

Ministère de l'Éducation Nationale, de l'Enseignement  
Supérieur et de la Recherche Scientifique

\*\*\*\*\*

REPUBLIQUE DU MALI

\*\*\*\*\*

Un Peuple-Un But-Une Foi



U.S.T.T-B



Université des Sciences des Techniques et des Technologies de Bamako  
Faculté de Médecine et d'Odontostomatologie

FMOS

Année universitaire 2020-2021

THEME

Thèse N° : ..... /

**Performance du test de diagnostic rapide ultra-sensible Alere™ Malaria Ag *P.f* dans la détection de l'infection palustre à *Plasmodium falciparum* à Ouélessébougou, Mali.**

Présenté et Soutenu publiquement le.../ .../2021 devant le jury de la Faculté de Médecine et d'Odontostomatologie

Par :

**M. Makonon DIALLO**

**Pour l'obtention du Grade de Docteur en Médecine (Diplôme d'Etat)**

**JURY**

**Président :** Pr Issaka SAGARA

**Membres :** Pr Agrégé Abdoulaye Kassoum KONE

Dr Almahamoudou MAHAMAR

**Co-directeur :** Pr Alassane DICKO

**Directeur :** Pr Mouctar DIALLO

## DEDICACE ET REMERCIEMENT

### **A ALLAH TOUT PUISSANT !!!**

*« Gloire et pureté à Allah ; Louange à Allah ; Il n'y a de divinité digne d'adoration qu'Allah ; Allah est le plus Grand » seigneur merci de m'avoir donné la force et le courage de mener à terme ce travail, pour tout ce qui arrive dans notre vie, particulièrement en ce jour béni où je m'apprête à faire un pas décisif dans ma vie.*

*Aujourd'hui marque la fin d'un processus qui aura duré 10 ans. Il constitue aussi pour moi, un jour de reconnaissance pour tous vos bienfaits. Je prie comme l'a fait le roi Salomon, afin que « l'esprit, non pas celui de gouverner mais celui d'un bon Médecin qui saura appliquer la science qu'il a appris dans le plus grand respect des principes fondamentaux de la vie » m'habite, Amen !*

### **AU PROPHETE MOHAMED, « Paix et Salut sur Lui »**

*Louange à Allah et que la paix et la bénédiction soient sur Son Prophète et Messenger, Mohammed, ainsi que sur sa famille et ses Compagnons. La prière sur le Prophète est un acte recommandé plein de mérites et de bienfaits qu'il convient de multiplier chaque fois que l'occasion vous en est donnée. Ce jour est un jour de grâce, de reconnaissance et de prière sur le saut des Prophètes. Que le seigneur sur le chemin Qu'il nous indiqué et nous renforce sur sa Sunna, Amen !*

### **A mon père Kolèba DIALLO**

*Le sage, le rigoureux, l'honnête, l'intègre, merci pour votre soutien. Vous nous avez inculqué les valeurs et les mérites du travail, l'assiduité et de la persévérance à travers votre propre exemple et de vos conseils. Aujourd'hui, à travers ce modeste travail, je voudrais vous dire merci pour les efforts que vous avez consenti pour notre formation. Je voudrais vous renouveler toute ma reconnaissance pour votre amour et votre accompagnement.*

*Puisse Allah te protéger du mal, te préserver dans la santé, la longévité et dans la piété, Amen!*

### **A mes chères mères N'ginè KANE et Noumouténé NIARE**

*Autant de phrases aussi expressives soient-elles ne sauraient montrer le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour vous. Vous m'avez comblé avec votre tendresse et affection tout au long de mon parcours. Vous n'avez cessé de me soutenir et de m'encourager durant*

*toutes ces années. Vous avez toujours été présentes pour me consoler quand il fallait. En ce jour mémorable, recevez ce travail comme un signe de reconnaissance et de profond respect. Merci pour vos prières et vos bénédictions de tous les jours. Ce travail est en réalité le vôtre. Puisse Dieu, vous gardez encore longtemps dans la bonne santé afin que vous jouissez des fruits de vos labeurs, Amen !*

### **A mes grands parents**

*A vous, qui n'avez pas eu l'opportunité de savourer ce bonheur avec nous, car arraché à notre affection trop tôt, ces quelques mots pour vous témoigner notre reconnaissance pour tous les sacrifices consentis pour l'avènement de ce jour. Puisse Dieu le tout puissant vous accorder sa clémence, sa miséricorde et vous accueillir dans son Paradis. Amen !*

### **A mes tontons et tantes**

*Vous qui, de près ou de loin, souhaitez toujours mon bonheur, ce travail est le fruit de votre accompagnement et de vos bénédictions qui n'ont jamais fait défaut. Vous citez individuellement ou taire vos noms n'enlève rien à la marque de respect, de considération et d'estime que j'observe à votre égard. Qu'Allah, le Miséricordieux, le très Miséricordieux vous gardes encore longtemps avec nous, Amen.*

### **A mes frères et sœurs**

*Votre soutien ne m'a jamais fait défaut et soyez rassuré du mien. Unis, nous sommes plus fort pour maintenir haut le flambeau de la famille Diallo. Ce travail est le fruit de notre cohésion et de notre complicité. Puisse Dieu, resserrer davantage nos liens fraternels. Amen !*

### **A toute la famille Diallo**

*La cohésion de notre famille est le résultat de l'amour qui y règne duquel dépend nos succès. Soyons fiers de nos parents et continuons sur leur voie.*

### **A mes amis de la faculté**

*Vous avez été une famille, vous m'avez supporté, aimé et aidé dans les moments décisifs de ma formation. Qu'Allah renforce notre lien. Amen !*

*Je tiens à adresser mes sincères remerciements :*

### **A L'AFRIQUE**

*Que la recherche de la paix et du développement soit la priorité de tes fils. Que ce modeste travail contribue à l'amélioration de l'état de santé de ta population.*

## **A MA CHERE PATRIE, LE MALI**

*Tu m'as vu naître, grandir et tu m'as permis de partir à l'école pour arriver là où je suis maintenant. Ô Mali, tu es mon destin et je ferais ta gloire si Dieu le veut bien.*

*Je prie pour que la paix, la stabilité et la quiétude qui étaient les tiennes te reviennent à jamais. Amen !*

## **Au Professeur ALASSANE DICKO**

*Merci de nous avoir acceptés dans votre équipe de recherche et d'avoir dirigé ce travail. Cher maître, votre sympathie, votre modestie, votre ouverture, votre disponibilité, votre souci du travail bien fait, votre assiduité et votre cordialité font de vous une personne qu'on ne peut s'empêcher d'admirer. Pour moi, vous êtes le modèle et chaque minute passée à vos côtés, a été pour moi une grâce, une bénédiction car vous m'avez appris à être un bon médecin ; c'est aussi apprendre à être sage, humble, honnête et polyvalent. Veuillez retrouver ici cher maître toute ma reconnaissance. Qu'Allah le tout puissant vous protège, qu'il vous donne un pouvoir bénéficiant son secours et nous permettre de vous rendre hommage en ayant la force, le courage et la chance de suivre vos pas. Amen !*

