

**UNIVERSITE DE BAMAKO**  
**Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-**  
**Stomatologie**

Année Universitaire 2008 - 2009 Thèse N° /..... /

# TITRE

INTERET DE LA DOUBLE LECTURE DES GOUTTES EPAISSES  
DANS LE DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DANS UNE STRUCTURE DE  
RECHERCHE SUR LE PALUDISME

# THESE

DU PALUDISME

Présentée et soutenue publiquement le **30 /04/2009 à 12 Heures**  
devant la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie  
du Mali

Par Monsieur **Samba COUMARE**  
Pour obtenir le Grade de Docteur en Médecine  
(DIPLOME D'ETAT)

**Jury**

**Président :** Professeur Ogobara K DOUMBO  
**Membre :** Professeur Mahamadou A THERA  
**Co-directeur :** Docteur Issaka SAGARA  
**Directeur :** Professeur Amagana DOLO

**FACULTE DE MEDECINE, DE PHARMACIE ET D'ODONTO-STOMATOLOGIE**

**ADMINISTRATION**

**DOYEN: ANATOLE TOUNKARA** - PROFESSEUR

**1<sup>er</sup> ASSESSEUR: DRISSA DIALLO** - MAÎTRE DE CONFERENCE AGREGÉ

**2<sup>ème</sup> ASSESSEUR: SEKOU SIDIBE** - MAÎTRE DE CONFERENCES

**SECRETARE PRINCIPAL: YENIMEGUE ALBERT DEMBELE**- PROFESSEUR

**AGENT COMPTABLE: MADAME COULIBALY FATOUMATA TALL**- CONTROLEUR DES FINANCES

**PROFESSEURS HONORAIRES**

Mr Alou BA

Ophtalmologie

Mr Bocar SALL

Orthopédie Traumatologie - Secourisme

Mr Souleymane SANGARE

Pneumo-phtisiologie

Mr Yaya FOFANA

Hématologie

Mr Mamadou L. TRAORE

Chirurgie Générale

Mr Balla COULIBALY

Pédiatrie

Mr Mamadou DEMBELE

Chirurgie Générale

Mr Mamadou KOUMARE

Pharmacognosie

Mr Ali Nouhoum DIALLO

Médecine interne

Mr Aly GUINDO

Gastro-entérologie

Mr Mamadou M. KEITA

Pédiatrie

Mr Sinè BAYO

Anatomie-Pathologie-

Histoembryologie

Mr Sidi Yaya SIMAGA

Santé Publique

Mr Abdoulaye Ag RHALY

Médecine interne

Mr Boukassoum HAIDARA

Législation

Mr Boubacar Sidiki CISSE

Toxicologie

Mr Massa SANOGO

**LISTE DU PERSONNEL ENSEIGNANT PAR D.E.R. & PAR GRADE**  
**D.E.R. CHIRURGIE ET SPECIALITES CHIRURGICALES**

**1. PROFESSEURS**

Mr Abdel Karim KOUMARE

Chirurgie Générale

Mr Sambou SOUMARE

Chirurgie Générale

Mr Abdou Alassane TOURE

Orthopédie Traumatologie

Mr Kalilou OUATTARA

Urologie

Mr Amadou DOLO

Gynéco-Obstétrique

Mr Alhousseini Ag MOHAMED

ORL

Mme SY Assitan SOW

Gynéco-Obstétrique

Mr Salif DIAKITE

Gynéco-Obstétrique

Mr Abdoulaye DIALLO

Anesthésie-Réanimation

Mr Gangaly DIALLO

Chirurgie viscérale

Mr Djibril SANGARE

Chirurgie Générale **Chef de D.E.R.**

Mr Abdoul Kader TRAORE dit DIOP

Chirurgie Générale

## **2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES**

Mr Abdoulaye DIALLO  
Ophtalmologie  
Mr Mamadou TRAORE  
Gynéco-Obstétrique  
Mr Sadio YENA  
Chirurgie thoracique

Mr Youssouf COULIBALY  
Anesthésie-Reanimation  
Mr Zimogo Z SANOGO  
Chirurgie Générale

## **3. MAITRES DE CONFERENCES**

Mr Filifing SISSOKO  
Chirurgie Générale  
Mr Sekou SIDIBE  
Orthopédie-Traumatologie  
Mr Abdoulaye DIALLO  
Anesthésie-Reanimation  
Mr Tieman COULIBALY  
Orthopédie-Traumatologie

Mme TRAORE J THOMAS  
Ophtalmologie  
Mr Mamadou L. DIOMBANA  
Stomatologie  
Mme DIALLO Fatimata S. DIABATE  
Gynéco-Obstétrique  
Mr Nouhoum ONGOÏBA  
Anatomie & Chirurgie Générale

## **4. MAÎTRES ASSISTANTS**

Mr Issa DIARRA  
Gynéco-Obstétrique  
Mr Samba Karim TIMBO  
ORL  
Mme TOGOLA Fanta KONIPO  
ORL  
Mme Djeneba DOUMBIA  
Anesthésie Réanimation  
Mr Zanafon OUATTARA  
Urologie  
Mr Adama SANGARE  
Orthopédie- Traumatologie  
Mr Sanoussi BAMANI  
Ophtalmologie  
Mr Doulaye SACKO Ophtalmologie  
Mr Ibrahim ALWATA  
Orthopédie - Traumatologie  
Mr Lamine TRAORE  
Ophtalmologie  
Mr Mady MAKALOU  
Orthopédie-Traumatologie  
Mr Aly TEMBELY  
Urologie  
Mr Niani MOUNKORO  
Gynécologie/ Obstétrique

Mr Tiémoko D. COULIBALY  
Odontologie  
Mr Souleymane TOGORA Odontologie  
Mr Mohamed KEITA  
ORL  
Mr Boureima MAIGA  
Gynéco-Obstétrique  
Mr Youssouf SOW  
Chirurgie Générale  
Mr Djibo Mahamane DIANGO  
Anesthésie-réanimation  
Mr Moustapha TOURE  
Gynécologie  
Mr Mamadou DIARRA  
Ophtalmologie  
Mr Boubacary GUINDO  
ORL  
Mr Moussa Abdoulaye OUATTARA  
Chirurgie générale  
Mr Birama TOGOLA  
Chirurgie générale  
Mr Brehima COULIBALY  
Chirurgie générale  
Mr Adama Konoba KEITA  
Chirurgie générale

Mr Adégné TOGO  
Chirurgie générale  
Mr Lassana KANTE  
Chirurgie générale  
Mr Mamby KEITA  
Chirurgie Pédiatrique  
Mr Hamady TRAORE  
Odonto-Stomatologie  
Mme KEITA Fatoumata SYLLA  
Ophtalmologie  
Mr Drissa KANIKOMO  
Neuro-Chirurgie

Mme Kadiatou SINGARE  
ORL  
Mr Nouhoum DIANI  
Anesthésie-Réanimation  
Mr Aladji Seydou DEMBELE  
Anesthésie-Réanimation  
Mr Ibrahima TEGUETE  
Gynéco-Obstétrique  
Mr Youssouf TRAORE  
Gynéco-Obstétrique  
Mr Lamine Mamadou DIAKITE  
Urologie

## **D.E.R. DE SCIENCES FONDAMENTALES**

### **1. PROFESSEURS**

Mr Daouda DIALLO  
Chimie Générale & Minérale  
Mr Amadou DIALLO  
Biologie  
Mr Moussa HARAMA  
Chimie Organique  
Mr Ogobara DOUMBO  
Parasitologie-Mycologie  
Mr Yénimégué Albert DEMBELE  
Chimie Organique

Mr Anatole TOUNKARA  
Immunologie  
Mr Bakary M. CISSE                      Biochimie  
Mr Abdourahamane S. MAÏGA  
Parasitologie  
Mr Adama DIARRA                      Physiologie  
Mr Mamadou KONE  
Physiologie

### **2. MAÎTRES DE CONFERENCES AGREGES**

Mr Amadou TOURE Histoembryologie  
Mr Flabou BOUGOUDOGO  
Bactériologie - Virologie  
Mr Amagana DOLO  
Parasitologie - Mycologie

Mr Mahamadou A THERA  
Parasitologie - Mycologie

### **3. MAITRES DE CONFERENCES**

Mr Mahamadou CISSE  
Biologie  
Mr Sékou F. M. TRAORE  
Entomologie médicale

Mr Abdoulaye DABO  
Malacologie - Biologie Animale  
Mr Ibrahim I. MAÏGA  
Bactériologie - Virologie

#### **4. MAÎTRES ASSISTANTS**

Mr Lassana DOUMBIA  
Chimie Organique  
Mr Mounirou BABY  
Hématologie  
Mr Moussa Issa DIARRA  
Biophysique  
Mr Kaourou DOUCOURE  
Biologie  
Mr Bouréma KOURIBA  
Immunologie  
Mr Souleymane DIALLO  
Bactériologie/ Virologie

Mr Cheick Bougadari TRAORE  
Anatomie pathologie  
Mr Guimogo DOLO  
Entomologie-Moléculaire Médicale  
Mr Mouctar DIALLO  
Biologie/ Parasitologie  
Mr Abdoulaye TOURE  
Entomologie-Moléculaire Médicale  
Mr Boubacar TRAORE  
Parasitologie - Mycologie  
Mr Bakary Maïga  
Immunologie

#### **5. ASSISTANTS**

Mr Mangara M. BAGAYOKO  
Entomologie-Moléculaire Médicale  
Mr Djibril SANGARE  
Entomologie-Moléculaire Médicale  
Mr Bokary Y. SACKO  
Biochimie

Mr Mamadou BA  
Biologie, Parasitologie Entomologie  
Médicale  
Mr Moussa FANE  
Parasitologie /Entomologie

#### **D.E.R. DE MEDECINE ET SPECIALITES MEDICALES**

##### **1. PROFESSEURS**

Mr Mamadou K. TOURE      Cardiologie  
Mr Mahamane MAÏGA  
Néphrologie  
Mr Baba KOUMARE  
Psychiatrie-**Chef de D.E.R.**  
Mr Moussa TRAORE  
Neurologie  
Mr Issa TRAORE  
Radiologie

Mr Hamar A. TRAORE  
Médecine Interne  
Mr Dapa Aly DIALLO  
Hématologie  
Mr Moussa Y. MAIGA  
Gastro-entérologie-Hépatologie  
Mr Somita KEITA  
Dermato-Léprologie  
Mr Boubacar DIALLO      Cardiologie  
Mr Toumani SIDIBE      Pédiatrie

##### **2. MAÎTRES DE CONFERENCES AGREGES**

Mr Bah KEITA  
Pneumo-Phtisiologie  
Mr Abdel Kader TRAORE  
Médecine Interne  
Mr Siaka SIDIBE  
Radiologie  
Mr Mamadou DEMBELE      Médecine  
Interne

Mme SIDIBE Assa TRAORE  
Endocrinologie  
Mr Daouda K. MINTA  
Maladies infectieuses  
Mme Mariam SYLLA  
Pédiatrie

### **3. MAITRES DE CONFERENCEES**

Mr Mamady KANE

Radiologie

Mr Sahare FONGORO

Néphrologie

Mr Bakoroba COULIBALY

Psychiatrie

Mr Bou DIAKITE

Psychiatrie

Mr Bougouzié SANOGO

Gastro-entérologie

Mr Adama D. KEITA

Radiologie

Mr Soungalo Dao

Maladies infectieuses

### **4- MAITRES ASSISTANTS**

Mme Habibatou DIAWARA

Dermatologie

Mr Kassoum SANOGO

Cardiologie

Mr Seydou DIAKITE

Cardiologie

Mr Arouna TOGORA                      Psychiatrie

Mme DIARRA Assétou              SOUCKO

Médecine interne

Mr Boubacar TOGO

Pédiatrie

Mr Mahamadou TOURE              Radiologie

Mr Idrissa A. CISSE

Dermatologie

Mr Mamadou B. DIARRA

Cardiologie

Mr Anselme KONATE

Hépto-gastro-entérologie

Mr Moussa T. DIARRA

Hépto-gastro-entérologie

Mr Souleymane DIALLO Pneumologie

Mr Souleymane COULIBALY

Psychologie

Mr Cheick Oumar GUINTO

Neurologie

## **D.E.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES**

### **1. PROFESSEUR**

Mr Gaoussou KANOUTE              Chimie  
Analytique **Chef de D.E.R**

Mr Ousmane DOUMBIA

Pharmacie Chimique

Mr Elimane MARIKO Pharmacologie

### **2. MAITRES DE CONFERENCEES AGREGES**

Mr Drissa DIALLO

Pharmacognosie

Mme Rokia SANOGO

Pharmacognosie

### **3. MAITRES DE CONFERENCE**

Mr Alou KEITA  
Galénique  
Mr Benoît Yaranga KOUMARE  
Chimie analytique

Mr Ababacar I. MAÏGA  
Toxicologie

### **4. MAÎTRES ASSISTANTS**

Mr Yaya KANE  
Galénique  
Mr Saibou MAIGA  
Législation  
Mr Ousmane KOITA  
Parasitologie Moléculaire  
Mr Yaya COULIBALY  
Législation

Mr Loséni BENGALY  
Pharmacie Hospitalière  
Mr Sékou BAH  
Pharmacologie

## **D.E.R. SANTE PUBLIQUE**

### **1. PROFESSEUR**

Mr Sanoussi KONATE Santé Publique

### **2. MAÎTRE DE CONFERENCES AGREGES**

Mr Moussa A. MAÏGA Santé Publique

### **3. MAITRE DE CONFERENCES**

Mr Mamadou Souncalo TRAORE Santé Publique  
Mr Massambou SACKO Santé Publique  
Mr Samba DIOP Anthropologie Médicale

Mr Seydou DOUMBIA Epidémiologie  
Mr Alassane A. DICKO Santé Publique

### **4. MAÎTRES ASSISTANTS**

Mr Adama DIAWARA Santé Publique  
Mr Hamadoun SANGHO Publique Santé

Mr Akory AG IKNANE Santé Publique  
Mr Hammadoun Aly SANGO Santé Publique

### **5. ASSISTANTS**

Mr Oumar THIERO Biostatistique

Mr Seydou DIARRA Anthropologie Médicale

## **CHARGES DE COURS & ENSEIGNANTS VACATAIRES**

Mr N'Golo DIARRA Botanique  
Mr Boubou DIARRA Bactériologie  
Mr Salikou SANOGO Physique  
Mr Boubacar KANTE Galénique  
Mr Souleymane GUINDO Gestion

Mr Mahamadou TRAORE Génétique  
Mr Lassine SIDIBE Chimie Organique

Mme DEMBELE Sira DIARRA Mathématiques  
Mr Modibo DIARRA Nutrition  
Mme MAÏGA Fatoumata SOKONA Hygiène du Milieu



**ENSEIGNANTS EN MISSION**

Pr. Doudou BA  
Pr. Babacar FAYE  
Pr. Mounirou CISS  
Pr Amadou Papa DIOP  
Pr. Lamine GAYE

Bromatologie  
Pharmacodynamie  
Hydrologie  
Biochimie.  
Physiologie



# **DÉDICACES ET REMERCIEMENTS**

## **DEDICACES**

**A Dieu** le tout puissant et miséricordieux :

Maître de tout les temps, de tous les cieux. Louange à Allah qui nous a permis de faire ce travail avec courage et en bonne santé.

Nous n'aurions pu réussir sans son aide. Continuez à nous assister toujours vous le clément vous le protecteur.

**Je dédie ce modeste travail à :**

**A mon tonton Sidiki COUMARE**

Ta simplicité et ta manière d'éduquer m'ont beaucoup impressionné.

Merci pour tes conseils et tes encouragements à mon égard.

Ton soutien aussi bien moral que matériel ne m'a jamais fait défaut. Tous mes respects et reconnaissances.

## **REMERCIEMENTS**

**Mes remerciements s'adressent :**

**A mon père N'Tjékoura COUMARE**

Ton éducation plus rigoureuse a fait de moi ce que je suis aujourd'hui. Tu as suivi avec beaucoup d'intérêt toute ma vie scolaire. Ce travail est le résultat de tous les sacrifices et multiples efforts que tu as consentis pour moi. Trouve ici l'expression de mon attachement. Que Dieu le tout puissant te garde longtemps en vie pour récolter le fruit de la graine que tu as semée.

**A ma mère Nièba COUMARE**

Tu t'es beaucoup sacrifiée afin de nous donner une bonne éducation. Tes conseils et bénédictions m'ont toujours accompagné durant mes études. Trouve ici l'expression de mon amour indéfectible.

**A ma grand-mère Nièba BOUARE**

Tu as joué le rôle de grand-mère comme il se doit. Je ne saurais t'oublier, car je sais que c'est grâce à tes conseils et encouragements que j'ai pu réaliser ce travail. Que Dieu t'accorde longue vie.

**A mon tonton Feu Zan COUMARE**

La mort t'a arraché avant la fin de ce travail. Me voir médecin a longtemps été un de tes souhaits.

Mon désir était de partager avec toi cet instant de bonheur ; mais Dieu en a décidé autrement.

Dors en paix Tonton !

**A mon Tonton Dassé BOUARE**

Vous avez joué un rôle inestimable pour moi, en cultivant en moi le travail honnête et bien fait, le respect des autres, la modestie et le courage.

C'est l'occasion de vous remercier du soutien tant moral que matériel que j'ai reçu de votre part. Ce travail est le vôtre.

**A mon frère Madou COUMARE**

Merci pour ton soutien moral. Que Dieu renforce le lien de parenté.

**A mon tonton Abdoulaye Coumaré**

Tu as été une source de motivation pour moi. Ce travail est le vôtre.

**A tous mes oncles et tantes maternels et paternels**

Soyez assurés de ma profonde reconnaissance

**A mes tante Mariam Coumaré et Marietou BOUARE**

Votre soutien moral ne m'a jamais fait défaut.

Recevez ici l'expression de toutes mes considérations.

**A mes frères et sœurs**

Restons unis .Veuillez recevoir mes sentiments les plus fraternels.

A mes cousins et cousines

Toute ma sympathie, ce travail est le vôtre.

**A mes nièces et neveux**

Je vous souhaite beaucoup de courage.

**A tous mes amis et leurs familles,**

Une liste nominative serait longue. Soyez assurés de mon amitié sincère.

A mes beaux frères et belles sœurs.

Tous mes respects et profond attachement.

