



**UNIVERSITE DES SCIENCES DES TECHNIQUES
DES TECHNOLOGIES DE BAMAKO (USTTB)**



FACULTE DE PHARMACIE

Année universitaire :2022/2023

N° :/.....

TITRE DE LA THESE

**Étude des causes potentielles de discordance entre la microscopie et le
TDR dans le Diagnostic biologique du paludisme à *Plasmodium
falciparum* à Dangassa région de Koulikoro, Mali : Analyse secondaire
des données de l'ICEMR 2013-2016**

Présentée et soutenue publiquement le 11 /07 / 2023 devant la Faculté de Pharmacie par :

Abassana Indé Dit Lazzarre YALCOUYE

Pour l'obtention du grade de docteur en Pharmacie
(DIPLÔME D'ETAT)

JURY

<i>PRESIDENT</i>	<i>M. Mahamadou</i>	<i>DIAKITE</i>	<i>Professeur Titulaire</i>
<i>MEMBRES</i>	<i>M. Sory Ibrahim</i>	<i>DIAWARA</i>	<i>Maitre de recherche</i>
	<i>M. Karim</i>	<i>TRAORE</i>	<i>Maitre-Assistant</i>
<i>DIRECTEUR</i>	<i>M. Seidina Aboubacar Samba</i>	<i>DIAKITE</i>	<i>Maitre de Conférences</i>
<i>Co_DIRECTEUR</i>	<i>M. Fousseyni</i>	<i>KANE</i>	<i>Médecin Chercheur</i>

DEDICACES

Je dédie ce travail :

➤ A MON SEIGNEUR ET SAUVEUR

Gloire et Honneur à Toi seul ô Éternel YAHWEH (YHWH) tu es le seul Dieu qui soit digne de louange et adoration au siècle des siècles. Les hommes viennent et partent mais tu es le fidèle père, ami et rédempteur, comme tu l'as dit à Moïse tu es celui qui est, de la manière dont tu as été au commencement, tu seras aussi à la fin à cause de ta fidélité.

➤ A MA TANTE NEMA GOITA

Comme toujours appelée, tu es la maman de tous les enfants, femme sage et courageuse, respectueuse et battante, tu t'es toujours attachée à ton seigneur en toutes circonstances prodiguant des conseils avec amour, tu as été mon encadreur au second cycle quand je baissais les bras, pour faire rehausser ce niveau qui somnolait en moi ce qui a fait de moi le premier de la classe a beaucoup de reprises.

Merci pour tout ce sacerdoce, je prie Dieu pour qu'il te donne d'avantage la force et la santé parfaite au nom de **JESUS CHRIST**.

REMERCIEMENTS

➤ A MON FEU PÈRE SAMUEL YALCOUYE

Papa (BABA) comme j'avais l'habitude de t'appeler, si aujourd'hui je suis parvenu à ce niveau c'est bien grâce à toi, dès la base, tu as inculqué en moi le sens du travail bien fait, le courage et l'honnêteté. Merci pour tout le sacrifice consenti malgré ton modeste moyen, je n'ai manqué de rien ; j'aurai tant voulu que tu vois ce grand jour mais le seigneur en a décidé autrement.

En Christ la mort n'est pas la fin, nous nous révérons au près du seigneur un jour.

➤ A MA MERE NEMA TIMBINE

Aucune dédicace, aucun mot n'est assez pour dire quelle magnifique et adorable mère tu es pour moi et mes sœurs, tu nous as toujours entretenus, soutenus et accompagnés dans tous nos pas et nos prises de décisions importantes comme dans les décisions les moins importantes. Dès la base tu m'as appris à aimer Dieu, à prier et à ne compter que sur mon créateur. Tu es symbole de bravoure, de détermination et d'amour car tu t'es toujours privée de tes biens afin de rendre service à toutes personnes dans les besoins et cela ne restera pas vain. Plaise à Dieu de te récompenser et te donner la santé qui te tient à cœur et que tu cherches ardemment depuis des années maintenant. Plaise à Dieu de te donner une longue vie afin que tu puisses profiter du fruit de ton travail.

Ce succès n'aurait pas vu le jour si tu n'avais pas été présente, reçoit en ses faibles mots l'expression de mon cœur.

A MON ONCLE GARIBOU JOSEPH YALCOUYE

Cher oncle, tu fût pour moi ce que beaucoup de père biologique n'aurai pas pu être pour leurs enfants, dès la base, ton accompagnement, ton enseignement n'a jamais fait défaut, tu m'as instruit au sens de responsabilité, du travail bien fait et tu as excellé dans tout mon parcours dès ma base, ici en Afrique on dit le père c'est celui qui éduque. Dans ce sens, en caractère et comportement j'ai plus hérité de toi que quiconque. Merci de m'avoir orienté vers cette faculté de pharmacie qui demande une excellence et merci d'avoir cru en moi. Aujourd'hui, si je suis arrivé, c'est bien grâce à ton soutien morale, financier et ta patience vu le temps de cette étude. Longue et heureuse vie à toi

➤ **A MES FRERES, SŒURS, COUSINS ET FAMILLE**

A ma Grande sœur chérie **Esther**, tu es pour moi comme une seconde mère, gloire soit rendue à notre seigneur pour ta vie et à ton mari **Jérémie SAGARA** dont le soutien n'a jamais fait défaut, à **Hawa, Rachel, Souleymane, Ambassagou Jacques et Ambaga Sarah**.

Vous avoir en tant que famille est la plus grande des bénédictions, de joie et d'amour. Vous avez témoigné tout au long de ma vie votre affection, cette joie de vivre qui est en vous. Vous avez toujours été présents dans mon parcours à travers des conseils, des formations et des soutiens de tout genre. Je vous dédie ce modeste travail qui n'est rien d'autre que le fruit de la joie de vivre et de l'union se trouvant dans la famille **YALCOUYE**.

A **Amadou YALCOUYE, Abdoulaye YALCOUYE**, à **Pierre KASSOGUE** et leurs épouses respectives ainsi que tout ce dont les noms ne figurent pas ici, ce travail est le vôtre.

➤ **A MA CHERE ET TENDRE MAIMOUNA TRAORE**

Te rencontrer a été la plus grande chance et bénédiction pour moi, tu es ma grande source de motivation. Ton soutien pendant les examens, ton encouragement pendant les moments de démotivation avec des paroles rassurantes et réconfortantes me rassure. Toujours souriante, humble et conseillère dans le plus grand respect, en toi je trouve la joie de vivre et un espoir en foyer stable et heureux. Ma prière est que Dieu nous assiste et nous ouvre les meilleures portes et j'ose croire que celui qui a commencé cette bonne œuvre est fidèle et c'est lui qui l'achèvera. Amen !!!!!!!

➤ **A MON PAYS, LE MALI**

Ô Mali ma terre de naissance, terre d'hospitalité et de civilisation, terre de vaillants hommes et d'espoir, toi qui hébergeas de grands hommes, des vaillants empereurs et des sages. Longtemps vacillé mais qui reste debout et fort aujourd'hui comme plus que jamais avec des hommes déterminés, c'est un privilège pour moi d'appartenir à ce peuple digne. Merci !!!

➤ **AU CAMPUS POUR CHRIST ET GBEEM**

Un Homme sans Dieu est comme un navire sans gouvernail, beaucoup de personnes une fois au point g perdent leur repère mais gloire soit rendue à Dieu pour votre existence, merci pour les moments d'édification de louange et de prière qui ont été un appui spirituel fort dans ma vie

estudiantine. Merci aux différents coordinateurs, une mention spéciale au feu **ZIE David SOGOBA et famille, PASTEUR Samuel YALCOUYE de KOULOUBA** et famille, à Dr **Frederic AKAKPO, Abraham POUDIOUGOU, Jean Paul COULIBALY** et à toute la communauté chrétienne du point g.

- **A l'Eglise Evangélique Protestante de Sebenikoro (EEPS)**
- **A la Chorale Francophone de Sebenikoro (VOIX DES ANGES)**
- **A MES AMIS**

Emmanuel DIARRA, David GOITA, Dr Josue Togo, Dr Joseph Dackouo, Ezéchiel A TOGO, Dr Bernard DEMBELE, Fousseyni KEITA, Samuel SAYE, Dr Siné Diakité, Dr Amadou Yara, Dr Alassana Djiré, Dr Issiaka F Bagayoko, Jean B Dackouo, Kassoum GOITA, Moise GOITA, Paul GOITA, Jean Pierre Diarra, Issa GOITA, Samuel GOITA, Dr Souleymane SOUMARE.

- **A LA 13^{ème} PROMOTION DU NUMERUS CLAUSUS PHARMACIE (Promotion Feu Pr Mamadou KOUMARE)**

Ça été un privilège pour moi d'appartenir à cette promotion qui est la première du système OOAS (Organisation Ouest Africaine de la Santé), merci à tous pour ce privilège et confiance que vous avez accordés en ma modeste personne de présider. Je vous suis reconnaissant et reste à votre disposition pour d'autres services et à mon Parrain Dr **Mantala SANGARA** et à la Marraine Dr **DIALLO Deidia Mahamane KATTRA**.

Merci à vous pour tous vos soutiens multiformes et que Dieu vous bénisse abondamment.

- **A TOUS MES MAITRES DE LA FAPH DE BAMAKO**

Chers maitres, vous êtes une source d'admiration et de savoir, dès la base vous avez été là pour nous transmettre ce savoir qui a fait de nous des Hommes de science et de santé à part entière. Chers maitres, nous rendrons aux générations futures ce que nous avons reçu de vous. Soyez-en remerciés.

➤ **A TOUS LES SERVICES FREQUENTES PENDANT MES STAGES**

LNS (Laboratoire National de la Santé), LBMA (Laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée), au CHU POINT G, UMPP (Usine Malienne des Produits Pharmaceutiques), Centre de Santé Communautaire ASACOSECASI, Pharmacie BADIALLO ACI 2000

➤ **UCRC/MRTC-MALI**

University Clinical Research Center (UCRC) et Malaria Research and Training Center (MRTC) depuis ma deuxième année de faculté, j'ai toujours eu de l'admiration pour vous en raison de la qualité de votre enseignement en parasitologie. Aujourd'hui, vous m'avez donné le privilège en m'acceptant au sein de cette structure d'excellence de recherche et d'approfondir ma connaissance en me donnant une formation de qualité. Cette rigueur scientifique pour un travail bien fait que j'ai acquis auprès de vous me suivra. Merci du fond du cœur

➤ **AUX DOCTEURS, FORMATEURS, THESARDS DU MRTC**

Chers confrères et formateurs votre partage de connaissance sans réserve fait de ce service l'un des meilleurs et plus envié. Merci pour ce bon moment de collaboration et de partage. Pr Nafomon SOGOBA, Dr Fousseyni KANE, Dr Patrice B DEMBELE, Dr Bourama TRAORE, Dr Salif THIAM, Dr Moussa KEITA, Pr Seydina A DIAKITE, Dr Mamadou B TOURE, Pr Sory I DIAWARA, Dr Bourama KEITA, Dr Drissa S KONATE, Dr Soumba KEITA, Mathias A DOLO, Dr Yacouba TRAORE, Daouda OULOGUEM, Dr Daouda SANOGO, Dr Siriman SAMAKE, Dr Mohamed Moumine TRAORE, Dr Oumar KASSOGUE, Alassane dit ASSITOUN, Dr Dramane SOGODOGO, Dr Abdramane TRAORE, Dr Alpha Diallo, Karamogo TANKARA, Dr Abdourhamane CISSE, Dr Aboubacar Sadik KONE, Dr Younoussa ZIGUIME.

A tous ceux qui, de prêt ou de loin ont contribué à l'aboutissement de ce travail recevez ici ma plus grande considération !!!!!

Hommage aux membres du jury

A notre maître et Président du jury : Pr Mahamadou DIAKITE

- Professeur Titulaire d'Immunologie et de Génétique à la FAPH
- Chef du Laboratoire Immunogénétique et Parasitologie de ICER-Mali
- Vice-recteur de l'Université des Sciences, des Techniques et des technologies de Bamako (USTTB)
- Directeur Scientifique Adjoint du centre Universitaire de Recherche Clinique
- Secrétaire permanent du Comité d'Éthique de l'USTTB

Cher Maître,

Votre rigueur scientifique, votre disponibilité, votre souci du travail bien fait et surtout votre sens de responsabilité et votre simplicité ont forcé notre admiration. Vous nous avez reçu les bras ouverts malgré vos multiples occupations. Soyez rassuré honorable maître de notre reconnaissance.

Cher Maître, Acceptez l'expression de notre reconnaissance pour l'honneur que vous nous faite en acceptant de présider le jury de notre thèse.

A notre maitre et juge : Pr Sory Ibrahim DIAWARA

- Médecin chercheur
- PhD en épidémiologie
- Maitre de Recherche FMOS/USTTB

Cher maitre,

Nous nous réjouissons de votre présence au sein de ce jury. C'est un grand honneur que vous nous faite en acceptant de juger ce travail malgré vos multiples occupations. Merci pour vos innombrables conseils, votre disponibilité et votre courtoisie nous ont été très bénéfique pour la réalisation de ce travail. Nous avons énormément appris à vos côtés. Recevez par ce travail l'expression de notre admiration et notre profonde gratitude.

A notre maitre et juge : Dr Karim TRAORE

- Docteur en Pharmacie
- PhD en pharmacologie
- Maitre-assistant en Pharmacologie a la FAPH

Cher Maitre,

C'est un privilège pour nous de profiter de vos nombreux conseils. Le temps passé auprès de vous nous a permis d'apprécier en vous, la rigueur, la simplicité et surtout cette source intarissable de savoir-faire et de savoir-être.

Veillez retrouver ici l'expression de notre profond attachement.

A notre Maitre et codirecteur : Dr Fousseyni KANE

- Docteur en médecine
- Titulaire d'un master en bio-informatique et en Bio statistique
- Chercheur au Centre Universitaire de Recherche Clinique (UCRC)

Cher maitre,

Ce travail est avant tout le fruit de vos efforts, votre modestie, vos qualités scientifiques et pédagogiques. Votre rigueur pour un travail bien fait, votre sens de responsabilité font de vous un maitre exceptionnel. C'est un privilège pour nous d'être comptés parmi vos élèves. Permettez-nous cher maitre de vous adresser l'expression de notre profonde gratitude.

A notre Maitre et directeur : Pr Seidina Aboubacar Samba DIAKITE,

- Docteur en Pharmacie
- PhD en Immunologie
- Maitre de conférences à la Faculté de Pharmacie (USTTB)
- Enseignant d'Immunologie à la Faculté de Pharmacie (USTTB)

Cher maitre,

C'est un réel plaisir que vous nous faite en acceptant de diriger ce travail. Votre amabilité, votre sympathie, votre courage, votre simplicité et surtout votre aptitude scientifique sont les qualités qui vous définissent depuis la salle de classe. Nous avons beaucoup bénéficié de votre assistance durant la réalisation de ce travail.

Permettez-nous aujourd'hui de réitérer notre indéfectible gratitude.

SIGLES ET ABBREVIATIONS

µl :	Microlitre
Ac :	Anticorps
Ag :	Antigène
ARNm	Acide ribonucléique messenger
COVID :	Coronavirus
CPN :	Consultation Périnatale
CPS :	Chimio Prévention Saisonnière
CSCom :	Centre de Santé communautaire
DCI :	Dénomination commune internationale
DEET :	N, N-diéthyl-méta-toluamide
FAPH :	Faculté de Pharmacie
FN :	Faux Négatif
FP :	Faux Positif
GE :	Goutte Epaisse
Hb :	Hémoglobine
HRP :	Protéine riche en histidine
ICEMR :	Centre international d'excellence en recherche sur le paludisme
Ig :	Immunoglobuline
J-C :	Jésus Christ
NIAID/NIH :	Institut national des allergies et des maladies infectieuses/Instituts nationaux de la santé
OHVN :	Office de la Haute Vallée du Niger
OMS :	Organisation mondiale de la santé
P.f.:	<i>Plasmodium falciparum</i>
P.m :	<i>Plasmodium malariae</i>
P.v.:	<i>Plasmodium ovale</i>
P.v.:	<i>Plasmodium vivax</i>
PCD :	Détection Passive des Cas
PfHRP :	<i>Plasmodium falciparum</i> histidine riche protéine
PID :	Pulvérisation Intra Domiciliaire
pLDH :	<i>Plasmodium</i> Lactate déshydrogénase
REDCap :	Research Electronic Data Capture
RN :	Route National
TBVs :	Transmission-Blocking vaccins (vaccins bloquant la transmission)
TDR :	Test de Diagnostic Rapide
TNF :	Tumor Necrosis Factor (Facteur Nécrosant Tissulaire)
UCRC :	Centre Universitaire de Recherche Clinique
USTTB :	Université des Sciences Techniques et Technologies de Bamako
VN :	Vrai Négatif
VP :	Vraie Positif
VPN :	Valeur Prédictive Négative
VPP :	Valeur Prédictive Positive

Table des matières

1. INTRODUCTION	1
2. OBJECTIFS	3
2.1. Objectif général	3
2.2. Objectifs spécifiques	3
3. GENERALITES	4
3.1. Définition du paludisme	4
3.2. Historique du paludisme	4
3.2. Epidémiologie	5
3.3. Vecteur-transmission et cycle parasitaire :	7
3.3.1. Vecteur et transmission	7
3.3.2. Cycle biologique du <i>Plasmodium</i>	8
a) Cycle chez anophèle	8
b) Cycle chez l'Homme	9
3.3.3. Prévention de la transmission	12
3.4.1. Clinique	13
3.4.2. Diagnostic biologique	15
4. MATERIEL ET METHODES	35
4.1. Cadre d'étude	35
4.2. Site d'étude	35
4.2.1. Situation géographique	35
4.2.2. Climat et végétation	35
4.2.3. Infrastructures sociaux sanitaires	37
4.2.4. Activités économiques et culturelles	37
4.3. Types d'étude et Période	38
4.4. La population d'étude et échantillons utilisés pour l'analyse	38
4.4.1. Critères d'inclusion	38
4.4.2. Critères de non-inclusion	38
4.5. Collecte et analyse des données	38
4.6. Considérations éthiques	39

4.7. Déroulement de l'étude	39
5. RESULTATS	40
6. COMMENTAIRES ET DISCUSSION	53
7. CONCLUSION	55
8.RECOMMANDATIONS	56
9. REFERENCES	57
10.ANNEXES	61
10.1 Réalisation du test de diagnostic rapide	61
10.2 Réalisation de la microscopie	61

Liste des tableaux

Tableau 1 : Signes cliniques de gravité regroupés. [23,24]	14
Tableau 2 : Signes du paludisme chez les enfants de moins de 5ans. [25]	14
Tableau 3 : Résultats des TDR chez les participants de la cohorte venus en consultation entre 2013 et 2016.	44
Tableau 4: Résultats de la microscopie chez les participants de la cohorte venus en consultation entre 2013 et 2016.	44
Tableau 5: Performances globale du TDR par rapport aux résultats de la microscopie entre 2013 et 2016.....	46
Tableau 6 : Sensibilité du TDR par rapport à la densité parasitaire chez les participants de la cohorte venus en consultation diagnostiqués positifs au paludisme.	48
Tableau 7 : Résultats du TDR en fonction des saisons	48

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Carte du taux d'incidence mondial des cas de paludisme (cas pour 1000 dans les populations à risque) par pays, 2018	6
Figure 2 : Anophèle femelle se gorgeant de sang (Center for Disease Control and prevention)7	
Figure 3 : Cycle biologique du Plasmodium	11
Figure 4 : Vue microscopique des trophozoïdes de Plasmodium falciparum (Cours campus.cerimes.fr)	16
Figure 5 : Différents stades du Plasmodium falciparum	18
Figure 6 : Différents stades du Plasmodium vivax	20
Figure 7 : Les différents stades du Plasmodium ovale	22
Figure 8 : Les différents stades du Plasmodium malariae	24
Figure 9 : Différents stades du Plasmodium knowlesi [29]	26
Figure 10 : Figure d'un anticorps et un complexe Ac-Ag production d'anticorps.[34].....	28
Figure 11 : Principe de détection de l'antigène (OMS 2008)	30
Figure 12 : Casette d'un TDR.....	32
Figure 13 : Carte de la présentation de Dangassa (ICEMR/ICERMali)	36
Figure 14 : Répartition de la cohorte en fonction du sexe.	40
Figure 15 : Répartition de la cohorte en fonction de la tranche d'âge.	41
Figure 16 : Fréquence du nombre de visite en fonction des années (jan 2013 – déc. 2016)....	42
Figure 17 : Fréquence des visites par tranche d'âge et par année.	43
Figure 18 : Courbe de tendance de l'estimation du taux d'incidence pour 1000 personnes*mois à partir des résultats de TDR et de la microscopie.	45
Figure 19 : Variation annuelle de la performance du TDR/microscopie	47
Figure 20 : Variation de la concordance en fonction de la tranche d'âge	49
Figure 21: Sensibilité du TDR par rapport à la parasitémie en années	50
Figure 22 : Performance du TDR par rapport aux résultats de la microscopie par saison entre 2013 et 2016.	51
Figure 23 : Variation mensuelle de la concordance globale entre la microscopie / TDR.....	52

1.INTRODUCTION

Le paludisme est l'épidémie parasitaire la plus meurtrière dans le monde [1]. Selon le rapport de l'Organisation Mondiale Santé (OMS) 2022 sur le paludisme, 247 millions de cas ont été enregistrés dans le monde avec un nombre de décès estimé à 619 000 dans le monde en 2021. La région Afrique de L'OMS continue de payer le plus lourd tribut au paludisme (95 % des cas et 96 % de tous les décès dus au paludisme en 2021) et les enfants de moins de 5 ans sont les premières victimes de la maladie (80 % de tous les décès dus au paludisme de la région) [2,3]. Au Mali, le paludisme constitue la première cause de morbidité avec 34% des motifs de consultations et une forte mortalité chez les enfants de moins de 5 ans [3].

