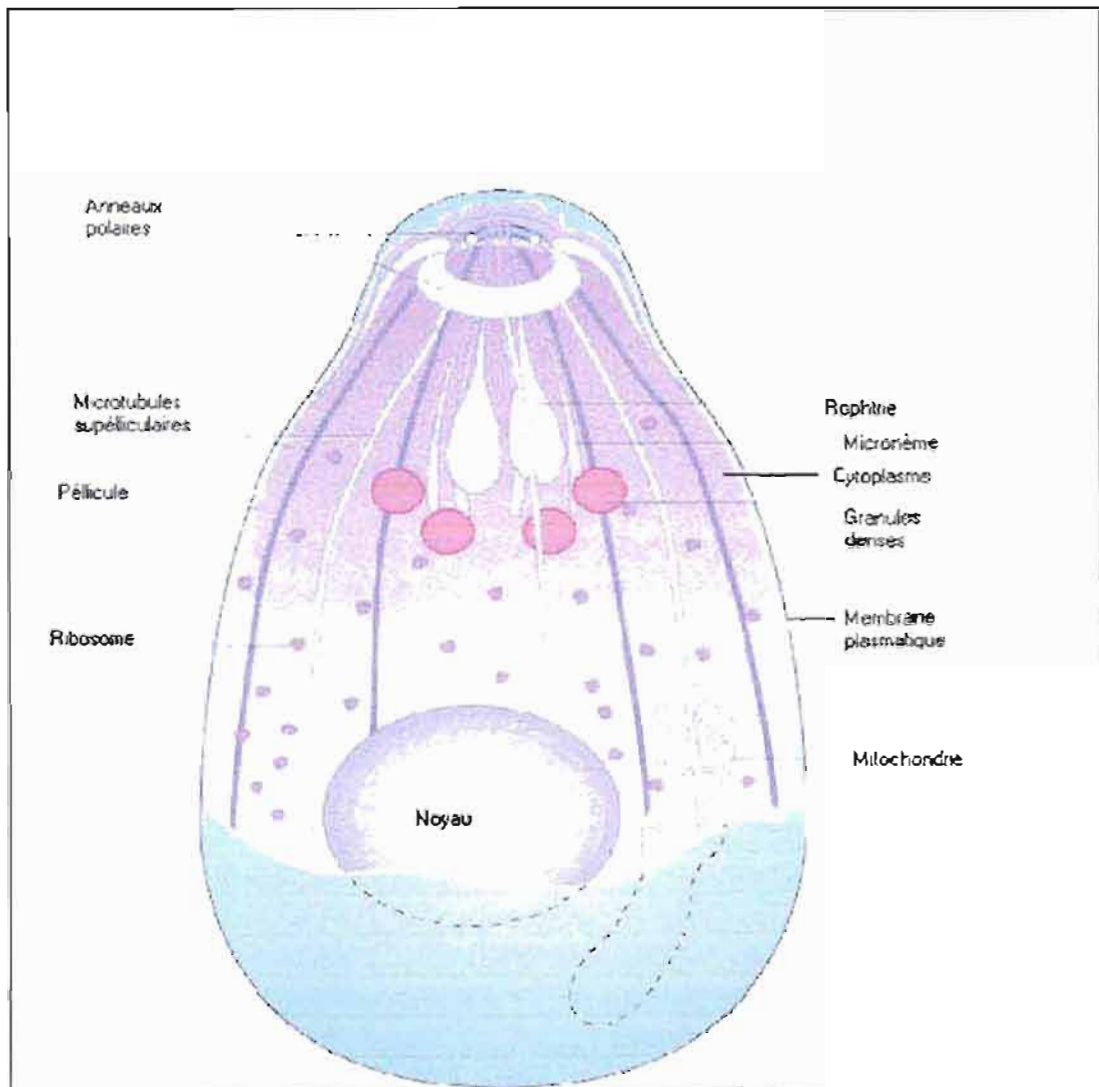


Figure 1 : La structure du *Plasmodium falciparum*

III.2.2.2. Le cytoplasme

Il a une forme annulaire. On y distingue aussi des protéases qui séparent l'hémoglobine en fractions indispensables à la croissance de l'hématozoaire et des organites assurant différentes fonctions : ce sont les mitochondries pour les fonctions métaboliques, les ribosomes pour la synthèse protéique, les micronèmes, les rophtries, les granules denses, les anneaux polaires qui interviennent dans l'invasion des hématies [25].

III.2.2.3. Le noyau

Il est situé à la périphérie du parasite. Il contient le génome du parasite constitué de quatorze chromosomes. On dénombre dans le noyau environ 5000 gènes qui codent pour la synthèse de différentes protéines dont certaines sont exprimées à la surface de la membrane plasmique.

III.2.3. Les principales espèces plasmodiales

Ce sont des parasites intracellulaires, amiboïdes appartenant à la classe des *haemosporidea*, à la famille des *plasmodidae* et au genre *plasmodium*. Il existe quatre espèces de *Plasmodium* susceptibles d'infester l'homme : *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium ovale* et *Plasmodium vivax*.

III.2.3.1. *Plasmodium falciparum*

Cette espèce, responsable d'une fièvre tierce maligne, présente des particularités biologiques.

- *Au niveau du foie* : *Plasmodium falciparum* évolue successivement des stades trophozoïte, mérozoïte, schizonte jeune jusqu'au schizonte exoérythrocytaire mature. Cette évolution se fait sans interruption, et *P. falciparum* ne présente pas de réviviscence schizogonique. Il n'entraîne de rechutes qu'en cas d'une nouvelle inoculation.

- Au niveau du sang la schizogonie du *Plasmodium falciparum* se déroule dans les capillaires viscéraux où les hématies parasitées sont séquestrées du fait de leur adhérence à l'endothélium. Chaque schizogonie dure 48 heures et détermine une fièvre tierce maligne.

III.2.3.2. *Plasmodium ovale* et *Plasmodium vivax*

Ces espèces diffèrent du *Plasmodium falciparum* en ce sens que :

- au cours de la phase hépatique ; une partie des trophozoïtes évoluent directement jusqu'au schizonte mature. Les autres ont une schizogonie tissulaire retardée et à déclenchement périodique, ce qui explique l'existence des rechutes à long terme, responsables des accès de réviviscence schizogonique.

- la schizogonie sanguine s'effectue dans des vaisseaux de gros calibres, et détermine de façon générale des accès sans gravité. Ces deux espèces sont responsables de la fièvre tierce bénigne, dont les accès fébriles apparaissent tous les trois jours et durent environ une dizaine d'heures.

III.2.3.3. *Plasmodium malariae*

A la phase hépatique, la schizogonie de *P. malariae* est plus lente que celle du *Plasmodium falciparum*. La phase sanguine est caractérisée par l'existence de formes latentes du parasite, responsables de rechutes à long terme.

C'est l'agent responsable de la fièvre quarte bénigne ou fièvre quartane, les accès fébriles surviennent tous les quatre jours.

L'espèce *P. malariae* peut déterminer à la longue des lésions rénales graves pouvant évoluer vers l'insuffisance rénale.

III.2.4. Le vecteur du paludisme

Le vecteur du paludisme est l'anophèle femelle. C'est un moustique hématophage de la famille des *Culicidae* et de la sous famille des *Anophelinea*.

L'anophèle femelle est reconnaissable par sa position oblique au repos par rapport au support sur lequel elle est posée, et à ses appendices céphaliques (trompe et palpes).

Ces appendices sont faits de différentes pièces buccales permettant de perforer la peau et d'aspirer le sang des mammifères [24]. Le tropisme de l'anophèle femelle pour l'homme est guidé par une exigence de sa reproduction qui nécessite de l'eau et de la chaleur mais surtout du sang humain. Les principaux vecteurs du paludisme chez l'homme sont entre autres, *Anopheles gambiae* s.l., *A. arabiensis*, *A. funestus* s.l., [10] *A. moucheti*, et *A. sinensis* [24].

Au Burkina Faso, les trois premiers ci-dessus cités sont considérés comme les principaux vecteurs du paludisme [35,50].

III.2.5.Cycle évolutif des *Plasmodium*

Au cours de son repas sanguin chez l'homme, l'anophèle femelle sonde la peau avec son proboscis et inocule une salive anticoagulante et agglutinante. Si elle est infectée, l'anophèle femelle injecte la charge sporozoïtaire localisée dans ses glandes salivaires dans les capillaires sanguins et les tissus périvasculaires de l'hôte vertébré. Les sporozoïtes mobiles se répartissent rapidement dans l'organisme, pénétrant activement et indifféremment dans plusieurs types cellulaires où leur développement avortera [39]. Seuls les survivants ayant gagné le foie et franchi une dernière barrière constituée par les cellules de küpffer pourront poursuivre leur cycle qui comprend plusieurs phases [39].

III.2.5.1.Cycle chez l'homme

Deux phases sont à distinguer chez l'homme.

a. La phase *exo érythrocytaire* (Schéma 1)

Il s'agit d'une phase silencieuse. Elle a été mise en évidence par SHORTT et GARNHAM en 1948 [24]. Elle débute par la pénétration du sporozoïte dans l'hépatocyte. Puis le sporozoïte se transforme en trophozoïte appelé "trophozoïte exoérythrocytaire".

Les trophozoïtes de *P. falciparum* et de *P. malariae* évoluent immédiatement jusqu'à maturité. Par contre, ceux de *P. vivax* et *P. ovale* restent sous une forme dormante, uninuclée appelée hypnozoïte. Cette forme est à l'origine des rechutes du paludisme [39].

Généralités

Le trophozoïte exoérythrocytaire à l'intérieur des hépatocytes se divise par schizogonie pour former une à trois semaines plus tard un schizonte hépatique mature (ou corps bleu) qui en éclatant libère des mérozoïtes initiateurs de la phase érythrocytaire [39]. Au cours de cette phase de *P. falciparum*, plusieurs antigènes protéiques dits exoérythrocytaires sont développés par le trophozoïte. Il s'agit essentiellement de : *Circumsporozoite protein* (CSP), *Liver stage antigen-1* (LSA-1) exprimés au niveau du foie.

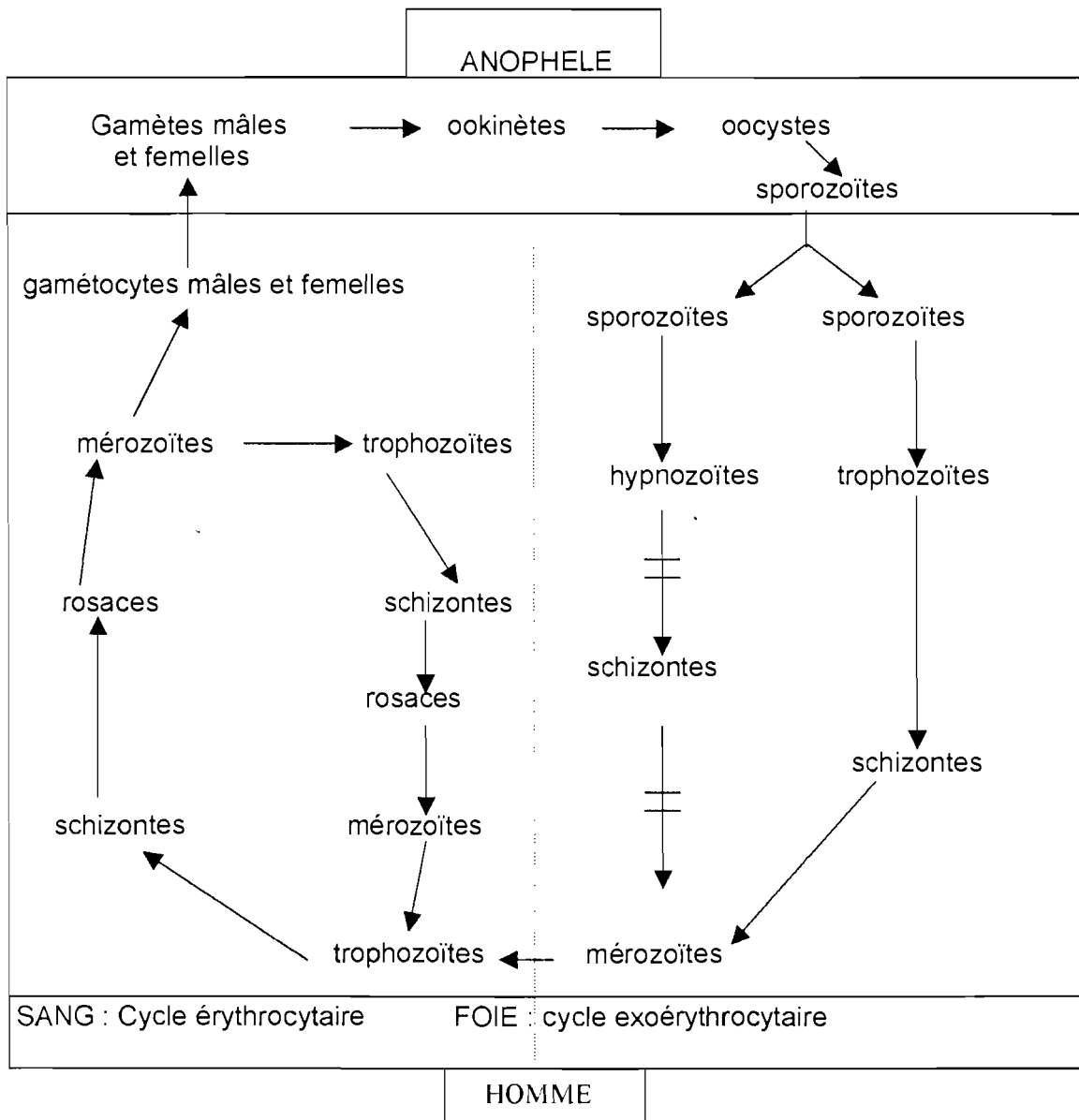


Schéma 1 : Cycle évolutif des Plasmodiums

b. Phase érythrocytaire

Les mérozoïtes libérés des schizontes hépatiques envahissent les globules rouges.

Plusieurs antigènes mérozoïtiques jouent un rôle important dans cette pénétration du parasite: trois protéines de surface [65]: *merozoite surface protein* (MSP) 1, 2 et 3; plusieurs protéines des roptries : (*Rhop*)-1, 2 et 3, (*RAP*) -1, 2, 3; *apical membrane antigen* -1 (AMA-1); une protéine des micronèmes : *erythrocyte binding antigen*-175 (EBA-175) et une protéine des granules denses : *ring- infected erythrocyte surface antigen* (RESA).

Le parasite à l'intérieur des hématies récemment envahies est nommé *anneau* : on parle d'étape annulaire ou *ring-stage*.

Les anneaux deviennent ensuite des trophozoïtes érythrocytaires qui, par des divisions schzogoniques, vont donner des schizontes contenant 8 à 24 mérozoïtes.

Ces schizontes possèdent au niveau de leur vacuole des protéines antigéniques dont : *glutamate-rich -protein* (GLURP) [8], *serine repeat antigen* (SERA) [40].

Les hématies infectées s'éclatent et libèrent un grand nombre de mérozoïtes qui à leur tour envahissent de nouveaux globules rouges et un nouveau cycle de développement recommence. Par contre, certains mérozoïtes se différencient en gamétocytes mâles et femelles.

Les hématies parasitées présentent à leur surface plusieurs antigènes notamment : *Plasmodium falciparum erythrocyte membrane protein-1* (PfEMP-1) [22,40], *Plasmodium falciparum 332 antigen* (Pf332)... [30]

En ce qui concerne *P. vivax*, *P. ovale*, et *P. falciparum* le cycle érythrocytaire dure 48 heures. Pour *P. malariae*, ce cycle est de 72 heures. L'éclatement des globules rouges infectés par les schizontes est à l'origine des symptômes du paludisme : fièvre, frisson, endolorissement [39].

La prédilection du *P. vivax* pour les réticulocytes ou de *P. malariae* pour les globules rouges âgés, présente un avantage pour l'hôte car limite la parasitemie dans une certaine mesure.

Au contraire, *P. falciparum* envahit les hématies quel que soit leur âge, déterminant ainsi une charge parasitaire importante à l'origine des formes graves de paludisme chez l'homme [39].

III.2.5.2. Cycle chez le moustique (Schéma 1)

Il se déroule chez l'anophèle femelle.

Lors de son repas sanguin sur un sujet infecté, l'anophèle femelle absorbe des trophozoïtes, des schizontes, des rosaces, des gamétocytes etc... Les éléments asexués sont digérés et seuls les gamétocytes ingérés assurent la poursuite du cycle [24]. Les gamétocytes mâles et femelles se transforment respectivement en gamètes mâle et femelle. La fécondation du gamète femelle donne un œuf mobile, l'ookinète qui traverse la paroi de l'intestin et forme un oocyste. Les oocystes se transforment en de nombreuses sporozoïtes qui migrent jusqu'aux glandes salivaires du moustique et prêts à démarrer un nouveau cycle au prochain repas sanguin. La durée du cycle sporogonique varie de 10 à 40 jours selon la température et l'espèce plasmodiale. Elle est de 12 jours pour *P. falciparum* en Afrique tropicale. Le cycle s'arrête lorsque la température moyenne est inférieure à 16°C pour *P. vivax* et à 18°C pour *P. falciparum* [24].

III.2.6. Les formes cliniques du paludisme à *P. falciparum*

Plusieurs formes cliniques du paludisme à *P. falciparum* sont à distinguer selon la symptomatologie de la maladie.

III.2.6.1. Le paludisme asymptomatique

Le paludisme asymptomatique ou paludisme d'infestation se définit comme étant l'absence de manifestations cliniques chez un individu présentant des formes asexuées du parasite à l'examen du sang périphérique. Un tel sujet est un porteur sain et constitue un important réservoir du parasite en zone d'endémie. Ce portage asymptomatique peut évoluer à tout moment vers un paludisme clinique simple ou grave.

