

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT
SUPERIEUR, DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE ET DE L'INNOVATION

UNIVERSITE NAZI BONI

ECOLE DOCTORALE DES SCIENCES DE LA
SANTÉ (ED-SDS)

FORMATION DOCTORALE EN
PARASITOLOGIE MEDICALE

Année académique: 2017 - 2018

BURKINA FASO

Unité-Progrès-Justice



Mémoire N°22

**Dynamique durant le postpartum des
immunoglobulines G anti-palustres (anti-DBL5 et
anti-ID1-ID2a) chez des primipares à Nanoro,
Burkina Faso**

Mémoire

Pour l'obtention du diplôme de

Master en

Parasitologie-Entomologie-Mycologie médicales

Par

YERBANGA Wendkièta Isidore

Directeur de mémoire :

M. Halidou TINTO

Directeur de Recherche à l'IRSS/CNRST
Professeur Associé à l'INSSA/UNB

Co-Directeur :

M. Hermann SORGHO

Chargé de Recherche à l'IRSS/CNRST

JURY :

Président :

M^{me} Sanata BAMBA /Ep PAKOTOGO

Maître de Conférences Agrégé en Parasitologie à
l'INSSA/UNB

Membres :

- **M. Hermann SORGHO**

Chargé de Recherche en Parasitologie à l'IRSS/CNRST

- **M. Yacouba SOURABIE**

Maître-assistant en Immunologie à l'INSSA/UNB

Remerciements

REMERCIEMENTS

A mon directeur de mémoire, Professeur Halidou TINTO

Vous avez suscité en nous l'amour de la recherche et guidé nos pas à chaque étape de notre évolution dans ce domaine. Vous avez également accepté en dépit de vos multiples occupations de diriger ce mémoire. Nous vous témoignons ici notre profonde gratitude.

A mon Co-Directeur de mémoire, Dr Hermann SORGHO

Merci à vous pour les conseils et d'avoir accepté diriger ce travail malgré vos multiples occupations. Recevez à travers ce travail toute notre reconnaissance.

A notre Maître et Juge, le Maître de Conférence Agrégé Sanata BAMBA

Nous avons bénéficié tout au long de notre formation de vos enseignements théoriques et pratiques. En acceptant de présider ce jury, vous nous faites l'honneur de bénéficier une fois de plus de vos qualités scientifiques et pédagogiques. Recevez ici l'expression de notre profonde gratitude.

A notre Maître et Juge, le Maître-assistant Yacouba SOURABIE

Cher maître, c'est un immense honneur pour nous d'avoir reçu vos précieux encadrements au cours de cette formation du Master. Vous avez aussi accepté de juger notre travail et ce, malgré vos multiples sollicitations et occupations. Veuillez recevoir, cher maître, l'expression de notre profonde gratitude.

A ma chère épouse Florence Delwendé OUEDRAOGO

Merci à toi pour ton soutien sans cesse renouvelé et puisse Dieu nous garder unis à jamais.

A Monsieur Ousmane TRAORE

Merci à vous d'avoir accepté guider nos premiers pas dans le domaine pratique de l'immunologie. Veuillez recevoir à travers ce travail toute notre profonde gratitude.

A Docteur Toussaint ROUAMBA

Je vous remercie pour votre contribution à l'élaboration de ce document.

A Magloire NATAMA, Paul SONDO, Salou DIALLO, Benjamin KABORE

Je vous remercie pour le soutien lors l'élaboration de ce travail.

Nos remerciements vont également:

- A tous nos maîtres de l'Ecole Doctorale-Sciences De la Santé (ED-SDS) de l'Université Nazi Boni (UNB), merci infiniment.
- A l'ensemble du personnel de l'Unité de Recherche Clinique de Nanoro (URCN)
- Aux Dr Mamoudou CISSE, Seydou NAKANABO DIALLO, Moussa LINGANI
- A mes condisciples du Master de parasitologie
- A toutes les participantes de l'étude

Table des Matières

TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS.....	i
TABLE DES MATIERES	iii
SIGLES ET ABREVIATIONS	v
LISTE DES TABLEAUX ET FIGURES	vi
RESUME/SUMMARY	vii
INTRODUCTION ET PROBLEMATIQUE.....	1
I. GENERALITES SUR LE PALUDISME	3
1.1. Le vecteur du paludisme : Anophèle femelle.....	3
1.2. Le parasite	3
1.2.1. Taxonomie de <i>Plasmodium</i>	3
1.2.2. Cycle évolutif du parasite	4
1.2.3. Antigènes de surface de <i>Plasmodium falciparum</i>	7
1.3. Diagnostic biologique du paludisme.....	9
1.4. Stratégie de lutte contre le paludisme	10
1.4.1. Prévention du paludisme	10
1.4.2. Traitement du paludisme	11
1.5. Paludisme et grossesse	12
1.5.1. Pathogenèse du paludisme gestationnel	12
1.5.2. Immunité spécifique du paludisme placentaire	13
OBJECTIFS DE L'ETUDE	15
Objectif général	15
Objectifs spécifiques	15
II. MATERIEL ET METHODES	16
2.1. Cadre de l'étude	16
2.2. Population, période et type d'étude.....	16
2.3. Echantillonnage et taille de l'échantillon.....	16
2.4. Techniques de laboratoire	17
2.4.1. Identification des espèces plasmodiales	17

2.4.2.	Dosage des anticorps par le test ELISA indirect	17
2.5.	Collecte et analyse des données	19
2.6.	Considérations éthiques	20
III.	RESULTATS.....	21
3.1.	Caractéristiques générales.....	21
3.2.	Résultats parasitologiques des primipares	21
3.3.	Niveaux des IgG anti-DBL5 et anti-ID1-ID2a au recrutement.....	22
3.3.1.	Niveaux des anticorps anti-DBL5 des primipares et des nulligestes au recrutement	24
3.3.2.	Niveaux d'anticorps anti-ID1-ID2a des primipares et des nulligestes au recrutement	25
3.4.	Effet du paludisme gestationnel sur les niveaux des IgG anti-DBL5 et anti-ID1-ID2a des primipares à l'accouchement	25
3.5.	Comparaison des niveaux des immunoglobulines G anti-DBL5 et anti-ID1-ID2a des nulligestes à ceux des primipares.....	27
3.6.	Dynamique dans le postpartum des immunoglobines G anti-DBL5 et anti-ID1-ID2a chez les primipares.....	29
IV.	DISCUSSION	32
4.1.	Limites de l'étude.....	32
4.2.	Effet du paludisme gestationnel sur les niveaux des IgG anti-DBL5 et anti-ID1-ID2a des primipares à l'accouchement	32
4.3.	Comparaison des niveaux des IgG anti-DBL5 et anti-ID1-ID2a des nulligestes à ceux des primipares	33
4.4.	Dynamique des IgG anti-DBL5 et anti-ID1-ID2a des primipares dans le postpartum....	34
V.	Conclusion et perspectives.....	30
	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	31
	ANNEXES.....	i

Sigles et Abréviations

SIGLES ET ABREVIATIONS

Ac	: Anticorps
ADN	: Acide désoxyribo-nucléotide
Ag	: Antigène
ATS	: segment acide terminal
CIDR	: Interdomaine riche en cystéine
CPA	: Cellule présentatrice d'antigène
CPS	: Chimio-prévention du paludisme saisonnier
CSA	: Chondroïtine sulfate A
CD	: Cellule dendritique
CTA	: Combinaison thérapeutique à base d'artémisinine
DBL	: Duffy binding-like
DO	: Densité optique
DP	: Densité parasitaire
EI	: Erythrocyte infecté
ELISA	: Enzyme-linked immunosorbent assay
GE/FS	: Goutte épaisse / Frottis sanguine
HRP	: Horse Radish Peroxidase
IgG	: Immunoglobuline G totale
IgG1	: Immunoglobuline G1
IgG3	: Immunoglobuline G3
IL	: Interleukine
INF γ	: Interféron gamma
ID	: Inter-domaine
LAMP	: Technique d'amplification isothermale
DOM	: Médiane des densités optiques
μ L	: Microlitre
MILDA	: Moustiquaire imprégnée d'insecticide à longue durée d'action
NK	: Natural killer
NTS	: Segment N-terminal
OMS	: Organisation mondiale de la santé
PCR	: Polymerase chain reaction
PfEMP1	: <i>Plasmodium falciparum</i> erythrocyte membrane protein 1
PG	: Paludisme gestationnel
PID	: Pulvérisation intra domiciliaire
QBC	: Quantitative buffy coat
TDR	: Test de diagnostic rapide
TIG	: Test immunologique de grossesse
TPI-SP	: Traitement préventif intermittent par la sulfadoxine-pyriméthamine
URCN	: Unité de Recherche Clinique de Nanoro
VAR1CSA	: Antigène variant de surface 1-Chondroïtine sulfate A
VAR2CSA	: Antigène variant de surface 2- Chondroïtine sulfate A
VSA	: Antigène variant de surface

Liste des Tableaux et Figures

Liste des Tableaux et Figures

Liste des Figures

Figure 1 : Cycle évolutif de <i>Plasmodium spp</i> infestant l'Homme	6
Figure 2 : Représentation schématique de la structure de PfEMP1 Erreur ! Signet non défini.	
Figure 3 : Représentation schématique de la structure de la protéine VAR2CSA Erreur ! Signet non défini.	
Figure 4 : Distribution des réponses anticorps au cours de l'étude.....	24
Figure 5 : Comparaison des niveaux des IgG anti-DBL5 des nulligestes à ceux des primipares.....	22
Figure 6 : Comparaison des niveaux des IgG anti-ID1-ID2a des nulligestes à ceux des primipares	28
Figure 7 : Dynamique dans le postpartum des IgG anti-DBL5 et anti-ID1-ID2a chez les primipares	29
Figure 8 : Dynamique dans le postpartum des IgG1 anti-DBL5 et anti-ID1-ID2a chez les primipares	30
Figure 9 : Dynamique dans le postpartum des IgG3 anti-DBL5 et anti-ID1-ID2a chez les primipares	31

Liste des Tableaux

Tableau I : Données collectées chez les participantes	19
Tableau II : Résultats parasitologiques des primipares au cours du suivi	21
Tableau III : Comparaison des niveaux des anticorps anti-DBL5 des primipares à l'accouchement en fonction de la présence ou de l'absence de paludisme gestationnel	26
Tableau IV : Comparaison des niveaux des anticorps anti-ID1-ID2a des primipares à l'accouchement en fonction de la présence ou de l'absence de paludisme gestationnel	26

Résumé / Summary

RESUME/SUMMARY

Résumé

Introduction : Les mécanismes immunologiques de l'infection palustre durant la période de postpartum demeurent largement inexplorés. C'est dans ce contexte que cette étude a été conduite afin d'étudier la dynamique dans le postpartum des anticorps anti-DBL5 et anti-ID1-ID2a chez des primipares à nanoro.

Méthodes : Trente-trois primipares (33) ont été recrutées dans une étude de cohorte prospective et suivies durant 3 mois. Un groupe contrôle représenté par seize (16) nulligestes a été enrôlé au cours d'une étude transversale. Des prélèvements sanguins ont été effectués durant les visites afin de rechercher le *Plasmodium falciparum* par la microscopie (goutte épaisse/épaisse frottis) et réaliser les tests ELISA.

Résultats : Le suivi de la dynamique en postpartum des niveaux d'anticorps a montré une diminution du niveau des immunoglobulines G anti-DBL5 et anti-ID1-ID2a avec le temps ($P < 0,001$). Il est également ressorti que la survenue du paludisme gestationnel était fortement associée à une meilleure production d'anticorps anti-VAR2CSA dans le postpartum.

Conclusion : Cette étude a montré une lente clairance des anticorps anti-VAR2CSA dans le postpartum.

Mots-clés : DBL5, Densité optique, ID1-ID2a, Immunoglobuline G, VAR2CSA

Summary

Introduction: Immunological mechanisms of malaria during the postpartum period remain largely unexplored. So, we investigate in present study the dynamics in postpartum period of anti-DBL5 and anti-ID1-ID2a antibodies in primiparous in nanoro.

Methods: Thirty-three primiparous (33) were recruited in a prospective cohort study and followed for 3 months. A control group represented by sixteen (16) nulligests was enrolled in a cross-sectional study. Blood samples were taken during the visits to identify *Plasmodium falciparum* by microscopy (thick / thick smear) and to perform ELISA tests.

Results: The assessment of antibody levels in post-partum period showed a progressive decline over time of antibody levels to DBL5 and ID1-ID2a ($P < 0.001$). The results also showed a strong association between gestational malaria and immunoglobulin G production.

Conclusion: This study showed a clearance of anti-VAR2CSA antibodies after pregnancy.

Keywords: DBL5, Optical Density, ID1-ID2a, Immunoglobulin G, VAR2CSA

Introduction et Problématique

INTRODUCTION ET PROBLEMATIQUE

Le contrôle du paludisme à l'échelle mondiale a connu des avancées notables ces dernières décennies. Ceci se manifeste par une baisse du nombre des cas et des décès dus à l'infection plasmodiale (**WHO 2016**). Toutefois, le rapport 2016 de l'OMS relève qu'il reste de grands défis à relever dans le contrôle du paludisme chez des personnes à risque d'infection comme les femmes enceintes vivant dans les zones d'endémie (**WHO 2016**). En effet chaque année, environ 25 millions de femmes africaines vivant dans des régions d'endémie palustre tombent enceintes et risquent de subir des infections palustres. Ces infections appelées paludisme gestationnel (PG) sont responsables de près de 23% de décès maternels (**Dellicour et al. 2010; Huynh et al. 2015**). Le paludisme gestationnel est également responsable de près de 20% des cas de faible poids de naissance, entraînant ainsi environ 363 000 cas de décès infantiles chaque année en Afrique subsaharienne (**Guyatt & Snow 2004; Briand et al. 2016**). A ces décès, il faut ajouter les nombreux cas d'avortements, de prématurités, de mort-nés imputables au paludisme gestationnel (**Guyatt & Snow 2004; Briand et al. 2016**). Face à ces conséquences néfastes, de nombreuses études ont été conduites afin de comprendre les bases immunologiques de l'infection palustre pendant la grossesse. Ainsi, il a été montré que la susceptibilité de la femme enceinte au paludisme s'expliquerait en grande partie par l'abondance de la chondroïtine sulfate A (CSA) dans le tissu placentaire. Plusieurs études ont montré que la CSA est le récepteur placentaire de l'adhésion et de la séquestration des érythrocytes infectés par *Plasmodium falciparum* dans le **placenta** (**Guyatt & Snow 2004; Briand et al. 2016; Fried & Duffy 1996**). La liaison avec la CSA est réalisée par l'antigène VAR2CSA du parasite (ligand) qui est codé par le gène *var2csa* qui est une variante du gène *var* appartenant à la famille des gènes PfEMP1 (**Salanti et al. 2003; Salanti et al. 2004**).

Il a également été montré que la protection contre le paludisme gestationnel est fortement associée à l'antigène VAR2CSA. En effet, l'acquisition d'anticorps dirigés contre cet antigène est faite principalement pendant la grossesse en réponse à l'infection placentaire (**Hviid & Salanti 2017; Aitken et al. 2010**). La preuve de l'efficacité de cette immunité acquise dans la protection contre le paludisme gestationnel a été rapportée par des études conduites particulièrement en Afrique (**Hviid & Salanti 2017; Aitken et al. 2010**). En effet, dans ces études les taux plasmatiques élevés d'anticorps anti-VAR2CSA en début de grossesse étaient associés à un risque

réduit de faible poids à la naissance et d'infections placentaires de longue durée. Ainsi, après plusieurs années d'exposition au paludisme gestationnel, les femmes acquièrent, une prémunition contre le paludisme gestationnel. Cette prémunition est principalement médiée par les anticorps dirigés contre l'antigène VAR2CSA. Toutes ces études ont permis ces dernières années d'approfondir nos connaissances sur le système immunitaire anti-palustre de la femme pendant la grossesse. Elles ont même permis d'entrevoir avec un certain optimisme la mise au point d'un vaccin efficace contre le paludisme gestationnel (**Avril et al. 2010; Fried & Duffy 2015**). Toutefois, ces études n'ont concerné que la période de la grossesse. En effet, peu d'études ont été conduites afin de comprendre les mécanismes immunologiques en relation avec l'infection palustre survenant chez la femme après l'accouchement (**Mclean et al. 2015; Mclean et al. 2016**). Pourtant, il existe après l'accouchement une période durant laquelle le système immunitaire de la femme se rétablit. Durant cette période de réaménagement du système immunitaire, les femmes sont plus vulnérables aux nouvelles infections palustres et/ou peuvent être réinfestées par les parasites résiduels de la grossesse (**Mclean et al. 2016; Diagne et al. 2000**).

