

Survenue des premières infections palustres chez le nouveau né : déterminants génétiques, biologiques et environnementaux

Projet ANR 2006 SEST 040 01

André Garcia : Directeur de Recherche (DR) ¹, Michel Cot : DR ¹, Agnès Le Port : doctorante¹, Gilles Cottrell : Ingénieur d'Etudes (IE) ²⁻³, Florence Migot-Nabias : CR ¹, Célia Dechavanne : Doctorante ¹, David Courtin : CR ²⁻³, Jacqueline Milet : IE ²⁻³, Ghislain Koura : doctorant ¹, Smaïla Ouédraogo : doctorant ²⁻³, Charlotte Pierrat : doctorante ¹, Adjimon Lokossou : doctorant ¹, Grégory Nuel : CR ⁴, Laurence Watier : CR ⁵, Martine Tabeaud : Professeur ⁶, Yves Martin-Prével : CR ⁷, Fabrice Chandre : CR ⁸, Benjamin Fayomi : Professeur ³, Achille Massougbojji : Professeur ²

¹- Institut de Recherche pour le Développement (IRD), UMR216 : mère et enfant face aux infections tropicales. Paris, France

²- Faculté des Sciences de la Santé (FSS), Cotonou, Bénin

³- Institut des Sciences Biomédicales appliquées (ISBA), Cotonou, Bénin

⁴- Mathématique Appliqués Paris 5 (MAP5) : Université Paris Descartes, Paris, France

⁵- Inserm U657, Unité de Santé Publique, Garches, France

⁶- Université Paris 1 – Sorbonne, Paris, France

⁷- Institut de Recherche pour le Développement, UMR204 Nutripass, Montpellier, France

⁸- IRD, UMR224, Montpellier, France

Andre.Garcia@ird.fr, Michel.Cot@ird.fr, agnesleport@yahoo.fr, Gilles.Cottrell@ird.fr, Florence.Migot-Nabias@ird.fr, celia_dv@yahoo.fr, David.Courtin@ird.fr, Jacqueline.Milet@ird.fr, kourakobtoghislain@yahoo.fr, smaila11@yahoo.fr, charlotte.pierrat@gmail.com, gbenalog@yahoo.fr, gregory.nuel@parisdescartes.fr, laurence.watier@rpc.aphp.fr, Martine.Tabeaud@univ-paris1.fr, Yves.Martin-Prevel@ird.fr, Fabrice.Chandre@ird.fr, bfayomi2@yahoo.fr, massougbojjiachille@yahoo.fr

Introduction et problématique

Les facteurs conditionnant la survenue des premières infections palustres sont très mal connus alors que le paludisme représente une des premières causes de mortalité dans les pays en développement.

L'importance de l'exposition aux parasites est un des principaux éléments d'un système pathogène faisant intervenir l'hôte, le vecteur et le parasite. L'hétérogénéité de l'espace de vie des jeunes enfants occasionne des variations considérables du niveau de transmission vectorielle, et donc l'étude de la transmission entomologique dans les lieux où vivent les nouveau-nés est indispensable à la compréhension de la dynamique et de l'expression clinique des premières infections. En effet, il semble tout à fait possible qu'une variabilité dans l'intensité de la transmission vectorielle, ou de tout autre élément environnemental intervenant sur le risque d'exposition, puisse engendrer des différences dans les délais d'apparition des premières infections. C'est l'hypothèse « environnementale ».

Par ailleurs, des facteurs individuels spécifiques de l'hôte jouent également un grand rôle. Par exemple, la notion d'une infection placentaire à la naissance conditionne fortement la probabilité, à niveau égal d'exposition, de développer une infection dans la première année de vie. Les mécanismes biologiques responsables restent à déterminer, notamment l'hypothèse que l'exposition *in utero* à des antigènes du parasite induirait une tolérance immunologique. Cette tolérance immunitaire pourrait intervenir sur le développement immunologique propre à l'enfant et modifierait la susceptibilité de l'enfant à l'infection et/ou à la maladie. Cependant, cette « hypothèse immunologique », explicative de la variabilité des délais de première infection, ne peut être affirmée sans une prise en compte adéquate de l'hypothèse « environnementale » décrite ci-dessus.

D'autres éléments interviennent dans ce processus de maturation immune, comme les apports nutritionnels et la rencontre avec d'autres agents infectieux au cours de la petite enfance.