**A mon ami Dr Intimbeye TEMBINE**

Qui reste pour moi un ami exceptionnel. Jusqu'ici nos idées convergent dans la vie courante. Que cette convergence soit continue. Nous avons toujours partagé ensemble les douleurs et les joies. Ce travail est le votre.

A Dr Renion Saye qui a joué un rôle inestimable dans la réalisation ce document. Ta générosité, ta sincérité, ton courage et le souci permanent de travail bien fait ont fait de toi un homme très respecté. Trouve ici l'expression de ma reconnaissance.

**A ma fiancée Mlle Coumba SOGORE**

Votre simplicité, votre sympathie, votre courage, votre admirable savoir vivre, votre sincérité à mon égard, font de vous une future épouse idéale. Trouve ici en retour l'expression de mon amour réciproque sincère.

**A ma belle famille SOGORE** que la relation qui nous lie se consolide davantage. Encore une fois merci pour votre sincérité à mon égard.

Aux camarades Dr Niawalou Dara, Dr Yeya Dicko, Dr Boubacar Niaré, Mr Modibo DIARRA, Mr Zoumana Isaac Traoré, Dr Drissa Konaté et Mlle Awa Soumaré, Mr Kassim SANOGO je me réjouis de votre ouverture d'esprit, de votre sérieux et votre sincère collaboration à mon égard. Je nourris l'espoir d'une bonne continuation dans notre collaboration. Trouvez ici l'expression de ma satisfaction.

A mes amis c'est l'occasion de vous dire merci.

**A mes camarades de classe :** que Dieu nous donne longue vie et plein de succès dans nos carrières professionnelles

Aux amis Dr Adama Mamby Keita, Dr Keffery Ibrahim Keita, Mr Tièman Diarra, Mr Lassina Yaya Diarra, Mr Abdoul Karim Tangara, Mr Ibrahim Coulibaly, Mr Madou Togola, et Mr Modibo Guindo pour lesquels je garde de très bons souvenirs, qu'ils trouvent l'expression de mes considérations.

Aux Dr Sory Diawara, Mamadou Tékété, Mahamadoun Hamady Assadou, Hama Maiga, Mamady Koné, Oumar Bila Traoré, Abdoul Baki Diallo, Rénion Saye, Cheik Oumar Dabo, Intimbe Timbiné, Etienne Guirou, Kourane Sissoko, Niawalou Dara, Yeya Dicko, Boubacar Niaré, c'est l'occasion de vous remercier pour vos contributions dans la réalisations de ce travail.

Au Dr Issaka Sagara, co-directeur de la thèse

Nous avons bénéficié de votre expérience. Nous avons beaucoup apprécié vos conseils, votre disponibilité, vos qualités humaines, et votre modestie. Votre persévérance et votre amour pour un travail bien fait font de vous un exemple à suivre. Recevez ici mes sincères remerciements.

**A mes promotionnaires du DEAP :** c'est l'occasion de vous dire merci.

**A la section Entomologie, Biologie Moléculaire du DEAP**

.A toute la population de Bancoumana, Kollé, et Samako pour leur collaboration.



**Aux membres du jury :**

**A notre Maître et Président de jury**

**Professeur Ogobara K. DOUMBO**

Professeur de Parasitologie Mycologie, à la FMPOS

Médecin chef du DEAP

Directeur du Centre de Recherche et Formation sur le Paludisme  
(MRTC)

Directeur du Pôle d'Excellence de Recherche sur le paludisme, Malaria  
Research and Training Center (MRTC).

Membre correspondant de l'Académie Nationale de Médecine de  
France.

Membre honoraire « Alpha Oméga Alpha Honor Medical Society » des  
États Unis d'Amérique.

Vous nous faites un grand honneur en acceptant de présider ce jury de thèse  
malgré vos multiples occupations.

La qualité de votre enseignement et la valeur de vos connaissances ont de tous  
les temps suscité notre admiration.

Au-delà de votre compétence, votre savoir scientifique, vos qualités humaines font  
de vous un maître exemplaire, le chercheur très admiré de tous les étudiants. Vous  
avez toujours fait de notre formation votre principale préoccupation. Nous vous  
prions d'accepter l'expression de nos sincères reconnaissances.

**A notre Maître et Directeur de thèse**

**Professeur Amagana DOLO**

Professeur Agrégé de Parasitologie-Mycologie, à la FMPOS

Cher maître, nous avons beaucoup admiré vos qualités humaines, scientifiques et pédagogiques.

Votre discrétion, votre dynamisme et votre disponibilité constante font de vous un maître exemplaire, admiré de tous.

Permettez-nous cher maître de vous réitérer, l'expression de notre profonde gratitude et de notre indéfectible disponibilité.

***A notre maître et juge :***

***Professeur Mahamadou Ali THERA***

Professeur agrégé de Parasitologie Mycologie, à la FMPOS

Médecin chercheur au DEAP de la faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie



C'est pour nous un plaisir de vous voir siéger dans notre jury malgré vos occupations. La spontanéité avec laquelle vous avez accepté de juger ce travail est le témoignage éloquent de votre attachement pour la cause de la science.

***A notre maître et Co-directeur de thèse***

***Docteur Issaka SAGARA***

Médecin chercheur au DEAP/MRTC/FMPOS et Biostatisticien

C'est une chance pour nous d'être encadré par un scientifique de votre niveau. Sous votre couverture nous avons pu accumuler les qualités rassurantes. Nous souhaitons vivement continuer le combat de la recherche à vos côtés.

Cher maître c'est le lieu de vous remercier pour votre modestie, votre disponibilité constante, vos qualités scientifiques et pédagogiques, votre esprit d'équipe et votre rigueur pour le travail bien fait qui font de vous un maître apprécié.

Permettez nous cher maître de vous adresser l'expression de notre profonde reconnaissance.



# SIGLES ET ABRÉVIATIONS

## **LISTE DES ABREVIATIONS**

AMA1 : Premier Antigène de la Membrane Apicale

An= Anopheles

ATP = Antipaludique

CTA= Combinaison Thérapeutique à base d'Artémisinine

CI= Contre indication

DEAP= Département d'Epidémiologie des Affections Parasitaires.

FMPOS= Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie.

FM : Frottis mince

FBH= Fièvre bilieuse hémoglobinurique.

GE : Goutte Epaisse

Hb= Hémoglobine.

Ht= Hématocrite

IgA= Immunoglobuline de classe A.

IgG= Immunoglobuline de classe G.

L 1 : Lecteur 1

L 2 : Lecteur 2

L 3 : Lecteur 3

MRTC: Centre de Recherche et de Formation sur le Paludisme

NIH : Instituts Nationaux de la Santé (National Institutes of Health)

OMS= Organisation Mondiale de la Santé.

OHVN : Office de la haute vallée du Niger

PNLP= Programme National de Lutte contre le Paludisme.

. PVE= Paludisme Viscéral Evolutif.

*P. falciparum*= *Plasmodium falciparum*.

*P. malariae*= *Plasmodium malariae*.

*P. vivax*= *Plasmodium vivax*.

*P. ovale*= *Plasmodium ovale*.

QBC= Quantitative Buffy Coat.

TNF= Tumor Necrosis Factor.

WHO= World Health Organization

## **FIGURES**

**Figure 1** : Cycle de développement du plasmodium d'après Ghosh et al ; 2000

**Figure 2 :** Diagnostic du paludisme ; Plasmodium à divers stades. Aspects sur frottis minces

**Figure 3 :** Classification de la splénomégalie selon Hackett

**Figure 4 :** La distribution mensuelle de la pluviométrie de 2006-2007 à Bancoumana

**Figure 5:** Schéma d'une lame avec la goutte épaisse et le frottis.

**Figure 6 :** Confection du frottis.

**Figure 7 :** Sens de lecture d'une lame

**Figure 8 :** Distribution de la population d'étude selon le sexe.

**Figure 9 :** Le nombre de goutte épaisse réalisé par mois et par année.

## **Tableaux**

**Tableau I:** Classification des antipaludiques

**Tableau II :** Détermination de la concordance entre L1 et L2 en fonction de la densité parasitaire

**Tableau III :** Calcul de la sensibilité et de la spécificité

**Tableau IV:** Distribution de la population d'étude selon l'ethnie

**Tableau V:** Le taux de concordance de lecture de la goutte épaisse selon le mois et l'année.

**Tableau VI :** La fréquence globale de la concordance.

**Tableau VII :** Les causes de discordance selon la classe parasitaire.

**Tableau III :** Répartition par mois de paludisme confirmé à la goutte épaisse.

**Tableau IX :** La fréquence des espèces plasmodiales selon le mois en 2006.

**Tableau X :** Répartition mensuelle des espèces plasmodiales en 2007.



# SOMMAIRE

<u>I. INTRODUCTION:</u> .....	<u>26</u>
<u>II. OBJECTIFS</u> .....	<u>31</u>
<u>III. GENERALITES</u> .....	<u>33</u>
1. Rappel sur le paludisme et les groupes à risque.....	33
2. Rappel de l'épidémiologie du paludisme au Mali.....	34
3. Parasite et Vecteur.....	35
4. Biologie des espèces plasmodiales :.....	38
5. Diagnostic biologique:.....	41
6. Aspects économiques :.....	46
7. Aspects cliniques : .....	47
<u>IV. METHODOLOGIE</u> :.....	<u>59</u>
1. Lieu d'étude:.....	60
.....	60
2. Le choix du site d'étude :.....	62
4. Type d'étude :.....	62
5. Echantillonnage et déroulement du travail :.....	63
6. Définition de cas :.....	63
7. Techniques de la goutte épaisse:.....	63
<u>V. RESULTATS</u> .....	<u>73</u>
2. Le taux de concordance : .....	74
3. Les Causes de discordance :.....	76
Nombre de GE .....	77
Nombre de GE .....	78
<u>VI. DISCUSSION</u> .....	<u>83</u>
1. Méthodologie : .....	83
2. Caractéristiques sociodémographiques :.....	83
3. Le taux de concordance:.....	84
4. Les causes de discordance :.....	84
<u>VII. CONCLUSION</u> .....	<u>87</u>
<u>IX. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</u> .....	<u>91</u>
<u>ANNEXES</u> .....	<u>101</u>





# **INTRODUCTION**

## I. INTRODUCTION:

Le paludisme est une érythrocytopathie hémolysante et souvent létale due à l'introduction et à la multiplication dans l'organisme humain d'un protozoaire de genre *Plasmodium* [1]. Quatre espèces de plasmodies infectent l'homme : *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium ovale*, *Plasmodium vivax*. *Plasmodium knowlesi* est une espèce simienne récemment décrite chez l'homme. [2]

Le paludisme demeure de nos jours un problème majeur de santé publique dans les régions tropicales et subtropicales. C'est la maladie parasitaire la plus fréquente et la plus largement répandue dans le monde.

Avec 247 millions de cas cliniques en 2006, dont 880 000 mortels, le paludisme est l'une des maladies les plus mortelles ; il touche surtout les enfants d'Afrique [3].

L'organisation mondiale de la santé estime que 86 % des cas de paludisme clinique se produisent en Afrique, 91% des cas de décès dû au paludisme ont lieu dans ce même continent et 85% de ces décès surviennent chez les enfants de moins de cinq ans [4].

En Afrique, le paludisme demeure une maladie qui, sur le plan socio-économique a des conséquences désastreuses (en vie humaine en frais médicaux et en journées de travail perdues [5]. Les enfants avant le développement de leur prémunition contre le paludisme maladie sont exposés aux risques de développement des formes graves et compliquées de maladie [6]. L'infection à *Plasmodium falciparum* est caractérisée par une parasitémie pouvant entraîner la mort à travers les complications comme l'insuffisance rénale, une hémolyse sévère avec anémie, un œdème pulmonaire et une grande variété d'anomalie neurologique grave.

Les médicaments antipaludiques constituent un outil essentiel de la lutte contre le paludisme, car un diagnostic précoce et traitement approprié réduisent mortalité et charge de morbidité liée au paludisme.

L'émergence des résistances aux antipaludiques est un handicap majeur dans la lutte contre le paludisme, responsable d'une augmentation de la morbidité et de la létalité. Ce phénomène a rendu la chloroquine inutilisable dans la plupart des zones d'endémie.

L'utilisation rationnelle des antipaludiques permet de maîtriser la propagation du phénomène de résistance aux antipaludiques. [8].

Au Mali le paludisme se caractérise par son endémicité dans les régions du centre et du sud et par son potentiel épidémique au nord. Parmi les 4 espèces décrites, *Plasmodium falciparum* représente environ 90% de la formule parasitaire avec de légères variations saisonnières. La mortalité infanto juvénile attribuable au paludisme est d'environ 42% [7].

En 1993, le gouvernement du Mali a créé le PNLP pour élaborer, coordonner, et faire appliquer les stratégies de lutte contre cette maladie. De 1987-2003 la chloroquine était recommandée comme médicament de première intention dans la chimioprophylaxie le traitement des accès palustres simples, tandis que la Sulfadoxine-Pyriméthamine avait été retenue pour les cas d'échec thérapeutique. La quinine était réservée pour le traitement de paludisme grave. Le PNLP ainsi a amorcé un processus de changement des stratégies de lutte antipaludique qui abouti :

- en 2002, à la mise en œuvre de la stratégie intégrée de promotion de moustiquaires imprégnées d'insecticides,
- en 2003, à l'introduction du traitement préventif intermittent (TPI) à la Sulfadoxine-Pyriméthamine chez la femme enceinte ;
- en 2004, au principe du changement du traitement du paludisme avec les combinaisons antipaludiques à base d'artémisinine (CTA) selon les recommandations de l'OMS.

Le Mali a adhéré aux objectifs d'Abuja et à l'initiative << faire reculer le paludisme >> en 1998 dont l'un des objectifs majeurs est de réduire les taux de morbidité et de mortalité imputables au paludisme de 50 % d'ici à 2010 [9]

A fin de lutter efficacement contre le paludisme, les autorités sanitaires ont entrepris une réforme du système de santé qui vise à décentraliser la prise en charge des cas de paludisme : rapidité du diagnostic et traitement précoce et approprié. Cette politique s'appuie sur la prise en charge d'abord au niveau de la mère puis des centres de santé communautaire et enfin des centres de références.

Malheureusement, l'une des limites du succès de cette politique est le retard du diagnostic entraînant une évolution vers les formes graves de paludisme.

Le diagnostic actuel du paludisme est basé sur les techniques classiques que sont la goutte épaisse et le frottis mince. Elles nécessitent un équipement coûteux, une source de lumière, un technicien qualifié et un temps d'exécution relativement long. Le développement actuel des techniques simples, peu chères, utilisables en périphérie est la solution à moyen et long terme pour augmenter la rapidité du

diagnostic et la prise en charge adaptée. Les recherches dans ce domaine ont abouti à la mise au point de nouvelles méthodes basées sur les bandelettes réactives telles le

Parasight F<sup>®</sup> et l'OptiMAL<sup>®</sup>. L'OptiMAL<sup>®</sup> test basé sur la détection du lactate déshydrogénase du parasite (pLDH) enzyme intervenant dans la transformation du lactate en Pyruvate ; il est à noter que seul un parasite vivant peut produire cet enzyme. La présence de cet enzyme dans le sang circulant est courte avec une demi-vie de l'ordre de 2 à 4 jours. Le test OptiMAL<sup>®</sup> présente l'avantage par rapport au Parasight F<sup>®</sup> de mettre en évidence une infection en cours et de poser le diagnostic d'espèces. De plus la nouvelle présentation de ce test : OptiMAL-IT<sup>®</sup> procure une autonomie complète sur le terrain puisque tous les accessoires nécessaires au test (y compris pour la prise de sang au bout du doigt) sont inclus dans un sachet unitaire qui peut être conservé à température ambiante (d'après le fabricant : 30 degrés Celsius, en évitant tout de même l'exposition au soleil) [11].

Un diagnostic adéquat est capital pour assurer l'efficacité du traitement antipaludique. Dans la plupart des régions d'Afrique, la pose du diagnostic du paludisme sur la seule base de la symptomatologie est une pratique courante. Or, le diagnostic clinique du paludisme est très imprécis, étant donné que les symptômes sont non spécifiques et peuvent être la manifestation d'autres maladies infectieuses fébriles. On estime que 50% des Africains traités aux antipaludiques parce que présentant une fièvre pourraient en réalité ne pas être infectés par le parasite du paludisme d'où l'augmentation inutile des coûts thérapeutiques et le développement de la pharmacorésistance. Il devient donc urgent de réserver ces antipaludiques aux malades qui en ont réellement besoin. Cependant, ces méthodes doivent être considérées comme de tests d'appoint pouvant s'ajouter à la méthode longuement établie de l'examen de goutte épaisse et du frottis sanguin qui est toujours considérée comme la référence par l'OMS et non le substitut [12]. Quelques points méritent d'être soulignés. Il est toujours préférable d'affirmer un diagnostic parasitologique sur un argument direct plutôt que sur la présence d'antigènes, car la mise en évidence du parasite témoigne bien de l'évolutivité de la maladie alors qu'une sérologie positive isolée n'a pas une signification univoque : ainsi la présence de l'hématozoaire au frottis sanguin ou à la goutte épaisse affirme l'accès palustre alors qu'un taux modéré d'antigènes peut n'être que le témoin d'une infestation ancienne n'appelant aucune thérapeutique [13].

Même deux techniciens expérimentés peuvent obtenir des numérations parasitaires très différentes, surtout lorsque les densités sont élevées. Pour les besoins des résultats précis comme lors des essais cliniques, l'idéal serait que deux techniciens qualifiés examinent indépendamment l'ensemble des lames (14). Ce système de double lecture existe au MRTC. IL a pour but de de contrôler la qualité des résultats en quantifiant le taux de discordance entre les lecteurs certifiés.

D'ou l'intérêt de notre étude afin d'étudier si l'application du système de la double lecture pourrait minimiser les marges d'erreur par rapport aux résultats de la goutte épaisse



# **OBJECTIFS**

## **II. OBJECTIFS**

### **1. Objectif général :**

Déterminer l'intérêt de la double lecture des gouttes épaisses dans le diagnostic biologique du paludisme.

### **2. Objectifs spécifiques :**

Déterminer le taux de concordance entre deux lecteurs certifiés,

Déterminer les causes de discordance,

Déterminer la fréquence mensuelle de confirmation du paludisme à la goutte épaisse,

Déterminer les indices parasitologiques dans la localité.



