

Ministère de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique

RÉPUBLIQUE DU MALI

Un Peuple- Un But- Une Foi



U.S.T.T-B

Université des Sciences, des Techniques et
des Technologies de Bamako



FACULTE DE PHARMACIE

Année universitaire 2024-2025

N° :

Titre de la Thèse

**Evaluation de la performance du test moléculaire
rapide pour le diagnostic du paludisme au Mali**

Présentée et soutenue publiquement le 24 mars 2026 devant la faculté de
pharmacie de Bamako

Par M. Al Assane Samaké

Pour l'obtention du titre de Docteur en Pharmacie (Diplôme d'état)

JURY

Président : M. Sory I. Diawara, Directeur de Recherche, FMOS, USTTB

Membres : Mme Merepen dite Agnès GUINDO, Assistante, FAPH, USTTB
Mme Salimata KANTE, PharmD

Co-Directeur : M. Saïdou Balam, Maître-Assistant, FMOS, USTTB

Directeur : M. Seidina A.S. Diakité, Maître de Conférences, FAPH

Liste des membres de l'administration et du corps enseignant à la Faculté de Pharmacie année universitaire 2024-2025

Administration

Doyen : Sékou BAH, Professeur

Vice-doyen : Souleymane DAMA, Maître de Conférences

Secrétaire principal : Seydou COULIBALY, Administrateur Civil

Agent comptable : Ismaël CISSE, Contrôleur des finances

➤ **PROFESSEURS HONORAIRES**

| N° | PRENOMS | NOM | SPECIALITE |
|-----------|------------------|-------------|------------------------------------|
| 1 | Flabou | BOUGOUDOOGO | Bactériologie-Virologie |
| 2 | Bakary Mamadou | CISSÉ | Biochimie |
| 3 | Yaya | COULIBALY | Législation |
| 4 | Abdoulaye | DABO | Malacologie -Biologie animale |
| 5 | Daouda | DIALLO | Chimie Générale et Minérale |
| 6 | Mouctar | DIALLO | Parasitologie-mycologie |
| 7 | Souleymane | DIALLO | Bactériologie – Virologie |
| 8 | Amagana | DOLO | Parasitologie |
| 9 | Kaourou | DOUCOURE | Physiologie humaine |
| 10 | Lassana | DOUMBIA | Chimie minérale |
| 11 | Ousmane | DOUMBIA | Chimie thérapeutique |
| 12 | Boukassoum | HAÏDARA | Législation |
| 13 | Akory Ag | IKNAME | Santé publique/ nutrition |
| 14 | Gaoussou | KANOUTE | Chimie analytique |
| 15 | Alou A. | KEÏTA | Galénique |
| 16 | Ousmane | KOÏTA | Biologie moléculaire |
| 17 | Mamadou | KONE | Physiologie |
| 18 | Brehima | KOUMARE | Bactériologie/Virologie |
| 19 | Benoit Yaranga | KOUMARE | Chimie analytique/ Bromatologie |
| 20 | Abdourahamane S. | MAÏGA | Parasitologie |
| 21 | Saïbou | MAÏGA | Législation |

| | | | |
|-----------|-----------------|--------|-------------------------------------|
| 22 | Ababacar I | MAÏGA | Toxicologie |
| 23 | Ousmane | TOURE | Santé publique/ Environnementale |
| 24 | Mahamadou | TRAORE | Génétique |
| 25 | Sékou Fantamadv | TRAORE | Zoologie |

➤ **PROFESSEURS DECEDES**

| N° | PRENOMS | NOMS | SPECIALITE |
|-----------|-----------------|-------------|------------------------|
| 1 | Boubacar Sidiki | CISSÉ | Toxicologie |
| 2 | Mahamadou | CISSÉ | Biologie |
| 3 | Drissa | DIALLO | Pharmacognosie |
| 4 | Moussa | HARAMA | Chimie analytique |
| 5 | Mamadou | KOUMARE | Pharmacognosie |
| 6 | Elimane | MARIKO | Pharmacologie |
| 7 | Moussa | SANOOGO | Gestion pharmaceutique |

➤ **DER : SCIENCES BIOLOGIQUES ET MÉDICALES**

1. PROFESSEUR/DIRECTEUR DE RECHERCHE

| N° | PRENOMS | NOMS | GRADE | SPECIALITE |
|-----------|----------------|-------------|---------------------------|---------------------------------|
| 1 | Mounirou | BABY | Professeur | Hématologie |
| 2 | Mahamadou | DIAKITE | Professeur | Immunologie-Génétique |
| 3 | Alassane | DICKO | Professeur | Santé Publique |
| 4 | Abdoulaye | DJIMDE | Professeur | Parasitologie-Mycologie |
| 5 | Aldjouma | GUINDO | Professeur | Hématologie. Chef de DER |
| 6 | Kassoum | KAYENTAO | Directeur de recherche | Santé publ./ Bio-statistique |
| 7 | Bourèma | KOURIBA | Professeur | Immunologie |

| | | | | |
|----------|----------|--------|---------------------------|-------------------------|
| 8 | Issaka | SAGARA | Directeur de recherche | Bio-statistique |
| 9 | Boubacar | TRAORE | Professeur | Parasitologie-Mycologie |

2. MAITRE DE CONFERENCES/MAITRE DE RECHERCHE

| N° | PRENOMS | NOMS | GRADE | SPECIALITE |
|-----------|--------------------|---------------|--------------------------|--------------------------------|
| 1 | Mohamed | AG BARAIKA | Maître de conférences | Bactériologie-virologie |
| 2 | Charles | ARAMA | Maître de conférences | Immunologie |
| 3 | Cheick Amadou | COULIBALY | Maître de recherche | Entomologie/ parasitologie |
| 4 | Djibril Mamadou | COULIBALY | Maître de conférences | Biochimie clinique |
| 5 | Djénéba Koumba | DABITAO | Maître de conférences | Biologie-moléculaire |
| 6 | Souleymane | DAMA | Maître de conférences | Parasitologie - Mycologie |
| 7 | Antoine | DARA | Maître de conférences | Biologie-moléculaire |
| 8 | Laurent | DEMBELE | Maître de conférences | Biotechnologie- Microbienne |
| 9 | Kléligui Casimir | DEMBELE | Maître de conférences | Biochimie Clinique |
| 10 | Seydina A.S. | DIAKITE | Maître de conférences | Immunologie |
| 11 | Fatou | DIAWARA | Maître de conférences | Epidémiologie |
| 12 | Yaya | GOITA | Maître de conférences | Biochimie Clinique |

| | | | | |
|-----------|---------------------|------------|-----------------------|---------------------------|
| 13 | Ibrehima | GUINDO | Maître de conférences | Bactériologie Virologie |
| 14 | Aminatou | KONE | Maître de conférences | Biologie moléculaire |
| 15 | Almoustapha Issiaka | MAÏGA | Maître de recherche | Bactériologie-Virologie |
| 16 | Mamoudou | MAÏGA | Maître de conférences | Microbiologie |
| 17 | Amadou Birama | NIANGALY | Maître de conférences | Parasitologie – Mycologie |
| 18 | Dinkorma | OUOLOGUE M | Maître de conférences | Biologie cellulaire |
| 19 | Fanta | SANGO | Maître de conférences | Santé publ/Santé commun. |
| 20 | Yéya dit Sadio | SARRO | Maître de conférences | Epidémiologie |
| 21 | Mahamadou S. | SISSOKO | Maître de recherche | Bio-statistique |

3. MAITRE ASSISTANT/CHARGE DE RECHERCHE

| N° | PRENOMS | NOMS | GRADE | SPECIALITE |
|-----------|-----------------|-------------|---------------------|-----------------------|
| 1 | Boubacar Tiétiè | BISSAN | Maître-Assistant | Biologie clinique |
| 2 | Djénéba | COULIBALY | Maître-Assistant | Nutrition/ Diététique |
| 3 | Seydou Sassou | COULIBALY | Maître-Assistant | Biochimie Clinique |
| 4 | Dramane | DIALLO | Maître-Assistant | Biologie moléculaire |
| 5 | Issa | DIARRA | Chargé de recherche | Immunologie |
| 6 | | | | |

4. ASSISTANT/ATTACHE DE RECHERCHE

| N° | PRENOMS | NOMS | GRADE | SPECIALITE |
|----|-----------------------|--------------|---------------------|--------------------------------|
| 1 | Michel Emmanuel | COULIBALY | Attaché de Rech. | Entomologie/parasitologie |
| 2 | Abdallah Amadou | DIALLO | Attaché de Rech. | Entomologie/parasitologie |
| 3 | Bakary | FOFANA | Attaché de Rech. | Recherche clinique |
| 4 | Merepen dit Agnès | GUINDO | Assistant | Immunologie |
| 5 | Moussa Bamba | KANOUTE | Attaché de Rech. | Bio-informatique |
| 6 | Falaye | KEITA | Attaché de Rech. | Santé Publique/Santé Environn. |
| 7 | N'Deye Lallah Nina | KOITE | Assistant | Nutrition |
| 8 | Oumou | NIARE | Attaché de Rech. | Biologie appliquée |
| 9 | Zana Lamissa | SANOGO | Attaché de Rech. | Entomologie/parasitologie |
| 10 | Lamine | SOUMAOR O | Attaché de Rech. | Entomologie/parasitologie |
| 11 | Aliou | TRAORE | Attaché de Rech. | Sciences biologiques appliquée |
| 12 | Djakaridia | TRAORE | Assistant | Hématologie |

➤ DER : SCIENCES PHARMACEUTIQUES

1. PROFESSEUR/DIRECTEUR DE RECHERCHE

| N° | PRENOMS | NOM | Grade | SPECIALITE |
|----|---------|--------|------------|----------------|
| 1 | Rokia | SANOGO | Professeur | Pharmacognosie |

2. MAITRE DE CONFERENCES/MAITRE DE RECHERCHE

| N° | PRENOMS | NOM | Grade | SPECIALITE |
|----|-----------|-----------|--------------------------|---|
| 1 | Loséni | BENGALY | Maitre de Conférences | Pharmacie hospitalière |
| 2 | Issa | COULIBALY | Maitre de Conférences | Gestion |
| 3 | Adama | DENOU | Maitre de Conférences | Pharmacognosie/ Chef de DER |
| 4 | Mahamane | H AidARA | Maitre de Conférences | Pharmacognosie |
| 5 | Adiaratou | TOGOLA | Maitre de Conférences | Pharmacognosie |

3. MAITRE ASSISTANT/CHARGE DE RECHERCHE

| N° | PRENOMS | NOM | Grade | SPECIALITE |
|----|-------------------|-----------|-------------------|------------------------|
| 1 | Bakary Moussa | CISSÉ | Maitre-Assistant | Galénique |
| 2 | Balla Fatogoma | COULIBALY | Maitre-Assistant | Pharmacie hospitalière |
| 3 | Sékou | DOUMBIA | Maitre-Assistant | Pharmacognosie |
| 4 | Hamma Boubacar | MAÏGA | Maitre-Assistant | Galénique |
| 5 | Aboubacar | SANGHO | Maitre-Assistant | Législation |
| 6 | Aminata Tiéba | TRAORE | Maitre-Assistante | Pharmacie hospitalière |

4. ASSISTANT/ATTACHE DE RECHERCHE

| N° | PRENOMS | NOM | Grade | SPECIALITE |
|----|----------------|-----------|-----------|------------------------|
| 1 | Seydou Lahaye | COULIBALY | Assistant | Gestion pharmaceutique |
| 2 | Daouda Lassine | DEMBELE | Assistant | Pharmacognosie |

| | | | | |
|----------|------------------------|--------|-----------|------------------------|
| 3 | Assitan | KALOGA | Assistant | Législation |
| 4 | Ahmed | MAÏGA | Assistant | Législation |
| 5 | Aichata Ben Adam | MARIKO | Assistant | Galénique |
| 6 | Bourama | TRAORE | Assistant | Législation |
| 7 | Sylvestre | TRAORÉ | Assistant | Gestion pharmaceutique |
| 8 | Mohamed dit Sarmove | TRAORE | Assistant | Pharmacie hospitalière |

➤ **DER : SCIENCES DU MEDICAMENT**

1. PROFESSEUR/DIRECTEUR DE RECHERCHE

| N° | PRENOMS | NOM | Grade | SPECIALITE |
|-----------|----------------|------------|--------------|-------------------|
| 1 | Sékou | BAH | Professeur | Pharmacologie |

2. MAITRE DE CONFERENCES/MAITRE DE RECHERCHE

| N° | PRENOMS | NOM | Grade | SPECIALITE |
|-----------|---------------------|------------|--------------------------|---------------------------------|
| 1 | Dominique Patomo | ARAMA | Maitre de Conférences | Pharmacie chimique |
| 2 | Mody | CISSÉ | Maitre de Conférences | Chimie thérapeutique |
| 3 | Ousmane | DEMBELE | Maitre de Conférences | Chimie thérapeutique |
| 4 | Tidiane | DIALLO | Maitre de Conférences | Toxicologie/ Chef de DER |
| 5 | Madani | MARIKO | Maitre de Conférences | Chimie Ana/ Bromatologie |
| 6 | Hamadoun Abba | TOURE | Maitre de Conférences | Chimie Ana/ Bromatologie |

| | | | | |
|---|-------|--------|-----------------------|------------------|
| 7 | Karim | TRAORE | Maitre de Conférences | de Pharmacologie |
|---|-------|--------|-----------------------|------------------|

3. MAITRE ASSISTANT/CHARGE DE RECHERCHE

| N° | PRENOMS | NOM | Grade | SPECIALITE |
|----|----------------------|-----------|------------------|--------------------------|
| 1 | Mahamadou | BALLO | Maitre-Assistant | Pharmacologie |
| 2 | Dalané Bernadette | COULIBALY | Maitre-Assistant | Chimie Ana/ Bromatologie |

4. ASSISTANT/ATTACHE DE RECHERCHE

| N° | PRENOMS | NOM | Grade | SPECIALITE |
|----|-----------------------|---------------|-----------|--------------------------|
| 1 | Blaise | DACKOUO | Assistant | Chimie Ana/ Bromatologie |
| 2 | Aiguerou Abdoulaye | dit GUINDO | Assistant | Pharmacologie |
| 3 | Mohamed El Béchir | NACO | Assistant | Chimie Ana/ Bromatologie |
| 4 | Mohamed | TOURE | Assistant | Pharmacologie |

➤ DER : SCIENCES FONDAMENTALES

1. PROFESSEUR/DIRECTEUR DE RECHERCHE

| N° | PRENOMS | NOM | Grade | SPECIALITE |
|----|---------|-----|-------|------------|
| - | - | - | - | - |

2. MAITRE DE CONFERENCES/MAITRE DE RECHERCHE

| N° | PRENOMS | NOM | Grade | SPECIALITE |
|----|----------------|----------|-----------------------|--|
| 1 | Mamadou Lamine | DIARRA | Maitre de Conférences | Botanique-Biol. Végét/ Chef de DER |
| 2 | Boubacar | YALCOUYE | Maitre de Conférences | Chimie organique |

3. MAITRE ASSISTANT/CHARGE DE RECHERCHE

| N° | PRENOMS | NOM | Grade | SPECIALITE |
|----|--------------------|---------|----------------------|----------------------|
| 1 | Joseph Sékou B. | DEMBELE | Maître- Assistant | Biologie végétale |
| 2 | Modibo | DIALLO | Maître- Assistant | Génétique |
| 3 | Boureima | KELLY | Maître- Assistant | Physiologie médicale |

4. ASSISTANT/ATTACHE DE RECHERCHE

| N° | PRENOMS | NOM | Grade | SPECIALITE |
|----|--------------|---------|-----------|----------------------|
| 1 | Seydou Simbo | DIAKITE | Assistant | Chimie organique |
| 2 | Moussa | KONE | Assistant | Chimie Organique |
| 3 | Massiriba | KONE | Assistant | Biologie Entomologie |

➤ CHARGES DE COURS (VACATAIRES)

| N° | PRENOMS | NOM | SPECIALITE |
|----|--------------|------------|-----------------------|
| 1 | Cheick Oumar | BAGAYOKO | Informatique |
| 2 | Babou | BAH | Anatomie |
| 3 | Souleymane | COULIBALY | Psychologie |
| 4 | Yacouba M | COULIBALY | Droit commercial |
| 5 | Moussa I | DIARRA | Biophysique |
| 6 | Lassana | DOUMBIA | Chimie minérale |
| 7 | Oumar | SAMASSEKOU | Génétique |
| 8 | Djibril | SANGARE | Biosécurité |
| 9 | Modibo | SANGARE | Anglais |
| 10 | Satigui | SIDIBE | Pharmacie vétérinaire |

| | | | |
|-----------|------------|----------|--------------------------------------|
| 11 | Sidi Boula | SISSOKO | Histologie-embryologie |
| 12 | Fana | TANGARA | Mathématiques |
| 13 | Djénébou | TRAORE | Sémiologie et Pathologie médicale |
| 14 | Boubacar | ZIBEÏROU | Physique |

Bamako, le 10 décembre 2025



P/Le Doyen PO
Le Secrétaire Principal



Seydou COULIBALY
Administrateur Civil

Dédicaces

A mon père, Feu Mamadou Samaké

Cher père, je ressens aujourd'hui la tristesse et la fierté à la fois. La fierté de t'avoir eu comme père, toi qui n'as jamais baissé les bras pour l'éducation de tes enfants. La tristesse, j'aurais tant voulu que vous soyez présent à ce jour merveilleux pour voir les réussites de ton fils aimé mais Dieu en a décidé autrement. Vous nous avez appris le sens de l'honneur, du travail bien fait, de l'amour du prochain, de la rigueur, du respect et de la dignité. Cher père, vous me manquez énormément, qu'ALLAH vous accueille dans son immense paradis. Amen !