Enfin, le patrimoine génétique de l'hôte joue un rôle primordial, notamment les polymorphismes de gènes impliqués dans le contrôle de l'immunité. Il s'agit d'un contrôle génétique complexe, auquel se surajoutent des interactions avec des facteurs individuels (comme l'âge ou la durée d'exposition), environnementaux et comportementaux.

Ces considérations illustrent les interrelations complexes sous-jacentes à la survenue des premières parasitémies palustres. L'ensemble des éléments impliqués, exposition au vecteur, maturation du système immunitaire et facteurs génétiques, doivent donc être pris en compte de manière simultanée et précise, et intégrée lors du suivi des individus à risque.

Jusqu'à présent, trois études épidémiologiques se sont intéressées à la problématique des premières infections palustres^{1,2,3}. Elles concluent à l'association entre l'infection placentaire (IP) et des délais de première infection plus courts, les enfants nés d'un placenta infecté s'infectant plus précocement au cours des premiers mois de vie. Ces trois études présentent des divergences importantes et certaines faiblesses méthodologiques. La première a été conduite au Cameroun et a suivi 197 enfants pendant 24 mois, 21% nés d'un placenta infecté¹. Le suivi consistait en une visite hebdomadaire et une recherche mensuelle systématique d'infection au moyen d'une goutte épaisse (GE). La variable d'intérêt était la prévalence de l'infection asymptomatique. Dix-neuf pourcent de la population a été perdue de

¹ Le Hesran JY, Cot M, Personne P, Fievet N, Dubois B, et al. (1997) Maternal placental infection with *Plasmodium falciparum* and malaria morbidity during the first 2 years of life. *Am J Epidemiol* 146: 826-831.

² Mutabingwa TK, Bolla MC, Li JL, Domingo GJ, Li X, et al. (2005) Maternal malaria and gravidity interact to modify infant susceptibility to malaria. *PLoS Med* 2: e407.

³ Schwarz NG, Adegnik AA, Breitling LP, Gabor J, Agnandji ST, et al. (2008) Placental malaria increases malaria risk in the first 30 months of life. *Clin Infect Dis* 47: 1017-1025.

vue au cours du suivi et 40% des enfants n'ont pas été vu pour la dernière visite mensuelle. La seconde étude menée en Tanzanie² concernait 453 enfants, dont 14% nés d'un placenta infecté, suivi pendant 12 mois à raison d'une GE systématique chaque deux semaines. Quatorze pourcent des enfants ont été perdus de vue. Enfin, la dernière étude³ s'est déroulée au Gabon et incluait 527 enfants dont 9% nés d'un placenta infecté. Dans cette étude 34% des enfants ont été perdus de vue au cours des 24 mois de suivi. La surveillance mensuelle recherchait l'apparition d'une infection symptomatique. Cette dernière étude était en fait associée à un essai clinique randomisé testant l'efficacité de la sulfadoxine pyriméthamine (SP) donnée systématiquement deux fois au cours de la saison de transmission contre un placebo. La première de trois enquêtes met en évidence que la première parasitémie asymptomatique apparaît plus tôt au cours des premiers mois de vie chez les enfants nés d'un placenta infecté, mais aucune analyse multivariée n'est effectuée. Les deux dernières études mettent en évidence une interaction entre le rang de gestation et l'IP, cette dernière semblant être un facteur de risque d'infection rapide uniquement chez les multipares, alors qu'elle protégerait les enfants nés de mères primipares. Cependant, cette interaction n'est décelée que chez un nombre très restreint de sujets, n'est pas statistiquement significative chez Mutabingwa et enfin ne trouve aucune hypothèse explicative convaincante. Enfin, la prise en compte de l'environnement dans chacune de ces trois études reste très approximative.

Pour l'ensemble de ces raisons il nous est apparu indispensable de mettre en place une nouvelle étude comportant une prise en compte précise des données environnementales. De plus, afin d'apporter des arguments en faveur (ou contre) l'hypothèse immunologique, nous avons inclus dans le suivi une surveillance régulière du développement immunitaire du jeune enfant. Enfin, l'étude de facteurs génétiques impliqués dans le contrôle de la réponse aux premières infections palustres d'une part, mais aussi du développement immunitaire du jeune enfant d'autre part, a été développée dans ce programme. L'ensemble de ces informations impose des méthodologies d'analyses statistiques précises et adaptées. Cela a été rendu possible par un partenariat très étroit entre des équipes épidémiologiques, biologiques et biostatistiques (classiques et en épidémiologie génétique). Enfin, l'ensemble de ce projet a été mené en parfaite collaboration avec nos partenaires béninois de l'Université d'Abomey Calavi (Faculté des Sciences de la Santé et Institut des Sciences Biomédicales Appliquées).

