

-P-TAP

© ELSEVIER
Paris 1985Ann. Inst. Pasteur/Immunol.
1985, 136 C, 323-341

SPÉCIFICITÉ ANTIGÉNIQUE
DES ANTICORPS ANTIPLASMODIAUX
EN ZONE D'ENDÉMIE : ESSAI DE CORRÉLATION
AVEC LE DÉVELOPPEMENT
DE L'IMMUNITÉ PROTECTRICE

par J. Roffi ⁽¹⁾, P. Portales ⁽¹⁾, G. Delgado ⁽¹⁾, G. Parent ⁽²⁾
et S. Chevassus-Agnès ⁽²⁾

⁽¹⁾ Institut Pasteur de Dakar, BP 220, Dakar et
⁽²⁾ ORSTOM et ORANA, BP 8089, Dakar (Sénégal)

SUMMARY

ANTIGENIC SPECIFICITY OF ANTIPLASMODIAL ANTIBODIES
IN AN ENDEMIC AREA:
AN ATTEMPT AT CORRELATION
WITH INDUCTION OF PROTECTIVE IMMUNITY

Asexual blood-stage antigens from *Plasmodium falciparum* related to the development of protective immunity in an endemic area were identified by statistical comparison of antigens recognized by adult immune sera with those recognized by non-immune subjects (children).

After metabolic labelling of parasites in culture and immunoprecipitation, target antigens of seric antibodies were separated by polyacrylamide gel electrophoresis/SDS and detected by fluorography. Two groups of antigens were thus identified: 1) the major bands, recognized by more than 90% of the sera regardless of the patients' immune status; and 2) the minor bands, less intense on fluorograms. The corresponding antibodies were more frequent in children who had not yet acquired protective immunity than in immune adults. Thus, these minor bands do not appear essential for protection, which might instead be related to the presence of some major antigens, such as 210/196-, 136-, 121- and 80-Kd antigens. These antibodies persist for at least one year, independently of fluctuations in the rate of transmission by *Anopheles*.

KEY-WORDS: *Plasmodium falciparum*, Humoral immunity, Premunition; Endemic area, Asexual blood stage antigens, Vaccination.

Manuscrit reçu le 5 mars 1985, accepté le 29 mai 1985.



INTRODUCTION

On sait que dans les régions d'endémie palustre, l'homme acquiert peu à peu une immunité suffisante pour le mettre à l'abri des conséquences graves de la maladie. Le rôle des anticorps dans cette prémunition a été mis en évidence par transfert passif de sérum immun chez l'homme [7]. La mise au point d'un vaccin antimalarique suppose l'identification préalable des cibles antigéniques de ces anticorps protecteurs.

Le cycle du parasite présente deux points d'impact privilégiés pour le système immunitaire de l'hôte vertébré :

- les sporozoïtes qui comportent un antigène majeur de surface, capable d'induire une immunité protectrice spécifique de stade ;
- les formes sanguines asexuées, en particulier les mérozoïtes, qui présentent également divers antigènes protecteurs [8].

L'immunité induite par les sporozoïtes n'entraîne aucune protection contre les stades sanguins. Si un seul sporozoïte échappe aux défenses immunitaires de l'hôte, il peut s'ensuivre une infection sanguine grave contre laquelle les anticorps anti-sporozoïtes seront inefficaces. C'est pour cette raison que la vaccination antimalarique doit également faire appel aux antigènes de stade sanguin asexué, voire aux antigènes de gamétocyte.

Ce travail se propose d'identifier les antigènes plasmodiaux de stade sanguin asexué liés au développement de l'immunité protectrice en zone d'endémie. Nous avons effectué, pour cela, une étude statistique des spécificités antigéniques des anticorps antiplasmodiaux de 171 sérums prélevés en Afrique tropicale, et nous avons essayé d'établir une corrélation entre l'état immunitaire, évalué selon des données cliniques et parasitologiques, et l'analyse immunochimique des antigènes reconnus par ces sérums.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Sérums.

Nous avons comparé deux populations bien distinctes quant à leur statut immunitaire :

- 1) des enfants de 10 mois à 10 ans (77 sérums) ; cette tranche d'âge se caractérise en zone hypoendémique sahélienne par sa sensibilité au *Plasmodium* et par l'acquisition progressive d'anticorps protecteurs ;

cpm = coups par minute.
EGPA = électrophorèse sur gel de polyacrylamide.
IFI = immunofluorescence indirecte.
Kd = kilodalton.
MC = manifestation clinique.

ORANA = Organisme de Recherches sur l'Alimentation et la Nutrition en Afrique.
ORSTOM = Office de la Recherche Scientifique et Technique Outre Mer.
PM = poids moléculaire.
SDS = sodium dodécyl sulfate.

2) des adultes de 20 ans ou plus, immuns vis-à-vis du paludisme mais présentant parfois une parasitémie bien tolérée sans manifestation clinique (94 sérums).

Nous avons écarté de cette étude la tranche d'âge intermédiaire (11 à 19 ans) au cours de laquelle l'immunité protectrice achève de s'installer.

Pour chaque sujet, nous disposons de renseignements cliniques, parasitologiques (frottis sanguin) et sérologiques (immunofluorescence indirecte ou IFI).

Les sérums proviennent pour la plupart du Sénégal : région du Fleuve (enquête PODOR, ORSTOM/ORANA), région du Cap Vert (Hôpital Principal de Dakar), région de Thiès (Dispensaire de Bandia), région du Sénégal Oriental (Kédougou, mission Institut Pasteur de Dakar 1984).