A ma mère, Sanata Coulibaly

Chère mère, même si je vivais un siècle, je ne pourrais jamais trouver assez de mots pour vous décrire, femme au cœur pur et source infinie d'amour. Vous vous êtes dévouées corps et âme pour l'éducation et la réussite de tes enfants, sans jamais compter ni vous plaindre. Ta présence constante à mes côtés, ta confiance inébranlable en moi et les précieuses valeurs que vous m'avez transmises ont été la lumière qui a guidé chacun de mes pas. Merci, Maman, pour chaque prière murmurée dans le silence de la nuit, pour chaque larme cachée, pour chaque sacrifice fait par amour. Qu'Allah vous comble d'une longue et pieuse vie remplie de santé, de joie et de sérénité, afin que vous soyez témoin de la réussite de ton fils, fruit de ton amour et de tes prières.

A mon frère jumeau, Al Fousseyni Samaké

Celui avec qui j'ai partagé bien plus qu'une naissance, un compagnon de vie, de patience, et d'espérance. Bien plus qu'un frère, tu es un soutien indéfectible, une force dans les moments de doute et une source constante de motivation. Ce travail est le reflet de notre parcours partagé, de notre solidarité et de notre persévérance commune. Que ce travail accompli par la grâce d'Allah soit pour toi le témoignage de ma profonde reconnaissance, de notre lien sacré et de l'amour fraternel qui nous unit.

A mon épouse, Maïmouna Tolo

Celle qu'Allah a placé sur mon chemin comme une lumière douce dans les jours d'ombre. Tu as porté avec moi le poids de ce parcours. Dans les moments de doute comme dans les instants d'espoir, ta présence, ton soutien et tes prières ont été pour

moi une force silencieuse mais inestimable. Ce travail porte ton empreinte, car il est aussi le fruit de tes sacrifices, de ta foi en moi et de ton amour sincère.

A mon fils, Mahamadou Ramadan Samaké

Ta naissance a illuminé ce moment important de ma vie, donnant à mes efforts un sens encore plus profond. Que ce travail marque le début du chemin que je souhaite tracer pour toi, fait de persévérance, de foi et d'espérance. Je te le dédie avec tout l'amour d'un père.

Remerciements

A ALLAH,

Le tout puissant, le clément, le très miséricordieux, le seigneur de l'univers, le détenteur suprême de tous les savoirs et pouvoirs. Il est unique, n'a jamais engendré, n'a pas été engendré non plus et le seul à être imploré pour ce que nous désirons. Alhamdoulillah, par ta bonté nous avons pu mener à terme ce modeste travail, gloire à ALLAH.

Au prophète Muhammad (paix et salut sur lui), le dernier messenger et prophète d'ALLAH, grâce à vos enseignements, nous avons eu le courage et la patience de choisir le chemin de l'humanisme. Et nous voilà, accomplir une étape décisive, que vous en soyez remercié.

Aux défunts

Issa Samaké, Sanaba Sacko, Seydou Coulibaly, Papa Samaké, Seydou Fofana, Solomane Coulibaly. Qu'Allah vous accueille dans son immense paradis.

A mes parentes

Assitan Coulibaly, Fatoumata Samaké, Sitan Doumbia, Djènèbou Traoré Awa Coulibaly, Lassina Coulibaly, Bayaya Samaké, Adama Samaké, Modibo Samaké, Nakognon Coulibaly, Bintou Coulibaly, Boubacar Coulibaly, Mamadou Coulibaly, Ramata Coulibaly, Naïssa Coulibaly, Zoumana Coulibaly, Kanaba Samaké, Diara Samaké, Drissa Coulibaly, Abdoulaye Coulibaly, Dougoukoloba Coulibaly, Sékou Coulibaly, merci pour vos soutien moral et financier ainsi que vos bénédictions.

A mes sœurs et frères

Aminata Diabaté, Sanaba Samaké, Fatoumata Samaké, Fanta Samaké, Bintou Samaké, Issa Samaké, Djènèba Samaké, Djelika Samaké, Mariam Samaké, Seybou Samaké, Ramata Samaké, Sayon Samaké, Bafili Samaké, merci pour votre confiance et votre accompagnement. Qu'Allah renforce nos liens fraternels.

A mon tuteur de Point G, Abdoulaye Diarra, pour vos soutiens moraux et financiers. Je tiens à vous exprimer ma reconnaissance et ma profonde gratitude pour vos accompagnements constants.

A mes cousins, Sibiri Samaké, Youssouf Samaké, Bourama Samaké, Dougnomba Coulibaly, Mamadou Coulibaly, Dr Yacouba Sinayoko, Seydou Coulibaly, Madou Coulibaly, merci pour vos conseils et soutiens que Dieu fortifie nos liens.

A ma belle-famille Tolo, pour leur accompagnement et soutien indéfectible

Au Pr Mahamadou Diakité, de nous avoir accueillis dans votre unité. Nous vous remercions pour votre encouragement et accompagnement. Que Dieu vous accorde une bonne santé et une longévité.

Au Dr Drissa Konaté, pour votre sympathie, votre rigueur, votre soutien, vos encouragements et surtout les connaissances transmises. Votre humanisme et votre passion pour la recherche nous ont beaucoup impressionné. Qu'Allah vous récompense et vous accorde une longévité ainsi qu'une bonne santé.

Au Dr Salimata Kanté, de m'avoir encadré avec dévouement. Je tiens à exprimer ma profonde et sincère gratitude pour votre accompagnement remarquable. Au-delà de votre rigueur scientifique, vous m'avez offert une écoute attentive, une patience constante et un soutien précieux dans les moments de doute. Votre disponibilité et vos encouragements ont été pour moi une source de motivation permanente. Je vous adresse mes remerciements les plus chaleureux ainsi que mon profond respect et ma reconnaissance. Qu'Allah vous récompense.

A mes amis, Ibrahim Dao, Issouf Coulibaly, Cheick Oumar Diarra, Aminata Thiama, Doussou Sidibé, Aboubacar Coulibaly, Younouss Fomba, Idrissa Diarra, Youssouf Sangaré, Aboubacar Anne qui étaient présents pendant tout le parcours.

A toute l'équipe de l'Unité Immunogénétique et Hémoglobinopathie de l'IDMERTC

Dr Seidina A.S. Diakité, Dr Sory I. Diawara, Dr Drissa Konaté, Dr Agnès Guindo, Dr Karim Traoré, Dr Modibo Sangaré, Dr Bourama Keita, Dr Aboubacar Fomba, Dr Salimata Kanté, Dr Abdouramane Traoré, Dr Soumaïla Coulibaly, Dr Issoufi Maiga, Dr Dramane Sogodogo, Dr Séga Mady Dembélé, Dr Karamoko Tankara, M. Salia Diallo, M. Fousseïni N. Coulibaly, M. Boubacar K. Diarra, Mme Mariam Cissé, merci pour votre disponibilité, vos conseils constants et vos encouragements. Recevez ici mes sincères remerciements et ma reconnaissance.

A tous les personnels de l'IDMERTC

Au laboratoire ATILA et les membres de CREFPAM

A tous mes camarades de la 16^{ème} promotion du numéris clausus

A tous les membres de la grande famille RASERE

A tous les enseignants et étudiants de la Faculté de Pharmacie ainsi que de la Faculté de Médecine et d'Odontostomatologie de Bamako

A toute la population de Kalaban coro et de Djicoroni coura, pour leur participation

A tous les personnels de la pharmacie VilgilPharma, particulièrement Dr M'Famara Sanogo pour les soutiens moraux et financiers durant ce parcours.

A tous mes ami(e)s

Enfin, mes remerciements vont à l'endroit de tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à la réalisation de ce travail de thèse.

HOMMAGE AUX HONORABLES MEMBRES DU JURY

NOTRE MAITRE ET PRESIDENT DU JURY

Pr Sory Ibrahim Diawara

- Docteur en Médecine
- Directeur de recherche à la FMOS de l'USTTB
- Chercheur au Centre de Recherche et de Formation en Entomologie Médicale et des Maladies Infectieuses (IDMERTC) de l'USTTB

Cher Maître,

Nous sommes profondément sensibles à l'insigne honneur que vous nous faites en acceptant de présider ce jury. Votre constante disponibilité, alliée à votre quête inlassable d'excellence, fait de vous une référence et un modèle unanimement admiré.

Que ce travail soit le témoignage de notre sincère reconnaissance et de notre profonde estime.

A NOTRE MAITRE ET JUGE

Dr Merepen dite Agnès GUINDO

- Docteur en Pharmacie
- Assistante en immunologie à la FAPH/USTTB
- Chercheur au Centre de Recherche et de Formation en Entomologie Médicale et des Maladies Infectieuses (IDMERTC) de l'USTTB
- Chercheur au Centre de Recherche et de Formation sur les Parasites et les Microbes (PMRTC) de l'USTTB
- Doctorante en immunologie en cotutelle entre l'université de Ghana et l'USTTB

Chère Maître,

Vous nous faites un grand honneur en acceptant de juger ce travail malgré vos multiples occupations. Vos qualités intellectuelles et votre disponibilité nous laisse le souvenir d'un maître exemplaire et modeste.

Cher maître, veuillez recevoir en toute modestie, l'expression de notre immense gratitude.

A NOTRE MAITRE ET JUGE

Dr Salimata KANTE

- Docteur en Pharmacie
- Chercheur au Centre de Recherche et de Formation en Entomologie Médicale et des Maladies Infectieuses (IDMERTC) de l'USTTB

Chère Maître,

C'est un privilège que vous nous accordez en acceptant de juger cette thèse, nous en sommes très honorés. Votre apport tout au long de ce travail a considérablement contribué à l'amélioration de la qualité de ce document.

Trouvez ici chère maître, l'expression de nos sincères remerciements.

A NOTRE MAITRE ET CO-DIRECTEUR

Dr Saïdou Balam

- Docteur en Médecine
- PhD en Immunologie
- Maître-assistant en Immunologie à la FMOS/USTTB

Cher Maître,

Tout au long de ce travail, nous avons apprécié vos qualités humaines et scientifiques. Votre disponibilité constante, conjuguée à votre passion pour le travail bien accompli fait de vous un Maître à la fois respecté et admirable.

Permettez-nous, cher Maître de vous exprimer l'assurance de notre profonde gratitude et de vous adresser nos remerciements les plus sincères et respectueux.

A NOTRE MAITRE ET DIRECTEUR DE THESE

Dr Seidina A.S. DIAKITE

- Docteur en Pharmacie
- PhD en Immunologie à l'Université Pierre et Marie Curie
- Maître de conférences en Immunologie à la FAPH/USTTB

Cher Maître,

Vous nous avez comblés d'un immense honneur en nous accueillant au sein de votre équipe de recherche. Nous avons profondément apprécié vos éminentes qualités scientifiques et humaines, votre rigueur et votre sens élevé de la responsabilité, qui font de vous un modèle exemplaire.

Veillez recevoir cher Maître, l'expression de nos profondes et sincères gratitude.

Table des matières

| | |
|--|-----------|
| Dédicaces..... | xi |
| Remerciements..... | xiii |
| 1 Introduction | 1 |
| 2 Objectifs | 3 |
| 2.1 Objectif général | 3 |
| 2.2 Objectifs spécifiques | 3 |
| 3 Généralités..... | 4 |
| 3.1 Épidémiologie..... | 4 |
| 3.2 Vecteur du paludisme..... | 5 |
| 3.3 Agent pathogène..... | 5 |
| 3.4 Cycle biologique du paludisme..... | 7 |
| 3.4.1 Cycle chez l'homme (phase asexuée)..... | 7 |
| 3.4.2 Cycle chez l'anophèle (phase sexuée)..... | 8 |
| 3.5 Physiopathologie du paludisme..... | 9 |
| 3.5.1 Accès palustre non compliqué..... | 10 |
| 3.5.2 Accès palustre grave et compliqué..... | 10 |
| 3.6 Immunité anti-palustre..... | 11 |
| 3.6.1 Immunité innée ou naturelle..... | 11 |
| 3.6.2 Immunité acquise ou adaptative..... | 11 |
| 3.7 Diagnostic Biologique | 12 |
| 3.7.1 Microscopie | 12 |
| 3.7.2 Test de Diagnostic Rapide..... | 13 |
| 3.7.3 Méthode ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay)..... | 13 |
| 3.7.4 Diagnostic moléculaire : PCR..... | 13 |
| 3.8 Prise en charge du paludisme..... | 14 |
| 3.8.1 Prévention du paludisme | 14 |
| 3.8.2 Traitement du paludisme..... | 14 |
| 4 Méthodologie | 16 |
| 4.1 Sites d'étude | 16 |
| 4.1.1 Aire de santé de kalaban coro | 16 |
| 4.1.2 Aire de santé de Djicoroni coura..... | 17 |
| 4.2 Type et période d'étude..... | 18 |
| 4.3 Population d'étude et l'échantillonnage..... | 18 |
| 4.4 Critères d'inclusion..... | 18 |

| | | |
|-------|---|----|
| 4.5 | Critères de non-inclusion..... | 18 |
| 4.6 | Variables mesurées | 18 |
| 4.7 | Déroulement de l'étude | 19 |
| 4.8 | Gestion et analyse des données | 19 |
| 4.9 | Tests de laboratoires utilisés | 19 |
| 4.9.1 | Goutte épaisse :..... | 20 |
| 4.9.2 | Frottis mince : | 20 |
| 4.9.3 | Test de diagnostic rapide (TDR)..... | 21 |
| 4.9.4 | Réaction par chaîne polymérase (PCR)..... | 21 |
| 4.9.5 | Test moléculaire rapide | 22 |
| 4.10 | Performance d'un test de diagnostic..... | 22 |
| 4.11 | Critères de validation d'un test de diagnostic qualitatif | 23 |
| 4.12 | Définitions opérationnelles..... | 23 |
| 4.13 | Considérations éthiques | 24 |
| 5 | Résultats | 25 |
| 5.1 | Résultats globaux | 25 |
| 5.2 | Résultats descriptifs..... | 26 |
| 5.3 | Résultats analytiques | 30 |
| 6 | Commentaires et discussion..... | 35 |
| 7 | Limites de l'étude | 37 |
| 8 | Conclusion et recommandations | 38 |
| 8.1 | Conclusion..... | 38 |
| 8.2 | Recommandations | 38 |
| 9 | Références bibliographiques | 39 |
| 10 | Annexes | 47 |
| 10.1 | Technique microscopique | 47 |
| 10.2 | Test de diagnostic rapide (TDR)..... | 50 |
| 10.3 | Extraction d'ADN à partir de confettis de sang séché | 51 |
| 10.4 | La réaction en chaîne par polymérase (PCR)..... | 52 |
| 10.5 | Test moléculaire rapide | 53 |
| 11 | Fiche signalétique | 57 |

Listes des tableaux

| | |
|--|----|
| Tableau 1 : Répartition des participants en fonction du genre | 26 |
| Tableau 2 : Répartition des participants en fonction de l'âge | 26 |
| Tableau 3 : Répartition en fonction de l'état fébrile des participations | 27 |
| Tableau 4 : Répartition des participations selon le résultat du TDR..... | 27 |
| Tableau 5 : Répartition des participations selon le résultat de la goutte épaisse | 28 |
| Tableau 6 : Répartition des participations selon le résultat du test moléculaire rapide..... | 28 |
| Tableau 7 : Répartition des participations selon le résultat de la PCR..... | 29 |
| Tableau 8 : Performance du test moléculaire rapide par rapport à la PCR | 30 |
| Tableau 9 : Performance du test moléculaire rapide par rapport à la GE..... | 31 |
| Tableau 10 : Performance du test moléculaire rapide par rapport au TDR | 32 |
| Tableau 11 : Répartition du résultat du test moléculaire rapide en fonction de la charge parasitaire..... | 33 |
| Tableau 12 : Fréquence de l'infection palustre (TDR, goutte épaisse, test moléculaire rapide et PCR) selon la fièvre | 34 |

Liste des figures

Figure 1 : répartition géographique du paludisme dans le monde 5

Figure 2 : cycle de développement du *Plasmodium*..... 9

Listes des sigles et abréviations

| | |
|---------|--|
| ADN | Acide Désoxyribonucléique |
| AE | Elution Buffer (tampon d'élution) |
| AL | Lysis Buffer (tampon de lyse) |
| ARN | Acide Ribonucléique |
| ASACOKA | Association de Santé Communautaire de Kalaban coro |
| ATL | Tissue Lysis Buffer (tampon de lyse tissulaire) |
| AW1 | Wash Buffer 1 (tampon de lavage 1) |
| AW2 | Wash Buffer 2 (tampon de lavage 2) |
| CD36 | Cluster of Differentiation 36 (classe de différenciation 36) |
| CD4+ | Cluster of Differentiation 4+ (classe de différenciation 4+) |
| CD8+ | Cluster of Differentiation 8+ (classe de différenciation 8+) |
| CNAM | Centre National d'Appui à la lutte contre la Maladie |
| CREFPAM | Centre de Recherche Et de Formation sur la Pathologie Moléculaire |
| CRF | Formulaire de Rapport de Cas |
| CSCOM | Centre de Santé Communautaire |
| CSRef | Centre de Santé de Référence |
| CTA | Combinaison Thérapeutique à base d'artémisinine |
| Cy5 | Cyanine 5 |
| ELISA | Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay (Technique d'immuno-absorption liée à l'enzyme) |
| FAPH | Faculté de Pharmacie |
| FAM | 6-CarboxyFluorescein |
| FMOS | Faculté de Médecine et d'Odontologie Stomatologie |
| FP | Faux Positif |
| GB | Globule Blanc |
| GE | Goutte Epaisse |
| ICAM-1 | InterCellular Adhesion Molecule-1 (molécule d'adhésion intercellulaire) |
| ICER | International Center of Excellence in Resarch (centre international pour l'excellence dans la recherche) |

| | |
|--------------|--|
| IDMERTC | Infectious Diseases and Medical Entomology Research and Training Center (centre de recherche et de formation sur l'entomologie médicale et des maladies infectieuses) |
| IFN γ | Interféron γ |
| HEX | Hexachloro-Fluorescein |
| LB | Lysis Buffer (tampon de lyse) |
| NK | Natural Killer (cellule tueuse naturelle) |
| OMS | Organisation Mondiale de la Santé |
| PBS | Phosphate Buffered Saline (solution saline tamponnée au phosphate) |
| PCR | Polymerase Chain Reaction (Réaction par Chaîne Polymérase) |
| PECAM-1 | Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule-1 (molécule d'adhésion plaquettaire-endothéliale) |
| Pf18S | ARN ribosomique 18S de <i>Plasmodium falciparum</i> |
| PfEMP-1 | <i>Plasmodium falciparum</i> Erythrocyte Membrane Protein-1 (Protéine membranaire de <i>Plasmodium falciparum</i> à la surface de l'érythrocyte) |
| PM | Primers Mix (mélange d'amorces) |
| PMRTC | Centre de Recherche et de Formation sur les Parasites et les Microbes |
| PNLP | Programme National de Lutte contre le Paludisme |
| qPCR | quantitative Polymerase Chain Reaction (Réaction par Chaîne Polymérase quantitative) |
| RASERE | Rassembleurs Secouristes et Réformateurs |
| RM | Reaction Mix (mélange réactionnel) |
| RN5 | Route Nationale 5 |
| RT-qPCR | Réaction par Chaîne Polymérase quantitative en temps réel |
| RTS,S | Repeat T-cell epitope Surface Antigen (Antigène fusionné avec la protéine S du virus de l'hépatite) |
| Se | Sensibilité |
| Sp | Spécificité |
| TDR | Test de Diagnostic Rapide |
| TNF | Timor Nécrosais Factor (Facteur nécrosant tissulaire) |
| USTTB | Université des Sciences, des Techniques et des Technologie de Bamako |
| VCAM-1 | Vascular Cell Adhesion Molecule-1 (molécule d'adhésion des cellules vasculaires-1) |

| | |
|-----|----------------------------|
| VN | Vrai négatif |
| VP | Vrai Positif |
| VPN | Valeur Prédiction Négative |
| VPP | Valeur Prédiction Positive |

1 Introduction

Le paludisme est une parasitose causée par des hématozoaires du genre *Plasmodium*, transmis à l'homme par la piqûre des moustiques femelles infectés du genre anophèle (1,2). L'organisation mondiale de la santé (OMS) estime dans son rapport 2025, le nombre de cas du paludisme à 282 millions dont 610 000 décès soit une augmentation de plus de 9 millions comparativement au rapport 2024 (3). La région africaine de l'OMS est la plus touchée avec 94% des cas du paludisme et 95% de décès en 2024. Les décès dans la région touchent plus les enfants de moins de cinq ans (75%) et les femmes enceintes qui constituent les couches les plus vulnérables (1,3).