III.2.6.2.L'accès palustre simple à *P. falciparum*

a. Définition

Les accès "palustres simples" sont des accès ne comportant pas de signes de malignité, mais pouvant à tout moment évoluer vers la forme grave ; d'où l'importance de leur diagnostic et de leur traitement précoces. Ils apparaissent après une incubation brève de 7 à 15 jours suivant la piqûre infectante [23].

b. Physiopathologie

Les globules rouges infectés par les schizontes éclatent et libèrent une substance : l'hémozoïne ou pigment malarique. Cette substance agit comme un pyrétogène sur le thermostat hypothalamique et provoque la fièvre. Cette fièvre peut être irrégulière (éclatement asynchrone), intermittente, tierce ou quatre (éclatement synchrone) selon la périodicité de la schizogonie. L'éclatement des rosaces, l'érythrophagocytose ou certains mécanismes immunologiques peuvent être à l'origine d'une anémie. D'autres signes cliniques tels que l'ictère sont aussi liés à la lyse des hématies.

Sous un traitement bien suivi l'évolution de l'accès palustre simple est favorable en quelques jours. Non traité, l'accès peut tout de même guérir après une quinzaine de jours de fièvre, d'abord continue, puis plus ou moins intermittente. Mais à tout moment le risque d'évolution maligne vers la forme grave est possible [24].

Globalement, ces accès simples à *P. falciparum* représentent 90 % des cas de paludisme dus à cette espèce [24].

III.2.6.3. L'accès palustre grave

a. Définition du paludisme grave

Selon l'OMS, le paludisme grave se définit par la présence de formes asexuées de *P. falciparum* à l'examen microscopique du sang périphérique, associée à une ou plusieurs des manifestations suivantes [62] :

- Altération de l'état de conscience : coma (score de Blantyre < 3) persistant pendant au moins 30 minutes, ne pouvant être rapporté à une autre cause ;
- Convulsions généralisées et répétées (plus de 2 par 24 heures, plus de 15 minutes de phase post critique) ;
- Anémie sévère (normocytaire, hématicrite < 15 % ou taux hémoglobine < 5 g/dl) ;
- Insuffisance rénale (diurèse < 12 ml/kg/24 heures ou créatinine > 265 µmol/l) ;
- Oedème aigu du poumon (ou syndrome de détresse respiratoire aiguë) ;
- Hypoglycémie (glycémie < 2,2 mmol/l ou 0,4 g/l) ;
- Collapsus circulatoire ;
- Hémorragie diffuse (ou coagulation intravasculaire diffuse, CIVD) ;
- Hémoglobinurie massive ;
- Acidose sanguine (pH artériel < 7,25 ou bicarbonates < 15 mmol /l) ;
- Prostration ou faiblesse extrême ;
- Ictère (clinique ou bilirubine > 50µmol/l ou >30 mg/l).

b. Physiopathologie du paludisme grave (Schéma 2)

Le paludisme grave est une érythrocytopathie parasitaire. Il doit ses particularités symptomatiques à la multiplication rapide de *P. falciparum* dans les capillaires viscéraux. Cette multiplication des parasites engendre une anoxie des tissus nobles (encéphale, reins, poumons, foie) par anémie hémolytique, troubles de la micro circulation et phénomènes cytotoxiques [24].

Les hématies parasitées par des schizontes développent à leur surface des protubérances "knobs" qui les rendent adhérentes aux cellules endothéliales des capillaires et encombrant la lumière vasculaire. Les hématies s'agglutinent, se lysent et libèrent une substance phospholipidique qui amorce un processus de coagulation intravasculaire diffuse.

Enfin, la libération in situ de substances vasomotrices (sérotonine, kinines, histamine) aggrave les troubles de la micro circulation, crée une vasodilatation des capillaires (d'où ralentissement circulatoire) et augmente la perméabilité des parois capillaires, d'où transsudation plasmatique et œdème viscéral.

Les phénomènes d'anoxie cytotoxique sont la conséquence de l'inhibition des processus de respiration cellulaire et de phosphorylation oxydative par une toxine élaborée par le parasite appelée "substance plasmatique de Maegraith". C'est une substance particulièrement toxique pour les cellules nobles [24].

Aujourd'hui encore l'hypothèse que la physiopathologie et la virulence varient d'une souche plasmodiales à une autre est d'actualité [28]. Lorsqu'un individu est infecté par plusieurs souches de virulence différente, ce polymorphisme génétique peut influencer le tableau clinique du malade dans le sens d'une aggravation ou non. En effet certaines souches plasmodiales sont associées à des formes graves du paludisme tandis que d'autres sont retrouvées dans les formes simples [28].

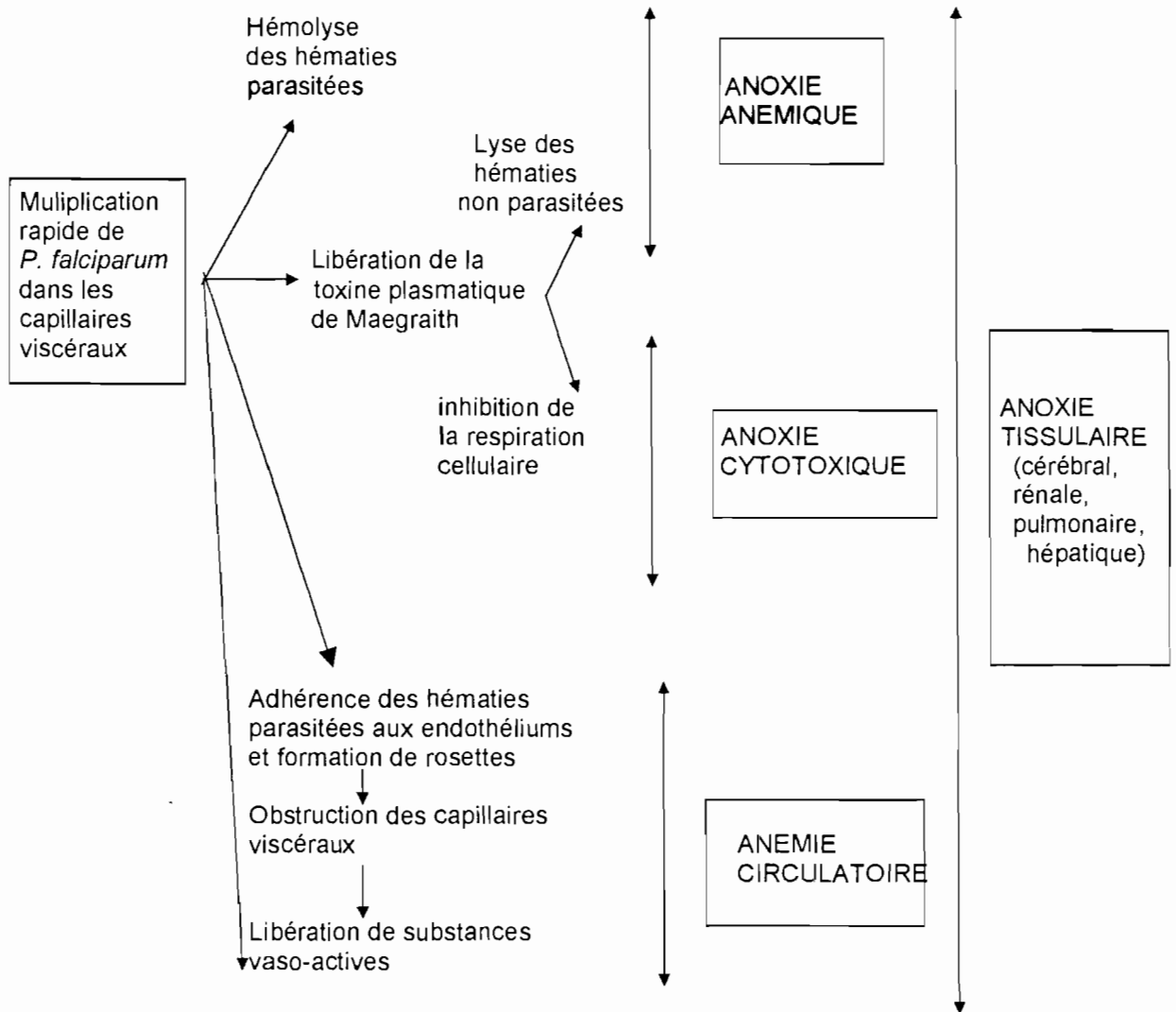


Figure 3 : Physiopathologie du paludisme grave

c. Les formes cliniques du paludisme grave

Le paludisme grave de l'enfant diffère cliniquement de celui de l'adulte. En effet l'enfant fait un paludisme cérébral ou une anémie palustre sévère le plus souvent que l'adulte. Les complications les plus courantes et les plus graves de l'atteinte par *P. falciparum* sont le paludisme cérébral et l'anémie sévère [48].

- La forme cérébrale chez l'enfant

En général, il s'agit d'un coma calme avec hypotonie et parfois un véritable opisthotonos, pouvant faire évoquer un tétanos ou une méningite purulente.

Le début est le plus souvent brutal ; puis s'en suit en quelques heures un coma fébrile. La fièvre quasi constante atteint 39°-40°. Au-delà de 41°, la fièvre constitue un facteur de mauvais pronostic. Au Burkina Faso la prévalence de cette forme est plus élevée en milieu urbain que rural [44].

La létalité du paludisme cérébral chez les enfants varie de 10 à 40 % selon les régions [48].

- Les formes anémiques

L'anémie sévère dans le cas du paludisme, se définit comme un taux d'hémoglobine inférieur à 5g/dl ou un taux d'hématocrite inférieur à 15%, associé à une parasitémie supérieure à 10.000/μL [58,42]. Ces formes anémiques se traduisent par une pâleur extrême des muqueuses, une dyspnée, une tachycardie et un bruit de galop. L'anémie palustre, très fréquente en Afrique, est une complication importante du paludisme à *P. falciparum* chez les enfants. Elle constitue une menace vitale. La vitesse d'installation et le degré de l'anémie dépendent de la gravité et de la durée de la parasitémie. Dans cette forme, les transfusions sanguines lorsqu'elles sont indiquées, peuvent entraîner une amélioration clinique rapide et spectaculaire [48]. Cependant, il se pose de nos jours le problème du risque des infections virales par transfusion. Au contraire des formes cérébrales, les formes anémiques sont plus fréquentes en milieu rural qu'en milieu urbain [44] et constituent en Afrique une importante cause de mortalité chez les jeunes enfants [7,45].

- Les formes avec hypoglycémie

Elles se définissent comme une complication grave et souvent fatale du paludisme chez l'enfant ayant une glycémie < 2,2 mmol/l ou 0,4 g/l avec une parasitémie très élevée. Elles entraînent un coma profond.

L'hypoglycémie est souvent méconnue, d'autant plus que ses manifestations sont semblables à celles du paludisme cérébral [48]. La glycémie est par conséquent une prescription biologique de première intention en cas de paludisme chez l'enfant.

- Les autres formes graves de paludisme

Elles sont rares chez l'enfant. Ce sont des formes avec insuffisance rénale aiguë, hémoglobinuries, œdème aigu du poumon (OAP), collapsus ou choc et hémorragies [48].

III.3. POLYMORPHISME GENETIQUE DU *PLASMODIUM FALCIPARUM*

Le *Plasmodium falciparum* présente un grand polymorphisme génétique. Les mécanismes qui soutendent ce polymorphisme sont assez variés.

III.3.1. Les mécanismes du polymorphisme génétique de *P. falciparum*

Plusieurs mécanismes sont évoqués dans le polymorphisme génétique de *P. falciparum* : la duplication génique, la conversion, la translocation, les délétions et les insertions géniques [14,34,64]. Aussi, les recombinaisons intragéniques qui se produisent généralement dans les segments répétitifs du gène conduisent à des motifs différant par leur taille et ceci, d'une souche plasmodiale à une autre [40]. Ce polymorphisme a comme conséquence que les individus au sein de l'espèce soient différents les uns des autres. Il a aussi comme conséquence que les individus au sein d'un hôte soient différents.

Les premiers variants génétiques de *P. falciparum* ont été évoqués par Carter et Mc Gregor en 1973.

Ils portaient essentiellement sur deux enzymes : la glucose-6-phosphate isomérase et la lactate déshydrogénase [40].

La plupart des variants génétiques sont impliqués soit dans la pathogénie du parasite, soit dans les réponses immunitaires ou dans l'émergence de souches plasmodiales résistantes [40]. Ces souches résistantes émergent et se propagent à la faveur de certains facteurs : pression médicamenteuse, faible niveau d'immunité antipalustre surtout chez les enfants de moins de 5ans et les Occidentaux expatriés vivant en zone endémique.

Depuis, des études sur les variations génétiques sont réalisées sur différentes souches de *P. falciparum* en Afrique, Asie, Amérique du sud [12]. Dans ces études différents gènes ont été étudiés, notamment les gènes CSP [53], GLURP [8], MSP 1 et 2 [5,51,57], AMA-1 [38]...

III.3.2. Le génome du *Plasmodium falciparum*

Le génome du *P. falciparum* est constitué de quatorze (14) chromosomes linéaires. Ces chromosomes représentent un total de 25 à 30 méga bases d'ADN nucléaire, soit approximativement 5000 gènes. Les plus importants de ces gènes sont entre autres les gènes MSP 1 et 2, GLURP, CSP... Le gène MSP-2 présente un plus grand polymorphisme allélique d'où sa large utilisation comme marqueur génétique dans les enquêtes épidémiologiques investiguant sur la diversité génétique des souches de *P. falciparum* [4].

III.3.3. Le gène *merozoite surface protein (MSP-2)* de *P. falciparum*

Des travaux effectués par le *SANGER center of CAMBRIDGE, US Naval Medical Research Institute (NMRC) à BETHESDA, The Institute for Genomic Research (TIGR) à REAKVILLE (USA)*, ont permis d'établir la séquence des chromosomes 2 et 3 de *Plasmodium falciparum* [31].

Généralités

Le gène *merozoite surface protein 2* (MSP-2), présent sur le chromosome 2 a été isolé et séquencé par Thomas *et al.* en 1990 [58], Fenton *et al.* 1991 [21], Smyth *et al.* 1991 [56], Marshall *et al.* 1994 [37], à partir de plusieurs souches de *P. falciparum*. Ce gène très polymorphe, code pour la synthèse d'une protéine à la surface du merozoïte [1].

III.3.3.1. Localisation et structure du gène MSP-2 (cf. figure 2)

Le gène MSP-2 fait partie des 210 gènes qui composent le chromosome 2 déchiffrés par l'US Naval Medical Research Institute [31]. Il présente une structure en 5 blocs de séquences comportant 345 résidus amino acyls (aa) [57].

- Les blocs 1 et 5 du gène possèdent une structure stable et représentent respectivement les extrémités N-terminal (résidus aa 1 à 43) et C-terminal (résidus aa 271 à 345).

- Les blocs 2 et 4, identiques dans toutes les formes alléliques sont situés respectivement sur les segments aa 43 à 51 et aa 216 à 271.

- Le bloc 3 comporte une région variable dimorphique située sur le segment aa 51 à 216 [23]. Il peut être classé entre deux familles alléliques sur la base des séquences :

- La famille Indochina 1 IC1(ou 3D7) caractérisée par une courte séquence (glycine-serine-alanine) répétée de 4 à 8 résidus aa.
- La famille FC27 pauvre en glycine-serine-alanine mais contenant une ou plus d'une copie répétée d'une séquence de 32 amino acyls [7].

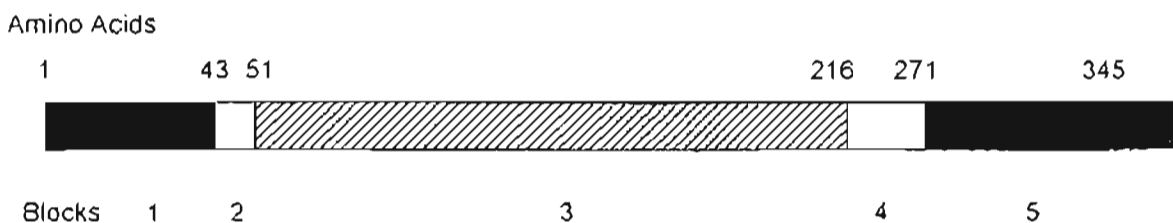


Figure 2 : Diagramme schématisique du gène MSP-2 illustrant les blocs 1 à 5

L'alignement et la numérotation des acides aminés des séquences sont tirés directement de l'UNDP/World Bank / WHO-TDR Malaria sequence data base, version 3.0 [57].

III.3.3.2. Fonction du gène MSP-2

Le gène MSP-2 code pour la synthèse d'une glycoprotéine de surface variable de 45 à 55 kDa appelée *merozoite surface protein* (ou antigen) 2 dont le rôle dans l'invasion des érythrocytes par les mérozoïtes a déjà été rapporté [57].

La grande variabilité du gène MSP-2, plus précisément celle des familles alléliques 3D7 et FC27 de sa région centrale est en grande partie responsable du polymorphisme génétique de *P. falciparum* [18]. Par ailleurs les allèles 3D7 sont plus variables en longueurs et séquences que les allèles FC27 [53].

III.3.3.3. Polymorphisme du gène MSP-2 de *P. falciparum*

Plusieurs études effectuées sur le polymorphisme génétique du *P. falciparum* ont permis d'établir des relations entre celui-ci et des facteurs biologiques et épidémiologiques.

C'est ainsi que Felger *et al.* [19], dans une étude publiée en 1999, décrivent la diversité génétique du *P. falciparum* chez des enfants Tanzaniens infectés durant la première année de leur vie. Cette étude basée sur l'analyse du gène MSP-2 par PCR-RFLP (Polymerase chain reaction -Restriction Fragment Length Polymorphism) confirme le rôle de ce gène dans la diversité génétique du *P. falciparum*. Il s'agit d'un gène hautement polymorphique. Ils ont mis en évidence 50 allèles différents du gène MSP-2 dont 24 allèles FC27 et 26 allèles 3D7. Dans cette même étude, Felger *et al.* montrent que la complexité ou multiplicité des souches (nombre moyen de souches par personne) de *P. falciparum* évaluée par la PCR-RFLP du gène MSP-2 varie positivement avec la densité parasitaire chez les enfants de moins de deux ans.