## **A TOUS MES ENSEIGNANTS DU PRIMAIRE AU SECONDAIRE**

## **A TOUT LE CORPS PROFESSORAL DE LA FACULTE DE MEDECINE ET D'ODONTOSTOMATOLOGIE (FMOS)**

*Merci pour la qualité de la formation que vous m'aviez dispensée. Merci pour tout ce que vous avez fait pour ma formation. Que Dieu vous récompense et vous accorde une longue vie.*

## **Au Dr ALMAHAMOUDOU MAHAMAR**

*Je ne cesserai de vous remercier. Vous avez été pour nous un maître et aussi un grand frère. Vous nous avez toujours transmis votre savoir-faire et votre savoir- être tant dans la vie professionnelle que dans la vie sociale. Vous êtes aussi un homme avec beaucoup de qualités professionnelles et humaines, votre rigueur dans le travail, votre droiture, votre franchise et surtout votre gentillesse forcent l'admiration. Les mots me manquent pour vous témoigner ma reconnaissance car un proverbe dit quel que soit la valeur du présent fait à un homme, il n'y a qu'un seul mot pour témoigner la reconnaissance inspirée par la liberté et ce mot c'est MERCI. En présentant ce modeste travail j'espère m'être approché de vos attentes. Encore merci de votre franche collaboration. Puisse Allah le tout puissant vous rendre vos biens faits*

*et nous permettre de vous rendre hommage en ayant la force, le courage et la chance de suivre vos pas. Que le seigneur vous bénisse. Amen !*

**Au Dr KOUALY SANOGO**

*Votre simplicité, votre abord facile, votre esprit critique, votre humanisme, votre pragmatisme et votre sourire constant font de vous un maître exemplaire. Merci d'avoir porté la confiance à moi depuis notre première rencontre. Vous avez beaucoup contribué à l'inspiration du sujet de cette thèse et à sa réalisation. Trouvez ici cher maître l'expression de ma profonde gratitude.*

**Aux Dr AMADOU TAPILY ET Dr MODIBO DIARRA**

*Votre simplicité, votre abord facile, votre esprit critique, votre humanisme, votre pragmatisme et votre sourire constant font de vous un maître exemplaire. Trouvez ici cher maître l'expression de ma profonde gratitude.*

**Aux Dr DJIBRILLA ISSIAKA ET Dr HALIMATOU DIAWARA**

*C'est le lieu de vous réitérer toute ma reconnaissance et mon profond respect. Encore merci pour tous les services rendus et surtout de vos soutiens et conseils permanents. Recevez ici l'expression de ma reconnaissance.*

**A MES AINES ET A MES COLLEGUES THESARDS DU MRTC - OUELESSEBOUGOU:** Dr Gaoussou SANTARA, Dr Moussa TRAORE, Dr Oumar ATTAHER, Dr Youssoufa SIDIBE, Dr Mahamadou KAYA, Dr Mamoudou SAMASSEKOU, M. Sekouba KEITA, Dr Oumar DICKO, Dr Seydou TRAORE, Dr Ibrahim Hassimi SOUMOUNOU, Dr Kalifa DIARRA, Dr Sidi Mohamed NIAMBELE, Dr YALCOUYE, Dr Ahmadou YOUSOUF, Dr Youssouf KONE, Mme Korotimi DEMBELE, Mme Wassa DOUMBIA, M. Adama SISSOKO, M. Adama DEMBELE, M. Siaka SAMAKE, Mlle Oulematou NDIAYE, Dr Soumaila DIARRA, Dr Seydina Oumar MAGUIRAGA, M. Richard dit Sire DIARRA, Mlle Oumou SEYBA ... *Votre soutien, vos encouragements et vos conseils ont été déterminants tout au long de l'élaboration de ce travail. Votre joie de vivre, vos qualités humaines et votre rigueur dans le travail m'ont donné un environnement de travail qu'on ne pouvait mieux espérer. Sachez que je garderai en mémoire tout ce que vous avez fait pour moi. Recevez à travers ces quelques mots ma profonde gratitude et mes sincères remerciements.*

### **Aux DATA MANAGERS**

*M. Ismaila THERA, M. Hady TOGORA, M. Siriman TRAORE, M. Ibrahim DIARRA, M. Alhousseyni DICKO, M. Ammara DICKO, M. Aboubacar FOFANA et Balla FOFANA*

*Les mots me manquent pour exprimer avec exactitude les sentiments que j'ai pour vous. Vos sourires, vos conseils, vos soutiens, vos critiques ont été précieux dans la réalisation de ce travail. Soyez rassurés de ma profonde reconnaissance.*

### **AUX LABORANTINS**

*Sekouba KEITA, Adama SISSOKO, Adama DEMBELE, Siaka SAMAKE, M. Aly Tiama, Idrissa SAMAKE, M. Badjan COUMARE....*

*Merci pour l'effort que vous avez déployé pour la lecture des lames et la concrétisation de ce travail.*

### **AUX COUSINIÈRES**

**Kadi, Birassoum TRAORE**

*Toute ma reconnaissance et mes sincères remerciements.*

### **AUX CHAUFFEURS**

*Gabriel SAMAKE, Hama ONGOIBA, Siaka SAMAKE, Labassou KANE, Sidi TRAORE, Oumar TRAORE et Dramane BEMBA.*

*Merci de nous avoir fait parcourir le "Banimonotié" et le "Djitoumou" en toute sécurité. Je vous dis du fond du cœur merci pour votre disponibilité.*

**A MES AMIS :** Boubacar COULIBALY, Korossoum NIARE, Soundje NIARE, Sory NIARE, Daouda DEMBELE, Bréhima COULIBALY, Makonon NIARE et Mery COULIBALY

*Les amis, vous m'êtes si chers, merci à vous tous, pour vos conseils, vos encouragements, et vos accompagnements durant tout ce chemin.*

**A TOUT LE PERSONNEL DU CSREF DE OUELESSEBOUGOU ET DU CSCOM CENTRAL OUELESSEBOUGOU. Merci pour votre hospitalité.**

**A LA FAMILLE FEU MAMOUROU NIARE**

*Famolo NIARE, Maladon COULIBALY, Karim NIARE, Sein NIARE, Awa COULIBALY, Ngnia NIARE, Zenetou KONARE et Assetou CISSE.*

*Les mots ne suffisent pas pour vous exprimer toute ma reconnaissance. Vous êtes pour moi des personnes très chères sur qui je peux toujours compter. Veuillez trouver ici l'expression*

*de profond amour et de mon sincère attachement. Merci pour votre hospitalité Ce travail est le vôtre.*

**A MES AMIS DE LA FACULTE DE MEDECINE ET D'ODONTOSTOMATOLOGIE**

Dr Amadou Diallo, Dr Yaya SANKARE, Dr Lassina MARIKO, Dr Lassina DIAKITE, Dr Kadidiatou TAMBOURA, Bouri CISSE, Moussa SANGARE, Hamidou SALL, Dr Gassire KOUMA, Sory KANTA, Monzon COULIBALY