Au Mali, le paludisme reste la première cause de mortalité et de morbidité selon le système local d'information sanitaire (4), avec une prévalence nationale de 19% chez les enfants de moins de cinq ans (5). En 2023, sur une estimation de 8 229 337 cas suspects de paludisme, 3 517 583 ont été confirmés par la goutte épaisse et/ou le test de diagnostic rapide (TDR). Ces deux tests sont recommandés par le programme national de lutte contre le paludisme (PNLP) du Mali chez tous les cas suspects avant d'administrer un traitement antipaludique (6). Dans les pays à faible revenu et dans les zones reculées, les tests de diagnostics rapides sont surtout recommandés en raison de son faible coût, de son accessibilité et de sa simplicité. Ces méthodes immunologiques permettent la détection des antigènes du *Plasmodium* à un temps record (15 à 20 minutes) (7,8).

Malgré le large déploiement de ces deux tests à travers le pays, leur utilisation pratique reste actuellement un véritable défi dans la lutte contre le paludisme. Les TDR utilisés au Mali ciblent principalement l'antigène protéine 2 riche en histidine ou lactate déshydrogénase (LDH) et l'aldolase. Les parasites du paludisme qui ne possèdent pas le gène de la protéine 2 riche en histidine ou les faibles parasitémies peuvent donc échapper à la détection par ces TDR et conduire à des cas des faux négatifs de paludisme (9,10). Bien que la goutte épaisse soit l'étalon d'or de diagnostic du paludisme, le frottis mince se fait gloire de pouvoir identifier toutes les espèces plasmodiales mais les méthodes de diagnostic moléculaire restent les plus sensibles. Cependant ces méthodes moléculaires sont très coûteuses, difficiles à réaliser dans

un bref délai, nécessitent également des ressources humaines qualifiées et financières, ce qui limite leur utilisation dans les pays endémiques à ressources limitées (11).

Dans le but d'améliorer la détection précoce et efficace du paludisme, un dispositif de test du paludisme allégé à base moléculaire utilisable en diagnostic de routine appelé « Test Moléculaire Rapide » utilisant l'amplification isotherme multiplex et la technologie de détection fluorescente de l'ADN du paludisme en temps réel est en voie de développement par le laboratoire ATILA. Cette méthode permettra une détection précoce et précise du paludisme en routine. C'est dans cette optique que notre étude a été initiée afin d'évaluer la performance du test moléculaire rapide dans le diagnostic du paludisme pour renforcer les mesures de contrôle au Mali.

2 Objectifs

2.1 Objectif général

Evaluer la performance du test moléculaire rapide dans le diagnostic biologique du paludisme chez les patients vus en consultation de routine dans les centres de santé communautaire de Kalaban coro et de Djicoroni coura en 2024.

2.2 Objectifs spécifiques

- Déterminer la fréquence du paludisme par le TDR, la goutte épaisse, la PCR et le test moléculaire rapide.
- Comparer la sensibilité, la spécificité, les valeurs prédictives positive et négative du test moléculaire rapide par rapport à la PCR, la goutte épaisse, et le TDR.
- Déterminer la concordance du test moléculaire rapide par rapport à la PCR, la goutte épaisse et le TDR.

3 Généralités

3.1 Épidémiologie

Le paludisme est une parasitose causée par un protozoaire du genre *Plasmodium*, transmis à l'hôte humain par la piqûre infectante d'un moustique femelle du genre anophèle (12).

La répartition géographique de cette maladie meurtrière varie d'une zone à une autre, dont la transmission dépend le plus souvent des facteurs liés à l'hôte, au vecteur, au parasite et à l'environnement (13). Selon l'OMS, le nombre de cas du paludisme dans le monde atteint 300 à 500 millions par an (14). En Asie la transmission est surtout sporadique dont plusieurs pays de la région ont été certifiés d'exempte de paludisme, la Chine depuis 2021, l'Azerbaïdjan et le Tadjikistan, recensement en 2023 (15). L'Amérique a enregistré 505 600 cas de paludisme en 2023, la plus lourde charge a été portée par l'Amérique du Sud (92%) (16). Depuis 2015, le continent européen est considéré comme indemne de paludisme (17). Le continent africain continue de porter le plus lourd fardeau. En 2024, l'ensemble de la région de l'OMS représentait 94% de tous les cas et 95% de tous les décès de la maladie (3). Au Mali, cinq profils épidémiologiques sont identifiés selon les facteurs géo-climatiques :

- Zone soudano-guinéenne où la transmission saisonnière est longue avec une prémunition à l'âge de 5-6 ans et un taux de mortalité infantile conséquent.
- Zone sahélienne où la transmission saisonnière est courte avec une prémunition jusqu'à l'âge de 9-10 ans.
- Zone saharienne : au nord et certaines localités de Kayes, de Koulikoro, de Ségou, et de Mopti où la transmission est sporadique avec un risque de paludisme grave à tout âge.
- Zones de transmission bi ou multimodalités : les zones de barrages et le delta intérieur du fleuve Niger où l'anémie est un signe clinique décisif de la maladie.
- Zone de transmission hypoendémique du paludisme correspond aux zones urbaines de Bamako et de Mopti où les adultes peuvent faire la forme grave et compliquée du paludisme (18).

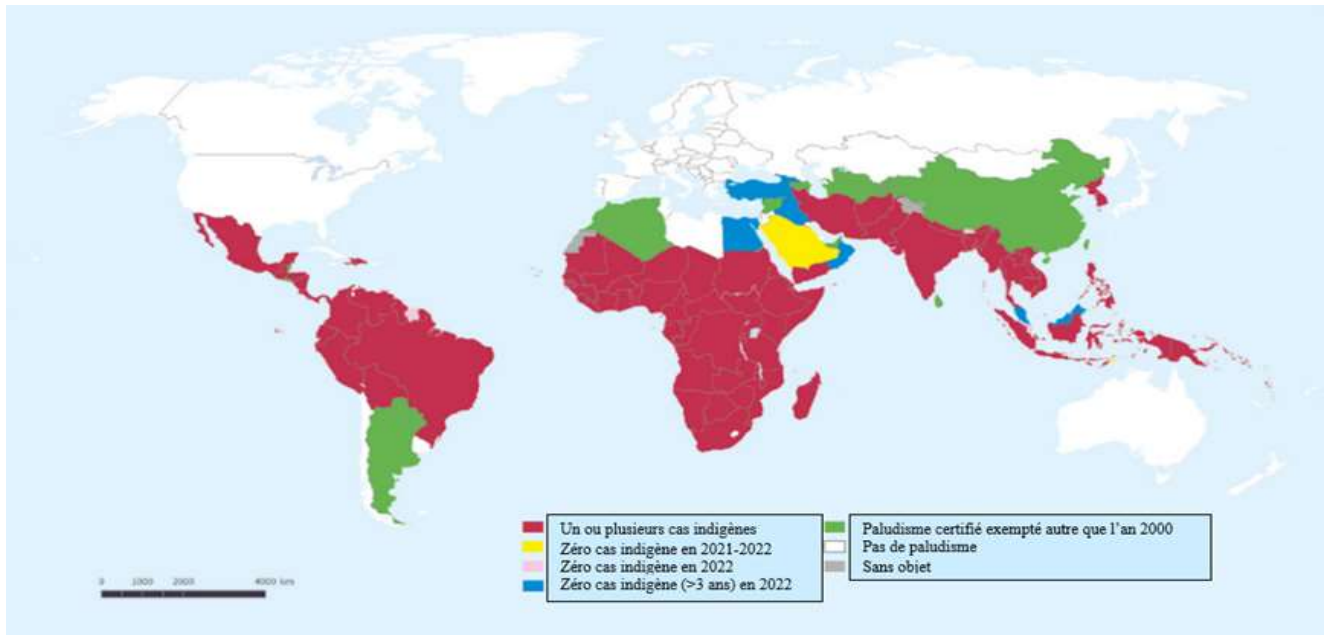


Figure 1 : répartition géographique du paludisme dans le monde

(19)

3.2 Vecteur du paludisme

Parmi les 3500 espèces de moustiques dans le monde, la transmission du paludisme est assurée par le genre anophèle avec près de 430 espèces. Seules 40 espèces transmettent essentiellement le paludisme dans le monde (20). *Anophèles gambiae*, *Anophèles funestus*, *Anophèles coluzzii* et *Anophèles arabiensis* sont les plus anthropophiles au monde. *Anophèles gambiae* et *Anophèles funestus* sont les vecteurs principaux responsables de la transmission en Afrique subsahara (21).

3.3 Agent pathogène

Le *Plasmodium* est un protozoaire appartenant au règne de l'eucaryote, à l'embranchement des apicomplexa, de l'ordre des hémospodidies et à la famille Plasmodiidae (22). Il existe plus de 500 espèces de *Plasmodium* pouvant infecter les mammifères, les oiseaux et les reptiles (23). Les espèces pouvant infectées l'homme sont entre autres : *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale* (*curtisi*, *walikeri*) *P. malariae*, *P. knowlesi*, *P. cynomolgi*. Le *P. vivax* est l'espèce la plus répandue géographiquement. Cependant *P. falciparum* est l'espèce prédominante en Afrique subsaharienne reconnue par ces caractéristiques cliniques de formes graves du paludisme dans le monde (22,24). Ces espèces se différencient non seulement par leurs caractéristiques

cliniques et biologiques, mais aussi par leur répartition géographique et leur capacité à développer des résistances aux antipaludiques.

Plasmodium falciparum : l'espèce la plus dangereuse et la plus mortelle, responsable des formes cliniques graves, notamment le neuropaludisme, et qui développe plus de résistance aux antipaludiques. Sa transmission est assurée durant toute l'année avec des recrudescences saisonnières. *P. falciparum* se différencie surtout des autres espèces par l'absence d'un accès de reviviscence (25). Son infection est surtout caractérisée par une fièvre tierce maligne (13).

Plasmodium vivax : est l'espèce de paludisme humain la plus répandue et pouvant provoquer des rechutes tardives via les hypnozoïtes hépatiques. Bien que généralement bénin et rare en Afrique subsaharienne, des cas sévères et mortels ont été rapportés (26).

Plasmodium ovale : est divisé en deux sous-types *P. ovale curtisi* et *P. ovale wallikeri*, considéré comme une maladie tropicale (27). Le *P. ovale* est présent principalement en Afrique intertropicale et dans certaines zones du pacifique. Il est responsable d'une fièvre tierce bénigne, similaire à celle causée par *P. vivax*. La période d'incubation minimale est de 15 jours mais elle peut s'allonger considérablement jusqu'à 4 ans. L'évolution de l'infection est généralement bénigne, même si des rechutes tardives sont souvent observées comparables à celles observées avec *P. vivax* (5ans). De manière schématique, *P. ovale* tend à occuper les régions où *P. vivax* est absent (25).

Plasmodium malariae : présent de manière sporadique sur trois continents, provoque une fièvre quarte avec un cycle érythrocytaire de 72 heures. Son incubation dure 15 à 21 jours, et il peut entraîner des rechutes très tardives, parfois jusqu'à 20 ans, avec des complications rénales possibles malgré une infection généralement bénigne (25).

Plasmodium knowlesi : est principalement endémique en Asie du Sud-Est, notamment en Malaisie et sur l'île de Bornéo, dans les zones forestières. Sa transmission est étroitement liée à la présence des macaques, son hôte naturel, ainsi qu'à celle de son vecteur capable de piquer à la fois l'homme et le singe. Morphologiquement similaire à *P. malariae*, il s'en distingue par un cycle érythrocytaire rapide de 24 heures, à l'origine d'une fièvre quotidienne. Bien que l'infection soit le

plus souvent bénigne, des formes graves, voire mortelles, associées à une parasitémie élevée, ont été rapportées. À ce jour, aucune résistance aux antipaludiques n'a été documentée pour cette espèce (25).

Plasmodium cynomolgi : En janvier 2011, un cas a été rapporté pour la première fois chez l'homme en Malaisie. Il s'agissait d'une femme de 39 ans sans antécédents connus de paludisme (28). Comme le *P. knowlesi*, les singes macaques sont des hôtes naturels de *P. cynomolgi*, cette espèce zoonose du paludisme sévit en Asie du sud-est. L'homme est considéré comme l'hôte accidentel, suite à la piqûre infectante d'un moustique (29,30).

3.4 Cycle biologique du paludisme

Le cycle du paludisme se déroule successivement chez l'homme (phase asexuée chez l'hôte intermédiaire) et chez l'anophèle (phase sexuée chez l'hôte définitif) (30).

3.4.1 Cycle chez l'homme (phase asexuée)

Le cycle asexué du *Plasmodium* chez l'homme comprend deux phases distinctes : une phase hépatique ou exo-érythrocytaire (pré-érythrocytaire) et la phase sanguine ou érythrocytaire : (30)

3.4.1.1 Phase exo-érythrocytaire

Cette phase initiale débute immédiatement après l'inoculation des sporozoïtes infectants par la piqûre d'un moustique vecteur. Ces sporozoïtes, présents dans la salive de l'anophèle sont injectés dans la circulation sanguine de l'hôte humain et envahissent les hépatocytes en moins d'une demi-heure. À l'intérieur des hépatocytes, les sporozoïtes se différencient en trophozoïtes puis subissent une schizogonie (multiplication asexuée exo-érythrocytaire) donnant naissance à des schizontes (corps bleu). Ces derniers contenant de nombreux mérozoïtes qui, à maturité seront libérés dans la circulation sanguine à la suite de la lyse des hépatocytes (30). Cette phase hépatique est cliniquement silencieuse et dure généralement entre 7 à 15 jours. Toutefois, dans les cas d'infection par *Plasmodium vivax* ou *ovale*, certains sporozoïtes peuvent évoluer en formes dormantes appelées hypnozoïtes. Ces derniers restent quiescents dans le foie pendant plusieurs semaines, voire plusieurs mois avant de reprendre leur développement et provoquer des rechutes tardives (25).

3.4.1.2 Phase érythrocytaire

Après leur libération dans la circulation sanguine, les mérozoïtes envahissent rapidement les érythrocytes où ils amorcent un nouveau cycle de schizogonie. Une fois à l'intérieur du globule rouge, les mérozoïtes se transforment en trophozoïtes, une forme végétative qui se développe et multiple par fission nucléaire pour former des schizontes érythrocytaires (rosacés). À maturité, les schizontes segmentent pour produire un nouveau lot de mérozoïtes qui sont libérés lors de la lyse érythrocytaire. Ces mérozoïtes réinfectent de nouveaux érythrocytes, perpétuant le cycle (30). Cette phase, d'une durée moyenne de 48 heures (variable selon l'espèce plasmodiale) est responsable de la majorité des manifestations cliniques, y compris la fièvre cyclique, l'anémie hémolytique, les complications sévères associées à la maladie. Elle constitue ainsi le principal déterminant de la morbidité et de la mortalité liées à l'infection palustre. Après plusieurs cycles de multiplication asexuée, une partie des mérozoïtes intra-érythrocytaires se différencient en gamétocytes mâles (microgamétocytes) et femelles (macrogamétocytes). Ces formes sexuées sont non pathogènes pour l'homme mais assurent la continuité du cycle parasitaire lorsqu'elles sont ingérées par un moustique vecteur. Les gamétocytes persistent dans le sang périphérique durant deux semaines, au terme desquels ils dégèrent s'ils ne sont pas transmis à un vecteur (25).