Généralités

Dans la même année Smith *et al.* [55], dans une étude portant sur l'analyse de la dynamique des infections multiples à *P. falciparum* chez des enfants en zone de haute endémicité palustre de TANZANIE, ont montré que la complexité des souches était plus faible chez les enfants âgés de 0 à 4 mois que chez ceux ayant 6 à 12 mois d'âge.

Dans une étude effectuée à Dakar (SENEGAL), sur des patients présentant les uns, un accès palustre sévère, les autres un accès simple, Robert *et al.* [51] ont comparé les caractéristiques génétiques du *P. falciparum*. Ils ont noté une prévalence de 60% des allèles du gène MSP-2 spécifiquement dans les accès palustres graves. Ils ont également trouvé une complexité des souches plus faible dans les cas sévères que dans les accès simples.

Beck *et al.* [5], affirment aussi dans une étude effectuée sur des enfants Tanzaniens, durant la phase III d'essai du vaccin antimalarique, "synthetic peptid of *P. falciparum* 66" (Spf66) que la complexité varie en fonction du niveau d'endémicité. Ainsi, la fréquence des infections multiples était plus élevée en zone hyper endémique comme le Sénégal ou la Tanzanie, tandis qu'en zone holoendémique comme la Papouasi Nouvelle Guinée cette fréquence était faible et la complexité des souches basse.

***DEUXIEME
PARTIE :
NOTRE ETUDE***

I. METHODOLOGIE

I.1. Rappel des objectifs

Les objectifs de notre étude sont :

- Déterminer la fréquence des formes cliniques du paludisme dans la province du Boulgou chez les enfants de 0 à 5 ans.
- Evaluer la fréquence des familles alléliques du gène MSP-2 chez les enfants de 0 à 5 ans présentant un paludisme grave anémique d'une part et non anémique d'autre part.
- Déterminer la fréquence des familles alléliques du gène MSP-2 chez les enfants de 0 à 5 ans présentant un paludisme non grave.
- Comparer les fréquences des familles alléliques du gène MSP-2 ci-dessus obtenues dans les différentes entités cliniques.

I.2. Cadre de l'étude

I.2.1. La province du Boulgou

Notre étude s'est déroulée dans la province du Boulgou située au sud-est du Burkina faso. En 2000, la population était estimée à 603.334 habitants dont 104.376 enfants de moins de 4 ans [40]. Le climat est du type soudano-sahélien et la transmission du paludisme dans cette région hyper endémique est intense en saison pluvieuse (juin à octobre), faible en saison sèche (novembre à mai) [56].

Le centre hospitalier régional de Tenkodogo, hôpital de référence de la province a servi de cadre pour la collecte des données cliniques et paracliniques des cas de paludisme grave. Les données des cas de paludisme non grave (simple et asymptomatique), ont été collectées dans les villages de Gourganbaga et Zana.

II.2.2. Le Centre National de Recherche et Formation sur le Paludisme (CNRFP)

Le Centre National de Recherche et de Formation sur le Paludisme (CNRFP), spécialisé dans la recherche sur le paludisme comprend en son sein plusieurs services : le laboratoire d'immuno-parasitologie, l'unité de biologie moléculaire, le laboratoire d'entomologie, le service d'épidémiologie-biostatistique et les services administratifs. C'est au laboratoire d'immuno-parasitologie et de l'unité de biologie moléculaire que les échantillons prélevés ont été analysés.

II.3. Type et période d'étude

Nous avons mené une étude comparative transversale sur une saison de haute transmission palustre : août à novembre 2001.

II.4. La taille de l'échantillon

Pour la détermination de la taille de l'échantillon nous avons appliqué la formule suivante : en supposant que la fréquence des familles alléliques du gène *merozoite surface protéine-2* (MSP-2) dans les cas de paludisme grave anémique est de 67 %, que la différence entre la fréquence des cas de paludisme grave anémique et les autres formes cliniques est de 50 %, si nous voulons mesurer cette différence avec une puissance de 80 % au seuil de 5 %, il nous faudra au moins 99 patients par entité clinique soit $n = 99 \times 3 + 1 = 297 + 1 = 298$ patients pour valider nos résultats selon les calculs statistiques.

II.5. La collecte des données

Nous avons opté pour un recrutement exhaustif qui s'est intéressé à l'ensemble des enfants des deux sexes de 0 à 5 ans de la province ayant l'une des entités cliniques suivantes du paludisme :

- paludisme grave anémique;
- paludisme grave non anémique;
- paludisme non grave (simple et asymptomatique).

La tranche d'âge de 0 à 5 ans a été retenue pour notre étude, compte tenu de la vulnérabilité des enfants de cette tranche au paludisme, particulièrement aux formes graves du paludisme. La répartition en classes de moins de 1 an, 1,2,3 4 et 5 ans permettra d'étudier le polymorphisme allélique de *P. falciparum* chez les enfants de moins de 1 an protégés par les anticorps maternels, et de suivre l'évolution de ce polymorphisme au fur et à mesure de la perte de l'immunité conférée par la mère.

II.5.1. Définitions opérationnelles

Les définitions suivantes ont été retenues :

1° Paludisme non grave :

Est considéré comme un cas de paludisme non grave, tout enfant présentant des formes asexuées de *P. falciparum* dans le sang périphérique sans un signe de gravité de paludisme. Font partie de ce groupe les cas de :

Paludisme asymptomatique :

Est considéré comme cas de paludisme asymptomatique, tout enfant ayant une température axillaire inférieure à 37,5° C sans un signe ou symptôme du paludisme mais associée à la présence d' une forme asexuée de *P. falciparum* dans le sang périphérique.

- Hypoglycémie sévère (glycémie < 0.40 g/l) ;
- Collapsus cardio-vasculaire ou état de choc (pression artérielle systolique < 60mmHg chez l'enfant de 1 à 5 ans ou < à 70 mmHg chez l'adulte) ;
- Hémorragie spontanée et prolongée ;
- Prostration.

2° Paludisme grave non anémique :

Est considéré comme un cas de paludisme grave non anémique tout enfant présentant un ou plusieurs des signes ou symptômes ci-dessus cités associés à la présence d'une forme asexuée de *P. falciparum* et ayant un taux d'hémoglobine supérieur ou égal à 5g/dl.

3° Paludisme non grave :

Est considéré comme un cas de paludisme non grave, tout enfant présentant des formes asexuées de *P. falciparum* dans le sang périphérique sans un signe de gravité de paludisme. Font partie de ce groupe les cas de :

Paludisme asymptomatique :

Est considéré comme cas de paludisme asymptomatique, tout enfant ayant une température axillaire inférieure à 37,5° C sans un signe ou symptôme du paludisme mais associée à la présence d'une forme asexuée de *P. falciparum* dans le sang périphérique.

Paludisme simple :

Est considéré comme un cas de paludisme simple, tout enfant ayant une température axillaire supérieure ou égale à 37,5° C associée à la présence d'une forme asexuée de *P. falciparum* dans le sang périphérique sans signes de gravité du paludisme.

Certains enfants ont été exclus de l'étude. Ce sont les enfants qui au moment du prélèvement avaient des causes de fièvre autres que le paludisme et ceux dont le tableau clinique au moment du prélèvement évoquait une infection palustre mais dont l'examen parasitologique au laboratoire était négatif.

II.5.2. La collecte des données cliniques

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

II.4.2.1. Au service des urgences pédiatriques

1° Information de la personne en charge de l'enfant sur les objectifs de l'étude et obtention de son consentement oral pour l'inclusion du patient dans l'étude.

2° Interrogatoire des accompagnants en vue de la recherche des informations suivantes: identité, âge, provenance et histoire de la maladie.

3° Examen physique de l'enfant pour :

- apprécier l'état général ;
- mesurer les constantes telle que la température ;
- procéder à l'examen des différents appareils en recherchant surtout des

signes de gravité ou des signes d'autres causes de fièvre.

Tous les enfants souffrant de paludisme grave ont bénéficié d'une prise en charge adéquate et gratuite par le CNRFP. Cette prise en charge s'articule comme suit :

a. Traitement étiologique à base de sels de quinine

- Une dose de charge de 20 mg de quinine/kg de poids corporel à passer en 4 heures de perfusion dans du sérum glucosé isotonique 5% si le malade n'avait pas reçu de quinine dans les 24 dernières heures.
- Puis une dose d'entretien de 10 mg de sels de quinine/kg de poids corporel passés en 4 heures de perfusion, répétée toutes les 8 heures.

- Relais par la voie orale dès que possible avec la chloroquine à la dose de 10 mg/kg par jour pendant 3 jours.

b. Traitement symptomatique

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

II.4.2.2. Dans les villages de Zana et de Gourganbaga

Lors de l'enquête dans les villages, tous les enfants ont été examinés par un médecin du CNRFP. Tous ceux ayant une température axillaire $\geq 37^{\circ}5$ C recevaient un traitement adéquat à la chloroquine et au paracétamol.

II.5.2. Les prélèvements biologiques

Deux types de prélèvements sanguins ont été effectués :

- ◆ Un prélèvement à la pulpe du doigt où deux gouttes ont permis la réalisation d'une goutte épaisse et un frottis sanguin pour la recherche du *Plasmodium* et deux autres gouttes pour le dosage de la glycémie et du taux d'hémoglobine.
- ◆ Un prélèvement veineux dans un tube à EDTA (Ethylène-diamine-tetra-acétique) pour l'hémogramme et l'extraction de l'ADN du parasite.

Les taux d'hémoglobine et la glycémie ont été dosés sur le terrain.

La détermination de l'espèce plasmodiale, l'évaluation de la densité parasitaire, l'hémogramme, l'extraction de l'ADN et son amplification ont été réalisés au laboratoire du CNRFP.

Les données de l'interrogatoire, de l'examen physique, certains résultats biologiques et l'évolution de la maladie ont été consignés sur les fiches d'enquête des patients (cf. annexe1).

I.6. Examens effectués au laboratoire

I.6.1. Examen microscopique des parasites

Pour l'examen parasitologique, nous avons effectué une goutte épaisse et un frottis mince. Le frottis a été fixé au méthanol. Les lames ont été ensuite colorées au Giemsa 5% pendant 45 minutes, puis séchées et lues à l'objectif 100x du microscope sous huile à immersion.

Les densités parasitaires (DP), exprimées en nombre de parasites par microlitre (μl) de sang ont été calculées à partir de la lecture des gouttes épaisses selon la méthode suivante : le nombre de parasites par microlitre de sang dans une goutte épaisse est établi par rapport au nombre de leucocytes, fixé à 8.000 par microlitre de sang chez un adulte normal.

Nous avons utilisé deux compteurs manuels : un pour les parasites et l'autre pour les leucocytes. Pour avoir donc le nombre de parasites / μl (DP), on compte un nombre **n** de parasites pour un nombre **X** de leucocytes comptés en même temps, soit la formule suivante : $DP = (\text{nombre parasites comptés } n \times 8.000) / X$. Si le nombre de parasites **n** est ≥ 10 on compte au moins **X** = 200 leucocytes et en même temps le nombre de parasites (trophozoïtes, schizontes, gamétocytes).

$$DP = n \times 8.000 / 200 = n \times 40$$

Si le nombre de parasites **n** est < 10 , on compte au moins **X** = 500 leucocytes et la densité parasitaire sera :

$$DP = n \times 8.000 / 500 = n \times 16$$

Les lames dont la goutte épaisse s'est avérée défectueuse ont été examinées seulement au niveau du frottis mince et la densité parasitaire calculée à partir du frottis.

En estimant à 200 le nombre de globules rouges (GR) par champ microscopique et à 4.000.000 le nombre d'hématies par microlitre de sang, l'expression de la DP est la suivante :

$$\text{DP} = \frac{\text{Nombre de GR parasites} \times 4.000.000}{\text{Nombre de champs examinés} \times 200}$$

Le frottis a servi par ailleurs à l'identification de l'espèce plasmodiale et des stades parasitaires.

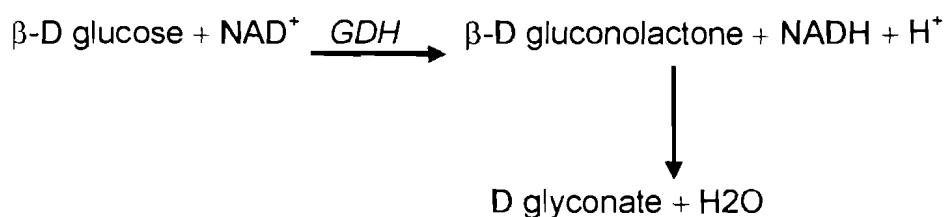
I.6.2. Glycémie

Pour le dosage de la glycémie nous avons utilisé un HemoCue® B-Glucose, appareil de mesure et des microcuvettes à usage unique contenant des réactifs chimiques. Le prélèvement sanguin consistait à approcher la microcuvette du point de piqûre fait à la pulpe du doigt et, par capillarité, le sang rejoignait la zone contenant les réactifs chimiques.

La microcuvette est ensuite introduite dans le photomètre pour la mesure de la glycémie. Le principe de la réaction est résumé de la manière suivante :

en présence de la glucose déshydrogénase (GDH) le β -D glucose est oxydé en β -D gluconolactone et la nicotinamide adénine dinucléotide (NAD^+) réduit en $\text{NADH} + \text{H}^+$. L'absorbance du NAD réduit est ensuite mesurée à 340nm. Est considéré comme hypoglycémique chez les cas graves, tout enfant ayant une glycémie inférieure à 0,40g/dl de sang.

Réaction de dosage par la glucose déshydrogénase (GDH)



I.6.3. Les hémogrammes

Les hémogrammes ont été effectués au niveau du laboratoire à partir du sang prélevé sur EDTA. Pour ce faire nous avons utilisé un COULTER® série A^c T-8. Il s'agit d'un appareil automatisé d'analyse des paramètres hématologiques.

I.6.4. Typage génétique des parasites par la technique PCR

Il comprend l'extraction du matériel génétique (ADN) et son amplification.

I.6.4.1. Extraction de l'acide désoxyribonucléique (ADN)

La procédure a comporté une phase préparatoire et une phase opératoire :

a. La phase préparatoire : préparation des solutions pour l'extraction

Elle se déroule dans une salle dite pré-PCR.

Tableau I : Composition de la solution de DTAB 12%

SOLUTION DTAB 12%	100 ml	50 ml	10 ml	C/ finale
DTAB	12 g	6 g	1,2 g	12%
NaCl 5 M	24 ml	12 ml	2,4 ml	1,2 M
TrisHCl ph 8,6	15 ml	7,5 ml	1,5 ml	150 mM
0,5 M EDTA	15 ml	7,5 ml	1,5 ml	75 mM
H2O stérile Qsp	100 ml	50 ml	10 ml	

Tableau II : Composition de la solution de CTAB 5%

SOLUTION CTAB 5%	100 ml	50 ml	10 ml	C/ finale
CTAB	5 g	2,5	0,5 g	5%
NaCl 5 M	8 ml	4 ml	0,8 ml	0,4 M
H2O stérile qsp	100 ml	50 ml	10 ml	

b. La phase opératoire

Elle se déroule dans la pièce pré-PCR et sous une hotte.

L'extraction de l'ADN a été effectuée à partir du prélèvement veineux sur EDTA (anticoagulant) selon la technique DTAB-CTAB (Dodecyl Triméthyl Ammonium Bromide-Cétyl-Triméthyl Ammonium Bromide).

Cette technique de dénaturation / précipitation utilisant des sels triméthyl-ammonium bromide donne d'excellents résultats quant à la qualité de rendement de l'ADN extrait [27]. Nous l'avons légèrement modifiée en ajoutant un traitement préalable du sang avec 1% de saponine pour permettre une meilleure lyse des globules rouges afin de s'assurer de la libération de l'ADN du parasite présent dans les globules rouges.

Le protocole d'extraction retenu comporte les étapes suivantes :

- Prélever 300 μ l de sang sur EDTA (ou du sang frais) dans un tube eppendorf 1,5 ml ;
- Ajouter 15 μ l de saponine 1% et laisser reposer 5 à 10 min
- Ajouter 300 μ l de DTAB à 12% ;
- Mélanger par retournements lents (environ 15 s, apparition de coloration rouge brique) ;
- Incuber à (+)68°C pendant 5 min dans un bain-marie ;

- Ajouter 700 μ l de chloroforme (mélanger immédiatement et vigoureusement, environ 15 s) ;
- Centrifuger à 10 000 tours/ min pendant 2 min ;
- Préparer un tube eppendorf (1,5 ml), avec 100 μ l de CTAB à 5% + 900 μ l d'H₂O stérile, soit 1000 μ l (1 ml) de CTAB à 0,5% ;
- Ajouter le surnageant ;
- Retourner doucement le tube (obtention d'un précipité DNA-CTAB) ;
- Centrifuger à 10 000 tours/ min pendant 2 min ;
- Prélever le surnageant ;
- Dissoudre le culot avec 300 μ l de NaCl (1,2M) ;
- Ajouter 750 μ l d'éthanol (99,5 % ou 100 %) ; procéder à des retournements lents du tube pour précipiter l'ADN ;
- Centrifuger à 10 000 tours/ min pendant 2 min et jeter l'éthanol ;
- Laver une fois avec 1 ml (1000 μ l) d'éthanol 70 % par retournements lents ;
- Centrifuger à 10 000 tours/ min pendant 2 min (jeter l'éthanol avec précaution) ;
- Laisser évaporer l'éthanol en ouvrant les tubes ;
- Dissoudre l'ADN dans 50-100 μ l d'eau stérile ;
- Conserver l'ADN extrait à (-)20°C dans un congélateur.

Le DTAB et le CTAB sont utilisés pour la précipitation de l'ADN alors que le NaCl, l'éthanol, le chloroforme sont utilisés pour la purification.