*Vous avez été pour moi des frères, des compagnons de lutte. Je souhaite que ce lien soit encore plus solide et qu'il ne soit jamais altéré jusqu'à la fin de nos jours. Ce travail est le vôtre.*

**A TOUS LES AGENTS DE TERRAIN DU MRTC**

*Vous avez tous inlassablement travaillé pour la mise en œuvre de cette étude.*

**A TOUS LES RELAIS DES DIFFERENTS VILLAGES DE OUELESSEBOUGOU ET ENVIRONNANTS**

*Merci pour votre adhésion et votre collaboration sans lesquelles cette étude n'aurait pas pu se réaliser.*

**A MES CAMARADES DE LA PROMOTION**

*Faisons-en sorte que notre promotion soit de tous les combats pour rehausser le niveau de la science. Merci mille fois pour cette ambiance studieuse que nous avons entretenue ensemble.*

**A L'ASSOCIATION JEUNESSE TAPITAL PULAKU**

*A tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.*

## **HOMMAGE AUX MEMBRES DU JURY**

**A notre Maître et Président du jury**

**Professeur Issaka Sagara**

- **Maître de recherche à la FAPH ;**
- **Médecin, biostatisticien chercheur au MRTC/DEAP/FMOS/FAPH ;**
- **Chef de l'unité d'épidémiologie, Biostatistique et Data management au MRTC/DEAP/FMOS/FAPH ;**
- **Investigateur principal (PI) des essais vaccinaux des sites de Bancoumana, de Donéguebougou, de Sotuba et de Kolondièba.**

**Cher Maître,**

Vous nous faites un grand honneur en acceptant de présider ce jury malgré vos multiples occupations. Votre abord facile, votre esprit critique et votre rigueur scientifique font de vous un maître respecté et admiré. Veuillez agréer cher maître, l'expression de notre profonde gratitude et de notre attachement indéfectible.

.



**A notre Maitre et membre du jury**

**Pr. Abdoulaye K Koné**

- **Professeur agrégé de Parasitologie-Mycologie à la Faculté de Médecine et d'Odontostomatologie ;**
- **Médecin-chercheur au Malaria Research and Training Center;**
- **Responsable du laboratoire de diagnostic des leishmanioses au Malaria Research and training center.**

**Cher maitre,**

Ce travail est avant tout le fruit de vos efforts. Votre humanité, votre simplicité, la clarté de vos enseignements, votre amour pour le travail bien fait imposent respect et admiration. Merci pour votre soutien et les conseils que vous nous avez prodigués. Permettez-moi cher maitre de vous adresser l'expression de ma reconnaissance et de mon profond respect.

**A notre Maitre et membre du jury**

**Dr Almahamoudou Mahamar**

- **Pharmacien et chercheur au MRTC ;**
- **Master en entomologie-parasitologie;**
- **PhD en science de santé, option entomologie-parasitologie médicales.**

**Cher maitre,**

Nous nous réjouissons de votre présence au sein de ce jury.

C'est un grand honneur que vous nous avez fait, en acceptant de juger ce travail malgré vos multiples occupations.

Merci pour vos recommandations et conseils prodigués pour l'amélioration de la qualité de ce travail. Sachez que votre sympathie, votre disponibilité inconditionnelle et votre courtoisie nous ont été très bénéfiques pour mener à bien ce travail. Votre esprit communicatif. Votre détermination à faire avancer la science font de vous la vitrine de la nouvelle génération. Nous sommes très fiers d'avoir appris à vos côtés. Recevez par ce travail l'expression de notre admiration et de notre profonde gratitude.

Puisse Allah le tout puissant vous bénisse.

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

**Professeur Alassane DICKO**

- **Professeur titulaire en épidémiologie et santé publique ;**
- **Lauréat du prix « The royal society Africa prize » 2017;**
- **Responsable du centre de recherche de Ouélessébougou et de Bougouni ;**
- **Directeur de programme de recherche à la Faculté de Pharmacie et à la Faculté de Médecine et d'Odontostomatologie.**

**Cher maitre,**

Vous nous avez fait un immense honneur en nous acceptant dans votre équipe de recherche médicale. Nous vous remercions de la confiance que vous nous avez placée en nous proposant ce travail. Tout au long de ce travail nous avons apprécié vos grandes qualités scientifiques et humaines, vos enseignements et surtout votre sens élevé de la responsabilité et de la rigueur dans le travail. Vous nous avez cultivé l'esprit d'équipe, l'endurance, la persévérance, le travail bien fait et surtout la patience. Que ce travail soit pour nous le moyen de vous exprimer une fois de plus notre disponibilité et notre haute considération.

A notre Maitre et Directeur de thèse

**Professeur Mouctar DIALLO**

- **PhD en parasitologie entomologie médicale; Responsable de l'Unité de diagnostic parasitaire au MRTC/FMPOS ;**
- **Chef de D.E.R des Sciences Fondamentales de la FAPH ;**
- **Président de l'association des biologistes techniciens de laboratoire du Mali ;**
- **Professeur Titulaire de parasitologie/mycologie à la FAPH.**

Cher maitre,

Vous nous avez fait un immense honneur en nous acceptant dans votre équipe de recherche.

Nous vous remercions de la confiance que vous nous avez placée en nous proposant ce travail nous avons apprécié vos grandes qualités scientifiques et humaines vos enseignements et surtout votre sens élevé de la responsabilité et de la rigueur dans le travail.

Que ce travail soit pour nous le moyen de vous exprimer une fois de plus notre haute considération et indéfectible attachement.

## LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS

|              |  |
|--------------|--|
| <b>AL</b>    | : Artéméther + Luméfantrine                                      |
| <b>AS+AQ</b> | : Artésunate + Amodiaquine                                       |
| <b>CE</b>    | : Comités d'Ethique  |
| <b>CPS</b>   | : Chimio- prévention du paludisme Saisonnier                     |
| <b>CSCOM</b> | : Centre de santé communautaire                                  |
| <b>CSDS</b>  | : Comité de Surveillance des Données et de la Sécurité           |
| <b>CSRéf</b> | : Centre de santé de référence                                   |
| <b>CTA</b>   | : Combinaison Thérapeutique à base d'Artémisinine                |
| <b>DP</b>    | : Dihydroartémisinine Pipéraquline                               |
| <b>EDSM</b>  | : Enquête Démographique et de Santé au Mali                      |
| <b>EDTA</b>  | : Ethylènediaminetétraacétique                                   |
| <b>EIG</b>   | : Evénements Indésirables Graves                                 |
| <b>ELISA</b> | : Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay                             |
| <b>FAPH</b>  | : Faculté de pharmacie   |
| <b>Fab</b>   | : Anticorps fragmenté  |
| <b>GE</b>    | : Goutte Épaisse   |
| <b>GluDH</b> | : Glutamate déhydrogénase  |
| <b>HRP2:</b> | : Protéine 2 riche en histidine                                  |
| <b>IFI</b>   | : Immunofluorescences Indirecte                                  |
| <b>IM</b>    | : Intra Musculaire   |
| <b>INRSP</b> | : Institut National de Recherche en Santé Publique               |
| <b>IPTp</b>  | : Traitement Préventif Intermittent pendant la grossesse         |
| <b>IV</b>    | : Injection intra veineuse                                       |
| <b>LDH:</b>  | : Lactate déshydrogénase   |
| <b>LSHTM</b> | : London School of Hygiene & Tropical Medicine                   |
| <b>Mg</b>    | : Milligramme  |
| <b>MII</b>   | : Moustiquaires imprégnées d'insecticides                        |
| <b>MILD</b>  | : Moustiquaires imprégnées d'insecticide à longue durée d'action |
| <b>mol</b>   | : Mole   |
| <b>MII</b>   | : Moustiquaires Imprégnées d'Insecticides                        |
| <b>MON</b>   | : Mode opératoire normalisé                                      |