C'est dans ce contexte que nous avons entrepris d'analyser la dynamique de la réponse anticorps dirigée contre des séquences fortement immunogènes (DBL5, ID-ID2a) de l'antigène VAR2CSA de *P. falciparum* chez des primipares pendant le postpartum en zone rurale au Burkina Faso.

*Première partie : Revue
bibliographique*

I. GENERALITES SUR LE PALUDISME

1.1. Le vecteur du paludisme : Anophèle femelle

Le paludisme est une protozoose qui est transmise à l'Homme par un moustique de la famille des *Culicidae* et du genre *Anopheles*. Environ 465 espèces d'anophèles ont été décrites mais seulement une soixantaine d'espèces sont impliquées dans la transmission du paludisme.

Au Burkina Faso, *Anopheles gambiae*, *Anopheles funestus* et *Anopheles arabiensis* sont les anophèles vecteurs de *Plasmodium*. Seule la femelle, hématophage, transmet le parasite (**Sinka et al. 2012**). Ces anophèles femelles piquent l'Homme à partir du coucher du soleil avec un maximum d'activité entre 23 heures et 6 heures. Le développement et la longévité des anophèles dépendent de la température avec un optimum compris entre 20 et 30°C pour une durée de vie d'environ 30 jours.

1.2. Le parasite

1.2.1. Taxonomie de *Plasmodium*

Les parasites responsables du paludisme chez l'Homme sont des protozoaires du genre *Plasmodium*. Leur position taxonomique est comme suit :

Règne : *Animalia*

Phylum : *Apicomplexa*

Classe : *Sporozoea*

Ordre : *Haemosporida*

Famille : *Plasmodiidae*

Genre : *Plasmodium*

Espèces : *Plasmodium falciparum*

Plasmodium malariae

Plasmodium ovale

Plasmodium vivax

Plasmodium knowlesi

1.2.2. Cycle évolutif du parasite

Plasmodium présente un cycle évolutif indirect dans lequel les parasites passent par deux hôtes successifs : l'Homme qui est l'hôte intermédiaire et chez qui se produit la reproduction asexuée et l'anophèle femelle, l'hôte définitif chez qui a lieu la reproduction sexuée (figure 1).

1.2.2.1. Reproduction asexuée ou cycle asexué chez l'Homme

La reproduction asexuée se subdivise en deux phases: la phase pré-érythrocytaire et la phase érythrocytaire.

➤ La phase hépatique ou phase pré-érythrocytaire

L'anophèle femelle lors de son repas sanguin inocule les sporozoïtes à l'Homme. Ces derniers restent pendant au maximum une quarantaine de minutes dans la peau, la lymphe et le sang. Ils sont détruits en majorité par les macrophages mais certains parviennent à gagner le foie et envahissent les hépatocytes. Dans les hépatocytes, les sporozoïtes se transforment en trophozoïtes amorçant le début de la phase de multiplication asexuée.

Cette phase est silencieuse sur le plan clinique et dure entre une à deux semaines, donnant le corps bleu ou schizonte mûr comprenant 10 000 à 30 000 mérozoïtes pré-érythrocytaires. L'éclatement de l'hépatocyte libère dans le sang les mérozoïtes (**Gentilini 2012; Prudêncio & Mota 2011**).

Dans le cas particulier de *P. vivax* et *P. ovale*, les sporozoïtes se différencient aussi en des formes dormantes, les hypnozoïtes dont la quiescence peut durer entre un et treize mois selon la souche et l'espèce plasmodiale. Pour *P. falciparum* et *P. malariae*, tous les hépatocytes parasités vont libérer des mérozoïtes en une seule fois dans la circulation sanguine alors que pour *P. vivax* et *P. ovale*, les passages sanguins peuvent se renouveler à des intervalles de plusieurs mois en raison de la présence des hypnozoïtes. La libération des mérozoïtes dans le sang amorce le début de la phase érythrocytaire.

➤ La phase sanguine ou phase érythrocytaire

Les mérozoïtes libérés des hépatocytes envahissent les érythrocytes où ils se transforment en trophozoïtes. Ces derniers se nourrissent de l'hémoglobine dont les résidus sont visibles sous

forme de grains de pigment dans le cytoplasme (hémozoïne). Le noyau du trophozoïte se divise par schizogonie pour donner ainsi les schizontes.

Les schizontes mûrs (appelés les rosaces) sont libérés après éclatement des érythrocytes et vont à leur tour après rupture libérer de nouveaux mérozoïtes qui vont infester des hématies saines. La durée de la phase intra-érythrocytaire varie selon l'espèce d'où la notion de fièvre tierce (*P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*), quarte (*P. malariae*) ou quotidienne (*P. knowlesi*) (**Gentilini 2012**).

Après plusieurs cycles schizogoniques, apparaissent dans les hématies des gamétocytes mâles et femelles, selon un mécanisme non encore élucidé. L'apparition de ces gamétocytes a lieu en général au cours de la deuxième semaine suivant l'infestation et ces formes peuvent persister plusieurs semaines après la guérison. A la suite d'une nouvelle piqûre par un anophèle, les gamétocytes sont ingérés avec le repas sanguin amorçant ainsi le début de la reproduction sexuée.

1.2.2.2. Reproduction sexuée chez l'anophèle ou cycle sporogonique

L'anophèle femelle s'infeste lors de son repas sanguin par ingestion des formes sanguines du parasite. Ces différentes formes seront digérées dans l'estomac du moustique sauf les gamétocytes qui vont se développer en gamètes mâles et femelles. Après la fécondation, il se forme un zygote, qui devient un ookinète.

Ce dernier va traverser la paroi de l'estomac pour se placer au niveau de la face externe de l'estomac et se transformer en oocyste. A maturité, l'oocyste éclate pour libérer les sporozoïtes qui vont migrer et s'accumuler dans les glandes salivaires de l'insecte (**Good 2001**).

Lors d'un nouveau repas sanguin sur un Homme malade ou sain, des sporozoïtes sont injectés, et le cycle recommence. La durée du cycle sporogonique est de 10 à 40 jours selon l'espèce plasmodiale et la température.

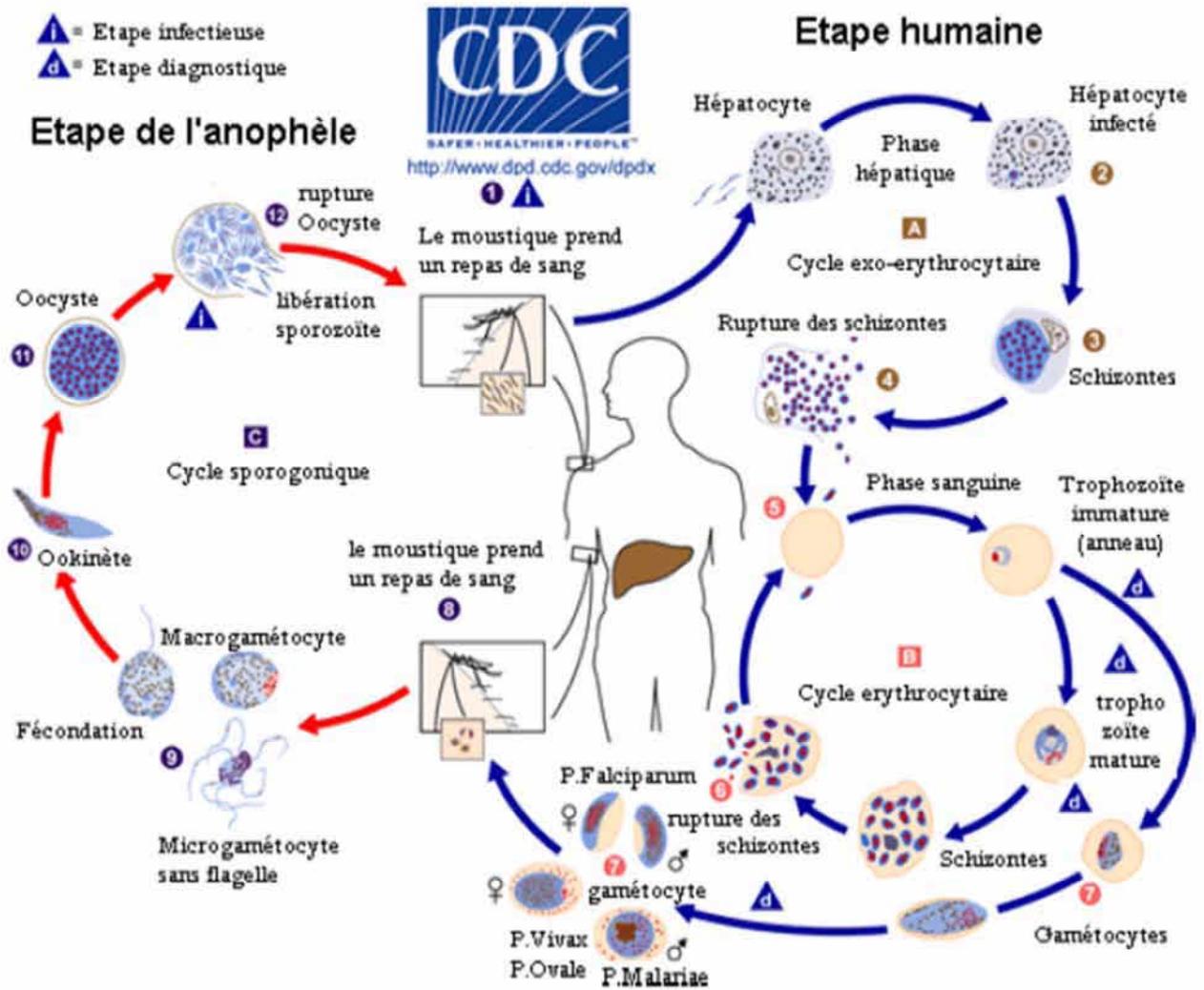


Figure 1 : Cycle évolutif de *Plasmodium* spp infestant l'Homme (CDC Atlanta 2016)

1.2.3. Antigènes de surface de *Plasmodium falciparum*

1.2.3.1. La protéine PfEMP1

PfEMP1 (*Plasmodium falciparum* erythrocyte membrane protein 1) est la protéine médiatrice dans la formation des rosettes érythrocytaires et dans l'adhérence des érythrocytes infectés (EI) à l'endothélium vasculaire des organes de l'hôte (**Beeson & Brown 2002**). Cette protéine (200-350 kDa), codée par la famille des gènes *var* (**Aird et al. 2014**), est présente au nombre de 60 copies par génome haploïde selon la souche parasitaire. Bien que très polymorphe, PfEMP1 montre un certain niveau de conservation dans sa structure principale (figure 2) qui est constituée de (**Smith et al. 2000**):

- un segment N-terminal (NTS) ;
- un nombre variable de domaines Duffy binding like (DBL) ;
- une ou deux régions cysteine-rich interdomain (CIDR) ;
- un domaine transmembranaire (TM) ;
- un segment intracellulaire assez conservé (acidic terminal segment-ATS).

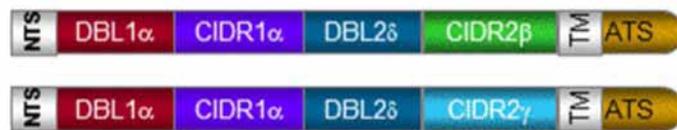


Figure 2 : Représentation schématique de la structure de PfEMP1 (**Martin et al. 2010**)

Les gènes *var* sont généralement de très grande taille (6-13kb) et possèdent deux exons. Le premier code pour la région variable de la partie extracellulaire et le domaine transmembranaire, tandis que le second code pour la partie intracellulaire de la protéine. Ces gènes présentent une diversité de séquence au niveau du parasite et au sein d'un même isolat parasitaire, mais leur transcription est régulée de manière à n'avoir qu'un PfEMP1 exprimé à la surface des érythrocytes infectés (EI) (**Scherf et al. 1998**).

Le processus de cette régulation transcriptionnelle des gènes *var* est encore mal élucidé. En présence d'une immunité antérieure contre un variant de PfEMP1, le système immunitaire est capable d'inhiber l'adhérence des EI. Le parasite va changer et exprimer un autre gène *var* de

manière à échapper à l'immunité existante. Cette commutation de l'expression des gènes *var* à la surface des EI n'a pas seulement pour conséquence de modifier le phénotype d'adhérence des EI, mais aussi de perturber le développement des anticorps capables d'interférer avec PfEMP1. Cela contribue à une construction plus lente de l'immunité naturelle acquise contre *P. falciparum* (Hviid et al. 2005). La protéine PfEMP1 est donc essentielle dans la pathogenèse du paludisme à *P. falciparum* et dans l'induction d'une immunité spécifique.

Les gènes *var* peuvent être classés en 5 groupes majeurs (A-E). Cette classification est basée sur les polymorphismes observés dans les séquences des régions non codantes et des régions codantes. Plusieurs études ont montré l'existence d'une association entre le groupe du gène *var*, exprimé à la surface des EI et l'expression clinique du paludisme. L'expression des gènes *var* des groupes A et/ou B a été associée à un paludisme simple ou grave (Kaestli et al. 2006; Kyriacou et al. 2006), tandis que l'expression de gène *var* du groupe C a été associée à un paludisme asymptomatique (Kyriacou et al. 2006). Le gène VAR1CSA (variant surface antigen 1-CSA), unique gène appartenant au groupe D, a été initialement associé à l'adhérence des isolats à la CSA (chondroïtin sulfate A), mais ne serait probablement pas exporté à la surface des EI (Rowe & Kyes 2004). Le seul membre du groupe E, VAR2CSA (variant surface antigen 2-CSA), est relativement conservé et est associé au phénotype des parasites impliqués dans le paludisme placentaire (Pehrson et al. 2016).

1.2.3.2. La protéine VAR2CSA

VAR2CSA est une protéine transmembranaire de 350 kDa. Sa partie extracellulaire est composée d'un segment N-terminal (NTS) et de 6 domaines DBL (Duffy binding like) appelés DBL1, DBL2, DBL3, DBL4, DBL5 et DBL6. Ces 6 domaines sont entrecoupés par des inter-domaines (ID) de taille variable appelés ID1, ID2, ID3, ID4 et ID5. VAR2CSA présente également une région transmembranaire (TM) et un segment terminal acide (ATS) intracellulaire (figure 3). La séquence de VAR2CSA composée de l'inter-domaine 1 (ID1), du domaine DBL2 et de l'inter-domaine 2 (ID2) constitue la protéine recombinante ID1-ID2a.

Le gène *var2csa* qui code pour la protéine VAR2CSA a été identifié comme le seul gène surexprimé par le parasite à l'intérieur des EI chez la femme enceinte afin de permettre une meilleure adhésion de ces derniers à la CSA au niveau du placenta. La protéine VAR2CSA est le

principal récepteur responsable de l'adhérence des EI au placenta (Fried M *et al.* 2006). Cette protéine est reconnue par les anticorps présents chez les femmes enceintes infestées par *P. falciparum*. Cette capacité de reconnaissance de VAR2CSA augmente avec la parité (Mayor A *et al.* 2011). Dès lors, de nombreux travaux de recherche ont visé le développement d'un vaccin à base de VAR2CSA qui empêcherait l'adhérence des EI au placenta et protégerait ainsi les femmes enceintes contre une séquestration placentaire (Fried & Duffy 2015; Bordbar B *et al.* 2012; Bigey P *et al.* 2011). Ceci a fait de VAR2CSA la protéine la mieux caractérisée parmi toutes les protéines PfEMP1. Bien que relativement conservée, VAR2CSA comporte également des régions fortement polymorphes et semi-conservées dans les domaines DBL. Ces régions polymorphes sont exposées en surface et subissent la pression immunitaire (Doritchamou JY *et al.* 2016).