Certains sérums d'adultes nous ont été adressés par l'Institut Pasteur de Bangui (République Centrafricaine).

Les témoins négatifs proviennent de France (Institut Pasteur de Paris et Hôpital Militaire Laveran de Marseille).

Parasites.

Deux isolats de *P. falciparum* ont été étudiés :

— la souche Ouganda Palo Alto fournie par le Laboratoire de Parasitologie Expérimentale de l'Institut Pasteur de Paris (Dr Pereira da Silva) ;

— une souche sauvage isolée en Gambie et adaptée à la culture par le Dr Marsh (Medical Research Council, Banjul).

Culture.

Elle a été effectuée en cloche à bougie selon la méthode de Trager et Jensen [34], légèrement modifiée : le milieu RPMI-1640 est additionné de 10% de sérum humain AB, de glutamine 5 mM, d'Hepes 35 mM, d'hydrogène-carbonate de sodium 25 mM, d'hypoxanthine 5,5 mM, de glucose 11 mM, de glutathion réduit 0,1 mM et de kanamycine à raison de 50 µg/ml. L'hématocrite a été fixé à 5% avec des globules rouges humains O⁺.

Marquage métabolique.

Il a été réalisé par incorporation de ³⁵S-méthionine (200 µCi/ml) pendant 6 h sans synchronisation préalable lorsque les cultures présentaient une parasitémie de l'ordre de 15%. Les globules rouges parasités ont été lavés avec une solution de phosphate/CiNa 0,15 M pH 7,2 (PBS) puis lysés avec un tampon Tris 10 mM, CiNa 0,15 M, EDTA 10 mM pH 8,3, additionné 1% de Triton-X100 et d'inhibiteurs de protéases (phényl-méthyl-sulfonyl-fluorure 1 mM, tolyl-L-lysine-chlorométhylcétone 1 mM, iodo-acétamide 5 mM). Le mélange est laissé en contact pendant 20 min dans de la glace puis centrifugé à 10.000 g pendant 5 min à 4° C. Le surnageant ainsi obtenu constitue l'extrait antigénique. L'utilisation d'une culture asynchrone permet d'obtenir les antigènes correspondant à chaque stade de développement intraérythrocytaire. La radioactivité précipitable par l'acide trichloracétique à 10% est évaluée à l'aide d'un compteur à scintillation liquide (Intertechnique type SL 3000).

Immunoprécipitation.

Les sérums à étudier (10 µl) sont incubés pendant 18 h à 4° C en présence d'extrait parasitaire radiomarqué (300 000 à 500 000 cpm). *Staphylococcus aureus* (souche Cowan I) est utilisé selon la technique de Kessler [17], pour fixer les immuncomplexes ainsi formés.

Migration électrophorétique.

Après centrifugation et lavage, les immuncomplexes sont dissociés en présence de 5% de SDS et de 10% de 2-mercaptoéthanol pendant 2 min à 100° C, puis centrifugés à nouveau. Les antigènes sont séparés en présence de SDS par électrophorèse sur gel de polyacrylamide (EGPA) à 7,5% surmonté d'un gel de concentration à 4,5%, selon la technique de Laemmli [19]. Les dépôts sont d'environ 10.000 cpm. Les poids moléculaires (PM) apparents ont été évalués grâce à des étalons commerciaux marqués par le ¹⁴C (myosine 200 Kd, phosphorilase B 97 Kd, albumine bovine 69 Kd, ovalbumine 46 Kd et anhydrase carbonique 30 Kd).

Fluorographie.

Après migration, les gels sont déshydratés dans le méthanol à 50%, imprégnés de 2-5-diphényloxazone à 11,1 g/l dans le diméthylsulfoxyde, puis desséchés sous vide et exposés à -70° C contre un film X-O-MAT pendant 4 à 7 jours.

Analyse statistique des résultats ().*

Elle a été réalisée sur ordinateur IBM 4321 avec le logiciel d'analyse de données BMDP (Los Angeles Californie).

RÉSULTATS

Antigènes identifiés.

Les sérums européens négatifs donnent parfois quelques bandes, surtout dans la zone des faibles poids moléculaires. Le staphylocoque Cowan I pourrait être responsable d'adsorption non spécifique dans les conditions de l'expérience, il peut en effet fixer d'autres protéines que les IgG [20]. En présence d'extrait antigénique radiomarqué et, en l'absence de sérum, il donne un léger bruit de fond.

Les sérums provenant de zone d'endémie donnent, dans les mêmes conditions, 25 à 30 bandes caractérisées par leur PM apparent en EGPA/SDS. Les antigènes ainsi identifiés figurent sur le tableau I. Au-dessus de 200 Kd, l'évaluation des PM devient peu précise, les valeurs données pour ces fractions sont donc approximatives.

Certaines bandes, dites « majeures », se caractérisent non seulement par leur intensité mais aussi par le fait qu'elles sont reconnues par pratiquement tous les sérums africains. En zone d'endémie, 92% des sérums examinés possèdent des anticorps dirigés contre les antigènes 196- et 121-Kd et 88% contre les fractions 136- et 80-Kd (fig. 1).

Les bandes « mineures » sont moins intenses et moins fréquemment reconnues.

Comparaison des souches Palo Alto et Banjul.

L'analyse antigénique des deux isolats a été effectuée en parallèle avec 26 sérums individuels et avec un pool d'immunsérums. Les différences

(*) S. Chevassus-Agnès.

TABLEAU I. — Principaux antigènes reconnus
par des sérums prélevés en zone d'endémie
(souches Palo Alto et Banjul).