# **GÉNÉRALITES**



### III. GENERALITES

Chez l'homme, on distingue le paludisme infection et le paludisme maladie. Le paludisme infection se traduit par le portage asymptomatique du parasite. Dans le paludisme maladie, il y a différente expression clinique du portage : la forme la plus classique est l'accès palustre dit simple, mais il existe une grande diversité de tableau clinique depuis l'accès palustre simple jusqu'au neuropaludisme mortel [16].

#### 1. Rappel sur le paludisme et les groupes à risque

Le paludisme est une maladie parasitaire potentiellement mortelle transmise par des moustiques. On pensait à l'origine que cette maladie provenait des zones marécageuses, d'où le nom de paludisme dérivé du mot ancien « palud », marais. C'est en 1880 qu'Alphonse Laveran découvre l'hématozoaire du paludisme à partir de l'observation d'une goutte de sang à l'état frais entre lame et lamelle provenant d'un patient infecté par *Plasmodium falciparum*, qui lui a valu le prix Nobel de médecine en 1907 [17]. De 1895 à 1897, la transmission de cette affection par la piqûre des moustiques du genre *Anophèles* est soupçonnée par Ross et confirmée par Grassi en 1898. (Ross [18], Grassi).

Quatre espèces de parasites sont retrouvées chez l'homme (*Plasmodium falciparum*, *P. malariae*, *P. ovale* et *P. vivax*) mais *P.falciparum* est le principal responsable des formes potentiellement mortelles. Il est répandu sur l'ensemble de la zone intertropicale. *P.vivax* possède également une large répartition mais il est absent en Afrique intertropicale. *P malariae* présente une répartition plus clairsemée grossièrement superposable à celle de *P.falciparum*. Enfin, *P.ovale* est essentiellement retrouvé en Afrique intertropicale.

Toute infection avec *P.falciparum* peut devenir grave si le traitement est retardé ou inadéquat. Cependant les personnes qui ont été exposées à maintes reprises au paludisme à *P.falciparum* développent une immunité et sont moins susceptibles de faire un paludisme grave à *P. falciparum*.

Les personnes à risque sont :

Les enfants dans les régions de forte endémicité ; en particulier ceux âgés de six mois à six ans.

Les personnes de tout âge dans les régions de faible endémicité.

Les voyageurs venant de régions où il n'existe pas de transmission de paludisme à *P. falciparum* qui se rendent dans une région impaludée ; le séjour peut porter sur un voyage dans un seul pays ou entre plusieurs pays.

Les personnes qui retournent dans des régions fortement endémiques après quelques années d'absence.

Les femmes enceintes non immunes (à risque pour toutes les complications).

Les femmes enceintes semi immunes, particulièrement les primigestes ;

La femme enceinte et l'enfant à naître sont particulièrement vulnérables face au paludisme, cause majeure de mortalité périnatale, de faible poids de naissance et d'anémie maternelle.

L'infection palustre pendant la grossesse est un problème majeur de santé publique survenant dans toutes les régions tropicales et subtropicales. Dans la plupart des zones d'endémie, les femmes enceintes représentent le principal groupe d'adultes exposé à la maladie. Le phénomène a surtout été étudié en Afrique subsaharienne qui totalise 90 % de la charge mondiale de morbidité et de mortalité liée au paludisme. Pendant la grossesse, cette charge est essentiellement imputable à *Plasmodium falciparum*, qui est l'espèce la plus courante en Afrique. Chaque année, on recense 30 millions au moins de grossesses chez des femmes vivant dans des régions impaludées d'Afrique, dont la plupart résident dans des zones de transmission relativement stables.

Le paludisme tue un enfant en Afrique toutes les 30 secondes. De nombreux enfants qui survivent à un accès de paludisme grave peuvent présenter des troubles de l'apprentissage ou une atteinte cérébrale [19].

## **2. Rappel de l'épidémiologie du paludisme au Mali**

Au Mali, le paludisme constitue la première cause de morbidité 15,6% et de mortalité 13% [23] ; 49% de convulsions fébriles de l'enfant et du nourrisson à Bamako [24] et est responsable de 16,7% des hospitalisations pédiatriques [25]. Il présente 48% de motif de consultation dans les centres de santé [26]. Il est

également responsable de 11,64% de mortalité et de 26,77% de morbidité dans le service de pédiatrie du CHU Gabriel Touré [21]. Dans cette zone chaque enfant fait au moins un accès palustre par saison de transmission et l'incidence des formes graves et compliquées est de 40 à 52 pour 1000 par an [27].

Cinq faciès épidémiologiques de transmission du paludisme ont été décrits par Doumbo et al [28]:

- La zone de transmission saisonnière longue de quatre à six mois au sud. Elle correspond à la région soudano guinéenne. Le paludisme y est holo-endémique avec un indice plasmodique supérieur à 75% de juin à novembre.
- La zone de transmission saisonnière courte à quatre mois dans les régions de la savane nord soudanienne et sahel. Le paludisme y est hyper endémique avec un indice plasmodique variant entre 50 et 75%.
- La zone sub saharienne au Nord, où la transmission est sporadique voire épidémique, l'indice plasmodique est inférieur à 5%.
- La zone du delta intérieur du fleuve Niger et les zones de retenue d'eau et de riziculture (barrage) où la transmission est bimodale voire plurimodale. En début de pluie, la période de décrue et de mise en eau des casiers rizicoles. Le paludisme est de type méso endémique avec un indice plasmodique inférieur à 40%.
- Le milieu urbain en particulier celui de Bamako est impropre à l'impaludation (Pollution des gîtes, médicalisation etc.). Le paludisme y est de type hypo endémique avec un indice plasmodique inférieur à 10% cette hypo endémicité du milieu urbain expose les enfants des citadins aux formes graves et compliquées du paludisme, Souvent à un âge avancé par rapport aux enfants des zones rurales [29].

Ce milieu peut être divisé en deux: le centre ville, le milieu péri urbain (Constitué par les villages situés en périphérie de la ville de Bamako).

### **3. Parasite et Vecteur**

#### **3.1 Agent pathogène**

Le paludisme est affection parasitaire due à un protozoaire, appartenant au genre *Plasmodium*. Quatre espèces plasmodiales peuvent être responsables de l'infection chez l'homme. Il s'agit de *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium*

*ovale* et *Plasmodium malariae*. Les quatre espèces diffèrent par des caractéristiques biologiques et épidémiologiques.

Les manifestations cliniques sont déterminantes de par leur répartition géographique et leur capacité à développer des résistances aux antipaludiques. Le *Plasmodium falciparum* est l'espèce qui est la plus largement répandue à travers le monde. Elle développe des résistances aux antipaludiques et est responsable des formes cliniques graves et mortelles. Ces plasmodies sont des protozoaires intracellulaires obligatoires dont la multiplication est asexuée (ou schizogonique) chez l'homme et sexuée (ou sporogonique) chez le moustique vecteur, l'anophèle femelle.

**a. *Plasmodium falciparum*** est une espèce prédominante dans les régions intertropicales. Elle est transmise toute l'année avec cependant des recrudescences saisonnières. Dans les régions sub-tropicales, il ne survient qu'en période chaude et humide. Sa transmission s'interrompt lorsque la température tombe en dessous de 18°C. L'évolution se fait d'un seul temps après une incubation de 7 à 12 jours. On n'observe pas de rechutes tardives comme avec les autres espèces telles *P. vivax* et *P. ovale*. *P. falciparum* est responsable des formes cliniques graves, notamment du neuropaludisme.

**b. *Plasmodium malariae***, elle est l'espèce qui sévit en Afrique, de manière beaucoup plus sporadique. Elle se différencie des autres espèces par une incubation plus longue (15 à 21 jours), par une périodicité différente de la fièvre (cycle érythrocytaire de 72 heures responsable d'une fièvre quarte) et surtout par sa capacité à entraîner des reviviscences très tardives jusqu'à 20 ans après le retour de la zone d'endémie. Les mécanismes physiopathologiques responsables de ces reviviscences tardives ne sont pas totalement élucidés. L'infection est bénigne mais *P. malariae* peut parfois entraîner des complications rénales.

**c. *Plasmodium ovale***, cette espèce sévit en Afrique intertropicale du Centre et de l'Ouest (et dans certaines régions du Pacifique). Elle provoque une fièvre tierce bénigne, comme *P. vivax* dont elle est très proche. Son incubation est de 15 jours au minimum mais peut être beaucoup plus longue, jusqu'à 4 ans. Son évolution est bénigne mais on peut observer, comme avec *P. vivax*, des rechutes tardives (5 ans). Schématiquement on dit que *P. ovale* remplace *P. vivax* là où cette dernière espèce n'existe pas.

**d. *Plasmodium vivax*** est une espèce très largement répandue en Amérique du Sud et en Asie. Elle est beaucoup plus rarement observée en Afrique.

Les érythrocytes du groupe sanguin Duffy négatif (observé chez la majorité des sujets mélanodermes) ne possèdent pas le récepteur membranaire nécessaire à l'infection par *P. vivax*. Sa transmission s'arrête au dessous de 15° C. Sa période d'incubation est de 11 à 13 jours, mais on peut observer des rechutes (accès de reviviscence) pendant 3 à 4 ans. L'affection par *P. vivax* est classiquement considérée comme bénigne (fièvre tierce bénigne, c'est-à-dire due à un cycle érythrocytaire de 48 heures) mais en zone d'endémie il peut avoir des répercussions graves sur l'état de santé des populations, notamment par l'intermédiaire des anémies chez l'enfant [20].

Au Mali, l'espèce plasmodiale dominante de la formule parasitaire est le *Plasmodium falciparum* qui est la plus dangereuse. Il est prévalent à plus de 90 % suivi de *Plasmodium malariae* ( $\leq 10\%$ ), *P. ovale*  $\leq 1\%$  et *P. vivax* décrit au Nord du Mali [21].

### **e. *Plasmodium knowlesi*, [2 ; 10]**

Le paludisme à *Plasmodium knowlesi* chez les humains.

*P. knowlesi* parasite les érythrocytes humains et sont difficiles à distinguer de *P. malariae* par microscopie. Cette similitude morphologique entre *P. knowlesi* et *P. malariae* nécessite l'utilisation de méthodes moléculaires (PCR) pour l'identification correcte.

### **3.2 L'anophèle femelle (vecteur)**

Ce sont des moustiques qui appartiennent à la famille des Culicidés de la sous-famille des Anophelinés. Les anophèles femelles se reconnaissent par la position oblique au repos par rapport au support sur lequel ils sont posés et leurs appendices céphaliques.

Leur reproduction exige des protéines du sang, de l'eau, des glucides et de la chaleur. La femelle fécondée ne peut pondre qu'après un repas sanguin, pris sur l'homme ou sur l'animal. Les gîtes de ponte varient selon l'espèce anophélienne : collections d'eaux permanentes ou temporaires (persistant pendant au moins dix jours consécutifs), claires ou polluées, douces ou saumâtres, ensoleillées ou ombragées. Dans l'eau les œufs se transforment en larves puis en nymphes, dont naîtra une nouvelle génération d'adultes après des stades de métamorphoses. Chaleur et humidité conditionnent également l'activité génitale des femelles : en zone tempérée, les anophèles ne pondent que lorsque les conditions sont favorables; en zone équatoriale leur activité est permanente; en zone tropicale la

saison sèche limite la prolifération par réduction du nombre de gîtes. Les femelles vivent environ un mois. Elles piquent entre le coucher et lever du soleil.

La plupart des anophèles ne s'éloignent guère de leur gîte; ils sont parfois entraînés à de grande distance par les avions, les automobiles et à un moindre degré par les vents car les anophèles sont très fragiles [20].

L'anophèle se dirige plus volontiers vers les lieux où la concentration en dioxyde de carbone est la plus importante, c'est à dire l'intérieur des habitations, ainsi que les hommes même à l'extérieur de leurs habitations.

Les principaux vecteurs du paludisme rencontrés au Mali sont *Anopheles gambiae* s.l et *Anopheles funestus* [21]. *An. gambiae* s.l est un complexe d'espèce composé de *An. gambiae* s.s et *An. arabiensis*.

*Anopheles gambiae* s.s comporte trois formes chromosomiques à savoir Bamako, Mopti et Savane [22].

## **4. Biologie des espèces plasmodiales :**

### **4.1 Cycle biologique**

Les recherches entreprises ces dernières années, pour la mise sur le marché de nouveaux médicaments et les essais de mise au point d'un vaccin antipaludique, ont considérablement enrichi la connaissance de la biologie du parasite et ont mis en évidence la complexité des relations entre le parasite et ses hôtes. Les plasmodies sont des protozoaires intracellulaires. Leur cycle biologique est complexe et se déroule chez deux hôtes : l'Homme (hôte intermédiaire chez lequel se déroule le cycle schizogonique asexué) et l'anophèle femelle (hôte définitif chez qui on observe le cycle sporogonique).

### **Schizogonie ou multiplication asexuée chez l'Homme**

#### **-Schizogonie hépatique ou exo érythrocytaire**

Au cours de son repas sanguin, un moustique infesté injecte dans un capillaire des **sporozoïtes**, formes infestantes contenues dans ses glandes salivaires. Ces sporozoïtes ne font que transiter une demi-heure dans les capillaires sanguins et, en 24 heures, gagnent le foie. Ils pénètrent dans les hépatocytes. Leur développement et leur multiplication repoussent en périphérie le noyau de la cellule et finit par constituer une masse multi nucléée appelée **schizonte** ou

**corps bleu.** La cellule éclate, libère de nombreux **mérozoïtes**. Certains parasites restent quiescents dans l'hépatocyte, sans se transformer en corps bleu (**hypnozoïtes**). Après un temps variable, génétiquement déterminé, ces hypnozoïtes entrent en division. Ce phénomène n'existe que chez les espèces **P. vivax** et **P. ovale**, expliquant les accès de reviviscence schizogonique tardifs. Schizogonie érythrocytaire ou endocytaire.

### **-Schizogonie érythrocytaire**

Les **mérozoïtes** libérés gagnent la circulation sanguine, pénètrent par endocytose dans une hématie et deviennent chacun un **trophozoïte**. Les mérozoïtes présentent une affinité pour tous les globules rouges, quel que soit leur stade. Le processus de pénétration du mérozoïte à l'intérieur de l'hématie se fait en trois étapes : la reconnaissance, la réorientation ou l'adaptation conformationnelle du mérozoïte au globule rouge et la pénétration qui s'accompagne de la libération du contenu des organites apicaux du mérozoïte (rhoptries et micronèmes). Celui-ci se développe, grossit et son noyau se divise. Il en résulte un **schizonte**, qui se charge progressivement d'un pigment spécifique d'origine parasitaire, l'hémozoïne ou pigment malarique. La multiplication des noyaux forme dans l'hématie un **corps en rosace**. Parallèlement, apparaissent dans l'hématie selon l'espèce plasmodiale en cause, des granulations de Schüffner (**P. vivax, P. ovale**), des taches de Maurer (**P. falciparum**) ou des ponctuations de Ziemann (**P. malariae**). Le corps en rosace, dilaté et mûr, éclate ; cet éclatement est contemporain de l'accès thermique clinique. L'hémozoïne libérée est phagocytée par des leucocytes polynucléaires ou mononucléaires qui deviennent mélanifères. Ils déversent cette charge pigmentaire dans les tissus, au niveau des cellules du système monocyte-macrophage (cellules de Küpffer du foie et histiocytes de la rate). Les mérozoïtes libérés vont parasiter une nouvelle hématie et poursuivre le cycle intra-érythrocytaire. Chaque cycle schizogonique dure 48 heures chez *P. vivax*, *P. ovale* et *P. falciparum* (fièvre tierce) ou 72 heures chez *P. malariae* (fièvre quarte). Ce cycle intra-érythrocytaire est responsable de la pathologie liée au paludisme. Les tests du ParasightF® et de l'OptiMAL-IT s'intéressent à cette partie du cycle biologique du parasite. Après plusieurs schizogonies, apparaissent dans les hématies des éléments à potentiel sexué, les **gamétocytes**, qui ne poursuivront leur développement que s'ils sont absorbés par un anophèle femelle.