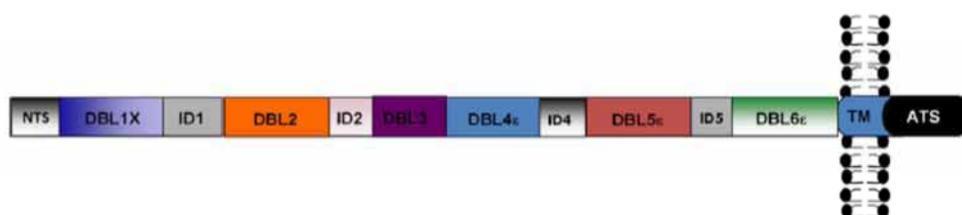


Figure 3 : Représentation schématique de la structure de la protéine VAR2CSA (Martin *et al.* 2010)

1.3. Diagnostic biologique du paludisme

Il est essentiellement parasitologique mais plusieurs autres méthodes de diagnostic sont actuellement disponibles.

➤ Examen microscopique de la goutte épaisse /frottis mince

Il certifie le diagnostic du paludisme en mettant en évidence le parasite dans le sang circulant. Il demeure la méthode de référence en termes de sensibilité et de spécificité. Il permet de confirmer la maladie, d'identifier l'espèce plasmodiale en cause et permet un contrôle de l'efficacité du traitement antipaludique par le suivi de la parasitémie.

Cependant, ses performances en termes de sensibilité et de fiabilité dépendent directement de l'expérience du microscopiste et du niveau de la parasitémie du sujet infecté.

➤ **La détection d'antigènes du parasite par les tests de diagnostic rapides (TDR)**

Ils reposent sur le principe de l'immuno-chromatographie en utilisant des bandelettes sensibilisées par des anticorps monoclonaux spécifiques détectant des antigènes plasmodiaux.

➤ **Quantitative buffy coat (QBC)**

Le principe de cette technique microscopique de fluorescence repose sur l'utilisation d'un fluorochrome (l'acridine orange) capable de se fixer sur le noyau du parasite.

➤ **La détection des anticorps antipalustres**

En zone d'endémie, la sérologie n'a pas de place dans le diagnostic des accès palustres aigus en raison de l'apparition tardive des anticorps (Ac) antipalustres par rapport à l'émergence des parasites dans le sang.

Le diagnostic sérologique se heurte également à des difficultés d'interprétation. En effet, la présence d'Ac spécifiques peut témoigner soit d'une infection palustre évolutive soit d'un paludisme antérieur dans la mesure où les Ac peuvent persister 2 à 3 ans après l'infection (**Siala et al. 2010**).

➤ **La détection des acides nucléiques par les techniques d'amplification génique**

Il s'agit de la technique la plus sensible. Elle permet de détecter de très faibles parasitémies dans le sang avec une possibilité de quantification de l'ADN plasmodial en utilisant la PCR quantitative (**Siala et al. 2010**).

1.4. Stratégie de lutte contre le paludisme

1.4.1. Prévention du paludisme

La lutte anti-vectorielle reste le principal moyen de réduire la transmission du paludisme au niveau communautaire. Cette lutte au niveau communautaire est essentiellement basée sur la pulvérisation d'insecticides à effet rémanent à l'intérieur des habitations.

Au niveau individuel, la protection contre les piqûres de moustiques représente le premier moyen de défense contre le paludisme. Cette stratégie est surtout basée sur l'utilisation des

moustiquaires imprégnées d'insecticide à longue durée d'action (MILDA) dont la couverture universelle est recommandée par l'OMS.

La chimioprophylaxie chez la femme enceinte avec la sulfadoxine-pyriméthamine constitue aussi une stratégie de base en matière de prévention contre le paludisme.

Depuis 2010, l'OMS recommande une intervention supplémentaire pour lutter contre le paludisme à *Plasmodium falciparum*: la chimio-prévention du paludisme saisonnier (CPS). En effet, dans la zone sahélienne la mortalité et la morbidité dues au paludisme chez les enfants sont les plus élevées durant la saison des pluies généralement de courte durée. Cette intervention consiste à l'administration mensuelle d'un traitement complet avec un médicament antipaludique efficace durant cette période chez les jeunes enfants.

1.4.2. Traitement du paludisme

En cas de paludisme simple l'objectif du traitement est de guérir l'infestation le plus rapidement possible. Cela permet de prévenir la progression vers une forme grave et d'éviter une morbidité résultant d'un échec thérapeutique.

Les combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine (CTA) sont les traitements actuellement recommandés pour le traitement du paludisme simple. Les combinaisons recommandées par l'OMS sont : Artéméther-Luméfántrine, Amodiaquine-Artésunate, Artésunate-Méfloquine, Artésunate-Sulfadoxine-pyriméthamine.

Pour le paludisme grave, le principal objectif est d'éviter une issue fatale, les objectifs secondaires étant la prévention des séquelles ou d'une recrudescence. L'artésunate en intraveineuse ou en intra musculaire est le traitement recommandé. L'artéméther ou la quinine sont des alternatives possibles si l'on ne dispose pas de l'artésunate injectable. Toutefois au Burkina Faso la quinine garde toujours une place de choix en plus de l'artésunate injectable.

1.5. Paludisme et grossesse

1.5.1. Pathogenèse du paludisme gestationnel

➤ Description du paludisme gestationnel

Le paludisme au cours de la grossesse est l'un des problèmes majeurs de santé publique dans les pays d'endémie palustre au regard de son poids épidémiologique et de sa pathogenèse (**Dellicour et al. 2010; Rogerson SJ et al. 2007**). Le risque de paludisme (l'infection et la maladie clinique) est plus élevé chez les femmes enceintes comparativement aux femmes non enceintes. Cela est probablement lié aux changements immunologiques et hormonaux associés à la grossesse combiné avec la capacité des EI à se séquestrer dans le placenta (**Rogerson SJ et al. 2007**). Cette susceptibilité des femmes enceintes à l'infection palustre mais aussi aux infections en général serait due au processus de développement du fœtus et aux interactions de ce dernier avec le système immunitaire de la mère (**Guleria I 2007**). En effet, la grossesse est considérée comme un état d'équilibre immunologique dans lequel le système immunitaire de la mère doit inhiber tous les mécanismes concourant au rejet du fœtus qui est perçu comme un « corps étranger » et aussi maintenir la compétence immunitaire de défense contre les micro-organismes (**Munoz-Suano A & Hamilton AB 2011**).

Le paludisme gestationnel (PG) est responsable d'une anémie maternelle sévère pouvant entraîner la mort maternelle, l'avortement spontané, la prématurité, etc. Ces conséquences sont le résultat de la séquestration massive des EI dans le placenta entraînant ainsi une inflammation du placenta et une perturbation des échanges foeto-maternels (**Rogerson SJ et al. 2007**).

Les facteurs maternels associés au risque de PG sont fonction de l'âge maternel, de la parité et de l'âge gestationnel. Les jeunes femmes, en particulier les adolescentes, sont plus à risque de faire un PG que les femmes plus âgées, et cela indépendamment de la parité (**Nnaji GA & Okafor CI 2006**). La différence de susceptibilité associée à la parité a été attribuée d'une part, à la faible prolifération des cellules mononuclées du sang des primigestes comparativement aux multigestes. D'autre part, cette différence s'expliquerait par l'acquisition d'anticorps anti-adhérence, potentiellement protecteurs retrouvés chez les multigestes mais qui semblent absents ou de faibles niveaux chez les primigestes (**Mayor A et al. 2011; Fievet et al. 1995**). Le pic de

prévalence du paludisme gestationnel semble se produire au cours du deuxième trimestre (13-16 semaines) de grossesse et diminue vers le terme (**Brabin 1983**).

➤ **Séquestration, récepteurs placentaires et interaction entre VAR2CSA et CSA**

Le paludisme gestationnel est caractérisé par la séquestration des EI dans les espaces intervillositaires du placenta entraînant un paludisme placentaire (**Fried & Duffy 1996; Beeson & Brown 2002**). La densité parasitaire (DP) devient plus élevée dans le placenta que dans le sang périphérique. Il a été démontré que le PG est causé par les EI qui expriment abondamment à leurs surfaces la protéine VAR2CSA dont le récepteur CSA est majoritairement présent dans le placenta (**Fried & Duffy 1996; Beeson & Brown 2002**).

Plusieurs systèmes d'expression protéique ont été utilisés pour produire des protéines recombinantes correspondant à chaque domaine DBL de la protéine VAR2CSA et leur capacité d'adhérence à la CSA a été évaluée. Parmi les six (06) domaines DBL, quatre (04) (DBL2, DBL3, DBL5 et DBL6) adhèrent *in vitro* à la CSA (**Gamain B et al. 2005**). L'expression récente de la totalité de la partie extracellulaire de VAR2CSA a révélé une très grande affinité et spécificité d'adhérence à la CSA, plus de mille (1000) fois supérieure à celle des domaines simples synthétisés précédemment (**Srivastava et al. 2010**). Cette avancée capitale a permis une meilleure caractérisation des régions de VAR2CSA qui adhèrent à la CSA. La conformation générale des domaines DBL est considérée comme relativement stable et elles peuvent agir en tant que blocs pour former des sites de liaison (**Tolia et al. 2005**). La région minimale d'adhérence à la CSA a été définie dans la partie N-terminale de VAR2CSA et le site de liaison de base se situe dans le domaine DBL2 et dans certaines parties des régions ID (**Clausen et al. 2012**).

1.5.2. Immunité spécifique du paludisme placentaire

Les antigènes variables de surface (VSA) exprimés à la surface des globules rouges parasités par *P. falciparum* sont des cibles privilégiées de l'immunité protectrice acquise qui se développe après une exposition au parasite (**Ofori MF et al. 2002**). Les femmes ayant des antécédents de paludisme placentaire présentent des anticorps spécifiques anti-VAR2CSA lesquels sont associés à la protection contre le paludisme lors de grossesses ultérieures (**Staalsoe T et al. 2004**). Ces anticorps permettent de différencier les femmes primigestes et multigestes dans leur sensibilité au

paludisme. L'acquisition d'anticorps anti-VAR2CSA est faite pendant la grossesse et il a été démontré que des taux plasmatiques élevés d'anticorps anti-VAR2CSA en début de grossesse étaient associés à un risque réduit de faible poids à la naissance (**Salanti et al. 2004**) et d'infections placentaires de longue durée (**Ndam et al. 2006**). Le mécanisme humoral de protection contre le paludisme placentaire implique à la fois, le blocage de l'adhérence des EI au placenta et aussi des processus cytophiliques tels que la phagocytose et l'activation du complément (**Megnekou et al. 2005; Lambert LH et al. 2014**).

L'immunité à médiation cellulaire joue certainement un rôle dans le paludisme placentaire, mais sa contribution dans la protection demeure très peu comprise du fait de la rareté d'étude sur le sujet (**Rogerson SJ et al. 2007**). Au début de la grossesse il y a un biais dans la polarisation Th1/Th2 pour faciliter le développement de l'allogreffe fœtale, en favorisant une diminution des cytokines de type Th1 (TNF α et IFN γ) (**Raghupathy 1997**). Mais il a été démontré que la sécrétion d'IFN γ par les cellules mononuclées du sang intervilloux ainsi que la prolifération de plusieurs cellules productrices d'IFN γ sont associées à la protection contre le paludisme placentaire (**Othoro C et al. 2008**).

Deuxième partie :
Notre étude

OBJECTIFS DE L'ETUDE

➤ Objectif général

Etudier la dynamique des anticorps dirigés contre le domaine DBL5 et la protéine recombinante ID1-ID2a de l'antigène variant de surface VAR2CSA de *Plasmodium falciparum* chez des primipares pendant le postpartum à Nanoro, Burkina Faso.

➤ Objectifs spécifiques

- ❖ Déterminer les niveaux des immunoglobulines (Ig) IgG, IgG1 et IgG3 dirigées contre DBL5 et ID1-ID2a des nulligestes et des primipares au recrutement;
- ❖ Déterminer l'effet du paludisme gestationnel sur les niveaux des IgG, IgG1 et IgG3 dirigées contre DBL5 et ID1-ID2a chez les primipares à l'accouchement ;
- ❖ Comparer les niveaux des IgG, IgG1 et IgG3 dirigées contre DBL5 et ID1-ID2a des nulligestes à ceux des primipares ;
- ❖ Décrire la dynamique dans le postpartum des niveaux des IgG, IgG1 et IgG3 dirigées contre DBL5 et ID1-ID2a chez les primipares.

Matériel et méthodes

II. MATERIEL ET METHODES

2.1. Cadre de l'étude

L'étude a été conduite dans l'aire de couverture du système de surveillance démographique et de santé (SSDS) de Nanoro, localité située à 85 kilomètres (km) de Ouagadougou. Le SSDS a été mis en place en 2009 par l'Unité de Recherche Clinique de Nanoro (URCN) pour en faire une plateforme pouvant permettre la mise en œuvre d'études liées à la dynamique de la population humaine et le contrôle des maladies dans le district sanitaire de Nanoro (**Derra et al. 2012**). Il couvre actuellement une population d'environ 65550 personnes dont 56,1 % de femmes. La transmission du paludisme dans la zone est saisonnière avec un pic entre les mois de juillet et d'octobre.

2.2. Population, période et type d'étude

La population d'étude était composée de femmes primipares et nulligestes vivant dans l'aire de couverture du SSDS. Les primipares ont été enrôlées au cours d'une étude de cohorte prospective qui s'est déroulée du 19 Avril 2014 au 8 Août 2016. Durant cette même période, des nulligestes (groupe contrôle) ont été recrutées au cours d'une étude transversale dans la même zone.

Les critères de non inclusion dans notre étude étaient l'existence d'une parité antérieure ou d'un avortement, de toutes maladies pouvant interférer sur l'interprétation des résultats.

Dans le cas particulier des nulligestes, nous avons exclu de l'étude, toutes les femmes âgées de moins de 18 ans et/ou ayant une parasitémie positive suite à l'examen microscopique.

2.3. Echantillonnage et taille de l'échantillon

Cette recherche étant basée principalement sur des comparaisons, la méthode «cluster analysis» (**Genser et al. 2007**) a été utilisée pour déterminer la taille de l'échantillon. Cette méthode fixe le nombre minimum d'individus par groupe entre 5 et 10 (**Genser et al. 2007**). Cela nous a permis de recruter, 33 participantes dans le groupe des primipares et 16 dans le groupe des nulligestes soit un total de 49 participantes.

2.4. Techniques de laboratoire

2.4.1. Identification des espèces plasmodiales

Le diagnostic des cas d'infection palustre a été fait par la technique de goutte épaisse (GE) et frottis sanguin (FS). Brièvement, une goutte de sang a été déposée sur une lame porte-objet propre et défibrinée rapidement par un mouvement en spirale à l'aide d'un coin d'une autre lame.

Une seconde goutte déposée sur la lame a été étalée afin d'obtenir un frottis mince. Après avoir fixé le frottis avec du méthanol, les lames ont été colorées avec une solution de Giemsa diluée au dixième pendant 10 à 20 minutes puis rincées avec de l'eau tamponnée et séchées.

La lecture des lames s'est faite au microscope optique à l'objectif 100. En cas de positivité de la goutte épaisse, la densité parasitaire était déterminée. Pour cela, les parasites étaient comptés par rapport aux leucocytes. Sur la base de 8000 leucocytes/mm³ de sang sur un bon étalement, l'expression de la densité parasitaire (DP) est la suivante (**OMS 2014**) :

$$DP = \frac{\text{Nombre de parasites comptés} \times 8000}{\text{Nombre de leucocytes comptés}} \quad \text{Parasites}/\mu\text{L}$$

2.4.2. Dosage des anticorps par le test ELISA indirect

2.4.2.1. Principe du test ELISA indirect

Le principe du test ELISA indirect est basé sur un dosage immuno-enzymatique qui détecte et/ou quantifie les anticorps présents dans du sérum ou du plasma. L'antigène spécifique de l'anticorps recherché est préalablement fixé électrostatiquement dans les puits d'une plaque de microtitration et va permettre la capture de l'anticorps. Le complexe immun anticorps-antigène ainsi formé sera détecté par l'ajout d'un anticorps secondaire anti-immunoglobuline. Cet anticorps secondaire est couplé à une enzyme (peroxydase). En présence de son substrat, l'enzyme va catalyser sa dégradation et une coloration apparaît et l'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration d'anticorps recherché dont l'absorbance est mesurée par spectrophotométrie ultraviolet (UV)-visible.

