

UNIVERSITÉS DES SCIENCES

Prix parrainé par Roche Diagnostics

PALUDISME CHEZ LA FEMME ENCEINTE : CARACTÉRISATION PHÉNOTYPIQUE ET MOLÉCULAIRE DES ISOLATS DE *PLASMODIUM FALCIPARUM* ASSOCIÉS

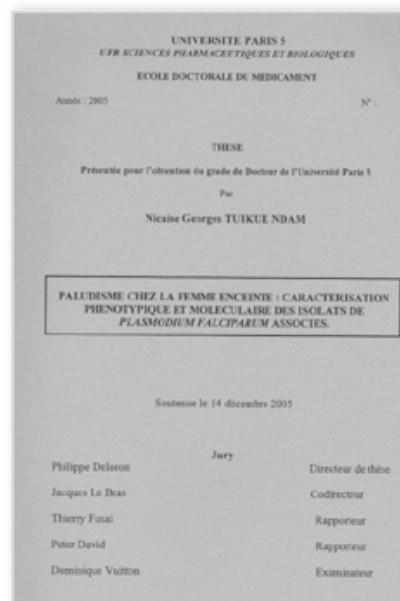
N.G. TUIKUE NDAM

Thèse de doctorat des sciences pharmaceutiques et biologiques
Université Paris 5

Présentée et soutenue publiquement le 14 décembre 2005

Courriel : tu_ndam@yahoo.fr

Ce travail avait pour but de caractériser les parasites responsables du paludisme gestationnel, en considérant des facteurs phénotypiques et moléculaires. La première partie repose essentiellement sur le génotypage des isolats de *Plasmodium falciparum* provenant des femmes infectées en cours de grossesse. Deux études ont ainsi été réalisées sur une cohorte de femmes enceintes sénégalaises. La quantification, au moyen d'une PCR couplée à une analyse de fragments fluorescents, des différents allèles *msp1* et *msp2* identifiés dans la circulation périphérique, placentaire et du cordon, a permis de mettre en évidence une grande homologie des populations parasitaires isolées des différents sites chez le même hôte. Les allèles concordants constituent plus de 80 % des génotypes identifiés. Les observations dégagées de l'étude des marqueurs *msp1* et *msp2* ont été repliquées sur le gène *Pfcr1*, certes moins polymorphe, mais plus informatif en termes de santé publique. En confortant cette homologie, nous avons par ailleurs montré de façon évidente l'impact de chimioprophylaxie de la sélection de mutants chimiorésistants parmi les parasites des femmes enceintes. La deuxième partie du travail aborde la caractérisation proprement dite des isolats parasitaires isolés de compartiments sanguins (périphérie et placenta) des femmes accouchant à Guediawaye, au Sénégal. Sur une cinquantaine d'isolats frais étudiés, il est apparu que tous ont pu adhérer aux ProteoGlycane Chondroïtine Sulfates (CSPGs) mais avec des degrés d'interaction variables. La cytoadhérence de ces parasites a permis de mettre en évidence une relation entre l'affinité des isolats placentaires vis-à-vis des récepteurs des CSPGs et la survie des faibles poids de naissance. Les isolats à fort pouvoir d'adhésion étant associés à un risque accru de survenue de faible poids de naissance (OR = 5,2 [1,1-25,1]). La caractérisation des gènes *var* codant les protéines parasitaires impliquées dans la cytoadhérence a également fait l'objet d'une étude. En dépit des données pertinentes générées sur la sous-famille *var1csa*, seuls les membres appartenant à la sous-famille *var2csa* ont été mis en évidence dans l'ensemble des isolats placentaires. Le niveau d'expression de ces gènes de la sous-famille *var2csa* étant associé au niveau d'adhérence aux CSPGs et à celui des anticorps spécifiques présents chez les femmes. La dernière partie du travail a examiné la réponse humorale spécifique au cours de la grossesse. Les taux élevés d'anticorps anti-*var2csa* en début de grossesse étaient associés à un moindre risque d'infection active du placenta à l'accouchement. Cette étude a permis de réaliser des avancées sur les populations parasitaires responsables du paludisme gestationnel et, surtout, d'élucider le membre de la famille des gènes *var* spécifiquement exprimé par ces parasites, confortant ainsi la candidature du gène *var2csa* dans l'optique du développement d'un vaccin contre le paludisme gestationnel ■



ETUDE DU RÔLE DES INTÉGRONS DANS LA MULTIRÉSISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES BACTÉRIES ENTÉROPATHOGÈNES ISOLÉES EN AFRIQUE SUB-SAHARIENNE