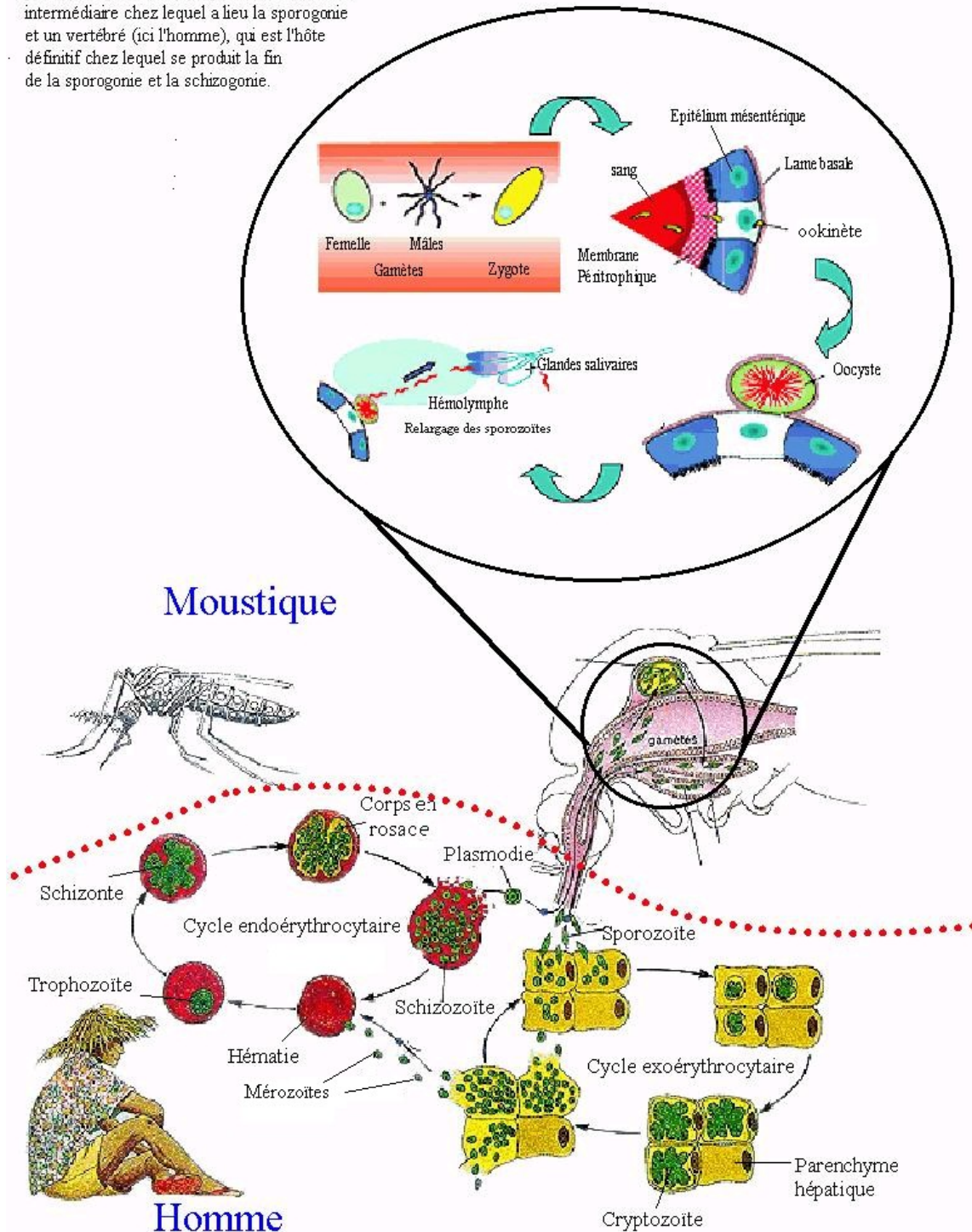
### **Sporogonie ou multiplication sexuée chez l'anophèle**

Après une piqûre sur un paludéen, l'anophèle femelle absorbe toutes les formes sexuées et asexuées (des schizontes, des corps en rosace, des gamétocytes) du parasite. Les éléments asexués sont digérés et seuls les **gamétocytes** ingérés poursuivent le cycle [30]. Les gamétocytes absorbés, à potentiel sexuel mâle ou femelle parviennent dans l'estomac du moustique. Le gamétocyte mâle se transforme en gamète par ex flagellation et le gamétocyte femelle par expulsion du corpuscule chromatinien. Cette ex flagellation ne se produit pas dans l'organisme humain, mais peut être obtenue dans le sang humain mis entre lame et lamelle, et grâce à des modifications physico-chimiques. La fécondation du gamète femelle (gamogonie) donne un œuf mobile, encore appelé **ookinète** ; Cet œuf s'implante sous la paroi de l'estomac du moustique en formant **l'oocyste**, dans lequel, par division, s'individualisent les **sporozoïtes** (sporogonie). Comme au cours des processus précédents, c'est l'éclatement de la cellule hôte ou de l'oocyste formé qui libère les éléments mobiles. Ces sporozoïtes gagnent préférentiellement les glandes salivaires du moustique : à partir de ce réservoir, ils pourront être injectés avec la salive lors d'une piqûre infestante. Chez le moustique, l'ensemble de ce cycle se déroule en 10 à 40 jours, selon la température extérieure et les espèces en cause.



**Fig: 1 Cycle de développement du *Plasmodium* (D'après Ghosh et al. , 2000).**

Au cours de son développement, le *Plasmodium* passe par deux hôtes: le moustique, vecteur et hôte intermédiaire chez lequel a lieu la sporogonie et un vertébré (ici l'homme), qui est l'hôte définitif chez lequel se produit la fin de la sporogonie et la schizogonie.



## 5. Diagnostic biologique:

### 5.1 Signes d'orientation :

Toute fièvre au retour d'une zone d'endémie palustre doit être suspecte de paludisme.

L'hémogramme montre une anémie de type hémolytique, d'intensité variable, une leucopénie inconstante parfois remplacée par une hyperleucocytose modérée à polynucléaires neutrophiles, enfin, une thrombopénie presque toujours observée dans le paludisme à *P. falciparum* mais aussi, à un degré moindre, lors des accès à *P. vivax* et *P. ovale*.

## **5.2 Diagnostic parasitologique :**

Il s'agit d'un diagnostic d'urgence chez les groupes à risque. Il consiste à la mise en évidence des formes sanguines du parasite. Le prélèvement sanguin doit être effectué le plus près possible du pic thermique.

### **a. Méthodes de mise en évidence du parasite (techniques classiques) :**

#### **-Le Frottis mince (FM) :**

Le frottis mince est utilisé dans le diagnostic d'urgence du paludisme. Une goutte de sang prélevée au bout du 3<sup>ème</sup> ou 4<sup>ème</sup> doigt est déposée à l'extrémité d'une lame porte-objet, une deuxième lame qu'on incline d'environ 45° est amenée au contact de cette goutte de sang, puis dans un mouvement régulier et ininterrompu, la lame inclinée entraîne derrière elle ce sang qui s'étale en couche uni stratifiée. La préparation est d'abord fixée au méthanol absolu pendant quelques secondes avant d'être colorée au Giemsa. Ce frottis montre des parasites dont le cytoplasme est bleu et le noyau rouge. La lecture est faite au microscope optique à l'immersion à l'objectif 100. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'hématies parasites. Les avantages de cette technique sont sa rapidité et la mise en évidence de l'espèce plasmodiale en cause. Cependant, le frottis mince ne permet pas de détecter les faibles parasitémies (moins de 200 parasites par  $\mu\text{l}$ ).

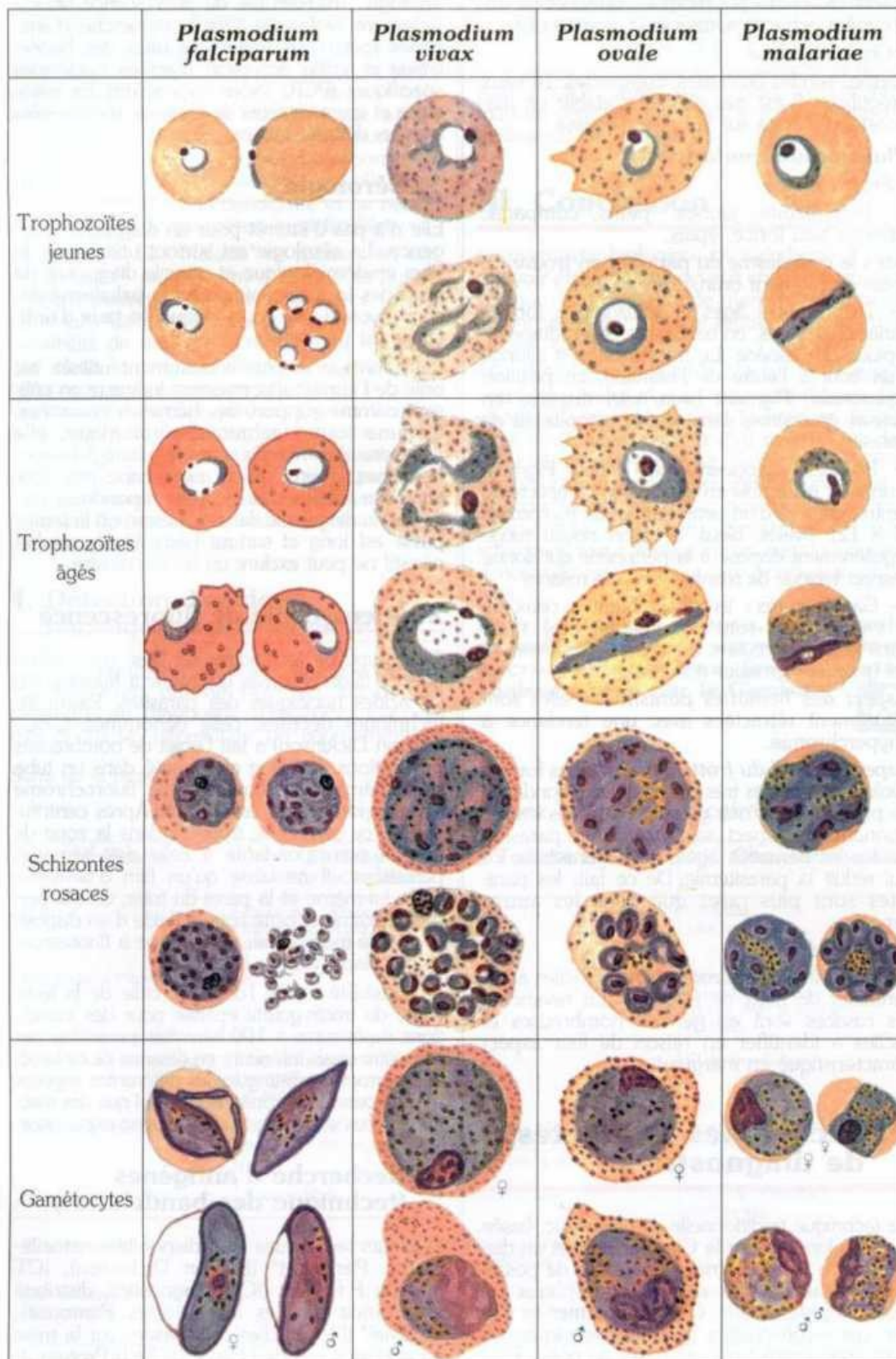
#### **-La Goutte épaisse (GE) :**

C'est une technique de micro concentration sur lame. Une petite goutte de sang prélevé au troisième ou au quatrième doigt est déposée au milieu d'une lame porte-objet. Avec le bout d'une seconde lame, la goutte est uniformément étalée sur une surface de 1 à 1.5 cm de diamètre. Elle est colorée après séchage à la température ambiante au Giemsa dilué à 3% pendant 30 mn et lue au microscope à l'objectif 100. Elle doit être effectuée par un technicien spécialisé. Son principal avantage est le diagnostic de la maladie dans les cas de faibles parasitémies (10 à 20 parasites par  $\mu\text{l}$  de sang). Colorée au Giemsa, elle montre les parasites sans le repère de l'hématie. Les résultats sont exprimés en nombre de parasites par  $\mu\text{l}$  de sang. Elle permet également de déterminer la charge parasitaire et d'établir des indices épidémiologiques (l'indice plasmodique et l'indice gamétocytaire).

Il est à signaler que ces deux techniques (GE et FM) demandent un microscopiste bien expérimenté et une source de lumière sans oublier un temps d'exécution plus long (au moins 90 mn pour le résultat d'une Goutte épaisse et 15 à 20 mn pour celui d'un frottis mince [28])



Diagnostic du paludisme : *Plasmodium* à divers stades. Aspects sur frottis minces



**Figure 2** : Diagnostic du paludisme ; *Plasmodium* à divers stades. Aspects sur frottis minces

**b. Quantitative Buffy Coat (QBC) :**



C'est une méthode d'immunofluorescence directe. Le principe consiste à concentrer une petite quantité de sang par centrifugation dans un micro tube à hématocrite. Les globules rouges parasités se trouvent aussi à l'interface des leucocytes des hématies saines. L'acridine orange, agent intercalant spécifique des acides nucléiques, contenu dans les noyaux fait apparaître le parasite avec une fluorescence verte ou jaune orangée à l'intérieur de l'hématie.

Le QBC a une sensibilité supérieure à celle de la goutte épaisse. Elle est intéressante dans les formes pauci parasitaires, dans la surveillance de l'évolution de l'infection.

Son principal inconvénient est la difficulté d'établir un diagnostic d'espèce. En outre la nécessité d'avoir un microscope à fluorescence peut limiter les petites structures dans l'acquisition de cet appareil

### **c. Méthodes indirectes de mise en évidence des constituants parasitaires (méthode immunologique) [44]**

**Tests rapides :** (Parasight F et l'OptiMAL-IT)

Des bandelettes de nitrocellulose sont utilisées pour réaliser la détection de protéines (pfHPR2) pour le test de Parasight F ou d'enzymes parasitaires (pLDH) pour le test d'OptiMAL-IT. Ces tests ne nécessitent qu'un minimum de matériel et une formation minimale. Leur interprétation est simple

#### **-Parasight F :**

Il consiste en la recherche dans le sang total de l'antigène protéique de type II riche en histidine (HPRII) de *Plasmodium falciparum*

La protéine pfHPR2 (*P. falciparum* Histidine Reich protéine 2) est relativement spécifique de ce parasite. L'utilisation de bandelettes sur lesquelles ont été fixés des anticorps anti-pfHPR2 donne une idée assez exacte de la présence ou non de parasite dans l'échantillon. Ce test a l'avantage d'être manuel et rapide pour le diagnostic du paludisme à *P falciparum*. Le kit est transportable partout, manipulable par un non-spécialiste. Cependant, il n'apporte pas de données quantitatives. D'autre part, ce test reste positif de nombreux jours après la disparition des parasites.

#### **-L'OptiMAL-IT :**

C'est un test dont le principe est basé sur la détection d'une enzyme métabolique intracellulaire abondante produite par les plasmodies dans le sang. Cette enzyme, la lactate déshydrogénase plasmodiale (pLDH), est produite par les formes asexuées (trophozoïtes) et sexuées (gamétocytes) du parasite et elle est

rapidement détectée par une série d'anticorps monoclonaux dirigés contre des isoformes de l'enzyme permettant de faire une différenciation entre les espèces plasmodiales. Il n'y a aucune réaction croisée avec la LDH humaine. Des bandelettes de nitrocellulose sont utilisées pour réaliser la détection de la pLDH. Son avantage est qu'il détecte les autres espèces plasmodiales.

Malgré le confort et les qualités de ces tests, ils ne peuvent remplacer à 100% l'observation microscopique d'un frottis sanguin et d'une goutte épaisse.

#### **-L'ELISA :**

Il consiste à fixer sur un support solide des éléments contenus dans le liquide biologique. Ces antigènes solubles sont ensuite détectés à l'aide d'un anticorps marqué par une enzyme et le complexe antigène anticorps marqué par l'enzyme sera révélé par addition d'un substrat spécifique de l'enzyme. Cette technique confirme un diagnostic de paludisme lorsque la parasitémie a été réduite par un traitement anti paludique. Elle permet également de suivre la guérison par la décroissance du taux des anticorps. L'inconvénient de cette technique est que les anticorps apparaissent avec un retard de plusieurs jours sur la parasitémie et disparaissent plus tard.

#### **-La Polymérase Chain Réaction (PCR) :**

Elle consiste à synthétiser *in vitro* en plusieurs copies un fragment de gène codant pour une protéine du plasmodium en utilisant deux amorces spécifiques. Cette technique est très spécifique et très sensible. Elle peut en plus du diagnostic permettre d'identifier les parasites résistants à certains médicaments par la recherche de mutations spécifiques. Les inconvénients de cette technique sont : Cette technique est lourde, onéreuse et nécessite un personnel qualifié et un équipement approprié.

## **6. Aspects économiques :**

Le paludisme compromet le développement socio-économique des pays d'Afrique subsaharienne. Il ralentit la croissance économique en Afrique de 1,3% par an. Selon les estimations, le PIB de l'Afrique subsaharienne dépasserait aujourd'hui de 32% si l'on avait éliminé le paludisme il y a 35 ans [31]. Au Mali, le coût direct moyen de la prise en charge du paludisme grave s'élève à vingt un mille quarante neuf (21049) francs FCA [32].

## **7. Aspects cliniques :**

### **7.1 Accès palustre simple :**

**Définition :** L'accès simple se définit par la présence dans le sang de plasmodium, associé au signe suivant :

- fièvre, céphalée, vomissement, diarrhée ;
- triade frisson, chaleur, sueur.

Cette description classique est en réalité rarement retrouvée, la symptomatologie étant le plus souvent atypique.

### **Physiopathologie [33]**

La symptomatologie dépend de plusieurs facteurs liés soit au malade (niveau d'immunité) soit surtout au parasite (espèce plasmodiale, intensité de l'infestation, mode d'inoculation, phase de développement parasitaire).

Pour toutes les espèces plasmodiales le cycle exo érythrocytaire hépatique est asymptomatique, et les seules manifestations cliniques s'observent au cours de la multiplication endo-érythrocytaire.

**La fièvre :** le facteur déclenchant est la libération, au moment de l'éclatement des hématies parasitées, de pigment malarique (hémozoïne) qui se comporte comme une véritable substance pyrogène agissant sur les centres bulbaires de la thermorégulation. Au niveau chaque hématie parasitée, la quantité hémozoïne est évidemment négligeable ; mais lorsque la parasitémie atteint un certain seuil, le nombre d'hématies parasitées qui éclatent en libérant du pigment pyrogène est suffisant pour entraîner les crises fébriles.

**L'anémie :** est en relation avec la destruction des globules rouges parasités et avec l'opsonisation d'hématies normales et la présence d'auto anticorps anti-érythrocytaires. De plus, les globules rouges parasités présentent, à leur surface, des antigènes du mérozoïte permettant l'action des anticorps et l'hémolyse.

**L'hépatomégalie** et surtout **la splénomégalie** sont la conséquence de l'hyperactivité du système monocyte macrophage chargé de débarrasser l'organisme aussi bien du pigment malarique que des débris érythrocytaires.

### **7.2 Paludisme viscéral évolutif**

Il survient chez les enfants de 2 à 5 ans non encore prémunis vivant en zones d'endémie soumis à des infections palustres répétées, Européens dans des zones où existent des souches chloroquino-résistantes.

La symptomatologie est subaiguë ou chronique. Elle associe une anémie, avec pâleur, asthénie, anorexie. La splénomégalie constante, modérée. On note une fièvre modérée.

La recherche d'hématozoaires est positive par intermittence avec parasitémie faible, la sérologie anti-palustre montre du taux élevé des anticorps (IgG).

La réponse au traitement est assez rapide.

### **Recherche de la splénomégalie :**

Il existe 5 stades selon la classification de Hackett :

**Stade 0** : Rate normale non palpable même en inspiration profonde.

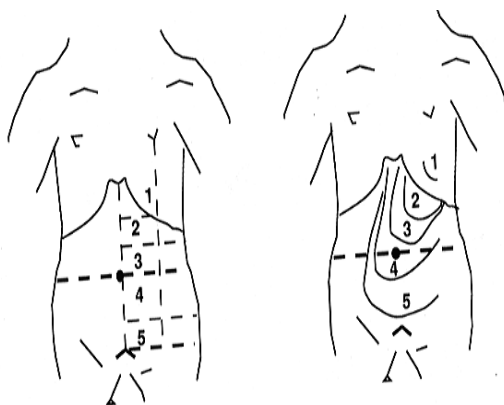
**Stade 1** : Rate palpable en inspiration profonde.