2.4.2.2. Procédure du test ELISA indirect avec les antigènes DBL5 et ID1-ID2a

Le dosage des différentes immunoglobulines G a été réalisé suivant la méthode décrite en 2000 par John R. Crowther (**Genser et al. 2007**).

Les réponses immunitaires humorales dirigées contre DBL5 et ID1-ID2a ont été mesurées dans les plasmas par la technique ELISA indirect.

Avant l'analyse de l'ensemble des plasmas, une mise au point préalable de la méthode ELISA par titration a été effectuée. Ceci a permis la détermination des concentrations optimales d'antigènes et des plasmas à utiliser.

Les puits des plaques ELISA ont été recouvertes avec une solution à 1 µg/mL d'antigène (DBL5 ou ID1-ID2a) dans du tampon de PBS (phosphate buffer saline) 1X, puis les plaques ont été incubées pendant 12 à 24 heures à 4°C. Les plaques ont ensuite été lavées trois fois avec une solution de PBS-Tween 1X (0,01 M Na phosphate ; 0,15M NaCl ; 0,05 Tween®-20), puis on a ajouté dans chaque puits 200 µL d'une solution de blocage composée de 3 mg de lait écrémé en poudre dissoute dans 100 mL de solution de PBS 1X. Les plaques ont ensuite été incubées à la température ambiante pendant 1 à 2 heures.

Après le blocage, les puits ont été vidés sans lavage, et une dilution des plasmas au 1/100 a été ajoutée dans les puits correspondants des plaques qui ont alors été incubées pendant 1 à 2 heures à la température ambiante. Après un cycle de trois lavages, les anticorps secondaires qui étaient constitués de l'IgG anti-humain de chèvre conjugué à la peroxydase (Horseradish Peroxidase : HRP) de Thermo Fisher Scientific® a été ajouté. Ces anticorps secondaires ont été préalablement dilués aux 1/10000, 1/2000 et 1/1000 respectivement pour les anticorps anti-IgG-HRP, anti-IgG1-HRP et IgG3-HRP. Les plaques ont ensuite été incubées à température ambiante pendant 1 à 2 heures, puis lavées 3 fois.

La réaction colorée a été développée en ajoutant 100 µL de tetramethyl-benzidine (TMB) dans chaque puits suivie d'une incubation de 15 à 30 minutes à l'obscurité. Puis, la réaction a été stoppée en ajoutant 100 µL de solution d'acide sulfurique 2M. Les densités optiques (DO) ont été lues au spectrophotomètre (ELISA-Reader Multiskan™ GO) à la longueur d'onde de 450 nm. Chaque échantillon a été analysé en paire sur chaque plaque et le coefficient de variation (CV) de chaque paire a été calculé grâce au logiciel SkanIt®. Les paires dont le CV était supérieur ou égal à 15% ont été testées à nouveau. La DO moyenne de chaque échantillon a été calculée grâce au

logiciel SkanIt®. Les DO moyennes brutes ont été utilisées pour l'analyse des données et pour l'évaluation des niveaux des immunoglobulines G.

2.5. Collecte et analyse des données

2.5.1. Collecte des données

Le Tableau ci-dessous résume l'ensemble des données collectées au cours de l'étude.

Un test immunologique de la grossesse (TIG) a été utilisé pour le diagnostic de la grossesse.

Tableau I : Données collectées chez les participantes

	Primipares				Nulligestes
	Visite 1 (accouchement)	Visite 2 (1 mois après l'accouchement)	Visite 3 (3 mois après l'accouchement)	VNP (visite non programmée)	
Age	×	-	-	-	×
Parité	×	-	-	-	-
Paludisme gestationnel	×	-	-	-	-
Nombre de TPI-SP pris pendant la grossesse	×	-	-	-	-
Test de grossesse	-	-	-	-	×
VIH et pathologies débilantes	×	-	-	-	×
Goutte épaisse/Frottis sanguin	×	×	×	×	×
Test ELISA	×	×	×	-	×

*TPI-SP : Traitement préventif intermittent par la sulfadoxine-pyriméthamine

2.5.2. Saisie et analyse des données

Les données de l'étude ont été saisies sur un tableur Excel et analysées à l'aide du logiciel R.

Le test de Wilcoxon ou Mann Whitney a été utilisé pour comparer les niveaux d'anticorps anti-DBL5 et anti-ID1-ID2a des participantes. Le test de Friedman a été utilisé pour comparer les niveaux des anticorps des primipares au cours des trois visites de suivi.

Les tests statistiques de notre analyse ont été considérés significatifs pour un seuil de $p < 0,05$.

2.6. Considérations éthiques

La participation à l'étude était volontaire et précédée par l'obtention d'un consentement libre et éclairé de toutes les participantes. Tous les cas d'infection palustre détectés pendant notre étude ont été traités avec les antipaludiques recommandés au Burkina Faso. Le protocole de l'étude a reçu l'approbation du Comité d'Ethique institutionnel du Centre Muraz à Bobo-Dioulasso (A007-2014/CEI-CEI-CM du 12 février 2014).

Résultats

III. RESULTATS

3.1. Caractéristiques générales

Au total, 49 participantes ont été incluses dans notre étude dont 16 nulligestes et 33 primipares. L'âge médian des primipares était de 19 ans avec un intervalle interquartile de 18 - 20 ans. L'âge médian des nulligestes était également de 19 ans avec un intervalle interquartile de 18 - 20,25 ans. Parmi les femmes enceintes, 48,50% (16/33) ont déclaré avoir pris au moins 3 doses de traitement préventif à la sulfadoxine-pyrimetamine (TPI-SP) pendant la grossesse tel que recommandé par le programme national de lutte contre le paludisme.

3.2. Résultats parasitologiques des primipares

Le tableau II présente les résultats parasitologiques des primipares au cours du suivi.

Tableau II : Résultats parasitologiques des primipares au cours du suivi

		Un mois après	Trois mois après
	Accouchement (V1)	l'accouchement (V2)	l'accouchement (V3)
Proportion de GE + (%)	9,10% (3/33)	9,10% (3/33)	39,40% (13/33)
Moyenne de la DP (trophozoïtes/μL)	2627 (1677 ; 5584)	670 (163 ; 2319)	1143 (78 ; 15690)

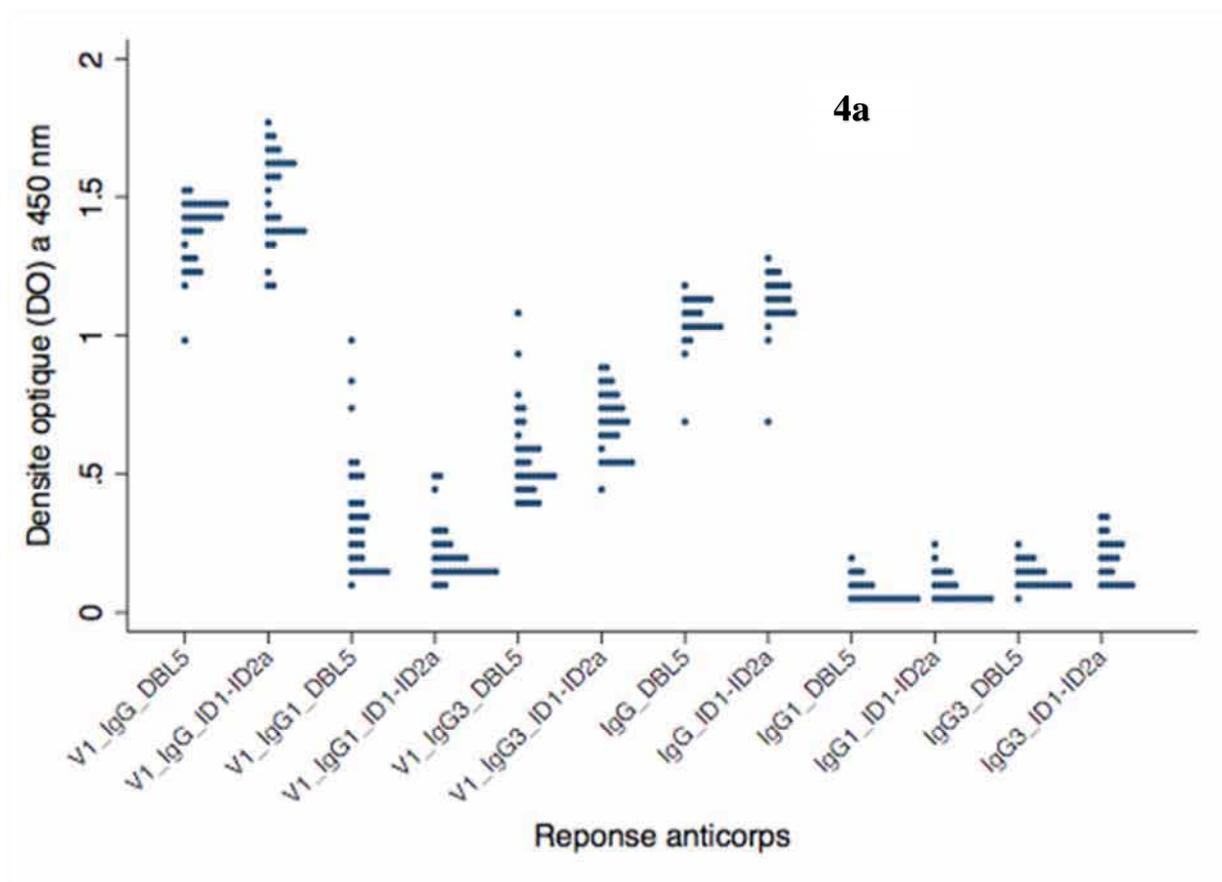
GE + : Goutte épaisse positive DP : Densité parasitaire

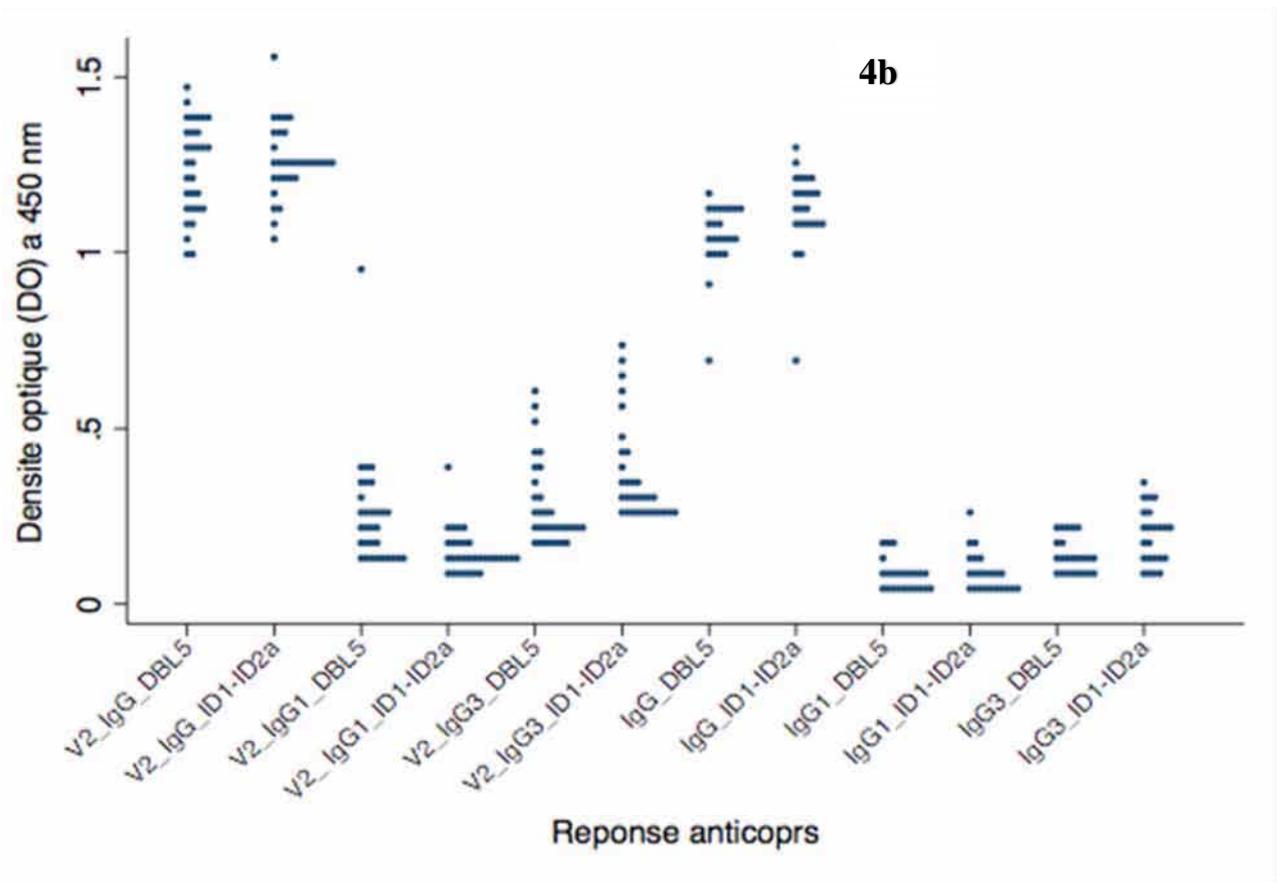
Les résultats des examens parasitologiques réalisés à l'accouchement, ont montré que 9,10% (3/33) des primipares ont présenté une parasitémie positive avec une densité parasitaire (DP) moyenne (géométrique) de 2627 (min = 1677 ; max = 5584) trophozoïtes/μL. Un mois après l'accouchement, également 9,10% (3/33) de femmes étaient parasitées avec une DP moyenne de 670 (min = 163 ; max = 2319) trophozoïtes/μL. Trois mois après l'accouchement, la proportion de femmes parasitées était de 39,40% (13/33) avec une DP moyenne de 1143 (min = 78 ; max = 15690) trophozoïtes/μL.

Conformément aux critères d'inclusion fixés dans le protocole, aucune participante nulligeste n'était porteuse d'une infection par *P. falciparum* à l'examen microscopique.

3.3. Niveaux des IgG anti-DBL5 et anti-ID1-ID2a au recrutement

Sur le plan descriptif, les résultats obtenus en ELISA avec les deux antigènes plasmodiaux ont été analysés en vue de ressortir les caractéristiques de la réactivité des plasmas contre ces antigènes ainsi que leur dynamique au cours du suivi. La réactivité dirigée contre les antigènes plasmodiaux des plasmas mesurée en ELISA a donné une large gamme de densités optiques (DO) avec des valeurs médianes variables en fonction de l'antigène et du temps (Figure 4).