|                             |   |
|-----------------------------|---|
| <b>MRTC</b>                 | : Malaria Research and Training Center                              |
| <b>Ng</b>                   | : Nanogramme  |
| <b>NIH</b>                  | : Instituts Nationaux de Santé des Etats Unis d'Amérique            |
| <b>OMS</b>                  | : Organisation Mondiale de la Santé                                 |
| <b>OptiMAL-IT</b>           | : OptiMAL Individual Test   |
| <b>P</b>                    | : Probabilité   |
| <b><i>P. falciparum</i></b> | : <i>Plasmodium falciparum</i>                                      |
| <b><i>P. malariae</i></b>   | : <i>Plasmodium malariae</i>  |
| <b><i>P. ovale</i></b>      | : <i>Plasmodium ovale</i>   |
| <b><i>P. vivax</i></b>      | : <i>Plasmodium vivax</i>   |
| <b>PA</b>                   | : Pyronaridine Artésunate   |
| <b>qPCR</b>                 | : Protein Chain Reaction  |
| <b>PID</b>                  | : Pulvérisation intra domiciliaire                                  |
| <b>pLDH</b>                 | : Lactate déshydrogénase plasmodiale                                |
| <b>PNB</b>                  | : Produit National Brut   |
| <b>PNLP</b>                 | : Programme national de lutte contre le paludisme                   |
| <b>PQ</b>                   | : Primaquine  |
| <b>QBC</b>                  | : Quantitative Buffy Coat   |
| <b>SP</b>                   | : Sulfadoxine-Pyriméthamine   |
| <b>TDRst</b>                | : Test de diagnostic Rapide Standard                                |
| <b>TDRus</b>                | : Test de Diagnostic Rapide ultrasensible                           |
| <b>TNF</b>                  | : Tumor necrosis factor   |
| <b>USTTB</b>                | : Université des Sciences, des Techniques et Technologies de Bamako |
| <b>USA</b>                  | : Unit State of American  |
| <b>VIH</b>                  | : Virus d'immuno-déficience humaine                                 |
| <b>%</b>                    | : Pourcent  |
| <b>°C</b>                   | : Degré Celsius   |
| <b>µg</b>                   | : Microgramme   |
| <b>µl</b>                   | : Microlitre  |
| <b>µmol</b>                 | : Micromole   |

## LISTE DES TABLEAUX

|   |    |
|---|----|
| <b>Tableau I:</b> Critères de gravité 2000 de l'OMS du paludisme grave .....                                    | 17 |
| <b>Tableau II:</b> Tableau de contingence des tests diagnostiques .....   | 28 |
| <b>Tableau III:</b> Posologie de la Dihydroartémisinine-Pipéraquline en fonction du poids.....                  | 38 |
| <b>Tableau IV:</b> Posologie de la Pyronaridine-Artésunate en fonction du poids. ....                           | 39 |
| <b>Tableau V:</b> Prélèvements sanguins des participants .....  | 40 |
| <b>Tableau VI:</b> Répartition des volontaires en fonction du sexe.....   | 48 |
| <b>Tableau VII:</b> Répartition des volontaires en fonction de la tranche d'âge.....                            | 48 |
| <b>Tableau VIII:</b> Répartition des résultats de la PCR selon le bras de traitement à J0.....                  | 49 |
| <b>Tableau IX:</b> Répartition des résultats du TDR ultrasensible (TDRus) selon le bras de traitement à J0..... | 49 |
| <b>Tableau X:</b> Répartition des résultats de la goutte épaisse (GE) selon le bras de traitement à J0.....     | 50 |
| <b>Tableau XI:</b> Répartition des résultats du TDR standard (TDRst) selon le bras de traitement à J0.....      | 50 |
| <b>Tableau XII:</b> Valeurs diagnostiques du TDR ultrasensible (TDRus) par rapport à la PCR à J0.....           | 51 |
| <b>Tableau XIII:</b> Valeurs diagnostiques du TDR standard (TDRst) par rapport à la PCR à J0.....               | 51 |
| <b>Tableau XIV:</b> Valeurs diagnostiques de la goutte épaisse (GE) par rapport à la PCR à J0.....              | 53 |

## LISTE DES FIGURES ET GRAPHIQUES

|  |    |
|--|----|
| <b>Figure 1:</b> Carte mondiale du taux d'incidence des cas de paludisme (cas pour 1000 habitants à risque) par pays, 2018. ....   | 6  |
| <b>Figure 2:</b> Cycle de vie du <i>Plasmodium</i> et développement des gamétocytes parasites du paludisme. ....   | 13 |
| <b>Figure 3:</b> Vue microscope d'une goutte épaisse (100X). Trophozoites de <i>P. falciparum</i> (coloration GIEMSA). ....  | 19 |
| <b>Figure 4:</b> Vue microscopique d'un frottis sanguin (100X). Trophozoites de <i>P. falciparum</i> coloration MGG. ....  | 20 |
| <b>Figure 5:</b> Principe de l'immunochromatographie .....   | 22 |
| <b>Figure 6:</b> vue schématique d'un test immunochromatographique à flux latéral typique .....  | 22 |
| <b>Figure 7 :</b> Procédure du test .....  | 23 |
| <b>Figure 8:</b> Présentation du test de diagnostic rapide ultra-sensible Alere™ Malaria Ag P.f. ....  | 27 |
| <b>Figure 9:</b> Présentation du SD BIOLINE MALARIA TEST. ....   | 28 |
| <b>Figure 10:</b> Carte du Mali montrant le site de l'étude. ....  | 35 |
| <b>Figure 11:</b> La dynamique de la protéine HRP2 évaluée par le TDR-ultrasensible et le TDR standard en fonction des jours de visite après le traitement par les CTA seulement. ....                       | 54 |
| <b>Figure 12:</b> La dynamique de la protéine HRP2 évaluée par le TDR ultra-sensible et le TDR standard en fonction des jours de visite après le traitement par les CTA plus faible dose de primaquine. .... | 55 |
| <b>Figure 13 :</b> Courbe montrant la dynamique de la protéine HRP2 évaluée par les TDR-ultrasensible et standard 21 jours après le traitement par les CTA avec ou sans faible dose de primaquine. ....      | 56 |