Pour éviter les erreurs de diagnostic occasionnant une utilisation abusive antipaludiques (responsable en partie de l'émergence de la résistance), l'OMS recommande que tout cas suspect de paludisme soit confirmé par un examen biologique avant l'instauration d'un traitement [4]. Au Mali le diagnostic est essentiellement basé sur la microscopie qui constitue la méthode de référence[5–7]. Cependant, le test de diagnostic rapide (TDR) est la technique la plus utilisée grâce à son accès et l'utilisation facile. Ainsi entre 2010-2018, le pourcentage de patients suspects du paludisme ayant subi un TDR ou une microscopie dans les établissements publics au monde est passé de 36% à 84% ce qui a beaucoup contribué dans la régression de cette maladie [4]. Entre 2010 et 2020, 2,2 milliards de TDR ont été distribués par les programmes nationaux de lutte contre le paludisme dont 88% en Afrique subsaharienne et une vente de 3,1 milliards de TDR durant la même période avec 81% à destination de l'Afrique [7].

Un diagnostic précoce et précis du paludisme est essentiel pour un contrôle et une surveillance efficace de la maladie. La qualité du diagnostic du paludisme est importante dans tous les contextes, car un mauvais diagnostic peut être associé à une morbidité et une mortalité importante. La microscopie a un seuil de détection de 5-20 parasites/ μ l et nécessite une infrastructure, elle présente plusieurs avantages tels que : l'identification des espèces, la précision, la quantification [6].

A la différence de la microscopie, la mise en œuvre du TDR ne nécessite pas d'infrastructure contraignante, cependant il peut présenter une proportion de faux négatif estimée de 3 à moins de 5% pour le HRP2 [8] et une sensibilité de 100% à partir de 51 parasites/ μ l pour SD Bioline-Malaria-Ag *Pf/Pan*® [9]. Le principe des TDR est basé la détection des protéines de

plasmodium dans le sang des patients comme le HRP2 (Histidine Riche Protéine 2), le Pldh (*Plasmodium* Lactate déshydrogénase) ou l'aldolase des espèces du *Plasmodium*[6,10].

Certains facteurs liés au parasite ou aux conditions expérimentales pourraient aliéner le résultat des TDR. Ainsi la suppression des gènes *Pfhrp2* et *Pfhrp3* (*Plasmodium falciparum* Histidine Riche Protéine 2/3) rendent les *Plasmodiums* indétectables aux TDR à base HRP2. L'OMS recommande donc aux pays ayant rapporté la suppression des gènes et à leurs voisins de mener des études de référence représentatives sur les cas suspectés du paludisme afin de déterminer si la prévalence des suppressions de *pfhrp2/3* (*Plasmodium falciparum* Histidine Riche Protéine 2/3) causant de faux négatifs à un seuil de suppression > 5% afin de songer à une alternative aux TDR existant [7,8].

La présente étude vise à évaluer les causes potentielles de la discordance entre la microscopie et le TDR dans le village de Dangassa entre 2013 et 2016 dans le contexte du projet ICEMR, région de Koulikoro, Mali.

Les résultats de ce travail de thèse pourraient aider à améliorer la qualité des diagnostics biologique du paludisme et donc la prise en charge de la maladie.

2. OBJECTIFS

2.1. Objectif général

Évaluer les causes potentielles de la discordance entre les deux méthodes de diagnostic du paludisme à Dangassa entre 2013 et 2016 dans la région de Koulikoro, Mali

2.2. Objectifs spécifiques

- Déterminer l'incidence du paludisme en fonction de la goutte épaisse (GE) et le test de diagnostic rapide (TDR) ;
- Déterminer le taux de discordance entre les méthodes de diagnostic du paludisme ;
- Identifier les facteurs associés à la discordance entre les résultats de TDR et de GE.

3. GENERALITES

3.1. Définition du paludisme

Le paludisme est une érythrocytopathie fébrile et hémolysante due à la présence et au développement dans le foie puis dans les hématies d'un hématozoaire du genre *Plasmodium*. Il est transmis par la pique infectante du moustique femelle du genre *Anopheles* [11].

3.2. Historique du paludisme

La découverte du paludisme remonte à une époque très ancienne, bien que la période exacte ne soit connue, les premiers signes du paludisme avaient été décrits depuis l'antiquité chinoise 2700 ans avant J-C au temps de l'empereur *Huang Ti* appelé encore *Nei Ching* ou empereur Jaune [12].

Le paludisme était aperçu comme un dragon à 3 têtes : un marteau symbolisant les maux de tête, un seau d'eau glacé représentant les frissons et un fer porté au rouge désignant la fièvre [12]. Plus tard au IV^{ème} siècle avant J-C Hippocrate décrivit la maladie en faisant une triade « frissons-sueur-fièvre » pouvant être tierces ou quartes, ainsi quelques années plus tard, les Grecs et Romains également établirent une corrélation entre les fièvres intermittentes et les zones de marécage, les médecins de l'Inde védiques et brahmanique également avaient caractérisé la fièvre intermittente 1000 ans avant J-C dont les descriptions se trouvaient dans les Deutéronomes des hébreux et hiéroglyphes des Egyptiens [12,13].

Ainsi après des siècles, en 1630 Don Francisco Lopes découvre les vertus curatives de la poudre d'écorce de quinquina, En 1820 Pelletier et Caventou isolent deux des alcaloïdes de quinquina (Quinine et la Cinchonine), 60 ans après, Laveran découvre à son tour l'hématozoaire du paludisme [13].

En 1898 Grassi prouve que l'anophèle est le vecteur du paludisme ; ce n'est qu'en 1948 que le cycle parasitaire a été complété suite à la mise en évidence de la forme tissulaire intra hépatocytaire des hématozoaires par Garnham [13].

Ainsi pour comprendre et diagnostiquer, cette maladie millénaire, les humains déploieront d'énormes moyens, de l'antiquité à la fin du 16^{ème} siècle, le diagnostic était essentiellement clinique. Plus tard la microscopie a vu le jour pour le diagnostic biologique, bien que sa

paternité ne soit connue, l'invention de la microscopie a été attribuer à l'opticien Hollandais Hans Janssen et son fils Zacharias Janssen en 1595[13,14].

3.2. Epidémiologie

Le paludisme est un fléau qui tue chaque année plus de 400000 personnes, c'est la maladie parasitaire la plus meurtrière, la moitié de la population mondiale est exposée avec 241 millions de cas dans le monde en 2020 selon le rapport de l'OMS de 2021 [7].

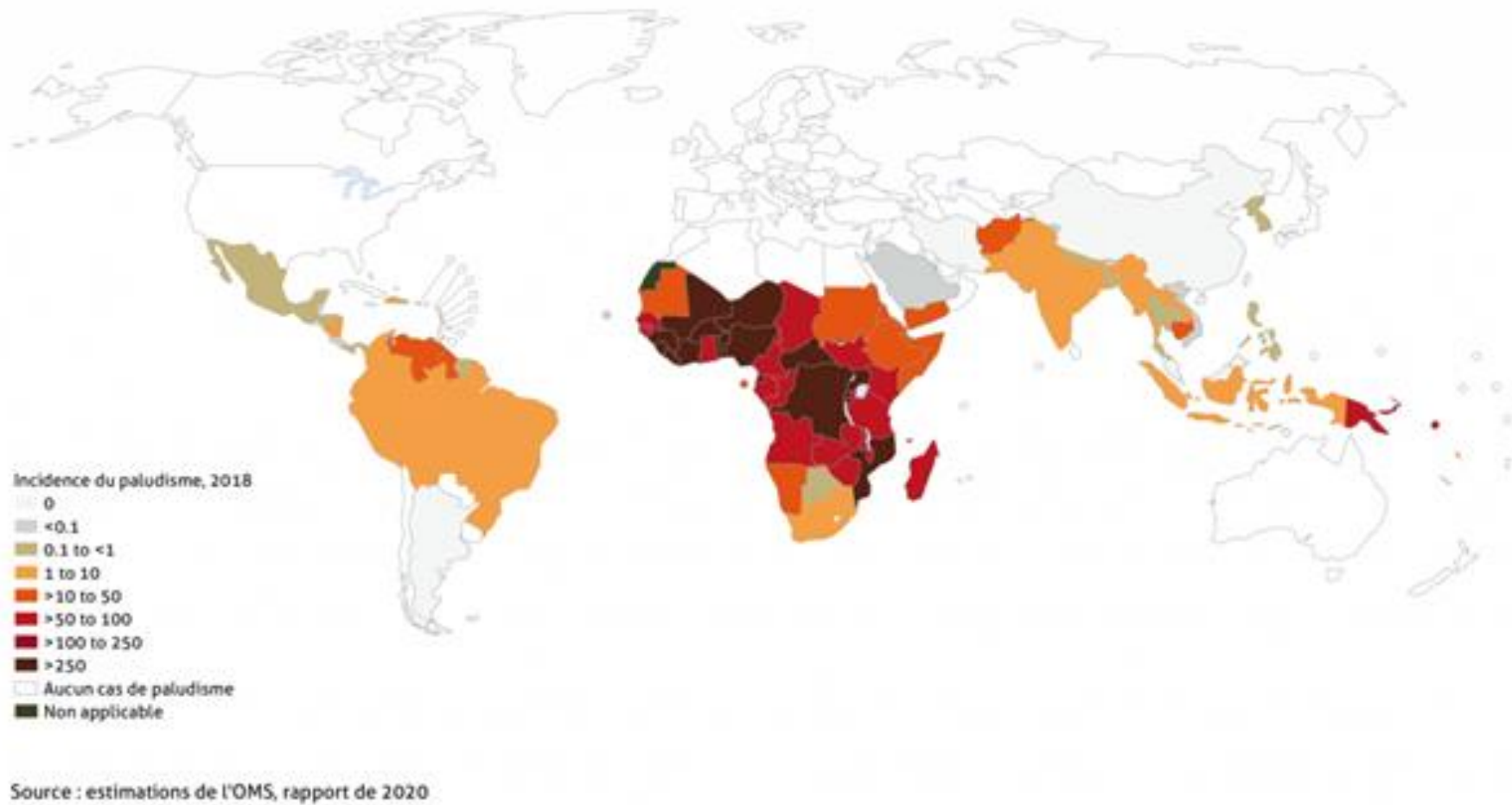


Figure 1 : Carte du taux d'incidence mondiale des cas de paludisme (cas pour 1000 dans les populations à risque) par pays, 2018

En 2020 le paludisme demeure la maladie parasitaire la plus répandue dans le monde. La transmission du paludisme est élevée dans toute la zone intertropicale entre le 30° de latitude nord et le 30° de latitude sud, particulièrement en Afrique au sud du Sahara où le fardeau du paludisme demeure le plus important [15]. Le fonds mondial précise que depuis 2000, les taux de mortalité liés au paludisme ont chutés de 60% à l'échelle mondiale avec une déclaration de zéro cas dans beaucoup de pays [15,16]. La région Afrique de l'OMS enregistre 215 millions de cas soit 94% de la totalité, le nombre de décès à diminuer de 44% entre 2000 et 2019.

En Afrique, le Cap-Vert a enregistré zéro (0) cas autochtone pour la première fois depuis l'an 2000 contrairement aux Comores où il y a une augmentation du nombre de cas en 2019 comparé à 2018 avec 1986 cas supplémentaires [15].

3.3. Vecteur-transmission et cycle parasitaire :

3.3.1. Vecteur et transmission



Figure 2 : Anophèle femelle se gorgeant de sang (Center for Disease Control and prevention)

Le paludisme est transmis par la piqûre infectante du moustique (vecteur) du genre *Anopheles*. Il existe plus de 400 espèces du genre *Anopheles*, mais seulement une 30^{ème} transmette le paludisme. Quatre espèces de *Plasmodium* sont responsables de la majorité des cas du paludisme clinique : *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium ovale* et *Plasmodium vivax* et un cinquième *Plasmodium knowlesi* qui est passé des singes (macaques) à l'homme retrouvé en Asie [16,17]. En Afrique, 99.7% des cas du paludisme serait associé à l'infection dû au *Plasmodium falciparum* [13,16]. *Anopheles* est de l'ordre des *Diptera*, de la famille des *Culicidae*, de sous famille des *Anophelinae*. L'intensité de la transmission est liée au parasite, au vecteur, à l'hôte humain et à l'environnement. La complexité du mode de vie de l'espèce *Anopheles* (habitats aquatiques, le climat ...). Les espèces avec le caractère anthropophile et les endophiles sont les plus dangereuses [18].

Les *Anophèles* se nourrissent essentiellement de jus des nectars et les femelles (hématophage) prennent du sang pour obtenir les protéines nécessaires à la maturation des œufs. La fécondation se fait après le choix de l'*Anophèle* mâle par la femelle dans l'essaim, ensuite la femelle se gorge du sang (animal ou humain) pour aller pondre dans une gîte larvaire. Après l'éclosion il faut une (01) à (03) semaines selon le genre *An. gambiae* ou *An. funestus* à une température de 27°C pour le cycle de vie. La durée de l'étape sporogonique varie de l'espèce *Plasmodium*, ainsi le cycle de vie nécessite entre l'ingestion des gamétocytes et la présence des sporozoïtes dans les glandes salivaires, 12 jours à 25°C et 23 jours à 20°C A -18°C ou +33°C le cycle s'arrête.[18] Bien qu'il existe de nombreux genres d'*Anophèles*, au Mali les vecteurs dominants sont *An. gambiae* s.l et *An. funestus* suivant l'ordre de dominance.

3.3.2. Cycle biologique du *Plasmodium*

Le cycle biologique du paludisme est l'un des plus complexe et intéressant qui mérite une attention particulière. Il est divisé en deux grandes étapes et en deux phases [13,18] :

- ✓ un chez l'Homme (hôte intermédiaire) se passe la phase asexuée ou schizogonique ;
- ✓ un chez l'*Anophèle* femelle (hôte définitif) se passe la phase sexuée.

a) Cycle chez anophèle

Lors du repas sanguin chez une personne infectée, l'anophèle ingère des gamétocytes mâles et femelles, leur fusion donne un œuf (zygote) appelé ookinète dans le tube digestif. L'ookinète

quitte l'estomac en traversant la couche des cellules épithéliales de l'intestin sur la partie apicale et se fixe sur la paroi externe de l'estomac et se transforme en oocyste. Les cellules parasites se divisent par méiose pour se multiplier dans l'oocyste pour produire des centaines de sporozoïtes qui migrent dans les glandes salivaires du moustique lors du repas sanguin sur un hôte vertébré [18,19]. La durée de vie des sporozoïtes varie en fonction des conditions climatiques.

b) Cycle chez l'Homme

Après infection de l'hôte intermédiaire par les sporozoïtes, il se déroule deux cycles chez l'homme : extra-érythrocytaire et érythrocytaire correspondant à la phase asexuée.

- **Cycle extra-érythrocytaire**

Elle correspond à la phase du développement du parasite cliniquement asymptomatique. Après l'inoculation, les sporozoïtes en une trentaine de minutes atteignent le foie où ils envahissent les hépatocytes (cryptozoïtes) pour se multiplier et donner un schizonte mature ou corps bleu contenant des milliers de noyaux. Le corps bleu s'éclate et libère des mérozoïtes qui atteignent la circulation sanguine provoquant un éclatement des globules rouges. Dans le cas du *P. vivax* et *P. ovale*, les cryptozoïtes peuvent rester en hibernation (hypnozoïtes) pendant des mois voire plusieurs années et entrer en division conduisant ainsi à un cycle exoérythrocytaire retardé causant la rechute.

- **Cycle érythrocytaire**

Elle correspond à la phase clinique de l'infection palustre, les signes et la durée des manifestations varient d'un individu à un autre. Les mérozoïtes une fois dans le sang envahissent l'hématie par endocytose et se transforme en trophozoïtes. Les trophozoïtes augmentent de volume et son noyau se divise devenant ainsi une schizonte qui après une segmentation donne des rosaces, conduisant à la destruction des globules rouges et la libération de 8 à 32 mérozoïtes qui de nouveau réinfectent d'autres hématies saines et le cycle réplique. L'ensemble de ce cycle dure 48 à 72 heures selon l'espèce plasmodiale. Généralement les gamétocytes apparaissent après un certain nombre de cycle vers la deuxième semaine qui suit l'infection. Certains mérozoïtes subissent une maturation accompagnée d'une différenciation sexuée et se transforme en gamétocytes mâles et femelles. A la suite une nouvelle piqûre lors du repas sanguin les gamétocytes sont ingérés par l'anophèle et le cycle reprend de nouveau [18,19].

3.3.3. Prévention de la transmission

Elle correspond à l'ensemble des moyens utilisés pour éviter la transmission du *Plasmodium* par l'anophèle femelle.

Elle se repose essentiellement sur la lutte anti vectorielle pouvant être individuelle et/ou collective.

- **Lutte individuelle :** Elle consiste à éviter tout contact physique avec le vecteur.
 - Utilisation des moustiquaires imprégnées d'insecticide à longue durée d'action (MILDA) ;
 - Port des habits longs amples de couleur claire et application des répulsifs sur les parties non couvertes ;
 - Utiliser des répulsifs sur toutes les parties non couvertes à base de DEET (N,N-Diéthyl-m-toluamide) à 30% ou 50%, Icaridine à 30%, IR3535 Citriodiol.
 - Dormir dans des chambres climatisées (18 à 20) °C.
 - La fermeture des fenêtres et des portes par des moustiquaires et dormir sous moustiquaire imprégnée ;

La transmission non vectorielle est possible notamment par la voie transplacentaire, la transfusion sanguine et la greffe des organes ainsi que par la coupure ou exposition accidentelle au sang des professionnels de santé [20].

- **Lutte collective :**
 - La chimio prévention saisonnière du paludisme (CPS) est une méthode qui consiste à un traitement de masse avec la sulfadoxine-pyriméthamine et amodiaquine (SP-AQ) ainsi qu'avec la dihydroartémisinine-pipéraquline (DHA-PQ) de façon mensuel pendant la période à forte transmission chez les enfants[21].
 - Assainissement et destruction des gîtes larvaires, usage des poissons larvivores, pulvérisation intra domiciliaire (PID), dans les quartiers et environnement.

- **Vaccination :**

En fin 2021, l'OMS recommande le vaccin RTS,S qui est le plus avancé à base de protéines recombinantes qui stimule le système immunitaire qui, une fois le *P. falciparum* pénètre la circulation sanguine l'empêche d'infecter le foie [7,22–24].

D'autres vaccins sont en phase d'essai notamment :

- R21
- TBVs (Transmission Blocking Vaccine)
- ARNm (Protecteur immunitaire)

3.4. Diagnostic

3.4.1. Clinique

3.4.1.1. Accès palustre simple :

La période d'incubation varie d'une espèce à une autre :

- 9 à 14 jours pour *P. falciparum*
- 12 à 17 jours pour *P. vivax*
- 16 à 18 jours voir plus pour *P. ovale*
- Environ 1 mois (18 à 40) ou plus d'une année pour *P. malariae*

La manifestation clinique commence pendant la phase érythrocytaire ; cette manifestation est liée à la réaction de l'hôte au parasite entraînant la destruction des hématies chez l'hôte causant une anémie. L'hémoglobine libérée par l'hémolyse engendre une surcharge rénale et est partiellement transformée en bilirubine dans le foie. L'excès est éliminé dans les urines causant une hémoglobinurie. La libération simultanée et massive des mérozoïtes et la libération des hémozoïnes qui est une substance pyrogène ainsi que la production des cytokines pro-inflammatoires (IL-1, IL-2, IL-6 et TNF- α) sont responsables de la fièvre, un accès classique du paludisme débute par une sensation de malaise, frissons (39°C), une fièvre (40-41°C) et une sueur caractérisée par une baisse assez rapide de la température corporelle, un pouls rapide et faible, une polyurie, des céphalées, une myalgie, des nausées et/ou vomissement et une fatigue extrême. L'examen montre parfois une hépatomégalie et une splénomégalie [25].