PM (Kd) ⁽¹⁾	Remarques
>300 ⁽²⁾	Ne semble pas avoir été signalé auparavant
270 ⁽²⁾	Parfois sous forme de doublet
240 ⁽²⁾	Parfois sous forme de doublet
215 ± 2 (souche Banjul) 196 ± 3 (souche Palo Alto)	Bande majeure, parfois estompée et remplacée par de nouvelles bandes dans la zone 70-85 Kd
180 ± 3	—
72 ± 2	—
153 ± 4	—
145 ± 2	—
136 ± 2	Bande majeure parfois sous forme de doublet
121 ± 3	Bande majeure parfois sous forme de doublet
108 ± 2	—
99 ± 2	—
94 ± 3	—
87 ± 1	—
80 ± 1	Bande majeure
76 ± 1	—
61 ± 3	—
50 ± 2	Bande majeure
45 ± 1	Bande majeure, absorption non spécifique importante
40 ± 1	Bande majeure, absorption non spécifique importante
38 ± 1	—
35 ± 1	Absorption non spécifique importante

⁽¹⁾ Moyennes de 8 à 43 déterminations ± écarts-types de la moyenne.

⁽²⁾ Valeurs approximatives.

qualitatives observées portent sur quelques fractions de PM élevé (≥ 200 Kd) principalement sur une bande majeure dont le PM apparent a été évalué à 196 Kd avec la souche Palo Alto et 210-Kd avec la souche Banjul. Ce résultat confirme l'existence d'un polymorphisme au niveau de cet antigène [1, 13, 21], la réponse immunitaire étant dirigée contre des déterminants non polymorphes [14].

Pour les autres antigènes, les deux souches diffèrent parfois par l'intensité relative de certaines bandes (fig. 2).

Antigènes reconnus selon l'âge.

En zone d'endémie, les enfants possèdent plus souvent que les adultes des anticorps dirigés contre les fractions mineures. Les différences les plus significatives portent sur les antigènes >300-, 250-, 76-, 40- et 38-Kd, (tableau II).

TABLEAU II. — Antigènes préférentiellement reconnus selon l'âge.

Antigènes (Kd) (souche Palo Alto)	Enfants ⁽¹⁾ N=77	Adultes ⁽²⁾ N=89	P ⁽³⁾
>300	51	18	<0,0001
240	42	11	<0,0001
180	46	30	0,03
172	49	31	0,02
153	61	39	0,005
108	57	31	0,0009
87	61	37	0,002
76	85	57	<0,0001
40	96	74	<0,0001
38	84	40	<0,0001

Les valeurs données indiquent, pour chaque antigène, le pourcentage de sérums ayant des anticorps correspondants par rapport à l'effectif (N) de la classe correspondante.

Seuls figurent sur le tableau les antigènes pour lesquels une différence significative a été observée entre les deux classes.

⁽¹⁾ Enfants de 10 mois à 10 ans.

⁽²⁾ Adultes \geq 20 ans.

⁽³⁾ P représente la significativité du χ^2 (limite de significativité : P=0,05).

Il n'y a par contre aucune différence de fréquence au niveau des bandes majeures mais celles-ci sont généralement moins intenses chez les jeunes enfants.

Fig. 1. — Antigènes plasmodiaux (*P. falciparum*, souche Ouganda Palo Alto) reconnus par des sérums d'adultes immuns en zone d'endémie.

Piste 1 : étalons de poids moléculaire.

Pistes 2 à 7 : sérums individuels.

Pistes 8 et 9 : pools de sérums.

Les fractions antigéniques majeures sont indiquées à droite.