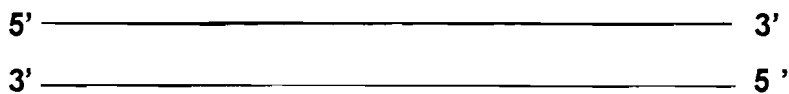
1.6.4.2. L'amplification des extraits d'ADN

La technique d'amplification retenue est celle de la nested PCR des gènes MSP-2 [57]. Elle comporte différents acteurs et plusieurs étapes :

a. Les acteurs de la PCR

Ce sont essentiellement :

L'ADN matrice de départ : sous forme double-brin, contenant le fragment à amplifier comme représenté ci-après :



Deux amorces (primers) : Sens et anti-sens, ce sont de petits brins d'ADN d'environ 20 bases, oligonucléotides capables de s'hybrider de façon spécifique grâce à la complémentarité des bases, sur le brin d'ADN ou sur son brin complémentaire. Les amorces sont choisies de façon à encadrer la séquence d'ADN à amplifier.

Une enzyme : la Taq Polymerase (Taq Pol) .est une ADN polymérase thermorésistante extraite de la bactérie *Thermus aquaticus*. Sa température optimale d'action est de (+)72° C et elle est capable de résister à des passages successifs à (+)95°.

Les 4 nucléotides : déoxyguanosine-triphosphate (dGTP), déoxyadénosine-triphosphate (dATP), déoxythymidine-triphosphate (dTTP), déoxycytidine-triphosphate (dCTP), appelés globalement dNTPs (déoxynucléosides-triphosphates), sont les éléments de base utilisés par la Taq Polymerase pour synthétiser les brins d'ADN complémentaires.

Le tampon de réaction : il contient des sels (Tris-HCl, KCl, MgCl₂) qui assurent une force ionique correcte ainsi qu'un pH adéquat. Le tampon permet une bonne hybridation des amorces ainsi que le bon fonctionnement de la Taq polymérase.

b. Les principales étapes

b 1. *La préparation du mélange ou mix pour amplification*

Elle se fait sous une hotte différente de celle ayant servi à l'extraction de l'ADN pour un volume final de 20 μ l. Sa composition est la suivante :

Tableau III : Composition du mélange pour amplification (mix)

Produits	Co	volume 1(μ l)	Cf	Mix x(n+2) μ l*
-Tampon PCR buffer 10x	15 mM	2	1,5 mM	
- dNTP	25 mM	0,16	200 μ M	
- Primers (amorce) A	10 μ M	2	1 μ M	
- Primers (amorce) B	10 μ M	2	1 μ M	
- Taq polymérase(enzyme)	5 UI/ μ l	0,1	0,5 UI	
- H2O stérile: qsp 20 μ l		12,74		
- Echantillon d'ADN**		1		
Volume final		20		

Co: Concentration initiale; **Cf** : Concentration finale

*Pour chaque manipulation, un calcul du volume nécessaire de chaque réactif est indispensable. Ce calcul est toujours fait sur $n + 2$:

n étant le nombre d'échantillons à analyser plus 1 pour le témoin négatif (H₂O) et l'autre pour éviter de se retrouver avec un volume insuffisant pour le dernier échantillon.

** Pour minimiser les risques de contamination, la solution mixte est préparée pour tous les tubes à tester. Elle comprend le dNTP, le tampon PCR, les amorces, la taq polymérase et l'eau distillée stérile. Elle est distribuée à raison de 19 μ l / tube. 1 μ l d'ADN est ensuite ajouté pour avoir un volume final de 20 μ l/ tube. Les dNTP constituent un ensemble de 4 nucléotides : dGTP, dATP, dCTP, dTTP.

b 2. L'amplification proprement dite

Dans notre étude et en rapport avec le gène MSP-2 nous avons effectué deux types d'amplification basés sur le principe de la PCR.

La première amplification dite primaire consistait à amplifier l'ensemble du gène MSP-2 en utilisant des primers ou amorces nommées M2OF et M2OR.

La seconde amplification appelée " Nested PCR " ou PCR spécifique utilise le produit de la PCR primaire comme matrice avec des primers spécifiques au type d'allèle à amplifier : FC27 A / FC27 B ou 3D7 A / 3D7 B.

- Principe de l'amplification par la PCR

La PCR " polymérase chain reaction ", réaction de polymérisation en chaîne est une technique d'amplification d'ADN in vitro. Le principe consiste à hybrider un ADN double-brin dénaturé, à haute température, avec deux amorces oligonucléotidiques qui permettront la copie d'un brin d'ADN qu'ils encadrent.

Chaque couple d'amorce est composé d'un oligonucléotide complémentaire de l'extrémité 5' du monobrin d'ADN à amplifier et d'un oligonucléotide complémentaire de l'extrémité 3' du brin antiparallèle.

La polymérisation est réalisée en présence de désoxynucléotides triphosphates (dNTP) et de la Taq polymérase. Les brins synthétisés servent ensuite eux-mêmes de matrice pour initier l'étape de polymérisation du cycle suivant. La répétition des différentes étapes de dénaturation, d'hybridation et d'élongation aboutit à une amplification exponentielle de la séquence cible, soit à une amplification théorique de 2^n par génome haploïde où n représente le nombre de cycles d'amplification réalisé.

- Les étapes de la réaction d'amplification ou de polymérisation

Tous les éléments nécessaires à la réaction sont regroupés dans un microtube et placés dans un thermocycleur du type PTC-100™ programmable, puis soumis aux différentes températures correspondant à chaque étape. Les températures, les durées sont réglées automatiquement dans le thermocycleur et varient en fonction du gène étudié.

Trois étapes se distinguent au cours d'un cycle d'amplification : la dénaturation, l'hybridation et l'élongation :

La dénaturation : c'est la phase qui permet la séparation du double brin d'ADN, pour donner deux simples brins. Elle se déroule à (+)94°C et dure 5 minutes pour le premier cycle (il s'agit de dénaturer l'ADN de grande taille) et 2 secondes pour les cycles suivants.

L'hybridation des amorces ou « annealing » : c'est la phase qui permet la fixation des amorces ou primers au simple brin d'ADN qui leur est complémentaire. La température d'hybridation varie selon les amorces utilisées : (+)55°C pour les primers M2OF/ M2OR ; (+)57°C pour FC27A/ FC27B et 3D7A/3D7B. Durée : 1 minute 30 secondes.

L'élongation : extension ou amplification, c'est la phase qui permet la synthèse du brin complémentaire d'ADN. La température d'élongation (+)72°C, est la température optimale de la Taq polymérase. La durée de cette phase est de deux (02) minutes. Elle est fonction de la longueur de la séquence à amplifier.

N.B : le nombre de cycles d'amplification est fonction de la séquence à amplifier. Nous avons 32 cycles pour la PCR primaire du gène MSP2 soit une durée d'environ 2 heures 6 min et 30 cycles pour les nested PCR estimés à environ 1 heure 51 min.

1.6.4.3 Electrophorèse des produits d'amplification

Les fragments d'ADN obtenus par la PCR sont en quantité telle qu'il est possible de les révéler directement par électrophorèse sur gel. La vitesse de migration étant dépendante de la masse moléculaire, les molécules sont séparées en fonction de leur taille. Trois étapes sont à distinguer dans cette révélation :

a. La préparation du gel d'agarose à 1,5%

- Dans un erlenmeyer de 250 ml, introduire 1,5 g d' agarose +100 ml de la solution de Tribase/ EDTA/ Acide borique (TBE) 0,5 M ;
- Chauffer sous agitation magnétique pendant 10 à 15 min sur une plaque électrique ;
- Laisser reposer ;
- Lorsque la solution devient limpide, ajouter 5 μ l de solution de bromure d' éthidium (BET) à 10 mg/ml. Le BET est un produit intercalant qui se glisse entre les bases des acides nucléiques. Il présente une fluorescence orange sous illumination par des UV courts de longueur d'ondes d'environ 300 nm ;
- Homogénéiser et laisser refroidir 1 minute ;
- Couler le gel sur une plaque en prenant le soin de placer les peignes correspondants (dans notre étude nous avons utilisé des peignes de 26 puits) ;
- Laisser polymériser 30 min à 1 heure (le gel se solidifie) et retirer ensuite le peigne.

b. La migration électrophorétique

Le gel précédemment préparé est immergé dans le bac à électrophorèse contenant du TBE 0,5 M, puis on procède comme suit :

- 3 μ l de marqueur de poids moléculaire sont déposés dans le premier puits ;
- ensuite on dépose un mélange de 13 μ l composé de 10 μ l d'échantillon d'ADN et 3 μ l de tampon de charge. Le tampon constitué d'un mélange de xylène-cyanol est un alourdisant qui colore en bleu le produit de migration.
- appuyer sur Start (démarrage)
- ajuster rapidement le voltage à 80 volts ;
- vérifier périodiquement si le voltage est constant ;
- arrêter la migration après 1h 30mn.

c. La révélation du produit d'électrophorèse

Le gel est visualisé sous UV, suivi d'une photographie à l'aide d'un appareil polaroid.

I.6.4.4. Analyse et interprétation des résultats de la PCR

Il s'agit après traitement des photos scannées par les logiciels PHOTOSHOPS et POWER POINT de :

- déterminer le nombre de clones ou de souches ou de fragments par isolat (échantillon ou individu) ;
- déterminer le nombre d'individus infectés ;
- déterminer la complexité ou la multiplicité moyenne de l'infection ;
- mesurer la fréquence des différentes familles alléliques.

I.7. Modes de traitement des données

Toutes les données ont été saisies en double et analysées sur EpiInfo® version 6.0. Plusieurs variables ont été définies pour l'analyse :

- ▢ les âges regroupés en cinq tranches ;
- ▢ les entités cliniques réparties en 4 groupes ;
- ▢ le sexe, les fréquences des allèles FC27 et 3D7 du gène MSP-2.

Une transformation logarithmique de la valeur de la parasitémie a permis le calcul de la moyenne géométrique en fonction de l'entité clinique.

Les tests statistiques suivants ont été utilisés :

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

le test de Student (t) et l'analyse de variances pour la comparaison des moyennes.

La valeur de $p < 0,05$ a été retenue comme seuil de significativité pour les différents tests statistiques.

II. RESULTATS

II.1. Caractéristiques de l'échantillon

Durant la période de l'étude (septembre à octobre 2001), nous avons recruté 405 enfants de 0 à 5 ans repartis en fonction des entités cliniques comme l'indique la figure 3.

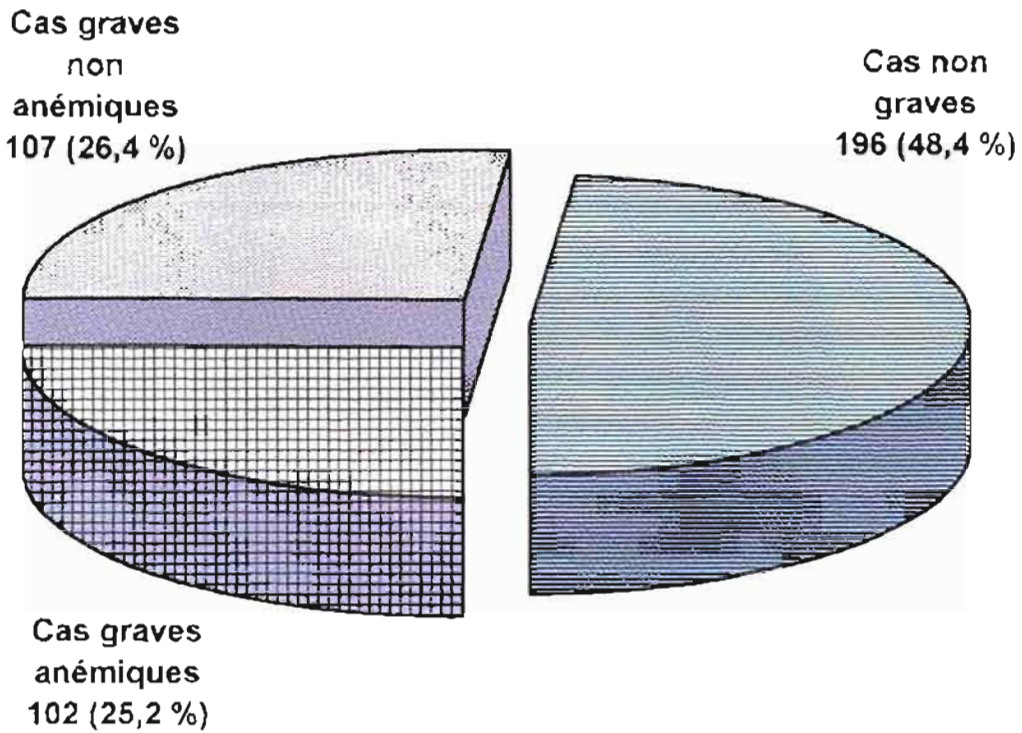


Figure 3 : Répartition des effectifs en fonction des entités cliniques

Nous avons recruté sensiblement un nombre égal de cas graves (209) et de cas non graves (196).

Les caractéristiques socio-démographiques, épidémiologiques, cliniques et biologiques de ces patients ont été analysées dans notre étude.

II.1.1. Caractéristiques socio-démographiques.

II.1.1.1. L'âge

Nous avons reparti les patients des différentes entités cliniques de l'étude par tranche d'âge (en années) comme représenté dans la figure 4.

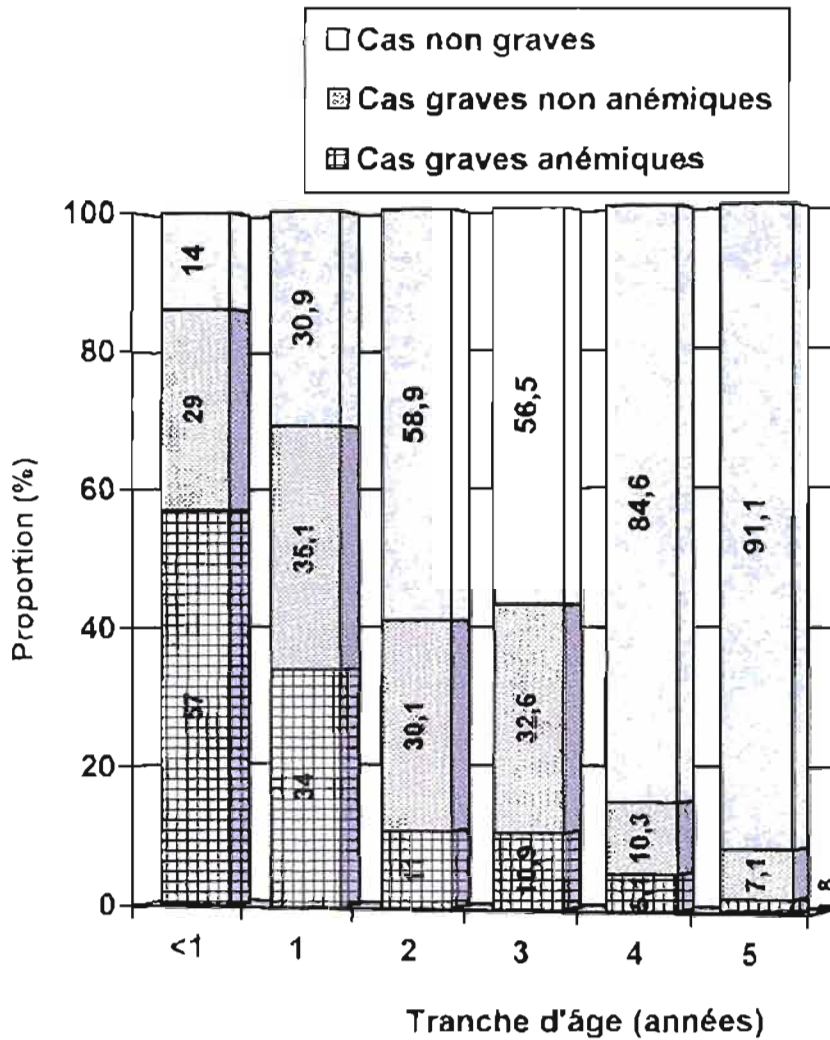


Figure 4 : Répartition des patients selon les tranches d'âge.

Résultats

Les cas graves d'une manière générale étaient plus nombreux dans les tranches d'âge < 1 et 1an. Au-delà de 1 an, le nombre de malades décroissait avec l'âge.

A l'inverse, la fréquence des cas non graves augmentait avec l'âge, avec un maximum à l'âge de 5 ans. L'âge moyen (\pm écart-type) était de 1,3 (\pm 0,9) ans chez les cas graves anémiques ; 1,9 (\pm 1,2) ans chez les cas graves non anémiques et 3,0 (\pm 1,6) ans chez les cas non graves.

La différence est statistiquement significative entre cas graves anémiques et cas graves non anémiques ($\chi^2 = 23,4$ $p = 0,0007$), entre cas graves anémiques et cas non graves ($\chi^2 = 74,6$ $p < 10^{-6}$) et entre cas graves non anémiques et cas non graves ($\chi^2 = 27,5$ $p < 10^{-6}$).

L'âge moyen des cas graves d'une manière générale était de 1,6 (\pm 0,5) ans.

II.1.1.2. Le sexe

Dans l'échantillon global le sexe masculin représentait 53,4% et le sexe féminin 46,6%. Nous avons noté 51,5 % de sujets de sexe masculin chez les cas graves anémiques, 51,9% chez les cas graves non anémiques et 55,1% chez les cas non graves.

La différence de sexe n'est pas statistiquement significative dans les trois entités cliniques. ($\chi^2 = 0,5$ $p = 0,8$).

II.1.2. Caractéristiques épidémiologiques et cliniques

Plusieurs données épidémiologiques et cliniques ont été obtenues.

II.1.2.1. La répartition des cas graves selon le mois

Parmi les 209 cas de paludisme grave, 98 malades ont été recrutés en septembre, 103 en octobre et 8 en novembre. En septembre nous avons noté 54 cas de paludisme grave anémique contre 44 cas de paludisme grave non anémique. En octobre les effectifs étaient de 48 contre 55. L'étude a pris fin le 10 novembre avec le recrutement de 8 cas de paludisme grave non anémique.

II.1.2.1. Le délai de consultation

Cette variable a été évaluée seulement chez les cas graves.