3.4.1.2. Accès palustre grave :

Le paludisme est considéré comme grave lorsque il répond à 10 critères définis par l'OMS mais ce classement n'est pas commun à certaines catégories de personnes notamment, les enfants de moins de 10 ans, les femmes enceintes, le voyageur non immun ou ayant perdu son immunité après plus d'une année de séjour dans une zone non endémique [25,26].

Tableau 1 : Signes cliniques de gravité regroupés. [25,26]

Observation Clinique	Observation biologique
-Trouble de conscience ou coma aréactif	- Anémie normocytaire sévère Hématocrite<15-20% Hb<5-6g/dl
-Convulsions généralisées	- Insuffisance rénale Diurèse<400ml, créatinine sérique >265mmol/l
-Collapsus cardio-vasculaire	- Hypoglycémie Glycémie<2.2mmol/l
-Détresse respiratoire aigue	- Acidose métabolique Ph artériel<7.25 ou bicarbonate <15mmol/l
-Hyperthermie Température corporelle 39-41°C	- Hémoglobinurie macroscopique
-Toute altération de la conscience infra-comateux, tout syndrome neuropsychique aigu	-Hyperparasitémie >2%/100 000µl chez un sujet non immun ou > 5%/250 000µl en zone de transmission forte
-Ictère clinique	-Hyperlactacidémie (acide lactique>5mmol/l)
- Hypothermie Température corporelle < 36°C	
-Femme enceinte	
- Sujet porteur d'une maladie chronique	
-Sujet non immun	

Tableau 2 : Signes du paludisme chez les enfants de moins de 5ans. [27]

Enfants (0-5) ans
Pâleur
Accélération de Pouls
Anémie
Hypotension
Neurologique : Fièvre, Trouble de conscience, Convulsion, Coma de stade 2
Splénomégalie
Hépatomégalie
Gêne respiratoire : Toux, dyspnée, Tachycardie,
Myalgie
Nausée
Affaiblissement
Diarrhée
Frisson-Chaleur-Sueur

3.4.2. Diagnostic biologique

3.4.2.1. Diagnostic parasitologique

L'examen direct après coloration

➤ **Microscopie :**

a) Principe

- Goutte épaisse : Elle consiste à concentrer une grande quantité de parasites sur une petite surface ; la lecture est réalisée après coloration. Elle permet la numération parasitaire.
- Frottis mince : Cet examen permet la recherche de parasites dans un étalement en couche mince d'une goutte de sang après coloration. Il permet d'identifier l'espèce plasmodiale.

b) Avantages de la microscopie

C'est une technique basée sur la mise en évidence des parasites. C'est la technique de référence ayant un seuil de détection bas, elle permet l'identification des espèces et la quantification des parasites par μl [28].

c) Limites de la microscopie

La nécessité d'une infrastructure, du courant électrique, la formation d'un agent pour sa réalisation, et le temps de réalisation un peu long sont les inconvénients rendant ce test difficile [6].

A. Goutte épaisse

C'est une technique de référence de micro-concentration qui consiste à examiner quelque μl de sang après hémolyse des globules rouges et coloration selon le Giemsa. Bien qu'elle soit une excellente technique de diagnostic, sa réalisation est délicate et nécessite le courant électrique et un bon lecteur. La détermination d'espèce n'est pas toujours possible.[27]

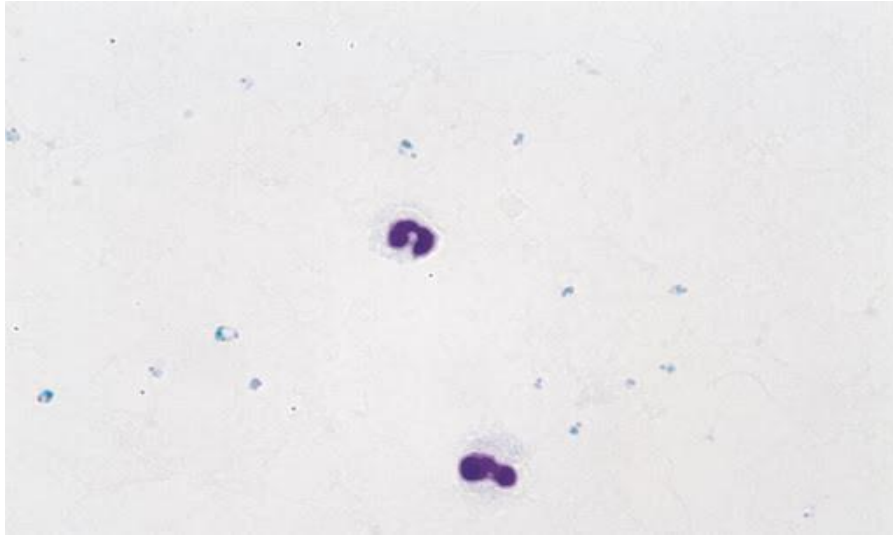


Figure 4 : Vue microscopique des trophozoïdes de *Plasmodium falciparum* (Cours campus.cerimes.fr)

B. Frottis mince

Il se réalise en étalant quelque μl de sang sur une lame. Après séchage la lame est colorée selon la méthode de May-Grünwald-Giemsa (MGG) ou par du Giemsa après fixation à l'alcool. Les parasites sont colorés en rouge (noyau) et en bleu (cytoplasme) sont retrouvés à l'intérieur des globules rouges, sa particularité est qu'il y a pas d'hémolyse dans son cas contrairement à la méthode précédente [27]. Elle permet non seulement l'identification de l'espèce mais également du stade parasitaire.

❖ Particularités des espèces plasmodiales

Les cinq espèces du *Plasmodium* on chacune une particularité bien distincte qui les différencies les unes aux autres [27,29] ;

➤ *Plasmodium falciparum*

Le *Plasmodium falciparum* est l'espèce la plus rependue et la plus dangereuse causant le paludisme. A lui seul, il représente 80% des infections humaines et 90% des décès dans le monde. Il est responsable des fièvres tierce maligne. Son cycle exo-érythrocytaire dure de 7 à 15 jours. La durée de la schizogonie érythrocytaire dure généralement de 48 et se passe très généralement dans les capillaires viscéraux et principalement encéphalique. Sa longévité est de 2 mois en moyenne mais peut aller jusqu'à 1 an et cette infection n'est pas à l'origine de rechute à distance et sa principale complication est le neuropaludisme.

Ses critères de diagnostic sont :

- le trophozoïte jeune a un petit anneau délicat, petit grain de chromatine relié à la bande de cytoplasme. La chromatine peut être double ou triple avant une forme accolée et on peut en retrouver plus d'un dans les globules rouges ;
- le trophozoïte en croissance a des anneaux semblables aux jeunes trophozoïtes mais plus gros et le cytoplasme forme un anneau complet et la chromatine se retrouve souvent dans la vacuole ;
- le trophozoïte âgé occupe parfois les 2/3 de la cellule, le pigment noir est bien visible ;
- Il peut infecter toutes les cellules ;
- la présence des schizontes est rarement observés, leurs présences indiquent une infection sévère, possèdent 8 à 24 noyaux ;
- les gamétocytes sont en forme de banane ou de faucilles, d'où le nom de cette espèce *P. falciparum* ;
- ils apparaissent dans le sang entre 7 et 12 jours.

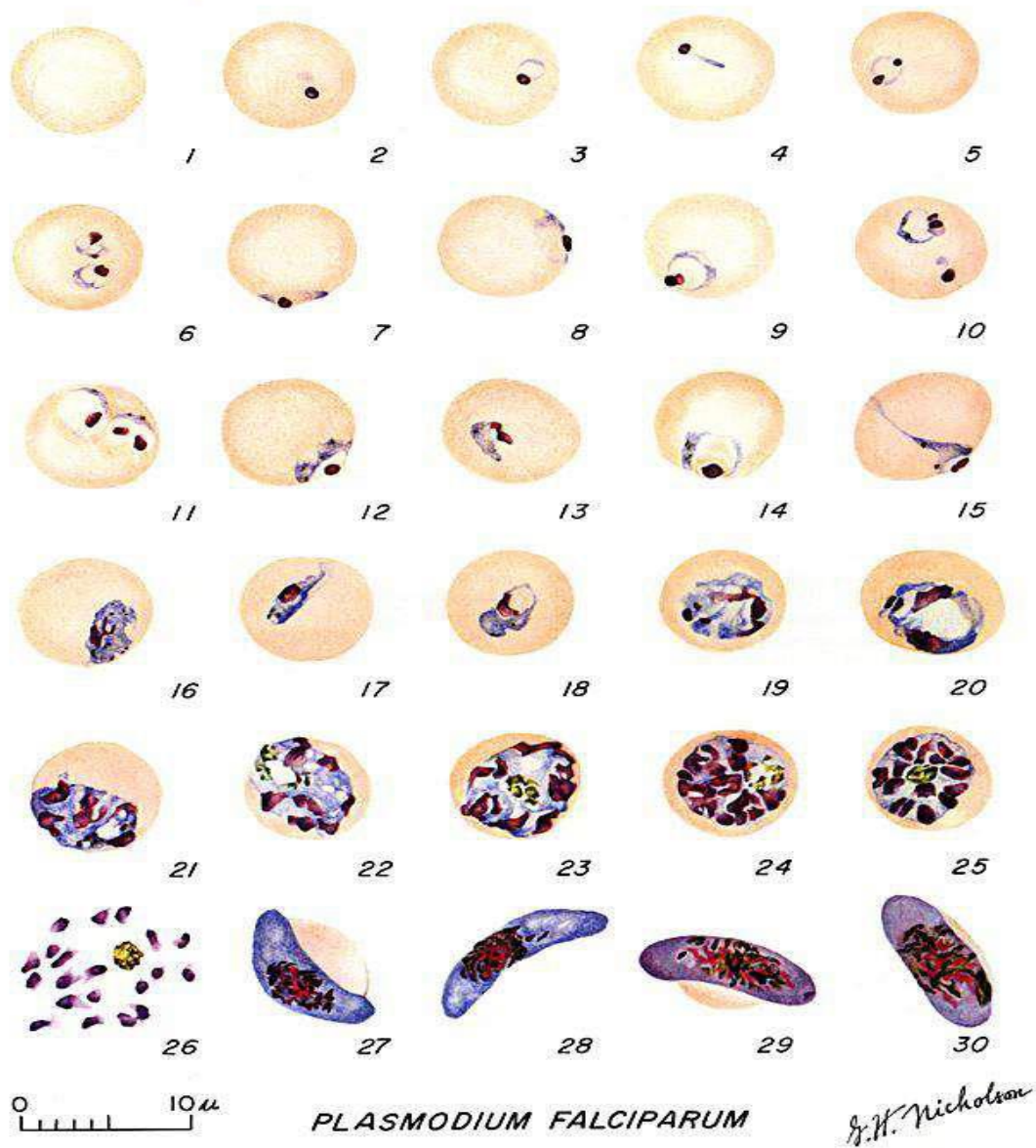


Figure 5 : Différents stades du *Plasmodium falciparum*

1 : Hématie normale ; **2 à 18** : Trophozoïtes dont **2 à 10** : Trophozoïtes au stade anneau ou bague ; **19 à 26** : Schizontes dont **26** : Schizonte rompu ; **27 et 28** : Macrogamètes mûrs (gamète femelle) ; **29 et 30** : Microgamètes mûrs (gamète mâle)[30]

➤ *Plasmodium vivax*

Le *Plasmodium vivax* est une espèce moins répandue, il est responsable du paludisme bénin, il est à l'origine d'une fièvre tierce avec possibilité de rechute à distance.

Son cycle exo-érythrocytaire dure de 10 à 20 jours et peut atteindre 9 à 10 mois ; sa schizogonie érythrocytaire dure 48 h et sa longue longévité de 3-4 ans est due aux hypnozoïtes.

Ses critères de diagnostic sont :

- les jeunes trophozoïtes ont un petit noyau avec une vacuole claire et 1 ou 2 grains de chromatine et peuvent contenir de faibles granulations ;
- les trophozoïtes en croissance sont nombreux avec une forme amiboïde avec une grosse vacuole, il contient une importante quantité de granulation ;
- le trophozoïte mature occupe presque toute la cellule ; la granulation et les pigments noirs sont évidents ;
- rarement ils infectent plus de 2% des cellules ;
- les schizontes ont 16 à 24 noyaux et ont un pigment brun doré présent en amas ;
- les gamétocytes sont plus ou moins ovoïdes et remplissent le globule rouge ;
- son apparition dans le sang est entre 3 à 5 jours ;

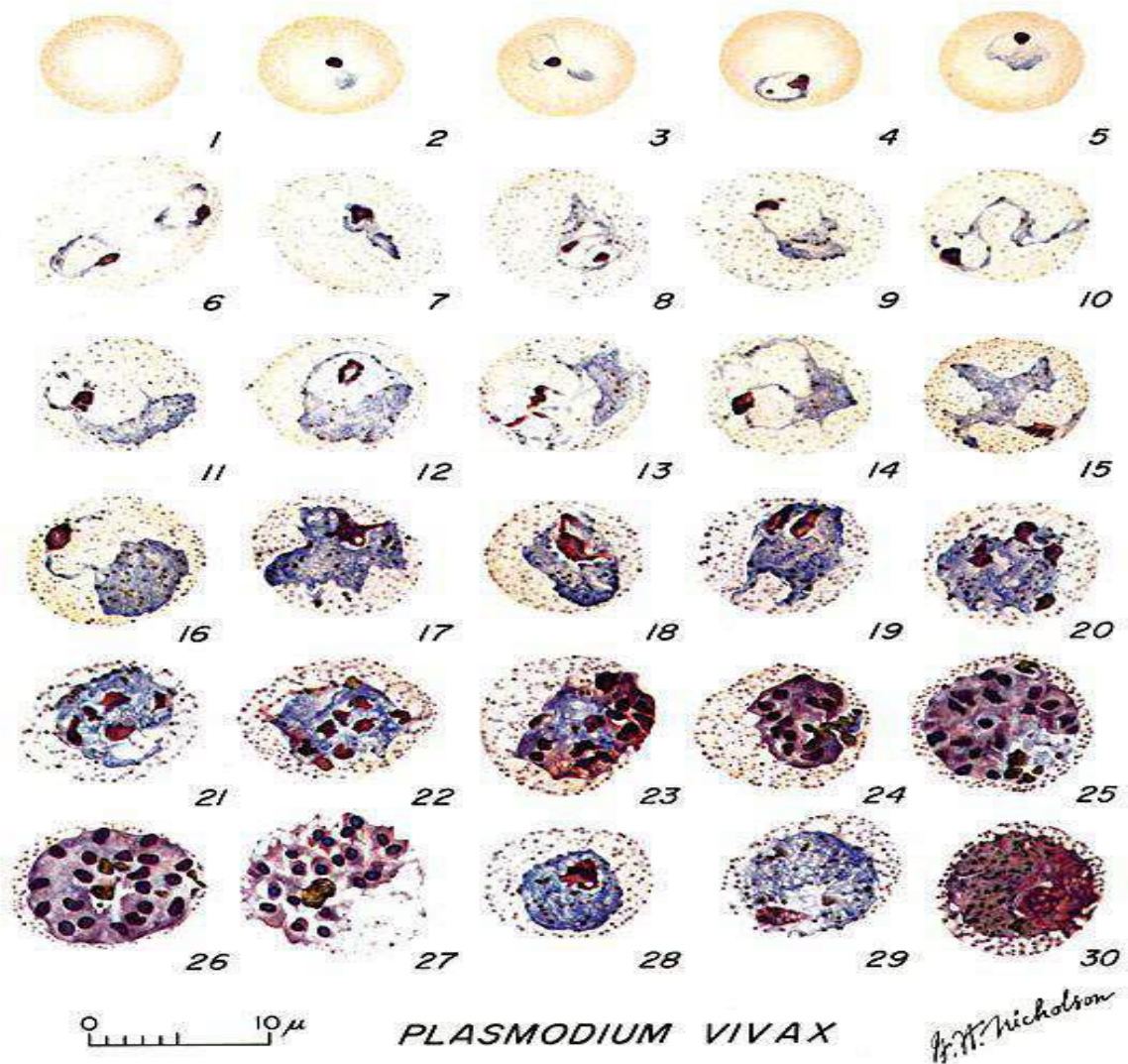


Figure 6 : Différents stades du *Plasmodium vivax*

1 : Hématie normale ; **2 à 6** : Jeunes trophozoïtes ; **7 à 18** : Trophozoïtes ; **19 à 27** : Schizontes ; **28 et 29** : Macrogamètes (gamète femelle) ; **30** : Microgamète (gamète mâle)[30].

➤ *Plasmodium ovale*

Pouvant créer de confusion avec le *Plasmodium vivax* il est également à l'origine du paludisme bénin avec possibilité de rechute ; il est rencontré majoritairement en Afrique occidentale et centrale mais un peu partout. Son cycle érythrocytaire dure de 15 jours à plusieurs mois, Sa schizogonie érythrocytaire dure 48 heures et sa longue longévité est d'environ 5ans est due aux hypnozoïtes.

Ses critères de diagnostic sont :

- il a une forme ronde
- rarement il infecte plus de 2% des cellules et les cellules jeunes sont les cibles ;
- les trophozoïtes jeunes ont des petits anneaux réguliers avec une vacuole claire ;
- les trophozoïtes en croissance ont une forme régulière et les cellules infectées sont nettement agrandies avec une importante granulation.
- les trophozoïtes matures sont proches de ceux de *P. vivax* lorsqu'ils sont jeunes, sont larges et grossiers, avec une pigmentation prononcée ;
- les schizontes sont plus gros que ceux de *P. malaria* et ils n'occupent pas plus de 2/3 de la cellule agrandie avec une pigmentation brun doré et de nombreuse granulation.
- le gamétocyte, de forme arrondie, présente un pigment malarique.
- il apparait dans le sang entre 12 et 24 jours.

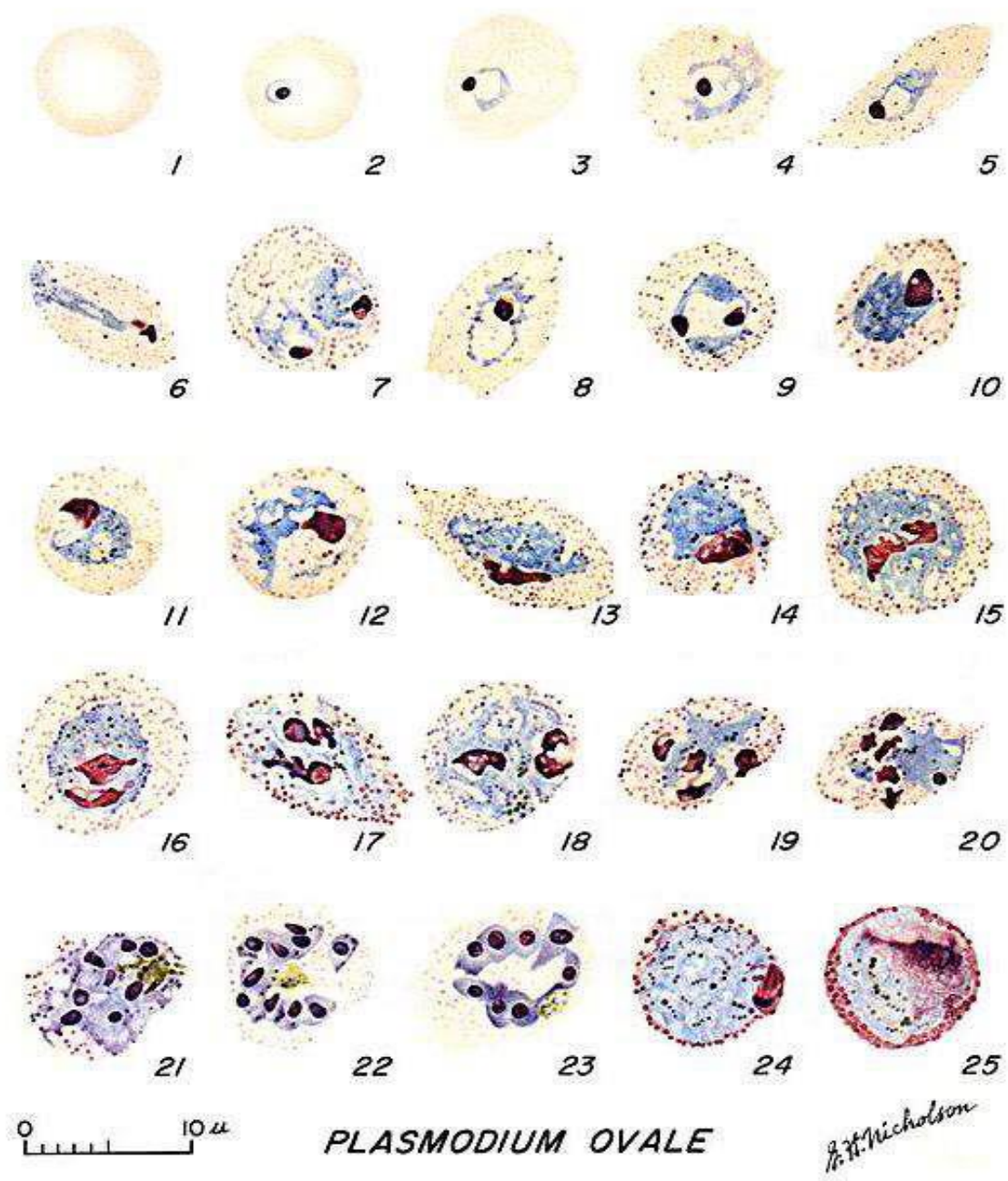


Figure 7 : Les différents stades du *Plasmodium ovale*

1 : Hématie normale ; **2 à 5** : Jeunes trophozoïtes ; **6 à 15** : Trophozoïtes ; **16 à 23** : Schizontes ; **24** : Macrogamètes (gamète femelle) ; **25** : Microgamète (gamète mâle) [30].