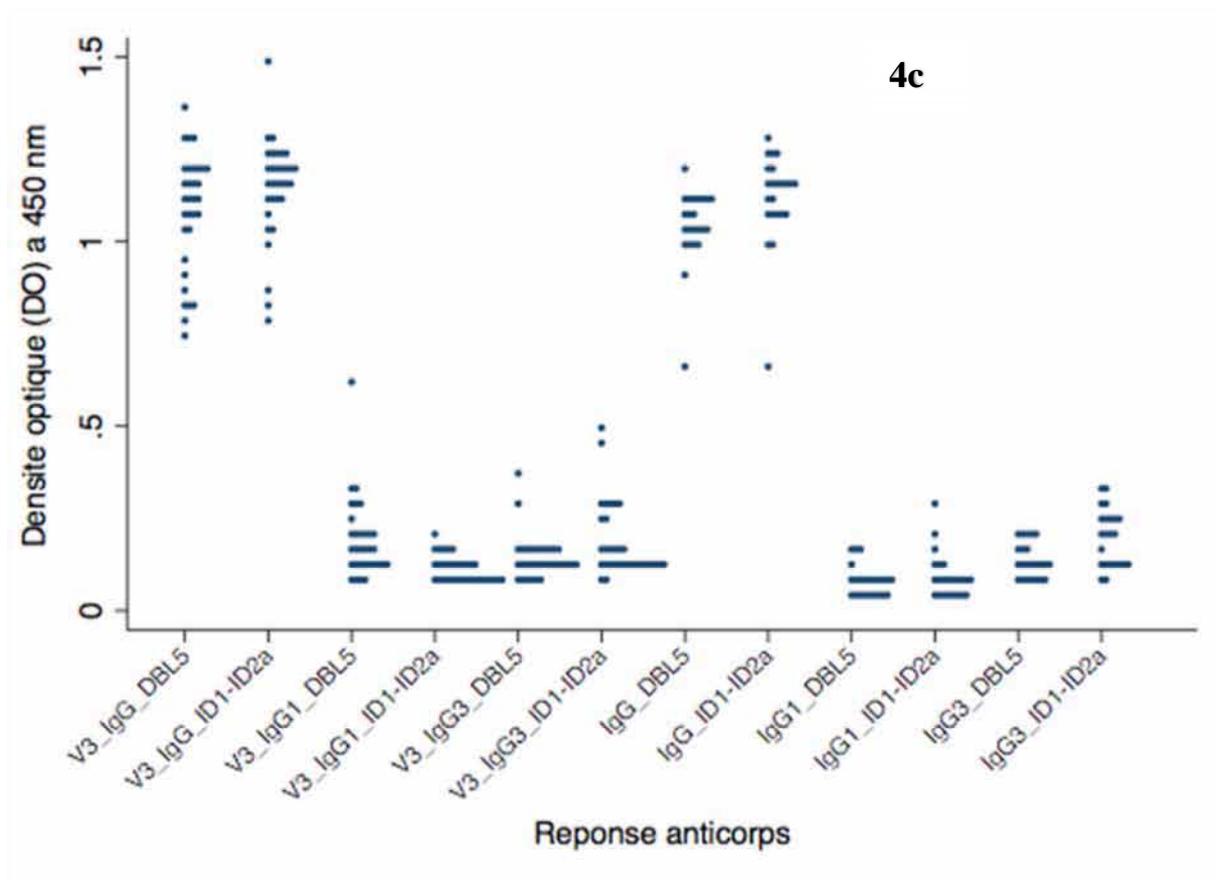


Figure 4: Distribution des réponses anticorps au cours de l'étude

4a : Réponse anticorps au recrutement ; **4b** : Réponse anticorps un mois après l'accouchement ;
4c : Réponse anticorps trois mois après l'accouchement

Les figures 4a, 4b et 4c présentent les niveaux des anti-DBL5 et anti-ID1-ID2a des primipares et des nulligestes au recrutement.

3.3.1. Niveaux des anticorps anti-DBL5 des primipares et des nulligestes au recrutement

Les densités optiques médianes (DOM) des immunoglobulines G (IgG) anti-DBL5 étaient de 1,420 (1,300; 1,470); 1,250 (1,130; 1,350) et de 1,120 (0,998; 1,190) respectivement pour les visites V1, V2 et V3 des primipares. Globalement les réactivités de l'IgG étaient nettement supérieures à celles dirigées contre les isotypes IgG1 et IgG3. Les valeurs médianes des densités optiques étaient de 0,283 (0,168 ; 0,381) pour la visite V1 et de 0,228 (0,147; 0,300) pour la visite V2. Enfin, la DOM à V3 de l'IgG1 anti-DBL5 était de 0,161 (0,124; 0,224).

Les DOM des IgG3 anti-DBL5 étaient de 0,512 (0,449; 0,606), de 0,229 (0,201; 0,323) et de 0,139 (0,118 ; 0,160) respectivement pour les visites V1, V2 et V3 des primipares.

Les DOM des IgG, IgG1 et IgG3 anti-DBL5 des nulligestes étaient respectivement de 1,050 (1,020; 1,090), de 0,071 (0,058 ; 0,113) et de 0,121 (0,100; 0,144).

3.3.2. Niveaux d'anticorps anti-ID1-ID2a des primipares et des nulligestes au recrutement

Les DOM des IgG anti-ID1-ID2a étaient de 1,490 (1,380; 1,610), de 1,260 (1,200; 1,130) et de 1,160 (1,120; 1,220) respectivement pour les visites V1, V2 et V3 des primipares.

La DOM de l'IgG1 anti-ID1-ID2a était de 0,176 (0,148; 0,228) pour la visite V1 et de 0,117 (0,110; 0,162) pour la visite V2. Enfin, la DOM à V3 de l'IgG1 anti-DBL5 était de 0,103 (0,097; 0,132).

Les DOM des IgG3 anti-ID1-ID2a étaient de 0,705 (0,600; 0,763), de 0,321 (0,274; 0,411) et de 0,141 (0,120; 0,241) respectivement pour les visites V1, V2 et V3 des primipares.

Les DOM des IgG, IgG1 et IgG3 anti-ID1-ID2a des nulligestes étaient respectivement de 1,140 (1,070; 1,180), de 0,075 (0,057; 0,117) et 0,126 (0,107; 0,237).

3.4. Effet du paludisme gestationnel sur les niveaux des IgG anti-DBL5 et anti-ID1-ID2a des primipares à l'accouchement

Les Tableaux III et IV présentent les comparaisons des niveaux des anticorps anti-DBL5 et anti-ID1-ID2a des primipares à l'accouchement en fonction de la présence ou de l'absence de paludisme gestationnel.

Le paludisme gestationnel a été associé à une augmentation des niveaux des anticorps anti-DBL5. En effet, nous avons noté que les primipares ayant présenté des cas de paludisme gestationnel durant leur grossesse avaient des niveaux d'immunoglobulines IgG, IgG1 et IgG3 anti-DBL5 statistiquement plus élevés comparativement, à celles qui n'ont présenté aucun de paludisme gestationnel durant leur grossesse ($p < 0,05$).

Par contre, en ce qui concerne les immunoglobulines IgG, IgG1 et IgG3 anti-ID1-ID2a, la présence d'un paludisme gestationnel dans les antécédents des primipares à l'accouchement n'a eu aucun effet sur les niveaux des anticorps ($p > 0,05$).

Tableau III : Comparaison des niveaux des anticorps anti-DBL5 des primipares à l'accouchement en fonction de la présence ou de l'absence de paludisme gestationnel

	IgG		IgG 1		IgG 3	
	Médiane (IIQ)	P	Médiane (IIQ)	P	Médiane (IIQ)	P
Paludisme gestationnel +	1,440 (1,390; 1,470)	0,010	0,376 (0,258; 0,530)	0,010	0,578 (0,504; 0,672)	0,03
Paludisme gestationnel -	1,330 (1,240; 1,430)		0,225 (0,153; 0,327)		0,487 (0,418; 0,528)	

+ = Présence ; - = Absence **IIQ** : Intervalle interquartile

Tableau IV: Comparaison des niveaux des anticorps anti-ID1-ID2a des primipares à l'accouchement en fonction de la présence ou de l'absence de paludisme gestationnel

	IgG		IgG 1		IgG 3	
	Médiane (IIQ)	P	Médiane (IIQ)	P	Médiane (IIQ)	P
Paludisme gestationnel +	1,570 (1,390; 1,620)	0,2	0,188 (0,150; 0,307)	0,3	0,720 (0,623; 0,763)	0,6
Paludisme gestationnel -	1,400 (1,350; 1,600)		0,168 (0,146; 0,191)		0,678 (0,587; 0,746)	

+ = Présence - = Absence **IIQ** : Intervalle interquartile

3.5. Comparaison des niveaux des immunoglobulines G anti-DBL5 et anti-ID1-ID2a des nulligestes à ceux des primipares

Les Figures 5 et 6 présentent les niveaux d'anticorps anti-DBL5 des nulligestes comparés à ceux des primipares.

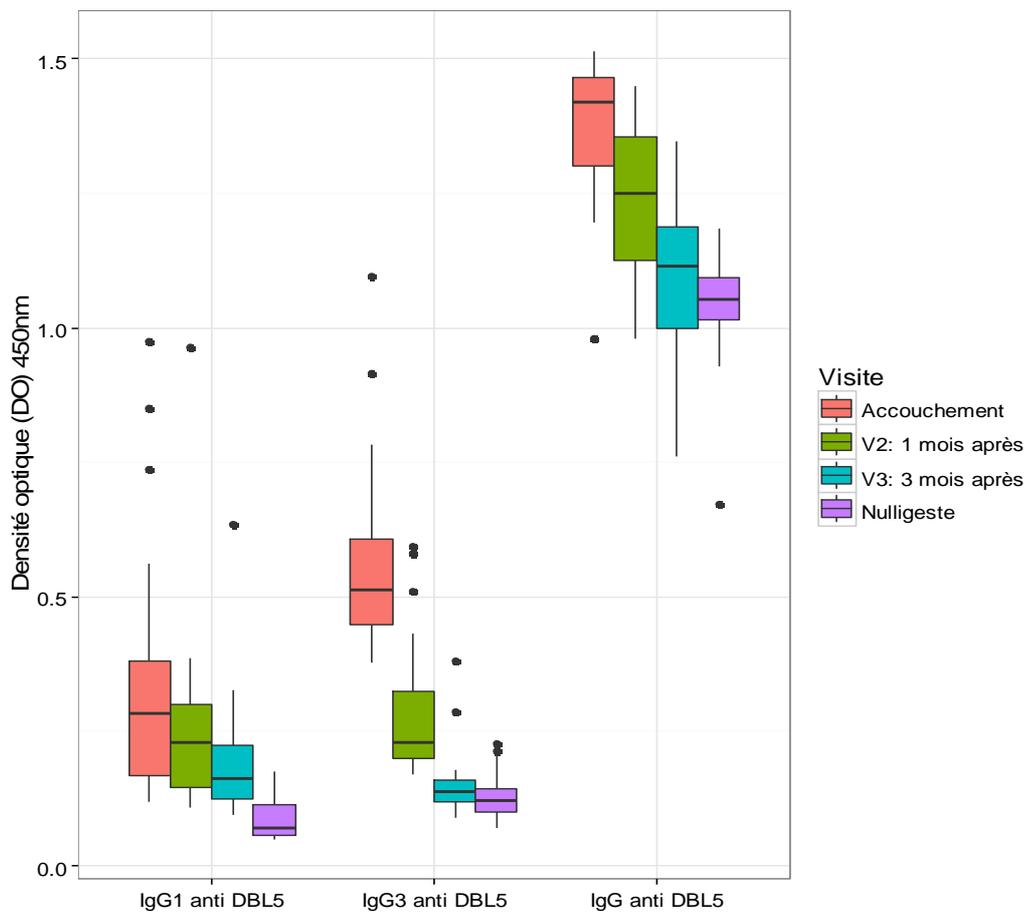


Figure 5 : Comparaison des niveaux des IgG anti-DBL5 des nulligestes à ceux des primipares

Les niveaux des immunoglobulines IgG, IgG1 et IgG3 anti-DBL5 des primipares aux visites V1, V2 et V3 étaient statistiquement plus élevés que ceux des nulligestes ($p < 0,001$).

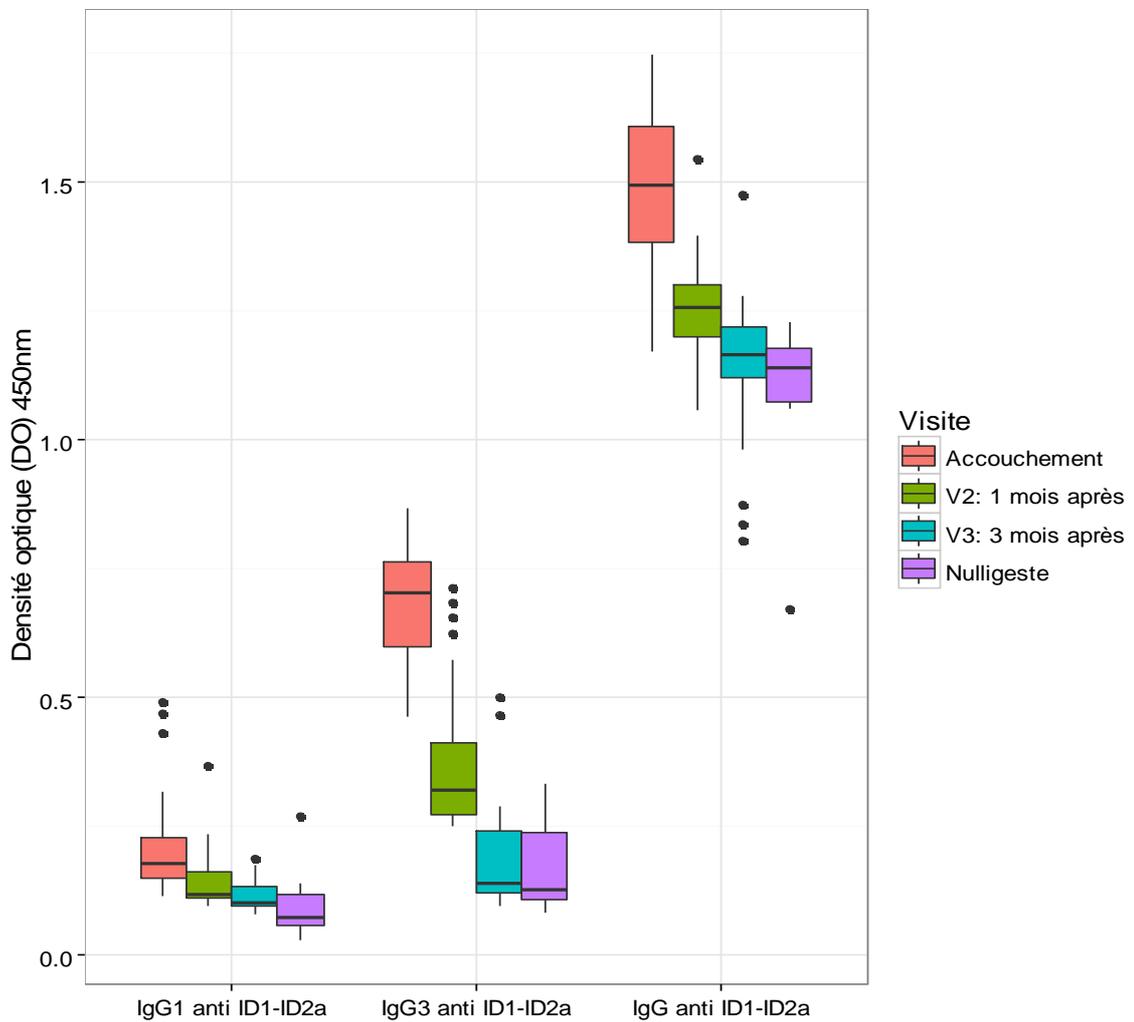


Figure 6 : Comparaison des niveaux des IgG anti-ID1-ID2a des nulligestes à ceux des primipares

Il en était de même pour les immunoglobulines IgG, IgG1 et IgG3 anti-ID1-ID2a des primipares pour lesquelles les niveaux étaient également statistiquement supérieurs à ceux des nulligestes ($p < 0,001$).

3.6. Dynamique dans le postpartum des immunoglobines G anti-DBL5 et anti-ID1-ID2a chez les primipares

3.6.1. Dynamique dans le postpartum des immunoglobines IgG anti-DBL5 et anti-ID1-ID2a chez les primipares

La Figure 7 présente la dynamique dans le postpartum des immunoglobulines IgG anti-DBL5 et anti-ID1-ID2a chez les primipares.