**Stade 2** : Rate palpable en inspiration normale sur la ligne mamelonnaire gauche ne dépassant pas une ligne horizontale passant à égale distance entre le rebord costal et l'ombilic.

**Stade 3** : Rate descendant au-dessous de cette ligne sans franchir l'ombilic.

**Stade 4** : Rate dépassant cette dernière ligne mais ne franchissant pas l'horizontale passant à égale distance entre l'ombilic et la symphyse pubienne.

**Stade 5** : Rate descendant au-dessous de cette zone.



**Figure 3** : Classification de la splénomégalie selon Hackett [46].

### **7.3 Fièvre bilieuse hémoglobinurique (FBH) : [30; 36]**



Elle est due à une hémolyse intravasculaire aiguë en rapport avec des prises de quinine dans une zone d'endémie à *P. falciparum*, mais aussi méfloquine et halofantrine. Elle se manifeste par:

- une fièvre élevée, hémoglobinurie macroscopique (urines couleur porto);
- un choc, une anémie aiguë, une insuffisance rénale aiguë

Le pronostic est sévère avec 30% de décès.

L'emploi des amino-alcools tels que la quinine est une contre indication.

PVE et FBH sont des formes sévères du paludisme à *P. falciparum*.

#### **7.4 Paludisme grave et compliqué : [34]**

##### **Définition :**

Le paludisme grave se définit comme étant la présence d'hématozoaires au stade asexué, associé à un ou plusieurs des signes cités ci-dessous:

- Neuropaludisme avec coma stade II ;
- Anémie sévère ( $ht \leq 15\%$ ) ;
- Insuffisance rénale : avec excrétion urinaire inférieure à 2 ml/Kg/j ;
- Œdème pulmonaire aigu ;
- Hypoglycémie ( $< 2,2$  mmol/L) ;
- Collapsus cardio-pulmonaire ;
- Hémorragie spontanée diffuse;
- Hémoglobinurie macroscopique ;
- Acidose métabolique avec un taux de bicarbonates plasmatiques  $< 15$  mmol/L.

##### **Physiopathologie :**

Seul le *Plasmodium falciparum* est responsable de paludisme grave et compliqué par sa schizogonie dans les viscères profonds (cerveau). Sa multiplication dans les capillaires des organes (cerveau, rein, foie) entraîne une anoxie tissulaire par anémie hémolytique, des troubles de la microcirculation et des phénomènes cytotoxiques. Il existe à la surface des hématies parasitées des protubérances particulières appelées <<knobs>> qui provoqueraient une adhérence des cellules parasitées à l'endothélium vasculaire et le ralentissement du flux capillaire.

La Physiopathologie du paludisme grave peut être expliquée par quatre hypothèses :

- augmentation de la perméabilité de la barrière hemo-méningée entraînant une fuite du liquide céphalorachidien et un œdème cérébrale ;
- phénomène immuno-pathologique avec dépôt de complexe immun ;

- mécanismes toxiques dans lesquels des cytokines telles que le TNF (tumor necrosis factor) seraient impliquées ;
- la cytoadhérence des hématies parasitées et leur séquestration dans les vaisseaux. Des cytokines telles que le TNF alpha augmentent l'expression des molécules d'adhésion et favorisent la cytoadhérence et l'obstruction de la microcirculation.

### **7.5. Autres formes cliniques particulières :**

#### **-Le paludisme congénital [36]**

La réalité de l'infection transplacentaire du nouveau-né est admise, liée au passage de globules rouges parasités du placenta. Le paludisme congénital maladie est rare. Il apparaît après un délai variable de 5 à 60 jours après l'accouchement et le signe clinique constant est la fièvre.

#### **-Paludisme de la femme enceinte [40]**

La prophylaxie pendant la grossesse dans les zones d'endémie devrait être systématique.

Des complications aiguës et graves sont notées : mortalité fœto-maternelle, accès pernicieux dans les régions d'endémie instable où les cas sont peu fréquents en dehors des épisodes épidémiques. En zone de paludisme stable, problèmes d'anémie chez la mère et retard de croissance fœtale responsable d'un déficit pondéral à la naissance, principalement marqué chez les primigestes.

#### **-Le paludisme transfusionnel [36]**

Il survient 2 à 3 semaines après une transfusion. Le dépistage des anticorps antipaludiques se fait par la technique d'immunofluorescence indirecte. Il s'applique aux donneurs de sang ayant séjourné en zone d'endémie palustre depuis plus de 4 mois et jusqu'à la 3<sup>ème</sup> année après leur retour, un séjour remontant à moins de quatre mois en zone d'endémie est une contre-indication absolue à un don homologue.

## 8-TRAITEMENT :

**1-DEFINITION :** Les antipaludiques (ATP) sont des substances actives utilisées dans le traitement ou la prévention du paludisme.

### 2-CLASSIFICATION :

Selon le mode d'action/la structure chimique/la pharmacocinétique et la pharmacodynamie.

**Tableau I :**

Mode d'action	Structure chimique	Pharmacocinétique	Pharmacodynamie
Lysosomotropes	Amino-alcools : Quinine (alcaloïde de l'écorce de cinchona)	Absorption rapide (Cmax 1-3h), action rapide, demi-vie courte (10h), durée d'action courte	Enzymes vacuole digestive des trophozoites mûrs
	Artémisinine et dérivés semi-	Absorption rapide (Cmax 10mn en	Vacuole digestive,

	<i>synthétiques (Artémether, Artesunate, Dihydroartemisini ne, Artééther)</i>	<i>IV/IM ; 3h PO et 11h IR), action rapide, demi-vie courte (moins d'1h a 11h), durée d'action courte</i>	<i>libération de radicaux libres actifs sur les formes très jeunes et tous les stades de développement intra érythrocytaire s</i>
--	---	---	---

<i>Mode d'action</i>	<i>Structure chimique</i>	<i>Pharmacocinétique</i>	<i>Pharmacodyn amie</i>
----------------------	-------------------------------	--------------------------	-----------------------------

	<p><i>Amino-alcools :</i>  <i>Méfloquine</i>  <i>(dérives de la quinine)</i></p>	<p><i>Absorption rapide variable (Cmax 3-6h), action rapide, demi-vie longue variable (7-30j), durée d'action longue</i></p> <p><i>Absorption lente (Cmax en 10h), action lente, demi-vie variable (72h) durée d'action longue</i></p>	<p><i>Enzymes vacuole digestive des trophozoites et schizontes</i></p>
	<p><i>Luméfántrine</i></p>	<p><i>Absorption rapide (Cmax en 1h), action rapide, demi-vie variable (3-7j), durée d'action longue</i></p>	<p><i>Enzymes vacuole digestive</i></p>
	<p><i>Amodiaquine</i>  <i>(amino-4-quinoléine)</i></p>	<p><i>Absorption lente (Cmax 2-6h), action lente, demi-vie longue (120-180h), durée d'action longue</i></p>	<p><i>Dihydroptéroate Synthétase (DHPS)</i></p>

Mode d'action	Structure chimique	Pharmacocinétique	Pharmacodynamie
---------------	--------------------	-------------------	-----------------

Antimétabolites Suite	Dapsone (sulfone)	Absorption lente (Cmax en 2-8h), action lente, demi- vie courte (10-50h), durée d'action longue	Dihydroptéroate Synthétase (DHPS)
	Pyriméthamine (antifolinique, diamino- 2,4pyrimidine)	Absorption lente (Cmax en 2-6h), action lente, demi- vie longue (80- >100h), durée d'action longue	Dihydrofolate Réductase (DHFR)
	Proguanil et metabolite cycloguanil, Chlorproguanil	Absorption lente (Cmax en 2-6h), action lente, demi- vie demi courte (20h), durée d'action longue	
	Atovaquone, analogue de l'ubiquinone	Absorption lente (Cmax en 2-6h), action lente, demi- vie demi courte (60- 70h), durée d'action longue	Dihydroorotate Dehydrogenase

Mode d'action	Structure chimique	Pharmacocinétique	Pharmacodynamie
	<i>Doxycycline (Cycline)</i>	<i>Absorption rapide (Cmax 2h), action rapide, demi-vie courte (10-24h), durée d'action courte</i>	<i>Ribosome mitochondrial (aminocyl-t ARN)</i>
	<i>Clyndamycine (Macrolide)</i>	<i>Absorption rapide (Cmax en 1h enfant ; 3h adulte), action rapide, demi- vie courte (2-3h), durée d'action courte</i>	

### **3-Principaux médicaments antipaludiques en usage en Afrique au sud du Sahara**

Les antipaludiques les plus fréquemment utilisés en Afrique au sud du Sahara sont les suivants :

Les sels de quinine, la sulfadoxine- pyriméthamine, et les combinaisons thérapeutiques des dérivés à base de dérivés d'artémisinine avec l'amodiaquine, la Luméfántrine et la Méfloquine.

### **Intérêt des CTA :**

L'Artémisinine ou Quinghaosu, est une lactone (Sesquiterpène lactone) extraite des feuilles de plante *Artemisia annua*, issue de la pharmacopée traditionnelle chinoise. Son activité schizontocides puissante s'exerce sur toutes les formes asexuées des plasmodies : Son mécanisme d'action consiste à inhiber la PfATPase 6, une adénosine tri phosphatase calcium dépendante essentielle au parasite, action dont résulte la libération de radicaux libres toxiques pour le parasite (pont endoperoxide).

Les dérivés semi-synthétiques de l'artémisinine ont une activité schizontocides supérieure à celle de l'artémisinine : La Dihydroartémisinine, l'Artemether et l'Artesunate sont les plus utilisés.

Leur action est très rapide, extrêmement efficace mais de courte durée. Pour cette raison, ces médicaments doivent être exclusivement utilisés en combinaison thérapeutiques avec d'autres ATP.

L'Artémisinine et ses dérivés présentent les avantages suivants :

- Ils réalisent une diminution de la biomasse parasitaire par un facteur  $10^4$  à chaque cycle asexué de 36 à 48h. Soit une réduction de  $10^6$  à  $10^8$  de 3 jours de traitement
- La résolution des symptômes est rapide 48h ou moins
- Leur tolérance est bonne
- Ils actifs contre les souches multi-résistantes de *Plasmodium falciparum*
- Ils ont une activité gametocytochrome : d'où une réduction potentielle du risque de transmission des gènes résistants.

### **Ces dérivés ont aussi des inconvénients :**

Leur durée de vie dans l'organisme : 1,6 2,6H

La clairance de la parasitémie est temporaire : recrudescences si la durée du traitement est inférieure à 5 jours.

Ces avantages et inconvénients expliquent la recommandation de les utiliser toujours en combinaisons thérapeutiques, en associant avec des antipaludiques



ayant une plus longue durée d'action, et/ou un mécanisme d'action complémentaire, tel l'amodiaquine.

Les combinaisons thérapeutiques des dérivés de l'artémisinine avec des schizontocides d'action différente présente un grand intérêt car elles permettent :

- Une prévention des mutations
- Une diminution des recrudescences
- Une diminution du risque d'exposition à la pression de sélection par la deuxième molécule antipaludique
- Une diminution de la pression sélective en faveur de la propagation de la résistance
- Un ralentissement du développement de la résistance à la molécule associée.

#### **4- Indications des antipaludiques:**

Un bon antipaludique doit :

- permettre une guérison clinique durable,
- réduire la morbidité liée au paludisme (anémie)
- prévenir l'aggravation et les complications
- réduire l'impact l'infection placentaire et l'anémie maternelle
- minimiser la probabilité de sélection et de propagation de la résistance.

#### **4-1 Traitement du paludisme simple**

But : Guérir l'infection

Artesunate + Amodiaquine (AS-AQ); Artemether-Luméfantrine (AT-LU);  
Artesunate- Mefloquine (AS-MF). Le traitement se fait en 3 jours et la dose est fonction de la CTA.

## **4-2 Traitement du paludisme grave et compliqué**

But : prévenir la mort et les séquelles neurologiques

Les sels de quinine sont recommandés à la dose de 30 mg de quinine base/kg/jour, répartie en 3 administrations espacées de 8h. Une dose de charge de 20 mg/kg administrée en 4 heures est recommandée.

La durée du traitement est d'au moins 7 jours. La voie d'administration préférentielle est IV, avec relais per os à partir de J3, quand les symptômes s'améliorent. IM est possible (attention au risque de paralysie du nerf sciatique). Il existe enfin des formulations adaptées à la voie IR.

## **4-3 Prise en charge de la femme enceinte :**

But : Sauver la vie de la mère.

L'accès palustre de la femme enceinte est considéré comme un paludisme grave et bénéficie du traitement par les sels de quinine.

La SP est administrée en traitement à visée préventive. C'est la stratégie TPI = Traitement préventif intermittent recommandé dans les zones d'endémie en Afrique. Le TPI consiste à une dose curative à la femme enceinte, deux fois au cours de la grossesse. La première dose curative est donnée à partir du 4<sup>ème</sup> mois, dès que les mouvements du fœtus sont perçus. La seconde dose est donnée entre le 5<sup>ème</sup> et 8<sup>ème</sup> mois, au moins un mois après la première dose. Chez les PV VIH, une dose est donnée au cours du premier trimestre. On administre 3 CP par prise.



# **Méthodologie**

## **IV. METHODOLOGIE :**

## **1. Lieu d'étude:**

Notre étude a eu lieu dans le village de Bancoumana, situé à 60 km au sud-ouest de Bamako en zone de savane soudanienne. Il a une superficie de 2.5 km<sup>2</sup> dans la haute vallée du fleuve Niger. Ses coordonnées géographiques sont : 8° 20' longitudes Ouest et 12° 20' latitudes Nord. Le village de Bancoumana est limité à l'Est par le village de Kollé, à l'Ouest par le village de Nanguilabougou, au Nord par le village de SAMAKO, au Sud par le fleuve DJOLIBA.

Pour une bonne faisabilité des études, le MRTC a procédé à un découpage du village en quatre blocs pour mieux situer les habitations lors des différents recensements. Par ailleurs le respect des vécus socioculturels de la population était de règle lors du séjour des investigateurs de l'étude. Ce découpage a été fait par rapport aux trois routes principales qui traversent le village.

Bloc 1 : situé à gauche de la route reliant Bamako à Kangaba cote du fleuve Djoliba.

Bloc 2 : se trouve entre les routes Bamako-Kangaba et Bancoumana-Karan. Ces deux routes se rejoignent au niveau du marché.

Bloc 3 : situé entre les routes Bancoumana-Karan et Bancoumana-Siby. Ces deux routes se joignent au niveau du marché.

Bloc 4 : situé les routes Bancoumana-Siby et Bamako-Kangaba.

Bancoumana a été fondé au XVI<sup>ème</sup> siècle par un guerrier du nom de NAMAKAN KEITA.

Le relief de Bancoumana est caractérisé par une plaine qui s'étend d'Est à l'Ouest sur 5 km. La plaine est propice à la riziculture et à la culture du tabac. Elle est traversée par un cours d'eau permanent (petit affluent du fleuve Djoliba) situé à 500 m à l'Ouest du village.

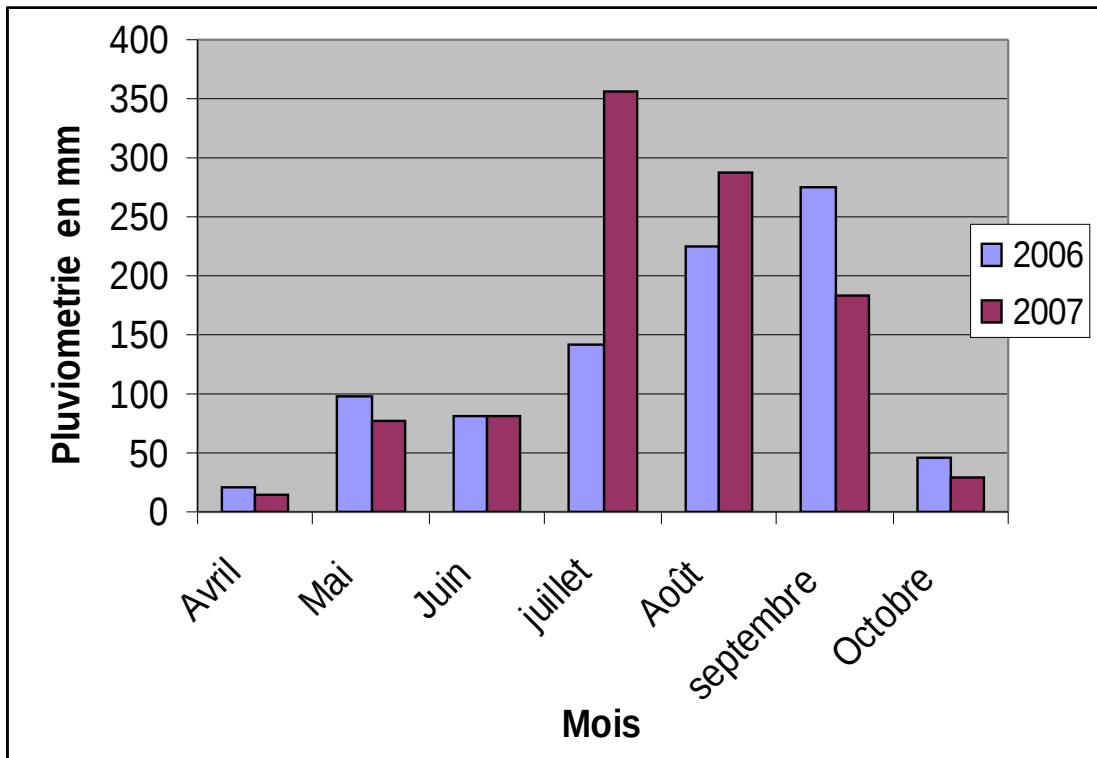
Le climat est de type soudano-Guinéen. Il est caractérisé par une saison pluvieuse qui va de Juin en Octobre avec le maximum de pluie en Aout et Septembre, et saison sèche qui se divise en période chaude fraiche de Novembre en Janvier et en période chaude de Février en Avril.

La végétation est une savane arborée composée de : strates herbacées, strates arbustives et de strates arborées.