➤ *Plasmodium malaria*

Il est rencontré en Afrique, en Asie et en Amérique du Sud, il est la cause de la fièvre quarte à recrudescence tardive. Son cycle exo-érythrocytaire dure entre 18 et 40 jours et sa shizogonie érythrocytaire dure 72 heures. Avec une longévité pouvant aller de 10 à 20 ans causer à la suite de la réactivation de la forme latentes et sa complication est la néphropathie quartane pouvant causer une insuffisance rénale grave.

Ses critères de diagnostic sont :

- les cellules (hématies) infectées sont plus âgées et rarement plus de 2% des cellules sont infectées ;
- les trophozoïtes jeunes sont constitués de petits anneaux compacts présentant ou non une petite vacuole avec une chromatine plus grosse et forme une bande occasionnelle ;
- les formes en bandes longitudinales caractérisent cette espèce, et on parle de trophozoïte en bande équatoriale ;
- les trophozoïtes en croissance ont une forme régulière sauf pour les formes en bande et le pigment peut être retrouvé dans le cytoplasme ;
- les trophozoïtes âgés occupent presque toute la cellule avec une petite vacuole et une granulation rarement visible ;
- schizontes occupent souvent toute la cellule et présente de 8-12 mérozoïtes ;
- il apparait dans le sang entre 7-14 jours.

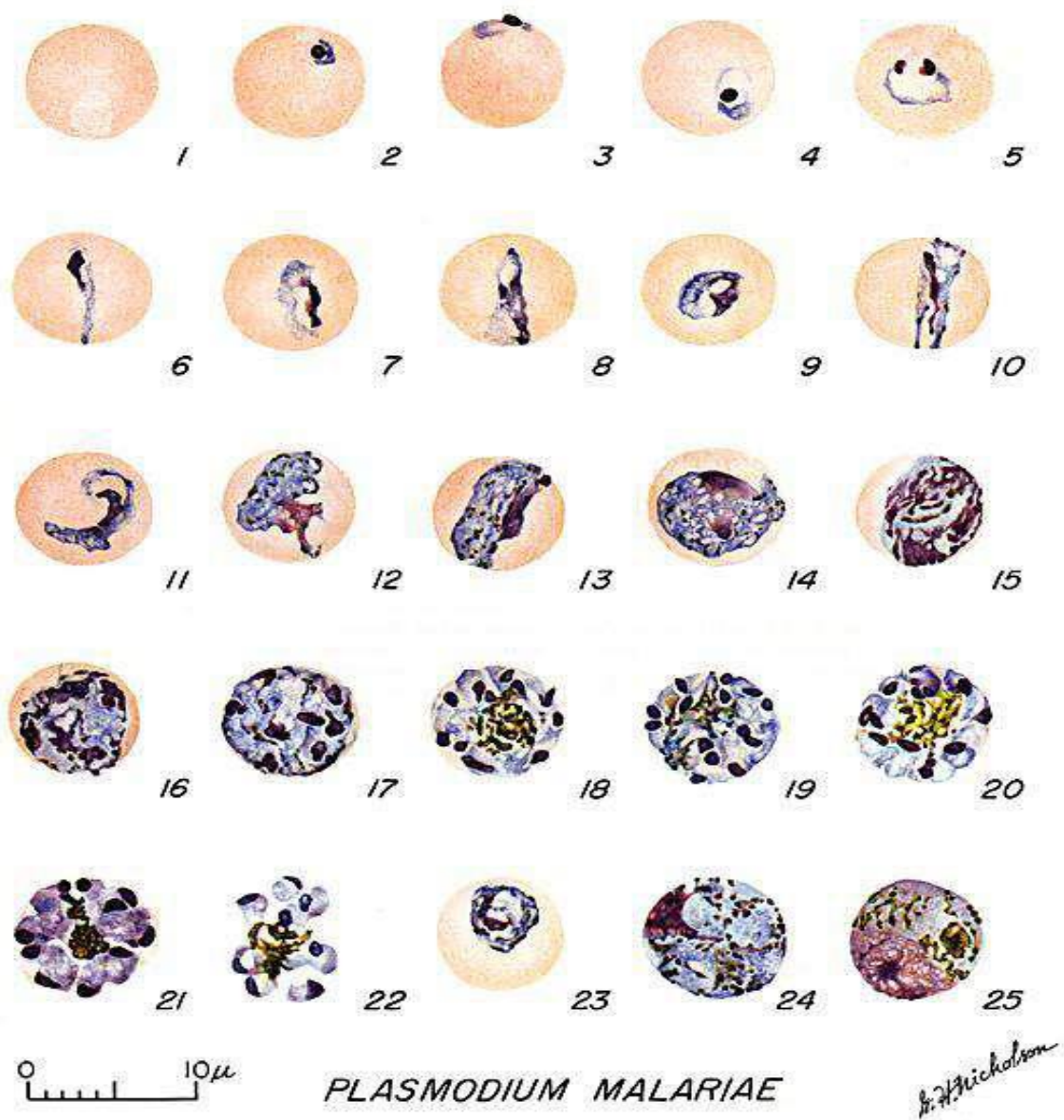


Figure 8 : Les différents stades du *Plasmodium malariae*

1 : Hématie normale ; **2 à 5** : Jeunes trophozoïtes (bagues) ; **6 à 13** : Trophozoïtes ; **14 à 22** : Schizontes ; **23** : Gamétocyte en développement ; **24** : Macrogamète (gamète femelle) ; **25** : Microgamète (gamète mâle)[30].

➤ *Plasmodium knowlesi*

Sa découverte remonte en 1932 décrit pour la première fois en 1932 par Knowles, il est le 5^{ème} agent responsable du paludisme. A l'origine c'est un parasite des singes d'Asie du genre *Presbytis* et *Macaca* transmis à l'homme par l'anophèles de forêt (*An. Leucosphyrus* et *An. latens* et *An. dirus*), il piquent notamment les singes mais peuvent également piquer l'homme [30]. De part sa morphologie il est presque impossible de le différencié du *P. malariae* et pour sa différenciation le PCR est utilisé.

Contrairement aux autres espèces sa fièvre est quotidienne, il n'y'a pas de rechute à distance dans son cas. Les sujets Duffy (-) sont protégés vis-à-vis de *Plasmodium knowlesi* car leurs érythrocytes sont dépourvus de DARC (Duffy Antigen Receptor of Chemokine), récepteurs naturels à des agents du paludisme : *P. vivax* et *P. knowlesi*.

Ses critères de diagnostic sont :

- les hématies parasitées sont de forme normale, arrondie, pas élargie, pas déformée ;
- tous les stades parasitaires sont rencontrés dans le sang périphérique ;
- le polyparasitisme est possible (2 ou 3 parasites dans l'érythrocyte) ;
- le trophozoïte jeune en forme d'anneau possède un cytoplasme dense avec 1 ou 2 voire 3 noyaux à l'intérieur ;
- le trophozoïte âgé possède un cytoplasme dense, légèrement amiboïde et irrégulier, forme en bande avec un pigment brun-foncé ;
- le schizonte mur occupe tout l'érythrocyte avec 10 à 16 noyaux dispersés ou regroupés en grappes de raisin et des pigments dispersés ou réunis en une seule masse
- le gamétocyte arrondi, compact, occupe toute l'hématie avec des pigments dispersés ou réunis en une seule masse.

En pratique, le diagnostic microscopique conventionnel de *P. knowlesi* reste très limité. Les jeunes trophozoïtes sont morphologiquement similaires à ceux de *P. falciparum*, et tous les autres stades de développement sont semblables à ceux de *P. malariae* ; ce qui a occasionné des erreurs diagnostiques notamment dans les régions endémiques où coexistent *P. knowlesi* et les autres espèces [29,31].

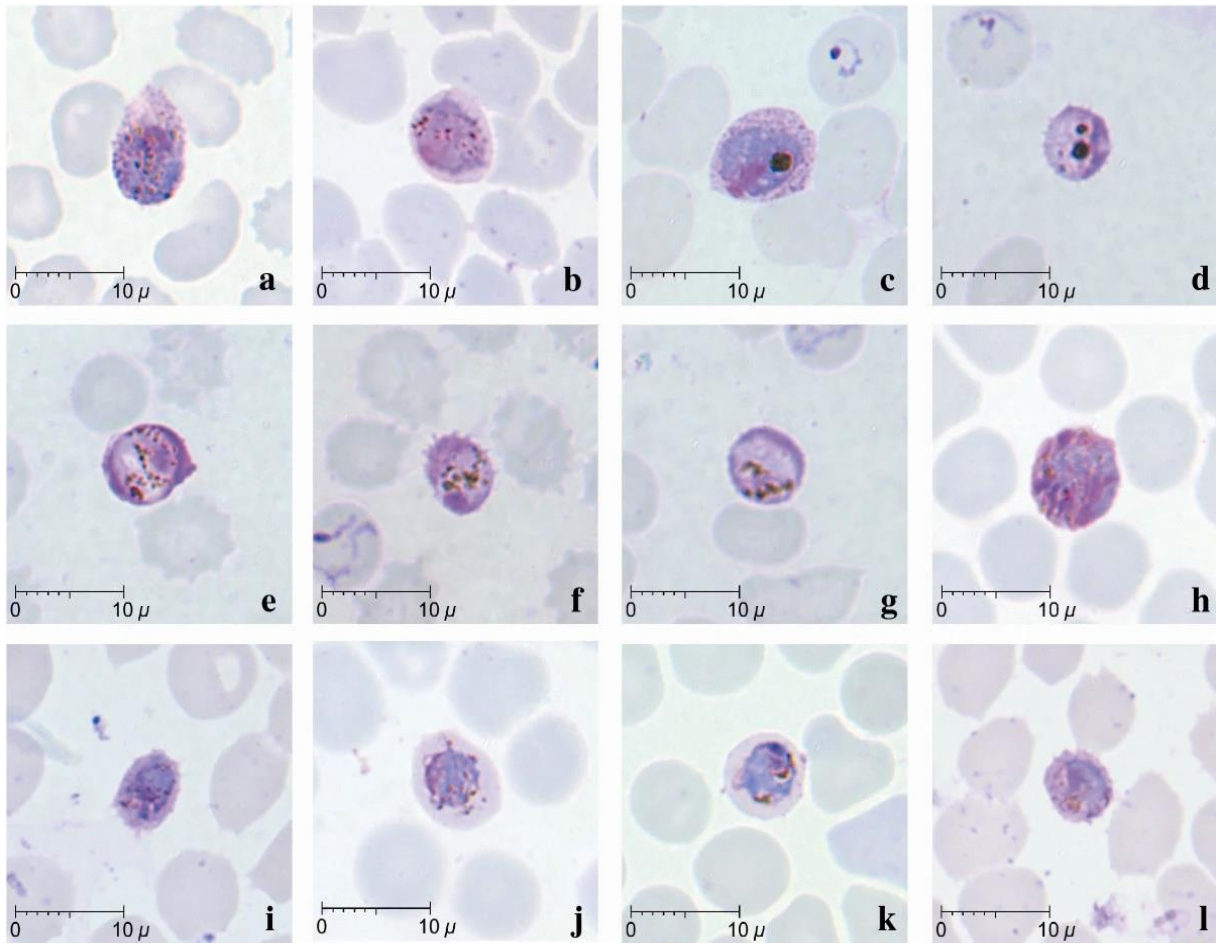


Figure 9 : Différents stades du *Plasmodium knowlesi* [32]

3.4.2.2. Le diagnostic moléculaire

Test de Diagnostic Rapide (TDR) paludisme :

C'est la méthode de diagnostic du paludisme la plus utilisée, la plus simple et la plus répandue dans le monde.

a) Principe :

Le TDR est une technique immunochromatographique basée sur la détection des protéines de l'antigène du *Plasmodium* avec un flux latéral qui migre sur une membrane nitrocellulose. Si l'antigène recherché est présent, il se fixe sur l'anticorps spécifique marqué à l'or colloïdal présent sur une bandelette en formant un complexe Ac-Ag [33].

b) Avantages du TDR :

C'est une technique moins onéreuse, ayant une sensibilité de 100 parasites/ μ l soit (0,002%) pour le *Plasmodium falciparum* [29], un usage et interprétation facile, il ne nécessite ni d'infrastructure ni de courant électrique. Son kit contient tous les éléments indispensables pour sa réalisation et un délai d'exécution court.[27].

c) Limites du TDR :

Le TDR est limité par son aspect qualitatif, son incapacité d'identification d'espèce, sa sensibilité inférieure à celle de la microscopie qui a un seuil de détection de 5 à 20 parasites/ μ l. Le TDR peut donner un faux positif en raison de la présence de l'antigène pouvant rester dans le sang jusqu'à deux semaines après le traitement ou encore par la présence des facteurs rhumatoïdes. Un faux négatif peut être dû à la mutation des gènes codants pour HRP2 (histidine rich protein 2) ou ne codant pas pour l'antigène cible [28]. Des facteurs immunologiques et infectieux tels qu'hépatite C, la schistosomose, la leishmaniose, la toxoplasmose, la dengue, la leishmaniose, la maladie de Chagas seraient à l'origine des cas de faux positifs[34].

Contrairement au TDR à base de HRP2, le seuil de détection de TDR à PLDH (*Plasmodium* lactate déshydrogénase) est de 200 parasites/ μ l d'où son utilisation dans des forte parasitémie est plus apte avec une sensibilité de 93,2 pour *P. falciparum* [35].

d) Anticorps de détection :

Les anticorps sont des protéines de la famille des immunoglobulines produites par les vertébrés afin pour se défendre contre des antigènes externes (virus, bactéries, toxines...). Ils peuvent être caractérisé par leur capacité à se lier à un antigène d'une part et à une cellule spécialisée du système immunitaire d'autre part. Il est constitué de deux parties. Une partie constante Fc ou sera fixé le colorant de marquage et deux parties variables Fab qui se lie aux épitopes des antigènes. Lorsque l'organisme est attaqué par les exogènes, les IgM sont les premières classes anticorps monoclonaux produits, ayant une durée de vie de quelque jours, ils sont substitués par des IgG excrétés en grande quantité par les fluides corporels (le Sang, lymphes et exsudats) [36].

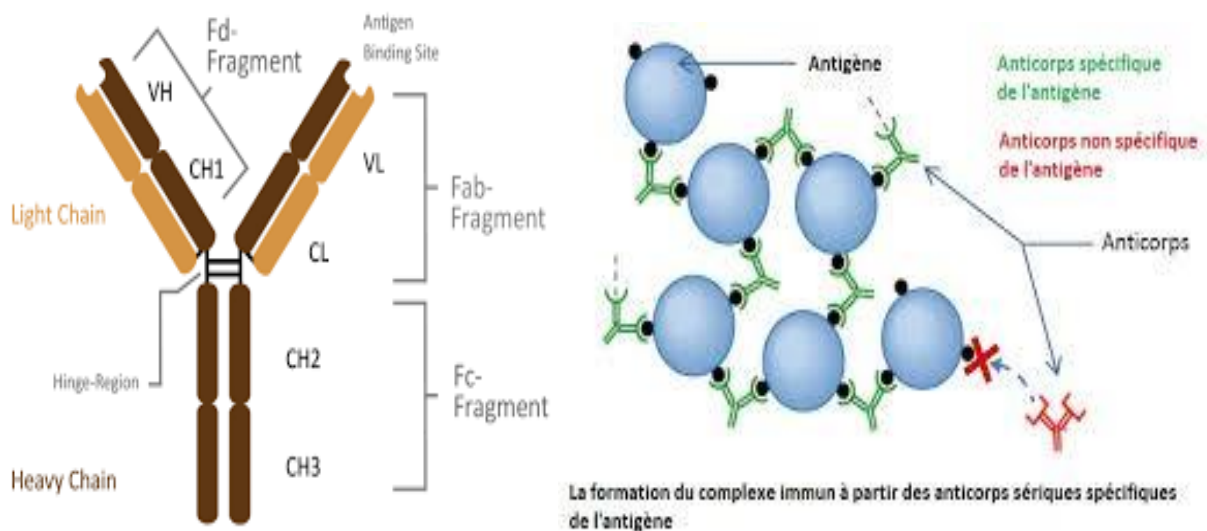


Figure 10 : Figure d'un anticorps et un complexe Ac-Ag production d'anticorps.[37]

e) Les Antigènes détectés :

Pour les TDR se trouvant sur le marché, il existe trois types d'antigènes :

- HRP II détectant uniquement le *Plasmodium falciparum*
- pLDH-Pf spécifique au *Plasmodium falciparum*, pLDH-Pv spécifique au *Plasmodium vivax* et pLDH pan spécifique à toutes les espèces du *Plasmodium*
- Aldolase (pan spécifique)

- Les antigènes HRP II :

Le HRP II est une protéine plasmodiale hydrosoluble apparaissant à la surface des hématies parasitées par le *Pf*. Il est sécrété courant le cycle érythrocytaire avec un pic lors de la libération

des schizontes [38]. Seules les formes asexuées de *Pf* expriment cette glycoprotéine. Après la synthèse, HRP II est transporté du cytoplasme des érythrocytes à la surface sans que les hématies ne changent de forme.

Principalement cinq protéines du paludisme ont été identifiées seules ou en association avec les cytosquelettes à la surface des érythrocytes infectées : HRP I et HRP II ; Epithelial Membrane Protein (EMP) I, II et III. HRP II est riche en alanine située dans de nombreux compartiments cellulaires dont le cytoplasme du *Plasmodium*.

Le séquençage des gènes de l'ADN codant pour HRP II a donné une teneur de 34% pour l'histidine (H), 10% pour l'alanine (A) et 10% pour l'acide aspartique (D) [29]. Le HRP II présente plusieurs séquences répétitives contiguës de tripeptides AHH et hexapeptides AHHAAD [39], bien que sa structure est connue, le rôle de HRP II n'est pas connu ; sa connaissance se résume à son emploi pour le diagnostic du paludisme par détection de l'antigène HRP II pour le *P. falciparum*. D'un poids moléculaire compris entre 69 000 et 72 000 Da, le HRP II est détectable une quinzaine de jours après la disparition du parasite du sang circulant.

1. Constitution d'un test TDR

a) Marqueur

L'or colloïdal est le marqueur situé dans le fragment constant Fc et il est utilisé à cause de son coefficient d'extinction, de sa petite taille par conséquent peut être utilisé en grande quantité sur la ligne de test, ce qui lui procure une forte facilité à être déceler même si les signaux sont fiables [39].

b) Tampon échantillon

Il sert à moduler la variabilité chimique d'un échantillon brut en le traitant et le libère correctement. Pour cela il est imprégné d'une solution tampon, d'un surfactant, d'un agent bloquant et additif (lysant) et d'un desséchant.

c) Membrane de réaction

Elle est composée de deux lignes (contrôle et test) facilitant la formation du complexe Ac-Ag formant ainsi des bandes visibles lorsque l'analyte est présent ou absent pour le contrôle négatif. Il est constitué de nitrocellulose capable de fixer par absorption irréversible les anticorps de captures grâce à son hydrophobicité. Support et boîtier le support est situé sous les différents tampons, aide à les maintenir en place et assure la rigidité du dispositif. Le boîtier est en plastique et permet le maintien de la bandelette dans de bonne condition afin d'éviter toutes contagion avec le milieu extérieur [40].