A. GASSAMA SOW

Thèse de doctorat en sciences, technologie et santé
Université de Limoges

Présentée et soutenue publiquement le 11 octobre 2004

Au Sénégal, les diarrhées infectieuses sont la cause d'une forte morbidité et mortalité particulièrement chez les enfants. L'utilisation des antibiotiques a été déterminante dans le traitement des diarrhées bactériennes, mais elle a aussi été à l'origine d'une forte pression de sélection touchant beaucoup d'espèces bactériennes et du développement de résistances aux antibiotiques les plus couramment prescrits car plus accessibles aux populations. La forte antibiorésistance observée chez les bactéries entériques aux molécules les plus souvent utilisées nous a amené à étudier les supports génétiques de ces résistances et plus précisément la caractérisation d'intégrons en précisant leur rôle dans la dissémination de la résistance chez des bactéries entéro-pathogènes. Les intégrons constituent un système de capture de gènes particulièrement performant sans doute largement responsables de la dissémination des gènes de résistance aux antibiotiques au sein du monde bactérien. Peu d'études ont été réalisées sur les intégrons en Afrique sub-saharienne. Au Sénégal, aucune

Prix de thèses du Pharo

étude n'a été réalisée sur ce sujet ; ce travail constitue la première étude effectuée chez les bactéries à Gram négatif entéropathogènes, sélectionnées pour leur multirésistance. Une meilleure connaissance de la distribution des intégrons chez les souches multirésistantes et de l'organisation de ces intégrons contribuera à mieux comprendre leur évolution et à évaluer leur rôle dans la multirésistance des bactéries entériques. Afin d'évaluer l'importance clinique des intégrons, nous avons étudié la prévalence des intégrons chez des souches d'*Escherichia coli* entéro-invasifs, *Escherichia coli* entéro-agrégatifs, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, *Shigella* sp (un nouveau sérotype en cours d'identification) et *Salmonella keurmassar* multirésistantes aux antibiotiques, isolées dans différents hôpitaux de Dakar, mais aussi du Centre National Sénégalais des Entérobactéries (CNSE) sis à l'Institut Pasteur de Dakar. Cette multirésistance concerne les bêtalactamines, les aminosides, les cyclines, les sulfamides, le triméthoprime et les phénicoles. Nous avons d'abord étudié la clonalité des souches par des études d'épidémiologie moléculaire (Random Amplified Polymorphic DNS et électrophorèse en champ pulsé), puis nous avons recherché la présence d'intégrons de classe 1, 2 et 3. A l'aide d'expériences de clonage et séquençage, nous avons caractérisé la structure de ces intégrons et leur environnement génétique. Nous avons également cherché à savoir si les résistances aux antibiotiques portées par l'intégron étaient transférables. Au cours de ce travail de thèse, nous avons caractérisé certains intégrons déjà décrits chez des souches bactériennes isolées dans d'autres pays. Ceci suggère que les intégrons, contrairement à ce qui avait été écrit dans les premières publications sur le sujet, sont beaucoup plus stables et se propagent entre bactéries via des plasmides ou des transposons. Nous avons d'ailleurs montré que la majorité des intégrons décrits dans ce travail sont portés par des plasmides conjuguatifs. Par ailleurs, parmi les intégrons décrits dans ce travail, nous avons caractérisé de nouveaux intégrons, originaux par leur contenu en cassettes ou par leur structure. Un intégron de classe 1 avec un arrangement de deux cassettes décrites une seule fois auparavant dans les intégrons distincts a été caractérisé chez *Salmonella keurmassar*. Nous avons aussi décrit pour la première fois des intégrons de classe 2 présentant une région 3° tronquée. Ces travaux ont permis de montrer la grande diversité d'intégrons chez des souches entéropathogènes isolées au Sénégal ■



UNIVERSITÉS FRANÇAISES

Prix parrainé par GlaxoSmithKline

LA DÉTECTION DES MÉDICAMENTS CONTREFAITS PAR INVESTIGATION DE LEUR AUTHENTICITÉ ETUDE PILOTE SUR LE MARCHÉ PHARMACEUTIQUE ILLICITE DE CÔTE D'IVOIRE

C. LEGRIS

Thèse de doctorat en pharmacie
Université Henri Poincaré - Nancy I

Présentée et soutenue publiquement le 16 décembre 2005
Courriel : c10_legris@hotmail.com