3.4.2 Cycle chez l'anophèle (phase sexuée)

Lors d'un repas sanguin prélevé sur un hôte humain infecté, l'anophèle femelle ingère des gamétocytes (formes sexuelles du *Plasmodium*). Dans le tractus digestif du moustique, ces gamétocytes se différencient : les gamétocytes mâles subissent un phénomène d'exflagellation pour former 6 à 8 microgamètes flagellés et mobiles tandis que les gamétocytes femelles se transforment en macrogamètes (ovocytes). La fécondation entre un microgamète et une macrogamète conduit à la formation d'un zygote mobile appelé ookinète (œuf mobile). Ce dernier traverse la paroi intestinale de l'anophèle pour s'implanter sous l'épithélium stomacal, où il s'enkyste pour devenir un oocyste. Au sein de cet oocyste (brève phase diploïde) s'effectue une sporogonie aboutissant à la formation de nombreux sporoblastes, à partir desquels émergent des milliers de sporozoïtes haploïdes. Ces sporozoïtes perforent ensuite la coque de l'oocyste, gagnent l'hémolymphe, puis migrent vers les glandes salivaires du

moustique, où ils acquièrent leur pouvoir infectieux. La durée complète du cycle sporogonique dépend des conditions environnementales du moustique (température, humidité) et s'étend en moyenne sur une quinzaine de jours (31,32)

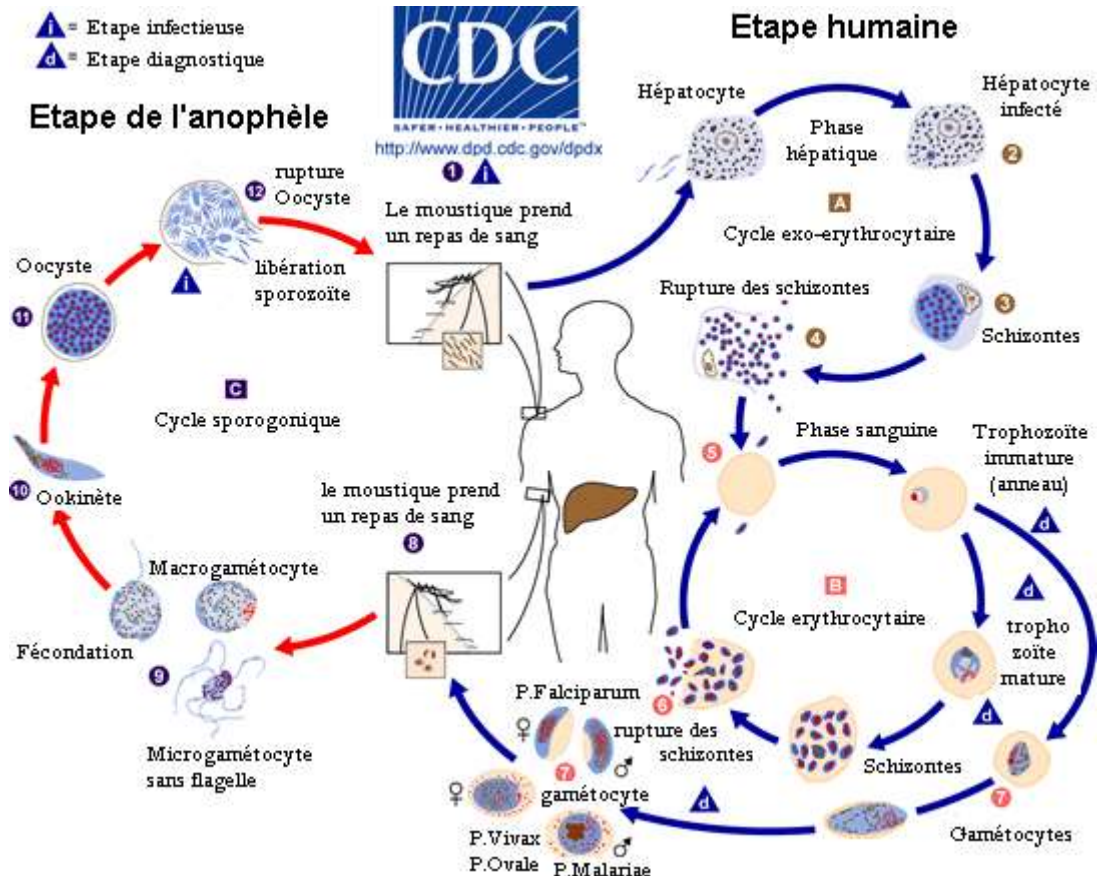


Figure 2 : cycle de développement du *Plasmodium*

(33)

3.5 Physiopathologie du paludisme

Les manifestations cliniques du paludisme résultent principalement de la schizogonie érythrocytaire, alors que la phase hépatique est asymptomatique (34). Dans les formes sévères à atteinte neurologique, le mécanisme principal est la séquestration des érythrocytes parasités dans les capillaires cérébraux, provoquant une anoxie tissulaire. Ces globules rouges adhèrent à l'endothélium vasculaire en raison de protubérances membranaires induites par *Plasmodium falciparum* qui est l'espèce plasmodiale causant plus de mortalité (35). Les signes cliniques du paludisme varient selon l'espèce de *Plasmodium*, la densité parasitaire et les facteurs liés à l'hôte, tels que la susceptibilité génétique et le statut immunitaire (36).

3.5.1 Accès palustre non compliqué

L'accès palustre simple débute brutalement et évolue en trois stades successifs : frissons, chaleur et sueurs, pour une durée moyenne de 6 à 10 heures. En absence d'un traitement efficace, les crises se répètent toutes les 48 à 72 heures, selon l'espèce plasmodiale. Les accès fébriles du paludisme varient selon l'espèce de *Plasmodium* : Fièvre tierce, correspondant à un cycle de 48 h, typique de *P. vivax* et *P. ovale* (forme bénigne), mais peut aussi être irrégulière avec *P. falciparum* (forme maligne).

Fièvre quarte, correspondant à un cycle de 72 h de *P. malariae*.

Fièvre quotidienne observée avec *P. knowlesi* ou deux souches décalées de *P. falciparum*.

Quelle que soit l'espèce plasmodiale, la répétition des accès entraîne une anémie et une splénomégalie (34).

3.5.2 Accès palustre grave et compliqué

Le paludisme grave demeure une cause majeure de mortalité, principalement lié à *Plasmodium falciparum*. Les populations les plus vulnérables sont les jeunes enfants, les femmes enceintes, les personnes âgées, les voyageurs et les individus immunodéprimés, considérés comme non immunisés contre le parasite (37,38). La physiopathologie du paludisme grave est complexe et partiellement élucidée. Les formes compliquées sont principalement liées à la séquestration des érythrocytes infectés, qui adhèrent aux cellules endothéliales (cytoadhérence) ou aux globules rouges non infectés (rosetting) via des knobs. Trois mécanismes principaux interviennent : cytoadhérence, rosetting et auto-agglutination (37,39).

3.5.2.1 Cytoadhérence

Elle est la principale cause de gravité du paludisme, correspond à l'adhésion des érythrocytes infectés aux cellules endothéliales via des interactions moléculaires spécifiques, principalement entre la protéine PfEMP1 et des récepteurs tels que PECAM-1, CD36, ICAM-1, VCAM-1 et E-sélectine. Cette obstruction microvasculaire entraîne hypoxie tissulaire, troubles métaboliques et peut provoquer une défaillance multiviscérale menaçant directement le pronostic vital (39,40).

3.5.2.2 Rosetting

Le rosetting correspond à l'agrégation des érythrocytes infectés entre eux et avec les globules rouges non infectés, réduisant l'apport en oxygène et provoquant l'obstruction des microvaisseaux. Ce mécanisme favorise la survie du parasite tout en entraînant des lésions graves, pouvant être fatales pour l'hôte (41,42).

3.5.2.3 Auto-agglutination :

L'auto-agglutination, surtout observée *in vitro*, correspond à l'adhésion des érythrocytes parasités entre eux, formant des micro-agrégats pouvant obstruer les capillaires profonds, bien que ses mécanismes soient partiellement élucidés (35).

3.6 Immunité anti-palustre

L'infection palustre induit l'activation de la réponse immunitaire de l'hôte, impliquant à la fois le système immunitaire inné et le système immunitaire adaptatif (43).

3.6.1 Immunité innée ou naturelle

Le système immunitaire inné constitue la première ligne de défense contre le *Plasmodium* qui mobilise dès les premières heures de l'infection, les neutrophiles, les monocytes, les cellules NK, les macrophages, les lymphocytes $T\gamma\delta$ et les cellules dendritiques pour limiter la multiplication parasitaire (44). La réponse immunitaire innée génère un environnement pro-inflammatoire avec des taux élevés de TNF et d'IFN γ , limitant le développement du parasite. Elle élimine les cellules infectées et régule les réponses immunitaires innées et adaptatives (45).

3.6.2 Immunité acquise ou adaptative

L'immunité adaptative contre le paludisme se développe progressivement après des années d'exposition répétée en zone d'endémie (43). Toutefois, cette immunité reste non stérilisante : dans les zones de transmission stable, de nombreux individus peuvent héberger le parasite sans présenter de symptômes. Cette condition est connue sous le nom d'état de prémunition. Des études menées dans les zones d'endémie ont montré que l'induction d'une immunité adaptative nécessite une exposition prolongée, se construisant avec l'âge et les contacts répétés avec le parasite (46). L'immunité acquise repose sur deux composantes essentielles : La réponse humorale, principalement dirigée contre les formes asexuées érythrocytaires

du parasite (47) et la réponse cellulaire, impliquant les lymphocytes T CD4+ et CD8+ (48).

3.7 Diagnostic Biologique

Les méthodes diagnostiques sont nombreuses, les plus utilisées sont :

3.7.1 Microscopie

En zone endémique, le plus simple est de recueillir sur une lame porte-objet de microscope, une ou deux gouttes de sang (environ 10 ul) par piqûre au bout du doigt ou au talon (chez l'enfant), puis de confectionner rapidement les étalements (goutte épaisse et frottis mince) (49).

3.7.1.1 Goutte épaisse (GE)

La goutte épaisse est la méthode de référence de diagnostic du paludisme. Elle permet d'identifier l'espèce plasmodiale et la densité parasitaire (11). Elle consiste à examiner quelques microlitres de sang après hémolyse des hématies, suivie d'une coloration selon la méthode de Giemsa. Bien qu'elle soit reconnue pour sa sensibilité élevée, sa mise en œuvre demeure techniquement délicate et nécessite l'expertise du lecteur. Par ailleurs, l'identification précise de l'espèce parasitaire peut s'avérer difficile avec cette méthode. Le dénombrement des parasites s'effectue généralement pour 200, 500, ou 1000 leucocytes. Le seuil de détection est estimé entre 10 à 20 parasites par microlitre de sang (7,29,49).

3.7.1.2 Frottis mince

Après fixation à l'alcool, la lame est colorée selon la méthode de Giemsa, permettant la visualisation des parasites intra-érythrocytaires qui sont reconnaissables par leur noyau rouge et leur cytoplasme bleu. Toutefois, le volume du sang analysé étant plus faible que dans la goutte épaisse, cette méthode est moins sensible, notamment en cas de parasitémie faible. Sa sensibilité théorique est 10 à 20 fois inférieure à celle de la GE. Le taux de parasitémie doit être exprimé en pourcentage d'hématies parasitées dont le seuil de détection est estimé entre 100 et 200 parasites par microlitre de sang (7,29).

3.7.2 Test de Diagnostic Rapide

Ces tests reposent sur la détection de protéines spécifiques du *Plasmodium* (antigènes HRP-2, LDH ou aldolase) par chromatographie sur un support solide. Certains tests permettent d'établir un diagnostic de présence de *Plasmodium* pour les quatre espèces les plus courantes, bien que la détection de *P. knowlesi* soit limitée avec les tests actuels. Ils offrent également la possibilité de spécifier l'espèce pour *P. falciparum* et *P. vivax*. Ces tests, rapides et simples présentent une excellente spécificité pour toutes les espèces et une bonne sensibilité pour *P. falciparum* et *P. vivax* (comparé aux frottis sanguins ou à la goutte épaisse pour *P. falciparum* avec l'antigène HRP-2), mais une sensibilité plus faible pour *P. ovale* et *P. malariae* (qui partagent un antigène commun). Toutefois, ces tests ne permettent pas d'évaluer la parasitémie, et l'antigène HRP-2 peut rester détectable plusieurs jours à semaines après l'élimination du *P. falciparum* dans le sang (7,49).

3.7.3 Méthode ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay)

Elle repose sur l'immobilisation, sur un support solide, des constituants d'un liquide biologique. Les antigènes solubles sont ensuite mis en évidence à l'aide d'un complexe immunitaire marqué par une enzyme, dont la présence est révélée par l'ajout d'un substrat spécifique. Ces techniques offrent des informations complémentaires utiles, notamment pour confirmer une infection palustre dans des contextes où la parasitémie a été réduite par un traitement antipaludique. Elles permettent également de suivre l'évolution de la maladie, en particulier par la diminution progressive du taux d'anticorps, et présentent un intérêt en zones d'endémie. Cependant, le diagnostic immunologique ne peut se substituer au diagnostic parasitologique direct, car les anticorps n'apparaissent qu'après un certain délai par rapport à l'apparition des parasites dans le sang, et peuvent persister longtemps après leur disparition. De ce fait, ces techniques ne sont pas adaptées à un diagnostic de routine, mais sont principalement réservées à des fins de recherche (50).

3.7.4 Diagnostic moléculaire : PCR

L'essor de la biologie moléculaire a conduit au développement de techniques innovantes reposant sur l'amplification de l'ADN plasmodial, notamment la réaction en chaîne par polymérase (PCR). Cette méthode consiste à cibler et amplifier des séquences spécifiques du génome parasitaire à l'aide d'amorces complémentaires,

permettant ainsi une détection hautement sensible. La PCR présente l'avantage de détecter une souche particulière de *Plasmodium*, soit par l'amplification de séquences génétiques spécifiques, soit par l'analyse du produit amplifié à l'aide d'enzymes de restriction. Elle permet la mise en évidence de parasitémies très faibles, souvent non détectables par les méthodes classiques. Bien qu'elle soit utilisée à la fois dans le cadre du diagnostic individuel et des enquêtes épidémiologiques de grande envergure, cette technique reste essentiellement réservée aux laboratoires spécialisés, en raison de son coût élevé et de l'exigence en matériel technique. Toutefois, elle présente l'avantage de pouvoir être réalisée à partir de prélèvements capillaires, sans recourir systématiquement à une ponction veineuse (51).

3.8 Prise en charge du paludisme

3.8.1 Prévention du paludisme

Organisation mondiale de la Santé (OMS) recommande le vaccin antipaludique RTS,S/AS01 pour les enfants vivant dans les zones de forte transmission de *Plasmodium falciparum*, surtout en Afrique subsaharienne. Testé depuis 2019 au Ghana, au Kenya et au Malawi, où il a montré une réduction d'environ 30 % des formes graves de paludisme (52).

Au Mali, la prévention du paludisme repose sur plusieurs stratégies mises en œuvre selon les recommandations de l'OMS et du PNLP qui sont : la lutte antivectorielle et la chimioprévention chez les groupes vulnérables notamment les femmes enceintes et les moins de cinq (5) ans (53,54). Récemment, le 25 avril 2025, le vaccin antipaludique R21/Matrix-M a été intégré au programme national de vaccination ciblant les enfants de 5 à 36 mois de cinq régions (Kayes, Sikasso, Ségou, Koulikoro et Mopti). Le Mali est le premier pays au monde qui a mis en place la stratégie hybride de vaccination, c'est-à-dire l'administration consécutive de trois doses mensuelles puis deux doses au début de la période de forte transmission (55). Cependant, ce vaccin complète les stratégies préconisées par l'OMS en matière de prévention, de diagnostic et de traitement, sans les remplacer.

3.8.2 Traitement du paludisme

Au Mali, les recommandations de l'OMS ont été adaptées par le Programme National de Lutte contre le Paludisme (PNLP) depuis 2005, l'utilisation des combinaisons thérapeutiques à base de dérivés d'artémisinine, telles que l'artéméther-luméfantine

ou l'artésunate-amodiaquine, pour la prise en charge du paludisme non compliqué, après confirmation diagnostique par microscopie ou test de diagnostic rapide (TDR). En cas de paludisme grave ou compliqué, les antipaludiques injectables recommandés sont l'artésunate, l'artéméther ou la quinine. Chez la femme enceinte, la prise en charge varie selon le terme de la grossesse : la quinine (injectable ou per os) est utilisée durant le premier trimestre, tandis que les CTA sont indiquées à partir du deuxième trimestre, conformément aux recommandations nationales et internationales (56,57).

4 Méthodologie

4.1 Sites d'étude

L'étude s'est déroulée dans les centres de santé communautaire (CSCOM) de Kalaban coro, et de Djicoroni coura dans le cercle de Kati.

4.1.1 Aire de santé de kalaban coro

❖ Situation géographique et démographique : (58)

Kalaban Coro est l'une des 37 communes du Cercle de Kati dans la région de Koulikoro, qui est en partie considérée comme une banlieue de Bamako. La ville est située sur la rive droite du fleuve Niger. La Commune est limitée au nord par le District de Bamako, au sud par la Commune de Sanankoroba, à l'est par la commune de Mountougoula, à l'ouest par la commune du Mandé, et au nord-est par la commune de Banguinéda. Elle couvre une superficie de 21 975 km² et est composée de douze villages : Diatoula, Guana, Kabala, Kalaban Coro, Kouralé, Missala, Missalabougou, N'golobougou, Niamana, Sabalibougou, Sirakoro-Méguetana et Tabacoro.

La population est composée essentiellement de Bamanans. Elle compte également des peulhs, des bozos, des dogons, des bobos et des sarakolés. Elle accroît considérablement du fait de sa contiguïté avec le District de Bamako.