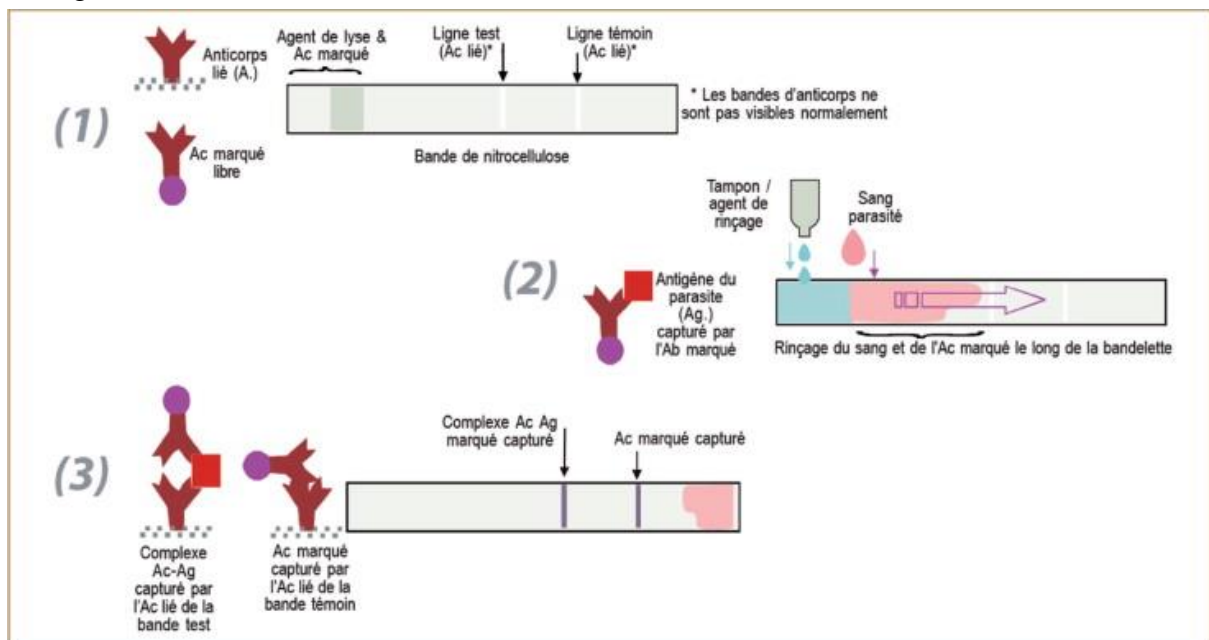


Figure 11 : Principe de détection de l'antigène (OMS 2008)

2. Protocol de réalisation d'un test de diagnostic Rapide[40]

- ✓ Toujours porter des gants.



- ✓ Déballer la cassette de sa couverture après vérification de la date de péremption.



- ✓ Identifier le patient : nom ou code sur le cadre plastique du test ainsi que la date, l'heure et minute exacte.



- ✓ Nettoyer le bout du 3^{ème} ou 4^{-ème} doigt avec un tampon inhibé d'alcool et déposé de côté pour une seconde réutilisation après la pique.



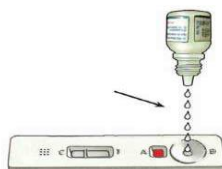
- ✓ Piquer le coté pulpe du doigt et jeter la lancette dans la boîte à aiguilles.



- ✓ Retourner le bras en tournant la paume de main vers le sol.
- ✓ Presser le doigt jusqu'à la formation d'une goutte de sang.
- ✓ Utiliser la lance pour prélever une bonne quantité (suffisante et pas excessif).



- ✓ Déposer la goutte de sang jusqu'à ce que la lance atteigne le fond de l'alvéole sang de la cassette.
- ✓ Ajouter le nombre de goutte indiqué par le fabricant dans la case alvéole tampon et attendre environ 15 min.



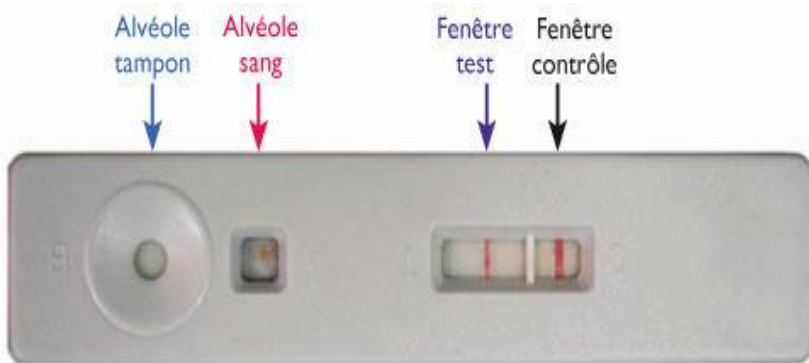


Figure 12 : Cassette d'un TDR

A l'absence de l'antigène recherché, seul dans la fenêtre contrôle apparaît une bande, s'il n'apparaît aucune bande dans l'espace contrôle, ou si uniquement la fenêtre test apparaît colorée, le test est à reprendre.



3. La nouvelle méthode de détection

Bien que cela ne fasse pas l'objet de notre étude, face aux nombreuses limites des deux premiers tests, la PCR (Réaction de Polymérisation en Chaîne) demeure la nouvelle technique à la pointe pour une détection précise, précoce avec une sensibilité très élevée pour une parasitémie relativement faible, d'ordre de 1.27 UI/ μ l pour Malaria PCR kit 1.0 [41].

Amplification génique par PCR

C'est une méthode moléculaire qui permet la duplication d'une manière exponentielle une séquence d'acides nucléiques (ADN ou ARN) connue à partir d'une faible quantité en utilisant les amorces spécifiques [42]. Elle a révolutionné le diagnostic et de nos jours elle est incontournable et très importante pour :

- ✓ Détection des faibles taux de parasitémie
- ✓ Identification des espèces plasmodiales
- ✓ Suivi post-thérapeutique
- ✓ Etude des gènes impliqués dans la résistance aux antipaludiques.

Son principe est basé sur un grand nombre de répétition de cycle en moyenne 20 à 40 cycles. Chaque cycle comporte trois phases de température dans un thermocycleur sous l'action de l'enzyme Taq polymérase, chacune des phases est caractérisées par une réaction chimique particulière permettant ainsi d'obtenir une quantité élevée de copie d'acide nucléique.

Les étapes de PCR :

- La dénaturation
- Hybridation
- Elongation

Les différents types de PCR :

- ✓ La PCR multiplexe
- ✓ La PCR nichée ou Nested PCR ou emboîtée
- ✓ La PCR asymétrique
- ✓ La PCR quantitative ou Qpcr ou PCR en temps réel ou real time PCR
- ✓ RT-PCR

Les définitions des termes et expressions utilisés

- Incidence du paludisme : C'est le nombre de nouveau cas de maladie dans une population et pendant une période donnée.
- Vrais positifs (**VP**) : nombre d'individus déclarés positifs par le test et qui le sont effectivement.
- Faux positifs (**FP**) : nombre d'individus déclarés positifs par le test mais qui sont en réalité négatifs.
- Vrais négatifs (**VN**) : nombre d'individus déclarés négatifs par le test et qui le sont effectivement.
- Faux négatifs (**FN**) : nombre d'individus détectés négatifs par le test mais qui sont en réalité positifs.
- Valeur Prédictive Positive (**VPP**) : C'est la proportion des cas effectivement positifs parmi les positifs détectés par le test.
- Valeur Prédictive Négative (**VPN**) : C'est la proportion des cas effectivement négatifs parmi les négatifs détectés par le test.
- Sensibilité d'un test : Capacité du test à pouvoir détecter les sujets atteints de la maladie dans une population d'étude.
- Spécificité d'un test : Capacité du test à détecter des sujets indemnes de la maladie dans une population d'étude.
- Coefficient Kappa : Est un test statistique utilisé pour mesurer la fiabilité inter-évaluateur
- Saison des pluies : C'est la période comprise entre le mois de juin à novembre
- Saison sèche : C'est la période comprise entre le mois de décembre à mai

4. MATERIEL ET METHODES

4.1. Cadre d'étude

Les données de cette étude ont été colligées dans le cadre d'un projet de recherche multidisciplinaire sur les mesures de lutte contre le paludisme mené dans le Centre International d'Excellence en Recherche sur le paludisme au Mali (ICER-Mali) en partenariat avec les instituts nationaux de santé (NIAID/NIH) des Etats Unis d'Amérique. Le projet s'est déroulé à Dangassa entre 2013 et 2016. Le projet de recherche dénommée ICEMR avait pour but d'étudier la variabilité des stratégies actuelles de lutte contre paludisme dans différents contextes épidémiologiques au Mali.

4.2. Site d'étude

4.2.1. Situation géographique

Le village de Dangassa (8° 21 W et 12° 15 N), est situé dans le district sanitaire de Ouélésébougou dans la région de Koulikoro. Il est situé à 82 km Sud-Ouest de Bamako sur la route nationale 7 (RN7). Jadis Dangassa s'appelait Tintinibilé de son nom bambara (plateau rouge). Il aurait été fondé par Mansa Dan CAMARA vers le 13^{ème} siècle. Le fondateur s'installa sur un plateau où poussait une herbe appelée Ngassan en Malinké, quand son frère Kamadjan lui rendit visite et dit « Nous viendrons nous installer à Dan ka Ngassanfiera » signifiant (le plateau où pousse l'herbe Ngassan). Dangassa compte 11 000 habitants composés majoritairement de malinkés mais on y retrouve également des Bambara, Peuhl, des Somono et Dogon (source Cscm de Dangassa). Borné à l'Est par le village de Balala, au Nord-Est par le village de Makono à l'Ouest par le village de Niagadina, au Nord par le fleuve Niger et au Sud par le village de Faraba.

4.2.2. Climat et végétation

Le climat est de type soudano-guinéen avec deux grandes saisons : une saison pluvieuse de juin à octobre et une saison sèche de décembre à mai. Les vents dominants sont la mousson (en saison de pluies) et le harmattan (en saison sèche). La végétation est faite de savane arborée qui est menacée de disparition par les coupes abusives du bois et les feux de brousse. Parmi les plantes rencontrées, on y trouve le karité, le tamarinier, *Parkia biglobosa* (nééré), le caïlcédrat, le kundiè, *Combretum micrathum* (ɲɔlɔbɛ)...

Les maisons sont en terre battue avec toiture en tôle à celles-ci s'ajoute de plus les maisons en ciment toiture en dalle. Les principaux gîtes larvaires sont les trous de banco et les flaques d'eau. La température maximale se situe aux environs 40°C au mois de mai et la minimale est

voisine de 18°C de décembre-janvier. La température moyenne annuelle est autour de 29°C constituant un idéal environnement pour la prolifération des anophèles.

La faune entomologique est constituée d'insectes dont les culex et les anophèles. *Anopheles gambiae* sensu lato est le vecteur majeur du paludisme rencontré dans le village.

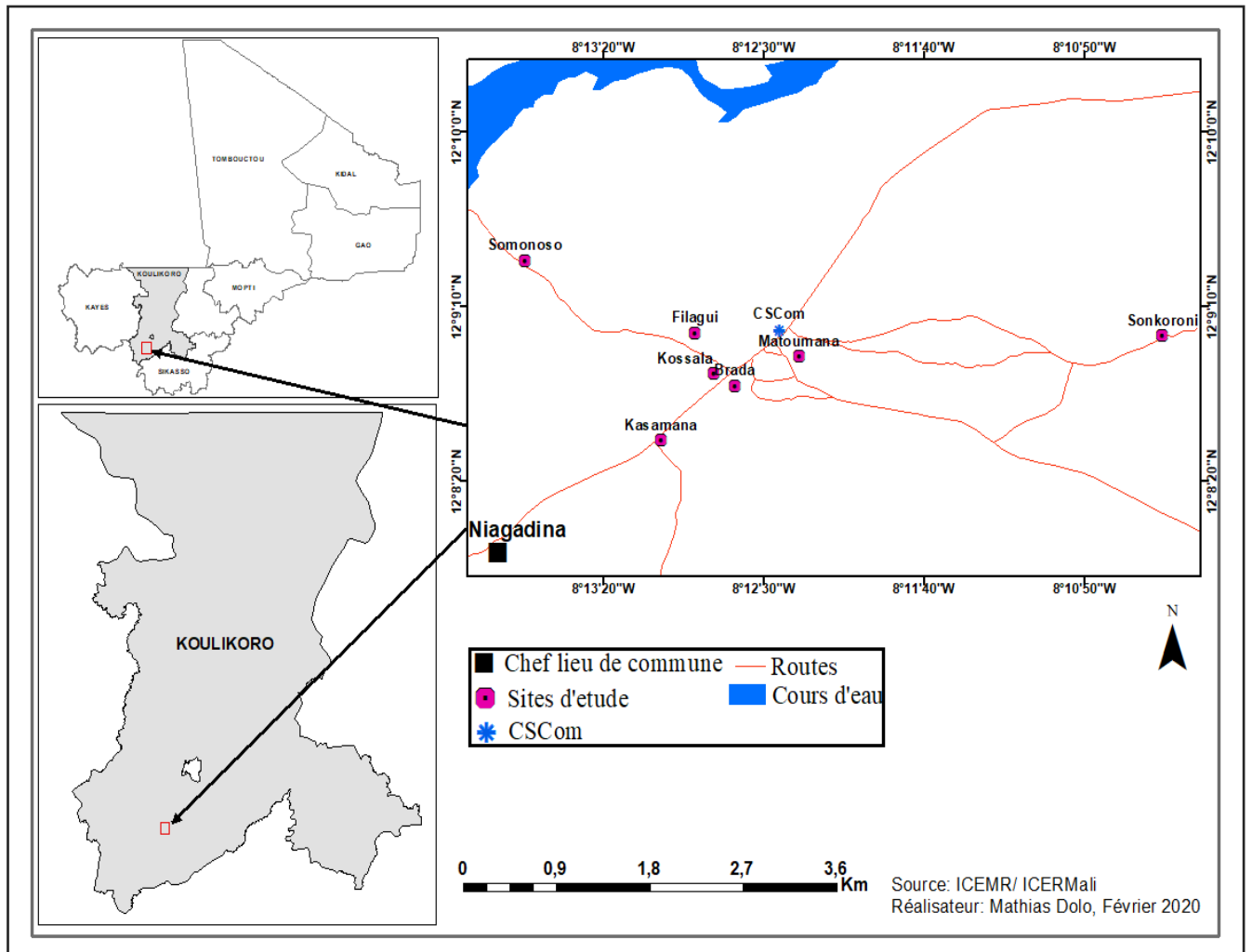


Figure 13 : Carte de la présentation de Dangassa (ICEMR/ICERMali)

4.2.3. Infrastructures sociaux sanitaires

Les services socio-sanitaires se composent d'une représentation de l'office de la haute vallée du Niger (OHVN) qui apporte un appui technique aux paysans dans la production cotonnière et céréalière, le village possède également une station radio (Dangassa kukan), une école fondamentale et une médersa. Dangassa dispose un Centre de Santé Communautaire (CSCoM) composé comme suit : Un dispensaire, une maternité et un magasin.

- Le dispensaire est composé de 05 salles (une salle de consultation, une salle de soins, une salle de repos et un dépôt de médicament dénomination commune internationale (DCI) et un dortoir pour le médecin.
- La maternité est composée d'une salle de consultation prénatale (CPN), d'une salle de vaccination et d'accueil, une salle d'accouchement une salle de repos et une salle de garde.

Le personnel du centre se compose d'une infirmière, un agent vaccinateur, une sage-femme, une matrone, un aide-soignant, et un gérant du dépôt pharmaceutique. Ceux-là s'ajoutent à l'équipe de recherche de ICEMR (International Centers of Excellence for Malaria Research) composé de médecin et de pharmacien épaulant le personnel dans leurs tâches quotidiennes. Plusieurs ONG telles que Plan Mali et Blue start 3AG appuient le village dans leur domaine de compétence.

4.2.4. Activités économiques et culturelles

Les principales activités économiques sont l'agriculture, l'élevage, la pêche et l'artisanat. Les principales spéculations sont : le mil, le maïs, le sorgho, le haricot, l'arachide, tomate, piment papaye, orange. L'élevage est basé sur volailles, les caprins, les ovins, les bovins constituant des sources d'économie. On retrouve également des équidés (ânes, chevaux) utilisés comme des animaux de trait.

L'artisanat est utilisé par les forgerons mais à côté nous avons l'orpaillage constituant une source importante de revenu, de nos jours il constitue un obstacle car beaucoup de jeunes ont tendance à délaisser la culture vivrière et commerciale à son profit détériorant l'environnement et la santé de la population. La pêche est naturellement pratiquée par les Bozo et les Somono. La foire est hebdomadaire et se tient chaque mercredi constituant un cadre d'échange et de commerce. L'Islam est la religion majoritaire mais à côté nous avons le christianisme et les autres religions du pays.

4.3. Types d'étude et Période

Il s'agissait d'une analyse secondaire des données de l'étude de cohorte dynamique du projet ICEMR dans le village de Dangassa. Les données étaient collectées lors du suivi passif de cas de paludisme dans les centres de santé dudit village entre 2013 et 2016.

4.4. La population d'étude et échantillons utilisés pour l'analyse

Une cohorte dynamique composée de 1400 enfants et adultes ont été suivie de manière passive de 2013 à 2016 pour détecter et traiter les cas de paludisme. Cette cohorte a été construite en sélectionnant de façon aléatoire les enfants sur la liste du recensement du village, avec l'hypothèse d'un nombre moyen de 6 personnes par ménage.

4.4.1. Critères d'inclusion

Était inclus dans l'analyse tout cas de suspicion de paludisme chez les membres de la cohorte disposant d'un résultat de Test de Diagnostic Rapide du paludisme et de GE ;

4.4.2. Critères de non-inclusion

Ne sont pas inclus toutes personnes n'ayant pas les données socio-démographiques et biologiques complètes dans la base de données.

NB : Les TDR utilisés au cours de cette étude étaient le SD Bioline-Malaria-Ag *Pf*® et le SD Bioline-Malaria-Ag *Pf/Pan*®

4.5. Collecte et analyse des données

Les données ont été collectées à l'aide de l'application REDCap (Research Electronic Data Capture), ce système a été mis en place et géré par l'équipe de gestion des données du Centre Universitaire de la Recherche Clinique (UCRC). Dans le cadre de ce travail, nous avons utilisé les logiciels microsoft Excel 2010, SPSS version 22, GraphPad Prism version 9.5.0 (<https://www.graphpad.com/>) et le logiciel R version 4.2.2 pour l'analyse. Un test de sensibilité, spécificité avec un intervalle de confiance de 95% et du coefficient Kappa a été réalisé pour estimer la discordance entre les deux méthodes de diagnostic. Les différentes proportions ont été comparées en utilisant le test Chi2 de Pearson ou le test exact de Fisher avec un seuil de signification de 5%.

Quelques formules d'application

$$\text{Sensibilité} = \text{VP}/(\text{VP}+\text{FN})$$

$$\text{Spécificité} = \text{VN}/(\text{VN}+\text{FP})$$

$$\text{VPP} = \text{VP}/(\text{VP}+\text{FP}) \text{ ou } \text{VPP} = \text{Sensibilité} \times \text{Prévalence} / [(\text{Sensibilité} \times \text{Prévalence} + (1 - \text{Spécificité}) (1 - \text{Prévalence}))]$$

$$\text{VPN} = \text{VN}/(\text{VN}+\text{FN})$$

$$\text{Odds ratio} = \text{VP} \times \text{VN} / (\text{FP} \times \text{FN})$$

$$\text{Kappa (K)} = \text{Po} - \text{Pe} / 1 - \text{Pe}$$

Po : Proportion d'accord observé

Pe : Proportion d'accord attendu par le hasard

▪ Interprétation du coefficient Kappa

L'accord en fonction du coefficient Kappa :

- < 0,0 Très mauvais
- 0,0 – 0,20 Mauvais
- 0,21 – 0,60 Modéré
- 0,61 – 0,80 Bon
- > 0,81 Excellent

4.6. Considérations éthiques

Le protocole du projet ICEMR a été approuvé par le comité d'éthique de l'Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB) numéro d'approbation (2011/77/FMPOS). Les activités de recherche menées ont été faites selon les bonnes pratiques de recherche clinique et selon les bonnes pratiques de laboratoire telles qu'énoncées dans les conventions internationales (déclaration d'Helsinki, Conférence internationale d'harmonisation des bonnes pratiques de recherche biomédicale).

4.7. Déroulement de l'étude

Le projet de cette étude ICEMER a reçu le consentement communautaire des chefferies locales du village ainsi que le consentement éclairé des participants ont été obtenus avant leur inclusion dans l'étude. Le respect de l'anonymat à partir des fiches d'enquête de chaque patient a été assuré.

5. RESULTATS

Au total 1400 participants ont été enrôlés dans l'étude, et suivis de manière longitudinale pour la détection passive des cas entre 2013 et 2016.