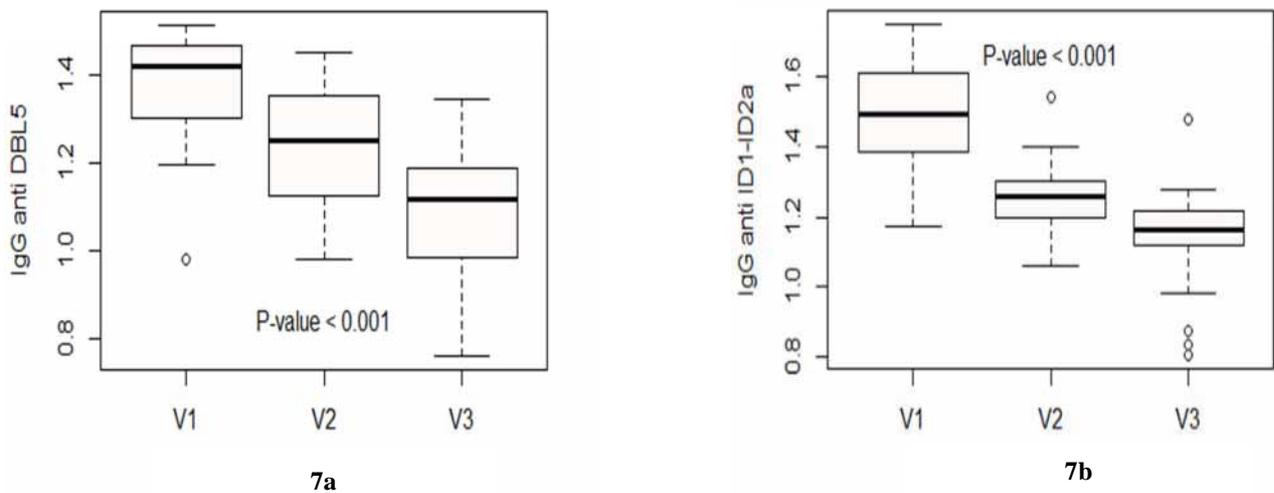


Figure 7: Dynamique dans le postpartum des IgG anti-DBL5 et anti-ID1-ID2a chez les primipares

L'évolution des niveaux des immunoglobulines IgG anti-DBL5 et anti-ID1-ID2a des primipares en fonction des visites (V1, V2 et V3) montre une diminution progressive de ces niveaux d'anticorps avec le temps ($p < 0,001$).

3.6.2. Dynamique dans le postpartum des immunoglobines IgG1 anti-DBL5 et anti-ID1-ID2a chez les primipares

La Figure 9 présente la dynamique dans le postpartum des immunoglobulines IgG1 anti-DBL5 et anti-ID1-ID2a chez les primipares.

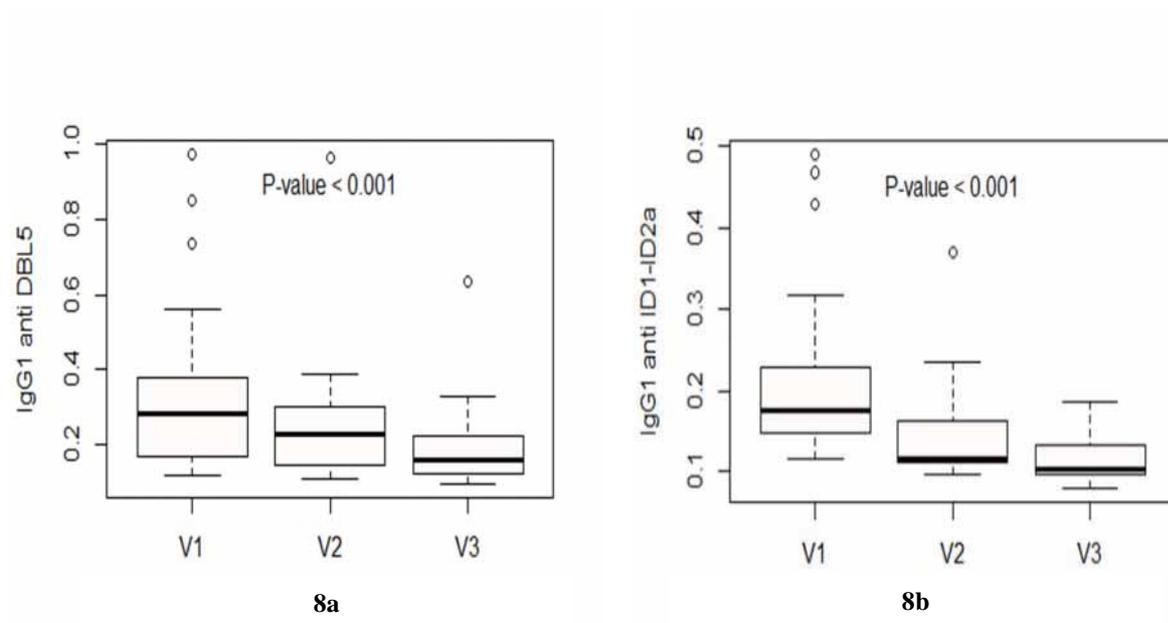


Figure 8 : Dynamique dans le postpartum des IgG1 anti-DBL5 et anti-ID1-ID2a chez les primipares

L'analyse de l'évolution des immunoglobulines IgG1 anti-DBL5 et anti-ID1-ID2a des primipares montrait également une diminution progressive du niveau de ces anticorps ($p < 0,001$).

3.6.3. Dynamique dans le postpartum des immunoglobulines IgG3 anti-DBL5 et anti-ID1-ID2a chez les primipares

La Figure 10 présente la dynamique des immunoglobulines IgG3 anti-DBL5 et anti-ID1-ID2a des primipares dans le postpartum.

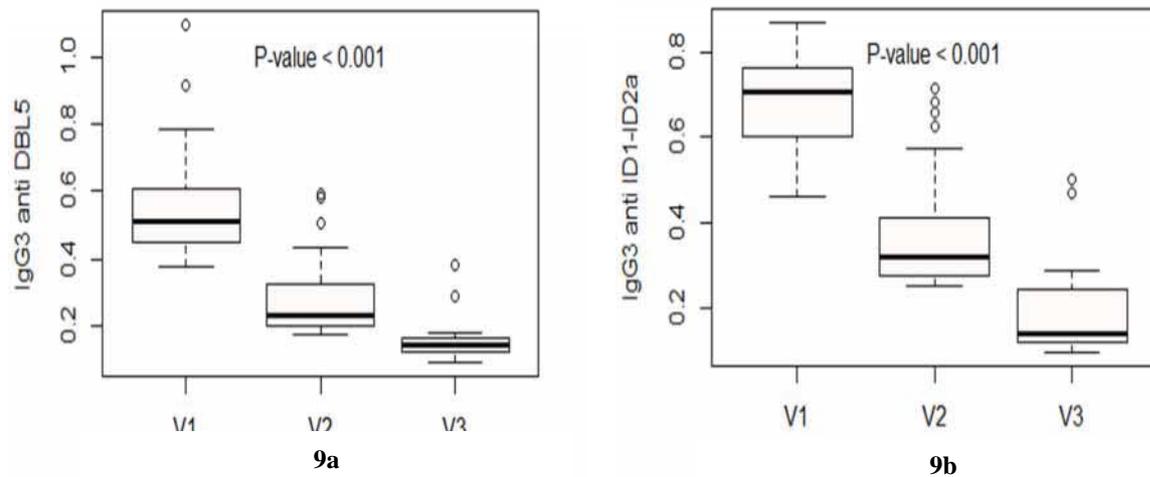


Figure 9 : Dynamique dans le postpartum des IgG3 anti-DBL5 et anti-ID1-ID2a chez les primipares

L'analyse de l'évolution des immunoglobulines IgG3 anti-DBL5 et anti-ID1-ID2a des femmes dans le postpartum montrait également la même tendance avec une diminution des niveaux d'anticorps avec le temps ($p < 0,001$).

Discussion

IV. DISCUSSION

4.1. **Limites de l'étude**

Bien que répondant à des critères scientifiquement prouvés, la taille de notre échantillon demeure relativement faible. Cela pourrait être à l'origine d'un manque de puissance dans notre étude.

Enfin, la non utilisation de la PCR dans le diagnostic du paludisme pourrait être à l'origine d'une sous-estimation des cas de paludisme. En effet, la PCR du fait de sa forte sensibilité permet de détecter les parasitémies sub-microscopiques.

4.2. **Effet du paludisme gestationnel sur les niveaux des IgG anti-DBL5 et anti-ID1-ID2a des primipares à l'accouchement**

La présence d'un paludisme gestationnel dans les antécédents de la primipare est associée à une augmentation du niveau des anticorps anti-DBL5. Nos résultats montrent le rôle capital joué par le paludisme gestationnel dans l'induction d'une immunité protectrice chez les femmes enceintes. Nos résultats suivent la même tendance que ceux de Diouf et *al.* au Sénégal. En effet, ces auteurs rapportent une association entre le paludisme gestationnel et l'augmentation du niveau des anticorps anti-VAR2CSA.

Par contre, nos résultats sont différents de ceux de Beeson et *al.* qui ont rapporté l'existence de l'antigène VAR2CSA en dehors de la grossesse (**Beeson et al. 2007**). La preuve de l'existence de cet antigène en dehors de la grossesse montre que certaines primigestes pourraient présenter un certain niveau d'anticorps protecteurs capable d'influencer le cours de l'évolution de l'infection palustre pendant la grossesse. De plus, selon Hviid et collaborateurs (**Hviid et al. 2015**) les cellules B mémoires anti-palustres en cas de nouvelles infections sont capables de se réactiver très rapidement et de se différencier en cellules plasmocytaires. Ces dernières vont produire les anticorps anti-VAR2CSA qui vont éliminer les parasites. Dans ce contexte, il serait intéressant de conduire des études afin d'évaluer l'impact des cellules B mémoires dans la protection contre le paludisme gestationnel notamment chez les primigestes. L'existence de l'antigène VAR2CSA en dehors de la grossesse pourrait accroître la pression immunitaire sur le parasite et augmenter ainsi le polymorphisme de l'antigène VAR2CSA.

Par contre, la présence d'un paludisme gestationnel n'a eu aucun impact sur les niveaux des anticorps anti-ID1-ID2a. Cela pourrait s'expliquer par l'existence de parasitémies sub-microscopiques pendant la grossesse. Ces parasitémies qui n'ont pas été prises en compte dans l'évaluation du paludisme gestationnel dans notre étude pourraient stimuler la production d'anticorps et induire ainsi un biais dans l'évaluation des données. En effet, seule la microscopie a été utilisée pour le diagnostic du paludisme dans notre étude ce qui pourrait sous-estimer le nombre de cas de paludisme gestationnel et ainsi modifier l'impact de ce dernier sur les niveaux d'anticorps à l'accouchement.

4.3. Comparaison des niveaux des IgG anti-DBL5 et anti-ID1-ID2a des nulligestes à ceux des primipares

Dans notre étude, les niveaux des anticorps des primipares aux visites V1, V2 et V3 sont supérieurs à ceux des nulligestes. Nos données montrent le rôle capital de la grossesse dans l'induction de ces anticorps. En effet, les souches de *P. falciparum* infestant les femmes enceintes expriment en priorité l'antigène VAR2CSA qui a la particularité de présenter un tropisme pour le placenta. Ainsi, l'interaction entre le système immunitaire de la femme et ces souches parasitaires va entraîner la production d'une importante quantité d'anticorps dirigés contre l'antigène VAR2CSA.

Nous avons trouvé que les niveaux d'anticorps des primipares trois mois après l'accouchement sont statistiquement plus élevés que ceux des nulligestes. Cela pourrait indiquer une longue durée de vie des anticorps anti-DBL5 et anti-ID1-ID2a. Nos résultats suivent la même tendance que ceux de McLean et collaborateurs (Mclean et al. 2016) qui rapportent une longue durée de vie des anticorps dans le postpartum. Par contre, nos résultats sont différents de ceux de Hviid et Barfod (Hviid & Barfod 2015) qui rapportent une courte durée de vie des anticorps anti-VAR2CSA. En effet, pour ces auteurs, la protection clinique acquise naturellement contre le paludisme gestationnel repose sur des cellules B mémoires. Ces cellules en cas de nouvelle infestation sont capables de se réactiver rapidement pour se différencier en cellules plasmocytaires productrices d'anticorps anti-VAR2CSA. Cela pourrait expliquer le fait que certaines multigestes malgré une longue période séparant deux grossesses successives restent néanmoins mieux protégées que les primigestes. En effet, les données rapportées par Neil-Dunne et collaborateurs (Neil-dunne et al. 2001) montrent que les primigestes développent des

anticorps anti-adhérence autour de vingt-quatre semaines (24) de grossesse tandis que les multigestes les développent plus tôt (12 semaines), du fait de la mémoire immunologique.

4.4. Dynamique des IgG anti-DBL5 et anti-ID1-ID2a des primipares dans le postpartum

Les niveaux des anticorps anti-DBL5 et anti-ID-ID2a des primipares après l'accouchement ont diminué avec le temps. Nos résultats viennent confirmer le rôle primordial joué par la grossesse dans l'apparition des souches plasmodiales exprimant en priorité l'antigène VAR2CSA. La sélection de ce type de souche pendant la grossesse permet au parasite d'échapper au système immunitaire. Cette variation antigénique de *P. falciparum* rend compte de la susceptibilité des primigestes au paludisme gestationnel. Cette variabilité antigénique constitue également un frein à la mise au point d'un vaccin efficace contre le paludisme. La diminution du niveau d'anticorps s'expliquerait par l'absence ou le faible niveau de l'antigène VAR2CSA dans le postpartum. En effet, en l'absence de cet antigène, aucune stimulation du système immunitaire ne peut être notée d'où une diminution progressive du niveau des anticorps. Nos résultats suivent la même tendance que ceux de McLean et collaborateurs (McLean *et al.* 2016) qui rapportent une lente clairance des anticorps anti-VARCSA dans le postpartum.

Conclusion et perspectives

V. Conclusion et perspectives

Cette étude avait pour objectif d'étudier la dynamique des anticorps dirigés contre le domaine DBL5 et la protéine recombinante ID1-ID2a de l'antigène VAR2CSA de *P. falciparum* dans la période du postpartum. Les résultats de l'étude montrent le rôle crucial joué par le paludisme gestationnel dans la génération de l'antigène VAR2CSA et l'acquisition des anticorps anti-VAR2CSA.

La durée de vie des anticorps dirigés contre DBL5 et ID1-ID2a dans le postpartum était relativement longue de plus de trois mois. Toutefois, au regard du risque réduit de paludisme gestationnel chez les multigestes par rapport aux primigestes malgré les longues périodes qui séparent souvent deux grossesses successives, il serait intéressant d'évaluer avec précision la dynamique des anticorps anti-VAR2CSA dans le postpartum. Cela pourrait permettre d'établir le statut immunitaire anti-VAR2CSA de la femme après l'accouchement. Il serait également important d'étudier le rôle des cellules B mémoires dans la dynamique de ces anticorps après l'accouchement ainsi que leur rôle dans la constitution de l'immunité protectrice chez les multigestes.

Le paludisme gestationnel étant capital dans la constitution de l'immunité protectrice anti-VAR2CSA chez les femmes enceintes, des études devraient être conduites afin d'évaluer l'impact de la stratégie actuelle de lutte contre le paludisme (moustiquaire imprégnée, chimio-prophylaxie et chimiothérapie antipalustres) sur l'immunité de la femme pendant la grossesse et après l'accouchement. En effet, cette stratégie bien que primordiale dans la lutte contre le paludisme gestationnel pourrait néanmoins constituer un frein à la mise en place d'une immunité protectrice lors des grossesses ultérieures.

