

Diversité génétique de *Plasmodium falciparum* et pathogénie de l'anémie palustre sévère chez des enfants de moins de 5 ans de la province du Boulgou, Burkina Faso.

I. Soulama (1), M. Sawadogo (2), I. Nebie (1), A. Diarra (1), A. B. Tiono (1), A. Konate (1) & S. B. Sirima (1)

(1) Centre national de recherche et de formation sur le paludisme, Ministère de la santé, 01 BP 2208 Ouagadougou 01 Burkina Faso. E-mail : s.sirima.cnlp@fasonet.bf

(2) Unité de formation et de recherche en science de la santé, Université de Ouagadougou 03 BP 7021 Ouagadougou 01 Burkina Faso

Manuscrit n° 2852. "Parasitologie". Reçu le 24 août 2005. Accepté le 22 novembre 2005.

Summary: Genetic diversity of *P. falciparum* and pathogenesis of the severe malarial anaemia in children under 5 years old in the province of Boulgou, Burkina Faso.

The clinical presentation of malaria mainly the severe form may be related to *Plasmodium falciparum* msp-2 (merozoite surface protein 2) specific family. To verify this hypothesis, during the high malaria transmission season in 2001; we analyzed the allelic polymorphism of the msp-2 gene of *P. falciparum* in children under 5 years old with different presentation of malaria in the regional Hospital and at community level in the Boulgou Province (Burkina Faso). A total of 405 children (107 severe malarial anaemia cases, 102 severe malaria cases without severe anaemia and 196 non severe malaria cases) were enrolled in the study. The frequencies of the FC27 were 89.2% in severe malarial anaemia children group, then 89.7% and 86.9% respectively in severe malaria non anaemic children cases and non severe malaria cases ($P=0.4$). The frequencies of the 3D7 were 72.5%; 84.1% and 77% respectively severe malaria non anaemic children, severe malarial anaemia cases and non severe malaria cases ($P=0.7$). The complexity of the FC27 genotypes was significantly higher in children with severe malaria (with and without severe anaemia) compared to the non severe malarial children ($P<0.001$). No significant difference was pointed up in the complexity of the 3D7 genotypes.

Résumé :

Dans le but de vérifier si l'anémie palustre sévère était spécifiquement associée à une famille allélique du gène msp-2 (merozoïte surface protein 2) de *P. falciparum*, nous avons étudié durant la saison de transmission maximale du paludisme (juin à octobre) de l'année 2001, la diversité génétique de *P. falciparum* en utilisant le marqueur génétique msp-2 chez des enfants de moins de 5 ans porteurs du parasite dans la province du Boulgou (Burkina Faso). Un total de 405 enfants dont 107 enfants avec anémie palustre sévère, 102 enfants avec paludisme grave sans anémie sévère et 196 cas avec paludisme non grave ont été inclus dans cette étude. La fréquence des familles alléliques FC27 et 3D7 était respectivement de 89,2% et 72,5% dans les cas graves avec anémie sévère; 89,7 % et 84,1% dans les cas graves sans anémie; 86,9% et 77% dans les cas de paludisme sans forme de sévérité ($p = 0,4$ pour FC27 et $p = 0,7$ pour 3D7). La complexité des génotypes FC27 était significativement plus élevée ($p < 10^{-5}$) chez les enfants présentant un paludisme grave d'une manière générale que dans les cas non graves.

Introduction

En zone endémique, en fonction du faciès épidémiologique, le paludisme se présente sous différentes formes cliniques : asymptomatique, simple ou grave. Les formes graves dues essentiellement à *Plasmodium falciparum* sont responsables de la plupart des décès, notamment chez les enfants de moins de 5 ans. Plusieurs facteurs peuvent contribuer à la sévérité des infections palustres dues à *P. falciparum* : les facteurs nutritionnels, le statut immunitaire de l'individu, certaines caractéristiques génétiques de l'individu et/ou du parasite (1, 24).