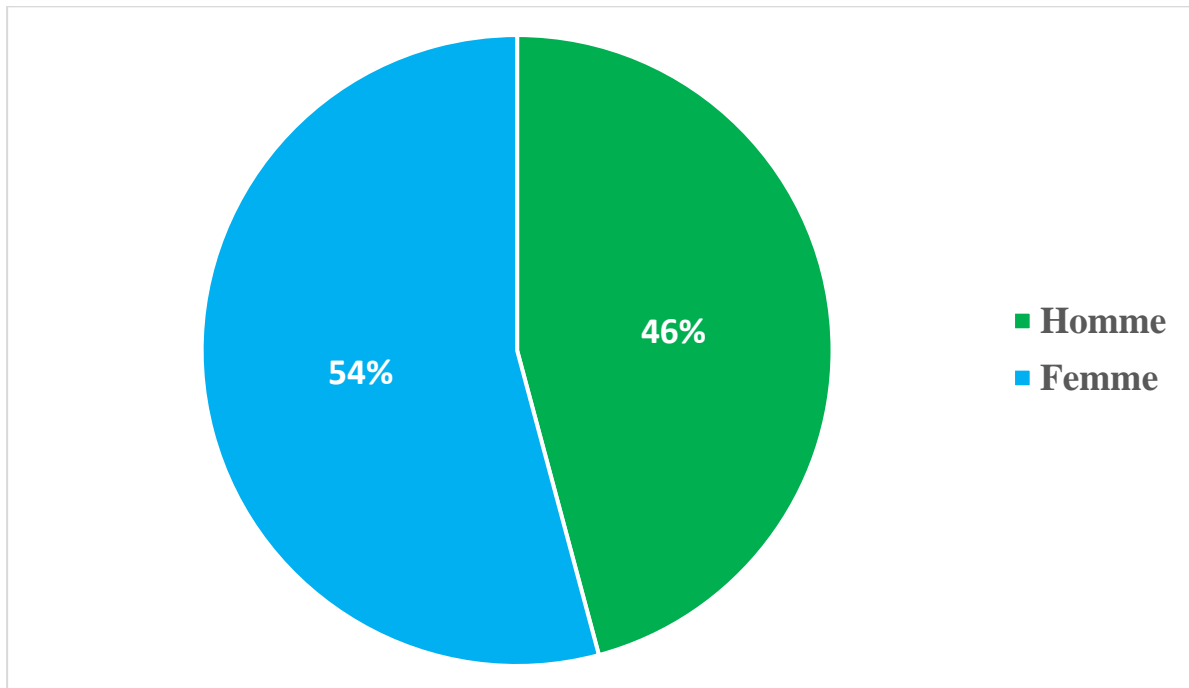


Figure 14 : Répartition de la cohorte en fonction du sexe.

Le sexe ratio dans la cohorte était de 1,16 en faveur des femmes soit **54%** (n=758) contre 46% (n= 642).

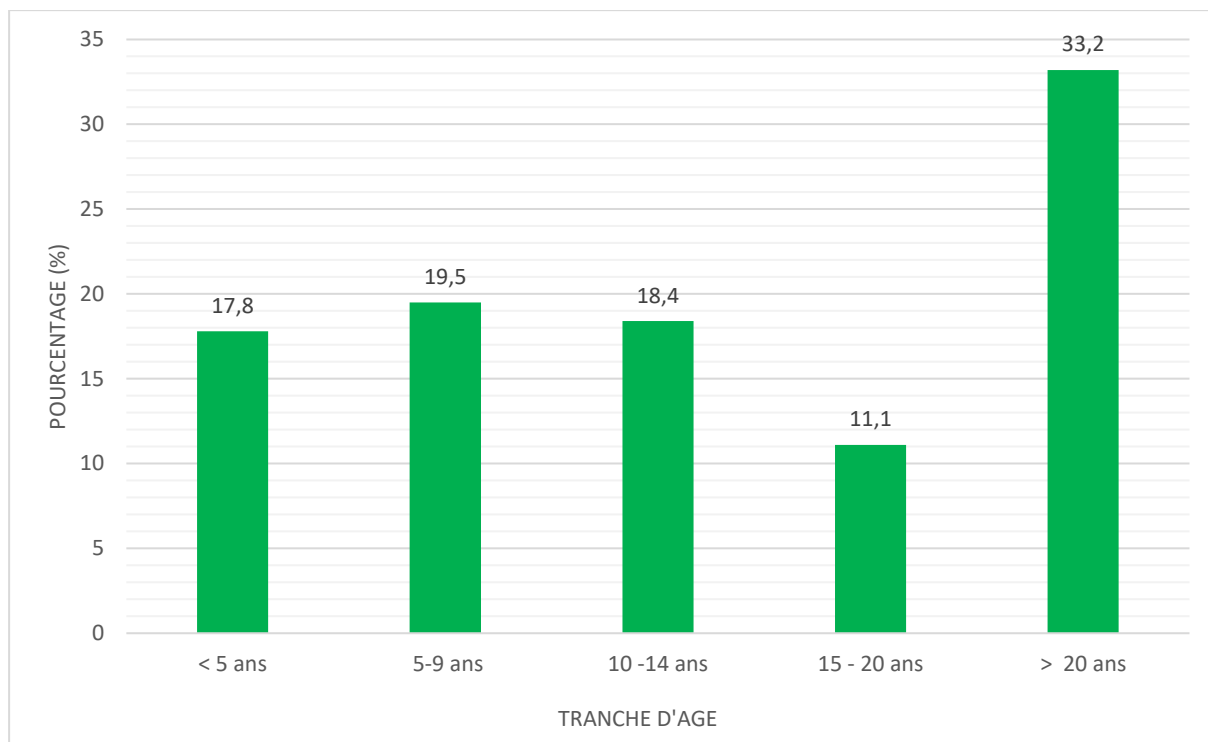


Figure 15 : Répartition de la cohorte en fonction de la tranche d'âge.

Les participants étaient âgés de 3 mois à 86 ans, avec une moyenne de $14,6 \pm 17,6$. La tranche d'âge la plus représentée était les plus de 20 ans (33,2%) suivie de celle de 5-9ans (19,5%). La classe de 15-20 ans étaient la moins représentée soit 11,1% de cohorte.

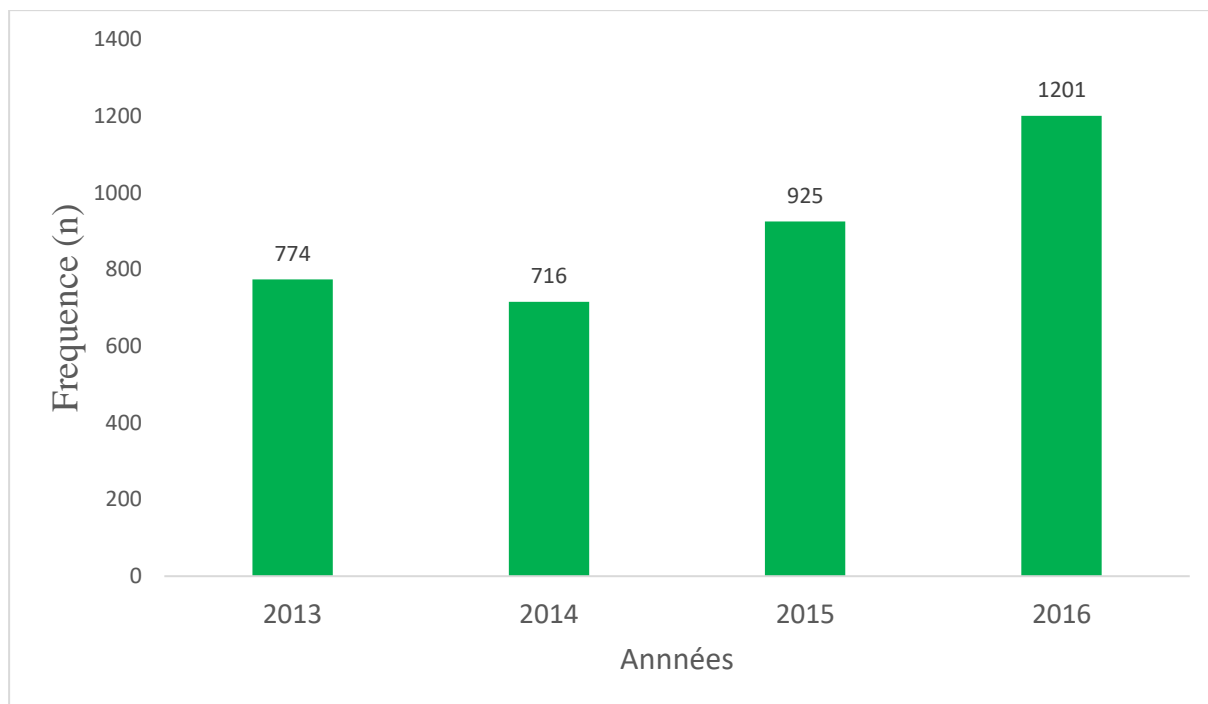


Figure 16 : Fréquence du nombre de visite en fonction des années (jan 2013 – déc. 2016).

Au total, 3616 visites ont été effectuées au cours de la période d'étude. Le plus faible taux de visite a été observé en 2014 (716 visites) et le plus grand nombre de visite a été observé en 2016 (1201 visites).

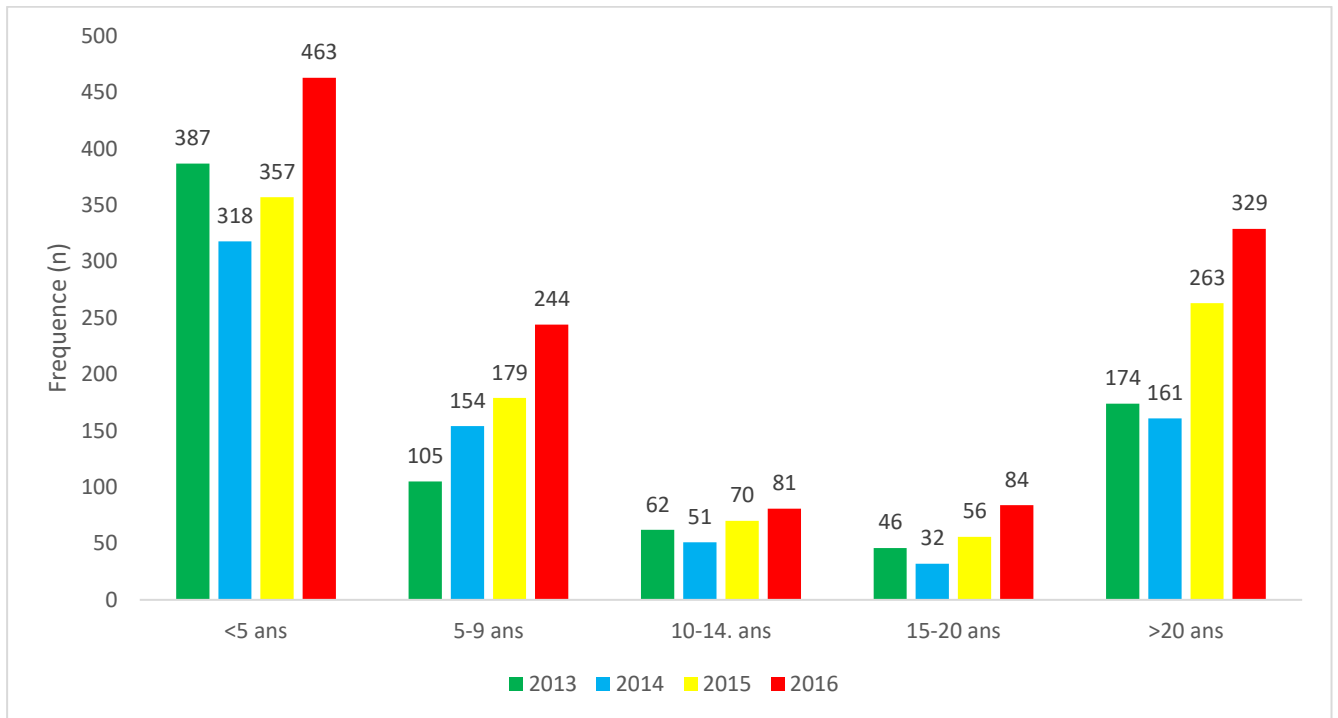


Figure 17 : Fréquence des visites par tranche d'âge et par année.

Durant les quatre (04) années d'étude, les moins de 5ans étaient les plus consultés suivi des plus de 20 ans. La classe d'âge de 10-20ans était celle qui était le moins consultée.

Tableau 3 : Résultats des TDR chez les participants de la cohorte venus en consultation entre 2013 et 2016.

Résultat TDR	Effectifs	Pourcentage (%)
HRP2		
Négatif	1197	33,1
Positif	2419	66,9
Total	3616	100

Dans la cohorte d'étude, 66,9% étaient positifs au TDR (SD Bioline-Malaria-Ag Pf®).

Tableau 4: Résultats de la microscopie chez les participants de la cohorte venus en consultation entre 2013 et 2016.

Résultat GE	Effectifs	Pourcentage (%)
Négatif	1265	34,98
Positif	2351	65,02
Total	3616	100

Ce tableau montre les résultats de la microscopie (GE) effectués chez les patients de la cohorte ; 65,02 % étaient positifs.

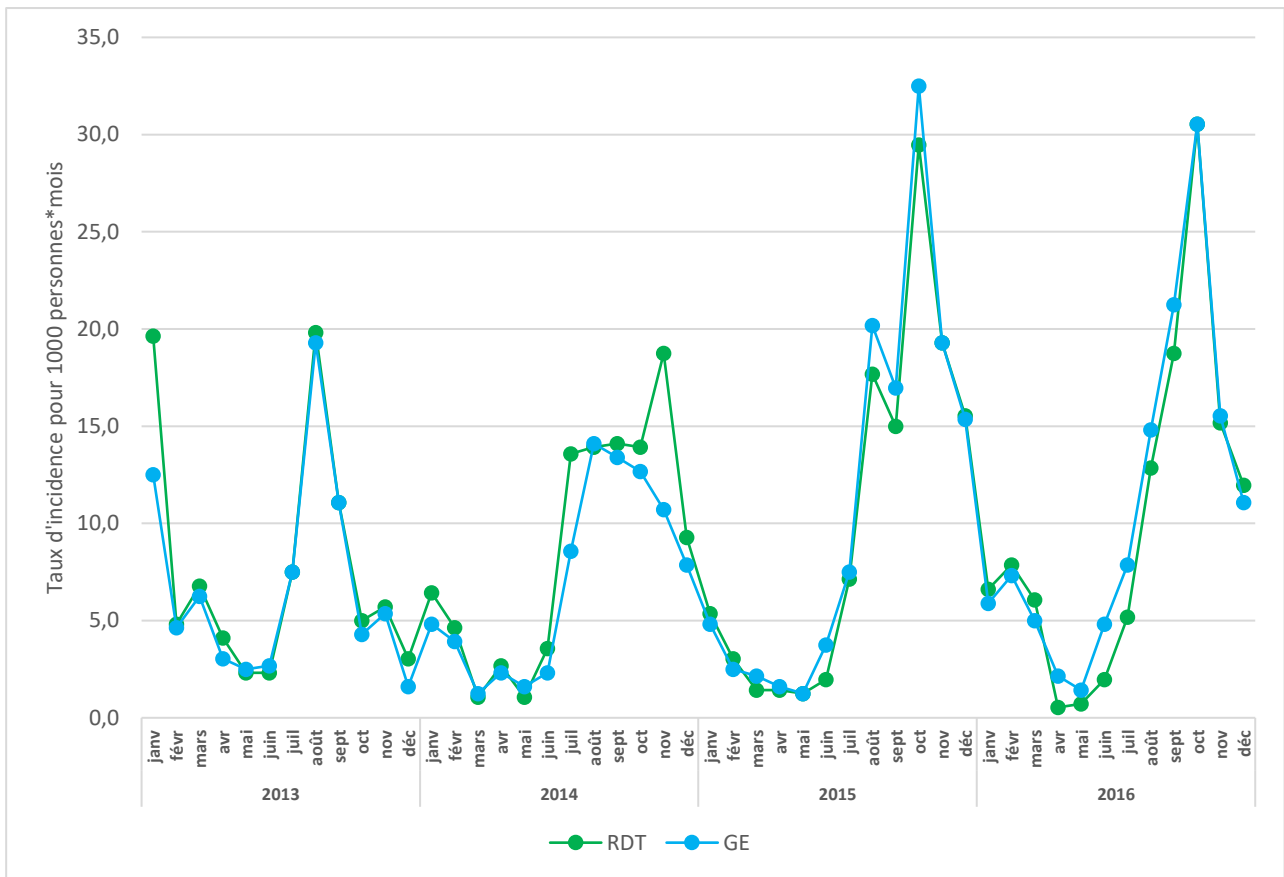


Figure 18 : Courbe de tendance de l'estimation du taux d'incidence pour 1000 personnes*mois à partir des résultats de TDR et de la microscopie.

Globalement nous observons que l'estimation de l'incidence par le TDR et la microscopie suivait une tendance presque similaire. Durant la période de suivi des élévations de l'incidence ont été observées entre le mois d'août et de novembre, avec des pics allant de 20% personnes*mois en 2013 à 30% personnes*mois en 2016 avec les deux tests.

Tableau 5: Performances globale du TDR par rapport aux résultats de la microscopie entre 2013 et 2016

TDR/GE	Positif	Négatif	Total	Performance% IC []
Positif	1953	466	2419	Sn : 83,1 [81,5-84,5] Sp : 63,2 [60,5-65,8]
Négatif	398	799	1197	VPP : 80,7 [79,1-82,3] VPN : 66,8 [64-69,4]
Total	2351	1265	3616	KAPPA : 46,8

La comparaison entre la microscopie (test de référence) et le TDR nous a donné 398 faux négatifs et 466 faux positifs.

La sensibilité et la spécificité étaient respectivement 83,1% et 63,2%, la valeur prédictive positive (VPP) et la valeur prédictive négative (VPN) étaient de 80,7% et 66,8% et le coefficient de Kappa était de 46.8%.

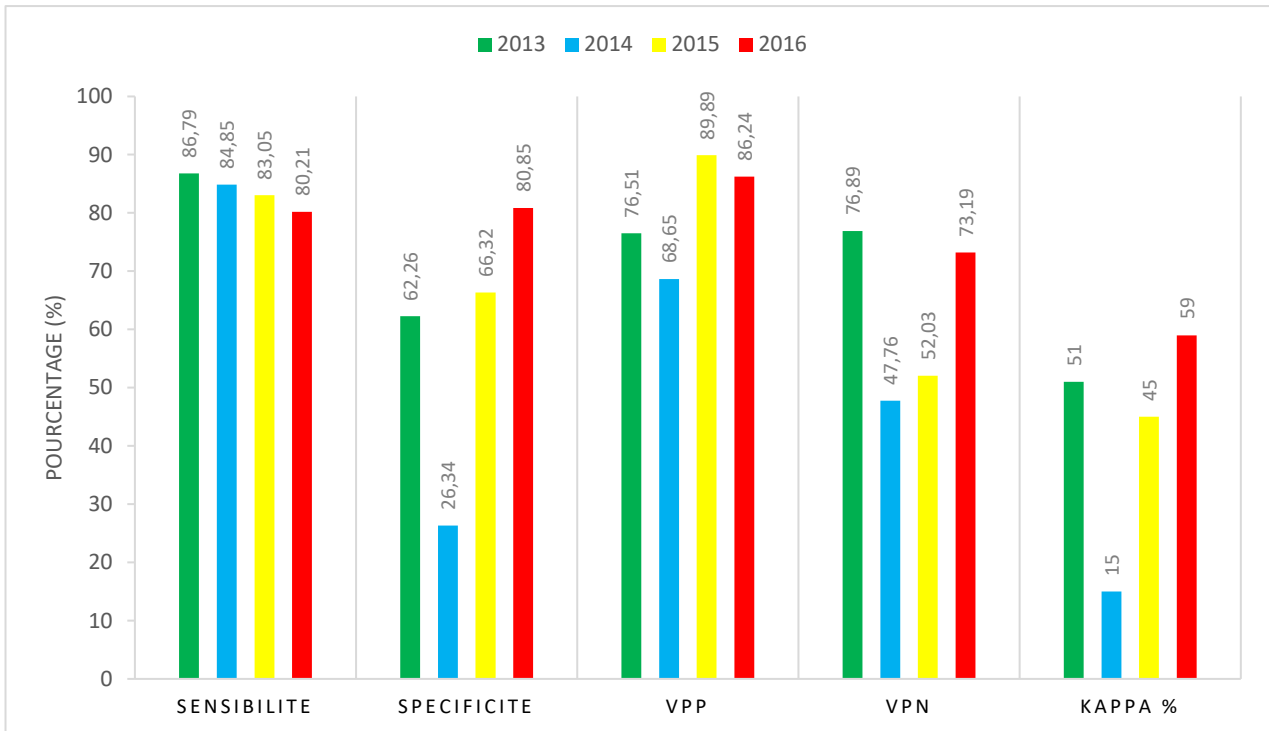


Figure 19 : Variation annuelle de la performance du TDR/microscopie

Au cours des quatre années d'étude, la sensibilité a diminué progressivement de 86,79% en 2013 à 80,21% en 2016. Les meilleures valeurs de la spécificité ont été observées en 2013, 2015 et 2016, en revanche elle était plus faible en 2014 (26,34%). Les VPP maximales ont été observées en 2013, 2015 et 2016 en revanche, elle était plus faible 68,65% en 2014. Les VPN les plus élevées ont été observées en 2013 et 2016 (Figure 20) et les plus faibles en 2014 et 2015. Les meilleures valeurs de Kappa ont été observées pendant la première et la dernière année de l'étude. La plus faible valeur Kappa était observée en 2014.