Références Bibliographiques

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Aird WC, Mosnier LO, Fairhurst RM.** *Plasmodium falciparum* picks (on) EPCR. *Blood*. 2014;123(2):163–7. doi: 10.1182/blood-2013-09-521005
- Aitken EH, Mbewe B, Luntamo M, Maleta K, Kulmala T, Friso MJ, et al.** Antibodies to chondroitin sulfate A – binding infected erythrocytes: Dynamics and protection during pregnancy in women receiving intermittent preventive treatment. *J Infect Dis*. 2010;201(9):1316–25. doi: 10.1086/651578
- Beeson JG, Ndungu F, Persson KEM, Chesson JM, Kelly GL, Uyoga S, et al.** Antibodies among men and children to placental-binding *Plasmodium falciparum*- infected erythrocytes that express VAR2CSA. *Am J Trop Med Hyg*. 2007;77(1):22–8.
- Beeson JG, Brown G V.** Pathogenesis of *Plasmodium falciparum* malaria: the roles of parasite adhesion and antigenic variation. *Cell Mol Life Sci*. 2002;59(2):258–71.
- Bigey P, Gnidehou S, Doritchamou J, Quiviger M, Viwami F, Couturier A, Salanti A, et al.** The NTS-DBL2X region of VAR2CSA induces cross- reactive antibodies that inhibit adhesion of several *Plasmodium falciparum* isolates to chondroitin sulfate A. *J Infect Dis*. 2011;204(7):1125–33. doi: 10.1093/infdis/jir499
- Bordbar B, Tuikue-Ndam N, Bigey P, Doritchamou J, Scherman D, Deloron P.** Identification of Id1-DBL2X of VAR2CSA as a key domain inducing highly inhibitory and cross-reactive antibodies. *Vaccine*. 2012;30(7):1343–8. doi: 10.1016/j.vaccine.2011.12.065
- Brabin BJ.** An analysis of malaria in pregnancy in Africa. *Bull World Health Organ*. 1983;61:1005–16.
- Briand V, Saal J, Ghafari C, Huynh BT, Fievet N, Schmiegelow C, et al.** Fetal growth restriction is associated with malaria in pregnancy: A prospective longitudinal study in Benin. *J Infect Dis*. 2016;214(3):417–25. doi: 10.1093/infdis/jiw158
- CDC Atlanta,** 2016. Cycle évolutif de *Plasmodium*. Available at: http://www.dpd.cdc.gov/DPDx/HTML/ImageLibrary/malaria_LifeCycle.GIF [Accessed January 13, 2017].
- Clausen TM, Christoffersen S, Dahlback M, Langkilde AE, Jensen KE, Resende M, et al.** Structural and functional insight into how the *Plasmodium falciparum* VAR2CSA protein

- mediates binding to chondroitin sulfate A in placental malaria. *J Biol Chem.* 2012;287(28):23332–45. doi: 10.1074/jbc.M112.348839
- Dellicour S, Tatem AJ, Guerra CA, Snow RW, Kuile FO.** Quantifying the number of pregnancies at risk of malaria in 2007: A demographic study. *PLoS One.* 2010;7(1):e1000221. doi: 10.1371/journal.pmed.1000221
- Derra K, Rouamba E, Kazienga A, Ouedraogo S, Tahita MC, Sorgho H, et al.** Profile : Nanoro Health and Demographic Surveillance System. *Int J Epidemiol.* 2012;41:1293–1301. 2012;41(5):1293–301. doi: 10.1093/ije/dys159
- Diagne N, Rogier C, Sokhna CS, Tall A, Fontenille D, Roussilhon C, et al.** Increased susceptibility to malaria during the early postpartum period. *N Engl J Med.* 2000;343(9):598–603.
- Doritchamou JY, Herrera R, Aebig JA, Morrison R, Nguyen V, Reiter K, et al.** VAR2CSA domain-specific analysis of naturally acquired functional antibodies to *Plasmodium falciparum* placental malaria. *J Infect Dis.* 2016;214(4):577–86. doi: 10.1093/infdis/jiw197
- Avril M, Cartwright MM, Hathaway MJ, Hommel M, Elliott SR, Williamson K, et al.** Immunization with VAR2CSA-DBL5 recombinant protein elicits broadly cross-reactive antibodies to placental *Plasmodium falciparum*-infected erythrocytes. *Infect Immun.* 2010;78(5):2248–56. doi: 10.1128/IAI.00410-09
- Fievet N, Cot M, Chougnat C, Maubert B, Bickii J, Dubois B, et al.** Malaria and pregnancy in Cameroonian primigravidae: humoral and cellular immune responses to *Plasmodium falciparum* blood-stage antigens. *Am J Trop Med Hyg.* 1995;53(6):612–7.
- Fried M, Domingo GJ, Gowda CD, Mutabingwa TK, Duffy PE.** *Plasmodium falciparum*: chondroitin sulfate A is the major receptor for adhesion of parasitized erythrocytes in the placenta. *Exp Parasitol.* 2006;113:36–42.
- Fried M, Duffy PE.** Adherence of *Plasmodium falciparum* to chondroitin sulfate A in the human placenta. *Science.* 1996;272(5267):1502–4.
- Fried M, Duffy PE.** Designing a VAR2CSA-based vaccine to prevent placental malaria. *Vaccine.* 2015;33(52):7483–8. doi: 10.1016/j.vaccine.2015.10.011
- Gamain B, Trimmell AR, Scheidig C, Scherf A, Miller LH, Smith JD.** Identification of multiple chondroitin sulfate A (CSA)-binding domains in the *var2csa* gene transcribed in CSA-binding parasites. *J Infect Dis.* 2005;191(6):1010–3. doi: 10.1086/428137

- Genser B, Cooper PJ, Yazdanbakhsh M, Barreto ML, Rodrigues LC.** A guide to modern statistical analysis of immunological data. *BMC Immunol.* 2007;26(8):27. doi: 10.1186/1471-2172-8-27
- Gentilin.** Médecine tropicale - 6e édition. Lavoisier; 2012. 1334 p. 2012.
- Good MF.** Towards a blood-stage vaccine for malaria: are we following all the leads? *Nat Rev Immunol.* nov 2001;1(2):117-125.
- Guleria I, Sayegh MH.** Maternal acceptance of the fetus: true human tolerance. *J Immunol.* 2007;178(6):3345–51.
- Guyatt HL, Snow RW.** Impact of Malaria during Pregnancy on Low Birth Weight in Sub-Saharan Africa. *Clin Microbiol Rev.* 2004;17(4):760–9.
- Huynh BT, Cottrell G, Cot M, Briand V.** Burden of malaria in early pregnancy : A neglected problem ? *Clin Infect Dis.* 2015;60(4):598–604. doi: 10.1093/cid/ciu848
- Hviid L.** Naturally acquired immunity to *Plasmodium falciparum* malaria in Africa. *Acta Trop.* 2005;95(3):270–5.
- Hviid L, Barfod L, Fowkes FJ.** Trying to remember: immunological B cell memory to malaria. *Trends Parasitol.* 2015. doi: 10.1016/j.pt.2014.12.009
- Hviid L, Salanti A.** VAR2CSA and protective immunity against pregnancy associated *Plasmodium falciparum* malaria . *Parasitology.* 2017;134(Pt 13):1871–6.
- Kaestli M, Cockburn IA, Cortés A, Baea K, Rowe JA, Beck HP .** Virulence of malaria is associated with differential expression of *Plasmodium falciparum* var gene subgroups in a case-control study. *J Infect Dis.* 2006;193(11):1567–74.
- Kyriacou H, Stone GN, Challis RJ, Raza A, Lyke K, Thera MA, et al.** Differential var gene transcription in *Plasmodium falciparum* isolates from patients with cerebral malaria compared to hyperparasitaemia. *Mol Biochem Parasitol.* 2006;150(2-4):211–8.
- Lambert LH, Bullock JL, Cook ST, Miura K, Garboczi DN, Diakite M, et al.** Antigen reversal identifies targets of opsonizing IgGs against pregnancy-associated malaria. *Infect Immun.* 2014;82(11):4842–53. doi: 10.1128/IAI.02097-14
- Martin M¶, Rebecca AM, Philipp PH, Susan MK, Marion A, Ines VW et al.** Identification of a Role for the PfEMP1 Semi-Conserved Head Structure in Protein Trafficking to the Surface of *Plasmodium falciparum* Infected Red Blood Cells. *cell microbiol.*, 2010;12(10), pp.1446–1462 doi:10.1111/j.1462-5822.2010.01481.x..

- Mayor A, Rovira-Vallbona E, Machevo S, Bassat Q, Aguilar R, Quintó L, et al.** Parity and placental infection affect antibody responses against *Plasmodium falciparum* during pregnancy. *Infect Immun.* 2011;79(4):1654–9. doi: 10.1128/IAI.01000-10
- Mclean ARD, Boel ME, Mcgreedy R, Ataide R, Drew D, Tsuboi T, et al.** Antibody responses to *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* blood-stage and sporozoite antigens in the postpartum period. *Sci Rep.* 2016;6(32159). doi: 10.1038/srep32159
- Mclean ARD, Ataide R, Simpson JA, Beeson JG, Fowkes FJ.** Malaria and immunity during pregnancy and postpartum: a tale of two species. *Parasitology.* 2015;142(8):999–1015. doi: 10.1017/S0031182015000074
- Megnekou R, Staalsoe T, Taylor DW, Leke R, Hviid L.** Effects of pregnancy and intensity of *Plasmodium falciparum* transmission on immunoglobulin G subclass responses to variant surface antigens. *Infect Immun.* 2005;73(7):4112–8. doi: 10.1128/IAI.73.7.4112-4118.2005.
- Munoz-Suano A, Hamilton AB, Betz AG.** Gimme shelter: the immune system during pregnancy. *Immunol Rev.* 2011;241(1):20–38. doi: 10.1111/j.1600-065X.2011.01002.x.
- Tuikue Ndam NG, Salanti A, Le-Hesran JY, Cottrell G, Fievet N, Turner L, et al.** Dynamics of anti-VAR2CSA immunoglobulin G response in a cohort of Senegalese pregnant women. *J Infect Dis.* 2006;193(5):713–20. doi: 10.1086/500146.
- Neil-dunne IO, Achur RN, Agbor-enoh ST, Valiyaveetil M, Naik RS, Ockenhouse CF, et al.** Gravidity-dependent production of antibodies that inhibit binding of *Plasmodium falciparum*-infected erythrocytes to placental chondroitin sulfate proteoglycan during pregnancy. *Infect Immun.* 2001;69(12):7487–92. doi: 10.1128/IAI.69.12.7487.
- Nnaji GA, Okafor CI, Ikechebelu JI.** An evaluation of the effect of parity and age on malaria parasitaemia in pregnancy. *J Obstet Gynaecol.* 2006;26(8):755–8. doi: 10.1080/01443610600956089.
- Ofori MF, Dodoo D, Staalsoe T, Kurtzhals JA, Koram K, Theander TG, et al.** Malaria-induced acquisition of antibodies to *Plasmodium falciparum* variant surface antigens. *Infect Immun.* 2002;70(6):2982–8..
- OMS, 2014.** Techniques de base pour le diagnostic microscopique du paludisme. Partie I. Guide du stagiaire, Available at: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/164472/1/9789242547825_fre.pdf.
- Othoro C, Moore JM, Wannemuehler KA, Moses S, Lal A, Otieno J, et al.** Elevated gamma

- interferon-producing NK cells, CD45RO memory-like T cells, and CD4 T cells are associated with protection against malaria infection in pregnancy. *Infect Immun.* 2008;76(4):1678–85. doi: 10.1128/IAI.01420-07.
- Pehrson C, Mathiesen L, Heno K, Salanti A, Resende M, Dzikowski R, et al.** Adhesion of *Plasmodium falciparum* infected erythrocytes in *ex vivo* perfused placental tissue: a novel model of placental malaria. *Malar J.* 2016;15(1):292. doi: 10.1186/s12936-016-1342-2
- Prudêncio M, Mota MM, Mendes AM.** A toolbox to study liver stage malaria. *Trends Parasitol.* déc 2011;27(12):565-574..
- Raghupathy R.** Th1-type immunity is incompatible with successful pregnancy. *Immunol Today.* 1997;18(10):478–82..
- Rogerson SJ, Hviid L, Duffy PE, Leke RF, Taylor DW.** Malaria in pregnancy: pathogenesis and immunity. *Lancet Infect Dis.* 2007;7(2):105–17. doi: 10.1016/S1473-3099(07)70022-1
- Rowe JA, Kyes SA.** The role of *Plasmodium falciparum* var genes in malaria in pregnancy. *Mol Microbiol.* 2004;53(4):1011–9.
- Salanti A, Dahlbäck M, Turner L, Nielsen MA, Barfod L, Magistrado P, et al.** Evidence for the involvement of VAR2CSA in pregnancy-associated malaria. *J Exp Med.* 2004;200(9):1197–203. doi: 10.1084/jem.20041579.
- Salanti A, Staalsoe T, Lavstsen T, Jensen ATR, Sowa M, Arnot DE, et al.** Selective upregulation of a single distinctly structured var gene in chondroitin sulphate A-adhering *Plasmodium falciparum* involved in pregnancy-associated malaria. *Mol Microbiol.* 2003;49(1):179–91.
- Scherf A, Buffet P, Bottius E, Benatar C, Pouvelle B, Gysin J, et al.** Antigenic variation in malaria : in situ switching , relaxed and mutually exclusive transcription of var genes during intra-erythrocytic development in *Plasmodium falciparum*. *EMBO J.* 1998;17(18):5418–26.
- Siala E, Abdallah R Ben, Bouratbine A, Aoun K** : Actualités du diagnostic biologiques du paludisme, *Revue Tunisienne d'Infectiologie.* 2010:Vol 4, 5-9.
- Sinka M, Bangs M, Manguin S, Rubio-Palis Y, Chareonviriyaphap T, Coetzee M, et al.** A global map of dominant malaria vectors. *Parasites and Vectors.* 2012;4;5(69). doi: 10.1186/1756-3305-5-69.

- Smith JD, Subramanian G, Gamain B, Baruch DI, Miller LH.** Classification of adhesive domains in the *Plasmodium falciparum* erythrocyte membrane protein 1 family. *Mol Biochem Parasitol.* 2000;110(2):293–310.
- Srivastava A, Gangnard S, Round A, Dechavanne S, Juillerat A, Raynal B, et al.** Full-length extracellular region of the VAR2CSA variant of PfEMP1 is required for specific , high-affinity binding to CSA. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010;107(11):4884–9. doi: 10.1073/pnas.1000951107.
- Staalsoe T, Shulman CE, Bulmer JN, Kawuondo K, Marsh K, Hviid L.** Variant surface antigen- specific IgG and protection against clinical consequences of pregnancy-associated *Plasmodium falciparum* malaria. *Lancet.* 2004;363(9405):283–9. doi: 10.1016/S0140-6736(03)15386-X.
- Tolia NH, Enemark EJ, Sim BKL, Joshua-tor L.** Structural basis for the EBA-175 erythrocyte invasion pathway of the malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *Cell.* 2005;122:183–93. doi: 10.1016/j.cell.2005.05.033.
- WHO.** *World malaria report 2016.* Geneva: World Health Organization, 2016. p. 186p. Available from: <http://www.who.int/malaria/publications/world-malaria-report-2015/report/en/>.

Annexes

ANNEXES

Annexe 1 : Réactifs et solutions et utilisés pour les tests

Préparation des solutions, des antigènes et des anticorps

➤ **Préparation des solutions**

- **Tampon PBS** : une tablette de PBS de Sigma-Aldrich® a été dissoute dans 200 mL d'eau distillée et le pH a été mesuré. Ce pH doit être compris entre 7,2 - 7,4 ;
- **Solution de lavage (PBS-Tween 1X= 0,01 M Na phosphate ; 0,15M NaCl ; 0,05 Tween®-20)** elle a été préparée en diluant la solution concentrée de PBS-Tween 20 20X de Thermo Fisher Scientific® dans de l'eau distillée ;
- **Tampon de blocage** : 3 mg de lait écrémé en poudre sont dissoutes dans 100 mL de solution de PBS de pH compris entre 7,2 et 7,4 ;
- **Tampon de dilution** : il est constitué d'un mélange à égal volume du tampon de blocage et du PBS-Tween 20 1X ;
- **Solution d'arrêt d'acide sulfurique** : Un volume de 800 mL d'eau distillée a été placé dans une fiole jaugée de 1L, puis 56,11 mL de H₂SO₄ (98,08g/mol) y ont été ajoutés goutte à goutte. Le volume a été complété à 1L avec de l'eau distillée ;

➤ **Préparation des antigènes**

La concentration finale des antigènes étant fixée à 1 µg/mL, nous avons utilisé la formule $C_i \cdot V_i = C_f \cdot V_f$ avec C_i : concentration initiale, C_f : concentration finale, V_i : volume initial, V_f : Volume final.

➤ **Préparation des échantillons**

Les échantillons ont été dilués au 1/100 soit 1 µL d'antigène et 99 µl de tampon de dilution.