L'existence de souches plasmodiales plus virulentes que d'autres a été évoquée depuis très longtemps, et fait encore

l'objet d'une attention (13). Cependant, sur les facteurs parasitaires qui seraient responsables d'une augmentation de la virulence ou des manifestations cliniques spécifiques, peu de connaissances sont disponibles. CARLSON *et al.* (5) et ROWE *et al.* (26) notaient une association entre les formes en rosettes de *P. falciparum* et le paludisme cérébral, alors que CLOUGH *et al.* (6) obtenaient des résultats contradictoires. En outre, il a été souligné qu'une faible fréquence de multiples génotypes parasitaires est associée à la sévérité de l'infection palustre au Sénégal (25) et à une plus grande morbidité palustre en Papouasie-Nouvelle Guinée (2).

Le présent travail a eu pour objectif de vérifier si une famille allélique du gène msp-2 de *P. falciparum* était associée à des formes cliniques particulières de paludisme, notamment

polymorphism
msp-2 gene
Plasmodium falciparum
pathogenesis
severe malarial anaemia
Zano
Gourganbaga
Tenkodogo
Boulgou
Burkina Faso
Sub-Saharan Africa

polymorphisme génétique
gène msp-2
Plasmodium falciparum
pathogénie
anémie palustre sévère
Zano
Gourganbaga
Tenkodogo
Boulgou
Burkina Faso
Afrique intertropicale

l'anémie palustre sévère, qui constitue la forme de paludisme grave la plus fréquente en milieu rural au Burkina Faso (19). Pour cela, nous avons utilisé la région centrale du gène *msp-2* (merozoite surface protein 2) comme marqueur de polymorphisme pour étudier les familles alléliques *msp-2* (FC27 et 3D7) de *P. falciparum* chez des malades atteints de paludisme grave et chez des malades atteints de paludisme non grave, tous vivants dans la province du Boulgou, une région endémique à l'est du Burkina Faso. La zone centrale du gène *msp-2* est très polymorphe et est beaucoup utilisée dans les enquêtes épidémiologiques pour l'étude du polymorphisme génétique du *P. falciparum* (3,7).

Matériel et méthodes

Le site d'étude

Notre zone d'étude a été la province du Boulgou située au centre-est du Burkina Faso, à la frontière du Togo. La province du Boulgou est caractérisée par une saison pluvieuse (de juin à octobre), où la transmission du paludisme est maximale, et par une saison sèche (de novembre à mai) avec un faible niveau de transmission. À l'instar du reste du pays, *Anopheles gambiae*, *An. arabiensis* et *An. funestus* y sont les principaux vecteurs du paludisme (16, 23).

Recrutement des patients

Les sujets de notre étude étaient composés d'enfants porteurs de *P. falciparum* avec ou sans signes de gravité.

Les définitions opérationnelles suivantes ont été retenues :

– cas de paludisme grave : enfants âgés de 6 mois à 5 ans avec un tableau clinique de paludisme répondant aux critères de gravité de l'OMS (22). Parmi ces cas graves, nous avons distingué les cas graves avec anémie sévère (taux d'hémoglobine < 5 g/dl) des cas graves sans anémie sévère (taux d'hémoglobine \geq 5 g/dl);

– cas non graves de paludisme : enfants de moins de 5 ans porteurs de *Plasmodium*, mais ne répondant pas à la définition de paludisme grave de l'OMS (22). Il s'agissait donc de porteurs asymptomatiques ou des cas de paludisme simple.

Les enfants répondant à la définition du paludisme grave ont été enrôlés dans l'étude au niveau du service des urgences pédiatriques du centre hospitalier régional de Tenkodogo. Les cas de paludisme non grave ont, quant à eux, été recrutés au niveau de la communauté, lors d'une enquête transversale à Zano et Gourganbaga, deux villages du département de Tenkodogo, le chef lieu de la province du Boulgou.

Le consentement oral éclairé des parents de tous les enfants a été obtenu avant leur inclusion dans l'étude. Tous les patients inclus dans l'étude ont bénéficié d'une prise en charge médicalement gratuite adaptée à leur tableau clinique.

Prélèvement des échantillons sanguins

Un prélèvement capillaire à la pulpe du doigt a été effectué chez tous les enfants. Ce prélèvement a permis la confection d'une goutte épaisse et un frottis sanguin mince pour la recherche des parasites, le dosage du taux d'hémoglobine et de la glycémie. Le taux d'hémoglobine et la glycémie ont été dosés sur le terrain (pour les cas de paludisme non grave) ou au lit du malade (pour les cas graves)

grâce à des appareils portatifs : l'Hemocue® pour le taux d'hémoglobine et le glycomètre pour la glycémie.