Le délai de consultation, c'est à dire le temps écoulé entre l'apparition du premier symptôme et l'hospitalisation était en moyenne de 5,1(± 3,8) jours chez les cas graves anémiques et 3,7 (± 3,5) jours chez les cas graves non anémiques.

La différence est statistiquement significative ($\chi^2 = 14,6$ $p = 10^{-4}$).

II.1.2.2. La température

La température moyenne chez les enfants avec anémie palustre sévère (ou cas grave anémique) était de 38,4 (± 1,1)°C avec des extrêmes de 36,4°C et 39°C. Elle était de 38,8 (± 1,1)°C chez les cas graves non anémiques avec des extrêmes de 36,3°C et 39,8°C.

Nous avons enregistré une température moyenne de 36,5 ± 0,61°C chez les cas non graves avec des extrêmes de 35,1°C et 39,5°C.

Résultats

La différence est statistiquement significative entre les cas graves anémiques et les cas graves non anémiques ($\chi^2 = 7,2$ $p = 0,007$), entre cas graves anémiques et cas non graves ($\chi^2 = 43,6$ $p < 10^{-4}$). Elle est aussi significative entre cas graves non anémiques et cas non graves ($\chi^2 = 66,7$ $p < 10^{-4}$).

II.1.2.3. L'évolution clinique

L'évolution clinique a été évaluée chez 170 patients atteints de paludisme grave et admis dans le service de pédiatrie du CHR de Tenkodogo. Les données sur l'évolution clinique de 39 malades n'ont pas été obtenues (départ du service sans autorisation). Le taux de létalité était de 5,2% (4/77) chez les cas de paludisme grave contre 2,2% (2/93) chez les cas graves non anémiques.

La différence est statistiquement significative ($\chi^2 = 9,8$ $p = 0,002$).

II.1.3. Les paramètres biologiques

II.1.3.1. La densité parasitaire

La densité parasitaire moyenne (moyenne géométrique) chez les cas graves anémiques était de 12.794 ± 7 parasites / μl avec des extrêmes de 32 et 251.189/ μl ; celle des cas graves non anémiques était de 11.508 ± 6 parasite / μl avec des extrêmes de 100 et 158.489 / μl . Chez les cas non graves elle était de 2.325 ± 5 parasites / μl avec des extrêmes de 5 et 9.792 / μl .

II.1.3.2. La glycémie

La glycémie a été mesurée chez les cas de paludisme grave. Sa valeur moyenne chez les cas graves anémiques était de $6,4 (\pm 2,3)$ mmol/l avec des extrêmes de 1,9 et 11,5 mmol/l ; celle des cas graves non anémiques était de $7,3 (\pm 2,8)$ mmol/l avec des extrêmes de 1 et 15 mmol/l.

Il n'y a pas de différence statistiquement significative ($\chi^2 = 2,78$ p = 0,095) entre les deux entités cliniques.

II.1.3.3. Le taux d'hémoglobine

Le taux moyen d'hémoglobine chez les cas graves anémiques était de $3,4 \pm 1,0$ g/dl ; celui des cas graves non anémiques $7,2 \pm 1,6$ g/dl. Chez les cas non graves le taux d'hémoglobine était de $9,2 \pm 1,8$ g/dl.

La différence n'est pas significative entre cas graves non anémiques et cas non graves (p du t test = 0,23).

II.2. Les formes alléliques du gène MSP-2 de *P. falciparum*.

La distribution des allèles encore appelés souches ou clones 3D7 et FC27 de *P. falciparum* selon les caractéristiques socio-démographiques a été évaluée dans notre étude.

II.2.1. La distribution des souches selon l'âge des patients

II.2.1.1. Prévalence des souches 3D7 de *P. falciparum*

La prévalence des souches 3D7 selon l'âge est donnée par le tableau IV.

Tableau IV : prévalence des souches 3D7 selon l'âge des patients

Tranches d'âge	Cas graves Anémiques		Cas graves non anémiques		Cas non graves		χ^2	p
	n	%	%	n	%			
< 1 an	40	75,5	22	81,5	10	76,9	0,3	0,83
1 an	26	78,8	32	94,1	24	80	3,7	0,15
2 ans	4	80	19	86,4	37	86	*	0,6
3 ans	3	37,5	10	66,7	21	80,8	5,4	0,06
4 ans	1	50	4	100	19	57,6	*	0,13
5 ans	0	0	3	75	40	78,4	*	0,8
Total	74	72,6	90	84,9	151	77,1	7,7	0,02

*Les valeurs p ont été obtenues à partir du test exact de Fischer.

Résultats

Plus de 75 % des enfants de moins de 3 ans avaient des souches 3D7, cela indépendamment de l'entité clinique. A partir de 3 ans la prévalence était variable. Nous n'avons noté aucune souche 3D7 à la tranche d'âge de 5 ans chez les cas graves anémiques. Par la prévalence des souches 3D7 était de 75% et 78%, respectivement chez les cas graves non anémiques et chez les cas non graves.

Dans toutes les classes d'âge, il n'y a pas de différence significative de la prévalence des souches 3D7 entre les entités cliniques. A l'âge de 3 ans cette différence était à la limite de la significativité ($\chi^2 = 5,4$ p = 0,06).

Cependant la prévalence des souches 3D7 était statistiquement plus élevée chez les cas graves non anémiques que dans les autres formes cliniques (p = 0,02).

II.2.1.1. La prévalence des souches FC27 de *P. falciparum*

Les souches FC27 étaient retrouvées chez plus de 80% des enfants et cela dans toutes les tranches d'âge sauf chez les cas graves non anémiques de 4 ans où leur prévalence était de 75% (Tableau V).

Tableau V : Prévalence des souches FC27 selon l'âge des patients

Tranches d'âge	Cas graves anémiques		Cas graves non anémiques		Cas non graves		χ^2	p
	n	%	n	%	n	%		
< 1 an	46	86,8	25	92,6	11	84,6	0,76	0,68
1 an	31	93,9	30	88,2	27	90	0,67	0,71
2 ans	7	87,5	20	90,9	38	88,4	0,79	0,67
3 ans	4	80	14	93,3	23	88,5	*	0,44
4 ans	2	100	3	75	28	84,8	*	0,53
5 ans	1	100	4	100	43	84,3	*	0,84
Total	91	89,2	96	89,7	170	86,7	1,1	0,56

*Les valeurs p ont été obtenues par le test exact de Fischer.

Résultats

Les prévalences les plus élevées (100%) ont été observées aux classes d'âge 4 et 5 ans chez les cas graves d'une manière générale.

Il n'y a pas de différence statistiquement significative de la prévalence des souches FC27 entre les groupes cliniques dans les tranches d'âges.

Lorsqu'on compare la prévalence des souches FC27 à celle des souches 3D7 dans les différentes entités cliniques, la prévalence des souches FC27 est statistiquement plus élevée que celle des souches 3D7 chez les cas graves anémiques ($\chi^2 = 9,16$ $p = 0,002$) et chez les cas non graves ($\chi^2 = 6,21$ $p = 0,01$). Cette différence n'est pas significative chez les cas graves non anémiques ($\chi^2 = 1,16$ $p = 0,2$).

II.2.2. La distribution des souches 3D7 et FC27 de *P. falciparum* selon le sexe des patients

La prévalence des souches 3D7 et FC27 selon le sexe est présentée dans le tableau VI.

Tableau VI : Prévalence des souches 3D7 et FC 27 de *P. falciparum* selon le sexe des patients

Prévalence des souches (%)				
	masculin	féminin	X ²	p
Cas graves anémiques				
Souches 3D7	71,2	73,5	0,07	0,8
Souches FC27	88,9	85,7	1,13	0,3
Cas graves non anémiques				
Souches 3D7	88,9	80	1,58	0,2
Souches FC27	94,4	86	1,27	0,1
Cas non graves				
Souches 3D7	75	79,5	0,57	0,5
Souches FC27	87	86,4	0,02	0,9

La différence observée n'est pas statistiquement significative.

II.2.3. La distribution des souches 3D7 et FC27 de *P. falciparum* selon la période de recrutement des cas graves

L'analyse de la prévalence des souches 3D7 et FC27 de *P. falciparum* chez les cas graves selon la période de leur inclusion dans notre étude est présentée dans le tableau VII.

Au mois de septembre, il n'y avait pas de différence statistiquement significative dans la prévalence des souches 3D7 entre les cas graves anémiques et les cas graves non anémiques ($\chi^2 = 0,18$ p = 0,66). Par contre cette prévalence était statistiquement plus élevée au mois d'octobre chez les cas graves non anémiques que chez les cas graves anémiques ($\chi^2 = 6,53$ p = 0,01).

Il n'y avait pas différence significative au niveau de la prévalence des souches FC27 entre les cas graves anémiques et les cas graves non anémiques en septembre comme en octobre.

Tableau VII : Prévalence des souches 3D7 et FC27 de *P. falciparum* des cas graves selon la période de recrutement

	Prévalence souches 3D7 %				Prévalence souches FC27%			
	CGA*	CGNA**	χ^2	p	CGA	CGNA	χ^2	p
Septembre	75,9	79,5	0,18	0,67	92,6	88,6	0,45	0,5
Octobre	68,8	89,1	0,53	0,01	85,4	90,9	0,75	0,39

NB : * Cas graves anémiques

** Cas graves non anémiques

II.2.4. La prévalence des souches 3D7 et FC27 de *P. falciparum* selon les formes évolutives des cas graves

Les prévalences des souches 3D7 et FC27 chez les cas graves dont l'évolution clinique était connue, sont résumées dans le tableau VIII.

Tableau VIII : Prévalence des souches 3D7 et FC27 selon l'évolution clinique du paludisme

	Souches 3D7				Souches FC27			
	Oui		Non		Oui		Non	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Guéris	127	96,2	37	97,4	144	96,0	20	100
Décédés	5	3,8	1	2,6	6	4	0	0
Total	132	77,6	38	22,4	150	88,2	20	11,8

Le taux de létalité n'est statistiquement pas différent entre les patients hébergeant des souches 3D7 et ceux qui ne les hébergent pas ($p = 0,6$ selon le test de Fischer). De même la présence des souches FC27 n'influence pas le taux de létalité ($p = 0,5$ selon le test de Fischer)

En outre le taux de létalité est sensiblement identique dans les deux familles parasitaires 3D7 et FC27 respectivement 3,8% et 4 %.

II.3. La polyclonalité de l'infection à *P. falciparum*

La polyclonalité de l'infection est définie comme la proportion des enfants ayant plus d'un fragment ou clone de *P. falciparum*. Dans notre étude le nombre de souches par personne variait entre 0 et 8.

Nous avons représenté à travers la figure 5 la proportion des patients en fonction du nombre de souches.

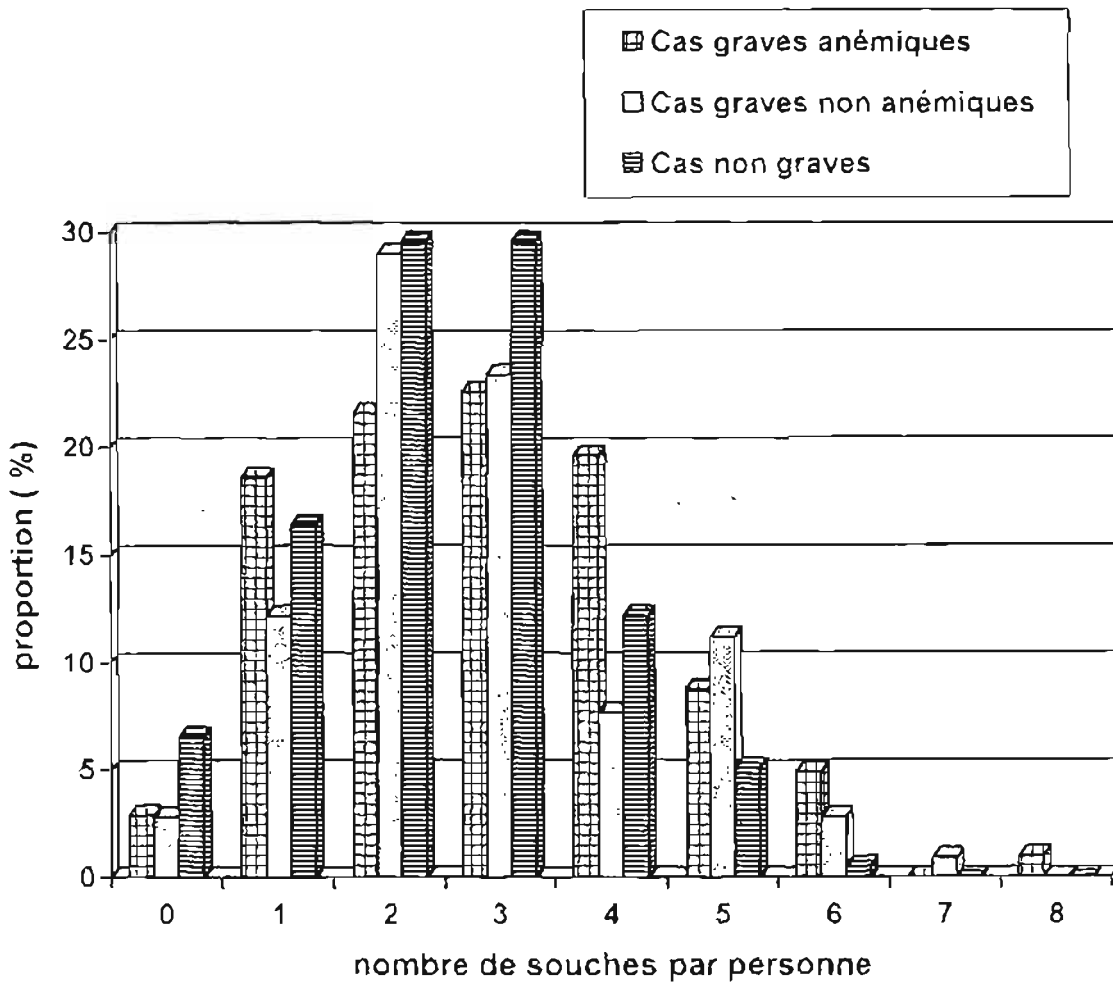


Figure 5 : Proportion du nombre de souches par personne

La figure 5 indique une polyclonalité de 78,5% chez les cas graves anémiques, 85% chez les cas graves non anémiques et 77%. Il n'y a pas de différence significative entre les différentes polyclonalités ($\chi^2 = 2,8$ $p = 0,2$).

Résultats

A l'inverse 2,8% des cas graves anémiques, 2,9% des cas graves non anémiques et 6,6% des cas non graves étaient sans infection.

Cependant la plupart des enfants avaient 2 ou 3 infections (44,2% des cas graves anémiques, 52,4% des cas graves non anémiques et 59,2% des cas non graves).

II.4. LA COMPLEXITE DES SOUCHES FC27 ET 3D7 DE *P. FALCIPARUM* SELON L'AGE DES PATIENTS

La complexité des souches, définie comme le nombre moyen de souches par patient a été évaluée selon l'âge des patients dans notre étude (Tableau IX). C'est le rapport de la somme des souches de *P. falciparum* retrouvées chez chaque patient par le nombre total de patients hébergeant ces souches.

Tableau IX : complexité des souches FC27 et 3D7 selon l'âge des patients

Ages (années)	Complexité des souches de <i>P. falciparum</i>					
	souches 3D7			souches FC27		
	CGA	CGNA	CNG	CGA	CGNA	CNG
<1	1,1	0,9	1	1	1	1,1
1	1,0	1,2	1,3	1,6	1,3	1,1
2	1,0	1,3	1,3	1,5	1,5	1,3
3	1,2	1,5	1,2	1,9	1,3	1,2
4	1,5	1,3	1,2	2,5	1,6	1,2
5	2,1	2	1,4	1,9	1,8	1,3
Moy	1,3	1,4	1,2	1,7	1,4	1,2

** CGA = cas graves anémiques ; CGNA = cas graves non anémiques ; CNG = cas non graves

Résultats

Le Tableau IX montre qu'il n'y a pas de différence significative de la complexité des souches de *P. falciparum* selon l'âge aussi bien chez les cas graves anémiques ($p = 0,28$ pour 3D7 et $0,55$ pour FC27 par ANOVA) que chez les cas graves non anémiques ($p = 0,6$ pour 3D7 et $0,35$ pour FC27 par ANOVA). De même, les valeurs de $p = 0,62$ pour 3D7 et $0,96$ pour FC27, montrent qu'il n'y a pas de différence significative de la complexité des souches selon l'âge chez les cas non graves.

Par ailleurs, en comparant la complexité des souches de type FC27 puis celle des souches de types 3D7, entre les trois entités cliniques, la complexité des souches FC27 est statistiquement plus élevée chez les cas graves anémiques ($\chi^2 = 5,4$ $p = 0,02$). Par contre la celle des souches 3D7 n'est pas statistiquement différente entre les entités cliniques ($\chi^2 = 0,3$ $p = 0,6$).

II.5. EVOLUTION DE LA COMPLEXITE DES SOUCHES (3D7+FC27) DE *P. FALCIPARUM* SELON L'AGE

L'évolution du nombre moyen de souches (FC27+3D7) de *P. falciparum* selon l'âge est présentée dans la figure 6. Ce nombre moyen (FC27+3D7) représente la somme des complexités individuelles des souches FC27 et 3D7 présentées dans le tableau IX.