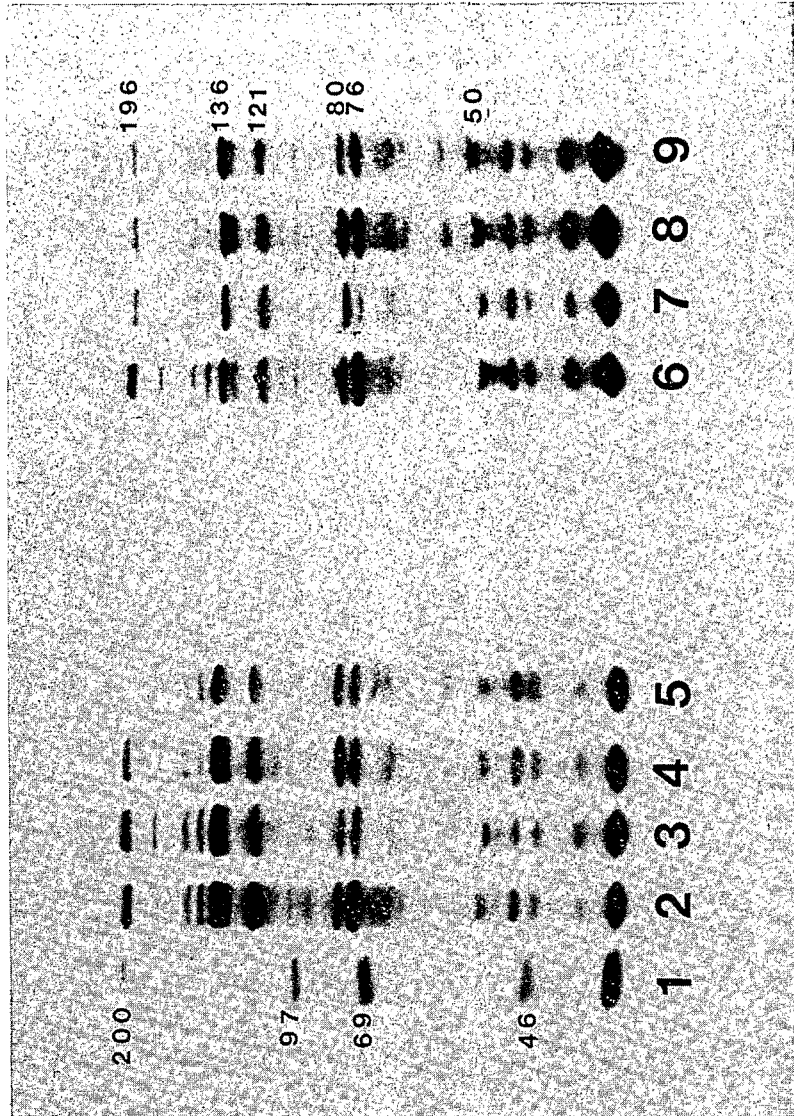


Fig. 1

FIG. 2. — *Comparaison de deux souches de Plasmodium falciparum.*

Fluorogramme après immunoprécipitation avec un pool de sérums positifs.

Piste 1 : marqueurs de poids moléculaire.

Piste 2 : souche Palo Alto.

Piste 3 : souche Banjul.

Les différences portent sur les antigènes de PM élevé (flèches).

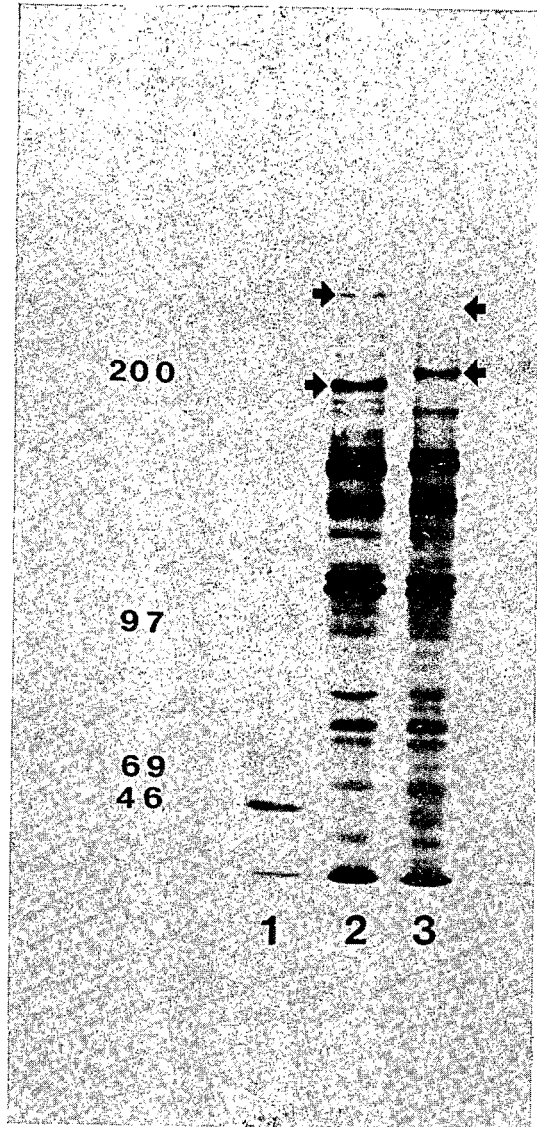


FIG. 2

Antigènes reconnus et parasitémie.

Les anticorps dirigés contre les antigènes majeurs se retrouvent avec la même fréquence chez les sujets parasités ou non parasités. Certaines fractions mineures, par contre, sont plus souvent reconnues en présence de parasite (tableau III).

TABLEAU III. — Antigènes reconnus et parasitémie.

Antigènes (Kd) (Souche Palo Alto)	Parasites+ N=55	Parasites- N=99	P
> 300	53	23	0,002
145	55	72	0,03
108	56	33	0,005
99	42	22	0,01
61	33	9	0,0002
50	40	20	0,002

Mêmes conventions que pour le tableau II.
Seuls figurent sur ce tableau les antigènes pour lesquels une différence significative a été observée entre sujets parasités et non parasités.

La différence la plus significative porte sur la bande 61-Kd qui est reconnue par un tiers des anticorps des sujets parasités et un dixième seulement de ceux des non parasités.

La bande 145-Kd représente le seul antigène à être plus souvent reconnu par les anticorps des sujets non parasités.

Antigènes reconnus et manifestations cliniques (MC).

Nous avons comparé les sujets présentant des signes cliniques caractéristiques du paludisme (fièvre, céphalées, splénomégalie, anémie et, parfois, troubles neurologiques sévères) associés à une parasitémie souvent importante, et les sujets vivant dans les mêmes régions mais indemnes de toute manifestation pathologique imputable au paludisme et sans parasite décelable à l'examen microscopique. Pour les premiers, les prélèvements ont été effectués pendant la période correspondant aux MC (manifestations cliniques).

La comparaison a été effectuée sur l'ensemble de la population étudiée et, pour éliminer les variations imputables aux différences d'âge, entre les groupes d'enfants MC⁺ et MC⁻ (tableau IV).

D'une façon générale, les antigènes majeurs sont reconnus de la même façon, qu'il y ait ou non manifestation pathologique. Les seules différences significatives observées portent sur certaines fractions mineures (notamment >300-Kd) qui sont souvent reconnues par les sujets malades.

TABLEAU IV. — Antigènes reconnus et manifestations cliniques (MC).