## Table des Matières

|             |   |          |
|-------------|---|----------|
| <b>I.</b>   | <b>INTRODUCTION ET JUSTIFICATION</b> .....    | <b>1</b> |
| <b>II.</b>  | <b>OBJECTIFS</b> .....                        | <b>4</b> |
| 2.1.        | Objectif général .....                        | 4        |
| 2.2.        | Objectifs spécifiques.....                    | 4        |
| <b>III.</b> | <b>GENERALITES</b> .....                      | <b>5</b> |
| 3.1.        | Définition.....                               | 5        |
| 3.2.        | Epidémiologie : .....                         | 5        |
| 3.3.        | Agents pathogènes .....                       | 8        |
| 3.3.1.      | Classification .....                          | 8        |
| 3.3.2.      | Vecteurs .....                                | 8        |
| 3.3.3.      | Les différentes espèces: .....                | 9        |
| 3.4.        | Cycle biologique du <i>Plasmodium</i> : ..... | 11       |
| 3.4.1.      | Chez l'homme .....                            | 11       |
| 3.4.2.      | Chez l'anophèle femelle .....                 | 12       |
| 3.5.        | Physiopathologie du paludisme.....            | 13       |
| 3.5.1.      | Paludisme simple .....                        | 14       |
| 3.5.2.      | Paludisme grave.....                          | 14       |
| 3.5.3.      | Critères de gravité définis par l'OMS .....   | 16       |
| 3.6.        | Autres complications.....                     | 18       |
| 3.7.        | Diagnostic biologique :.....                  | 18       |
| 3.7.1.      | Diagnostic direct .....                       | 18       |
| 3.7.2.      | Diagnostic indirect.....                      | 29       |
| □           | Méthodes sérologiques .....                   | 29       |
| 3.8.        | Traitement.....                               | 30       |
| 3.8.1.      | Traitement curatif .....                      | 30       |
| 3.8.1.1.    | Paludisme simple .....                        | 30       |

|  |    |
|--|----|
| 3.8.2. Traitement préventif .....  | 32 |
| 3.8.3. La vaccination contre le paludisme.....   | 32 |
| IV. METHODOLOGIE .....   | 34 |
| 4.1. Cadre de l'étude .....  | 34 |
| 4.2. Type l'étude .....  | 35 |
| 4.3. Période d'étude.....  | 35 |
| 4.4. Population d'étude .....  | 35 |
| 4.5. Critères de sélection .....   | 35 |
| 4.5.1. Critères inclusion.....   | 35 |
| 4.5.2. Critères de non-inclusion .....   | 36 |
| 4.6. Taille de l'échantillon.....  | 36 |
| 4.7. Procédure de l'étude .....  | 37 |
| 4.7.1. Information et permission communautaire .....   | 37 |
| 4.7.2. Consentement individuel.....  | 37 |
| 4.7.3. Prélèvement pour goutte épaisse et frottis mince .....  | 37 |
| 4.7.4. Transfert au centre pour examen clinique et enrôlement pour les porteurs de parasites. ....                             | 37 |
| 4.7.5. Poste d'administration des médicaments de l'étude au centre .....   | 38 |
| 4.7.6. Le suivi.....   | 39 |
| 4.8. Gestion et analyse des données.....   | 46 |
| 4.9. Considérations éthiques.....  | 46 |
| V. RESULTATS.....  | 48 |
| 5.1. Caractéristiques sociodémographiques.....   | 48 |
| 5.2. Résultats parasitologiques selon la méthode de diagnostic et en fonction du groupe de traitement à l'inclusion (J0). .... | 49 |
| 5.3. Performance du TDR ultrasensible .....  | 51 |

|  |    |
|--|----|
| 5.4. La dynamique de la protéine HRP2 après le traitement antipaludique, avec ou sans faible dose de primaquine évaluée par les tests de diagnostic rapide. .... | 54 |
| VI. COMMENTAIRES ET DISCUSSION.....  | 57 |
| VII. CONCLUSION .....  | 60 |
| VIII. RECOMMANDATIONS.....   | 61 |
| 8.1. Aux chercheurs.....   | 61 |
| 8.2. Aux autorités sanitaires nationales.....  | 61 |
| 8.3. Aux praticiens.....   | 61 |
| IX. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....   | 62 |
| X. Fiche signalétique.....   | 65 |

## I. INTRODUCTION ET JUSTIFICATION

Le paludisme est une érythrocytopathie fébrile et hémolysante due à la présence et au développement dans l'organisme humain d'un hématozoaire du genre *Plasmodium* transmis à l'homme par la piqûre infestante d'un moustique femelle du genre Anophèles. Cette affection constitue un problème majeur de santé publique dans le monde, particulièrement dans les régions tropicales. Aujourd'hui, environ la moitié de la population mondiale, vivant en zone d'endémie, est concernée par le risque de paludisme, considéré à ce jour comme la maladie parasitaire la plus fréquente chez l'homme. Elle demeure un des problèmes majeurs auxquels les politiques et les systèmes de santé sont confrontés bien que des progrès notables aient été réalisés (1). Selon le dernier Rapport sur le paludisme dans le monde, publié en novembre 2020, le nombre de cas de paludisme était estimé à 229 millions en 2019 dans 87 pays d'endémie palustre, soit une baisse par rapport aux 238 millions de 2000. La région Afrique de l'Organisation mondiale de la Santé (OMS) représente à elle seule 94 % (215 millions) des cas(2) . Durant la même période 409.000 cas de décès dans le monde étaient dus au paludisme, dont 94% dans la région africaine et 84 % de ces décès sont survenus chez les enfants de moins de cinq ans(2).

Le Mali, à l'instar de la plupart des pays de l'Afrique subsaharienne, enregistre le paludisme comme la première cause de mortalité et de morbidité. Selon le système d'information sanitaire, 2 614 104 cas de paludisme confirmés et 1 001 décès ont été enregistrés en 2018. Le paludisme constituait le premier motif de consultation 39% (3). Le plus grand nombre des cas de paludisme est enregistré en général de juillet à novembre qui correspond à la période de haute transmission du paludisme au Mali. La prévalence du paludisme était de 19 % chez les enfants de moins de cinq ans et cette prévalence était plus élevée dans la région de Sikasso avec 30% de cas contre seulement 1% Bamako (3).

La lutte actuelle contre le paludisme est axée sur certaines stratégies comme l'utilisation des Moustiquaires Imprégnées d'Insecticides (MII), la Chimio-prévention du Paludisme Saisonnier (CPS) chez les moins de 5 ans, le Traitement Préventif Intermittent (TPI) chez les femmes enceintes, la Pulvérisation Intra-domiciliaire par des insecticides (PID). En plus de ses stratégies, de nombreux candidats vaccins antipaludique sont en cours de développement dont le plus avancé est le vaccin RTS,S/AS01 en phase IIIb (4), le traitement des cas de paludisme par les combinaisons thérapeutiques à base de dérivés d'artémisinine (CTA) confirmé par les TDR (TDR) ou par microscopie.

Bien que ces mesures ont globalement contribué à une réduction du nombre de décès par rapport aux données des années 2000, le paludisme demeure toujours un problème de santé publique (5). La morbidité et la mortalité liées au paludisme peuvent être réduites avec un diagnostic et une prise en charge précoces. Ces dernières années, les techniques de diagnostic du paludisme a beaucoup grâce à l'utilisation des tests rapides appelées couramment Tests de Diagnostic Rapide (TDR) du paludisme. Ces tests offrent la possibilité d'un diagnostic dans les zones où l'examen microscopique de qualité n'est pas disponible.