Un autre prélèvement veineux de 0,5 ml dans des tubes contenant de l'EDTA a été effectué pour la génétique moléculaire de *P. falciparum*.

Techniques de typages de *P. falciparum*

Ce typage comportait l'extraction de l'ADN parasitaire, son amplification et l'électrophorèse des produits d'amplification.

Extraction de l'ADN parasitaire

L'ADN a été extrait selon la technique dodécyl-triammonium-bromide (DTAB)-cétyl-triammonium-bromide (CTAB) décrite par GUSTINCICH *et al.* (14).

Dans notre étude, 300 μ l de sang total prélevés sur EDTA étaient utilisés par échantillon. Après la lyse des globules rouges avec 15 μ l d'une solution de saponine à 1 % et 300 μ l d'une solution de DTAB à 12 %, l'ADN parasitaire est purifié avec 700 μ l de solution de chloroforme. Cet extrait d'ADN est ensuite précipité par 1 ml d'une solution de CTAB à 0,5 % et par de l'éthanol à 99,5 %. Le précipité obtenu est ensuite suspendu dans 50-100 μ l d'eau stérile et conservé à -20°C .

Typage génétique de *msp-2* de *P. falciparum*

La région centrale dimorphique et variable du gène de la protéine de surface du mérozoite *msp-2* de *P. falciparum* permet d'identifier deux familles alléliques FC27 et 3D7. La technique d'amplification utilisée dans cette étude est celle décrite par VIRIYAKOSOL *et al.* (28). Brièvement, une amplification primaire non spécifique est réalisée en utilisant les amorces M2OF et M2OR avec 1 μ l de l'extrait d'ADN, suivie d'une amplification secondaire (spécifique) utilisant 1 μ l du produit de la PCR primaire comme matrice avec des amorces spécifiques au type des deux familles d'allèles à amplifier : FC27 A/B et 3D7 A/B. Toutes les amplifications ont été réalisées avec un volume final de 20 μ l.

Électrophorèse des produits PCR

Les fragments d'ADN amplifiés par PCR sont séparés par électrophorèse sur un gel d'agarose à 1,5 % (m/v) de la solution de tris base – borate – EDTA. Ces fragments sont visualisés sous lumière UV grâce au bromide d'éthidium et ensuite photographiés.

Interprétation des résultats

Il s'agissait, après traitement des photos (scannées), de déterminer la taille des bandes ou fragments, ainsi que le nombre de fragments ou génotypes différents par isolat.

Analyse statistique

Les données ont été analysées en utilisant le logiciel Epi info® version 6.0.

Les tests de χ^2 de Pearson et le test de Fisher ont été utilisés pour la comparaison des proportions. Le test de Student et l'analyse de variance ont été utilisés pour la comparaison des

Tableau I.

	PGAS			cas graves			total			cas non graves		
	nb	%	IC	nb	%	IC	nb	%	IC	nb	%	IC
3D7	74	72,5	63,8-81,2	90	84,1	77,2-91,0	164	78,5	72,9-84,1	151	77	71,1-82,9
FC27	91	89,2	83,2-95,2	96	89,7	83,9-95,5	187	89,5	85,3-93,7	170	86,7	82,0-91,5
total	102			107			209			196		

p 3D7 (cas graves vs cas non graves) = 0,7

p FC27 (cas graves vs cas non graves) = 0,4

p 3D7 (PGAS vs cas non graves) = 0,1

p FC27 (PGAS vs cas non graves) = 0,4

p 3D7 (PGAS vs cas non graves) = 0,4

p FC27 (PGAS vs cas non graves) = 0,5

p 3D7 (PGAS vs PGAS) = 0,04

p FC27 (PGAS vs PGAS) = 0,9

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

Résultats

Au total, 405 enfants de moins de 5 ans ont été inclus dans notre étude : 209 ont présenté un tableau de paludisme grave et 196 un tableau de paludisme non grave. Parmi les enfants admis dans un tableau de paludisme grave, 102 enfants avaient une anémie sévère. L'âge moyen (\pm écart-type) était de 1,3 ans (\pm 0,9) dans les cas de paludisme grave avec anémie sévère (PGAS); 1,9 ans (\pm 1,2) dans les cas de paludisme grave sans anémie sévère (PGSAS) et 3,0 ans (\pm 1,6) dans les cas de paludisme non grave (PNG).