Antigènes (Kd) (Palo Alto)	Ensemble			Enfants		
	MC+ (N=39)	MC- (N=143)	P	MC+ (N=30)	MC- (N=47)	P
>300	69	24	<0,0001	61	40	0,0247
121	97	85	NS	100	87	0,0416
108	66	37	0,013	70	49	NS
76	84	64	0,015	90	83	NS
45	90	45	0,003	93	72	0,02
38	72	59	NS	73	91	0,032

Mêmes conventions que pour le tableau II.

Les résultats expriment le pourcentage de sérums ayant des anticorps contre l'antigène considéré par rapport à l'effectif (N) de la classe correspondante.

Seuls figurent sur ce tableau les antigènes pour lesquels les différences significatives ont été observées entre les classes.

NS = différence non significative.

FIG. 3. — Stabilité de la spécificité antigénique des anticorps antiplasmodiaux au cours de l'année.

Exemple de deux sérums d'enfant examinés à intervalles réguliers pendant 12 mois.

Pistes 1 à 5 : enfant de 9 ans.

1^{er} mai 1982 (parasites 0, IFI 1/60).

2 juillet 1982 (parasites 0, IFI 0).

3 octobre 1982 (parasites +, IFI 1/30).

4 janvier 1983 (parasites ++, IFI 1/240).

5 mars 1983 (parasites ++, IFI 1/160).

Pistes 6 à 10 : enfant de 10 ans.

6 mai 1982 (parasites + + + +, IFI 1/160).

7 juillet 1982 (parasites + + +, IFI 1/120).

8 octobre 1982 (parasites +, IFI 1/480).

9 janvier 1983 (parasites +, IFI 1/80).

10 mars 1983 (parasites 0, IFI 1/160).

Notation de la parasitémie :

0 = aucun parasite décelé après 10 min de lecture ;

+ = moins de 100 globules rouges parasités/mm³ sang ;

++ = de 100 à 499 globules rouges parasités/mm³ sang ;

+++ = de 500 à 4 999 globules rouges parasités/mm³ sang ;

++++ = de 5 000 à 49 999 globules rouges parasités/mm³ sang.

FIG. 4. — Antigènes reconnus par des sérums d'enfants paludéens présentant des troubles neurologiques (sérums individuels).

La flèche indique la fraction de PM élevé (>300 Kd).

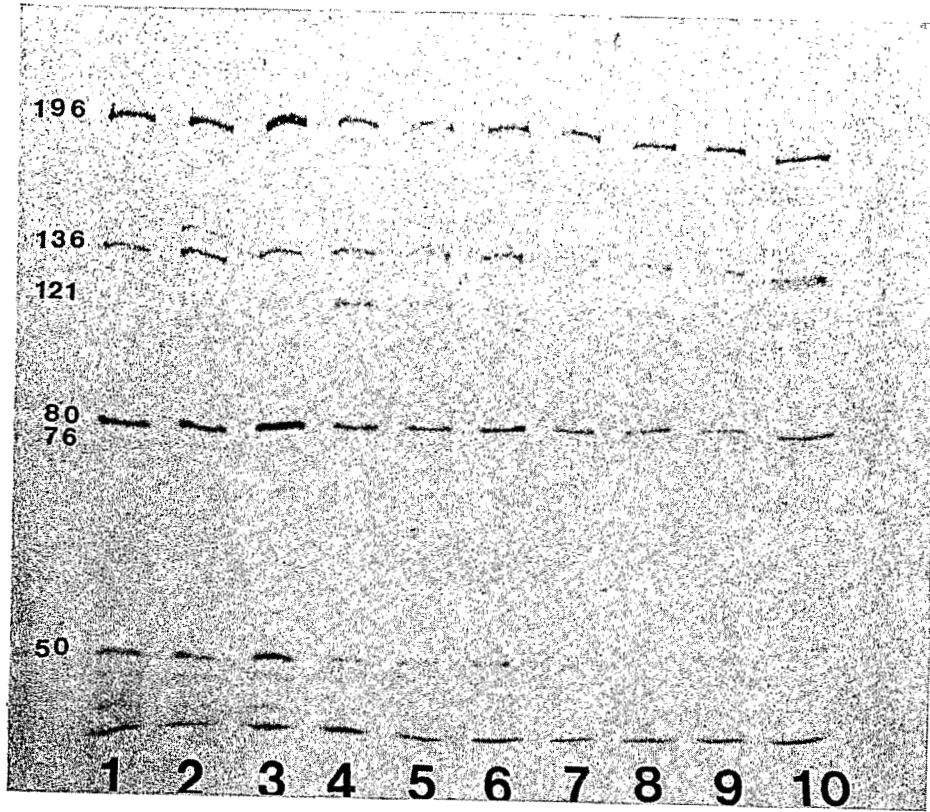


FIG. 3

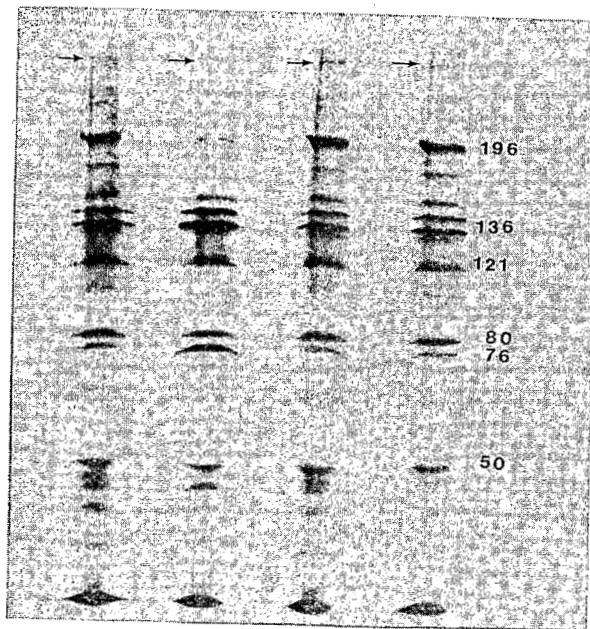


FIG. 4

Cinétique des antigènes reconnus.