Matériels et méthodes

Site et population d'étude

L'étude s'est déroulée au sud Bénin dans la commune de Tori Bossito et plus précisément dans 9 villages de cette commune. Ces villages ont été sélectionnés parmi les autres villages de la commune car ils étaient les plus proches des centres de santé et les autres villages de la zone étaient inclus dans une étude complémentaire menée par une autre équipe. Ces villages dépendent de trois centres de santé (maternité et dispensaire) : Tori Avamé, Tori Cada et Tori Gare. Le paludisme y est endémique et la transmission variable selon la saisonnalité des pluies avec un pic entre juin et décembre.

La population d'étude se compose des femmes résidant de façon permanente dans l'un de ces 9 villages, ayant accouché entre le 4 juin 2007 et le 31 juillet 2008 dans l'une des trois maternités et ayant accepté de signer un consentement éclairé, et de leurs nouveau-nés qui ont été suivis 18 mois (voir Figure 1).

A l'inclusion un questionnaire était posé aux femmes afin de recueillir des informations sur leurs antécédents gynéco-obstétricaux et sur la grossesse actuelle, ainsi que sur leurs caractéristiques individuelles et socio-économiques.

Suivi parasitologique, clinique, anthropométrique et nutritionnel des enfants

Le suivi parasitologique des enfants s'articulait autour :

- de visites mensuelles réalisées au domicile des enfants par les enquêteurs pour effectuer des gouttes épaisses (Ge) systématiques afin de détecter les infections palustres, symptomatiques ou non. De plus des confettis pour la caractérisation des parasites infectants étaient réalisés.
- d'un suivi actif, reposant sur une visite hebdomadaire au domicile par un relais communautaire pour mesurer la température axillaire de l'enfant. En cas de température $>37.5^{\circ}\text{C}$, la mère de l'enfant recevait la consigne d'envoyer son enfant au dispensaire le jour même. A son arrivée au dispensaire, sur présentation de sa carte du programme, l'enfant était pris en charge selon nos procédures. L'infirmier pratiquait un examen clinique suivi d'un TDR pour obtenir le résultat in situ et une goutte épaisse de confirmation qui était lue a posteriori au laboratoire de Tori Bossito. Ici aussi, des confettis pour la caractérisation des parasites infectants étaient effectués. En cas de TDR positif, l'enfant recevait un traitement à base d'Artémether-Luméfantine (Coartem®). Tous les jours, la concordance entre les résultats de TDR et de Ge de la veille était vérifiée afin de ne laisser aucun cas de paludisme clinique non traité.
- d'un suivi passif, reposant sur la possibilité pour les nourrissons d'être reçus au dispensaire à tout moment en cas de symptômes cliniques et d'être pris en charge gratuitement, sur présentation de la carte du programme

Des mesures anthropométriques de poids, taille et périmètre brachial étaient réalisées pendant les visites mensuelles jusqu'à 6 mois puis trimestriellement de 6 à 18 mois. Toutes les mesures étaient réalisées en double. Un questionnaire portant sur l'allaitement et sur l'alimentation du nourrisson, reposant sur la technique du rappel des 24h était ensuite posé, chaque mois, à la mère afin d'établir un Score de Diversité Alimentaire (SDA), selon les recommandations de la FAO.

L'analyse des données de nutrition a consisté à construire les indicateurs caractérisant l'alimentation du jeune enfant selon les dernières recommandations de l'OMS⁴, à partir des informations issues du questionnaire de rappel des 24 heures, et à les mettre en relation avec la croissance des enfants. Les indicateurs concernent l'initiation de l'allaitement (mise au sein immédiate, liquides pré lactéaux, colostrum), l'allaitement exclusif ou prédominant sur la période 0-6 mois, le nombre de repas par jour et la diversité alimentaire (minimum de 4 groupes alimentaires consommés, parmi 7, sur les dernières 24h). Un indice synthétique combinant les diverses informations a été construit pour chaque enfant, à chaque visite où le questionnaire était administré.

Suivi biologique

- Parasitologie : chaque Ge a été colorée au Giemsa puis lu au microscope au grossissement 100. Chaque trimestre un taux d'hémoglobine a été déterminé chez l'enfant au moyen d'un Hemocue®.
- Immunologie : À la naissance, puis chaque trimestre, un prélèvement veineux (PV) sur EDTA était effectué. Les mesures suivantes étaient réalisées.
 - Mesure de la réponse anticorps dirigée contre 7 antigènes de forme asexuée de *P. falciparum* (AMA1, MSP1, MSP2 3D7, MSP2 FC27, MSP3, GLURP R0 et GLURP R2). Etaient mesurées les réponses IgG totales et les isotypes IgG1 et IgG3 impliquées dans la réponse anti palustre.