Fréquence des familles alléliques 3D7 et FC27 de *P. falciparum*

D'une manière générale, chez les patients de l'étude porteurs de *P. falciparum*, les fréquences des familles alléliques 3D7 et FC27 des souches parasitaires étaient respectivement de 77,8 % (IC₉₅ % : 73,8-81,9) et 88,2 % (IC₉₅ % : 85,1-91,3). Cette différence est statistiquement significative ($P < 0,001$).

En fonction de la sévérité du paludisme, les fréquences des familles alléliques 3D7 et FC27 de *P. falciparum* étaient sensiblement les mêmes chez les malades atteints de paludisme grave (PGSAS et PGAS) que dans les cas de paludisme non grave (tableau I). En comparant les fréquences de ces deux familles alléliques 3D7 et FC27 chez les PNG et les PGSAS, la différence n'est pas statistiquement significative (tableau I). Entre PGAS et PGSAS, une différence statistiquement significative n'a été mise en évidence que sur la fréquence de la famille allélique 3D7 (tableau I).

L'analyse de la fréquence des familles alléliques 3D7 et FC27 en fonction de l'âge dans les trois entités cliniques n'a montré aucune différence (tableau II).

Complexité des génotypes 3D7 et FC27

En définissant la complexité comme le nombre moyen de génotypes parasitaires présents chez un sujet, on note chez les patients de l'échantillon d'une manière générale que le nombre moyen de génotypes parasitaires chez les PNG, PGAS,

et PGSAS était respectivement de 2,4 (\pm 1,6); 2,9 (\pm 1,6) et 2,9 (\pm 1,4).

L'analyse de la complexité individuelle des familles alléliques du gène *msp-2* a montré que, de façon spécifique, ni la complexité au sein de la famille allélique 3D7, ni au niveau de la famille FC27 ne variait avec l'âge, et cela quelle que soit l'entité clinique considérée (tableau III). Cependant, en combinant les complexités (génotypes 3D7+FC27), un nombre maximal de génotypes parasitaires est observé dans les cas de PGSAS âgés d'un an (tableau III).

Selon la sévérité du paludisme, la complexité des génotypes FC27 était statistiquement plus élevée dans les cas de paludisme grave, avec ou sans anémie sévère, comparée aux cas de paludisme non grave (tableau III). Dans le groupe des patients avec paludisme grave, la complexité des génotypes 3D7 était significativement plus élevée dans les cas de PGSAS comparés aux cas de PGAS; à l'inverse, la complexité des génotypes FC27 était plus élevée dans les cas de PGAS comparée aux cas de PGSAS.

Polyclonalité de l'infection

La polyclonalité de l'infection, définie comme étant la proportion des enfants ayant plus d'un clone de *P. falciparum*, est représentée par la figure 1. Ainsi, quelque soit le tableau clinique, 79 % (75,6-83,4) des patients de l'échantillon étaient parasités par plus d'un clone de *P. falciparum*.

Figure 1.

Polyclonalité de l'infection par *P. falciparum* en fonction des entités cliniques.
Polyclonality of *P. falciparum* infection according to clinical entities

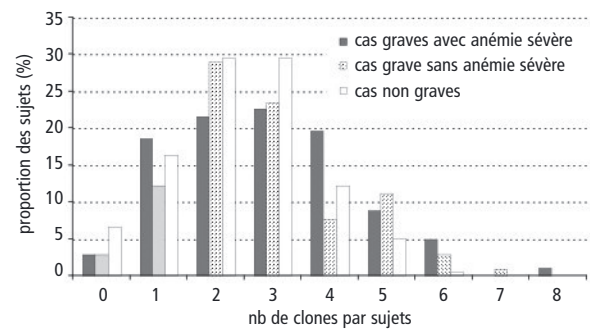


Tableau II.

Fréquence des familles alléliques FC27 et 3D7 en fonction de l'âge.
Frequency of the FC27 and 3D7 allelic families according to age.