Le sang de 14 sujets âgés de 4 à 75 ans a été prélevé régulièrement tous les trois mois pendant quinze mois pour permettre de suivre l'évolution des spécificités antigéniques des anticorps sériques en fonction du niveau de transmission anophélienne. Dans la région étudiée, ayant un climat typiquement sahélien (Nord du Sénégal), la période de transmission est brève (fin août à mi-décembre). Malgré les variations considérables du risque d'infestation, les spécificités antigéniques des anticorps sériques de tous les sujets examinés se sont avérées remarquablement stables tout au long de la période étudiée. Elles ne semblent pas affectées à moyen terme par les fluctuations du contexte épidémiologique, parasitologique ou sérologique, ce qui tend à démontrer la persistance des anticorps correspondants (fig. 4).

La densitométrie des bandes montre également que l'importance relative des fractions reconnues varie peu. Toutefois, dans le cas de fortes parasitémies, certaines bandes majeures (136- et 121-Kd) sont parfois renforcées.

DISCUSSION

Trois approches ont été proposées pour tenter de mettre en évidence les antigènes cibles d'anticorps présumés protecteurs. Les extraits antigéniques radiomarqués sont mis en présence, soit de sérums animaux rendus immuns [12, 16, 28, 29, 32], soit d'anticorps monoclonaux inhibant la croissance du parasite en culture [15, 24, 25, 31] ou encore de sérums humains provenant de zone d'endémie et généralement sélectionnés en raison de leur pouvoir inhibiteur *in vitro* [1, 2, 3, 4, 5, 6, 15, 18, 26, 27, 29, 30]. Selon plusieurs auteurs [6, 10, 22], il n'y aurait pas de corrélation directe entre le pouvoir protecteur mis en évidence par transfert passif d'immunité et l'inhibition de culture, qui ne prend pas en compte les phénomènes probables de coopération entre anticorps et cellules immunitaires. Par ailleurs, les études effectuées sur des sérums d'animaux artificiellement immunisés révèlent de nombreuses spécificités antigéniques qui peuvent être sans rapport avec l'infection naturelle [8]. Pour ces raisons, nous avons sélectionné nos sujets uniquement selon des critères cliniques, parasitologiques et épidémiologiques, et essayé d'établir une corrélation entre le statut immunitaire et les spécificités antigéniques des anticorps rencontrés en zone d'endémie.

La variété des antigènes reconnus par les sujets immuns montre qu'il n'y a pas d'antigène protecteur de stade sanguin, immunodominant, comparable à celui que l'on trouve à la surface des sporozoïtes. En zone d'endémie, la quasi-totalité des sujets possèdent des anticorps dirigés contre les antigènes « majeurs » tels que les fractions 210/196-, 136-, 121- et 80-Kd. Le statut immunitaire, la présence ou l'absence de parasites ou de MC ne semble pas influencer ces spécificités antigéniques. On remarque toutefois que chez les enfants non encore immuns, les bandes correspon-

dant aux fractions majeures sont souvent moins intenses que chez les adultes. Les différences les plus importantes portent sur les fractions mineures, qui sont plus fréquemment reconnues chez les enfants non protégés que chez les adultes immuns. C'est le cas, en particulier, de l'antigène > 300-Kd qui semble corrélé négativement avec le niveau de protection. Les anticorps dirigés contre les antigènes mineurs ne semblent donc pas indispensables à la protection puisqu'ils sont souvent absents chez les adultes immuns.

Il convient de remarquer que la méthodologie suivie ne permet pas d'explorer la totalité des antigènes plasmodiaux de stade sanguin asexué et limite ainsi la portée des conclusions :

— les antigènes insolubles dans le Triton-X100 échappent à l'analyse ainsi que les antigènes spécifiques de souche et les cibles d'isotypes non fixés par la protéine A (en particulier IgG3 et IgM); il en est de même des antigènes qui n'incorporent pas la méthionine ;

— l'EGPA/SDS ne permet pas la résolution complète d'un mélange protéique ;

— certains anticorps peuvent être saturés par des antigènes circulants et ne plus réagir en immunoprécipitation.

La variété des antigènes plasmodiaux reconnus par les sérums d'enfants — par rapport à ce que l'on observe chez les adultes — peut s'expliquer si l'on admet qu'en zone d'endémie l'exposition prolongée à certains constituants plasmodiaux particulièrement immunogènes (ce serait le cas des antigènes « mineurs ») peut entraîner un état de tolérance par hyperimmunisation [11]. Les adultes pourraient ainsi perdre à la longue la capacité de répondre à certains stimuli. Cet état d'inhibition ne serait que transitoire et pourrait être rompu par une variation brusque de la dose antigénique, puisque l'on peut aussi trouver chez les adultes la gamme complète des spécificités antigéniques. Les antigènes « majeurs » seraient par contre peu immunogènes, ce qui explique la faible réponse anticorps des enfants, la nécessité d'une exposition prolongée à l'agent infectieux pour obtenir un niveau de protection suffisant, la précarité de cette protection, l'absence de tolérance induite par ces antigènes malgré les réinfections fréquentes et la nécessité d'utiliser de puissants adjuvants pour obtenir une réponse protectrice au cours de l'immunisation expérimentale chez l'animal [9, 16, 23, 28, 33].