➤ **Préparation des anticorps secondaires**

Les immunoglobulines G ont été diluées au 1/10000, 1/2000 et 1/1000 respectivement pour IgG, IgG1 et IgG3.

Annexe 2 : Formulaire de consentement éclairé

FICHE DE CONSENTEMENT ECLAIRE Recrutement des femmes nullipares

Titre de l'étude: "Analyse de la réponse immunitaire anti-palustre chez la femme pendant le postpartum"

Version: V01 du 24 Février 2014

Centre de recherche : Unité de Recherche Clinique de Nanoro

Cette fiche de consentement éclairé comporte deux parties:

- I. Fiche d'information (pour donner les informations sur l'étude aux participantes)
- II. Certificat de consentement éclairé (pour les signatures si vous acceptez de participer)

Veillez lire attentivement cette fiche d'information et de consentement. Vous êtes invitée à participer à une étude conduite par l'Unité de Recherche Clinique de Nanoro. Cette fiche d'information explique vos droits et nos responsabilités envers vous dans le cadre de cette étude. Avant de décider, il est important que vous compreniez pourquoi cette étude est conduite et ce qu'on vous demande. Vous n'êtes pas obligée de décider aujourd'hui. Prenez le temps de lire ou de vous faire lire cette fiche d'information et de consentement. Si vous avez des questions, n'hésitez pas à vous adresser à un membre de l'équipe ou à contacter M. TRAORE Ousmane, à l'Unité de Recherche Clinique de Nanoro ou au numéro suivant : 70 58 99 41.

Vous recevrez une copie signée de ce document qu'on vous demandera de garder avec vous.

Pourquoi menons-nous cette étude ?

L'objectif principal de cette étude est d'identifier les facteurs immunologiques qui influencent la susceptibilité des primipares aux infections palustres durant la période qui suit immédiatement l'accouchement. Pendant la grossesse, l'immunité de la femme baisse pour favoriser l'évolution normale de la grossesse. Au même moment, dans les zones endémiques, la femme enceinte doit également faire face au paludisme, particulièrement les primipares. Certains pensent qu'après l'accouchement, les femmes semblent revenir à nouveau le même niveau de risque de faire le paludisme comparativement aux adultes qui vivent dans les mêmes localités. C'est parce qu'il n'y a pas assez d'information en la matière que nous menons cette étude pour mieux comprendre la situation qui prévaut sur le plan immunologique. Cette étude permettra de faire la différence entre le niveau de risque des femmes après l'accouchement et celui des adultes vivant dans les mêmes localités. Notre objectif est de recruter 20 femmes adultes qui ne sont jamais tombées enceintes dans cette étude. Leurs réponses immunitaires seront comparées avec celles de 40 autres femmes qui viennent d'accoucher et qui participaient à une étude (CSMIC-WP2) qui travaillait sur les femmes enceintes.

A qui il est demandé de participer à cette étude?

Toutes les jeunes filles ou femmes âgées d'au moins 18 ans qui vivent dans la zone de Nanoro et qui n'ont pas encore d'enfants sont invitées à participer à cette étude. Nous voulons recruter 20 participantes chez qui nous prendrons un échantillon de sang pour comparer sa composition avec celles des femmes qui ont accouché.

Comment l'étude sera conduite?

Dans cette étude 40 femmes seront recrutées à partir de l'étude COSMIC-WP2, et affectées dans 2 deux sous-groupes différents selon leur résultat diagnostique du paludisme. En plus, 20 jeunes filles ou femmes nullipares non enceintes et non paludéennes seront recrutées de façon ponctuelle, et constitueront la population de référence. La population de référence ne fera pas l'objet de suivi et sera recrutée séquentiellement de sorte à couvrir une année complète.

Qu'est-ce qu'on vous demande de faire ?

- Si vous acceptez de participer on vous invitera à la consultation de recrutement ;
- L'infirmière va vous poser quelques questions, vous examiner et prélever un peu de sang (quelques gouttes) sur lame de microscope et sur papier filtre pour voir si vous avez le paludisme;
- On vous demandera de faire un examen d'urine pour confirmer que vous n'êtes pas enceinte;
- Si après ces examens vous êtes non paludéenne, non enceinte et nullipare, on vous demandera de venir à l'Unité de Recherche Clinique de Nanoro pour fournir un échantillon de sang de 10 mL ;

- Vous recevrez un traitement contre les infections à vers et une moustiquaire imprégnée d'insecticide pour votre protection contre le paludisme ;
- Vous serez traitée gratuitement si les examens montrent que vous souffrez de paludisme ;
- On vous demandera aussi l'autorisation de conserver votre sang pour des recherches ultérieures puisqu'il se peut qu'on veuille faire d'autres analyses plus tard. Néanmoins, vous pouvez changer votre avis par rapport à cela jusqu'à un mois après la fin de l'étude ;

Est-ce que je cours des risques ou inconvénients en participant ?

Les risques d'une prise de sang sont minimes. Elle peut être suivie d'une douleur passagère après la piqûre, d'une ecchymose, d'une infection de la peau ou, très rarement, d'un évanouissement. Nous allons bien nettoyer votre bras avant de prélever le sang et nous n'utiliserons que des aiguilles neuves. La quantité de sang qu'on va prélever est trop petite pour jouer sur votre santé. Une Seule fois on vous demandera de donner 10 mL de sang (deux cuillérées à café), c'est vraiment une petite quantité.

Est-ce que j'ai des avantages en participant ?

Vous n'aurez pas à payer de frais de consultation pour la visite médicale dans le cadre de cette étude. Ceci comprend la consultation pour paludisme et le test de la grossesse. Tous ces examens seront disponibles gratuitement. En plus, vous allez recevoir une moustiquaire et un traitement contre les vers. Les nouvelles connaissances obtenues grâce à cette étude permettront à notre pays de prendre des décisions pour une bonne prise en charge des femmes pendant et après la grossesse.

Est-ce que je serais récompensée pour ma participation ?

En ayant connaissance de votre statut palustre durant cette période, vous recevrez une prise en charge selon le protocole national de prise en charge du paludisme au Burkina Faso.

Vous recevrez une moustiquaire imprégnée d'insecticide pour votre protection contre le paludisme ;

Est-ce que je suis obligée de participer ?

Non. Votre participation à l'étude est entièrement volontaire. C'est à vous de choisir. Même si vous décidez de participer, vous pourrez toujours retirer votre accord plus tard. Au cours de l'étude on vous transmettra à temps toute nouvelle information susceptible de faire changer votre volonté à participer.

Si je retire mon consentement, quelles seront les conséquences pour moi ?

Si vous retirez votre consentement avant la fin de l'étude, vous garderez les mêmes avantages dont vous auriez bénéficié en restant dans l'étude. Vous aurez toujours accès aux consultations curatives et à la prise en charge gratuite du paludisme pendant la durée de votre participation à l'étude.

Est-ce que l'information sera tenue secrète ?

Nous garderons toutes les informations collectées dans cette étude strictement confidentielles. Les informations vous concernant personnellement ne seront divulguées à personne, y compris à aucun membre de votre famille, sauf sur votre demande explicite.

Qui sera informé des résultats de l'étude ?

Les résultats de l'étude seront publiés dans des revues scientifiques et présentés à des réunions pour permettre à d'autres chercheurs d'apprendre à partir de nos résultats. Votre nom n'apparaîtra pas dans ces rapports. Nous allons aussi rapporter nos résultats au ministère de la santé.

Qui contacter ?

Si vous avez encore des questions ou des doutes par rapport à votre participation à l'étude, vous pouvez parler à tout membre de l'équipe de recherche.

Si vous avez des questions plus tard ou vous pensez que vous avez subi des dommages, veuillez contacter **M. TRAORE Ousmane** à l'URCN, Nanoro (Tél. 70 58 99 41). Si vous avez des questions par rapport à vos droits comme participante à l'étude ou que vous voulez parler de l'étude à quelqu'un qui ne fait pas partie de l'équipe de cette étude, veuillez contacter le **Dr Abdoulaye OUEDRAOGO** (président du Comité d'Ethique du Centre Muraz de Bobo Dioulasso) à l'adresse suivante: Tél. 20 97 01 02.

Que signifie ma signature sur la fiche de consentement ?

Si vous donnez votre consentement de rester dans l'étude, vous devez signer ou placer votre empreinte digitale sur la fiche de consentement éclairé écrit. Votre signature ou empreinte signifie que vous avez compris toutes les informations reçues sur l'étude et que vous choisissez librement de continuer, en sachant que vous pouvez vous retirer plus tard. On vous demandera de signer deux copies de la fiche de consentement, une pour vous-même et l'autre pour nos documents.

Certificat de consentement éclairé

Titre de l'étude: "Analyse de la réponse immunitaire anti-palustre chez la femme pendant le postpartum"

J'ai lu la fiche d'information(ou elle m'a été lue)	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non
J'ai eu l'opportunité de poser des questions	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non
Je suis satisfaite des réponses données à mes questions	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non
Je sais que je peux retirer mon consentement	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non
Je sais que toute information que je donne sera tenue secrète	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non
Je consens librement à participer à l'étude	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non

Nom en imprimé de la participante

Signature

Date

Si la participante est illettrée:

Par ma signature je témoigne que la fiche d'information a été correctement lue à la participante potentielle et qu'elle a eu l'opportunité de poser des questions. J'atteste que la personne a librement donné son consentement.

Nom en imprimé du témoin

Signature

Date

ET

Empreinte digitale de la participante

Empreinte du pouce (si la femme nullipare est incapable de lire et d'écrire)
--

J'ai lu la fiche d'information à la participante potentielle et je me suis assuré de mon mieux qu'elle a compris le déroulement de l'étude et son droit de se retirer de l'étude. J'affirme que la participante a eu l'occasion de poser des questions sur l'étude et que toutes les questions ont été répondues. J'affirme que la participante n'a pas été forcée à consentir et que le consentement a été librement donné.

Une copie signée de cette fiche a été remise à la participante.

Nom du chercheur/ de la personne ayant administré le consentement

Signature

Date

Consentement additionnel pour le stockage d'échantillons de sang

Titre de l'étude: "Analyse de la réponse immunitaire anti-palustre chez la femme pendant le postpartum"

Nous voudrions garder une partie des échantillons de sang collectés dans le cadre de cette étude pour éventuellement faire d'autres tests de laboratoire après la fin de l'étude. Nous n'allons pas garder vos échantillons sans votre autorisation.

Si vous donnez votre accord pour le stockage de vos échantillons, vous pouvez toujours changer d'avis et retirer l'accord jusqu'à un mois après avoir fini l'étude. Si vous voulez faire enlever vos échantillons stockés, vous devriez contacter M TRAORE Ousmane au numéro de téléphone suivant: 70 58 99 41.

Un mois après la fin de l'étude, nous allons enlever votre nom des échantillons. Une fois le nom enlevé, il ne sera plus possible d'identifier vos échantillons pour les enlever.

Vous pouvez participer à l'étude même si vous ne voulez pas qu'on garde vos échantillons de sang pour des analyses plus tard.

Veillez cocher une des cases ci-dessous pour indiquer si vous acceptez ou non le stockage de vos échantillons.

- NON, je voudrais que mes échantillons de sang soient détruits à la fin de cette étude.
- OUI, je donne l'autorisation de garder mes échantillons de sang de façon anonyme pour des recherches futures.

Nom en imprimé de la participante

Signature

Date

Si la participante est illettrée:

Par ma signature je témoigne que la fiche d'information sur le stockage d'échantillons de sang a été correctement lue à la participante potentielle et qu'elle a eu l'opportunité de poser des questions. J'atteste que la personne a librement donné son consentement.

Nom en imprimé du témoin

Signature

Date

ET Empreinte digitale de la participante

Empreinte du pouce (si la femme nullipare est incapable de lire et d'écrire)

J'ai lu la fiche d'information à la participante potentielle et je me suis assuré de mon mieux qu'elle a compris les démarches pour le stockage des échantillons de sang et son droit de retirer son accord jusqu'à un mois après la fin de l'étude. J'affirme que la participante a eu l'occasion de poser des questions sur le stockage d'échantillons et que toutes les questions ont été répondues. J'affirme que la participante n'a pas été forcée à consentir et que le consentement a été librement donné.

Une copie signée de cette fiche a été remise à la participante.

Nom du chercheur/ de la personne ayant administré le consentement

Signature

Date

Annexe 3 : Approbation du comité d'éthique

MINISTÈRE DE LA SANTE

SECRETARIAT GENERAL

Comité D'Ethique



BURKINA FASO
Unité - Progrès - Justice

N/Ref. L 21-2014/CEI-CM

Bobo-Dioulasso, le 25 juillet 2014

Au

Mr Ousmane TRAORE
Investigateur Principal

V/Ref. : Lettre (sans numéro) du 17 juillet 2014

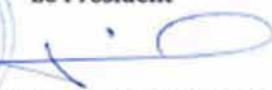
Objet : Approbation de la version corrigée du protocole

En réponse à votre lettre, le CEI-CM a donné son autorisation pour les modifications apportées au protocole et aux documents de consentement de l'étude intitulée : « **Analyse de la réponse immunitaire anti-palustre chez la femme pendant le postpartum (version 2.1 du 24 février 2014)** » dont la mise œuvre avait déjà été approuvée (A007-2014/CEI-CM du 12 février 2014).
Cette autorisation porte sur :

1. L'adoption de la version corrigée du protocole
2. L'utilisation de la version amendée de la notice d'information et des formulaires de consentement éclairé pour les participantes à l'étude principale
3. L'utilisation de la fiche d'information et des formulaires de consentement éclairé des participantes nullipares

Le CEI-CM recommande l'identification d'éventuels amendements de ces documents par des numéros chronologiques et l'actualisation des numéros et dates des versions amendées du protocole et des documents de consentement des participants.

Tout en vous souhaitant bonne réception, veuillez agréer, l'expression de ma franche collaboration.

Le Président

Dr. Abdoulaye OUEDRAOGO

Comité D'Ethique Institutionnel du Centre Muraz, BP 390 Bobo-Dioulasso Burkina Faso Tél. (226) 20 97 01 02 Fax (226) 20 97 04 97

MINISTERE DE LA SANTE

SECRETARIAT GENERAL

Comité D'Ethique



BURKINA FASO

Unité - Progrès - Justice

N/Réf. L 21-2014/CEI-CM

Bobo-Dioulasso, le 25 juillet 2014

Au

Mr Ousmane TRAORE
Investigateur Principal

V/Réf. : Lettre (sans numéro) du 17 juillet 2014

Objet : Approbation de la version corrigée du protocole

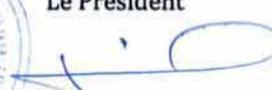
En réponse à votre lettre, le CEI-CM a donné son autorisation pour les modifications apportées au protocole et aux documents de consentement de l'étude intitulée : « **Analyse de la réponse immunitaire anti-palustre chez la femme pendant le postpartum (version 2.1 du 24 février 2014)** » dont la mise œuvre avait déjà été approuvée (A007-2014/CEI-CM du 12 février 2014).

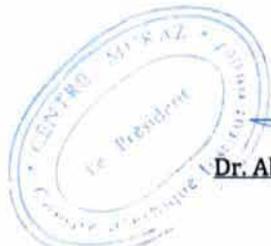
Cette autorisation porte sur :

1. **L'adoption de la version corrigée du protocole**
2. **L'utilisation de la version amendée de la notice d'information et des formulaires de consentement éclairé pour les participantes à l'étude principale**
3. **L'utilisation de la fiche d'information et des formulaires de consentement éclairé des participantes nullipares**

Le CEI-CM recommande l'identification d'éventuels amendements de ces documents par des numéros chronologiques et l'actualisation des numéros et dates des versions amendées du protocole et des documents de consentement des participants.

Tout en vous souhaitant bonne réception, veuillez agréer, l'expression de ma franche collaboration.


Le Président
Dr. Abdoulaye OUEDRAOGO



Comité D'Ethique Institutionnel du Centre Muraz, BP 390 Bobo-Dioulasso Burkina Faso Tél. (226) 20 97 01 02 Fax (226) 20 97 04 57