⁴ WHO. Indicators for assessing infant and young child feeding practices. Part 1: Definitions. Conclusions of a consensus meeting held 6–8 November 2007 in Washington, DC, USA. Geneva: WHO, 2008.

- Mesure de la réponse anticorps anti salive de moustique ⁵.
- Génétique humaine
 - A chaque PV le buffy coat était conservé en vue d'obtenir l'ADN de l'enfant. Au cours du suivi l'ADN des parents a également été collecté. A partir de ces ADN des analyses d'association seront effectuées pour étudier le contrôle génétique de réponse aux premières infections et du développement immunitaire. Un volet plus spécifique concerne également l'association entre des polymorphismes de gènes de certains gènes candidats de la mère et la réponse immunologique de l'enfant à la naissance.
- Génétique parasitaire

Une approche originale pour tenter de valider l'hypothèse de tolérance immunitaire serait de considérer que les clones parasitaires responsables de cette tolérance chez l'enfant seraient ceux dont il a rencontré les antigènes *in utéro*. La caractérisation moléculaire des parasites infectant les mères à l'accouchement et leurs enfants pourrait apporter des réponses et confirmer ou non l'hypothèse de tolérance immunitaire. Pour apporter des arguments en faveur ou non de cette hypothèse, à chaque visite mensuelle et/ou consultations au dispensaire, un confetti de sang total est réalisé. Seules les mères infectées par *P. falciparum* à l'accouchement et leurs enfants ont été considérés dans ce volet. La comparaison moléculaire des clones parasitaires infectant la mère à l'accouchement et son enfant lors de ses premières infections palustres pourrait expliquer en partie les phénomènes de tolérance immunitaire observés chez l'enfant. La caractérisation moléculaire se base sur le polymorphisme des gènes *msp2* et *glurp*. Ces gènes seront amplifiés par Nested PCR et lus par analyse de fragments (technique de fluorescence nettement plus sensible).

Données environnementales et comportementales

- Entomologie : chaque 6 semaines entre juillet 2007 et juillet 2009 des captures entomologiques étaient effectuées (19 missions sur les 2 ans). Elles se déroulaient dans 4 lieux par village, chaque lieu représentant un point de capture à l'intérieur d'une maison et un point à l'extérieur. Les captures étaient effectuées selon le protocole OMS (2006). Les moustiques capturés étaient identifiés et les femelles anophèles vecteurs (*An. Gambiae* et *An. Funestus*) étaient conservés au congélateur (-80°). La recherche d'anophèles infectés était effectuée au laboratoire de Cotonou par ELISA (recherche d'Ac anti Circum sporozoïtes Protein, CSP).
- Climatologie, écologie et comportement : dans chaque village une puce hygrométrique et un pluviomètre étaient installés, permettant l'enregistrement permanent de la température et de l'hygrométrie d'une part, et le recueil deux fois par jour de la quantité de pluie d'autre part. Chaque maison dans laquelle résidait un enfant du programme était géoréférencée et les caractéristiques suivantes recueillies : nombre de personnes dormant dans la chambre, niveau scolaire et socio-économique de la famille, présence de travaux, d'ustensiles délaissés proches de la maison, proximité d'un cours d'eau, indice de végétation, type de sol à proximité de la maison. De plus, à plusieurs reprises

⁵ Poinsignon A., Cornélie S., Ba F., Boulanger D., Sow C., Rossignol M., Sokhna C., Cisse B., Simondon F. and Remoue F. Human IgG response specific to a salivary peptide, gSG6-P1, as a new immuno-epidemiological tool for evaluating low-level exposure to Anopheles bites. *Malaria Journal*. 2009. 8:198.

durant le suivi des informations concernant la présence de moustiquaire et leur utilisation, le niveau scolaire et socio-économique de la famille ... étaient collectées.

- L'ensemble de ces données a été intégré dans un système d'information géographique (SIG) basé sur des images satellitaires de la zone (SPOT 5).