❖ Climat et végétation : (58)

Le climat est de type soudain avec une saison pluvieuse de juin à octobre et une pluviométrie moyenne annuelle de 1 000 mm de pluies. La saison sèche s'étend de novembre à mai.

La végétation est faite de savane arborée et herbacée. Parmi les plantes rencontrées, on peut citer le karité (*Vitellaria paradoxa*), le néré (*Parkia biglobosa*), le caïlcédrat (*Khaya senegalensis*), le tamarinier (*Tamarindus indica*), le kapokier (*Ceiba pentandra*), le baobab (*Adansonia digitata*), et le jujubier (*Ziziphus mauritiana*), etc.

❖ Géographie sanitaire

La commune de Kalaban Coro dispose huit (08) structures sanitaires dont sept (7) à caractère communautaire (CSCOM), un CSREF et d'autres structures privées (infirmes, cabinets médicaux, cliniques).

Le CSCOM de Kalaban Coro (ASACOKA) comporte 4 grandes unités dont :

- Le dispensaire composé de 4 sous-unités : la maternité, le service de soins, les activités et la garde ;
- Le laboratoire ;
- La pharmacie ;
- L'échographie.

4.1.2 Aire de santé de Djicoroni coura

❖ Situation géographique et démographie

Djicoroni coura (ou Samanko II) est un quartier périphérique en plein croissance située dans la zone périurbaine de Bamako. Il est localisé le long de la route nationale RN5 (axe Bamako-Guinée), dans la région administrative de Koulikoro, cercle de Kati. Ce quartier fait partie des zones périurbaines de la commune rurale de Mandé. Il est limité au nord par Mamaribougou, au sud par Bagaforo et Nouhoumbougou, à l'est par Kanadjiguila et Ouézzindougou et à l'ouest par la forêt Manding. La population est estimée à 23 863 habitants et se caractérise par une diversité ethnique représentative de l'ensemble des ethnies du Mali. Les activités socio-économiques des populations sont dominées par l'agriculture, l'élevage, le maraichage, la pêche et le commerce.

❖ Historique et religion

Samanko II, initialement considéré comme un village post-cure. Il a pris l'appellation de djicoroni Coura à la suite de l'installation des anciens patients guéris de la lèpre provenant de l'institut Marchoux de djicoroni Para, actuel CNAM (Centre National d'Appui à la lutte contre la maladie). Ces personnes y bénéficiaient d'une formation dans les métiers artisanaux et agricoles, dans le but de favoriser leur réinsertion socio-économique. Sur le plan religieux, la population est majoritairement musulmane, avec la présence de communautés chrétiennes et animistes.

❖ Climat et végétation

Le climat est de type soudanien marqué par une saison pluvieuse de juin à octobre et une saison sèche s'étendant de novembre à mai. La végétation est faite de savane arborée et arbustive. Parmi les plantes rencontrées, on peut citer le karité (*Vitellaria paradoxa* ou *Butyrospermum parkii*), le caicédrat (*Khaya senegalensis*), le néré (*Parkia biglobosa*), le balanzan (*Faidherbia albida*), le baobab (*Adansonia digitata*) ainsi que des arbres à feuilles caduques.

❖ Organisation sanitaire

Le 29 décembre 2024, l'ancienne maternité rurale affiliée au CSCOM de Kabalabougou a été érigée en Centre de Santé Communautaire de Samanko II (Djicoroni coura). Cette structure sanitaire comprend quatre unités fonctionnelles :

- Un dispensaire
- Une maternité
- Un laboratoire d'analyse
- Un dépôt de vente de médicament.

4.2 Type et période d'étude

Il s'agissait d'une étude transversale menée de septembre à octobre 2024. Elle consistait à collecter des données chez les patients vus en consultation de routine dans nos sites d'étude pour suspicion de paludisme.

4.3 Population d'étude et l'échantillonnage

L'étude a concerné tous les patients vus en consultation de routine au CSCOM de Kalaban coro, et de Djicoroni coura présentant les symptômes du paludisme.

En estimant la sensibilité du test moléculaire rapide à 97% avec un niveau de confiance à 95% et en tenant compte des 10% des perdus, la taille minimale de l'échantillon était de 200 participants dont 150 positifs au TDR et 50 négatifs. Tous les patients reçus aux CSCOMs pour paludisme ont été inclus de façon exhaustive jusqu'à atteindre la taille de l'étude. En raison de contraintes budgétaires, la PCR a été réalisée chez 79 participants sélectionnés de façon aléatoire.

4.4 Critères d'inclusion

- Tous les patients vus en consultation dans nos sites d'étude
- Présenter les signes du paludisme
- Avoir le TDR comme bilan de diagnostic du paludisme
- Donner son consentement libre et éclairé

4.5 Critères de non-inclusion

- N'ont pas été inclus dans cette étude tous patients qui n'avaient pas de résultats de TDR et qui ont reçus un traitement de présomption.

4.6 Variables mesurées

Nous avons mesuré les variables suivantes :

- **Variables sociodémographiques** : âge, sexe
- **Variables cliniques** : température corporelle
- **Variables biologiques** : parasitémie, résultats du TDR, quantification d'ADN par la PCR et du test moléculaire rapide.

4.7 Déroulement de l'étude

Des investigateurs ont été déployés dans les différents sites d'étude pour administrer les questionnaires et collecter les échantillons des participants éligibles.

Pour chaque participant, une goutte épaisse et frottis mince ont été réalisés pour la lecture microscopique, un confetti à papier rempli du sang a été séché et conservé dans un plastique contenant le dessiccant pour l'extraction d'ADN. Les cryotubes contenant 20 µL de sang total mélangés à 80 µL d'une solution de lyse ont été conservés à +4°C et réservés pour le diagnostic du paludisme par le test moléculaire rapide.

Les échantillons ont été transportés au laboratoire de l'ICER-Mali (unité immunogénétique et parasitologie) pour traitement selon les bonnes pratiques du laboratoire. Les lames ont été colorées aux solutions Giemsa 10% pendant 15 à 20 minutes. Un personnel certifié à la lecture de lame de goutte épaisse de l'ICER-Mali a fait la lecture des lames.

Pour l'extraction d'ADN, le confetti à papier a été mélangé à 200 µL de PBS dans un tube de 1.5 ml pour reconstituer le sang. Cette solution a été conservée à +4°C jusqu'au lendemain. Les ADN ont été ensuite extraits à partir de cette solution avant la réalisation de la réaction en chaîne par polymérase (PCR).

4.8 Gestion et analyse des données

Les données ont été enregistrées sur un formulaire de rapport des cas (CRF).

La saisie a été faite sur Microsoft Excel 2016 puis analysées avec logiciel STATA version 14. Le test de Chi² de Pearson a été utilisée pour la comparaison des proportions avec un seuil de significativité fixé à 5%.

Le test Kappa a été utilisé pour déterminer la concordance entre le test moléculaire rapide et la PCR, TDR, GE.

4.9 Tests de laboratoires utilisés

Les diagnostics biologiques occupent une place importante dans la prise en charge du paludisme. Un diagnostic erroné peut avoir des répercussions sur l'état de gravité

du patient, la résistance antipaludique, la prévention et même des décisions futures sur l'élimination du paludisme dans le monde (11). Les méthodes utilisées sont :

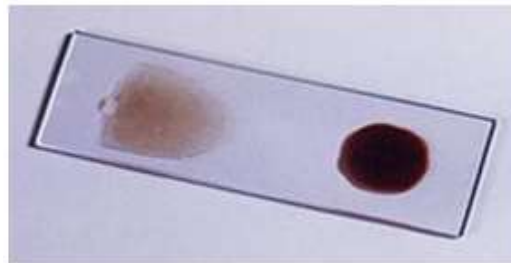
4.9.1 Goutte épaisse :

La goutte épaisse est la méthode de référence de diagnostic du paludisme. Elle permet d'identifier l'espèce plasmodiale et la densité parasitaire (11).

La réalisation de la goutte épaisse débute par la préparation du matériel adéquat et l'information préalable du participant. Après identification de la lame, une aseptie du site de prélèvement est effectuée au niveau du troisième ou du quatrième doigt à l'aide d'un tampon alcoolisé, suivie d'un séchage. Une ponction capillaire est ensuite réalisée à l'aide d'une lancette stérile. La première goutte de sang est éliminée afin d'éviter toute contamination, puis une goutte d'environ 10 μ L est déposée au centre de la lame. Une compression locale est appliquée pour assurer l'hémostase. La goutte est ensuite étalée à l'aide d'une seconde lame par des mouvements circulaires concentriques, permettant d'obtenir une préparation homogène d'environ 1 cm de diamètre.

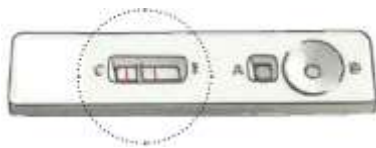
4.9.2 Frottis mince :

Une goutte de sang d'environ 5 μ L est déposée à proximité de la goutte épaisse pour la réalisation du frottis mince. Le bord d'une lame étaleuse est amené au contact de la goutte, permettant son étalement par capillarité. Le sang est ensuite étiré par un mouvement rapide et uniforme, en maintenant un angle d'environ 45°, jusqu'à l'extrémité opposée de la lame. Le frottis obtenu doit présenter, en zone terminale, une couche monocellulaire régulière et sans stries. Les préparations sont laissées à sécher à l'air libre pendant environ deux heures, à l'abri de la poussière et des insectes. Le frottis mince est ensuite fixé au méthanol, puis la lame est colorée au Giemsa en vue de l'examen microscopique.

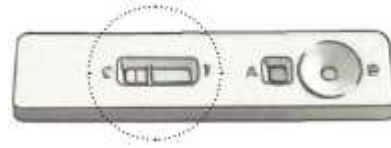


4.9.3 Test de diagnostic rapide (TDR)

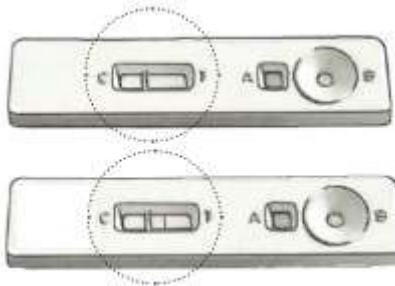
Le test de diagnostic rapide (TDR) est réalisé selon une procédure standardisée. L'identifiant du patient, la date et les initiales de l'investigateur sont inscrits sur la cassette. Après désinfection du troisième ou quatrième doigt, une ponction est effectuée avec la lancette fournie, qui est éliminée dans la boîte de sécurité. Une goutte de sang (~5 µL) est déposée dans l'alvéole A, suivie de cinq gouttes de solution tampon dans l'alvéole B. Le résultat est interprété après 15 à 20 minutes, conformément aux recommandations du fabricant.



TDR positif



TDR négatif



TDR invalides

4.9.4 Réaction par chaîne polymérase (PCR)

La détection moléculaire du matériel génétique (ADN/ARN) du *Plasmodium* est couramment utilisée par les laboratoires de recherche, notamment la réaction en chaîne par polymérase. Elle permet de confirmer ou d'infirmer la présence du parasite en utilisant l'ADN extrait à partir des gouttes de sang séché (59). Cependant la PCR en temps réel (Real-Time PCR) constitue une évolution technologique majeure de la PCR. Cette approche repose sur la détection et la quantification du produit d'amplification à chaque cycle de réaction, rendue possible par l'utilisation de marqueurs fluorescents spécifiques. Elle permet d'obtenir des données quantitatives sur la concentration initiale d'ADN cible, ce qui justifie l'appellation de PCR quantitative (qPCR). Toutefois, sa mise en œuvre requiert des thermocycleurs dotés de systèmes optiques adaptés à la détection en temps réel du signal fluorescent (60).

4.9.5 Test moléculaire rapide

Le diagnostic moléculaire du paludisme a été réalisé à l'aide du test moléculaire rapide, un test d'amplification isotherme de l'ADN avec détection par fluorescence. Pour chaque échantillon de sang total, une solution tampon de lyse a été ajoutée afin de libérer l'ADN parasitaire, puis conservé à 2-8°C pendant 72 heures avant leur analyse. Le test moléculaire rapide est un test de diagnostic qualitatif permettant la détection de l'ADN de *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae*, *P. knowlesi* ainsi que la différenciation spécifique de *P. falciparum*.

4.10 Performance d'un test de diagnostic

- Sensibilité (Se) : est la probabilité que le résultat du test soit positif lorsque le patient a la maladie recherchée. Elle est déterminée par la formule suivante $Se=VP/(VP+FN)$
- Spécificité (Sp) : est la probabilité que le résultat du test soit négatif lorsque le patient n'a pas la maladie recherchée. Elle est déterminée par la formule suivante $Sp=VN/(VN+FP)$
- Valeur prédictive positive (VPP) : est la probabilité d'être porteur de la maladie lorsque le résultat du test est positif. Elle est déterminée par la formule suivante $VPP=VP/(VP+FP)$
- Valeur prédictive négative (VPN) : est la probabilité de ne pas d'être porteur de la maladie lorsque le résultat du test est négatif. Elle est déterminée par la formule suivante $VPN=VN/(VN+FN)$
- Kappa : est un outil statistique qui mesure le degré de concordance entre deux tests (61).

| Valeur de kappa (K) | Degré de concordance |
|---------------------|------------------------|
| 0 – 0,20 | Mauvaise concordance |
| 0,21 – 0,40 | Faible concordance |
| 0,41 – 0,60 | Concordance modérée |
| 0,61 – 0,80 | Bonne concordance |
| 0,81 – 1 | Excellente concordance |

4.11 Critères de validation d'un test de diagnostic qualitatif

- **Reproductibilité** : la capacité du test à donner le même résultat selon certaines conditions opératoires (temps, opérateur, lots de réactifs) dans le même laboratoire ou différents laboratoires
- **Exactitude et la justesse** : capacité du test à fournir un résultat conforme à celui de la méthode de référence
- **Comparaison** : évaluation de la performance du test en le comparant à la méthode de référence
- **Incertitude** : capacité du test à identifier et contrôler les éléments pouvant influencer les résultats (opérateur, matériel, échantillon, environnement)
- **Limite de détection** : plus faible concentration pouvant être détectée de manière fiable et reproductible
- **Sensibilité** : capacité du test à détecter les malades
- **Spécificité analytique** : capacité du test à identifier les non malades,
- **Contamination entre échantillons** : passage accidentel de matériel biologique d'un échantillon à un autre, pouvant entraîner des faux positifs
- **Robustesse** : capacité du test à rester fiable malgré des petites variations (température, temps d'incubation, manipulation)
- **Stabilité des réactifs** : capacité des réactifs à conserver leurs performances dans le temps
- **Intervalle de référence** : ensemble des résultats attendus chez des sujets sains, permettant une interprétation des résultats du test (62).

4.12 Définitions opérationnelles

- **Sensibilité (Se)** : est la probabilité que le résultat du test moléculaire rapide soit positif lorsque le résultat de la PCR est positif.
- **Spécificité (Sp)** : est la probabilité que le résultat du test moléculaire rapide soit négatif lorsque le résultat de la PCR est négatif.
- **Valeur prédictive positive (VPP)** : est la probabilité que le résultat de la PCR soit positif lorsque le résultat du test moléculaire rapide est positif.
- **Valeur prédictive négative (VPN)** : est la probabilité que le résultat de la PCR soit négatif lorsque le résultat du test moléculaire rapide est négatif.

- **Kappa** : est l'outil statistique qui évalue le degré de concordance entre la PCR et le test moléculaire rapide.

4.13 Considérations éthiques

Le protocole d'étude a été approuvé par le comité d'éthique de l'université des sciences, des techniques et des technologies de Bamako (USTTB), sous le numéro N°2024/217/CE/USTTB. Nous avons sollicité et reçu l'autorisation auprès des autorités sanitaires des CSCOM de Kalaban Koro et Djicoroni Coura. Le consentement libre et éclairé de tous les participants a été obtenu avant leur inclusion à l'étude.

Afin d'assurer la confidentialité des participants, un numéro anonyme a été attribué à chaque participant qui a été reporté sur ses échantillons. Cette activité de recherche a été menée, selon les bonnes pratiques de laboratoire. L'accès aux questionnaires et à la base des données ont été limités aux responsables de l'étude. Les résultats de cette étude sont utilisés pour des fins scientifiques.

5 Résultats

5.1 Résultats globaux

Au total 233 participants ont été inclus dans cette étude. La majorité des participants étaient fébriles soit 68,2%. La fréquence du paludisme selon le TDR, la GE, le test moléculaire rapide et la PCR étaient respectivement 86,7%, 70%, 55,4% et 75,9%. La sensibilité et la spécificité du test moléculaire rapide étaient respectivement de 55% et de 84,2% avec un Kappa de 0,4 par rapport à la PCR. Le test moléculaire rapide avait une sensibilité de 66,3% et une spécificité de 70% avec un Kappa de 0,4 par rapport à la GE. La sensibilité et la spécificité du test moléculaire rapide étaient de 58,9% et de 67,7% respectivement par rapport au TDR avec un Kappa de 0,2. La sensibilité du test moléculaire rapide variait en fonction de la densité parasitaire.

5.2 Résultats descriptifs

Tableau 1 : Répartition des participants en fonction du genre

| Genre | Effectifs | Pourcentage |
|-----------------|------------------|--------------------|
| Féminin | 119 | 51,1 |
| Masculin | 114 | 48,9 |
| Total | 233 | 100 |

Le sexe féminin était majoritaire avec 51,1% dans cette étude, soit un sex-ratio de 1,04 en faveur du sexe féminin.

Tableau 2 : Répartition des participants en fonction de l'âge

| Âge | Effectifs | Pourcentage |
|---|------------------|--------------------|
| Adultes (≥ 18 ans) | 117 | 50,2 |
| Enfants (< 18 ans) | 116 | 49,8 |
| Age moyen (année) | | 20 \pm 13 |
| Total | 233 | 100 |

Les adultes représentaient 50,2% contre 49,8% pour les enfants. L'âge moyen était de 20 \pm 13 ans.