Le village compte environ 10000 habitants dont plus de 3000 enfants de moins de 10 ans. Les habitants sont essentiellement des malinkés, puis viennent les Bambaras et les Peulhs. Les habitations sont des cases rondes avec toits en paille

et des maisons rectangulaires avec toits en tôles ou en paille. Les activités économiques sont essentiellement agropastorales caractérisées par la culture de riz, mil, tabac, banane etc. Comme infrastructures socio sanitaires, le village dispose d'un centre de santé communautaire. Ce centre est dirigé par un médecin, comprend un dispensaire, une maternité, un dépôt de médicaments. Le village possède une école fondamentale avec deux premiers cycles et un second cycle, une medersa. Il dispose également quatre forages et un centre d'alphabétisation. Depuis l'avènement de la politique de décentralisation, Bancoumana a été érigé en commune rurale de la sous préfecture de Siby. Elle est dirigée par un maire et des conseillers municipaux.

Le MRTC a construit des locaux de recherche au sein du centre de santé communautaire (CSCOM) de Bancoumana. Ces locaux fonctionnent en harmonie avec le CSCOM.



**Figure 4** : La distribution mensuelle de la pluviométrie de 2006-2007 à Bancoumana (*Registre de pluviométrie de l'OHVN Bancoumana*)

Nous observons une variation annuelle de la pluviométrie. Le maximum de pluie a été enregistré en Juillet 2007.

## 2. Le choix du site d'étude :

Les raisons ci-dessous justifient le choix de ce village comme site de notre étude :  
L'étroite collaboration entre le DEAP et le village de Bancoumana.

Accessibilité de la zone d'étude en toute saison avec la logistique de notre équipe.  
Zone d'endémie palustre à transmission saisonnière hyper endémique de Juin en Novembre.

C'est un village où l'adhésion de la population est presque totale pour tout travail visant à améliorer son état de santé.

C'est un village disposant d'un centre de santé communautaire bien fréquenté par les habitants de Bancoumana et ceux de des villages environnants.

## 3. Période d'étude :

Notre étude s'est déroulée de Mai 2006 à Décembre 2007.

## 4. Type d'étude :

Il s'agissait d'une étude prospective.

## **5. Echantillonnage et déroulement du travail :**

L'échantillonnage a été exhaustif au niveau des 300 enfants volontaires inclus lors de l'étude vaccinale antipaludique (AMA1-C1).

### **5.1 Critères d'inclusion :**

Sujets âgés de 2 à 3 ans.

Sujets résidant connus dans le village de Bancoumana, Kollé et Samanko, au Mali.

Sujets ayant les parents ou tuteurs légaux consentants.

Etre vu en visite imprévue pour une fièvre ou antécédent de fièvre dans les deux précédents jours ou autres symptômes du paludisme.

### **5.2 Critères de non inclusion :**

Les visites imprévues non fébriles.

Les visites régulières.

## **6. Définition de cas :**

L'accès palustre est défini comme étant tout cas de goutte épaisse positive à *P. falciparum* chez un individu associé à au moins un signe ou symptôme clinique.

Ces symptômes/signes suivants ont été retenus: fièvre (température axillaire non corrigée  $\geq 37,5^{\circ}\text{C}$ ), frissons, sueur, asthénie, courbatures, céphalée, nausées et vomissements, douleur abdominale, diarrhée, pâleur conjonctivale, ictère, convulsion, coma, splénomégalie, hépatomégalie.

## **7. Techniques de la goutte épaisse:**

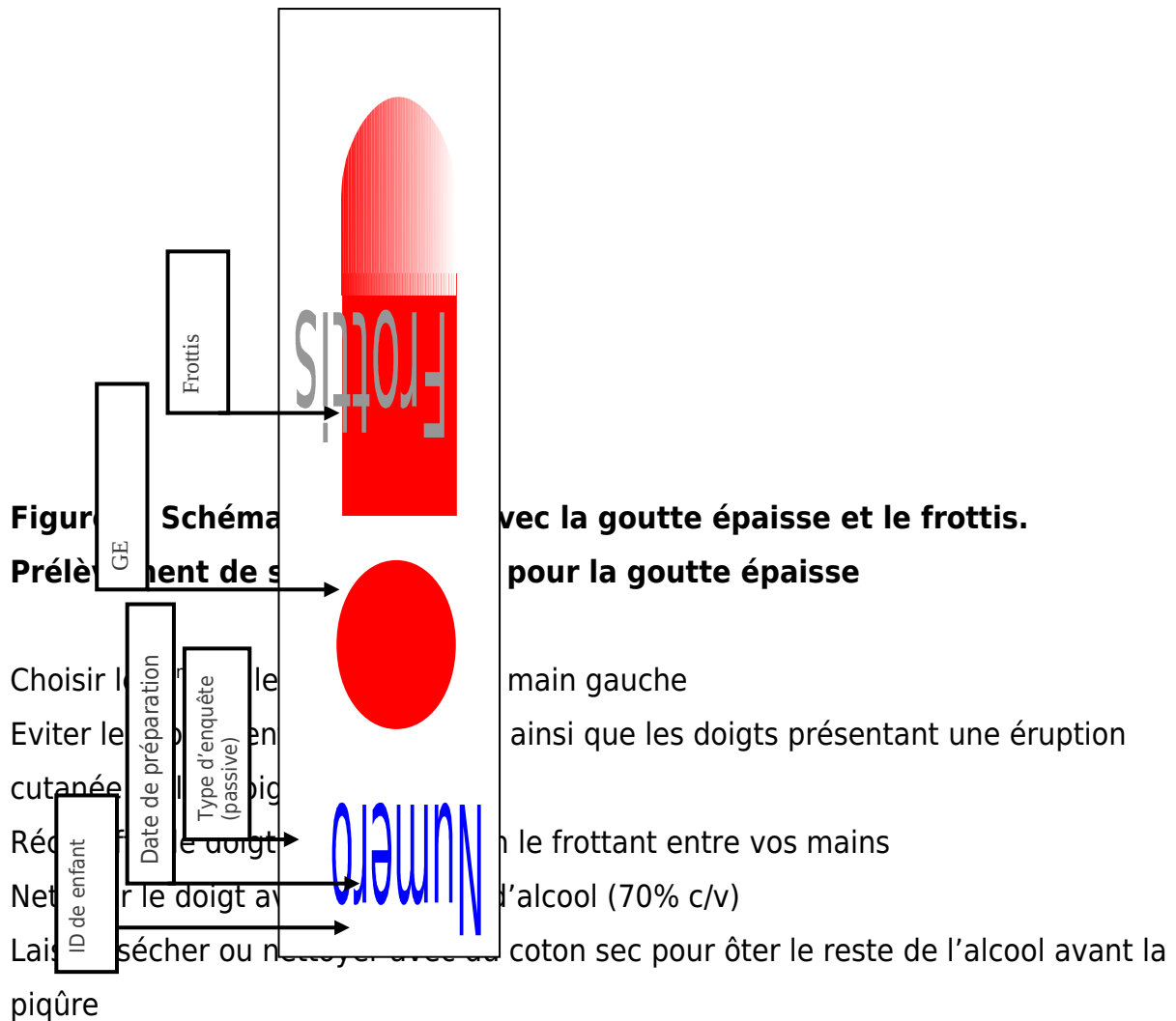
Le principe consiste à décrire les procédures pour la confection, la coloration, la lecture et l'interprétation de la goutte épaisse pour le diagnostic parasitologique du paludisme.

### **Réalisation pratique :**

Nous nous sommes conformés aux Modes Opératoires Normalisés (MON) du DEAP.

### **Confection de la goutte épaisse:**

Elle a consisté à étaler et à défibriner le sang sur une lame porte objet.



Retirer un vaccinostyle de son emballage en évitant de toucher au bout pointu.

Ne pas piquer près de l'ongle et éviter les cotés 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 pour la confection du frottis.

Presser le doigt vers l'extrémité si nécessaire pour recueillir suffisamment de gouttes de sang.

Disposer les gouttes de sang sur la lame comme indiqué ci-dessous.

Placer un tampon d'alcool sur la zone de la piqûre et demander à l'enfant ou à son parent/tuteur 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 gants lors des prélèvements de sang.

Préparation de la GE et du frottis

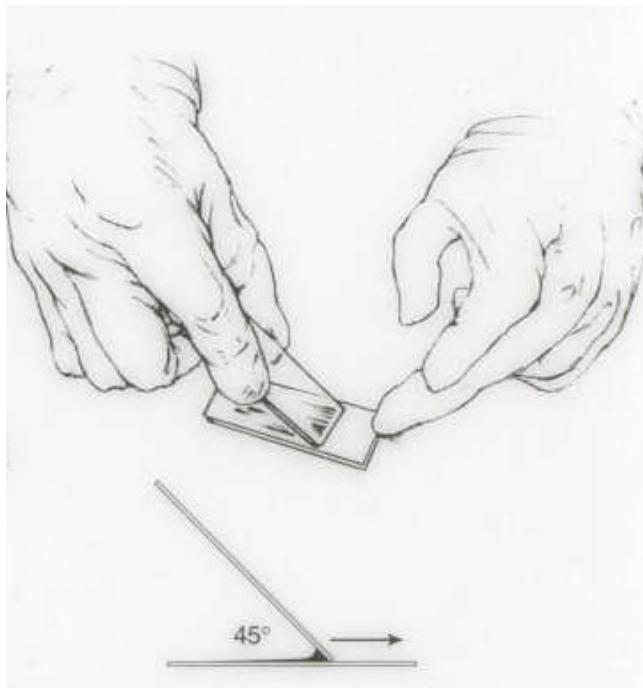
Déposer une lame sur une surface ferme et plate

Utiliser une lame d'étalement pour préparer la GE et le frottis

Placer un bout de la lame d'étalement juste après la goutte de sang déposé pour le frottis.

Permettre un léger contact de la lame avec la goutte de sang et laisser le sang se répandre sur les bords de la lame d'étalement.

En tenant la lame d'étalement, former un angle de 45 degré avec la lame de GE/frottis et pousser doucement et régulièrement vers l'avant vers le bout de la lame de GE/frottis jusqu'à ce que le sang soit entièrement reparti sur la surface de la lame pour former le frottis mince.



**Figure 6 : Confection du frottis.**

Différentes opérations ont été successivement effectuées:

Le numéro d'identification du sujet est porté sur la lame devant recevoir la goutte de sang.

Nous avons nettoyé la face latérale de l'extrémité du doigt de la main gauche, d'abord avec un tampon imbibé d'alcool à 70°, puis avec un tampon sec pour enlever toute trace d'alcool.

Une ponction capillaire est faite d'un coup sec et rapide à l'aide d'un vaccinostyle stérile.

La première goutte de sang est essuyée avec du tampon sec.

Une grosse goutte de sang est déposée au milieu de la lame porte-objet.

Le tampon sec est maintenu fermement sur le point de piqûre pendant au moins 3 minutes pour assurer l'hémostase.

A l'aide d'un coin d'une seconde lame placé au centre de la goutte de sang, nous avons effectué des mouvements de rotation concentriques de l'intérieur vers l'extérieur pour défibriner et étaler uniformément jusqu'à atteindre 1cm de diamètre environ.

La préparation est laissée à plat, à l'abri de la poussière, de la chaleur et des mouches pendant 60 mn. Nous avons observé ce temps de séchage, pour éviter le risque de décollement de la préparation lors de la coloration.

### **Coloration de la goutte épaisse:**

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.

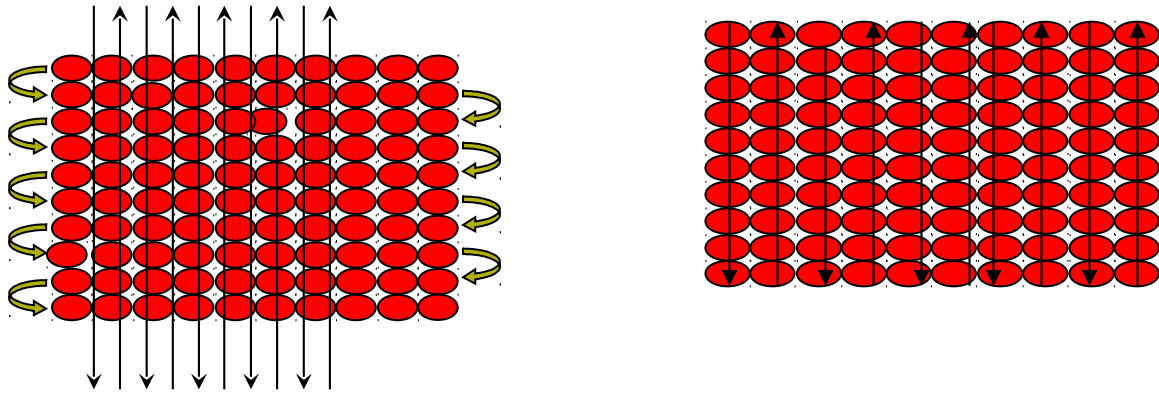
A la fin du temps de coloration (indiqué par la sonnerie de la minuterie), les lames sont rincées délicatement à eau en évitant les jets d'eau forts.

Elles sont enlevées du bac de coloration, placées sur le râtelier où elles sont laissées sécher complètement à la température ambiante.

### **Lecture de la goutte épaisse : [45]**

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).



**Figure 7 :** Sens de lecture d'une lame

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 300 leucocytes. Le comptage de leucocytes ne commence qu'après avoir vu un parasite.

Une lame est dite négative seulement qu'après avoir parcouru 100 champs sans compter aucun stade de développement du parasite.

Le comptage du champ commence dès le 1<sup>er</sup> champ et s'arrête dès l'identification du parasite.

Nous avons utilisé la formule suivante pour quantifier la charge parasitaire:

$$P = \frac{N}{300} \times GB$$

P est la charge parasitaire en nombre de parasites par mm<sup>3</sup>,

N est le nombre de Parasites comptés,

300 est le nombre de leucocytes comptés,

GB est le nombre de leucocytes (globules blancs) / mm<sup>3</sup> 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 7500 et la formule de calcul de la parasitemie devient, si L=300:

$$P = \frac{N}{300} \times 7500 \quad P = 25 \times N \text{ parasites / mm}^3$$

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

## **8. Le système de double lecture : [38] [39]**

### **a. PRINCIPE :**

La qualité des résultats de la goutte épaisse est multifactorielle. Elle repose essentiellement sur la performance des lecteurs (leur sensibilité et leur spécificité) et sur la qualité de la goutte épaisse confectionnée (le volume de sang, la surface de l'étalement, la durée du séchage et la qualité de la coloration).

La mise en place d'un système de contrôle à ces différents niveaux est le garant de la production de résultats de bonne qualité.

### **b. MATERIEL :**

Microscope binoculaire

Compteur

Huile d'immersion

Lames de contrôle

Montre bracelet

Feuille de paille

### **c. MESURES DE SECURITE :**

Le port de gants et de blouse est obligatoire avant de manipuler une lame confectionnée.

### **d. PROCEDURE :**

#### **1. Contrôle qualité macroscopique et microscopique de la goutte épaisse:**

Avant de lire chaque lame, le lecteur devra vérifier sa qualité macroscopique et microscopique.

Critère de macroscopie : confection (épaisseur de la goutte)

Critère de microscopie : coloration (qualité du colorant, temps de coloration) et voir la qualité de la coloration des parasites et des globules blancs

#### **- 2. Contrôle qualité macroscopique et microscopique du frottis mince:**

Critères de qualité des lames de frottis mince

Critère de macroscopie : confection (épaisseur du frottis mince)

Critère de microscopie : coloration (qualité du colorant, temps de coloration) et voir la qualité de la coloration des parasites, des globules blancs et des globules rouges

### 3. Contrôle de qualité des résultats [15]

Chacun des 2 lecteurs rendra le résultat autant que possible, le même jour.

Quand les lecteurs L1 et L2 auront fini de lire, la réconciliation des 2 feuilles de paillasse sera faite. La lame sera remise au lecteur L3 pour lecture (sans aucune indication par rapport aux résultats obtenus par les 2 premiers lecteurs) :

- Toutes les lames ayant une discordance qualitative (positif vs négatif ou différence en espèce plasmodiale)

- Toutes les lames ayant une discordance quantitative en fonction de la densité parasitaire suivante :

**Tableau II : Détermination de la concordance entre L1 et L2 en fonction de la densité parasitaire**

Moyenne de Parasitémie	% différence:	Décision
$\frac{(compte1+compte2)}{2}$	$\frac{(compte1-compte2)}{moyenne} \times 100$	
<b>1- 100</b>		<i>Discordant : relecture par</i>
<b>101- 999</b>	<b>&gt; 50%</b>	<i>R3</i>
<b>1000 -100000</b>	<b>&gt; 25%</b>	<i>Discordant : relecture par</i>
<b>&gt; 100000</b>		<i>R3</i>

La détermination de taux de discordance est préprogrammée à l'ordinateur. Ainsi la saisie des données de L1 et L2 permet la genèse automatique minimisant le risque d'erreur.

On déterminera comme suit, les résultats à transcrire dans les dossiers des volontaires:

**1) Pour les cas de discordances qualitatives (négative vs positive ou différence dans l'identification d'espèce) entre R1 et R2 :**

Les résultats du lecteur R3

**2) Pour les cas de discordances quantitatives entre R1 et R2 :**

Moyenne de parasitémie obtenue du résultat de R3 et le résultat d'un des 2 premiers lecteurs le plus proche de R3.

**3) Pour les cas de concordances quantitatives entre R1 et R2 :**

- Moyenne de parasitémie obtenue des résultats de R1 et R2

#### **4) Validation**

On remettra les résultats à un des superviseurs, qui aura en charge, la revue et la validation des résultats avant la transcription dans les dossiers des volontaires.