RÉSUMÉ

L'identification des antigènes plasmodiaux de stade sanguin asexué (*Plasmodium falciparum*) liés au développement de l'immunité protectrice en zone d'endémie, a été effectuée grâce à la comparaison statistique entre les antigènes reconnus par des sérums immuns (adultes) et ceux reconnus par des sérums de sujets sensibles (enfants).

Après marquage métabolique des parasites en culture et immuno-

précipitation, les antigènes cibles d'anticorps sériques sont séparés par électrophorèse sur gel de polyacrylamide/SDS et révélés par fluorographie. On distingue ainsi deux groupes d'antigènes : 1) les bandes majeures, les plus intenses, reconnues par plus de 90% des sérums, quel que soit le statut immunitaire des sujets ; 2) les fractions mineures, moins intenses sur les fluorogrammes. Les anticorps correspondants se rencontrent plus fréquemment chez les enfants non encore protégés que chez les adultes immuns. Ces fractions mineures ne semblent donc pas indispensables à la prémunition. Celle-ci reposerait, au moins en partie, sur la présence d'anticorps spécifiques de certains antigènes majeurs tels que les fractions 210/196-, 136-, 121- et 80-Kd. Ces anticorps persistent au moins pendant un an, indépendamment des fluctuations du niveau de transmission anophélienne.

MOTS-CLÉS : *Plasmodium falciparum*, Immunité humorale, Prémunition ; Zone d'endémie, Vaccination, Antigènes de stade sanguin asexué.

REMERCIEMENTS

Nous remercions vivement le Dr Pereira da Silva et M. Falanga (Institut Pasteur de Paris) pour leurs conseils et la fourniture de parasites, ainsi que le Dr Marsh du Medical Research Council (Banjul, Gambie).

Nous remercions également, pour nous avoir obligeamment adressé divers sérums, le Pr Martine (Hôpital Laveran, Marseille) et les Drs Tessier (Hôpital Principal, Dakar) et Georges (Institut Pasteur, Bangui).

BIBLIOGRAPHIE

- [1] BOYLE, D. B., NEWBOLD, C. I., WILSON, R. J. M. & BROWN, K. N., Intra-erythrocytic development and antigenicity of *Plasmodium falciparum* and comparison with simian and rodent malaria parasite. *Mol. Biochem. Parasit.*, 1983, 9, 227-240.
- [2] BROWN, G. V., ANDERS, R. F., STACE, J. D., ALPERS, M. P. & MITCHELL, G. F., Immunoprecipitation of biosynthetically-labelled proteins from different Papua New Guinea *Plasmodium falciparum* isolates by sera from individuals in the endemic area. *Parasit. Immunol.*, 1981, 3, 283-298.
- [3] BROWN, G. V., ANDERS, R. F., MITCHELL, G. F. & HEYWOOD, P. F., Target antigens of purified human immunoglobulins which inhibit growth of *Plasmodium falciparum* *in vitro*. *Nature (Lond.)*, 1982, 297, 591-593.
- [4] BROWN, G. V., COPPEL, R. L., VRBOVA, H., GRUMONT, R. J. & ANDERS, R. F., *Plasmodium falciparum*: comparative analysis of erythrocyte stage-dependent protein antigens. *Exp. Parasit.*, 1982, 53, 279-284.
- [5] BROWN, G. V., STACE, J. D. & ANDERS, R. F., Specificities of antibodies boosted by acute *Plasmodium falciparum* infection in man. *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 1983, 36, 1221-1228.
- [6] BROWN, G. V., ANDERS, R. F. & KNOWLES, G., Differential effect of immunoglobulin on *in vitro* growth of several isolates of *Plasmodium falciparum*. *Infect. Immun.*, 1983, 39, 1228-1235.
- [7] COHEN, S., MCGREGOR, I. A. & CARRINGTON, S., Gamma-globulin and acquired immunity to human malaria. *Nature (Lond.)*, 1961, 192, 733-737.