Le Mali a adopté l'utilisation systématique des tests de diagnostic rapide (TDR) chez tous les cas suspects depuis 2009 après des études pilotes menées entre 2006 et 2007, des Combinaisons Thérapeutiques à base d'Artémisinine (CTA) pour le traitement des cas confirmés.

En 2019, 348 millions de TDR ont été vendus et 267 millions ont été distribués par les programmes nationaux de lutte contre le paludisme dans le monde (2). La plupart de ces TDR (24 %) étaient des tests livrés en Afrique subsaharienne et pouvant uniquement détecter le parasite *Plasmodium falciparum*(2). Les TDR présentent cependant certaines limites mises en avant par de nombreuses études, en particulier pour diagnostiquer ou dépister des porteurs asymptomatiques qui présentent le plus souvent de très faibles parasitémies. Ceux ciblant *P. falciparum* antigène spécifique histidine Rich Protéine 2 (HRP2) restent les plus sensibles et les plus robustes pour le diagnostic du paludisme à *P. falciparum*. Cela, en raison de faibles niveaux de détection des tests pour l'autre antigène couramment utilisé, la Lactate Déshydrogénase (LDH), ainsi que l'accumulation de HRP2 pendant l'infection (6). La mauvaise performance des TDR disponibles dans le commerce en termes de sensibilité aux infections parasitaires de faible densité limite leur utilité dans les stratégies d'élimination.

Les récentes études ont montré que le TDR ultra-sensible Alere™ Malaria Ag Pf (TDRus) récemment développé, serait dix fois plus sensible que les TDR actuel (7). Ce test de diagnostic du paludisme avec une amélioration de 10 ou 100 fois la limite de détection par rapport à la microscopie ou aux TDR actuels, simple à utiliser et peut être un outil utile pour les stratégies d'élimination.

C'est dans cette logique que notre essai clinique de phase II, en simple aveugle, randomisé dans une cohorte d'hommes et de femmes non enceintes maliens à Ouélessébougou, en collaboration avec la London School of Hygiene and Tropical Medicine et l'Université

**Performance du test de diagnostic rapide ultra-sensible Alere™ Malaria Ag *P.f* dans la détection de l'infection palustre à *Plasmodium falciparum* à Ouélessébougou, Mali.**

Radboud de Nimègue, visait à évaluer la performance du TDR ultra-sensible, notamment Alere™ Malaria Ag P.f détectant le HRP2 et les gamétocytes spécifiques à *Plasmodium falciparum* dans une zone d'endémie comme Ouélessébougou, Mali.

## II. OBJECTIFS

### 2.1. Objectif général

Evaluer la performance du test de diagnostic rapide ultra-sensible Alere™ Malaria Ag *P.f* dans la détection de l'infection palustre à *Plasmodium falciparum* et la persistance de la HRP2 après un traitement antipaludique.

### 2.2. Objectifs spécifiques

- Calculer les sensibilités et les spécificités du test de diagnostic rapide ultra-sensible (TDRus), du test de diagnostic rapide standard (TDRst), de la goutte épaisse (GE), dans la détection de l'infection palustre à *Plasmodium falciparum* par rapport à la quantitative réaction de polymérisation en chaîne (qPCR) ;
- Déterminer les valeurs prédictives positives (VPP) et négatives (VPN) du test de diagnostic rapide ultra-sensible (TDRus), du test de diagnostic rapide standard (TDRst), de la goutte épaisse dans la détection de l'infection palustre à *P. falciparum* par rapport à la quantitative réaction de polymérisation en chaîne (qPCR) ;
- Déterminer la dynamique de la protéine HRP2 après le traitement antipaludique, avec ou sans faible dose de primaquine évaluée par les tests de diagnostic rapide.

### III. GENERALITES

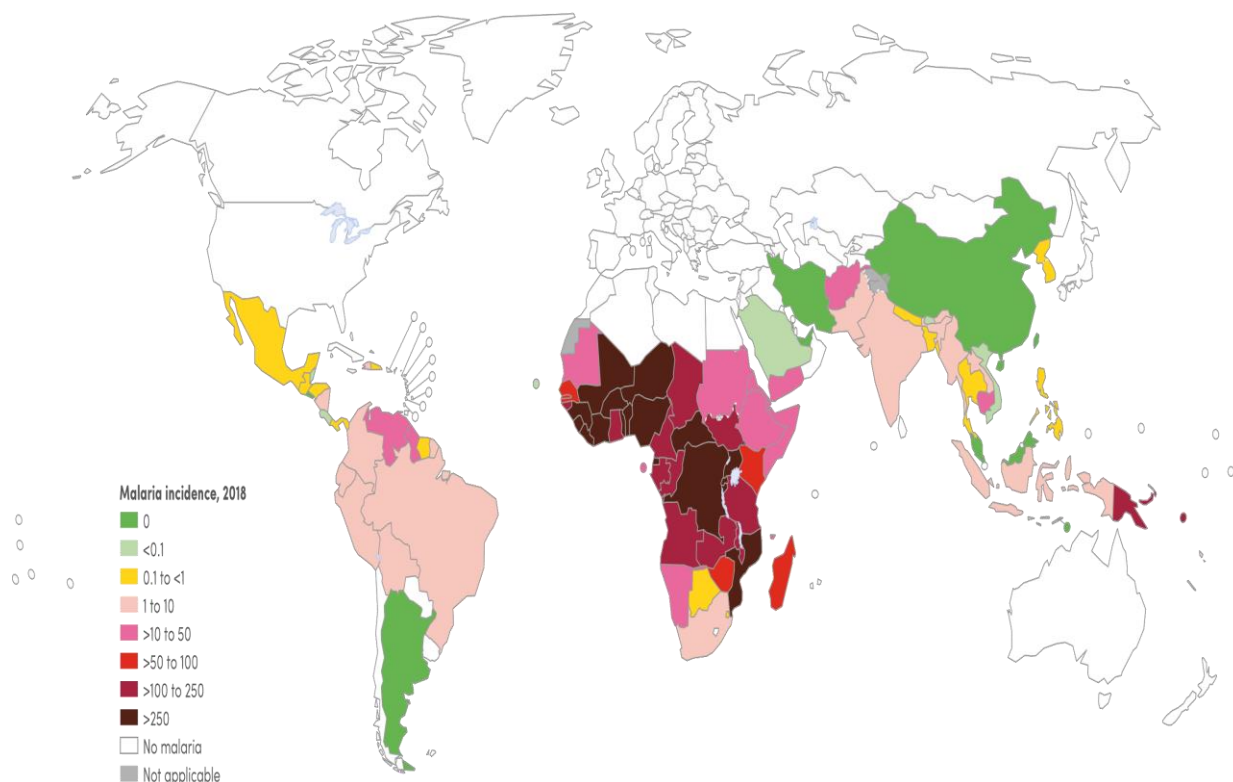
#### 3.1. Définition

Le paludisme (malaria en anglais) est une protozoose due au développement et à la multiplication dans l'organisme humain d'un hématozoaire du genre *Plasmodium* identifié par Alphonse Laveran en 1880 (prix Nobel 1907), entraînant une érythrocytopathie fébrile et hémolysante. Le parasite est transmis à l'Homme par la piqûre de la femelle du moustique hématophage infecté appartenant au genre *Anopheles*. On distingue l'infection asymptomatique correspondant à la présence de parasites sans signes cliniques et le paludisme-maladie correspondant à la présence du parasite associée à des signes cliniques dont la fièvre.