#### **REPORT DES RESULTATS**

Tous les résultats du contrôle de qualité de la goutte épaisse et du frottis mince, de la réalisation jusqu'à la production des résultats seront consignés dans les documents appropriés

#### **e. Processus de certification :**

**Tableau III: Calcul de la sensibilité et de la spécificité**

	<b>Standard (+)</b>	<b>Standard (-)</b>	<b>Total</b>
<b>Candidat (+)</b>	a (vrai positif)	b (Faux positif)	$a + b$
<b>Candidat (-)</b>	c (faux négatif)	d (vrai négatif)	$c + d$
<b>Total</b>	$a + c$	$b + d$	$a + b + c + d$

Avoir un standard (le résultat réconcilié de 240 lames lues par deux lecteurs certifié ou un lecteur expérimenté / certifié),

Le candidat doit lire ces 240 lames,

La sensibilité étant le rapport entre le nombre de vrai positif et le nombre total de positif du standard qui doit être  $\geq 90\%$ ,

La spécificité se définissant comme le rapport entre le nombre de vrai négatif et le nombre total de négatif du standard qui doit être  $\geq 90\%$ ,

En cas de discordance en faveur des espèces plasmodiales, après une séance de formation sur les différentes espèces, le candidat aura 10 lames porteuses des différentes espèces à lire. Il est à signaler qu'aucune erreur n'est tolérée à ce niveau.

La sensibilité est le pourcentage de tests positifs chez les malades (vrais positifs). Elle se détermine à partir d'un échantillon de malades.

La spécificité est le pourcentage de tests négatifs chez les non malades (vrais négatifs), et se détermine à partir d'un échantillon de non malades.

## **9. Aspects éthiques :**

Cette étude a été exécutée au cours du déroulement des protocoles déjà approuvés par le comité d'éthique de la FMPOS avant le démarrage de l'étude sur le terrain.

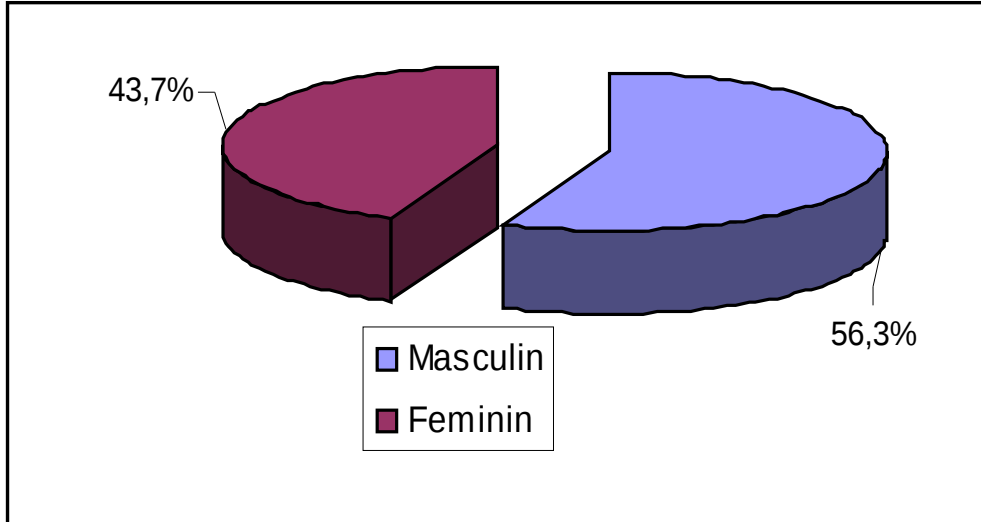


# **RÉSULTATS**



## V. RESULTATS

### 1. Caractéristiques sociodémographiques :



**Figure 1: Distribution de la population d'étude selon le sexe.**

La population d'étude était constituée de 56,3% de sexe masculin (715/1270) et 43,7% de filles (555/1270).

Le "sex ratio" était de 1,3 en faveur des garçons.

**Tableau IV: Distribution de la population d'étude selon l'ethnie.**

<b>Ethnie</b>	<b>Effectif</b>	<b>Pourcentage</b>
Malinké	1134	89,3
Peuhl	81	6,4
Sarakolé	28	2,2
Bamanan	16	1,3
Senoufo	8	0,6
Bozo	3	0,2
<b>Total</b>	<b>1270</b>	<b>100,0</b>

L'examen de ce tableau a montré que les enfants malinkés étaient les plus représentés avec 89,3% contre 0,2% des enfants Bozo.

## **2. Le taux de concordance :**

**Tableau V: Le taux de concordance de lecture de la goutte épaisse selon le mois et l'année.**

<b>Réconciliation</b>					
<b>Mois</b>	<b>Concordance 2006</b>		<b>Concordance 2007</b>		<b>P</b>
	<b>N</b>	<b>%</b>	<b>n</b>	<b>%</b>	
Janvier	--	--	39	94,9	--
Février	--	--	110	100	--
Mars	--	--	69	100	--
Avril	--	--	23	100	--
Mai	<b>3</b>	100	45	100	0,001
Juin	<b>26</b>	96,2	20	100	0,001
Juillet	<b>55</b>	87,3	69	97,1	0,51
Août	<b>179</b>	<b>98,3</b>	12	100	0,23
Septembre	<b>201</b>	93,5	--	--	--
Octobre	<b>239</b>	87,4	--	--	--
Novembre	<b>125</b>	84,8	--	--	--
Décembre	<b>55</b>	96,4	--	--	--
<b>Total</b>	<b>883</b>	<b>91,5</b>	<b>387</b>	<b>99,0</b>	<b>0,001</b>

Nous avons enregistré 91,5% de concordance en 2006 contre 99,0% en 2007.

Une différence statistiquement significative existait entre les deux années dans la répartition des cas de concordance.  $p = 0,001$

Cependant en Juillet aussi bien qu'en Août il n'y avait pas de différence entre les deux années dans la répartition des cas de concordance avec respectivement  $p = 0,51$  et  $p = 0,23$ .

**Tableau VI: La fréquence globale de la concordance.**

Année	Effectif examiné	GE +	Concordance
2006	883	609	91,5
2007	387	77	99,0

<b>Total</b>	<b>1270</b>	<b>686</b>	<b>93.8</b>
--------------	-------------	------------	-------------

Au total nous avons enregistré une concordance globale de 93,8%.

Notre résultat était conforme à ceux recommandés par l'OMS ( $\geq 90\%$ ) en cas de double lecture [14]

### 3. Les Causes de discordance :

Tableau VII : Les causes de discordance selon la classe parasitaire.

Causes de discordances	Classe parasitaire	Effectif	Pourcentage
<b>Charge parasitaire</b>	<b>1 - 100</b>	<b>1</b>	<b>0,1</b>
	<b>101 - 999</b>	<b>2</b>	<b>0,2</b>
	<b>1000 - 100000</b>	<b>61</b>	<b>4,7</b>
	<b>&gt;100000</b>	<b>15</b>	<b>1,2</b>
Positif vs négatif	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
<b>Espèce</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
<b>Stade</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
<b>Total</b>		<b>79</b>	<b>6.2</b>

N = 1270 (nombre de goutte épaisse effectué en 2006 et 2007)

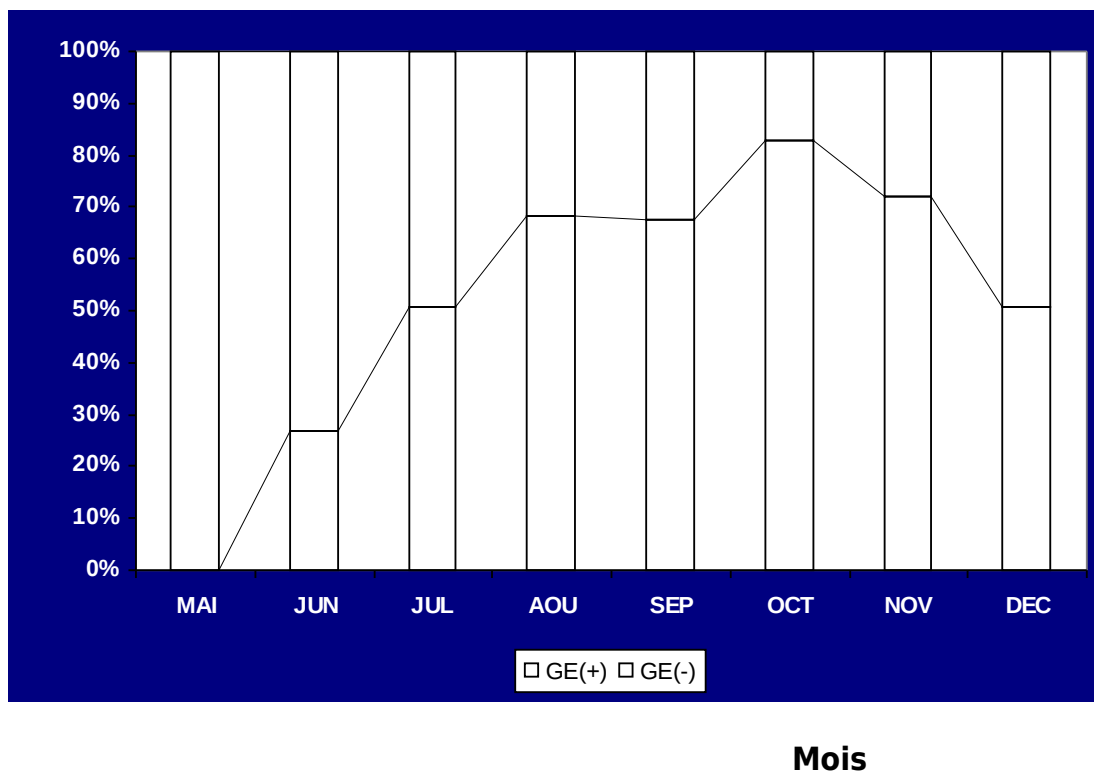
N = 79 (nombre total de goutte épaisse positive en 2006 et 2007)

L'examen de ce tableau a montré que nos de cas de discordance étaient uniquement quantitatifs. Ce qui pourrait être expliqué par les valeurs intrinsèques des lecteurs certifiés.

La classe de charge parasitaire 1000 - 100000 parasites par  $\mu$ l de sang était la plus représentée avec 4,7%.

#### 4. Les indices parasitologiques :

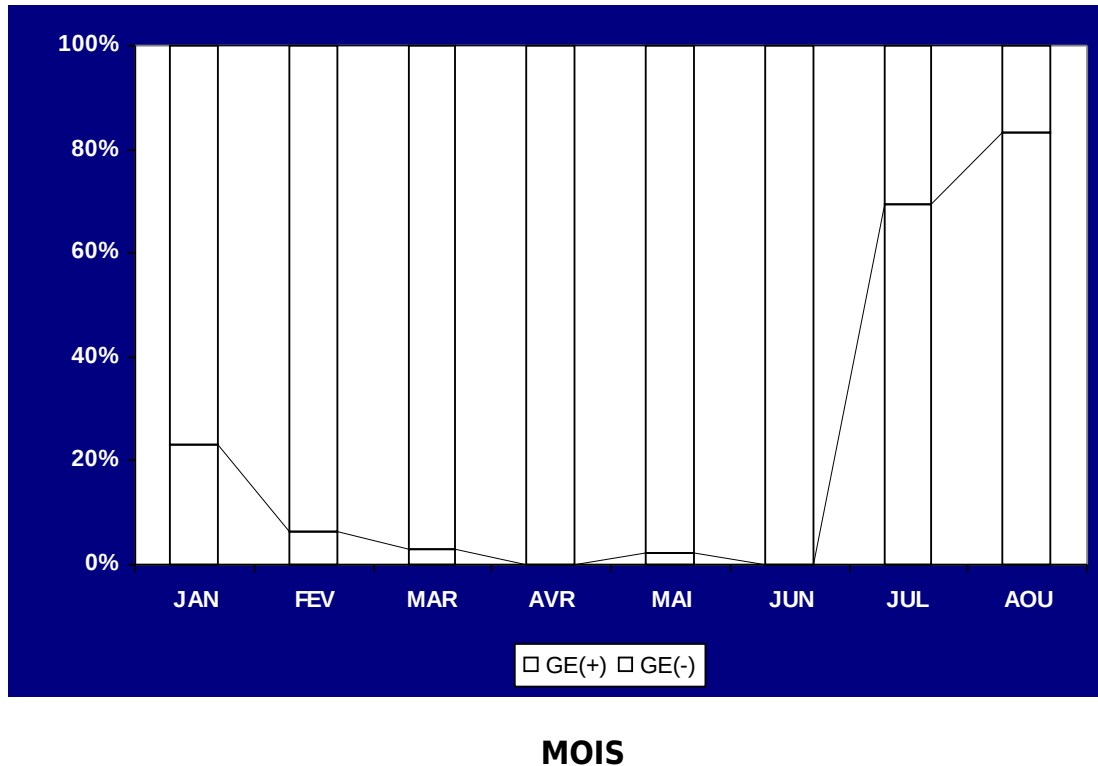
##### Nombre de GE



**Figure IX : Le nombre de goutte épaisse(+) réalisé par mois pour l'année 2006.**

Environ 82% des gouttes réalisées étaient positives en Octobre.

**Nombre de GE**



**Figure X : Le nombre de goutte épaisse(+) réalisé par mois pour l'année 2007.**

**Le mois d'Aout était le plus représenté avec environ 83 % de GE positives.**

**Tableau VIII : Répartition par mois et par année de paludisme confirmé à la goutte.**

Mois	GE +				P
	2006		2007		
	n	%	n	%	
Janvier	--	--	39	23,1	--
Février	--	--	110	6,4	--
Mars	--	--	69	2,9	--
Avril	--	--	23	0	--
Mai	<b>3</b>	0	45	<b>2,2</b>	0,54
Juin	<b>26</b>	26,9	20	0	0,001
Juillet	<b>55</b>	50,9	69	68,1	0,80
Août	<b>179</b>	68,2	12	<b>83,3</b>	0,001
Septembre	<b>201</b>	67,7	--	--	--
Octobre	<b>239</b>	<b>82,8</b>	--	--	--
Novembre	<b>125</b>	71,2	--	--	--
Décembre	<b>55</b>	50,9	--	--	--

<b>Total</b>	<b>883</b>	<b>68,9</b>	<b>387</b>	<b>19,1</b>	<b>0,001</b>
--------------	------------	-------------	------------	-------------	--------------

L'analyse de ce tableau montre que parmi les gouttes épaisses réalisées en visite irrégulière, 68,9% en 2006 contre 19,1% en 2007 étaient positives.

Une différence statistiquement significative existait entre les deux années dans la répartition des cas de paludisme confirmé. **P = 0,001**

Cependant en Mai et en Juillet il n'y avait pas de différence entre les deux années dans la répartition des cas de paludisme confirmé avec respectivement p= 0,54 et p= 0,80.

**Tableau I X : La répartition mensuelle des espèces plasmodiales en 2006.**

<b>Mois</b>	<b>P f</b>		<b>P m</b>		<b>P o</b>		<b>Total</b>
	<b>n</b>	<b>%</b>	<b>N</b>	<b>%</b>	<b>N</b>	<b>%</b>	
Mai	0	0	0	0	0	0	<b>0</b>
Juin	7	100	0	0	0	0	<b>7</b>
Juillet	28	100	0	0	0	0	<b>28</b>
Août	121	<b>99,2</b>	1	0,8	0	0	<b>122</b>
Septembre	133	97,8	3	<b>2,2</b>	0	0	<b>136</b>
Octobre	198	<b>100</b>	0	0	0	0	<b>198</b>
Novembre	89	98,9	1	1,1	0	0	<b>90</b>
Décembre	27	96,4	0	0	1	3,6	<b>28</b>
<b>Total</b>	<b>603</b>	<b>99</b>	<b>5</b>	<b>0,8</b>	<b>1</b>	<b>0,2</b>	<b>609</b>

Le *Plasmodium falciparum* dépassait largement le *Plasmodium malariae* et le *Plasmodium ovale* avec respectivement 99%, 0,8% et 0,2%.

Cependant *Plasmodium malariae* représentait 2,2% en septembre.



**Tableau VIII : La répartition mensuelle des espèces plasmodiales en 2007.**

<b>Mois</b>	<b>P f</b>		<b>P o</b>		<b>Total</b>
	<b>N</b>	<b>%</b>	<b>N</b>	<b>%</b>	<b>N</b>
Janvier	5	55,6	4	<b>44,4</b>	<b>9</b>
Février	6	85,7	1	14,3	<b>7</b>
Mars	2	100	0	0	<b>2</b>
Avril	0	0	0	0	<b>0</b>
Mai	1	100	0	0	<b>1</b>
Juin	0	0	0	0	<b>0</b>
Juillet	45	93,7	3	6,3	<b>48</b>
Août	10	<b>100</b>	0	0	<b>10</b>
<b>Total</b>	<b>69</b>	<b>89,6</b>	<b>8</b>	<b>10,4</b>	<b>77</b>

L'analyse de ce tableau nous a montré que le *Plasmodium falciparum* dépassait largement le *Plasmodium ovale* avec respectivement 89,6% et 10,4%.

L'élévation de la fréquence de *Plasmodium ovale* pourrait être expliquée par la taille de l'échantillon.



# DISCUSSION

## VI. DISCUSSION

### 1. Méthodologie :

Notre étude s'est déroulée à Bancoumana, village situé à 60Km au sud-ouest de Bamako. Il est situé dans une zone de savane soudano guinéenne où la transmission du paludisme est hyper endémique, avec un indice plasmodique variant entre 50 et 75 % [41, 42].

La présence des cours d'eau permanents, des mares et la riziculture entretiennent les gîtes larvaires pendant une longue période de l'année. Bancoumana est un site où l'accès est facile en toute saison et l'adhésion de la population est totale pour tout travail visant à améliorer son état de santé.

Notre étude était prospective pendant la période de Mai 2006 à Août 2007. Elle s'est portée sur la population suivante :

Un total de 1270 gouttes épaisses dont 883 pour 2006 et 387 pour 2007.

Au cours de cette étude, nous avons adopté le système de la double lecture des gouttes. La particularité de cette double lecture par rapport à la lecture simple jusque là utilisée, est simplement une mesure d'assurance de qualité plasmodiales qui augmente la qualité des résultats. Le choix des visites imprévues tient au fait qu'elles correspondent cliniquement aux signes d'alerte du paludisme et apportent des informations sur la charge parasitaire.

L'analyse des données recueillies nous a permis de faire les observations suivantes :

-La formule parasitaire reflète celle observée généralement au Mali. *Plasmodium falciparum* était l'espèce prédominante avec une fréquence de 99% en 2006 par rapport à *Plasmodium malariae* (0,8%) et *Plasmodium ovale* (0,2%). Ces résultats sont comparables à ceux trouvés par Doumbo et al. , en 1988 et B MAIGA en 1999 à Manterou [47 ; 8].