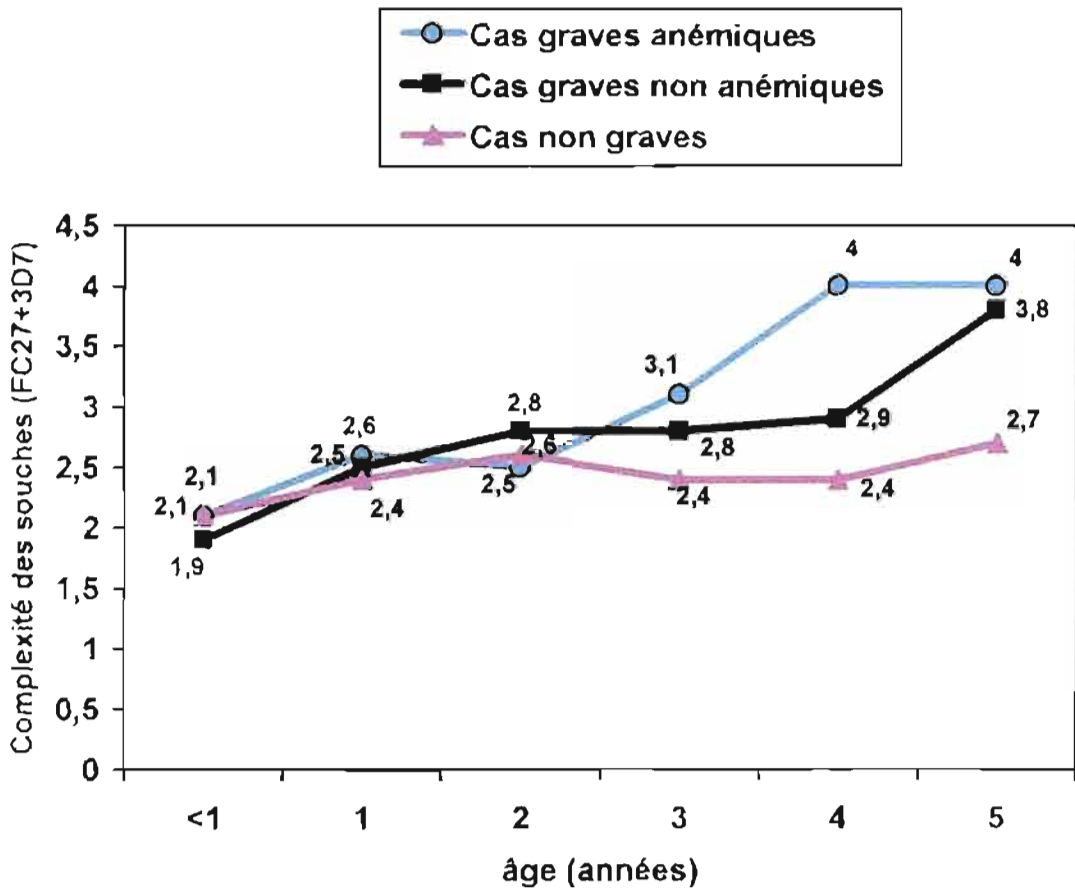


Figure 6 : complexité des souches (FC27+3D7) de *P. falciparum* selon l'âge

La complexité des souches (FC27+3D7) augmente avec l'âge de manière non significative chez les cas graves anémiques ($p = 0,09$ par ANOVA), chez les cas graves non anémiques ($p = 0,1$ par ANOVA) et chez les cas non graves ($p = 0,8$ par ANOVA).

II.6. LA COMPLEXITE DES SOUCHES DE *P. FALCIPARUM* SELON LES FORMES EVOLUTIVES DU PALUDISME

Nous avons obtenu une complexité de $2,8 \pm 1,5$ souches par patients chez les cas guéris avec des extrêmes de 1 et 7 souches. Chez les cas décédés cette moyenne était de $2,8 \pm 1$ avec des extrêmes de 2 et 4 souches.

La différence n'est pas statistiquement significative entre les cas guéris et les cas de décès ($H = 0,06$ $p = 0,81$).

II.7. INFLUENCE DE LA DENSITE PARASITAIRE SUR LA COMPLEXITE DES SOUCHES DE *P. FALCIPARUM*

La variation de la complexité des souches en fonction de la densité parasitaire est présentée dans le tableau X.

Tableau X : influence de la densité sur la complexité des souches de *P. falciparum*

Complexité des souches de <i>P. falciparum</i>			
Densité parasitaire(parasites/ μ l)	FC27	3D7	Total
0 -5000	1,5	1,2	2,7
5 000- 10 000	1,6	0,9	2,5
10 000 - 50 000	1,6	1	2,6
50 000 - 100 000	2	1,4	3,4
100000 et +	1,9	1,5	3,4

La complexité des souches FC27 et 3D7 de *P. falciparum* augmente avec la densité parasitaire. Cette augmentation n'est pas statistiquement significative ($H = 3,03$ $p = 0,55$ pour FC27 et $H = 1,8$ $p = 0,2$ pour 3D7).

III. DISCUSSION

III.1. DES LIMITES DE L'ETUDE

Technique d'analyse de nouvelle génération, les appareils et matériels utilisés pour la PCR sont encore d'un coût élevé.

Ce facteur limitant majeur pour les pays en développement comme le Burkina Faso, fait qu'en dehors de quelques grands projets comme ceux du Centre National de recherche sur le Paludisme, à notre connaissance, la PCR n'est pas une technique d'utilisation courante dans les laboratoires de recherche biomédicale. Cette question de coût a été la raison de la limitation de notre échantillon à l'effectif retenu pour l'étude.

L'examen microscopique a révélé la présence de parasites dans les prélèvements de tous les cas de paludisme. Paradoxalement, les résultats de la PCR ont montré l'absence de souches de *P. falciparum* dans 2,9% des cas graves anémiques, 2,8% des cas graves non anémiques et 6,6 % des cas non graves (Figure 5). Cette discordance relative des résultats pourrait s'expliquer soit par de probables erreurs au cours de l'examen microscopique des parasites soit par des erreurs de manipulation éventuelles survenues au cours de l'exécution de la PCR.

Malgré ces limites, cette étude nous a permis d'analyser le polymorphisme allélique du gène MSP2 de *P. falciparum* chez des enfants atteints de formes diverses de paludisme dans la province du Boulgou.

III.2. DE L'AGE DES ENFANTS ET PREVALENCE DES SOUCHES 3D7 ET FC27 DE *P. FALCIPARUM*

L'analyse de la prévalence (Tableau IV et V) montre qu'il n'y a pas de corrélation significative entre l'âge des sujets et la prévalence des deux souches parasitaires. Ces résultats corroborent ceux de Robert et *al.* (1996) [48] et ceux de Felger et *al.* (1999) [19].

Dans toutes les tranches d'âge, l'analyse de la prévalence des souches 3D7 et FC27, prises séparément n'a pas montré de différence statistiquement significative entre les entités cliniques de notre étude.

Cependant, nous avons noté une prédominance de la prévalence des souches FC27 par rapport aux souches 3D7 dans toutes les tranches d'âge des différentes entités cliniques. Des résultats similaires ont été trouvés par Engelbrecht et *al.*, soit 88,5% de souches FC27 contre 80% de souches 3D7 lors d'une étude effectuée au Nord du Nigeria [16].

Les souches FC27 de *P. falciparum* sont les plus dominants dans la province du Boulgou.

Aucune souche allélique de *P. falciparum* n'est associée à une tranche d'âge spécifique, cela quelque soit l'entité clinique étudiée.

III.3. DE LA PREVALENCE DES SOUCHES 3D7 ET FC27 ET DES ENTITES CLINIQUES DU PALUDISME

◆ L'analyse de la prévalence des souches 3D7 en fonction des entités cliniques (Tableau IV), révèle une prévalence statistiquement plus élevée chez les cas graves non anémiques que dans les autres entités cliniques. Les prévalences que nous avons observées dans notre étude pour les souches 3D7, 72,6% et 77,1% respectivement chez les cas graves anémiques et chez les cas non graves sont supérieures à celles rapportées par Robert et *al.* [48] à Dakar (Sénégal) en 1996. Avec des prévalences de 57% et 53% pour les souches 3D7, respectivement chez les cas graves anémiques et chez les cas non graves, Robert et *al.* n'ont d'ailleurs pas noté de différence statistiquement significative entre les entités cliniques de leur étude, comme cela a été montré dans la nôtre. Dans les mêmes conditions de transmission, les résultats de notre étude montrent que les souches 3D7 de *P. falciparum* se retrouvent le plus souvent chez les enfants présentant un paludisme grave non anémique.

◆ Aucune différence statistiquement significative n'est obtenue dans la prévalence des souches FC27 entre les différentes entités cliniques étudiées (Tableau V).

Les souches FC27 de *P. falciparum* sont donc présentes aussi bien chez les cas graves, anémiques et non anémiques que chez les cas non graves, cela avec des fréquences sensiblement égales.

Ces résultats ne corroborent pas ceux de Engelbrecht et *al.* [15], qui ont trouvé en Papouasie Nouvelle Guinée en 1995, une prévalence plus élevée de souches FC27 chez des malades que chez des sujets asymptomatiques. Le constat d'une prévalence élevée des souches FC27 chez les malades est aussi décrit par Marshall et *al.* en 1994 [34] et Felger et *al.* [17] à la même année.

Ntoumi et *al.* [44] ont noté en 1995 une prévalence élevée de souches FC27 plutôt chez des porteurs asymptomatiques d'une région holoendémique située au sud-est de Dakar.

Ces différences observées dans la prévalence des souches 3D7 et FC27 de *P. falciparum*, pourraient s'expliquer par la différence du niveau de transmission entre ces régions.

◆ En comparant entre elles les prévalences des souches 3D7 et FC27 (Tableau IV et V) dans chaque entité clinique étudiée, nous observons une prédominance statistiquement significative des souches FC27 chez les cas graves anémiques et chez les cas non graves.

Ces résultats sont en partie en concordance avec ceux retrouvés par Engelbrecht et *al.* en 1995 [15] et Beck H-P et *al.* en 1997 [6], qui ont noté une prévalence élevée de souches FC27 par rapport aux souches 3D7 chez les malades.

Contrairement à nos résultats, Creasey et *al.* en 1990, [12] Robert et *al.* en 1996 [48], ont mis en évidence une prévalence élevée des souches 3D7 plutôt que FC27 aussi bien chez les patients atteints de paludisme grave que chez les sujets présentant un paludisme non grave.

III.4. DE LA PREVALENCE DES SOUCHES 3D7 ET FC27 DE *P. FALCIPARUM* ET DES FORMES EVOLUTIVES DES CAS GRAVES

Dans notre étude, le taux de létalité n'est statistiquement pas différent entre les patients hébergeant des souches 3D7 et les patients qui ne les hébergeaient pas (tableau VIII). La même conclusion a été obtenue avec les souches FC27. Une taille d'échantillon plus élevée que la nôtre permettrait certainement de mieux apprécier le taux de létalité au sein des différentes souches de *P. falciparum*.

En outre, l'analyse de marqueurs génétiques complémentaires tels que les marqueurs du gène MSP-1, du gène GLURP ou du gène MSP-3, pourrait probablement permettre de mieux apprécier le rôle du polymorphisme génétique de *P. falciparum* sur la létalité du paludisme.

III.5. DE LA COMPLEXITE DES SOUCHES ET AGE DES PATIENTS

Le nombre de souches plasmodiales présentes simultanément chez un individu, est fonction de plusieurs facteurs notamment le niveau de transmission, le taux d'inoculation, l'immunité de l'individu, et surtout son âge [16,47,54].

Les relations entre l'âge et la complexité des souches ont été évaluées dans notre étude (Tableau IX).

Lorsque les souches 3D7 et FC27 sont analysées séparément en fonction de l'âge, on constate que leurs complexités sont faibles entre les tranches < 1an et 2 ans, puis elles augmentent avec l'âge.

Cependant, l'augmentation du nombre moyen de l'ensemble des souches 3D7+FC27 (Figure 6), n'est statistiquement pas significative.

Pour Smith et *al.* [51], l'augmentation non significative de la complexité des souches observée à la fin de la première année de vie de l'enfant, peut être interprétée comme un précurseur d'une augmentation ultérieure qui peut atteindre un maximum de 5 souches par personne à l'âge de trois ans environ.

Une conclusion similaire a d'ailleurs été faite par Felger et *al.* en 1999 [19], qui ont noté une absence de corrélation entre l'âge et la complexité moyenne à la première année de vie. Cependant une augmentation significative est observée entre l'âge de 1 et 2 ans.

La faible complexité, retrouvée dans notre étude chez les jeunes enfants de moins de 1 an à 2 ans pourrait expliquer la fréquence élevée de l'infection palustre à cette tranche d'âge. Des conclusions semblables ont été obtenues dans des études antérieures [2,19].

D'autres travaux, en rapport avec la complexité et l'âge ont été conduits à travers le monde. Ainsi, Ntoumi et *al.* [43] rapportent qu'après un certain âge, la complexité des souches subit une diminution. C'est ainsi que, de 4 souches de *P. falciparum* en moyenne par individu chez des enfants de 0 à 14 ans, la complexité passe à 2 souches chez les sujets âgés. Dans une étude effectuée au Nord du Nigeria, Engelbrecht et *al.* [16] ont rapporté une réduction de la complexité de 5,4 souches entre 8 et 10 ans à 2,6 à l'âge de 40 ans chez des sujets asymptomatiques.

Dans notre étude, nous n'avons pas observé de telles variations. Cette absence de variation de la complexité dans notre étude, pourrait s'expliquer par le fait qu'elle s'est effectuée sur un échantillon d'enfants de 0 à 5 ans d'âge. Ce qui n'a pas permis d'apprécier la variation de la complexité au-delà de 5 ans.

III.6. DE LA COMPLEXITE DES SOUCHES ET DES ENTITÉS CLINIQUES

La relation entre le nombre moyen de souches et les entités cliniques du paludisme a été évaluée dans notre étude (Tableau IX).

◆ La complexité des souches FC27 est statistiquement plus élevée chez les cas graves anémiques que dans les autres entités cliniques. Le nombre élevé de souches parasitaires de type FC27 est donc associé au paludisme grave surtout anémique. Cette conclusion est intéressante à relever car elle vient renforcer celles de Beck, Engelbrecht et Felger [6,15,17] qui ont indiqué que les génotypes parasitaires de type FC27 sont associés à un risque accru de paludisme clinique.

◆ Le tableau IX montre également que le nombre moyen de souches 3D7 n'est statistiquement pas différent entre les trois entités cliniques. Le nombre de souches parasitaires 3D7 est donc relativement identique par personne dans toutes les entités cliniques. Felger et *al.* en 1999 ont trouvé une complexité des souches 3D7 égale à 1,4 chez les cas non graves[19]. Cette complexité est proche de la valeur 1,2 des cas non graves de notre étude

◆ En analysant la complexité de l'ensemble des souches parasitaires, c'est à dire de toutes les souches confondues (3D7+FC27), nous n'avons pas observé de différence statistiquement significative entre les entités cliniques de notre étude. Les valeurs de complexité trouvées, 3,0 et 2,8 respectivement chez les cas graves anémiques et chez les cas graves non anémiques sont supérieures aux valeurs 2,4 et 2,3 obtenues respectivement chez les cas graves anémiques et chez les cas graves non anémiques, par Robert et *al.* en 1996 au Sénégal [48]. Une complexité de 2,4 souches, similaire à la valeur obtenue dans notre étude chez les cas non graves, a été rapportée par Felger et *al.* en 1999. Des valeurs de complexité de 5 et 4,5 souches, plus élevées que les nôtres ont été retrouvées chez des cas non graves, respectivement par Beck et *al.* en 1997 en Tanzanie [5] et Engelbrecht et *al.* en 2000 au Nigéria [16].

Il est établi que la complexité des souches chez les cas graves devrait être inférieure à celle des cas non graves.

Ainsi, le paludisme grave résulterait de la multiplication d'un nombre limité de clones parasitaires alors que le paludisme non grave serait causé par un nombre élevé de clones à une densité parasitaire plus faible [48].

La faiblesse de la complexité chez les cas graves, comparée aux cas non graves pourrait être simplement le reflet d'un traitement antipalustre adapté avant l'admission à l'hôpital.

Discussion

Dans notre étude, le délai moyen de consultation est d'environ 5 jours chez les cas graves. Ceci, associé à l'automédication comme principal recours avant l'hospitalisation, comme cela a été montré par Kaboré en 2001 [30], peut compliquer l'infection palustre avec augmentation de la densité parasitaire et de la complexité des souches. Ceci justifierait les valeurs de complexité légèrement élevées chez les cas graves dans notre étude.

L'analyse du nombre de souches de *P. falciparum* dans notre étude, montre une variation de 0 à 8 souches par personne (Figure 5). Cependant, il est à noter que 44,2% des cas graves anémiques, 52,4% des cas graves non anémiques et 59,2% des cas non graves, hébergent 2 ou 3 souches différentes de *P. falciparum*.

Un résultat similaire d'un nombre élevé de souches multiples par personne est retrouvé dans d'autres régions d'Afrique. Ainsi, en testant 65 cas de paludisme asymptomatique en 1995 au Sénégal, Ntoumi et al. [44] ont obtenu 160 fragments du gène MSP-2 par PCR dans 51 échantillons positifs. Certains échantillons ont montré plus de 6 souches différentes de *P. falciparum*. Le même constat est décrit par Smith et al. [52] en 1999, qui ont rapporté en Tanzanie jusqu'à 5 souches différentes de *P. falciparum* par personne.

En 2000, Engelbrecht et al [15] ont noté au Nord du Nigéria chez des sujets asymptomatiques une polyclonalité d'environ 80 % proche des 77% de notre étude.

Cette prévalence élevée de souches multiples de *P. falciparum* en Afrique, contraste avec des études effectuées en Papouasie-Nouvelle-Guinée (PNG) où Felger et al. en 1994 [20], Engelbrecht et al. [15] en 1995 ont noté seulement une souche par personne, rarement deux souches. Cette faible prévalence de souches multiples, s'expliquerait par le bas niveau de transmission de cette région [16] et aussi par un faible taux d'inoculation.

III.7. DE LA COMPLEXITE DES SOUCHES ET DENSITE PARASITAIRE DES CAS GRAVES

Nous avons évalué la relation entre la densité parasitaire et la complexité des souches de *P. falciparum* (Tableau X).

Le nombre de souches de *P. falciparum* augmente avec la densité parasitaire. Cette augmentation n'est ni significative ni spécifique à une famille allélique.