Tableau 3 : Répartition en fonction de l'état fébrile des participations

| Fièvre | Effectifs | Pourcentage |
|---------------|------------------|--------------------|
| Non | 74 | 31,8 |
| Oui | 159 | 68,2 |
| Total | 233 | 100 |

La majorité des participants présentait la fièvre soit 68,2%

Tableau 4 : Répartition des participations selon le résultat du TDR

| TDR | Effectifs | Pourcentage |
|----------------|------------------|--------------------|
| Négatif | 31 | 13,3 |
| Positif | 202 | 86,7 |
| Total | 233 | 100 |

La fréquence du paludisme selon le TDR était de 86,7%.

Tableau 5 : Répartition des participations selon le résultat de la goutte épaisse

| GE | Effectifs | Pourcentage |
|----------------|------------------|--------------------|
| Négatif | 70 | 30 |
| Positif | 163 | 70 |
| Total | 233 | 100 |

La fréquence du paludisme selon la GE positif était de 70%.

Tableau 6 : Répartition des participations selon le résultat du test moléculaire rapide

| Test moléculaire rapide | Effectifs (n) | Pourcentage |
|--------------------------------|----------------------|--------------------|
| Négatif | 104 | 44,6 |
| Positif | 129 | 55,4 |
| Total | 233 | 100 |

La fréquence du paludisme selon du test moléculaire rapide était de 55,4%.

Tableau 7 : Répartition des participations selon le résultat de la PCR

| PCR | Effectifs (n) | Pourcentage |
|----------------|----------------------|--------------------|
| Négatif | 19 | 24,1 |
| Positif | 60 | 75,9 |
| Total | 79 | 100 |

La fréquence du paludisme selon la PCR était de 75,9%.

5.3 Résultats analytiques

Tableau 8 : Performance du test moléculaire rapide par rapport à la PCR

| Test moléculaire rapide | PCR | | | Se | Sp | VPP | VPN | Kappa |
|-------------------------|------------------|------------------|-------------|-----------------|-----------------|----------------|----------------|---------------|
| | Négatif n (%) | Positif n (%) | Total | IC 95% | IC 95% | IC 95% | IC 95% | IC 95% |
| Négatif | 16 (37,2) | 27 (62,8) | 43 (100) | 55,0 | 84,2 | 91,7 | 37,2 | 0,4 |
| Positif | 3 (8,3) | 33 (91,7) | 36 (100) | (44,0- 66,0) | (76,2- 92,3) | 85,6- 97,8) | 26,5- 47,9) | (0,2- 0,5) |
| Total | 19 (24,1) | 60 (75,9) | 79 (100) | | | | | |

La sensibilité et la spécificité du test moléculaire rapide étaient de 55% et de 84,2% respectivement par rapport à la PCR avec un Kappa = 0,4.

Tableau 9 : Performance du test moléculaire rapide par rapport à la GE

| Test moléculaire rapide | GE | | | Se | Sp | VPP | VPN | Kappa |
|-------------------------|------------------|------------------|----------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|------------------|
| | Négatif n (%) | Positif n (%) | Total (100) | IC 95% | IC 95% | IC 95% | IC 95% | IC 95% |
| Négatif | 49 (47,1) | 55 (52,9) | 104 (100) | 66,3 (60,2-72,3) | 70,0 (64,1-75,9) | 83,7 (79,0-88,5) | 47,1 (40,7-53,5) | 0,4 (0,3-0,5) |
| Positif | 21 (16,3) | 108 (83,7) | 129 (100) | | | | | |
| Total | 70 (30) | 163 (70) | 233 (100) | | | | | |

La sensibilité du test moléculaire rapide était 66,3% et la spécificité était 70% par rapport à la GE avec un Kappa = 0,4.

Tableau 10 : Performance du test moléculaire rapide par rapport au TDR

| Test moléculaire rapide | TDR | | | Se | Sp | VPP | VPN | Kappa |
|-------------------------------|------------------|------------------|--------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|----------------|
| | Négatif n (%) | Positif n (%) | Total | IC 95% | IC 95% | IC 95% | IC 95% | IC 95% |
| Négatif | 21 (20,2) | 83 (79,8) | 104 (100) | 58,9 | 67,7 | 92,3 | 20,2 | 0,2 |
| Positif | 10 (7,8) | 119 (92,2) | 129 (100) | (52,6- 65,2) | (61,7- 73,7) | (88,8- 95,7) | (15,0- 25,3) | (0,1 – 0,3) |
| Total | 31 (13,3) | 202 (86,7) | 233 (100) | | | | | |

La sensibilité et la spécificité du test moléculaire rapide étaient de 58,9% et de 67,7% respectivement par rapport à la TDR avec un Kappa = 0,2.

Tableau 11 : Répartition du résultat du test moléculaire rapide en fonction de la charge parasitaire

| Charge parasitaire | Test moléculaire rapide | | | Se IC 95% |
|-----------------------------|-------------------------|----------------|-------|---------------------|
| | Négatif (%) | Positif (%) | Total | |
| Négatif | 49 (70,0) | 21 (30,0) | 70 | - |
| 1-49 parasites | 13 (43,3) | 17 (56,7) | 30 | 56,7 (50,5-62,9) |
| 50-499 parasites | 28 (40,6) | 41 (59,4) | 69 | 59,4 (53,1-65,7) |
| > à 500 parasites | 14(21,9) | 50 (78,1) | 64 | 78,1 (72,8-83,4) |
| Total | 104 (44,6) | 129 (55,4) | 233 | |

La sensibilité du test moléculaire rapide dépendait de la charge parasitaire du *P. falciparum*, plus la charge parasitaire augmentait la sensibilité du test moléculaire rapide augmentait aussi.

Tableau 12 : Fréquence de l'infection palustre (TDR, goutte épaisse, test moléculaire rapide et PCR) selon la fièvre

| Fébriles | TDR+ n (%) | GE+ n (%) | Test moléculaire rapide n (%) | PCR+ n (%) |
|-----------------|-----------------------|----------------------|--|-----------------------|
| Non | 61 (82,4) | 48 (64,9) | 40 (54,1) | 20 (27,0) |
| Oui | 141 (88,7) | 115 (72,3) | 89 (56,0) | 40 (25,2) |
| p | 0,191 | 0,247 | 0,784 | 0,532 |

La fréquence de l'infection palustre était de 88,7%, 72,3%, 56%, et 25,2% respectivement par le TDR, la goutte épaisse, le test moléculaire rapide et la PCR, elle ne variait pas significativement selon la fièvre.

6 Commentaires et discussion

Cette étude s'inscrit dans le cadre du projet de développement d'un test moléculaire d'amplification isotherme pour le diagnostic du paludisme. Elle a pour but d'évaluer la performance du test moléculaire rapide pour le diagnostic du paludisme chez les patients vus en consultation dans les CSCOM de kalaban coro et de Djicoroni coura. Au total 233 participants ont été inclus dans cette étude dont 117 adultes et 116 enfants (tableau 2). Cette répartition montre une participation équilibrée entre les différentes classes d'âge, permettant ainsi une analyse représentative de la population étudiée. Le sex-ratio est de 1,04 en faveur du sexe féminin (tableau 1). Cette légère prédominance féminine pourrait s'expliquer par une plus grande fréquentation des structures sanitaires par les femmes, comme rapportés dans plusieurs études, notamment au Burkina Faso en 2022, Sié A Elisée Kambou et col. ont trouvé un sex-ratio de 1,3 en faveur du sexe féminin (63). La majorité des participants présentaient un état fébrile soit 68,2% (tableau 3) ce qui confirme que la fièvre demeure le principal motif de consultation clinique du paludisme dans les zones endémiques. Cependant une étude réalisée par Anna Maria Van Eijk et col. en Inde (cas de Nadiad) entre 2012 et 2015, 78,6% des participants avaient des antécédents de fièvre ou une fièvre documentée (64). Saidou A et col. ont également mis en évidence que le symptôme prédominant du paludisme était la fièvre (90,36%) lors d'une étude faite au Niger en 2021 (65). La fréquence de paludisme par le TDR, la goutte épaisse et la PCR étaient, 86,7%, 70%, 75,9% respectivement (tableau 4, 5, 7). Par contre, avec le test moléculaire rapide cette fréquence était de 55,4% (tableau 6), suggérant déjà une variabilité entre les tests qui reflète des différences de performance diagnostique, notamment en terme du seuil de détection parasitaire. Une étude menée par Melkamou Tiruneh Zeleke et col en 2021 en Ethiopie rapporte aussi cette variabilité de la fréquence du paludisme selon le TDR, la microscopie et la PCR qui étaient respectivement de 49,2%, 59,1% et 61,4% (66). Ces résultats sont différents de ceux de notre étude, particulièrement la fréquence élevée avec la PCR de cette étude pourrait s'expliquer par sa capacité à détecter des infections à faible parasitémie alors que les performances plus limitées du TDR ont entraîné un sous-diagnostic de l'infection palustre.

Les performances diagnostiques du test moléculaire rapide observées dans cette étude apparaissent modérées lorsqu'elles sont comparées à la PCR et aux méthodes

diagnostiques couramment utilisés dans la routine, notamment la goutte épaisse et le TDR. Quant à la PCR, considérée comme la méthode de référence, le test moléculaire rapide a montré une sensibilité de 55% et une spécificité de 84,2%, avec un coefficient de concordance Kappa de 0,4 traduisant une concordance faible (tableau 8). Ces résultats concordent avec les travaux ayant montré que, bien que les méthodes moléculaires rapides offrent des avantages opérationnels, leur sensibilité peut être inférieure à celle de la PCR conventionnelle, notamment dans des contextes de faible parasitémie (67,68). La PCR demeure en effet reconnue pour sa capacité à détecter des charges parasitaires très faibles, ce qui justifie son statut de méthode de référence. Le test moléculaire rapide par rapport à la goutte épaisse présentait une sensibilité de 66,3% et une spécificité de 70% avec un Kappa de 0,4 (tableau 9), indiquant également une concordance faible qui pourrait être argumentée par la limite de détection du test moléculaire rapide. Par rapport au TDR, la sensibilité et la spécificité du test moléculaire rapide étaient respectivement de 58,9% et 67,7% avec un Kappa de 0,2 (tableau 10), traduisant une concordance faible. Ces divergences soulignent les différences intrinsèques entre les principes de détection, démontrées dans une revue systématique et une méta-analyse faite en Ethiopie de en 2020 par Daniel Getacher Feleke et col. (59). En outre l'analyse de la densité parasitaire a montré que la sensibilité du test moléculaire rapide dépendait de la charge parasitaire (tableau 11), suggérant que la performance du test moléculaire augmentait avec la parasitémie. Cette observation est cohérente avec l'étude de Rule Budodo et col. faite en Tanzanie en 2023 qui indique que les performances des tests diagnostiques, en particulier les tests moléculaires rapides, diminuent en présence de parasitémies faibles (69). En résumé, l'évaluation des performances du test moléculaire rapide a montré des sensibilités modérées, variant de 55% à 66,3%, les spécificités étaient comprises entre 67,7% et 84,2% avec une faible concordance de kappa comprise entre 0,2 entre 0,4.

7 Limites de l'étude

Malgré les résultats encourageants trouvés dans cette étude, nous avons noté certaines limites notamment tous les échantillons n'ont pas pu être testés avec la PCR qui allait nous donner encore plus d'informations sur la performance de ce test, et aussi les ruptures de réactifs du test moléculaire rapide survenues au cours du traitement des échantillons pourraient potentiellement influencer les performances du test. D'autres études sont nécessaires en tenant compte de ces limites pour fournir plus d'informations sur ce test moléculaire.

8 Conclusion et recommandations

8.1 Conclusion

Le test moléculaire rapide a montré une performance diagnostique modérée, avec une sensibilité moyenne et une spécificité élevée. La concordance entre le test moléculaire rapide et les tests de comparaison notamment le TDR, la goutte épaisse et la PCR reste globalement faible.

8.2 Recommandations

Au terme de notre étude et au regard de nos résultats, nous formulons les recommandations suivantes :

Aux autorités sanitaires et politiques

- D'encourager la recherche en finançant encore plus les activités sur les mesures de lutte pour aller vers l'élimination du paludisme au Mali

Aux chercheurs

- De mener d'autres études sur ce test en élargissant la taille d'échantillons et des zones d'intervention pour renforcer ces premiers résultats

Au laboratoire d'ATILA

- De revoir le test moléculaire rapide afin d'améliorer sa performance diagnostique

9 Références bibliographiques

1. OMS. Rapport 2024 sur le paludisme dans le monde. [cité 29 août 2025]. Disponible sur: <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/malaria>
2. Talapko J, Škrlec I, Alebić T, Jukić M, Včev A. Malaria: The Past and the Present. *Microorganisms*. 21 juin 2019;7(6):179. doi:10.3390/microorganisms7060179 PubMed PMID: 31234443; PubMed Central PMCID: PMC6617065.
3. OMS. Résumé du rapport 2025 sur le paludisme dans le monde. [cité 28 févr 2026]. Disponible sur: https://cdn.who.int/media/docs/default-source/malaria/world-malaria-reports/world-malaria-report-2025-executive-summary-fre.pdf?download=true&sfvrsn=154ea8d5_15
4. PNLP. Enquête sur les indicateurs du paludisme au Mali. [cité 30 août 2025]. Disponible sur: https://files.aho.afro.who.int/afahobckpcontainer/production/files/Mali_MIS_2021_Final_Report_-_Complete_w_cover_25Jul2022.pdf
5. INSTAT. Septième Enquête Démographique et de Santé du Mali (EDSM-VII) 2023–2024. [cité 16 mars 2026]. Disponible sur: https://www.instat-mali.org/laravel-filemanager/files/shares/pub/eds7-24-ind-cle_pub.pdf
6. Severe Malaria Observatory. Le paludisme au Mali: statistiques. [cité 17 mars 2026]. Disponible sur: <https://www.severemalaria.org/fr/pays/mali>
7. Moody A. Rapid Diagnostic Tests for Malaria Parasites. *Clin Microbiol Rev*. janv 2002;15(1):66-78. doi:10.1128/CMR.15.1.66-78.2002 PubMed PMID: 11781267; PubMed Central PMCID: PMC118060.
8. Murray CK, Gasser RA, Magill AJ, Miller RS. Update on Rapid Diagnostic Testing for Malaria. *Clin Microbiol Rev*. janv 2008;21(1):97-110. doi:10.1128/CMR.00035-07 PubMed PMID: 18202438; PubMed Central PMCID: PMC2223842.
9. Ranadive N, Kunene S, Darteh S, Ntshalintshali N, Nhlabathi N, Dlamini N, et al. Limitations of Rapid Diagnostic Testing in Patients with Suspected Malaria: A Diagnostic Accuracy Evaluation from Swaziland, a Low-Endemicity Country Aiming for Malaria Elimination. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 1 mai 2017;64(9):1221-7. doi:10.1093/cid/cix131 PubMed PMID: 28369268; PubMed Central PMCID: PMC5399938.

10. OMS. False-negative RDT results and implications of new reports of *P. falciparum* histidine-rich protein 2/3 gene deletions. [cité 9 avr 2026]. Disponible sur: <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-HTM-GMP-2017.18>
11. Oyegoke OO, Maharaj L, Akoniyon OP, Kwoji I, Roux AT, Adewumi TS, et al. Malaria diagnostic methods with the elimination goal in view. *Parasitol Res.* 2022;121(7):1867-85. doi:10.1007/s00436-022-07512-9 PubMed PMID: 35460369; PubMed Central PMCID: PMC9033523.
12. Philippe CM, Odile NN, Numbi OL. Problématique de l'utilisation des Moustiquaires Imprégnées d'insecticide à Longue Durée (MILD) chez les enfants de moins de 5 ans en République Démocratique du Congo. *Pan Afr Med J.* 16 mars 2016;23:101. doi:10.11604/pamj.2016.23.101.7050 PubMed PMID: 27222690; PubMed Central PMCID: PMC4867187.
13. Noguer A. Les facteurs influençant la distribution géographique du paludisme dans le monde. 1979. doi:10.3406/globe.1979.1123
14. biomnis. paludisme. [cité 29 août 2025]. Disponible sur: <https://www.eurofins-biomnis.com/referentiel/liendoc/precis/PALUDISME.pdf>
15. P.Aubry, B. Gaüzère paludisme. [cité 29 août 2025]. Disponible sur: <http://medecinotropical.free.fr/cours/paludisme.pdf>
16. Pan American Health organization. L'OPS demande un accès élargi au diagnostic et au traitement du paludisme afin d'accélérer l'élimination dans les Amériques - OPS/OMS | Organisation panaméricaine de la santé. 2025 [cité 29 août 2025]. Disponible sur: <https://www.paho.org/en/news/25-4-2025-paho-urges-expanded-access-malaria-diagnosis-and-treatment-accelerate-elimination>
17. OMS. Countries and territories certified malaria-free by WHO. [cité 29 août 2025]. Disponible sur: <https://www.who.int/teams/global-malaria-programme/elimination/countries-and-territories-certified-malaria-free-by-who>
18. Cissoko M, Magassa M, Sanogo V, Ouologuem A, Sangaré L, Diarra M, et al. Stratification at the health district level for targeting malaria control interventions in Mali. *Sci Rep.* 18 mai 2022;12(1):8271. doi:10.1038/s41598-022-11974-3 PubMed PMID: 35585101; PubMed Central PMCID: PMC9117674.
19. Canada A de la santé publique. Chapitre 1 : Introduction aux recommandations canadiennes pour la prévention et le traitement du paludisme [lignes directrices]. 2022 [cité 29 août 2025]. Disponible sur: <https://www.canada.ca/fr/sante->

publique/services/ccmtmv/recommandations-canadienne-prevention-traitement-paludisme-malaria/chapitre-1-introduction.html

20. TARGET MALARIA. Ecology_FS_EN_Anopheles-gambiae-s.l.-morphology_August20.pdf. [cité 29 août 2025]. Disponible sur: https://targetmalaria.org/wp-content/uploads/2020/11/Ecology_FS_EN_Anopheles-gambiae-s.l.-morphology_August20.pdf
21. Msugupakulya BJ, Urio NH, Jumanne M, Ngowo HS, Selvaraj P, Okumu FO, et al. Changes in contributions of different Anopheles vector species to malaria transmission in east and southern Africa from 2000 to 2022. *Parasit Vectors*. 7 nov 2023;16(1):408. doi:10.1186/s13071-023-06019-1 PubMed PMID: 37936155; PubMed Central PMCID: PMC10631025.
22. ZOONOSES ONLINE EDUCATION. PALUDISME. [cité 29 août 2025]. Disponible sur: https://zoeproject.eu/documents/study/IO3_Malaria_FR.pdf
23. Smith ML, Styczynski MP. Systems Biology-Based Investigation of Host-Plasmodium Interactions. *Trends Parasitol*. juill 2018;34(7):617-32. doi:10.1016/j.pt.2018.04.003 PubMed PMID: 29779985; PubMed Central PMCID: PMC7028355.
24. Kojom Foko LP, Kumar A, Hawadak J, Singh V. Plasmodium cynomolgi in humans: current knowledge and future directions of an emerging zoonotic malaria parasite. *Infection*. 2023;51(3):623-40. doi:10.1007/s15010-022-01952-2 PubMed PMID: 36401673; PubMed Central PMCID: PMC9676733.
25. Association Française des Enseignants de Parasitologie et Mycologie. Paludisme. [cité 29 août 2025]. Disponible sur: <https://archives.uness.fr/sites/campus-unf3s-2014/parasitologie/enseignement/paludisme/site/html/1.html>
26. Howes RE, Battle KE, Mendis KN, Smith DL, Cibulskis RE, Baird JK, et al. Global Epidemiology of Plasmodium vivax. *Am J Trop Med Hyg*. 28 déc 2016;95(6 Suppl):15-34. doi:10.4269/ajtmh.16-0141 PubMed PMID: 27402513; PubMed Central PMCID: PMC5198891.
27. Mahittikorn A, Masangkay FR, Kotepui KU, Milanez GDJ, Kotepui M. Comparison of Plasmodium ovale curtisi and Plasmodium ovale wallikeri infections by a meta-analysis approach. *Sci Rep*. 19 mars 2021;11:6409. doi:10.1038/s41598-021-85398-w PubMed PMID: 33742015; PubMed Central PMCID: PMC7979700.