âge	PGAS			PGSAS			PNG											
	n	3D7 %	FC27 IC	n	3D7 %	FC27 IC	n	3D7 %	FC27 IC									
< 1 an	40	75,5	63,9-87,1	46	86,8	77,7-95,9	22	81,5	67,1-95,9	25	92,6	82,9-102,3	10	76,9	53,9-99,8	11	84,6	65-104,2
1 an	26	78,8	64,5-92,5	31	93,9	85,7-102	32	94,1	86,2-102	30	88,2	77,4-99,0	24	80,0	65,7-94,3	27	90,0	79,3-100,7
2-5 ans	8	50	25,5-74,5	14	87,5	71,3-103,7	36	80,0	68,3-91,7	41	91,1	82,4-99,8	117	76,5	69,8-83,2	132	86,3	80,9-91,8
ρ		0,08		0,05		0,15		0,9		0,9		0,8						

Tableau III.

Complexité des génotypes de type FC27 et 3D7.
Complexity of the genotypes of FC27 and 3D7 types.

âge (années)	génotypes 3D7				génotypes FC27				génotypes 3D7 + FC27			
	cas graves	PGAS	PGSAS	PNG	cas graves	PGAS	PGSAS	PNG	cas graves	PGAS	PGSAS	PNG
< 1 an	1,2	1,1	1,2	1,4	1,8	1,8	1,6	1,1	3,0	3,0	2,8	2,5
1 an	1,3	1,0	1,5	1,3	1,9	1,9	1,8	1,2	3,2	2,9	3,4	2,5
2-5 ans	1,1	0,9	1,2	1,2	1,4	1,6	1,4	1,2	2,6	2,6	2,6	2,4
0,5-5 ans	1,2	1,0	1,3	1,3	1,7	1,8	1,6	1,2	2,9	2,9	2,9	2,5
valeur de p	0,2	0,4	0,1	0,7	0,06	0,6	0,3	0,9	0,08	0,7	0,05	0,9
comparaisons statistiques (valeur de p)												
PGSAS vs PNG	$p = 0,3$				$p < 0,001$				$p = 0,002$			
PGAS vs PNG	$p = 0,1$				$p < 0,001$				$p = 0,02$			
PGAS vs PGSAS	$p = 0,04$				$p < 0,04$				$p = 0,6$			
cas graves vs PNG	$p = 0,5$				$p < 0,001$				$p = 0,004$			

Selon les entités cliniques, la polyclonalité était de 78,5 % (70,5-86,5) chez les PGAS, 85 % (78,2-91,8) chez les PGSAS et 77 % (71,1-82,9) chez les PNG (figure 1); les différences observées ne sont pas statistiquement significatives.

Discussion

Dans cette étude, nous n'avons pas noté de différence dans la fréquence de la famille FC27 entre les trois entités cliniques. Ces résultats corroborent ceux de nombreuses autres études réalisées au Sénégal (29) ou au Gabon (21). Cependant, nos résultats s'opposent à ceux d'ENGELBRECHT *et al.* (8), qui ont trouvé, en Papouasie – Nouvelle-Guinée, une fréquence plus élevée de la famille FC27 chez des malades que chez des sujets asymptomatiques. Le constat d'une fréquence plus élevée des génotypes FC27 chez les malades a été aussi décrit par MARSHALL *et al.* (17) et FELGER *et al.* (12) en 1994; alors que NTOUMI *et al.* (20) notaient en 1995 une fréquence élevée de génotypes FC27 plutôt chez des porteurs asymptomatiques dans une région holoendémique de Dakar.

Par ailleurs, l'analyse de nos résultats a révélé que la fréquence des formes parasitaires 3D7 n'était pas différente entre cas graves et cas non graves. Cela confirme les résultats obtenus à Dakar entre les cas de paludisme grave et les cas non graves (25). Cette observation diffère des constats faits au Gabon, où il a été mis en évidence une fréquence plus élevée de la famille allélique 3D7 dans les infections aussi bien asymptomatiques que symptomatiques. Cependant, une prédominance des génotypes 3D7 a été notée dans notre étude dans les cas graves sans anémie sévère lorsqu'ils sont comparés aux cas graves avec anémie sévère. Ainsi, il y a une association statistiquement significative entre la présence de la famille allélique 3D7 et l'atténuation de la sévérité de l'anémie palustre.

Nous n'avons pas noté de corrélation significative entre l'âge des patients et la fréquence des familles alléliques FC27 et 3D7 quelle que soit l'entité clinique. D'ailleurs, de nombreuses études effectuées notamment en zone endémique ont fait le même constat (11, 27).