Selon l'Organisation mondiale de la Santé, « un médicament contrefait est un médicament qui est délibérément et frauduleusement muni d'une étiquette n'indiquant pas son identité et/ou sa source véritable. Il peut s'agir d'une spécialité ou d'un produit générique, et parmi les produits contrefaits, il en est qui contiennent les bons ingrédients ou de mauvais ingrédients, ou bien encore pas de principe actif et il en est d'autres où le principe actif est en quantité insuffisante ou dont le conditionnement a été falsifié ». En accord avec cette définition, la détection des contrefaçons doit donc passer par l'investigation de l'authenticité des médicaments auprès des autorités de régulation pharmaceutique et des industries pharmaceutiques, et doit permettre la mise en évidence d'une intention malhonnête. Cette méthode s'oppose ainsi en partie aux techniques usuelles de détection, basées uniquement sur l'évaluation de la qualité physico-chimique des médicaments. Relativement récente, elle n'avait été que rarement utilisée et peu de données permettaient d'apprécier sa faisabilité et sa pertinence. Une étude pilote a donc été réalisée sur le marché illicite de Côte d'Ivoire en 2004 afin de tester cette méthode et, par la même occasion, d'obtenir des estimations sur la proportion de médicaments contrefaits et non-conformes dans ce secteur. Il en ressort que, malgré une mise en œuvre peu aisée et des problèmes de sensibilité, l'investigation de l'authenticité des médicaments permet de mettre à jour des contrefaçons qui seraient passées inaperçues avec des méthodes analytiques. En outre, on constate que les « médicaments de la rue » collectés dans notre étude sont victimes aussi bien de contrefaçon (17%) que de la mauvaise qualité (28%), mais dans des proportions qui ne semblent pas aussi inquiétantes que ce qui est habituellement avancé pour l'Afrique Noire ■



UNIVERSITÉS FRANCOPHONES

Prix parrainé par Sanofi-aventis

ETUDE DE LA CHIMIOSENSIBILITE *IN VITRO* DE *P. FALCIPARUM* AU CAMBODGE

LIM PARATH

Thèse de doctorat en médecine

Université des sciences de la santé Phnom Penh

Présentée et soutenue publiquement le 14 février 2005

Courriel : pharath@pasteur-kh.org

Un microtest isotopique classique a été utilisé pour déterminer la chimio-sensibilité *in vitro* de 351 isolats de *P. falciparum* récoltés entre 2001 et 2002 dans huit régions du Cambodge. La sensibilité des parasites a été examinée pour quatre antipaludiques majeurs : la chloroquine, la méfloquine, la quinine et l'artésunate et pour une nouvelle molécule « ferrochloroquine » dérivée de la chloroquine (CQ) par adjonction d'un noyau de fer. L'étude montre que les parasites sont pour la plupart fortement résistants à la chloroquine. En revanche, la « ferrochloroquine » (ferro-CQ) est active (moyenne géométrique de CI^{50} : MGCI⁵⁰ 30,6 nM) sur les isolats cambodgiens, même ceux provenant des régions Ouest où les parasites sont multirésistants. Contrairement à ce qui est rapporté pour la CQ la réponse des parasites à la ferro CQ, ne dépend pas de la présence de la mutation KT76 dans le marqueur *Pfprt*. De nombreux isolats répondent également moins bien à la méfloquine. Par contre, presque tout les isolats répondent de façon très satisfaisante à la quinine et à l'artésunate, avec respectivement 0,67 % et 1,7 % d'isolats résistants. La distribution des CI^{50} moyennes indique que les parasites à l'Ouest du Cambodge comptent pour beaucoup dans les poly chimiorésistances observées dans ce pays. La situation des résistances relevée en 2001 ne diffère pas significativement de celle observée en 2002. Cela indique que la progression des résistances est en passe d'être maîtrisée au Cambodge, même si de gros progrès restent encore à faire en ce qui concerne l'utilisation des antipaludiques et le contrôle des circuits de distribution. La diminution des sensibilités à la méfloquine à l'Ouest du Cambodge et la détection d'une corrélation positive entre les réponses à l'artésunate de la méfloquine et de la quinine suggèrent que la validité de la combinaison A+M, pourrait être compromise à moyen terme, et que des traitements de remplacement ont besoin d'être développés au plus vite. La ferro-CQ, associée à un dérivé de l'artémisinine représente donc une alternative intéressante pour le traitement du paludisme dans les régions de multi-résistance. Ces résultats, bien que préliminaires, sont encourageants et justifient largement la mise en place d'études cliniques avec la ferro-CQ ■