28. Ta TH, Hisam S, Lanza M, Jiram AI, Ismail N, Rubio JM. First case of a naturally acquired human infection with *Plasmodium cynomolgi*. *Malar J.* 24 févr 2014;13:68. doi:10.1186/1475-2875-13-68 PubMed PMID: 24564912; PubMed Central PMCID: PMC3937822.
29. Campus de Parasitologie-Mycologie - Association Française des Enseignants de Parasitologie et Mycologie (ANOFEL). paludisme. [cité 29 août 2025]. Disponible sur: <https://archives.uness.fr/sites/campus-unf3s-2014/parasitologie/enseignement/paludisme/site/html/1.html>
30. Aguilar JB, Gutierrez JB. An Epidemiological Model of Malaria Accounting for Asymptomatic Carriers. *Bull Math Biol.* 2020;82(3):42. doi:10.1007/s11538-020-00717-y PubMed PMID: 32172448; PubMed Central PMCID: PMC7072066.
31. Giribaldi G, D'Alessandro S, Prato M, Basilico N. Etiopathogenesis and Pathophysiology of Malaria. *Hum Mosq Lysozymes.* 22 sept 2014;1-18. doi:10.1007/978-3-319-09432-8_1 PubMed PMID: null; PubMed Central PMCID: PMC7123976.
32. HARAGUCHI A, TAKANO M, HAKOZAKI J, NAKAYAMA K, NAKAMURA S, YOSHIKAWA Y, et al. Formation of free oocysts in *Anopheles* mosquitoes injected with *Plasmodium ookinetes*. *J Vet Med Sci.* sept 2023;85(9):921-8. doi:10.1292/jvms.23-0099 PubMed PMID: 37407494; PubMed Central PMCID: PMC10539829.
33. PNL. PALUDISME | Paludisme Généralités. [cité 30 mars 2026]. Disponible sur: <https://www.pnlpcotedivoire.org/paludisme-generalites/>
34. Bartoloni A, Zammarchi L. Clinical Aspects of Uncomplicated and Severe Malaria. *Mediterr J Hematol Infect Dis.* 4 mai 2012;4(1):e2012026. doi:10.4084/MJHID.2012.026 PubMed PMID: 22708041; PubMed Central PMCID: PMC3375727.
35. Wisner MF. Knobs, Adhesion, and Severe *Falciparum* Malaria. *Trop Med Infect Dis.* 4 juill 2023;8(7):353. doi:10.3390/tropicalmed8070353 PubMed PMID: 37505649; PubMed Central PMCID: PMC10385726.
36. Harp KO, Botchway F, Dei-Adomakoh Y, Wilson MD, Hood JL, Adjei AA, et al. Hemoglobin Genotypes Modulate Inflammatory Response to *Plasmodium* Infection. *Front Immunol.* 23 déc 2020;11:593546. doi:10.3389/fimmu.2020.593546 PubMed PMID: 33424841; PubMed Central PMCID: PMC7786007.

37. Song X, Wei W, Cheng W, Zhu H, Wang W, Dong H, et al. Cerebral malaria induced by plasmodium falciparum: clinical features, pathogenesis, diagnosis, and treatment. *Front Cell Infect Microbiol.* 25 juill 2022;12:939532. doi:10.3389/fcimb.2022.939532 PubMed PMID: 35959375; PubMed Central PMCID: PMC9359465.
38. Schantz-Dunn J, Nour NM. Malaria and Pregnancy: A Global Health Perspective. *Rev Obstet Gynecol.* 2009;2(3):186-92. PubMed PMID: 19826576; PubMed Central PMCID: PMC2760896.
39. Walker IS, Rogerson SJ. Pathogenicity and virulence of malaria: Sticky problems and tricky solutions. *Virulence.* 14(1):2150456. doi:10.1080/21505594.2022.2150456 PubMed PMID: 36419237; PubMed Central PMCID: PMC9815252.
40. Wiser MF. Knobs, Adhesion, and Severe Falciparum Malaria. *Trop Med Infect Dis.* 4 juill 2023;8(7):353. doi:10.3390/tropicalmed8070353 PubMed PMID: 37505649; PubMed Central PMCID: PMC10385726.
41. McQuaid F, Rowe JA. Rosetting revisited: a critical look at the evidence for host erythrocyte receptors in Plasmodium falciparum rosetting. *Parasitology.* janv 2020;147(1):1-11. doi:10.1017/S0031182019001288 PubMed PMID: 31455446; PubMed Central PMCID: PMC7050047.
42. Lee WC, Malleret B, Lau YL, Mauduit M, Fong MY, Cho JS, et al. Glycophorin C (CD236R) mediates vivax malaria parasite rosetting to normocytes. *Blood.* 1 mai 2014;123(18):e100-9. doi:10.1182/blood-2013-12-541698 PubMed PMID: 24652986; PubMed Central PMCID: PMC4007619.
43. Long CA, Zavala F. Immune Responses in Malaria. *Cold Spring Harb Perspect Med.* août 2017;7(8):a025577. doi:10.1101/cshperspect.a025577 PubMed PMID: 28389518; PubMed Central PMCID: PMC5538407.
44. Aitken EH, Alemu A, Rogerson SJ. Neutrophils and Malaria. *Front Immunol.* 19 déc 2018;9:3005. doi:10.3389/fimmu.2018.03005 PubMed PMID: 30619354; PubMed Central PMCID: PMC6306064.
45. Herbert Mainero A, Spence PJ, Reece SE, Kamiya T. The impact of innate immunity on malaria parasite infection dynamics in rodent models. *Front Immunol.* 14 août 2023;14:1171176. doi:10.3389/fimmu.2023.1171176 PubMed PMID: 37646037; PubMed Central PMCID: PMC10461630.

46. Doolan DL, Dobaño C, Baird JK. Acquired Immunity to Malaria. *Clin Microbiol Rev.* janv 2009;22(1):13-36. doi:10.1128/CMR.00025-08 PubMed PMID: 19136431; PubMed Central PMCID: PMC2620631.
47. Yman V, White MT, Asghar M, Sundling C, Sondén K, Draper SJ, et al. Antibody responses to merozoite antigens after natural *Plasmodium falciparum* infection: kinetics and longevity in absence of re-exposure. *BMC Med.* 30 janv 2019;17:22. doi:10.1186/s12916-019-1255-3 PubMed PMID: 30696449; PubMed Central PMCID: PMC6352425.
48. Villarino N, Schmidt NW. CD8+ T Cell Responses to *Plasmodium* and Intracellular Parasites. *Curr Immunol Rev.* août 2013;9(3):169-78. doi:10.2174/1573395509666131126232327 PubMed PMID: 24741372; PubMed Central PMCID: PMC3983867.
49. Tangpukdee N, Duangdee C, Wilairatana P, Krudsood S. Malaria Diagnosis: A Brief Review. *Korean J Parasitol.* juin 2009;47(2):93-102. doi:10.3347/kjp.2009.47.2.93 PubMed PMID: 19488414; PubMed Central PMCID: PMC2688806.
50. van den Hoogen LL, Bareng P, Alves J, Reyes R, Macalinao M, Rodrigues JM, et al. Comparison of Commercial ELISA Kits to Confirm the Absence of Transmission in Malaria Elimination Settings. *Front Public Health.* 9 sept 2020;8:480. doi:10.3389/fpubh.2020.00480 PubMed PMID: 33014975; PubMed Central PMCID: PMC7509087.
51. Taylor BJ, Martin KA, Arango E, Agudelo OM, Maestre A, Yanow SK. Real-time PCR detection of *Plasmodium* directly from whole blood and filter paper samples. *Malar J.* 19 août 2011;10:244. doi:10.1186/1475-2875-10-244 PubMed PMID: 21851640; PubMed Central PMCID: PMC3171379.
52. OMS. WHO recommends groundbreaking malaria vaccine for children at risk. [cité 30 août 2025]. Disponible sur: <https://www.who.int/news/item/06-10-2021-who-recommends-groundbreaking-malaria-vaccine-for-children-at-risk>
53. Konaté D, Diawara SI, Touré M, Diakité SAS, Guindo A, Traoré K, et al. Effect of routine seasonal malaria chemoprevention on malaria trends in children under 5 years in Dangassa, Mali. *Malar J.* 6 avr 2020;19:137. doi:10.1186/s12936-020-03202-y PubMed PMID: 32252774; PubMed Central PMCID: PMC7137428.

54. Organisation mondiale de la Santé. Stratégie technique mondiale de lutte contre le paludisme 2016-2030. Genève: Organisation mondiale de la Santé; 2015 [cité 30 août 2025]. 33 p. Disponible sur: <https://iris.who.int/handle/10665/176720>
55. OMS. Le Mali devient le premier pays à utiliser une nouvelle approche hybride de vaccination pour lutter contre le paludisme | OMS | Bureau régional pour l'Afrique. 2025 [cité 16 oct 2025]. Disponible sur: <https://www.afro.who.int/fr/news/le-mali-devient-le-premier-pays-utiliser-une-nouvelle-approche-hybride-de-vaccination-pour>
56. Cissoko M, Sagara I, Guindo A, Maiga M, Dembélé P, Bationo CS, et al. Impact of Control Interventions on Malaria Incidence in the General Population of Mali. *J Epidemiol Glob Health*. 12 mars 2025;15(1):40. doi:10.1007/s44197-025-00381-2 PubMed PMID: 40072686; PubMed Central PMCID: PMC11903980.
57. Fomba S, Koné D, Doumbia B, Diallo D, Druetz T, Florey L, et al. Management of uncomplicated malaria among children under five years at public and private sector facilities in Mali. *BMC Public Health*. 9 déc 2020;20:1888. doi:10.1186/s12889-020-09873-1 PubMed PMID: 33298011; PubMed Central PMCID: PMC7724888.
58. Djiré M, Keita A, Dembélé R Traoré. Appropriation des instruments de la fiscalité: élaboration du budget de la commune rurale de Kalabancoro. Dakar, Leiden: CODESRIA ; African Studies Centre; 2011.
59. Feleke DG, Alemu Y, Yemanebirhane N. Performance of rapid diagnostic tests, microscopy, loop-mediated isothermal amplification (LAMP) and PCR for malaria diagnosis in Ethiopia: a systematic review and meta-analysis. *Malar J*. 27 sept 2021;20(1):384. doi:10.1186/s12936-021-03923-8 PubMed PMID: 34579729; PubMed Central PMCID: PMC8474705.
60. Bio-Rad Laboratories. Real Time PCR Applications Guide. [cité 11 avr 2026]. Disponible sur: https://www.bio-rad.com/webroot/web/pdf/lsr/literature/Bulletin_5279.pdf
61. Glossaire. Écologie : Coefficient de concordance Kappa de Cohen. [cité 11 nov 2025]. Disponible sur: <https://www.bonobosworld.org/fr/glossaire/coefficient-de-concordance-kappa-de-cohen>
62. Laboratoire de santé publique du Québec. Vérification et validation des méthodes analytiques. [cité 09 avr 2026]. Disponible sur: https://www.inspq.qc.ca/sites/default/files/lspq/forums/Documents/Nouveaux_PDF/10Juillet/pr-gq-011_validation_de_methode.pdf

63. Kambou SAE, Millogo KS, Sondo P, Kabore B, Kouevi AFC, Bouda I, et al. Prevalence of asymptomatic parasitaemia among household members of children under seasonal malaria chemoprevention coverage and comparison of the performance of standard rapid diagnostic tests versus ultrasensitive RDT for the detection of asymptomatic parasitaemia in Nanoro, Burkina Faso. *Parasitol Res.* 15 nov 2024;123(11):383. doi:10.1007/s00436-024-08380-1 PubMed PMID: 39542934; PubMed Central PMCID: PMC11564212.
64. van Eijk AM, Mannan AS, Sullivan SA, Carlton JM. Defining symptoms of malaria in India in an era of asymptomatic infections. *Malar J.* 6 juill 2020;19(1):237. doi:10.1186/s12936-020-03310-9 PubMed PMID: 32631326; PubMed Central PMCID: PMC7339403.
65. Amadou S, Garba M, Moussa YS, Mouhamadou MY, Ali B, Atangana FXON, et al. Prognostic factors of severe malaria at the Diffa Mother-Child Health Center: *Health Sci Dis.* 2 sept 2022;23(9). doi:10.5281/hsd.v23i9.3856
66. Zeleke MT, Gelaye KA, Hirpa AA, Teshome MB, Guma GT, Abate BT, et al. Diagnostic performance of PfHRP2/pLDH malaria rapid diagnostic tests in elimination setting, northwest Ethiopia. *PLOS Glob Public Health.* 2023;3(7):e0001879. doi:10.1371/journal.pgph.0001879 PubMed PMID: 37428720; PubMed Central PMCID: PMC10332618.
67. Diagnostic du paludisme moléculaire : une revue systématique et une méta-analyse : *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences* : Vol 53, n° 2 - Accéder. [cité 28 févr 2026]. Disponible sur: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/10408363.2015.1084991>
68. Coro F, De Maria C, Mangano VD, Ahluwalia A. Technologies for the point-of-care diagnosis of malaria: a scoping review. *Infect Dis Poverty.* 23 juin 2025;14(1):54. doi:10.1186/s40249-025-01329-1 PubMed PMID: 40551195; PubMed Central PMCID: PMC12183878.
69. Rule B et Col. Réalisation de tests diagnostiques rapides, de microscopie et de qPCR pour la détection des parasites de Plasmodium chez des membres de la communauté avec ou sans symptômes de paludisme dans les villages situés dans le nord-ouest de la Tanzanie | *Revue sur le paludisme* | Lien Springer Nature. [cité 28 févr 2026]. Disponible sur: <https://link.springer.com/article/10.1186/s12936-025-05361-2>

10 Annexes

10.1 Technique microscopique

La goutte épaisse est la méthode de référence de diagnostic du paludisme permettant l'identification de l'espèce et de la densité du parasite dans le sang.

Matériels :

- Microscope optique
- Lames propres et dégraissées
- Box de lame
- Lancettes stériles à l'usage unique
- Crayon
- Gants stériles à l'usage unique
- Tampon d'alcool et coton sec
- Méthanol
- Eau distillée ou désionisée
- Râtelier
- Un compteur manuel
- Une solution de Giemsa
- Un chronomètre
- L'huile à immersion
- Boîte de sécurité
- Un bac pour le séchage
- Un bac de coloration
- Un registre

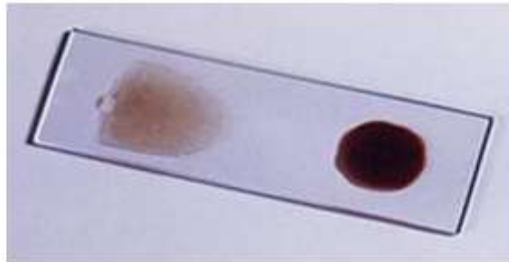
Méthode de confection de la goutte épaisse

- Informer le participant de ce qui va être fait.
- Identifier le participant sur la lame propre et dégraissée.
- Nettoyer le troisième ou le quatrième doigt avec le tampon d'alcool puis nettoyer avec du coton sec pour enlever les traces d'alcool.
- Utiliser le gros orteil ou le talon des nourrissons.
- Piquer la pulpe du doigt avec une lancette stérile à l'usage unique.
- Essuyer la première goutte du sang avec du coton sec.