Méthodes statistiques

Les données recueillies ont la particularité d'avoir été récoltées de manière répétée et longitudinale. Ainsi, pour chacun des enfants, ces données ne peuvent être considérées comme indépendantes et nécessitent l'utilisation de modèles mixtes. Nous avons considéré que notre échantillon présente une structure hiérarchique à 2 niveaux : (1) la mesure répétée chez un même enfant (par exemple : hémoglobine, niveaux d'anticorps, taille et poids, parasitémie ...) et (2) le groupe formé par l'ensemble des mesures d'un même enfant. Les mêmes constatations doivent être formulées pour les données entomologiques, avec 3 niveaux de hiérarchie (captures répétées au sein de maisons de captures elles mêmes situées dans des villages).

Pour l'analyse des réponses anticorps, une stratégie complémentaire de celle des modèles mixtes est proposée. Dans cette seconde stratégie nous prévoyons d'étudier la *réponse simultanée* aux 7 Ag (cf. ci-dessus) afin de définir, à chaque passage, un profil de réponse Ac. Ce type d'analyse, emprunté aux analyses de clusters, a d'ores et déjà été proposé de manière transversale (1 seule mesure) et repose sur l'hypothèse que cette réponse simultanée à plusieurs Ag est très probablement plus informative de la capacité d'un individu à se défendre contre l'infection, qu'une réponse dirigée contre 1 seul Ag⁶. La particularité de notre travail sera de s'intéresser aux mesures répétées et ainsi à l'évolution dans le temps du profil de réponse Ac. Enfin, nous utiliserons les méthodes d'analyses des données hétérogènes (mélange de données, trajectoires latentes...) pour étudier l'existence de groupes d'enfants ayant des cinétiques d'apparition d'Ac variables.

L'analyse des délais d'apparition de la première infection dérive des analyses de survie et nécessite également des outils de modélisations spécifiques : le modèle de Cox.

Outres ces remarques générales inhérentes à la structure de nos données, d'autres contraintes ont dues être prises en compte. En effet les captures de moustiques ayant été réalisées dans environ 40 maisons nous ne disposons pas de cette information spécifique aux 600 maisons de résidence des enfants. Nous avons donc développé une stratégie d'analyse en deux temps : tout d'abord grâce à un modèle mixte nous avons identifié les variables environnementales et comportementales significativement associées au nombre d'anophèles (sur les 40 maisons de capture). Dans un second temps nous développerons un modèle prédictif qui devrait permettre d'associer, à chacune des 600 maisons de l'étude, un niveau de risque ou encore la probabilité d'appartenir à un certain niveau de risque. Ce travail de modélisation permettra d'avoir pour chaque lieu et à chaque instant une estimation du risque environnemental.

Jusqu'alors les études s'étant intéressées au délai d'apparition des premières infections chez le nouveau-né ont utilisé un modèle de Cox classique entraînant une censure des enfants au premier évènement. Nous allons développer une application récente du modèle de Cox permettant de prendre en compte l'ensemble des évènements survenant au cours du suivi de l'enfant.

⁶ Julian C. Gray, Patrick H. Corran, Elena Mangia, Michael W. Gaunt, Qiuxiang Li, Kevin K.A. Tetteh, Spencer D. Polley, David J. Conway, Anthony A. Holder, Tito Bacarese-Hamilton, Eleanor M. Riley, and Andrea Crisanti. Profiling the Antibody Immune Response against Blood Stage Malaria Vaccine Candidates. *Clinical Chemistry* 53:7 (2007)

Un autre développement méthodologique original est en cours concernant les niveaux de réponse anticorps. En effet, classiquement les réponses anticorps peuvent parfois être difficilement détectables à cause de très faibles niveaux d'anticorps circulants (réponses notées « low ») ou, à l'inverse, extrêmement élevées par rapport à la majorité des réponses de l'échantillon (et notées high dans ce cas précis). La prise en charge habituelle de ces réponses amène à les considérer comme des données manquantes ou à leur attribuer une valeur particulière (comme les seuils inférieurs et supérieurs de détection). Ces méthodes aboutissent à une perte d'information et de puissance dans l'analyse. Nous avons donc utilisée une méthode d'imputation multiple qui permet, grâce aux caractéristiques de l'individu (âge, sexe, infection ...), d'attribuer une valeur plus spécifique. Des études préliminaires ont montré la pertinence de ce développement.

Des méthodologies statistiques spécifiques de l'épidémiologie génétique seront également utilisées. Pour ce qui est du délai d'apparition des premières infections, nous allons introduire dans le modèle de Cox cité précédemment les covariables génétiques de l'individu (génotype au locus marqueur). Ainsi nous pourrions étudier l'effet de polymorphismes de gènes candidats sur ces délais, ajustés sur l'existence d'une infection placentaire, sur le risque environnemental, ou encore sur la qualité des apports nutritionnels. Il sera également possible d'étudier des interactions entre les polymorphismes génétiques et les autres facteurs.