#### 3.2. Epidémiologie :

Le paludisme l'une des maladies endémo-épidémiques les plus répandues dans le monde, le paludisme demeure un grand fléau des pays tropicaux et subtropicaux surtout d'Afrique subsaharienne. C'est une affection parasitaire qui occupe la première place des maladies infectieuses sur le plan mondial, l'affection parasitaire la plus mortelle, cependant le poids de la maladie en termes de santé publique (mortalité, morbidité et impact socio-économique) varie considérablement d'une région à l'autre. La grande majorité des cas graves et mortels de paludisme est due essentiellement à *P. falciparum* et surtout chez les enfants de moins de cinq ans (8). Entre 2010 et 2018 le taux d'incidence globale de la maladie a été réduit passant de 71 cas pour 1 000 habitants exposés au risque de paludisme à 57 pour 1 000. Certains pays comme le Paraguay et l'Ouzbékistan ont été certifiés exempts de paludisme par l'OMS en 2018, l'Algérie et l'Argentine ont également obtenu cette certification en début de 2019. Selon le même rapport en 2019 la Chine, El Salvador, l'Iran, la Malaisie et le Timor-Leste ont rapporté zéro cas de paludisme indigène. La baisse la plus prononcée a été enregistrée en Asie du Sud-Est avec 70%, en Afrique l'incidence du paludisme a diminué moins de 22% (8). Les progrès ont été moins perceptibles dans la région Afrique, là où le paludisme pèse le plus. La mortalité a aussi diminué au niveau mondial dans la même période passant de 585 000 à 405 000. La baisse la plus prononcée du nombre de décès dus au paludisme, a été observée dans la région Afrique de l'OMS, qui est passée de 533 000 décès en 2010 à 380 000 en 2018 (8). Malgré ces progrès, la baisse de la mortalité liée au paludisme a ralenti depuis 2016.





Source : <https://www.who.int/publications/i/item/world-malaria-report-2019>

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

En plus du fardeau humain, le paludisme affecte l'économie nationale par la réduction du produit national brut (PNB) du fait de jours de travail perdus par les personnes actives et entrave la scolarité des enfants et le développement social. La morbidité et la mortalité liées au paludisme a aussi un coût direct et indirect sur le développement économique des pays endémique (8). Dans le monde, 2,7 milliards de dollars ont été injectés dans la lutte contre la maladie en 2018 (8). Selon une étude menée par l'Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP) du Mali, les pertes économiques dues au paludisme sont estimées à 72 milliards de francs CFA par an (9). Le paludisme est endémique au Mali avec une intense transmission au cours de la saison pluvieuse dont la durée est variable en fonction des zones éco climatiques. Certains groupes de population courent un risque beaucoup plus élevé que d'autres de contracter le paludisme et d'être gravement atteints : les nourrissons, les enfants de moins de 5 ans, les femmes enceintes, les personnes porteuses du VIH /sida, les migrants non immunisés, les populations itinérantes et les voyageurs, ce qui donne une charge de

morbidity élevée. Les modes de transmission congénitale, transfusionnelle, par greffe d'organe sont exceptionnels et n'influencent pas l'épidémiologie de la maladie.

Le paludisme est présent dans la majeure partie du monde intertropical ; mais l'impact de la maladie varie considérablement d'une région à une autre.

Cette diversité repose sur trois paramètres :

- Les modalités de transmission liées à la présence de biotopes favorables aux anophèles et la qualité vectrice des espèces présentes.
- Les espèces plasmodiales impliquées.
- Les réactions de défense des êtres humains face à l'agression.

Sur le plan épidémiologique, la situation du paludisme dans une communauté peut être décrite en termes d'endémicité, celle-ci donne des indications sur l'importance de la transmission, la circulation du parasite dans la communauté et l'intensité de la maladie. Elle permet aussi de limiter le problème palustre dans l'espace (zone à risque) et dans le temps (saison de transmission).

L'indice de stabilité fut déterminé par Mc Donald en 1957 et caractérise l'enracinement du paludisme, il permet de distinguer :

- Les zones de paludisme stables où la forte transmission entraîne une prémunition. Celle-ci n'empêche pas les habitants d'être parasités mais limite les manifestations pathologiques aux classes d'âge les plus jeunes alors que les adultes sont peu touchés.
- Les zones de paludisme instables où le caractère épisodique de la transmission ne permet pas le développement de la prémunition ; la maladie sévit sous formes d'épidémie meurtrière touchant toutes les classes d'âge. Entre ces deux extrêmes existe toute une diversité de situations intermédiaires, modulées par différents facteurs comprenant le type de transmission, le type de vecteur, l'espèce plasmodiale en cause, le niveau d'immunité dans les populations ainsi que les caractéristiques environnementales.

Au Mali il existe 5 faciès épidémiologiques de transmission du paludisme (10):

- La zone de transmission saisonnière longue de 4 à 6 mois (zone soudano-guinéenne) ;
- La zone de transmission saisonnière courte de 3 à 4 mois (zone sahélo-soudanienne) ;

- La zone de transmission sporadique voire épidémique (zone saharienne) correspondant aux régions du nord (Gao, Tombouctou et Kidal), certains districts des régions de Koulikoro (Nara) et de Kayes (Nioro, Yélimané, Diéma et Kayes) ;
- La zone de transmission bi ou plurimodale saisonnière du delta intérieur et des barrages (Sélingué, Manantali et Markala) ;
- La zone peu propice à l'impaludation particulièrement le milieu urbain comme Bamako.

La transmission se fait essentiellement en saison des pluies. Cette transmission continue même en saison sèche pour les zones irriguées (11).

### 3.3. Agents pathogènes

#### 3.3.1. Classification

Les parasites responsables du paludisme appartiennent :

- Règne: animalia
- Sous règne: Protozoaires
- Phylum: *Apicomlexa*
- Classe: *Sporozaea*
- Sous classe: *Coccidia*
- Ordre: *Eucoccidiida*
- Sous ordre: *Haemosporina*
- Genre: *Plasmodium*

Cinq espèces de *Plasmodium* ont été décrites chez l'Homme : *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale*, *P. knowlesi*.