La complexité reflétant au niveau individuel la relation hôte-parasite, nous n'avons pas noté de variation significative avec l'âge en ce qui concerne la complexité des génotypes dans notre étude quelque soit l'état clinique du patient. Un constat similaire a été fait au Bénin (15) et au Ghana (18), alors que des variations significatives de la complexité des génotypes de *P. falciparum* avec l'âge ont été observées par NTOUMI *et al.* (20), qui rapportaient dans une étude réalisée en 1995 au Sénégal que de quatre génotypes de *P. falciparum* en moyenne par individu chez des enfants de 0 à 14 ans, la complexité passait à deux génotypes chez les sujets âgés. Nous n'avons pas pu observer une telle réduction dans notre étude, probablement parce que les enfants de notre étude avaient moins de 5 ans. Dans notre étude, la complexité des génotypes FC27 est statistiquement plus élevée dans les cas graves d'une manière générale que dans les cas non graves. Le nombre élevé de génotypes de type FC27 semble être donc associé à la gravité du paludisme. Cette conclusion est intéressante à relever car elle vient renforcer celles de BECK *et al.* (4), ENGELBRECHT *et al.* (8) et celles de FELGER *et al.* (10), qui ont indiqué que les génotypes parasitaires de type FC27 sont associés à un risque accru de paludisme grave. Par contre, le nombre moyen de génotypes 3D7 n'était pas différent entre cas graves et cas non graves, mais nous avons plutôt constaté une complexité des génotypes 3D7 plus élevée dans les cas graves sans anémie sévère comparés aux cas graves avec anémie sévère. Cette dernière observation conforte une fois de plus l'hypothèse

selon laquelle les souches 3D7 protégeraient contre la sévérité de l'anémie. Par ailleurs, la valeur de complexité obtenue dans les cas non graves serait proche de celle obtenue par FELGER *et al.* (11) en Tanzanie.

En analysant la complexité moyenne de l'ensemble des génotypes parasitaires, c'est-à-dire 3D7 et FC27 confondues, nous n'avons pas observé de différence statistiquement significative entre les entités cliniques de notre étude, contrairement à MOCKENHAUPT *et al.* (18) qui ont constaté qu'une complexité élevée contribuerait à la sévérité de l'anémie palustre. Les valeurs de complexité trouvées respectivement dans les cas graves avec anémie sévère et sans anémie sévère sont supérieures aux valeurs obtenues par ROBERT *et al.* (25) au Sénégal, respectivement $2,9 \pm 1,6$ et $2,9 \pm 1,4$ dans notre étude contre 2,4 et 2,3.

Une complexité d'ensemble (3D7+FC27) de 2,4 (similaire à la valeur obtenue dans notre étude dans les cas non graves) a été rapportée par FELGER *et al.* (11). Des valeurs de complexité de 5 et 4,5 (plus élevées que les nôtres) ont été en outre retrouvées dans des cas non graves par BECK *et al.* (4) en Tanzanie et ENGELBRECHT *et al.* (9) au Nigéria. Ces différences seraient liées au niveau de transmission plus élevé dans ces zones comparé à celui de notre zone d'étude.

Dans notre étude, le nombre de génotypes de *P. falciparum* varie de 0 à 8 par personne (figure 1). L'absence de différence dans la fréquence des infections multiples dans notre étude entre les entités cliniques pourrait s'expliquer par le niveau d'endémicité élevé lié à un taux d'inoculation assez élevé. Par ailleurs, il est à noter que 44,2 % des cas graves avec anémie sévère, 52,4 % des cas graves sans anémie sévère et 59,2 % des cas non graves hébergeaient deux ou trois génotypes différents de *P. falciparum*. Ce fait témoigne d'une polyclonalité élevée.

La présence élevée d'infections multiples constatées dans notre étude a été aussi décrite par SMITH *et al.* (27), qui ont rapporté en Tanzanie jusqu'à 5 génotypes différents de *P. falciparum* par personne. En 2000, ENGELBRECHT *et al.* (9) avaient noté au Nord du Nigeria, chez des sujets asymptomatiques, une polyclonalité d'environ 80 %, proche des 77 % de notre étude. Cette fréquence élevée de génotypes multiples de *P. falciparum* en Afrique sub-saharienne contraste avec des études effectuées en Papouasie – Nouvelle-Guinée, où FELGER *et al.* (12), ENGELBRECHT *et al.* (8) ont noté seulement un génotype par personne, rarement deux. Cette faible fréquence de génotypes multiples s'expliquerait par le bas niveau de transmission du paludisme dans cette région (9).