Concernant le contrôle génétique du développement de la réponse Ac, l'analyse statistique dépendra de la stratégie d'étude de cette réponse. Lorsque nous utiliserons les modèles mixtes, les covariables génétiques de l'individu pourront être utilisées comme facteurs fixes. Lorsque nous travaillerons sur les profils de réponse Ac nous utiliserons une approche « TDT » sur données familiales. Un récent développement permet en effet de tenir compte de la répétition dans le temps des mesures phénotypique. Ainsi chaque mesure trimestrielle sera utilisée comme une mesure phénotypique ⁷.

Nous utiliserons pour ce travail une approche gène candidat et choisirons comme candidats les gènes dont l'intérêt est souligné dans des études immunologiques.

Résultats

Ce programme multidisciplinaire va engendrer des résultats dans de nombreux champs scientifiques. A l'heure actuelle de nombreuses données sont en cours d'exploitation. Pour simplifier la présentation des principaux résultats, ceux-ci sont présentés schématiquement sous forme d'un tableau.

⁷ Ding X, Lange C, Xu X, Laird N (2009) New powerful approaches for family-based association tests with longitudinal measurements. *Ann Hum Genet* 73: 74-83.

<i>Résultats</i>	<i>Originalités</i>	<i>Développements attendus</i>	<i>Valorisations</i>
<p><u>Volet épidémiologie</u> : Délai d'apparition des premières infections palustres</p> <ul style="list-style-type: none"> - Confirmation d'une association entre l'infection placentaire et les délais d'infection sur les 12 premiers mois - Interaction avec la pression de transmission : effet plus marqué en cas de forte transmission 	<p>Une prise en compte simultanée du risque environnemental et des apports nutritionnels de l'enfant. L'effet de l'intensité de la transmission reste significatif → cela pourrait indiquer que les hypothèses environnementale et immunologiques sont valides de manière indépendante</p>	<p>Etude sur les 18 mois du suivi avec</p> <ul style="list-style-type: none"> - La variable environnementale modélisée (espace et temps) sur les 600 maisons de l'étude - Prise en compte des événements récurrents - Prise en compte des données nutritionnelles complètes 	<ul style="list-style-type: none"> - 3 master recherche 2^{ème} année - S. Ouédraogo (Paris 6) - M. Daures (Paris 6) - Bienvenue Kouwaye (UAC) - 1 thèse de science (soutenance en novembre 2010) : Agnès Le Port (Paris 6, épidémiologie) - 1 article sous presse & 2 soumis, 3 en rédaction
<p><u>Volet géographie de la santé</u> : territorialisation du risque de paludisme et identification de facteurs de vulnérabilité</p> <ul style="list-style-type: none"> - Faible corrélation spatiale de ces territoires avec la présence de moustiques - Facteurs de vulnérabilité liés à certains comportements et modes de vie : ethnie Fon, faible niveau de scolarité familial, activité agricole, habitat, présence d'animaux dans les lieux de vie, distance aux dispensaires, 	<p>Jamais étudié en Afrique Étude conjointe au sein d'une même cohorte des facteurs biogéographique de la variabilité du risque, et des facteurs socio-culturels, économiques... intervenant dans la vulnérabilité des populations, à échelle fine.</p>	<p>Comparer les résultats obtenus avec la modélisation et prédiction du risque environnemental (voir ci-dessus) et avec les territoires repérés par le SIG ; étudier les mêmes facteurs sur un autre terrain, dans d'autres populations</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 1 thèse de sciences humaines - Charlotte Pierrat (Paris 1, géographie de la santé) : soutenance en novembre 2010 - 2 articles et 5 communications - 1 article en cours
<p><u>Volet nutrition</u> :</p> <ul style="list-style-type: none"> - L'allaitement universel, rarement pratiqué de façon exclusive et moins des 6 mois recommandés. Âge médian d'introduction des aliments de complément dépassait à peine 3 mois. Le pourcentage d'enfants présentant une diversité satisfaisante 	<p>Ce type de données longitudinales permettant une analyse des associations entre pratiques alimentaires et morbidité ou développement immunitaire rarement disponibles en Afrique.</p>	<p>Analyse de l'ensemble des données jusqu'à 18 mois. Etudes des associations évoquées (morbidité, croissance, développement immun) sur l'ensemble de la cohorte et sur 18 mois.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 2 master 2 recherche (Maïnoumata Boli & Cica Accrombessy) - Publications en cours

des aliments ingérés était faible entre 6 et 9 mois (27%) mais augmentait vite avec l'âge, atteignant 59% à 12 mois. La taille de l'enfant à 12 mois était significativement influencée par la qualité des pratiques alimentaires.