- Presser et exprimer une goutte d'environ 10 μL au milieu de la lame pour préparer la goutte.
- Maintenir un coton sec sur le point de la piqûre en fin d'assurer l'homéostasie.
- Placer un ange d'une deuxième lame au centre de la goutte puis imprimer des mouvements de rotations concentriques de la gauche vers la droite jusqu'à atteindre un diamètre d'environ 1cm.
- Laisser sécher la goutte pendant deux (2) heures à l'abri de la poussière et des mouches.

Méthode de confection du frottis mince

- Exprimer une goutte d'environ 5 μL au-dessus de la goutte épaisse
- Faire glisser le bord du frotoir jusqu'à ce qu'il entre en contact avec la goutte de sang (laisser celle-ci s'étaler par capillarité).
- Etaler ensuite le sang d'un mouvement rapide et uniforme, maintenir un angle d'environ 45° (tout le sang doit être réparti avant d'atteindre l'autre l'extrémité opposée de la lame).
- La queue du frottis mince doit présenter une couche monocellulaire, régulière et sans striés.
- Laisser sécher la goutte et le frottis pendant deux (2) heures à l'abri de la poussière et des mouches



Coloration de la goutte épaisse au Giemsa

La coloration au Giemsa est une méthode classique de coloration des étalements sanguins utilisée en routine. La bouteille contenant la solution mère de Giemsa doit être bien fermée et maintenue au frais.

- Avant la coloration des étalements sanguins, le frottis mince est fixé au méthanol en le trempant dans un récipient contenant de méthanol pendant quelques secondes.
- Préparer une solution de Giemsa concentrée à 10% en diluant la solution mère avec de l'eau distillée.

- Placer les lames dans le bac de coloration en immergeant délicatement et entièrement avec la solution de Giemsa préparée.
- Laisser colorer les lames pendant 15 à 20 minutes à l'abri de la poussière.
- Après la coloration, les lames sont rincées avec de l'eau en évitant les jets d'eau forts.
- Sécher ensuite les lames sur le râtelier.
- Après le séchage des lames, placer les dans le box de lame.

Méthode de numération du *Plasmodium* dans les gouttes épaisses

Elle consiste à quantifier la densité parasitaire par microlitre de sang sur le frottis épais, en la rapportant à un nombre prédéfini de leucocytes.

- Mettre une goutte de l'huile d'immersion sur les étalements sanguins
- La lecture des lames est faite à l'aide d'un objectif x100 à immersion et un grossissement 1000.
- La lame est lue en lecture zig zag, c'est-à-dire qu'elle est parcourue de façon systématique horizontalement et verticalement.
- Pour les lames positives, le dénombrement des parasites, le stade de développement ainsi que l'espèce plasmodiales sont déterminés.
- Les leucocytes et les parasites sont comptés simultanément par champ à l'aide du compteur manuel.
- Le nombre de parasites est estimé sur un total de 200 leucocytes, le comptage débute uniquement après la détection d'un parasite.
- Une lame est déclarée négative, après l'examen de 200 champs microscopiques consécutifs sans mise en évidence d'aucun stade évolutif du parasite.

Dans tous les cas, le rapport entre le nombre de parasite et celui de leucocytes est converti en densité parasitaire (parasite/ μ L) au moyen de la formule mathématique suivante :

$$P = \frac{N \times GB}{L}$$

P : nombre de parasites par mm^3 de sang

N : nombre de parasites comptés

L : 200 leucocytes comptés

GB : nombre de leucocytes dans la formule sanguine du participant.

Toute fois quand la formule sanguine du participant n'est pas connue, nous considérons que GB= 8000 et la formule mathématique dévient $P = \frac{N \times 8000}{200}$ ($P = N \times 40$).

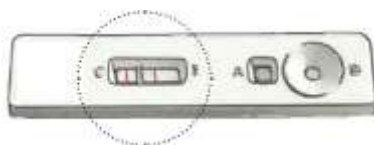
10.2 Test de diagnostic rapide (TDR)

Matériels

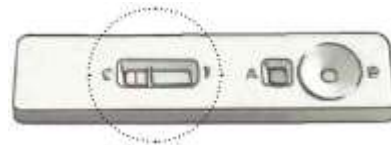
- Kit TDR,
- Gants stériles,
- Tampon d'alcool et coton sec,
- Boite de sécurité,

Mode opératoire

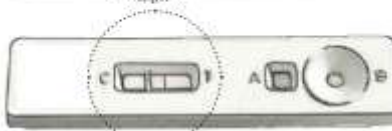
- Inscrire l'identifiant du patient, la date réalisation et les initiaux de l'investigateur sur la cassette du TDR.
- Nettoyer le troisième ou le quatrième doigt du participant avec le tampon d'alcool puis essuyer avec le coton sec.
- Piquer la pulpe du doigt avec la lancette fournie par le kit TDR
- Eliminer la lancette dans la boite de sécurité
- Recueillir la goutte de sang d'environ 5ul avec le tube capillaire
- Placer la goutte dans l'alvéole A du TDR
- Compter cinq (5) gouttes de solution tampon dans l'alvéole B du TDR
- Interpréter le résultat du TDR (15 à 20 minutes)



TDR positif



TDR négatif



Tests invalides

10.3 Extraction d'ADN à partir de confettis de sang séché

Les confettis imprégnés de sang ont été séchés puis conservés à l'abri de la poussière et de l'humidité avant d'être utilisés pour l'extraction de l'ADN génomique. L'extraction a été réalisée à l'aide du kit Qiagen (QIAmp Blood Mini Kit), conformément aux instructions du fabricant.

Réactifs

- Buffer ATL
- Protéinase K
- Buffer AL
- Buffer AW1
- Buffer AW2
- Ethanol

Matériels

- Incubateur
- Centrifugeuse
- Vortexeuse ou mixeur
- Tubes Eppendorf de 2 µL

Procédures d'extraction

- Après identification des tubes Eppendorf, un morceau de confettis de sang séché a été introduit dans chaque tube, suivi de l'ajout de 180µL de solution tampon ATL (Tissue Lysis Buffer).
- Incuber à 85°C pendant 10 mn puis centrifuger brièvement 3000 rpm.
- 20 µL de protéinase K ont été ajoutés dans chaque tube. Les échantillons ont ensuite été vortexés, puis incubés à 56°C pendant 1 heure.
- Une centrifugation brève de 3000 rpm a été réalisée à l'issue de l'incubation.
- 200 µL de solution AL (Lysis Buffer) ont été ajoutés à l'échantillon.
- Après vortexage, le mélange a été incubé à 70°C pendant 10 minutes, puis brièvement centrifugé à 3000 rpm.
- Par la suite, 200 µL d'éthanol ont été ajoutés à l'échantillon, suivi d'un mélange au vortex, puis centrifugé à 3000 rpm.
- Les colonnes QIAmp, placées dans des tubes de collecte de 2 mL, ont ensuite été étiquetées

- 600 µL de la solution ont été transférés dans chaque colonne, puis centrifugés à 8000 rpm pendant 1 minute.
- La colonne a été retirée et le tube contenant le filtrat a été éliminé.
- La colonne a ensuite été remplacée dans un nouveau tube de collecte de 2 mL.
- 500 µL de la solution AW1 (Wash Buffer 1) ont été ajoutés dans la colonne puis centrifugé à 8000 rpm pendant 1 minute.
- Le tube de collecte contenant le filtrat a été remplacé par un nouveau tube propre.
- La colonne a été ouverte avec précaution, puis 500 µL de solution AW2 (Wash Buffer 2) ont été ajoutés avant une centrifugation à 14000 rpm pendant 3 minutes.
- Le tube de collecte a ensuite été remplacé et une nouvelle centrifugation a été effectuée aux mêmes paramètres pendant 1 minute afin d'éliminer toute trace résiduelle de tampon.
- La colonne a été transférée dans un tube Eppendorf préalablement étiqueté.
- 150 µL de solution AE (Elution Buffer) ont été ajoutés, suivis d'une incubation à température ambiante pendant 1 minute, puis centrifugé à 8000 rpm pendant 1 minute.
- La colonne a été éliminée et le tube Eppendorf contenant l'ADN génomique élué a été conservé à -20 °C.

10.4 La réaction en chaîne par polymérase (PCR)

La PCR quantitative en temps réel (RT-qPCR) a été réalisée à l'aide du système Bio-Rad CFX96™ (Bio-Rad Laboratories, Etats-Unis), selon le mode opératoire standard ML/PO-001-01, version 2.0, validé par le laboratoire clinique du Centre de Recherche et de Formation sur les Parasites et les Microbes (PMRTC). L'essai multiplex cible deux marqueurs génétiques distincts : le gène de l'ARN ribosomique 18S de *Plasmodium falciparum* (Pf18S) et le gène de l'actine humaine, ce dernier servant de contrôle interne pour l'extraction d'ADN et l'amplification par PCR. Chaque échantillon a été testé en double, avec des contrôles positif (ADN3D7) et négatif (eau sans nucléase) inclus dans chaque série. La densité parasitaire a été estimée à l'aide d'une courbe d'étalonnage standard générée à partir de dilutions en série de l'ADN standard international de *P. falciparum*, couvrant des concentrations de 1 à 100 000

copies/réaction (soit 232,5 à 23 250 000 parasites/mL). La charge parasitaire de chaque échantillon a été déduite de la pente et de l'ordonnée à l'origine de la courbe standard. La limite inférieure de détection du test était 20 parasites/mL, avec un écart-type (ET) inférieur à 0,5. Un échantillon était considéré comme positif pour *P. falciparum* si les deux répliquats étaient amplifiés, avec un ET inter-répliquats inférieur à 0,5. Les échantillons sans amplification ou avec une amplification inférieure au seuil de quantification ont été classés comme négatifs. Les échantillons présentant une amplification incohérente (par exemple, une seule réplique amplifiée ou un écart-type > 0,5) ont été répétés et en cas de variabilité persistante, l'ADN a été réextrait de l'échantillon de sang original.

10.5 Test moléculaire rapide

Le diagnostic moléculaire du paludisme a été réalisé à l'aide du test moléculaire rapide, un test d'amplification isotherme de l'ADN avec détection par fluorescence. Pour chaque échantillon de sang total, une solution tampon de lyse a été ajoutée afin de libérer l'ADN parasitaire, puis conservé à 2-8°C pendant 72 heures avant leur analyse. Ce test permet la détection qualitative de l'ADN de *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae*, *P. knowlesi* ainsi que la différenciation spécifique de *P. falciparum*.

➤ Equipements et matériels

- Eau distillée,
- Décontaminant de surface,
- PCR en temps réel avec des canaux de fluorescence (FAM, HEX, CY5),
- Pipettes réglables,
- Embouts de pipette,
- Gants jetables,
- Equipement de protection individuel (blouse jetable, lunette, bavettes),
- Vortexeuse,
- Tubes/bandes PCR avec bouchons ou plaques PCR à 96 puits avec film d'étanchéité,
- Support de tube/plaque PCR,
- Tubes et racks de microcentrifugeuse de 1,5 mL et 2mL,
- Centrifugeuse pour tubes de microcentrifugeuse et tubes/plaques PCR

➤ **Préparation des réactifs**

1.25 Préparation du tampon de lyse (LB)

| | | | | | |
|----------------------|---------|----------|----------|---------|--------|
| 40X LB | 62.5 µL | 312.5 µL | 1.25 mL | 2.5 mL | 5 mL |
| Distilled H2O | 1.94 mL | 9.69 mL | 38.75 mL | 77.5 mL | 155 mL |
| 1.25 X LB | 2 mL | 10 mL | 40 mL | 80 mL | 160 mL |

Le Master MIX de réaction

Pour N échantillons :

MAL-RM (Reaction Mix) $(N+2) \times 10 = \underline{\hspace{2cm}}$ µL

MAL-PM (Primer Mix) $(N+2) \times 10 = \underline{\hspace{2cm}}$ µL

Total $(N+2) \times 20 = \underline{\hspace{2cm}}$ µL

Bien mélanger le Master Mix après préparation.

Procédure :

- ✓ 20 µL de sang total ont été mélangés à 80 µL d'une solution de lyse,
- ✓ Mélanger le tube à l'aide d'un vortex pendant 10 secondes
- ✓ Incuber les tubes PCR à 95 °C pendant 10 minutes. Après l'incubation, laisser les tubes refroidir à température ambiante avant de les ouvrir.
- ✓ Verser 20 µL du Master Mix réactionnel dans les tubes à réaction N+2.
- ✓ Transférer 5 µL des échantillons dans les tubes/puits de réaction correspondants.
- ✓ Pour la réaction de contrôle négatif, ajouter 5 µL du modèle de contrôle négatif dans le tube/puits de réaction n° (N+1).
- ✓ Pour la réaction de contrôle positif, ajouter 5 µL du modèle de contrôle positif dans le tube/puits de réaction n° (N+2).
- ✓ Bouchez tous les tubes ou scellez la plaque avec un film optique compatible.
- ✓ Agitez doucement les tubes/secouez la plaque pour mélanger tous les réactifs.
- ✓ Centrifugez brièvement les tubes/plaques afin de faire descendre tout le liquide au fond des puits.
- ✓ Placez la plaque dans le porte-échantillons d'un appareil de PCR en temps réel compatible.

- ✓ Fermez le couvercle et lancez la réaction.

L'amplification repose sur une technologie isotherme réalisée à 60°C pendant une heure, sans cycle thermique classique. La réaction a été réalisée dans un thermocycleur en temps réel qui est équipé des canaux **FAM**, **HEX**, **Cy5**. Chaque série d'analyses comprenait un contrôle positif qui garantissait le bon fonctionnement de la réaction et un contrôle négatif qui permettait de vérifier l'absence de contamination. Les résultats n'étaient donc considérés valides que si seulement si, le contrôle positif montrait une amplification et le contrôle négatif ne montrait aucun signal. L'interprétation des résultats s'est basée sur l'apparition des courbes d'amplification.

| Canal | Résultat |
|-------|----------------------|
| FAM | <i>P. falciparum</i> |
| Cy5 | Les autres espèces |
| HEX | Contrôle interne |

- ✓ **Apparition du canal FAM** : présence de *P. falciparum*
- ✓ **Apparition du canal Cy5** : présence de *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae*, *P. knowlesi*
- ✓ **Apparition du canal HEX seul** : échantillon négatif (contrôle interne valide)
- ✓ **Présence simultanée de signaux** : une co-infection de toutes les espèces
- ✓ **Absence de signal** : test invalide



Analyseur moléculaire iAMP-PS96

11 Fiche signalétique

Nom : SAMAKE

Prénom : Al Assane

Téléphone : (+223) 79624486

Email : alassanesamake909@gmail.com

Pays d'origine : MALI

Titre de la thèse : Evaluation de la performance du test moléculaire rapide pour le diagnostic du paludisme au Mali.

Année universitaire : 2024-2025

Ville de soutenance : Bamako

Lieu de dépôt : Bibliothèque de la FMOS/FAPH de Bamako

Source d'intérêt : Biologie Moléculaire, Parasitologie, Santé Publique

Résumé

En Afrique subsaharienne et particulièrement au Mali, le paludisme demeure endémique et son diagnostic précoce constitue un défi. Les méthodes diagnostiques disponibles sont limitées en termes de sensibilité et d'accessibilité. Cette étude visait à évaluer la performance du test moléculaire rapide. Il s'agissait d'une étude transversale conduite de septembre à octobre 2024 chez les patients consultant pour suspicion clinique de paludisme dans les CSCOM de Kalaban coro et de Djicoroni coura. La concordance a été évaluée par le coefficient Kappa et les proportions ont été comparées par le test de Chi² de Pearson avec un seuil de significativité fixé à 5%. Les performances du test moléculaire rapide ont été comparées à celles de la PCR (référence), de la GE, et du TDR. Sur 233 participants inclus, le test moléculaire rapide a montré une sensibilité modérée (55-66,3%) et une spécificité élevée (70-84,2%), avec une concordance faible (0,2-0,4) par rapport aux méthodes diagnostiques de comparaison. La sensibilité du test dépendait de la charge parasitaire : plus la parasitémie était élevée, plus la sensibilité du test moléculaire rapide augmentait. Notre étude a révélé que le test moléculaire rapide offre une sensibilité modérée et une spécificité élevée mais sa fiabilité diminue avec la baisse de la parasitémie, ce qui limite son utilisation comme test unique.

Mots clés : paludisme, diagnostics biologiques, test moléculaire rapide, performance.

Summary

Evaluation of the Performance of the Rapid Molecular Test for the Biological Diagnosis of Malaria in Patients Attending Routine Consultations at the Community Health Centers of Kalaban Coro and Djicoroni Coura.

In sub-Saharan Africa, and particularly in Mali, malaria remains endemic, and early diagnosis continues to be a challenge. Available diagnostic methods are limited in terms of sensitivity and accessibility. This study aimed to evaluate the performance of the rapid test molecular. A cross-sectional study was conducted from September to October 2024 among patients presenting with clinically suspected malaria at the CSCOMs of Kalaban Coro and Djicoroni Coura. Concordance was assessed with the Kappa coefficient, and proportions were compared using Pearson's Chi-square test with a significance level set at 5%. The performance of the rapid molecular test was compared to PCR (reference), thick smear (TS), and rapid diagnostic test (RDT). Among the 233 participants included, the rapid molecular test showed moderate sensitivity (55–66.3%) and high specificity (70–84.2%), with low concordance (0.2–0.4) compared to the reference diagnostic methods. The sensitivity of the test depended on the parasite load: the higher the parasitemia, the greater the sensitivity of the rapid molecular test. Our study indicates that the rapid molecular test provides moderate sensitivity and high specificity, but its reliability decreases at low parasitemia, limiting its use as a standalone diagnostic test.

Keywords: malaria, diagnostic methods, rapid molecular test, performance

Serment de Galien

Je jure en présence des maîtres de la faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur mais aussi les règles de l'honneur, de probité et du désintéressement ;

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ;

En aucun cas, je ne consentirais à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels ;

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses !

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

Je le jure !