Conclusion

Cette étude sur le polymorphisme allélique de *P. falciparum* a permis de comparer non seulement la fréquence des familles alléliques FC27 et 3D7 de *P. falciparum*, mais aussi la complexité des génotypes et la polyclonalité de l'infection entre les trois entités cliniques. Ces résultats devront permettre de mieux comprendre la relation entre les aspects cliniques du paludisme et la diversité génétique des parasites qui sont impliqués dans les manifestations cliniques.

Remerciements

Nos sincères remerciements vont au personnel du CHR de Tenkodogo (notamment à celui du service de pédiatrie) et aux habitants des villages de Gourganbaga et Zano.

Cette étude a bénéficié d'un financement de MIM/OMS/TDR.

Références bibliographiques

- AL-YAMAN F, GENTON B, MOKELA D, RAIKO A, KATI S et al. – Human cerebral malaria: lack and significant association between erythrocyte resetting and disease severity. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 1995, **89**, 55-58.
- AL-YAMAN F, GENTON B, REEDER JC, ANDERS RF, SMITH T & ALPERS MP – Reduced risk of clinical malaria in children infected with multiple clones of *P. falciparum* in a highly endemic area: a prospective community study. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 1997, **91**, 602-605.
- BABIKER HA, LINES J, HILL WG & WALLIKER D – Population structure of *Plasmodium falciparum* in village with different malaria endemicity in east Africa. *Am J Trop Med Hyg*, 1997, **56**, 141-147.
- BECK H.P, FELGER I, VOUNATSOU R, HIRT R, TANNER M et al. – Effect of iron supplementation and malaria prophylaxis in infants on *P. falciparum* genotype and multiplicity of the infection. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 1999, **93**, S1/41-45.
- CARLSON J, HELMBY H, HILL A, BREWSTER D, GREENWOOD B & WAHLGREN M – Human cerebral malaria: association with erythrocyte resetting and lack of anti-rosetting antibodies. *Lancet*, 1990, **336**, 1457-1460.
- CLOUGH B, ATILOLA FA & PASVOL G – The role of resetting in the multiplication of *Plasmodium falciparum*: rosette formation neither enhances nor targets parasite invasion into uninfected red cells. *British Journal of haematology*, 1998, **100**, 99-104.
- CREASEY A, FENTON B, WALKER A et al. – Genetic diversity of *P. falciparum* shows geographical variation. *Am J Trop Med Hyg*, 1990, **42**, 403-413.
- ENGELBRECHT F, FELGER I, GENTON B, ALPERS M & BECK HP – *Plasmodium falciparum*: malaria morbidity is associated with specific merozoite surface antigen 2 genotypes. *Experimental Parasitology*, 1995, **81**, 90-96.
- ENGELBRECHT F, TÖGEL E, BECK H-P, ENWEZOR F, OETTLI A & FELGER I – Analysis of *P. falciparum* infections in a village community in Northern Nigeria : determination of msp2 genotypes and parasites-specific IgG responses. *Acta Tropica*, 2000, **74**, 63-71.
- FELGER I, HUBERT W, STEIGER S, SMITH T, WEISS N et al. – Multiplicity of *P. falciparum*. High multiplicity of *P. falciparum* is associated with reduced risk of clinical malaria in Tanzanian children. (Article non publié). 1996, 18 p.
- FELGER I, SMITH T, EDOH D, KITUA A, ALONSO P et al. – Multiple *Plasmodium falciparum* infection in Tanzanian infants. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 1999, **93**, S1/29-34.
- FELGER I, TAVUL L, KABINTIK S, MARSHALL V, GENTON B et al. – *Plasmodium falciparum*: extensive polymorphism in merozoite surface protein 2 alleles in an area with endemic malaria in Papua New Guinea. *Experimental Parasitology*, 1994, **79**, 106-116.