- Le gain de poids gestationnel insuffisant chez la mère, la prématurité, la primigestité étaient significativement associés à la survenue d'un Faible Poids de Naissance. Un nombre de consultations prénatales > à 4 avait un effet protecteur. Ces mêmes facteurs sauf la prématurité sont associés à une aggravation de la maigreur. Les mêmes facteurs et le sexe masculin sont associés à une aggravation du retard de croissance.

- L'étude va se poursuivre en tentant de distinguer le mécanisme de FPN (retard de croissance intra utérin versus prématurité). L'association entre FPN (selon le mécanisme) et la morbidité sera étudiée. Les données nutritionnelles (comme un indicateur du type « Infant and young child feeding indicator : IYCF) seront prises en compte pour l'analyse finale

- 1 master 2 recherche (Paris11) suivi d'une thèse en épidémiologie (Paris 6) en cours (Géraud Padonou).

Volet biologie : Immunogénétique 1 :
- Etude de la construction de la réponse anticorps (Ac) spécifique de *P.falciparum* : en cours de réalisation

Jamais étudié en cinétique et pour un si grand panel d'antigènes

Analyse par modélisation mathématique et prises en compte des variables environnementales. Les premiers résultats devraient être disponibles début 2011

1 thèses sciences

- Célia Dechavanne (Paris 5, immunologie) ; deux communications orales à des congrès internationaux

- Caractérisation moléculaire des parasites infectant la mère à l'accouchement et l'enfant lors de ses premières infections palustres

Validation ou non de l'hypothèse de tolérance immunitaire selon une approche de génétique parasitaire encore jamais envisagée

Immunogénétique 2 : impact de facteurs génétiques maternels sur la réponse Ac de la mère et du

Première étude explorant chez l'enfant à la naissance, les répercussions immunitaires

Mise en relation des résultats avec :
- les données génétiques de l'enfant

- 1 thèse de sciences :
- Adjimon Lokossou (Paris 5, immunologie) ; 3 posters et 1

<p>foetus Association entre des polymorphismes de gènes de cytokines (IL-4, IL-10) et :</p> <ul style="list-style-type: none"> - des paramètres biologiques de la mère à l'accouchement - des niveaux d'IgG et IgM spécifiques chez la mère et le foetus 	<p>spécifiques du paludisme liées à particularités génétiques de la mère, celles-ci ayant contribué à créer un environnement immunitaire in utero caractéristique du couple mère/enfant</p>	<p>- les données du suivi clinique, parasitologique et immunologique de l'enfant sur 18 mois</p>	<p>communication orale. 1 article publié, 1 soumis et 1 en rédaction</p>
<p><u>Immunogénétique 3</u> : Etude du rôle fonctionnel des IgG Les IgG issues des enfants ayant développés un seul accès palustre au cours du suivi ont une capacité d'inhibition de la croissance parasitaire <i>in vitro</i> significativement plus élevée que ceux provenant d'enfants ayant eu plusieurs accès palustres pendant le suivi. Les IgG dirigées contre la protéine parasitaire AMA (apical membrane antigen)-1 représentent une forte proportion (55 %) de l'inhibition de la croissance parasitaire observée en utilisant les IgG totaux.</p>	<p>Etudes simultanées des données anticorps quantitatives et qualitatives</p>	<p>Recherche d'associations entre ces réponses qualitatives et le risque de première infections et d'accès palustres</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 2 master recherche 2^{ème} année - A. Djilali-Saïah (Paris 6) - I. Sadissou (UAC, Cotonou) - Communication symposium pour Abdelkader
<p><u>Volet biomathématique :</u> <i>modélisation de la réponse anticorps :</i> - Analyses de la cinétique d'apparition de la réponse anticorps spécifique par une approche</p>	<p><i>A notre connaissance aucune étude de ce type n'est encore disponible.</i></p>	<p><i>Les analyses ont débutées et seront achevées courant 2011. Elles nécessitent en effet la totalité des dosages des réponses anticorps qui représentent un nombre très</i></p>	<p>Pour cet aspect spécifique de l'étude : 1 Master 2 recherche suivi d'une thèse en biomathématique (Djénéba Thiam ; Paris 5). Mais ces analyses sont très liées avec les</p>

appropriée (modèles mixtes) et intégrant la gestion des troncatures liées aux réponses trop faibles (ou trop élevées). Cette analyse sera tout d'abord réalisée pour chaque Ac puis conjointement pour l'ensemble de la réponse aux 7 antigènes testés.
- Etude de cette évolution par des modèles de trajectoires latentes

important d'ELISA : 600 enfants x 7 passages (0, 3, 6, 9, 12, 15 & 18 mois) x 7 antigènes x 3 isotypes (IgGtotales, IgG1 et IgG3)

analyses biologiques et donc leurs valorisations seront associées.