- [8] DEANS, J. A. & COHEN, S., Immunology of malaria. *Ann. Rev. Microbiol.*, 1983, 37, 25-49.
- [9] DUBOIS, P., DEDET, J. P., FANDEUR, T., ROUSSILHON, C., JENDOUBI, M., PAULLAC, S., MERCEREAU-PUJALON, O. & PEREIRA DA SILVA, L., Protective immunization of the squirrel monkey against asexual blood stage of *Plasmodium falciparum* by use of parasite protein fractions. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)*, 1984, 81, 229-232.
- [10] FANDEUR, T., DUBOIS, P., GYSIN, J., DEDET, J. P. & PEREIRA DA SILVA, L., *In vitro* and *in vivo* studies on protective and inhibitory antibodies against *Plasmodium falciparum* in the Saimiri monkey. *J. Immunol.*, 1984, 132, 432-437.
- [11] GRAS, J., ROCA, M., AYATS, R., CASTRO, R. & DURAN, F., Inhibition of antibody formation during continual stimulation with a strong immunogen. *Immunology*, 1974, 26, 759-767.
- [12] GYSIN, J., DUBOIS, P. & PEREIRA DA SILVA, L., Protective antibodies against erythrocytic stages of *Plasmodium falciparum* in experimental infection of the squirrel monkey, *Saimiri sciureus*. *Parasit. Immunol.*, 1983, 4, 421-430.
- [13] HALL, R., MCBRIDE, J., MORGAN, G., TAIT, A., ZOLG, J. W., WALLIKER, D. & SCAIFE, J. G., Antigens of the erythrocytic stages of the human malaria parasite *Plasmodium falciparum* detected by monoclonal antibodies. *Mol. Biochem. Parasit.*, 1983, 7, 247-265.
- [14] HALL, R., OSLAND, A., HYDE, J. E., SIMMONS, D. L., HOPE, I. A. & SCAIFE, J. G., Processing, polymorphism and biological significance of P190, a major surface antigen of the erythrocytic forms of *Plasmodium falciparum*. *Mol. Biochem. Parasit.*, 1984, 11, 61-80.
- [15] HOLDER, A. A. & FREEMAN, R. R., Biosynthesis and processing of a *Plasmodium falciparum* schizont antigen recognized by immune serum and a monoclonal antibody. *J. exp. Med.*, 1982, 156, 1518-1538.
- [16] KAN, S., YAMAGA, K., KRAMER, K., CASE, S. & SIDDIQUI, W., *Plasmodium falciparum* : proteins antigens identified by analysis of serum samples from vaccinated *Aotus* monkey. *Infect. Immun.*, 1984, 43, 276-282.
- [17] KESSLER, S. W., Rapid isolation of antigen from cells with a staphylococcal protein A-antibody absorbent: parameters of the interaction of antibody antigen complexes with protein A. *J. Immunol.*, 1975, 115, 1617-1624.
- [18] KILEJIAN, A., Stage-specific proteins and glycoproteins of *Plasmodium falciparum* : identification of antigens unique to schizonts and merozoites. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)*, 1980, 77, 3695-3699.
- [19] LAEMMLI, U. K., Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature (Lond.)*, 1970, 227, 680-685.
- [20] LANGONE, J. J., Application of immobilized protein A in immunochemical technique. *J. immunol. Methods*, 1982, 55, 277-296.
- [21] MCBRIDE, J. S., WALLIKER, D. & MORGAN, G., Antigenic diversity in the human malaria parasite. *Plasmodium falciparum*. *Science*, 1982, 217, 254-257.
- [22] MILLER, L. H., POWERS, K. G. & SHIROISHI, J., *Plasmodium knowlesi* : functional immunity and antimerozoite antibodies in *Rhesus* monkeys after repeated infection. *Exp. Parasit.*, 1977, 41, 105-111.
- [23] MITCHELL, G. H., RICHARDS, W. H. G., VOLLER, A., DIETRICH, F. M. & DUKOR, P., Nor-MDP, saponin, corynebacteria and pertussis organisms as immunological adjuvants in experimental malaria vaccination of macaques. *Bull. Org. mond. Santé*, 1979, 57 (suppl.), 189-197.
- [24] PERRIN, L. H., RAMIREZ, D., ER-HSIANG, L. & LAMBERT, P. H., *Plasmodium falciparum* : characterization of defined antigens by monoclonal antibodies. *Clin. exp. Immunol.*, 1980, 41, 91-96.

- [25] PERRIN, L. H., RAMIREZ, E., LAMBERT, P. H. & MIESCHER, P. A., Inhibition of *P. falciparum* growth in the human erythrocytes by monoclonal antibodies. *Nature (Lond.)*, 1981, 289, 301-303.
- [26] PERRIN, L. H., DAYAL, R. & RIEDER, H., Characterization of antigens from erythrocytic stages of *Plasmodium falciparum* reacting with human immune sera. *Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg.*, 1981, 75, 163-165.
- [27] PERRIN, L. H. & DAYAL, R., Immunity to asexual erythrocytic stages of *Plasmodium falciparum*: role of defined antigens in the humoral response. *Immunol. Rev.*, 1982, 61, 245-269.
- [28] PERRIN, L. H., LOCHE, M., DEDET, J. P., ROUSSILHON, C. & FANDEUR, T., Immunization against *Plasmodium falciparum* asexual blood stages using soluble antigens. *Clin. exp. Immunol.*, 1984, 56, 67-72.
- [29] REESE, R. T., MOTYL, M. R. & HOFFER-WARBINEK, R., Reaction of immune sera with components of the human malarial parasite *Plasmodium falciparum*. *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 1981, 30, 1168-1178.
- [30] SANTIYANONT, R. & WILAIRAT, P., Identification and localization of the malaria parasite, *Plasmodium falciparum*, by immune precipitation. *Biochem. Intern.*, 1983, 7, 671-676.
- [31] SAUL, A., MYLER, P., SCHOFIELD, L. & KIDSON, C., A high molecular weight antigen in *Plasmodium falciparum* recognized by inhibitory monoclonal antibodies. *Parasit. Immunol.*, 1984, 6, 39-50.
- [32] SCHMIDT-ULLRICH, R., MILLER, L. H., WALLACH, D. F. H. & LIGHTHOLDER, J., Immunogenic antigens common to *Plasmodium knowlesi* and *Plasmodium falciparum* are expressed on the surface of infected erythrocytes. *J. Parasit.*, 1982, 68, 185-193.
- [33] SIDDIQUI, W. A., KAN, S., KRAMER, K., CASE, S. & PALMER, K., Use of a synthetic adjuvant in a effective vaccination of monkey against malaria. *Nature (Lond.)*, 1981, 289, 64-66.
- [34] TRAGER, W. & JENSEN, J. B., Human malaria parasites in continuous culture. *Science*, 1976, 193, 673-675.