- GUPTA S, HILL A, KWIATKOWSKI D, GREENWOOD M, GREENWOOD B & DAY K – Parasite virulence and disease patterns in *Plasmodium falciparum* malaria. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 1994, **91**, 3715-3719.
- GUSTINCICH S et al. – A fast method for high-quality genomic DNA extraction from whole human blood. *Biotechniques*, 1991, **11**, 298-302.
- ISSIFOU S, DJIKOU S, SANNI A, LEKOULOU F & NTOUMI F – Pas d'influence de la saison de transmission ni de l'âge des patients sur la complexité et la diversité génétique des infections dues à *Plasmodium falciparum* à Cotonou (Bénin). *Bull Soc Pathol Exot*, 2001, **94**, 195-198.
- MAJORI G, SABATINELLI G & COLUZZI M – Efficacy of permethrin impregnated curtains for malaria vector control. *Med Vet Entomol*, 1987, **1**, 185-192.
- MARSHALL VM, ANTHONY RL, BANGS PURNOMO MJ, ANDERS RF & COPPEL RL – Allelic variants of *Plasmodium falciparum* merozoite surface antigen 2 (msp-2) in geographically restricted area of Irian Jaya. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 1994, **63**, 13-21.
- MOCKENHAUPT FP, EHRHARDT S, EGGELTE TA, MARKERT M, ANEMANA S et al. – *Plasmodium falciparum* multiplicity correlate with anaemia in symptomatic malaria. *Tropical Medicine and International Health*, 2003, **8**, 857-859.
- MODIANO D, SIRIMA BS, SAWADOGO A, SANOU I, PARE J et al. – Severe malaria in Burkina Faso: Influence of age and transmission level on clinical presentation. *Am J Trop Med Hyg*, 1998, **59**, 539-542.
- NTOUMI F, CONTAMIN H, ROGIER C, BONNEFOY S, TRAPE JF & MERCEREAU PUJALON O – Age dependent carriage of multiple *P. falciparum* merozoite surface protein-2 alleles in asymptomatic malaria infections. *Am J Trop Med Hyg*, 1995, **52**, 81-88.
- NTOUMI F, NOUNDOU-LANDJI J, LUTY AJF, DUBREUIL G & MILLET P – Polymorphisme allélique du gène msp2 de *Plasmodium falciparum* analysé à partir d'échantillons sanguins d'enfants gabonais. *Bull Soc Pathol Exot*, 2001, **94**, 183-187.
- OMS – Severe falciparum malaria. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 2000, **94**, 1-90.
- PETRARCA V, PETRANGELI G, ROSSI P & SABATINELLI G – Antimalarial campaign program in Ouagadougou (Burkina Faso): the *Anopheles gambiae* complex in the city of Ouagadougou and surrounding villages. *Ann Ist Super Sanita*, 1996, **22**, 189-191.
- RINGWALD P, PEYRON F, LEPERS J-P, RABARISON P, RAKOTOMALALA C et al. – Parasite virulence factors during falciparum malaria: rosetting, cytoadherence by cytokines. *Infection and immunity*, 1993, **61**, 5198-5204.
- ROBERT F, NTOUMI F, ANGEL G, CANDITO C, ROGIER C et al. – Extensive genetic diversity of *P. falciparum* isolates collected from patients with severe malaria in Dakar, Senegal. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 1996, **90**, 704-711.
- ROWE A, OBEIRO J, NEWBOLD C & MARSH K – *Plasmodium falciparum* resetting is associated with malaria severity in Kenya. *Infections and immunity*, 1995, **63**, 2323-2326.
- SMITH T, FELGER I, EDOH D, KITUA A, TANNER M & BECK HP – Dynamics of multiple *P. falciparum* infections in infants in a highly endemic area of Tanzania. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 1999, **93**, S1/35-39.
- VIRIYAKOSOL S, SIRIPOON N, PETCHARAPIRAT C, PETCHARAPIRAT P, JARRA W et al. – Genotyping of *Plasmodium falciparum* isolates by the polymerase chain reaction and potential uses in epidemiological studies. *Bull Organ Mond Santé*, 1995, **73**, 85-95.
- ZWETYENGA J, ROGIER C, TALL A, FONTENILLE D, SNOU-NOU G et al. – No influence of age on infection complexity an allelic distribution in *P. falciparum* infection in Ndiop, a Senegalese village with seasonal mesoendemic malaria. *Am J Trop Med Hyg*, 1998, **59**, 726-735.