Les travaux de Felger et *al.* [19] ont montré que cette augmentation est statistiquement significative. D'ailleurs, il avait noté en 1996 [17] comme Beck et *al.* en 1997 [5] en Tanzanie, une étroite corrélation entre le nombre de souches FC27 et la densité parasitaire.

Smith et *al.* [51] au contraire, n'ont pas retrouvé de corrélation entre densité parasitaire et la complexité. Leur étude ayant été réalisée chez des adultes, cette absence de corrélation pourrait s'expliquer par le fait que le système immunitaire chez l'adulte, mature, régularise le niveau d'ensemble de la parasitémie.

IV. CONCLUSIONS

Conclusion

L'étude transversale comparative que nous avons réalisée dans la province du Boulgou chez les enfants de 0 à 5 ans, nous a permis d'aboutir aux conclusions suivantes :

- ◆ sur un effectif total de 405 enfants de 0 à 5 ans, le paludisme grave anémique a représenté environ 25 % des cas enregistrés. L'âge moyen des enfants atteints de paludisme grave anémique ($1,3 \pm 0,91$ ans) est statistiquement plus faible que celui des autres entités cliniques étudiées.
- ◆ à l'analyse des résultats, nous n'avons pas noté de corrélation entre l'âge et la prévalence des familles alléliques 3D7 et FC27 de *P. falciparum*. L'étude de la complexité des souches de *P. falciparum* montre une augmentation non significative avec l'âge dans les trois entités cliniques.
- ◆ nous avons noté que, plus d'enfants atteints de paludisme grave non anémique hébergent des souches 3D7 de *P. falciparum* (84,9%) comparés aux cas graves anémiques (72,6%) et aux cas non graves (77,1%). En outre, l'étude montre que la présence des souches FC27 de *P. falciparum* n'influence pas les manifestations cliniques du paludisme. Cependant, la complexité élevée des souches FC27 de *P. falciparum* est associée au paludisme grave surtout anémique.
- ◆ le taux de létalité statistiquement plus élevé chez les cas graves anémiques, comparé aux cas graves non anémiques, n'est pas associé à la présence de souches 3D7 ni de souches FC27 de *P. falciparum*.
- ◆ en répartissant notre effectif total en fonction du nombre de souches de *P. falciparum* hébergées par individu, il ressort une polyclonalité de 78,5% chez les cas graves anémiques, 85% chez les cas graves non anémiques et 77% chez les cas non graves. Mais la plupart, environ 44% des cas graves anémiques, 52% des cas graves non anémiques et 60% des cas non graves ont 2 ou 3 souches différentes de *P. falciparum*.

Conclusion

Par ailleurs, seulement 6% des cas graves anémiques, 4 % des cas graves non anémiques et seulement 0,5% des cas non graves hébergent plus de 6 souches de *P. falciparum*.

◆ l'étude de l'évolution de la complexité des souches de *P. falciparum*, montre que celle ci augmente de manière non significative avec la densité parasitaire.

V.RECOMMENDATIONS

Au terme de l'étude sur le polymorphisme allélique du gène MSP-2 et la pathogénie de l'anémie palustre sévère chez les enfants de 0 à 5 ans, nous pouvons faire les propositions suivantes en vue de contribuer à la lutte contre le paludisme notamment des formes graves.

□ **AUX AUTORITES POLITIQUES ET ADMINISTRATIVES**

- Sensibiliser les populations sur les formes graves surtout anémiques et neurologiques du paludisme chez les enfants de 0 à 5 ans.
- Renforcer d'avantage les apports financiers et matériels aux institutions de recherche pour leur fonctionnement efficace. La victoire sur le paludisme passe aujourd'hui par une connaissance approfondie du parasite, de son vecteur, mais aussi de la pathogénèse chez l'hôte. Cela nécessite des équipements adaptés.
- Renforcer les effectifs de chercheurs dans les institutions de recherche sur le paludisme et favoriser leur formation aux méthodes et techniques indispensables à la recherche sur les vaccins contre le paludisme.

□ **AUX RESPONSABLES DU CNRFP**

- Mener des études complémentaires en utilisant d'autres marqueurs génétiques comme les marqueurs du gène MSP-1, du gène MSP-3 ou du gène GLURP pour explorer leur rôle dans la pathogénie du paludisme grave anémique.
- Former davantage de personnel à la maîtrise de la biologie moléculaire pour appuyer la recherche sur le génotypage du parasite, de l'anophèle vecteur, mais aussi à la bonne maîtrise de certaines techniques immunologiques.

VI. RESUME

TITRE : Polymorphisme allélique du gène MSP 2 de *Plasmodium falciparum* et pathogénie de l'anémie palustre sévère chez des enfants de 0 à 5 ans de la province du Boulgou (Burkina Faso).

RESUME :

Durant la saison de haute transmission palustre de 2001, nous avons étudié les allèles du gène MSP-2 de *Plasmodium falciparum* chez des enfants de 0 à 5 ans. Le service de pédiatrie du CHR de Tenkodogo, les villages de Zana et de Gourganbaga de la province du Boulgou ont servi de cadre pour cette étude.

Les cas de paludisme grave, définis selon les critères de l'OMS, recrutés au service de pédiatrie du CHR, ont été repartis en cas graves anémiques et en cas graves non anémiques selon que le taux d'hémoglobine est inférieur ou supérieur à 5g/dl.

Les cas de paludisme non grave ont regroupé les enfants présentant à l'examen du sang périphérique des formes asexuées de *Plasmodium falciparum*, sans aucun signe de gravité de paludisme, cela quelle que soit la température axillaire.

Au total, 405 enfants de 0 à 5 ans ont été inclus dans l'étude : 102 cas de paludisme grave anémique (âge moyen = $1,3 \pm 0,9$ ans) ; 107 cas de paludisme grave non anémique (âge moyen = $1,9 \pm 1,2$ ans) et 196 cas de paludisme non grave (âge moyen = $3,0 \pm 1,6$ ans).

L'analyse des résultats montre que la prévalence des souches 3D7 de *P. falciparum* est statistiquement plus élevée chez les cas graves non anémiques. Par contre, il n'y a pas de corrélation entre la prévalence des souches FC27 et le paludisme grave anémique. Nous n'avons pas observé de différence statistiquement significative au niveau de la polyclonalité entre les trois entités cliniques et la plupart des enfants dans ces trois entités hébergeait 2 à 3 souches de *P. falciparum*. Mais, l'analyse de la complexité montre que le paludisme grave anémique est associé à une complexité élevée des souches FC27. Cependant, la complexité des souches 3D7 est statistiquement identique dans les trois entités cliniques. En outre, l'étude a révélé une augmentation non significative de la complexité avec la densité parasitaire.

MOTS CLES : Polymorphisme allélique / gène MSP2 / *P. falciparum* / anémie sévère/ paludisme / Boulgou / Burkina Faso.

Title : Allelic polymorphism of *P. falciparum* MSP-2 gene and severe malaria pathogenicity in children from 0 to 5 years old in Boulgou province (Burkina Faso)

Abstract

P. falciparum MSP-2 alleles in children aged from 0 to 5 years in Tenkodogo hospital and its suburbs was studied during high malaria transmission season.

The 405 children of our study were divided in three groups : the first group (102 cases) comprised children who have severe malarial anemia (haemoglobin concentration $\leq 5.0\text{g/dl}$); the second group (107 cases), who have severe malaria without anemia (haemoglobin concentration $> 5.0\text{g/dl}$); the third group of this study, 196 mild malaria cases comprised children from which peripheral blood examination showed *P. falciparum* asexual forms without severe malaria signs whichever the axillary temperature.

The mean age of the severe malarial anemia group is 1.3 ± 0.9 years, that of severe malaria without anemia group is 1.9 ± 1.2 years and the third group, mild malaria cases has a mean age of 3.0 ± 1.6 .

The results show no correlation between *P. falciparum* FC27 alleles prevalence and severity of anemia. The *P. falciparum* 3D7 alleles prevalence is statistically high in the group with severe malaria without anemia. No difference was noticed in the polyclonality of the three clinical entities. But, the analysis of the complexity shows that severe malarial anemia is associated to high complexity of *P. falciparum* FC27 alleles. However, the complexity of 3D7 alleles is statistically the same in the three clinical entities.

The results also showed that the complexity of *P. falciparum* FC27 and 3D7 alleles become higher with parasites density, but this elevation was not correlated.

Keywords : Polymorphism / alleles / MSP-2 gene / *P. falciparum* / severe anemia / malaria / Boulgou/ Burkina Faso

VII. BIBLIOGRAPHIE

1. Abu Bakar Siddique.

Immunological and function properties of non-repeat region in *Plasmodium falciparum* antigen.

Thèse. Stockholm, 1997: 41p

2. Al-Yaman F, Genton B, Reeder J, Anders R F, Smith T and Alpers M P.
Reduced risk of clinical malaria in children infected with multiples clones of *P.falciparum* in a highly endemic area : a prospective community study.

Trans. of the Royal society of Trop. Med. and Hyg. 1997; 91 : 602 - 605

3. Ariey F, Hommel D, Le Scanf C, Duchemin J B, Peneau C, Hulin A Sarthou J L, Reynes J M, Fandeur T and Mercereau-Puijalon O.

Association of severe malaria with a specific *Plasmodium falciparum* genotype in French Guiana .

The journal of infection diseases. 2001; 184: 237-241.

4. Babiker H A, Lines J, Hill W G, Walliker D.

Population structure of *Plasmodium falciparum* in village with different malaria endemicity in east Africa.

American journal of Tropical Medicine and Hygiene. 1997; 56: 141-147

5. Beck H-P, Felger I, Huber W, Steiger S, Smith T, Weiss N, Alonso P and Tanner M.

Analyse of *Plasmodium falciparum* infections in Tanzanian children during the phase trial of the Malaria Vaccine SPf66.

The journal of infection diseases. 1997; 175: 921-926.

6. Beck H-P, Felger I, Vounatsou R, Hirt R, Tanner M, Alonso P and Menendez C.
Effect of iron supplementation and malaria prophylaxis in infants on *P. falciparum* genotype and multiplicity of the infection.

Trans. of the Royal Society of Trop. Med. and Hyg. 1999 ; 93, suppl1: 41- 45

7. Biemba G, Dolmans D, Thuma P E, Weiss G and Victor R G.

Severe anemia in Zambien childrens.

Tropical Medicine and International Health. 2000; 5, n°1: 9-16

8. Boore M B, Dziegiele I M, Hogh B *et al.*

Primary structure and localization of a conserved immunogenic *Plasmodium falciparum* Glutamate- rich protein (GLURP) expressed in the both the preerythrocyte and erythrocyte stages of the vertebrate life cycle.

Molecular and Biochemical Parasitology.1991; 49:119-131

9. CNLP.

Paludisme grave chez les enfants et immunité anti-TRAP.

Rapport d'activités. 1993 ; Ouagadougou . 23p

10. Costantini C, Sagnon N'F, Ilboudo-Sanogo E, Coluzzi M and Boccolini D.

Chromosomal and heterogeneities suggest incipient speciation in *Anopheles funestus* from Burkina Faso.

Parasitologia. 1999; 41: 595-611

11. Coulibaly SO.

La part du paludisme dans les affections fébriles en milieu urbain de Ouagadougou. Etude menée dans trois dispensaires de la ville.

Thèse. Med. Ouagadougou, 1989 ; 5 : 141p

12. Creasey A, Fenton B, Walker A *et al.*

Genetic diversity of *P. falciparum* shows geographical variation.

American journal of Tropical Medicine and Hygiene.1990; 42: 403-413

13. Dabiré E, Guiguemdé T R, Kam L K, Coulibaly SO.

Morbidité et mortalité palustre au sein de la pathologie fébrile dans le service de pédiatrie de l'hôpital Yalgado Ouédraogo, Ouagadougou (Burkina Faso).

Publications médicales africaines. 1992 ; 120 : 29-32

14. Deitsch K W, Moxon E R, & Wellems T E.

Shared themes of antigenic variation and virulence in bacterial, protozoal, and fungal infections.

Microbiology and molecular Biology Reviews. 1997; 61: 281-293

15. Engelbrecht F, Felger I, Genton B, Alpers M and Beck H-P.

Plasmodium falciparum : malaria morbidity is associated with specific merozoite surface antigen 2 genotypes.

Experimental Parasitology. 1995 ; 81 : 90-96

16. Engelbrecht F, Tögel E, Beck H-P, Enwezor F, Oettli A and Felger I.

Analysis of *P. falciparum* infections in a village community in Northern Nigeria : determination of *msp2* genotypes and parasites-specific IgG responses.

Acta Tropica. 2000; 74: 63-71

17. Felger I, Hubert W, Steiger S, Smith T, Weiss N, Alonso P, Tanner M and Beck H-P.

Multiplicity of *P. falciparum*. High multiplicity of *P. falciparum* is associated with reduced risk of clinical malaria in Tanzanian children. (Article non publié) 1996 : 18p

18. Felger I, Irion A, Steiger S and Beck H-P.

Genotype of merozoite surface protein 2 of *Plasmodium falciparum* in Tanzania.

Trans. of The Royal Society of Trop. Med.and Hyg. 1999; 93: suppl 1, S1/3-S1/ 9

19. Felger I, Smith T, Etoh D, Kitua A, Alonso P, Tanner M and Beck H-P.

Multiple *Plasmodium falciparum* infection in Tanzanian infants.

Trans.of The Royal Society of Trop. Med.and Hyg. 1999; 93:suppl 1,S1/29-S1/34

20. Felger I, Tavul L, Kabintik S, Marshall V, Genton B, Alpers M, Beck H-P.
Plasmodium falciparum : extensive polymorphism in merozoite surface protein 2 alleles in an area with endemic malaria in Papua New Guinea.

Experimental Parasitology. 1994 ; 79: 106-116

21. Fenton B, Clark JT, Khan CM, Robinson JV, Walliker D, Ridley R, Scaife JG, McBride JS.

Structural and antigenic polymorphism of the 35 to 48 kilodalton merozoite surface protein (MSA-2) of the malaria parasite *Plasmodium falciparum*.

Molecular and Cell Biology. 1991 ; 11: 963-974

22. Freitas –junior LH, Bottius E, Pirrit LA , Deitsch KW, Scheidig C, Guinet F, Nehrbass U, Wellem TE and Scherf A.

Frequent ectopic recombination of virulence factor genes in telomeric chromosome clusters of *P. falciparum*.

Nature. 2000; 407: 1018 –1022

23. Gentilini M.

Le paludisme. Dans :

Médecine tropicale. 4° édition. Paris: Flammarion, 1986: 81-108

24. Gentilini M.

Le paludisme. Dans :

Médecine tropicale. 5° édition. Paris: Flammarion, 1993 : 91-122

25. Gratzer W B and Dluzewski.

The Red Blood Cell and Malaria Parasite Invasion.

Seminars in Hematology. 1993; 30,n°3: 232-247

26. Guiguemdé TR. La prise en charge des cas de paludisme.

Paludisme et maladies infectieuses en Afrique. 1996 ; 5 : 24-31

27. Guiguemdé TR, Sturchler D, Ouédraogo JB, Drabo M, Etlinger H, Douchet C, Gbary AR, Haller L, Kambou S, Fernex M.

Vaccination against malaria initial trial with an anti-sporozoite vaccine, (NANP)₃ – TT (Ro40-236) in Africa (Bobo Dioulasso, Burkina Faso).

Bull. Soc. Pathol. Exot. 1990 ; 83 :217-227

28. Gupta S, Hill A, Kwiatkowski D, Greenwood A, Greenwood B and Day K. Parasite virulence and disease patterns in *Plasmodium falciparum* malaria.

*Proceedings of the National Academy of Science of the USA.*1994; 91: 3715 -3719

29. Gustincich S et al.

A fast method for high-quality genomic DNA extraction from whole human blood.

*Biotechniques.*1991 ; 11, n°3 : 298-302

30. Haddad D.

Strategie for vaccine developpment applied to asexual blood-stage antigens.

These. Stockholm, 1998; 71p

31. Hoffmann S L.

Deux chromosomes du parasite ont été séquencé.

Science. 1998 ; 282: 1126-1132

32. Kaboré H.

Paludisme grave de l'enfant au CHR de Koudougou : Attitudes et comportements des parents avant l'hospitalisation.

Thèse Med. Ouagadougou, 2001 ; n°12 : 78p

33. Kam L K, Sanou I, Sawadogo S A, Soumouni D N, Zeba B, Benon B et al. Fièvre et étiologies chez les hospitalisés de pédiatrie au CHN-YO de Ouagadougou (Burkina Faso).

Anales de l'Université de Ouagadougou

34. Kemp D J.

Antigen diversity and variation in blood stages of *P. falciparum*.
Immunology and cell Biology.1992; 70: 201-207

35. Majori G, Sabatinelli G and Coluzzi M.

Efficacy of permethrin impregnated curtains for malaria vector control.
Med. Vet. Entomol. 1987; 1: 185-192

36. Kilama WL.

Control of malaria in africa.

Paludisme et maladies infectieuses en Afrique. 1996 ; 39 : 433-441

37. Marshall V M, Anthony R L, Bangs Purnomo M J, Anders R F and Coppel R L .

Allelic variants of *Plasmodium falciparum* merozoite surface antigen 2 (MSP-2)
in geographically restricted area of Irian jaya.

Molecular and Biochemical Parasitology. 1994 ; 63: 13-21

38. Marshall V M, ZhangL, Anders R F and Coppel R L.

Diversity of the vaccine candidate AMA-1 of *Plasmodium falciparum*.

Molecular and Biochemical Parasitology. 1996; 77:109-113

39. Mazier D.

Cycle et biologie des plasmodies. Dans: Gentilini.M. Paludisme. Paris :

Edition Marketing / Ellipses. 1991: 26-33

40. Meyer C G, May J, Arez A P, Gil J P and Rosario V.

Genetic diversity of *P. falciparum*: asexual stages.

Tropical medicine and International Health. 2002; 7: 395-408

41. Ministère de la santé de l'action sociale et de la famille : Direction de la
médecine préventive.

*Programme national de lutte antipaludique au Burkina Faso.*1993 ;
Ouagadougou : 56p

42. Ministère de la santé (Burkina Faso).

Direction des études et de la planification.