-La concordance globale dans notre étude était de 93,8%. Notre résultat était conforme à ceux recommandés par l'OMS ( $\geq 90\%$ ) en cas de double lecture [14]

### 2. Caractéristiques sociodémographiques :

La population d'étude était majoritairement constituée de garçon (56,3%) avec un "sex ratio" de 1,3 en faveur du même sexe. L'ethnie Malinké était la plus représentée avec 89,3%.

### **3. Le taux de concordance:**

Nous avons enregistré 91,5% de concordance en 2006 contre 99,0% en 2007.

En Juillet aussi bien qu'en Août il n'y avait pas de différence entre les deux années dans la répartition des cas de concordance avec respectivement  $P = 0,51$  et  $P = 0,23$ .

Cependant une différence statistiquement significative existait entre les deux années dans la répartition des cas de concordance.  $P = 0,001$

Cette différence pourrait être expliquée par le comptage de charge parasitaire élevé.

Au total, nos résultats étaient comparables à ceux rapportés par l'OMS ( $\geq 90\%$ ) [14]. Ce qui pourrait être expliqué par les valeurs intrinsèques des lecteurs certifiés.

### **4. Les causes de discordance :**

Les cas de discordance enregistrés étaient uniquement quantitatifs. Ce qui pourrait être expliquée par le comptage de charge parasitaire élevé.

L'absence de discordance qualitative (positif versus négatif, et identification d'espèce plasmodiales) pourrait être expliquée par la performance de nos lecteurs certifiés. Il y avait une différence statistiquement significative entre les deux classes de charge parasitaire en 2006 et 2007 avec  $p = 10^{-3}$

Cette différence pourrait être expliquée par le comptage de charge parasitaire élevé.

### **5- Les indices parasitologiques :**

#### **-Le nombre de gouttes réalisées par mois et par année :**

En visite irrégulière, 883 gouttes épaisses en 2006 contre 387 en 2007 ont été réalisées. En Juin 2006 et 2007, nous avons trouvé respectivement des proportions 2,94% et 5,17% de gouttes épaisses ; ces proportions passaient à 6,23% et 17,83% respectivement en juillet 2006 et 2007. Cette élévation en 2007 serait associée à la pluviométrie.

### **- La fréquence mensuelle de confirmation du paludisme à la goutte épaisse :**

En 2006 la proportion des gouttes épaisses positives était de 68,9% contre 19,1% en 2007 parmi les gouttes réalisées en visite irrégulière.

Une différence statistiquement significative existait entre les deux années dans la répartition des cas de paludisme confirmé (**p = 0,001**).

Cette différence pourrait être expliquée par la période d'étude.

### **-Fréquence de portage de *Plasmodium falciparum* par mois :**

En 2006 la fréquence de *Plasmodium falciparum* était de 99,0%, ce résultat était comparable à celui trouvé par KEITA, AM (supérieure à 90%) [21].

Le *Plasmodium falciparum* représentait 89,6% en 2007. Ce résultat était supérieur à celui de Traoré S, qui avait trouvé à Pimperena dans la région de Sikasso une fréquence de 85,5% de Juin 1992 à septembre 1993. Cette élévation pourrait être expliquée la spécificité de nos lecteurs.

Une différence statistiquement significative a été notée entre les deux années dans la distribution de *Plasmodium falciparum*.

Cette différence pourrait être expliquée par la saison de transmission.

**p = 001**

### **Fréquence de portage de *Plasmodium malariae* par mois :**

La fréquence de *Plasmodium malariae* était à 0,8% en 2006 ; cependant en Septembre 2006 on a enregistré 2,2%. Ce résultat était comparable à celui de Koita O, qui avait obtenu le long du tronçon de la route transsaharienne du Mali une fréquence  $\leq 10\%$  en 1988. [43]

### **Fréquence de portage de *Plasmodium ovale* par ans :**

La fréquence de *Plasmodium ovale* était à 0,2% en 2006. Ce résultat était comparable à celui d'A Keita en 2001 qui était  $\leq 1\%$  [21].

Par contre en 2007 le *Plasmodium ovale* représentait 10,4%. Cette élévation pourrait être expliquée par la taille de l'échantillon.



# CONCLUSION

## **VII.CONCLUSION**

Au terme de notre étude nous pouvons conclure que :

Le taux de concordance globale est de 93,8%. Notre étude montre que les résultats d'un lecteur certifié sont fiables. Cependant, une mono-lecture de lames par un technicien certifié reste aussi une autre alternative conseillée par L'OMS. Avec le système de contrôle qualité basé sur la relecture de 10% des lames lues si une double lecture ne peut être faite.







# **RÉCOMMANDATIONS**

## **VIII. RECOMMANDATIONS :**

A l'issue de notre étude, nous recommandons aux :

**- chercheurs de :**

- Initier le processus de certification des lecteurs.
- Choisir de manière aléatoire 10% des lames lues pour effectuer une nouvelle vérification Surtout si une monolecture est faite.

**- autorités :**

Mettre l'accent sur le contrôle qualité des résultats.

- Certifier tous les techniciens responsables de lecture
- Assurer la formation continue du personnel pour un diagnostic parasitologique fiable.
- Mettre un système de contrôle périodique en place pour s'assurer de la qualité du diagnostic de paludisme.

# RÉFÉRENCES

## **IX. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

**1- In RIPERT, PAJOT FX, VINCENDEAU P, ESQUERDO GOMEZ F. Chp II.**  
Paludisme. Epidémiologie des maladies parasitaires 1996; 1: 69-79

**2- Singh B, Kim sung L, Matusop A, Radhakrishnan A, Shamsul SS, Cox-Singh J, Thomas A, Conway DJ.**

A large focus of naturally acquired *Plasmodium Knowlesi* infections in human beings. *Lancet*. 2004 Mar 27; 363(9414):1017-24.

**3- OMS**

Aide mémoire N° 94.

Révisé en Janvier 2009.

**4-OMS**

World Malaria Report 2008.

**5- MOUCHET J, CARNEVALE P, COOSEMANS M, et coll.**

Typologie du paludisme en Afrique. *Cahiers santé* 1993; 3: 220-238.

**6-ANGYO I A, PAM S D, SZLACHEKAL R**

Clinical pattern and outcome in children with acute severe *falciparum malaria* at Jos university teaching hospital, Nigeria.

*East Afr Med J* 1996; 73: 823-6.

**7-Dembélé G**

Place du paludisme dans les hospitalisations pédiatriques de l'HGT.

Th. Méd. Bamako, 1991. N° 31

**8- B. MAIGA,**

Successibilité au paludisme et groupes ethniques sympatriques dans le cercle de Koro (Mopti). Thèse de médecine 00-M-105.

**9- PNLP**

Rapport de Mai 2005.

**10- Janet Cox- Singh, Davis. T.M.E, Lee K.S, Shamsul S.S.G, Matusop A, Ratnam S, Rahman H.A, Conway D.J, Singh B.**

*Plasmodium Knowlesi* malaria in humans is widely distributed and potentially life threatening Clin Infect Dis. 2008 Jan 15; 46 (2): 172- 3.

**11- Dolo A, Konaré A, Ouattara A, Thera MA, Poudiougou B, Maiga B, Diallo M, Doumbo OK.** Intérêts des nouvelles techniques de diagnostic rapide du paludisme au Mali. *Mali Medical*. 2002. 17 (3-4): 27-31.

**12- Malaria Rapid Diagnostic Tests** [http : // www. Wpro. who. int/rdt/](http://www.Wpro.who.int/rdt/).

**13- M. GENTILINI, M. DANIS, G. BRUCKHER, D. RICHARD-LENOBLE**

Diagnostic en parasitologie

**14- WHO / HTM/ RBM / 2003. 50**

Evaluation et surveillance de l'efficacité des antipaludiques pour le traitement du paludisme à *Plasmodium falciparum* non compliqué

**15-MON N° ML\_005\_02/MV-04 du laboratoire Clinique du MRTC :** Contrôle de qualité et Assurance Qualité de la Goutte épaisse et Frottis Mince

**16- CHARMOT G, RHODMAIN F**

La chimiorésistance chez *P. falciparum* : analyse des facteurs d'apparition et d'extension. *Med Tro* 1982, 42 : 417-426.

**17- LAVERAN, A (1880)**

Note sur un nouveau parasite dans le sang de plusieurs malades atteints de fièvre palustre. *Bulletin de l'académie de médecine, séance du 28 décembre 1880*, 9, 1346-1347.

**18 - ROSS.R.(1897).**

On some peculiar pigmented cells found in two mosquitoes fed on malaria blood. *Br Med J* 2, 1786-1788.

**19 - OMS 1998**

Faire reculer le Paludisme /Aide mémoire **N° 203**

**20 - Jelinek T, Kilian AH, Henk M, Mughusu EB, Northdurst HD, Locher T, Knoblock j, Van Sonnenburg F.**

Parasites specific lactate dehydrogenase for the diagnosis of *Plasmodium falciparum* infection in an endemic area in west Uganda.

*Trop. Med. Int Health.* 1996. Apri ; 1(2) : 227-230.

**21 - KEITA, A M.**

Paludisme grave et compliqué, clinique, évolution, prise en charge et coût. *Th. méd.* 2001,119pp N°01p27

**22 - Sherman I.W.**

Carbohydrate metabolism in asexual stages. In: I.W. Sherman, Editor, *Malaria. Parasite Biology, Pathogenesis, and Protection*, ASM Press (1998), pp. 135-144.

**23 - DIANI,F**

Evaluation de l'état sanitaire au Mali

*Th. Pharm.* Bamako, 1985, 145 p N°85 P 19

**24 - Dembélé G**

Place du paludisme dans les hospitalisations pédiatriques de l'HGT.

*Th. Méd. Bamako, 1991. N° 31*

**25 - DIAWARA. F.**

Contribution à l'étude des convulsions fébriles de l'enfant et du nourrisson à l'hôpital Gabriel TOURE.

*Th. Méd. Bamako, 1991, 121P\_N° 91m07*

**26 - TRAORE, A.M**

Analyse de la situation du paludisme au Mali et les stratégies de prise en charge des formes graves et compliquées dans le service de pédiatrie de l'HGT. *Th. méd.*

2001, 83PP\_N°01M121

**27 - POUDIOUGOU, B**

Epidémiologie du paludisme grave au Mali : Intérêt des anticorps anti-traps Trombospondin related anonymous protein).

*Th. méd. Bamako*, 1995. 92 pp N°95M28

**28 - DOUMBO O ; OUATTARA N.I ; KOITA O ; MAHARAUX A ; TOURE Y; TRAORE S.F ET QUILICI M.**

Approche écogéographique du paludisme en milieu urbain : Ville de Bamako au Mali. *Ecol. Hum*; 1989 ; 8(3) : 3-15

**29 - EDESHAW Y.AND ASSEFA D.**

Cerebral malaria. Factor affecting outcome of treatment in a suboptimal clinical setting.

*J.Trop.Med.Hyg* ; 1990 ; 93(1) : 44-47

**30 - Gentilini M.**

Le paludisme dans Médecine Tropicale. Paris : *Flammarion*, **1990 : 91:122.**

**31- OMS**

Faire Reculer le Paludisme

Aide- mémoire octobre 1998, N° 203.

**32- KEITA M**

Prise en charge des formes graves et compliquées du paludisme a l'hôpital Gabriel Touré : CLINIQUE, évolution, coût.

**33- ZOUGRANA PBE**

Etude de l'efficacité hématologique, clinique et parasitologique de la chloroquine et la sulfadoxine pyrimethamine dans le traitement de l'accès palustre simple de l'enfant dans la région de Bobo-Dioulasso de 1997a 1999. *Thèse de pharmacie, Bamako 2001, N° 01-P-30.*

**34 -WARELL D A**

Pathophysiology of severe falciparum malaria.

Parasitology 1987 ; 94 : 53-76.

**35. Bernard Alex G.**

Traitement du paludisme grave et du paludisme simple.

*Médecine Tropicale. Mise à jour le 26 /10/ 2005.*

**36. Pierre A.**

Diplôme de Médecine Tropicale des Pays de l'Océan Indien.

Paludisme. Actualités 2004.

Mise à jour le 21/09/2004.

**37- IXIème Conférence de consensus sur le Paludisme en Thérapeutique Anti-Infectieuse de la Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française.**

Prise en charge et prévention du paludisme d'importation à *Plasmodium falciparum*. *Med Mal Infect* 1999; 29:375-79.

**38- Documents du workshop Acra, Ghana Juin 2004**

**39- Documents du workshop Kisumu, Kenya Août 2005**

**40- OMS.**

Paludisme et VIH : interaction et répercussions sur les politiques de santé publique.

Rapport d'une consultation technique.

Genève, Suisse 23-25 Juin 2004:17-20.

**41-BA M**

Aspects parasitologiques du paludisme dans village de savane soudanienne du Mali : Bancoumana arrondissement de Siby, cercle de Kati, région de Koulikoro.

*Mémoire, Bamako 1998.*

**42-DOLO A**

Réponse immunitaire anti Trap (Thrombospondin related adhesive protein) et morbidité palustre dans une zone d'hyperendémie du Mali (Afrique de l'ouest).

Thèse de doctorat parasitologie, Phd Rome 1997.



**43-KOITA O**

Etude épidémiologique du paludisme le long du tronçon de la route transsaharienne du Mali.

Thèse de pharmacie Bamako, 1988 P26.

**44-SAYE R**

Intérêt de l'OptiMAL-IT dans le diagnostic du paludisme et le suivi du traitement.

*Thèse Pharmacie Bamako, 2005.*

**45-TEMBINE I**

Fréquence des accès palustres en postopératoire immédiat dans les services de chirurgie A et B de l'hôpital du point G.

Thèse médecine Bamako, 2007.

**46- Hackett L.W;** 1944. Spleen measurements in malaria.

J.Natl. Malar. Soc. **3** :121-134.

**47- O. DOUMBO, G. KOITA, S.F. TRAORE, O. SANGARE, A. COULIBALY, V. ROBERT, G. SOULA, M. QUILICI, Y.T. TOURE.**

Les aspects parasitologiques de l'épidémiologie du paludisme dans le Sahara Malien. Médecine d'Afrique noire : 1991



# **RÉSUMÉ**

**FICHE SIGNALÉTIQUE**

**Nom:** COUMARE

Prénom: Samba

**Nationalité:** Malienne

Date de soutenance:

**Ville de soutenance:** Bamako

**Titre:** Intérêt de la double lecture des gouttes épaisses dans le diagnostic biologique dans une structure de recherche sur le paludisme.

**Lieu de dépôt :** Bibliothèque de la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odontostomatologie.

### **Résumé**

Ce travail avait pour but de déterminer le taux de concordance entre deux lecteurs certifiés, et de retrouver les causes de discordance.

Notre étude s'est déroulée entre Mai 2006 et Décembre 2007.

Pour atteindre ce but nous avons effectué une étude prospective chez les 300 volontaires AMA1 suivis pour l'étude d'incidence du paludisme âgé de 2 à 3 ans tous sexes confondus.

Une goutte épaisse était réalisée chez chaque sujet fébrile ou antécédent de fièvre dans les 2 premiers jours en visite irrégulière. Les lames étaient systématiquement lues par deux lecteurs indépendants.

La lame était remise au lecteur L3 pour lecture (sans aucune indication par rapport aux résultats obtenus par les 2 premiers lecteurs) :

- Toutes les lames ayant une discordance qualitative (positif vs négatif ou différence en espèce plasmodiales)

- Toutes les lames ayant une discordance quantitative en fonction de la densité parasitaire suivante

Il ressort dans cette étude que le taux de concordance entre deux lecteurs certifiés était de 91,5% pour 2006 et 99% pour 2007. Les causes de la discordance étaient uniquement quantitatives.

**Mots clés:** Goutte épaisse, Paludisme, double lecture et contrôle de qualité.

## **FICHE SIGNALETIQUE**

**First Name:** Coumaré      **Name:** Samba

**Nationality:** Mali      **Date of defense:**

**Defended City:** Bamako

**Title:** Value of double reading of thick smears in the diagnosis in a biological research on malaria.

**Place of deposit:** Library of the Faculty of Medicine, Pharmacy and Dentistry.

### **Abstract**

This work aimed to determine the concordance rate between two readers certified, and find the causes of discrepancy.

Our study was conducted between May 2006 and December 2007.

To achieve this goal we conducted a prospective study among 300 volunteers AMA1 followed for the study of malaria incidence between the ages of 2 to 3 years all sexes.

A thick drop was performed in each subject fever or history of fever within the first 2 days visiting irregular. Two independent readers systematically read the slides. The slide was left to the reader L3 reading (without any indication from the results obtained by the first 2 readers):

- All slides having a discrepancy qualitative (positive vs. negative or difference in parasite species)
- All slides having a quantitative discrepancy in terms of parasite density following.

It appears in this study that the concordance rate between two certified readers was 91.5% for 2006 and 99% for 2007. The causes of the discrepancy were only on quantitative determination of parasite.

**Kay words:** Thick smear, double reading, Malaria. Control quality.



# ANNEXES

## **ANNEXES**

### **Matériels et réactifs:**

Les matériels utilisés étaient:

- Microscope binoculaire et annexes (source électrique, housse de protection)
- Lames porte-objet dégraissées
- Marqueur indélébile

- Vaccinostyles stériles
- Coton hydrophile sec
- Sèche cheveux
- Registre de paillasse
- Compteur manuel
- Minuterie
- Bac à coloration
- Râtelier
- Epprouvettes graduées
- Papier hygiénique
- Gants
- Blouse
- Cantine de rangement des lames

Les réactifs utilisés ont été:

- Alcool 70 °
- Solution de Giemsa
- Eau désionisée
- Huile d'immersion

## **SERMENT D'HIPPOCRATE**

**E**n présence des maîtres de cette faculté, de mes chers condisciples, devant l'effigie d'Hippocrate, je promets et je jure, au nom de l'être suprême, d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la médecine.

**J**e donnerai mes soins gratuits à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail, je ne participerai à aucun partage clandestin d'honoraires.

**A**dmis à l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs, ni à favoriser le crime.

**Je** ne permettrai pas que des considérations de religion, de nation, de race, de parti ou de classe sociale viennent s'interposer entre mon devoir et mon patient.

**Je** garderai le respect absolu de la vie humaine dès la conception.

**Même** sous la menace, je n'admettrai pas de faire usage de mes connaissances médicales contre les lois de l'humanité.

**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'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

**Je** le jure !