Tableau 6 : Sensibilité du TDR par rapport à la densité parasitaire chez les participants de la cohorte venus en consultation diagnostiqués positifs au paludisme.

Parasitemie	TDR HRP		Total n (%)	P
	Négatif	Positif		
	n (%)	n (%)		
Faible (< 1 000 p/ul)*	271 (38,6)	430 (61,4)	701	-
Modéré (1000 à 4 999 p/ul)	56 (17,6)	262 (82,4)	318	10 ⁻⁷
Élevé (5 000 à 99 999 p/ul)	57 (4,9)	1095 (95,1)	1152	10 ⁻⁷
Hyperparasitémie (≥ 100 000 p/ul)	1(0,8)	120 (99,2)	121	10 ⁻⁷
Total	385	1 907	2292	

La moyenne parasitaire était de 17326 ± 58313 ; nous avons observé une différence significative entre les différentes classes de parasitémie et les résultats de TDR.

Tableau 7 : Résultats du TDR en fonction des saisons

Saison de transmission	TDR HRP		Total n (%)
	Négatif	Positif	
	n (%)	n (%)	
Sèche (déc- mai)	578 (44,7)	715 (55,3)	1293 (100)
Pluie (juin- nov)	619 (26,6)	1704 (73,4)	2323 (100)
Total	1197 (33,1)	2419 (66,9)	3616 (100)

Nous avons observé une variation significative du résultat du TDR et la Saison (**p=0,0000001**)

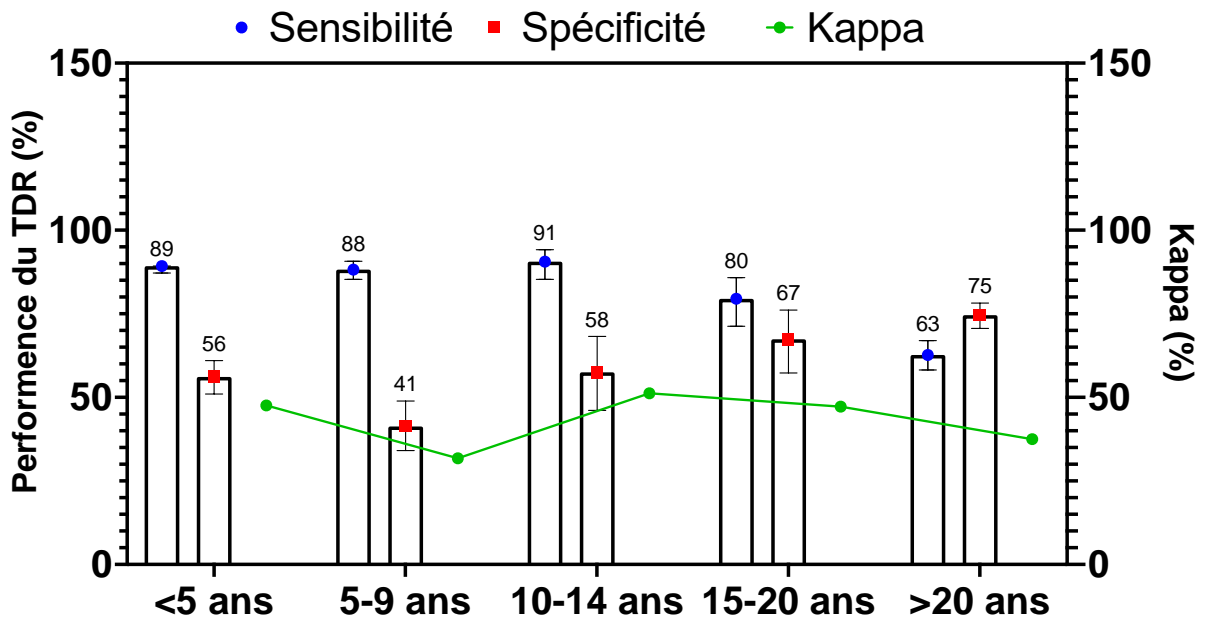


Figure 20 : Variation de la concordance en fonction de la tranche d'âge

Nous remarquons que le TDR était plus sensible chez les enfants de moins 0 à 14 ans avec des valeurs de sensibilité comprise entre 88 % et 91%. Cependant, les plus de 20 ans étaient les moins sensibles avec des valeurs de sensibilité comprises entre 63% et 75%. La spécificité était plus élevée chez les plus de 10 ans.

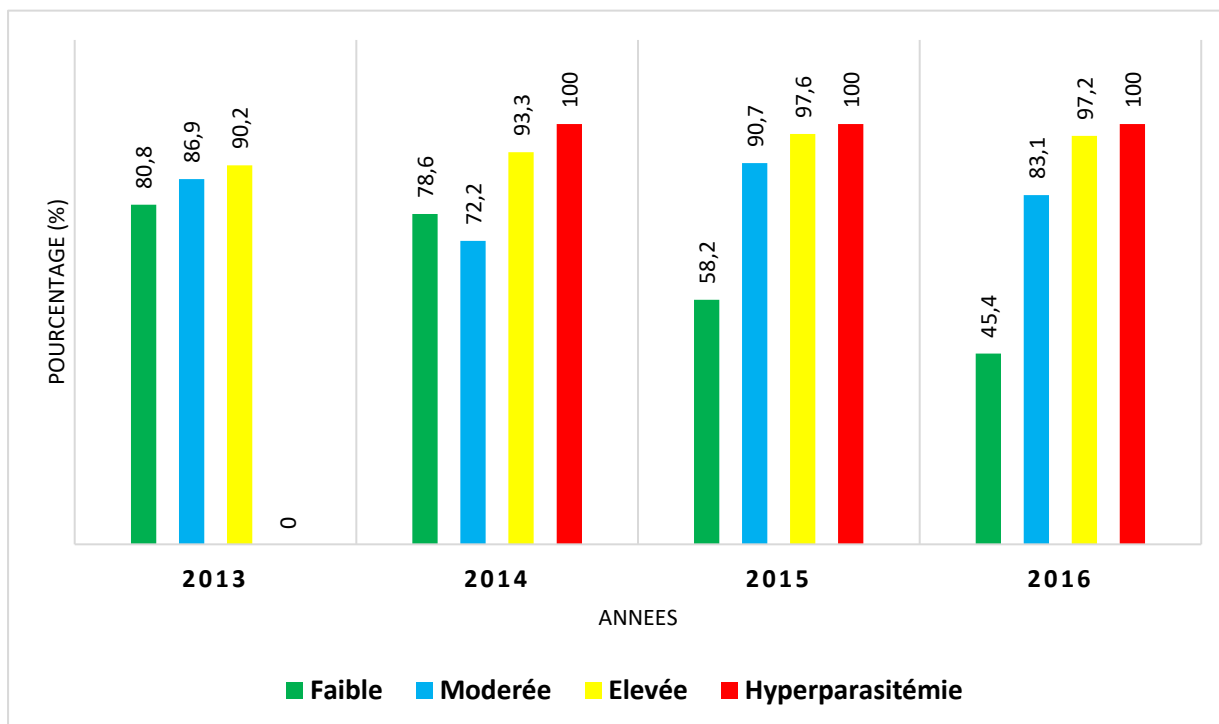


Figure 21: Sensibilité du TDR par rapport à la parasitémie en années

L'analyse de cette figure nous montre que la positivité du TDR est proportionnelle à la densité parasitaire, plus la densité parasitaire est élevée plus les patients ont la chance d'avoir un résultat positif au TDR.

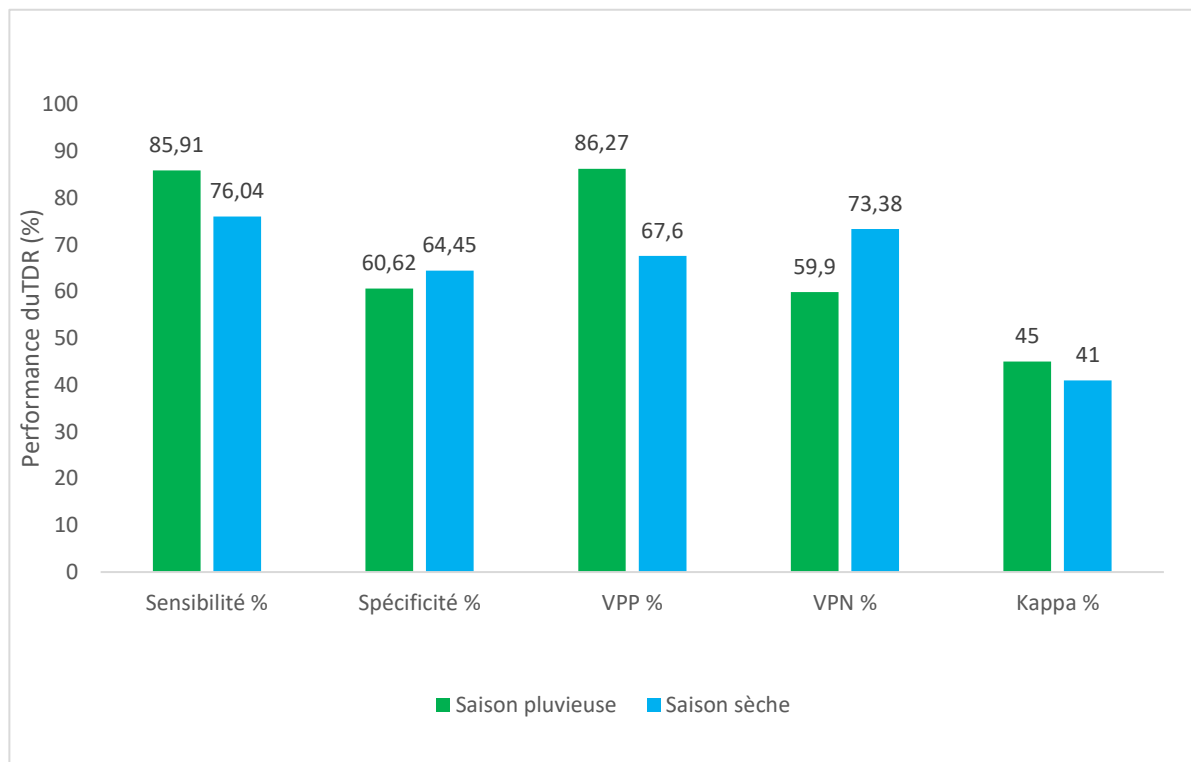


Figure 22 : Performance du TDR par rapport aux résultats de la microscopie par saison entre 2013 et 2016.

Ces résultats montrent que les meilleures valeurs de sensibilité, VPP et le coefficient de Kappa étaient observées en saison pluvieuse. Toutefois, la spécificité et VPN étaient plus élevées en saison sèche.

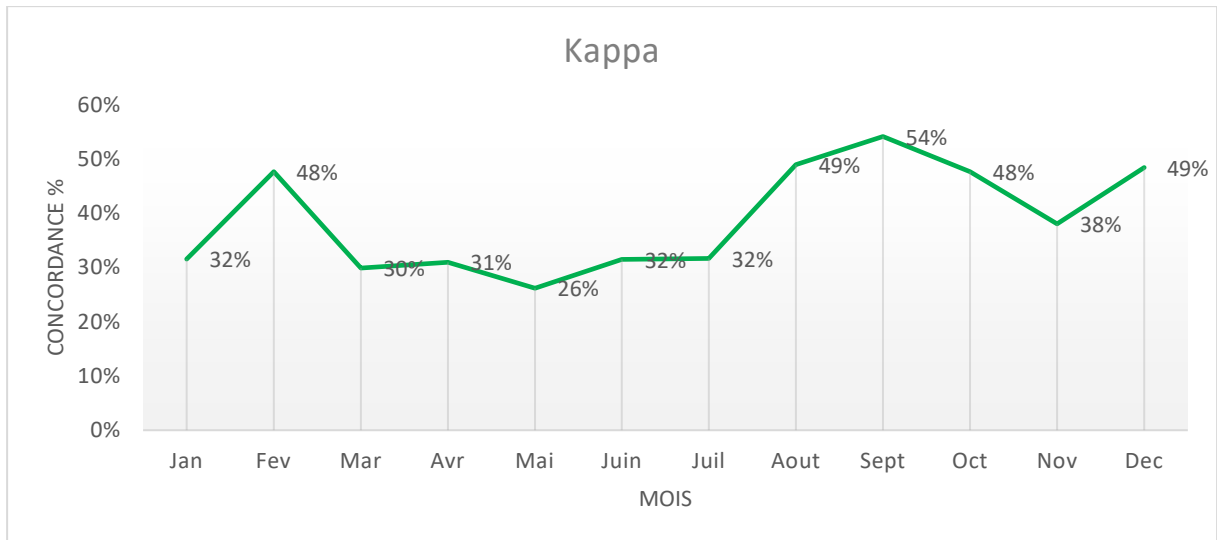


Figure 23 : Variation mensuelle de la concordance globale entre la microscopie / TDR

Une variation mensuelle de la concordance entre la microscopie et le TDR était observée comme le montre la figure 23. Cette concordance était plus élevée en saison pluvieuse qu'en saison sèche.

6. COMMENTAIRES ET DISCUSSION

Nous avons effectué une analyse secondaire sur des données collectées à Dangassa entre 2013 et 2016 à l'effet d'étudier les paramètres susceptibles d'impacter la concordance entre les résultats des TDR de paludisme et ceux de la GE. L'analyse a porté sur 1400 observations faites chez les membres d'une cohorte d'enfant de Dangassa entre janvier 2013 et décembre.

Plusieurs paramètres ont été étudiés notamment la qualité des TDR le climat la parasitémie.

Dans la répartition de la cohorte en fonction de l'âge, les plus de 20 ans sont les plus représentés avec un taux de 33,2% suivi de 5-9ans soit 19,5% et la tranche d'âge la moins représentée était celle de 15-20 ans avec un taux 11,1%. Quant aux visites, l'année 2016 a enregistré le plus grand nombre de visites soit 1201 suivis de 925 visites en 2015. Cette augmentation de visites pourrait être due à la confiance et l'adhésion de la population au projet

De 2013 à 2016, les moins de 5ans étaient les plus fréquemment consultés avec 50% (387/774), 44,4% (318/716) ; 38,6% (357/925) et 38,6% (463/1201) respectivement en 2013, 2014, 2015 et 2016 similaires à celui de Keïta B. à Bancoumana qui avaient obtenus 63%[43]. Ceci pourrait s'expliquer par l'absence de prémunition chez les enfants de moins de 5 ans[44], ou une mauvaise couverture ou d'observance de la CPS durant les années.

L'incidence était plus élevée pendant la saison pluvieuse pour les deux tests (microscopie, TDR) avec une allure concordante pour les deux tests ; en 2013, le pic a été observé en août et en octobre pour 2015 et 2016. Une étude menée au Mali à Sirakorola a rapporté un pic de transmission similaire en fin de saison de pluie (octobre)[45]. Quel que soit la technique de diagnostic considérée (microscopie ou TDR), les pics de cas de paludisme diagnostiqués ont été observés en saison des pluies avec des pics en août et octobre. Des résultats similaires ont été observés à Sirakorola en fin de saison des pluies (octobre) [45].

La sensibilité du TDR pendant le suivi de notre étude était de 83,1%. Cela indique en d'autres termes que sur 100 GE positives, le TDR sera capable d'en confirmer environ 83 donc il ne sera pas capable de confirmer 17 qui constituent des faux négatifs. Ce taux est inférieur au seuil d'acceptabilité (95%) selon l'OMS [8]. Ce résultat est supérieur à celui des études comparatives entre le TDR et la microscopie au Burkina Faso(78,4%)[46], 95.94% au Gabon [47], au Cameroun (71,4%) par Sayang C et col. [48] et (87,5%) par Agokeng D.S et col en 2019 [49]. Toutefois nos résultats étaient inférieurs à celui observé en Côte-d'Ivoire dans une étude

d'évaluation du test SD Bioline-Malaria-Ag (HRP2/pLDH) par Gnahore A qui avait trouvé 98%[30]. Les faibles sensibilité des TDR pour ont été expliquées par la détérioration de leur condition de conservation sous une température du local excédant 45° degrés [50], la faiblesse de parasitémie pouvant réduire la capacité de détection du TDR, ou également le niveau de qualification des lecteurs des lames de GE soit la production insuffisante d'anticorps anti-HRP2 [45] ou la non reconnaissance de l'antigène HRP2 par l'anticorps produit [8].

La spécificité était de 63,2% indiquant ainsi que sur 100 négatifs à la microscopie, le TDR n'a pas pu confirmer pour environs 37 personnes. Ce résultat est inférieur à celui obtenu dans une étude d'évaluation du TDR SD Bioline-malaria Ag Pf® qui avait obtenu une spécificité à Bamako en milieu urbain (99,52%) [51] et en milieu rurale 72% à Sirakorola [45] et 96,43% à Filamana [52] en 91.15% en Mauritanie climat sec et chaud[53]. Cette faible spécificité peut être attribuée à la présence des facteurs rhumatoïdes chez les malades soit à la persistance de la protéine HRP2 pouvant rester dans le sang jusqu'à deux semaines après la disparition du parasite dans le sang à la suite de la prise d'un antipaludéen ou encore par la présence des facteur immunologique et infectieux tel que l'hépatite C, la leishmaniose, la toxoplasmose, la schistosomose, la dengue, la maladie de Chagas et la trypanosomose africaine [34,40].

La valeur prédictive positive (VPP) était de 80,7% cette valeur était inférieure à celle observée au Cameroun (97,7%) entre la goutte épaisse et le test SD Bioline-Malaria-Ag Pf® [46].

La Valeur Prédictive Négative (VPN) indique la probabilité que la maladie soit absente lorsque le résultat du test est négatif a été estimée à 66,8 %. Ce qui veut dire que sur 100 patients négatifs au SD Malaria-Ag Pf® il sera induit en erreur plus de 33 fois. Pour un médecin se fiant à ce test, il pourra mettre en danger la vie de plus de 33% patients, cette faible valeur pourrait être liée au nombre de faux négative élevée.

La concordance entre test : Nous avons obtenu un Kappa global de 46,8%. La littérature nous indique que la concordance est modérée lorsque kappa se situe entre 21% - 60%.

Dans notre étude la performance des TDR a diminué progressivement au cours des quatre années d'étude cela pourrait être dû à une mauvaise conservation soit une élévation de

température excèdent 45°C en une période ou également la qualification des lecteurs [54]. Un léger déphasage a été observé entre la courbe des incidences selon la microscopie et celle selon le TDR au cours du dernier trimestre de 2014 (figure 18), comme le montre la valeur Kappa (15%) qui est le plus bas en cette année, ceci pourrait être dû à un manque de contrôle et/ou assurance qualité des lecteurs pouvant justifier ces discordances ou encore la qualité des réactifs.

La performance du TDR était plus élevée en saison pluvieuse avec une sensibilité de 85,9% contre 76% en saison sèche ainsi une VPP de 86,7% pendant la saison des pluies contre 67,6% en saison sèche, ainsi sur le plan global il y avait plus de concordance entre la microscopie et le TDR en période de forte transmission (juillet à octobre) et ainsi qu'en saison sèche froide (décembre à février) qui correspond à une période de la forte parasitémie facilitant ainsi la détection au TDR.

La concordance dans la tranche d'âge de [10-20ans] était très élevé cela peut s'expliquer par l'immunité des personnes de cette tranche d'âge qui sont résistants à une faible parasitémie [52].

7. CONCLUSION

L'analyse secondaire des données de l'ICEMR 2013-2014 révèle les mêmes tendances dans l'incidence du paludisme rapportée par la GE et le TDR ; Cependant, la saison de transmission, la tranche d'âge, les conditions de test sont des facteurs importants qui peuvent influencer les résultats du TDR.

8.RECOMMANDATIONS

Au regard des résultats obtenus, nous formulons les recommandations suivantes :

➤ **Au personnel et structure de santé**

De s'assurer sur la qualification et certification des biologistes avant tout recrutement afin d'éviter le traitement hasardeux.

➤ **Au ministère de la Santé et au PNL**

- Rendre accessible sur toute l'étendue du territoire des TDR évalués et validés localement ;
- Veiller à la chaîne des livraisons depuis la source ;
- Assurer le suivi et l'évaluation continue des TDR après leur mise sur le marché national ;
- Doter les services sanitaires reculés des panneaux solaires ou groupes électrogènes pour la lecture des lames.