Statistiques sanitaires. 1999 ; Ouagadougou, 2000 ; 171p

43. Ministère de la santé (Burkina Faso).

Direction des études et de la planification.

Annuaire statistiques / Santé. 2000 ; 146 p

44. Modiano D, Sirima B S, Sawadogo A, Sanou I, Paré J, Konaté A, Pagnoni F.

Severe malaria in Burkina faso : urban and rural environment.

Parasitologia. 1999 ; 41: 251-254

45. Newton C R J C, Warn P A, Winstanley P A, Peshu N, Snow R W, Pasvol G and Marsh K.

Severe anaemia in children living in a malaria endemic area of Kenya.

Tropical Medicine and International Health. 1997 ; 2, n° 2 : 165-178

46. Niyongabo T.

Paludisme grave et compliqué en Afrique.

Paludisme et maladies infectieuses en Afrique. 1994. 1 : 23-24

47. Ntoumi F, Contamin H, Rogier C, Bonnefoy S, Trape J F and Mercereau Puijalon O.

Age dependent carriage of multiple *P. falciparum* merozoite surface protein-2 alleles in asymptomatic malaria infections.

American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 1995 ; 52: 81-88

48. OMS.

Division de la lutte contre les maladies tropicales. Formes graves et compliquées du paludisme.

Trans. of The Royal Society of Trop. Med. and Hyg. 1990 ; 84: 73 p

49. OMS.

African initiative for malaria control in the 21st century.

WHO, 1998:18p

50. Petrarca V, Petrangeli G, Rossi P and Sabatinelli G.

Antimalarial campaign program in Ouagadougou (Burkina Faso): The anopheles gambiae complex in the city of Ouagadougou and surrounding villages.

Ann. Ist. Super Sanita. 1996; 22, n°1: 189-191

51. Robert F, Ntoumi F, Angel G, Candito C, Rogier C, Fandem T, Sarhou J-L and Mercereau- Pujalon O.

Extensive genetic diversity of *P. falciparum* isolates collected from patients with severe malaria in Dakar, Senegal.

Trans. of The Royal Society of Trop. Med. and Hyg. 1996; 90: 704-711

52. Roger C and Trape J F. Le paludisme : organisation, réseaux et initiatives nouvelles.

Medécine Tropicale. 1999; 59: 55-56

53. Rich S M and Ayala F J.

Population structure and recent evolution of *Plasmodium falciparum*.

PNAS. 2000 ; 97: 6994-7001

54. Smith T, Beck H-B, Kitua A, Mwankusye S, Felger I, Fraser-Hurt N, Irion A, Alonso P, Teuscher T and Tanner M.

Age dependence of the multiplicity of *P. falciparum* infection and other malariological indices in area of high endemicity.

Trans. of the Royal Society of Trop. Med. and Hyg. 1999 ; 93, Suppl 1 : S1/15 - S1/ 20

55. Smith T, Felger I, Edoh D, Kitua A, Tanner M and Beck H-P.

Dynamics of multiple *P. falciparum* infections in infants in a highly endemic area of Tanzania.

Trans. of The Royal Society of Trop. Med. and Hyg. 1999; 93, Suppl 1: S1/35 - S1/39

56. Smyth J A, Coppel R L, Dary K P, Martin R K, Oduola A M J, Kemp D J and Anders R F.

Structure diversity in the *P. falciparum* merozoite surface antigen 2.

Proc. Natl. Acad. Science. 1991 ; USA 88 : 1751-1755

57. Snewin V A, Herrera M, Sanchez G, Scherf A, Langsley G and Herrera S.
Polymorphism of the alleles of the merozoite surface antigens MSA1 and MSA2 in *Plasmodium falciparum* wild isolates from Colombia.

Molecular and Biochemical Parasitology. 1991; 49: 265-276

58. Thomas A W, Carr D A, Carter J M and Lyon J A.

Sequence comparison of allelic forms of the *P.falciparum* merozoite surface antigen MSA-2.

Molecular and Biochemical Parasitology. 1990 ; 43: 211-220

59. Tiono B A.

Les aspects épidémiologiques, cliniques et évolutifs des formes graves du paludisme chez des enfants de moins de 5 ans dans la province du Boulgou, Burkina Faso.

Thèse Med. Ouagadougou, 1999 ; n°29: 69p

60. Viriyakosol S et al.

Genotyping of *Plasmodium faciparum* isolate by the polymerase chain reaction and potential uses in epidemiological studies.

Bull. WHO. 1995; 73, n°1: 85-95

61. Warrell D A, Molyneux M E and Beales P F.

Severe and complicated malaria.

Trans. of The Royal Society of Trop. Med. and Hyg. 1990; 84, Suppl 2: 1- 65

62. WHO.

Severe *P. falciparum* malaria.

Trans. of The Royal Society of Trop. Med. and Hyg. 2000 ; 94, Suppl 1 : 90 p

63. WHO information.

Paludisme.

Aide-mémoire ; Octobre 1998 : n° 94 révisé : 10p

64. Wellems T E, Panton L J, Gluzman I Y et al.

Chloroquine resistance not linked to mrd -like genes in a *P. falciparum* cross.

Nature. 1990; 345: 253-255

65. Wery M.

Les caractères du genre *Plasmodium*. Dans: Protozoologie médicale. Bruxelles:

Universités francophones, 1995 : 137-147

ANNEXES



**CENTRE NATIONAL DE RECHERCHE
ET DE FORMATION SUR LE PALUDISME**

01 B.P. 2208 OUAGADOUGOU - 01 (BF)

TEL. 324695/ 324696 - FAX 310477

E-mail : cnlp@fasonet.bf

FICHE D'ENQUETE : FORMES GRAVES DU PALUDISME DANS LE CHR DE TENKODOGO

Nom de l'enquêteur

Date (jj/mm/aaaa)

I - Renseignements généraux

Numéro d'identification du patient		<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Nom et prénom		Date de naissance (jj/mm/aaaa)					
Age (années)		Sexe (M/F)					
Nom de la mère		Nom du père					
Niveau de scolarisation de la mère (Cocher la mention qui s'applique)	Analphabète	Niveau de Scolarisation du père (Cocher la mention qui s'applique)	Analphabète	Analphabète			
	Alphabétisé		Alphabétisé	Alphabétisé			
	Primaire		Primaire	Primaire			
	Secondaire		Secondaire	Secondaire			
	Supérieur		Supérieur	Supérieur			
Profession du père		Profession de la mère					
Ethnie du père		Ethnie de la mère					
Province		Département					
Ville/village		Secteur/quartier					

II- Antécédents

Fièvre/paludisme durant la présente saison pluvieuse (O/N)		Si OUI Nombre d'épisodes	
Hospitalisation récente pour paludisme (O/N)		Si OUI Signes cliniques	Coma (O/N)
			Convulsions (O/N)
			Anémie (O/N)
L'enfant a-t-il été transfusé (O/N)			
Coloration des urines	Couleur rapportée par la mère		

III- Itinéraire thérapeutique

Date de Début de la maladie		Nombre de vomissements par 24hres au début de la maladie	
L'enfant pouvait-il prendre quelque chose par la bouche au début de sa maladie (O/N)			
L'enfant a-t-il eu les unités thérapeutiques (UT) d'antipaludique dès le début de sa maladie (O/N)			
Si Oui	couleur de l'étiquette	Durée du traitement (en jours)	
	Avez vous utilisé la totalité du sachet (O/N)		

III- Itinéraire thérapeutique (SUITE)

Si Non pourquoi	Ne sais pas que les Unité thérapeutiques existent (O/N)	Coût des unités élevé (O/N)
	Unité thérapeutiques inefficace (O/N)	Non disponible (O/N)
	Autre (préciser)	

Consultations d'un agent de santé depuis le début de la maladie (O/N)

La référence de l'enfant dans la formation sanitaire a été décidée par

Vous mêmes (O/N)	Un agent de santé à domicile (O/N)	Si OUI, son Grade
Un CSPS périphérique (O/N)		Si OUI, lequel

L'enfant a-t-il reçu un traitement au CSPS avant d'être référé(O/N)

Si OUI cocher le médicament reçu (se référer si besoin au carnet de santé)	Quinine	
	Diazépam	
	Phénobarbital	
	Autre (préciser)	

Le transport a été assuré par (Cocher le moyen utilisé qui s'applique)	par une ambulance	
	à pieds	
	par un moyen de transport personnel des parents	
	par les voisins	

Durée du transport	Heure de départ de la maison	----- hres----- mn
	Heure d'arrivée	----- hres----- mn

IV - Données cliniques

	Suivi évolutif des Signes/symtômes cliniques								
	J0	J1	J2	J3	J4	J5	J6	J7	Autre
Date (jj/mm/aa)									
Température (°C)									
Coma (O/N)									
Score du coma (Echelle de Blantyre)									
Convulsions (O/N)									
Nombre de convulsions par 24 hres									
Prostration (O/N)									
OAP, détresse respiratoire (O/N)									
Hémorragie spontanée et prolongée (O/N)									
Préciser le siège de l'hémorragie									
Couleur des urines (observée)									
Infections respiratoires aiguës									
Type d'infection respiratoire									
Glycémie (mg/dl)									
Taux d'Hémoglobine (g/l)									

V. Evolution globale (Cocher la mention qui s'applique)

Guérison	Décès	Inconnu
Date de sortie (jj/mm/aaaa)		

FC27 sur PTC -100 04.02.2002

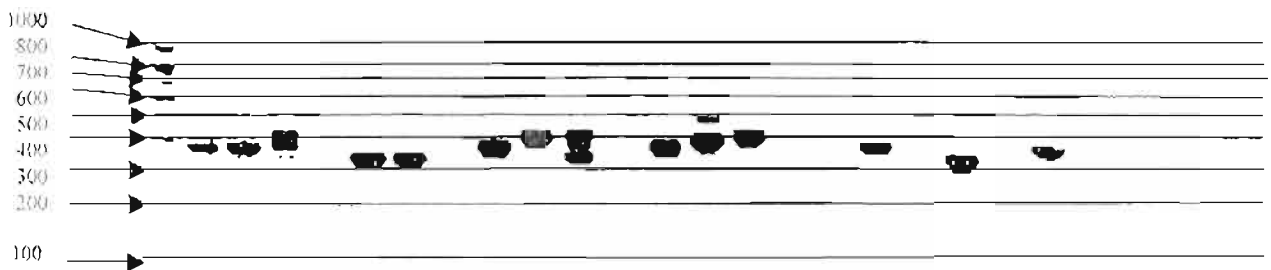
Primers de Ntoumi

1µl de PCR - MSP2 du 04.02.01

Agarose 1 % ZANO Soulama

FC27

MIK 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21



1.	Z007
2.	Z026
3.	Z036
4.	Z039
5.	Z040
6.	Z046
7.	Z048
8.	Z054
9.	Z078
10.	Z082
11.	H2O

12.	Z084
13.	Z094
14.	Z100
15.	Z101
16.	Z105
17.	Z108
18.	Z116
19.	Z145
20.	Z156
21.	Z157

3D7 sur PTC -100 04.10. 2001

Primers de Ntoumi

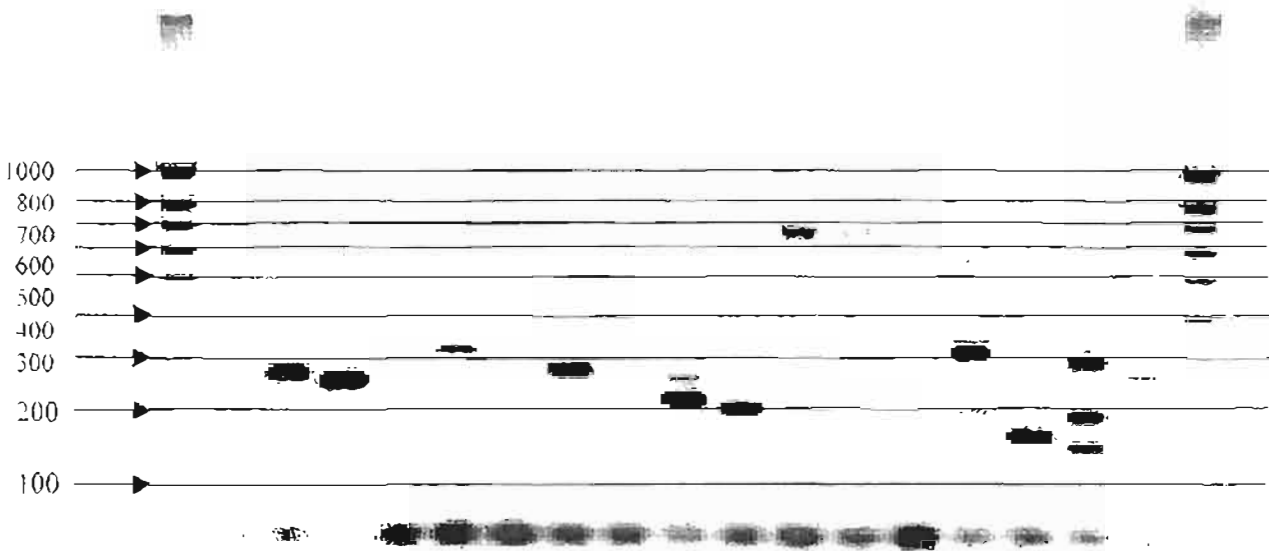
1µl de PCR - MSP2 du 03.10.01

Agarose 1,5 %

Palu grave Tengodogo Soulama

3D7

M1K 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 M1K



Marqueur AK	
1	026
2	027
3	028
4	029
5	030
6	031
7	032
8	033
9	034

10	035
11	036
12	037
13	038
14	039
15	040
16	041
17	H2O
18	Marqueur

FC27 sur PTC -100 25.01.2002

Primers de Ntoumi

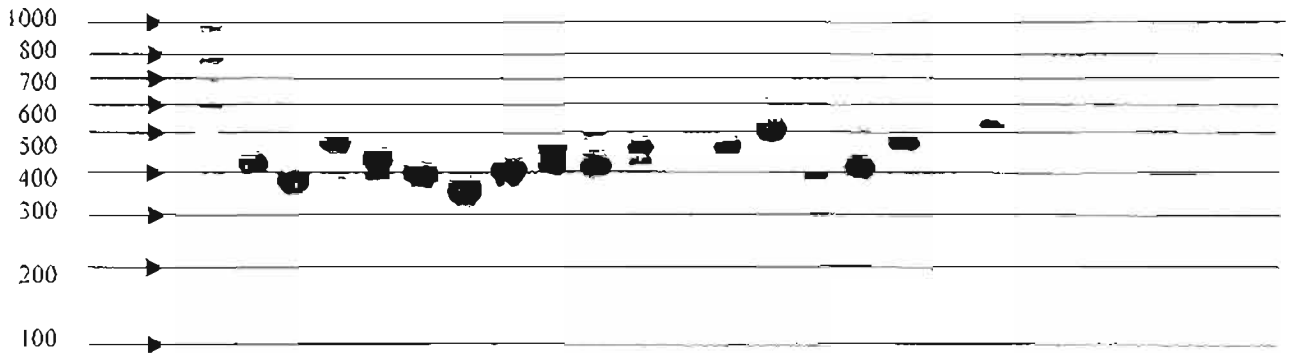
1µl de PCR - MSP2 du 25.01.01

Agarose 1 %

Gourganbaga Soulama

FC27

M10k 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21



1.	G011
2.	G013
3.	G039
4.	G041
5.	G052
6.	G061
7.	G062
8.	G080
9.	G103
10.	G106
11.	H2O

H2O

12.	G115
13.	G120
14.	G124
15.	G134
16.	G135
17.	G141
18.	G149
19.	G151
20.	G152
21.	G159

TITRE : Polymorphisme allélique du gène MSP 2 de *Plasmodium falciparum* et pathogénie de l'anémie palustre sévère chez des enfants de 0 à 5 ans de la province du Boulgou (Burkina Faso).

RESUME :

Durant la saison de haute transmission palustre de 2001, nous avons étudié les allèles du gène MSP-2 de *Plasmodium falciparum* chez des enfants de 0 à 5 ans. Le service de pédiatrie du CHR de Tenkodogo, les villages de Zana et de Gourganbaga de la province du Boulgou ont servi de cadre pour cette étude.

Les cas de paludisme grave, définis selon les critères de l'OMS, recrutés au service de pédiatrie du CHR, ont été repartis en cas graves anémiques et en cas graves non anémiques selon que le taux d'hémoglobine est inférieur ou supérieur à 5g/dl.

Les cas de paludisme non grave ont regroupé les enfants présentant à l'examen du sang périphérique des formes asexuées de *Plasmodium falciparum*, sans aucun signe de gravité de paludisme, cela quelle que soit la température axillaire.

Au total, 405 enfants de 0 à 5 ans ont été inclus dans l'étude : 102 cas de paludisme grave anémique (âge moyen = $1,3 \pm 0,9$ ans) ; 107 cas de paludisme grave non anémique (âge moyen = $1,9 \pm 1,2$ ans) et 196 cas de paludisme non grave (âge moyen = $3,0 \pm 1,6$ ans).

L'analyse des résultats montre que la prévalence des souches 3D7 de *P. falciparum* est statistiquement plus élevée chez les cas graves non anémiques. Par contre, il n'y a pas de corrélation entre la prévalence des souches FC27 et le paludisme grave anémique. Nous n'avons pas observé de différence statistiquement significative au niveau de la polyclonalité entre les trois entités cliniques et la plupart des enfants dans ces trois entités hébergeait 2 à 3 souches de *P. falciparum*. Mais, l'analyse de la complexité montre que le paludisme grave anémique est associé à une complexité élevée des souches FC27. Cependant, la complexité des souches 3D7 est statistiquement identique dans les trois entités cliniques. En outre, l'étude a révélé une augmentation non significative de la complexité avec la densité parasitaire.

MOTS CLES : Polymorphisme allélique / gène MSP2 / *P. falciparum* / anémie sévère/ paludisme / Boulgou / Burkina Faso.