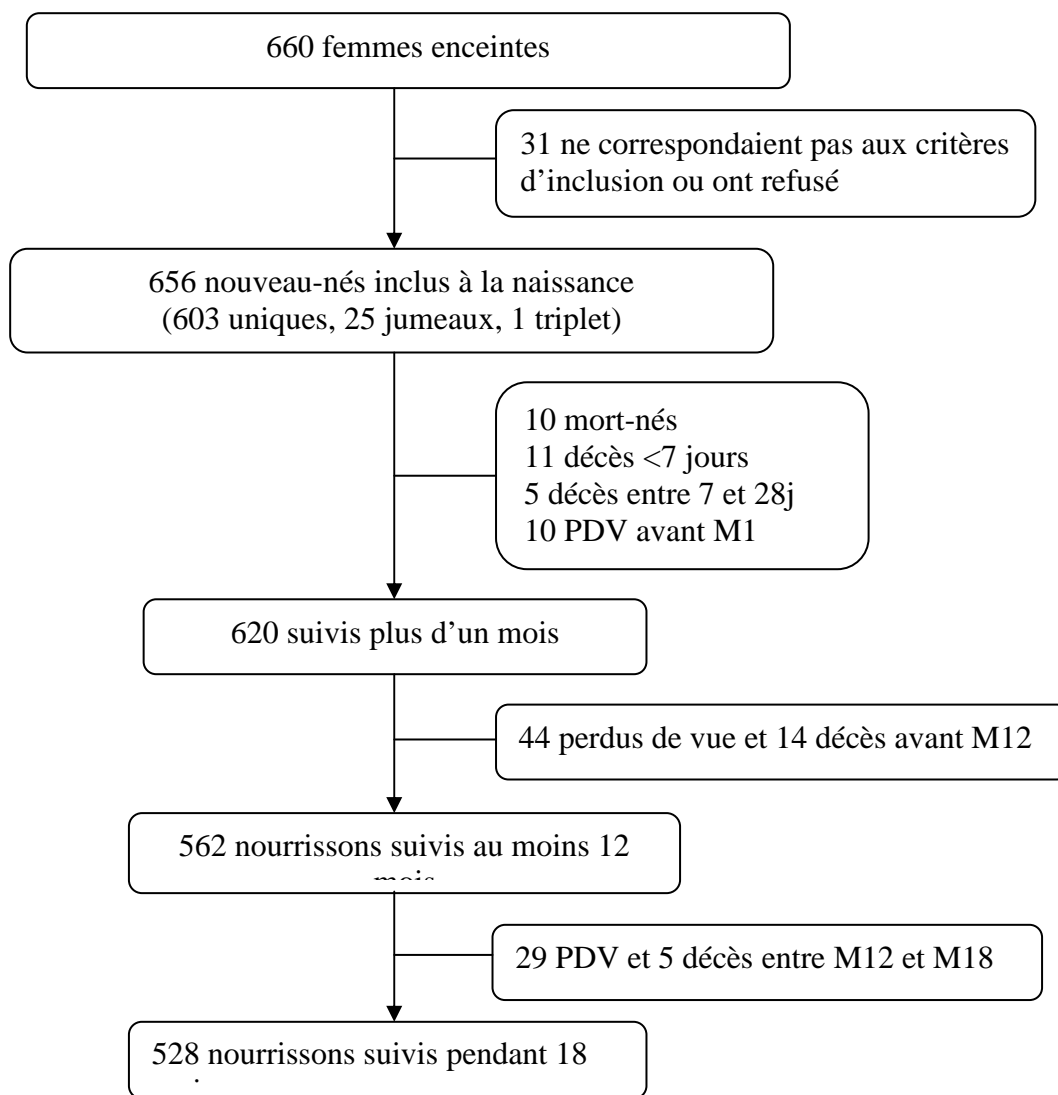


Figure 1 : Diagramme de flux sur 18 mois.