➤ **MRTC/UCRC :**

- Organiser des sessions de certification régulière avant le démarrage des études, le contrôle de la qualité et Assurance de la Qualité des investigateurs
- Aux projets d'instaurer une seconde lecture des lames pour tous les cas de diagnostic.

9. REFERENCES

1. Thellier M, Kendjo E, Houze S, Braś J, Danis M. Épidémiologie du paludisme dans le monde: un véritable espoir de contrôle de la maladie, mais de nouvelles inquiétudes. *Lett Infect.* 1 janv 2012;27:216-21.
2. OMS. Questions & answers on the World malaria report 2022.
3. EIP Mali 2021(INSTAT), PNL. Enquête sur les Indicateurs du Paludisme au Mali 2021. 2022 août p. 193. Report No.: Final.
4. OMS. World malaria report 2021. 2021 déc p. 322.
5. Koita OA, Doumbo OK, Ouattara A, Tall LK, Konaré A, Diakité M, et al. False-negative rapid diagnostic tests for malaria and deletion of the histidine-rich repeat region of the hrp2 gene. *Am J Trop Med Hyg.* févr 2012;86(2):194-8.
6. Dolo A, a konar, Ouattara A, Thera M, Doumbo O. Intérêts des nouvelles techniques de diagnostic rapide du paludisme au Mali. *Mali Méd.* 1 janv 2002;17:27-31.
7. OMS. Rapport 2021 sur le paludisme dans le monde: principaux messages. 2021 déc p. 24. Report No.: WHO/UCN/GMP/2021.08.
8. Organisation mondiale de la Santé. Protocole type pour la surveillance des délétions des gènes pfhrp2/pfhrp3 [Internet]. Genève: Organisation mondiale de la Santé; 2020 [cité 31 janv 2022]. 42 p. Disponible à: <http://apps.who.int/iris>
9. WHO. WHO Prequalification of In Vitro Diagnostics Programme Amended PUBLIC REPORT. WHO; 2020 août p. 28. Report No.: PQDx 0030-012-01.
10. Bouchaud O, Consigny PH, Cot M, Le Loup G, Odermatt-Biays S. Médecine des voyages et tropicale. 4 édition. Elsevier Masson; 2019. 428 p.
11. Maiga PAK. Intérêts du TDR palus(TDR) dans le diagnostic du paludisme chez les nourrissons de 0 à 59 mois et les femmes enceintes dans le district de Bamako : cas de la commune VI [These]. [Bamako]: FMOS/USTTB; 2012.
12. Yaya S. Le paludisme: Repères historiques, climatiques et anthropiques. Dans: *Le paludisme: Repères historiques, climatiques et anthropiques.* 2013. p. 39. (CHAPITRE I).
13. Tougri G. Analyse de la mise en œuvre des tests de diagnostic rapide du paludisme dans les formations sanitaires périphériques du district sanitaire de Nouna [thèse]. [Nouna/BURKINA FASO]: UNIVERSITE DE OUAGADOUGOU; 2011.
14. Savaton P. Le microscope dans l'histoire des sciences de la nature. 2005. 12 p.
15. GEROME P. Paludisme : situation mondiale 2020 (Organisation mondiale de la santé). *Paludisme : situation mondiale 2020 (Organisation mondiale de la santé).* 12 déc 2020;
16. Magnan P. Le paludisme, un fléau qui tue chaque année plus de 450 000 personnes, dont 93% en Afrique. *Franceinfo.* 9 oct 2019;

17. Carnevale P, Robert V, éditeurs. 4. Les principales espèces vectrices. Dans: Les anophèles : Biologie, transmission du Plasmodium et lutte antivectorielle. Marseille: IRD Éditions; 2017. p. 87-145. (Didactiques).
18. Velescu E, Ivănescu L, Acatrine D, Iacob O, Ciucă L, Turk N, et al. LE PALUDISME. Roumanie; 88 p.
19. KANTE Z. Prévalence du paludisme à travers le test de diagnostic rapide chez les patients fébriles au CS Réf de la commune II de janvier 2011 à décembre 2011 [Thèse]. [FMOS/USTTB]: UNIVERSITE DES SCIENCES, DES TECHNIQUES ET DES TECHNOLOGIES DE BAMAKO; 2014.
20. PNLP. GUIDE-NATIONAL-DE-DIAGNOSTIC-BIOLOGIQUE-DU-PALUDISME. [Internet]. [cité 19 nov 2021]. 55 p. Disponible à: <http://www.pnlp.sn/wp-content/uploads/2018/02/GUIDE-NATIONAL-DE-DIAGNOSTIC-BIOLOGIQUE-DU-PALUDISME.pdf>
21. Konate D, Diawara S, Touré M, Diakite S, 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.
22. DONGMO NT. Etude comparative d'un Test de Diagnostic Rapide du paludisme (TDR) avec la Goutte Epaisse (GE) a l'hôpital régional de Bafoussam au Cameroun. *Memoire Online.*
23. OMS. Rapport 2022 sur le paludisme dans le monde. OMS; 2022 déc p. 21. Report No.: Principaux messages.
24. Dattoo MS, Natama MH, Somé A, Traoré O, Rouamba T, Bellamy D, et al. Efficacy of a low-dose candidate malaria vaccine, R21 in adjuvant Matrix-M, with seasonal administration to children in Burkina Faso: a randomised controlled trial. *Lancet Lond Engl.* 15 mai 2021;397(10287):1809-18.
25. Pearson RD. Paludisme - Maladies infectieuses [Internet]. Édition professionnelle du Manuel MSD. [cité 17 nov 2021]. Disponible à: <https://www.msdmanuals.com/fr/professional/maladies-infectieuses/protozoaires-extra-intestinaux/paludisme>
26. El Mezouari EM, Belhadj A, Ziani M, Boughanem M, Moutaj R. Le paludisme grave d'importation chez l'adulte: étude rétrospective de treize cas admis en réanimation à Marrakech. *Pan Afr Med J.* 21 nov 2016;25:179.
27. Lagardère B. Le paludisme de l'enfant. 2 déc 1998;(138).
28. Siala E, Abdallah RB, Bouratbine A, Aoun K. ACTUALITES DU DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DU PALUDISME CURRENT BIOLOGICAL DIAGNOSIS OF MALARIA. janv 2010;Vol.4: 5-9:5.
29. Trudel L. Identification morphologique des parasites de la malaria. INSTITUT NATIONAL DE SANTÉ PUBLIQUE DU QUÉBEC; 2005. 30 p.

30. Patrick GAB. Evaluation du test « SD BIOLINE Malaria Antigen Pf (HRP2 ; pLDH) » pour le diagnostic rapide du paludisme à Abidjan (Côte d'Ivoire) en 2014 [THESE]. [ABIDJAN]: UNIVERSITÉ FELIX HOUPHOUET-BOIGNY; 2014.
31. Amir A, Cheong FW, de Silva JR, Liew JWK, Lau YL. Plasmodium knowlesi malaria: current research perspectives. Infect Drug Resist [Internet]. 10 août 2018 [cité 12 juill 2023];11:1145-55. Disponible à:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6089103/>
32. Wikipedia. Plasmodium knowlesi. Dans: Wikipedia [Internet]. 2023 [cité 24 juin 2023]. Disponible à:
https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Plasmodium_knowlesi&oldid=1142666379
33. Dupeyron, C, Bourée PP. Développement et Santé | Tests de diagnostic rapide en pathologie infectieuse, intérêt en zone tropicale. Institut Alfred Fournier, Paris. 2013.
34. Anne-Claire L. Rôles et limites des tests de diagnostic rapide du paludisme [THESE]. [Faculté de Pharmacie]: UNIVERSITÉ DE LIMOGES; 2014.
36. Mouatcho JC, Goldring JPD. Malaria rapid diagnostic tests: challenges and prospects. J Med Microbiol. oct 2013;62(Pt 10):1491-505.
37. Ohayon L. immunité adaptative. [cité 24 juin 2023]; Disponible à:
<http://ohayon.lucie.free.fr>
38. Wellems TE, Howard RJ. Homologous genes encode two distinct histidine-rich proteins in a cloned isolate of Plasmodium falciparum. Proc Natl Acad Sci U S A. août 1986;83(16):6065-9.
39. Yetisen AK, Akram MS, Lowe CR. Paper-based microfluidic point-of-care diagnostic devices. Lab Chip. 21 juin 2013;13(12):2210-51.
40. USAID A, WHO. How To Use a Rapid Diagnostic Test (RDT). Vol. V1.3. 2010. 48 p.
41. altona Diagnostics. RealStar Malaria PCR Kit 1.0. 2018. 32 p.
42. Jatou K, Greub G. PCR en microbiologie : de l'amplification de l'ADN à l'interprétation du résultat. Rev Med Suisse. 11 avr 2007;106:931-8.
43. Keita B. Etude prospective des indicateurs du paludisme de 2008 à 2011 dans les villages de Kéniéroba, Fourda et Bozokin dans la commune rurale de Bancoumana, Mali: Influence des polymorphismes du globule rouge. [Thesis]. [FMOS/Bamako]: USTTB; 2016.
44. Chippaux JP, Akogbeto M, Massougbedji A, Adjagba J. Mesure de la parasitémie palustre et évaluation du seuil pathogène en région de forte transmission permanente. 1987;11.
45. Magassa G. Etude de la sensibilité et de la spécificité d'un test de diagnostic (SD Bioline-Malaria-Ag Pf) dans un contexte de faible transmission du paludisme à Sirakorola, Mali [Thesis]. [FAPH/BAMAKO]: USTTB; 2022.

46. Sorgho H, Douamba KRD, Valea I, Tinto H. Performance diagnostique de SD Bioline malaria antigen P.f® pour la détection des infections palustres chez la femme enceinte au troisième trimestre de grossesse au Burkina Faso. *Sciences de la Santé*. 2017;
47. Biyogo A, Mombo C, Siawaya JFD. ÉVALUATION DU SD BIOLINE MALARIA ANTIGEN Pf/Pan (HRP2/pLDH). *janv 2014*;11.
48. Sayang C, Soula G, Tahar R, Basco LK, Gazin P, Moyou-Somo R, et al. Use of a histidine-rich protein 2-based rapid diagnostic test for malaria by health personnel during routine consultation of febrile outpatients in a peripheral health facility in Yaounde, Cameroon. *Am J Trop Med Hyg*. août 2009;81(2):343-7.
49. Sylvie A, Amandine M, Manyi O, Assob J. Comparative study between SD BIOLINE Malaria Ag pf rapid diagnostic test and calibrated thick smear in the east region of Cameroon. *Int J Sci Res Manag*. 29 mai 2019;7.
50. OMS. Sélection et achat des TDR du paludisme.
51. Traoré S. Evaluation d'un test de diagnostic rapide (TDR) du paludisme SD Bioline-Malaria-Ag Pf® au laboratoire d'analyses biomédicales Biolab 3-SARL en Commune VI du district de Bamako. [Thesis]. [FAPH/BAMAKO]: USTTB; 2021.
52. Traoré Y. Evaluation de la concordance entre les résultats de la Goutte Epaisse (GE) et ceux du test de Diagnostic rapide (CTK-Biotech), dans le diagnostic du paludisme, au santé communautaire de Filamana, cercle de Yanfolila, Mali [Thesis]. [FMOS/Bamako]: USTTB; 2022.
53. Ba H, Ahouidi AD, Duffy CW, Deh YB, Diedhiou C, Tandia A, et al. Evaluation du Test de Diagnostic Rapide du Paludisme Optimal-IT pLDH en bordure de la limite de distribution de plasmodium falciparum en Mauritanie. :12.
54. WHO. WHO Prequalification of In Vitro Diagnostics PUBLIC REPORT. 2019 mai p. 12.

10. ANNEXES

10.1 Réalisation du test de diagnostic rapide

On recueille une petite quantité de sang sur le doigt ponctionné à l'aide de la micro-cuvette livrée avec les TDR puis on place le sang dans le trou prévu et dans l'autre trou on distille 2 à 4 gouttes de solvant (réactif à l'antigène pf ou pf/pan) puis la lecture est faite dans l'intervalle d'une quinzaine de minutes



Figure : kit du TDR SD Bioline-malaria Ag *Pf*® et SD Bioline-malaria Ag *Pf/Pan*®

10.2 Réalisation de la microscopie

10.2.1 Matériels

- Gant latex
- Lames d'examen de microscope
- Lancette stérile à usage unique
- Méthanol ou éthanol
- Coton hydrophile
- Crayon gras ou stylo graveur
- Lames pour étaler la goutte
- Une solution de Giemsa
- Bac à coloration
- Un chronomètre
- De l'huile à immersion
- Un microscope optique

10.2.2 Méthode Confection de la goutte épaisse :

Référence : Modes Opératoires Normalisés (MON) du DEAP.

Elle a consisté à étaler et à défibriner le sang sur une lame porte objet. Choisir le 3^{ème} ou le 4^{ème} doigt de la main gauche Eviter les doigts enflés ou tuméfiés ainsi que les doigts présentant une éruption cutanée ou les doigts très froids. Réchauffer le doigt si nécessaire en le frottant entre vos mains. Nettoyer le doigt avec un tampon d'alcool (70% c/v). Laisser sécher ou nettoyer

avec du coton sec pour ôter le reste de l'alcool avant la piqûre. Retirer un vaccinostyle de son emballage en évitant de toucher au bout pointu. Ne pas piquer près de l'ongle et éviter les côtés du doigt. Piquer fermement d'un coup au centre de la pulpe du doigt. Le bout du vaccinostyle doit bien pénétrer le doigt pour un écoulement adéquat de sang. Nettoyer la première goutte de sang avec du coton sec. Recueillir assez de goutte de sang pour la GE. Presser le doigt vers l'extrémité si nécessaire pour recueillir suffisamment de gouttes de sang. Disposer les gouttes de sang sur la lame. Placer un tampon d'alcool sur la zone de la piqûre et demander au patient de le tenir environ 2-3 minutes jusqu'à l'arrêt de l'écoulement de sang.

Avertissement : Tenir les échantillons de sang et les instruments en contact avec du sang avec beaucoup de précaution et porter toujours les gants lors des prélèvements de sang.

10.3 Coloration et lecture de la lame

10.3.1 Coloration

- **Matériels requis :**

- Méthanol de préférence (temps de séchage : quelques secondes) ou éthanol (temps de séchage : 20 mn).
- Bac à coloration
- Solution tampon
- Solution de Giemsa

- **Méthode**

Après séchage, nous avons dilué la solution mère de Giemsa dans l'eau distillée réalisant une concentration de 10%. Les lames à colorer sont placées dans le bac de coloration et immergées entièrement et délicatement avec la solution de Giemsa en faisant couler lentement pour éviter un flux brusque. La coloration dure 15-20 minutes. A la fin du temps de coloration (indiqué par la sonnerie de la minuterie), les lames sont rincées délicatement à eau en évitant les jets d'eau forts. Elles sont enlevées du bac de coloration, placées sur le râtelier où elles sont laissées sécher complètement à la température ambiante.

10.3.2. Lecture de la goutte épaisse :

La goutte épaisse est lue à l'aide d'un microscope optique binoculaire, à l'objectif x100 à immersion, au grossissement 1000. La lame est parcourue de façon systématique horizontalement et verticalement (lecture en zig zag) L'espèce, le stade de développement ainsi que le nombre de parasites sont déterminés en cas de présence des parasites. Les parasites et les leucocytes sont comptés simultanément par champ, à l'aide d'un compteur manuel adapté. Le nombre de parasites est compté sur 200 leucocytes. Le comptage de leucocytes ne commence qu'après avoir vu un parasite. Une lame est dite négative seulement qu'après avoir parcouru 200 champs sans compter aucun stade de développement du parasite. Le comptage du champ commence dès le 1er champ et s'arrête dès l'identification du parasite. Nous avons utilisé la formule suivante pour quantifier la charge parasitaire : $P = \frac{N}{200} \times GB$
P est la charge parasitaire en nombre de parasites par mm³, N est le nombre de Parasites comptés, 200 est le nombre de leucocytes comptés, GB est le nombre de leucocytes (globules blancs) / mm³ dans la formule sanguine du participant. Si le nombre exact de leucocytes du participant n'est pas connu (numération faite dans les deux semaines), on assume que ce nombre est égal à 8000 et la formule de calcul de la parasitémie devient, $L=200 : P = \frac{N}{200} \times 8000$
 $P = 25 \times N_{\text{parasites}} / \text{mm}^3$.

Les termes P, N gardent la même signification que plus haut.

FICHE SIGNALITIQUE

NOM : YALCOUYE

PRENOMS : Abassana Indé dit Lazarre

TEL : +223 71015652 / +223 61135346

Email : abassanadede@gmail.com



Titre de la thèse : Étude des causes potentielles de la discordance entre la microscopie et le TDR dans le Diagnostic biologique du paludisme à *Plasmodium falciparum* à Dangassa région de Koulikoro, Mali : Analyse secondaire des données de l'ICEMR 2013-2016

Année de soutenance : 2023

Pays d'origine : Mali

Ville de soutenance : Bamako

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

Secteur d'intérêt : Santé publique, Parasitologie, Paludisme.

Introduction : Un diagnostic correct se repose essentiellement sur la clinique et biologique pour une bonne prise en charge des cas du paludisme ainsi, cette étude de performance du test de diagnostic rapide (sensibilité et spécificité) par rapport à la microscopie a été initié pour confirmer le diagnostic clinique du paludisme à Dangassa entre 2013-2016 région de Koulikoro (Mali).

Méthodologie : L'enquête s'est déroulée de janvier 2013 à décembre 2016 dans le village de Dangassa région de Koulikoro, auprès d'un échantillon d'enfants et adultes allant de 3 mois à 86 ans dans une cohorte de 1400 participants. En cas de diagnostic clinique de paludisme posé par le médecin, une microscopie ainsi qu'un test de diagnostic rapide (TDR, test SD Bioline-Malaria-Ag *Pf/Pan*® et *Pf*) ont été réalisés. Les lames ont été colorées et lues sur site.

Résultats : Au total, 3616 visites ont été effectuées avec des signes cliniques du paludisme. La proportion des cas de paludisme parmi les cas cliniques est de 65,02 % par la microscopie, 66,90 % par le TDR. La sensibilité, la spécificité, les valeurs prédictives positives et négatives par rapport à la GE étaient, 83,1% ; 63,2% ; 80,7%, 66,8 %.

Conclusion : Malgré ces résultats, les TDR présentent des avantages dans le diagnostic de paludisme dans les structures sanitaires périphériques surtout où il n'y a pas d'électricité, les cas d'urgence en raison de sa rapidité et les zones fortement endémiques.

Mots clés : Performance · Test de diagnostic rapide · Microscopie · Paludisme · Dangassa · Koulikoro · Mali

Identification Sheet

Name: YALCOUYE

First name: Abassana Inde dit Lazarre

TEL: +223 71015652 / +223 61135346

Email: abassanadede@gmail.com



Title of the Thesis: Study of the potential causes of the discrepancy between microscopy and RDT in the biological diagnosis of Plasmodium falciparum malaria in Dangassa, Koulikoro region, Mali: Secondary analysis of ICEMR data 2013-2016

Graduation Year: 2023

Country: Mali

Graduation Town: Bamako

Deposit place: Library of FMOS/FAPH of Bamako.

Field of interest: Public Health, Parasitology, Malaria.

Introduction: A correct diagnosis relies essentially on clinical and biological examinations for the correct management of malaria cases. This study of the performance of the of the rapid diagnostic test (sensitivity and specificity) compared to microscopy was initiated to confirm the clinical diagnosis of malaria in Dangassa between 2013-2016 Koulikoro region (Mali).

Methodology: The survey took place from January 2013 to December 2016 in the village of Dangassa in the Koulikoro region, with samples composed of children and adults ranging from 3 months to 86 years in a cohort of 1,400 participants. In the event of diagnosis of malaria, microscopy and a rapid diagnostic test (RDT, SDT) Bioline-Malaria-Ag Pf/Pan® and Pf) were performed. Slides were stained and read on site.

Results: A total of 3616 visits were made with clinical signs of malaria. The proportion of malaria cases among clinical cases was 65.02% by microscopy, 66.90% by RDT. Sensitivity, specificity, positive and negative predictive values for GE were 83.1%; 63.2%; 80.7%; 66,8 %.

Conclusion: Despite these results, RDTs offer advantages for diagnosing of malaria in peripheral health facilities, especially where there is no electricity, in emergency cases because of its speed and in highly endemic areas.

Key words: Performance - Rapid diagnostic test - Microscopy - Malaria -Dangassa - Koulikoro -Mali

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 la 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 consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels ;

Respectueux et reconnaissant envers mes maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères,

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

Que je sois couvert d'opprobres et méprisé de mes confrères si j'y manque !

Je le jure !