#### 3.3.2. Vecteurs

Le vecteur du paludisme est un moustique culicidae du genre *Anophéles*. Les espèces vectrices sont nombreuses et d'autant plus redoutables qu'elles ont une affinité pour l'homme (espèces anthropophiles). Elles se nourrissent et se reposent dans les maisons (espèces endophiles ou domiciliaires). Seule la femelle hématophage assure la transmission. Les principaux vecteurs responsables de la transmission au Mali sont les suivants : le complexe *Anopheles gambiae* et le groupe *An. funestus*. La distribution de ces vecteurs dépend fortement des variations spatiales et temporelles, *An. funestus* étant abondant pendant la saison froide et sèche, *An. gambiae* pendant la saison des pluies dans les ruisseaux voisins de la savane sud-soudanienne et *An. coluzzii* couvrant pratiquement tout le Mali (12) (13). Les cinq entités vectrices montrent des différences significatives de distributions géographiques et

saisonniers de leurs fréquences relatives (14). Ainsi *An. Gambiae* s.s. est présent essentiellement dans les zones humides du Sud et au Nord, dans les zones d'inondation du fleuve Niger ; alors que *An. arabiensis* se rencontre dans les zones plus sèches et éloignées des terres inondées.

### 3.3.3. Les différentes espèces:

Le paludisme est déterminé par un protozoaire appartenant au genre *Plasmodium*. Il existe de très nombreuses espèces de *Plasmodium* (plus de 140), touchant diverses espèces animales, dont cinq espèces sont habituellement retrouvées en pathologie humaine : *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae* et *P. knowlesi* parasite habituel des singes d'Asie qui s'est avéré être responsable d'une zoonose. Ces cinq espèces diffèrent par des critères biologiques et cliniques, par leur répartition géographique et par leur capacité à développer des résistances aux antipaludiques.

#### 3.3.3.1. *Plasmodium falciparum*

D'emblée, il faut différencier *P. falciparum* des quatre autres espèces. En effet, *P. falciparum* est l'espèce la plus largement répandue à travers le monde, développe des résistances aux antipaludiques et est responsable de la majorité des formes cliniques mortelles. Selon Doumbo et al, 1991 l'agent pathogène le plus courant a été *Plasmodium falciparum* qui contribue 85 à 90% de la formule parasitaire est responsable des formes létales, graves et compliquées du paludisme au Mali (10). Dans les régions équatoriales, il est transmis toute l'année avec cependant des recrudescences saisonnières. Dans les régions subtropicales, il ne survient qu'en période chaude et humide. Sa transmission s'interrompt lorsque la température tombe en dessous de 18°C. Cela explique aussi que, quelle que soit la latitude, le paludisme n'est plus transmis en altitude (au-dessus de 1 500 mètres en Afrique et 2 500 mètres en Amérique et en Asie). L'évolution se fait d'un seul tenant après une incubation de 7 à 12 jours. On n'observe que très rarement des accès tardifs, plus habituels avec *P. vivax*, *P. ovale* et *P. malariae*. Plus de 90% des accès palustres à *P. falciparum* surviennent dans les 2 mois qui suivent le retour du pays d'endémie. *Plasmodium falciparum* est responsable des formes cliniques graves, notamment du neuropaludisme, et c'est également l'espèce qui développe le plus de résistance aux différents médicaments antipaludiques.

### 3.3.3.2. *Plasmodium vivax*

Très largement répandu en Amérique du Sud et en Asie, il est beaucoup plus rarement observé en Afrique, essentiellement en Afrique de l'Est et dans les îles de l'océan Indien (Comores, Madagascar). En 2011, une étude menée par le MRTC a confirmé la présence de *Plasmodium vivax* dans les régions du Nord (Gao, Tombouctou et Kidal), une autre étude menée en 2016 par Niangaly et al a également retrouvé des cas d'infections palustre à *Plasmodium vivax* chez les participants du groupe sanguin Duffy négatifs (Bandiagara)(15). Les érythrocytes du groupe sanguin Duffy négatif (observé chez la majorité des sujets originaires d'Afrique de l'Ouest et d'Afrique centrale) ne possèdent pas le récepteur membranaire habituellement nécessaire à l'infection par *P. vivax*. Sa transmission s'arrête en dessous de 15°C. Sa période d'incubation minimale est de 11 à 15 jours. On peut observer des rechutes (accès de reviviscence) dues au réveil d'hypnozoïtes pendant 3 à 4 ans. L'affection par *P. vivax* est classiquement considérée comme relativement bénigne. On observe, principalement lors des accès de reviviscence, une fièvre bénigne rythmée dite tierce (du fait d'un cycle érythrocytaire de 48 heures).

Toutefois, en zone d'endémie, il peut avoir des répercussions sur l'état de santé des populations, notamment par l'intermédiaire des anémies chez la femme enceinte et l'enfant. On commence à voir surgir quelques résistances médicamenteuses de *P. vivax* à la chloroquine.

### 3.3.3.3. *Plasmodium ovale*

Il sévit en Afrique intertropicale du centre et de l'Ouest (et dans certaines régions du Pacifique). Au Mali *Plasmodium ovale*, contribue 1% de la formule parasitaire (10). Comme *P. vivax* dont il est très proche, il provoque des accès de fièvre bénigne et il peut être à l'origine d'une fièvre rythmée tierce. Son incubation est de 15 jours au minimum mais peut être beaucoup plus longue. L'évolution est bénigne mais on peut observer, comme avec *P. vivax*, des rechutes tardives (5ans). Schématiquement, on dit que *P. ovale* remplace *P. vivax* en Afrique, là où cette dernière espèce n'existe pas.

### 3.3.3.4. *Plasmodium malariae*

Il sévit sur les trois continents tropicaux de manière beaucoup plus sporadique. Il se différencie des autres espèces par une incubation plus longue (15 à 21 jours) et, surtout, par sa capacité à entraîner, en l'absence de traitement initial, des recrudescences très tardives (jusqu'à 20 ans après le retour de la zone d'endémie). Les mécanismes

physiopathologiques responsables de ces rechutes tardives ne sont pas totalement élucidés existe-t-il des mérozoïtes latents dans les lymphatiques, par exemple. Après plusieurs jours d'évolution, lorsque le développement des parasites intra-érythrocytaires est synchrone, la fièvre devient rythmée avec une périodicité de 72 heures (durée du cycle érythrocytaire) responsable d'une fièvre quarte. L'infection est bénigne mais *P. malariae* peut parfois entraîner des complications rénales.

### 3.3.3.5. *Plasmodium knowlesi*

Il sévit en Asie du Sud-Est, en zone forestière, étroitement lié à la répartition des singes macaques, son hôte habituel, et de son vecteur piquant l'homme et le singe. Il se différencie des autres espèces par un cycle érythrocytaire de 24 heures responsable d'une fièvre quotidienne. Des cas dus à cette espèce ont été signalés assez fréquemment en 2004 chez l'homme, dans les zones forestières d'Asie. *P. knowlesi* antérieurement connue chez le singe, cliniquement proche de *P. falciparum* et morphologiquement similaire à *P. malariae* a été décrite chez l'homme en Malaisie depuis 2004 (16). *Plasmodium knowlesi* est par exemple l'espèce de *Plasmodium* la plus commune pour les cas autochtones signalés en Malaisie. Les infections sont le plus souvent simples, mais au moins 10 % des patients font un accès grave et 1 à 2 % ont une issue fatale. Une parasitémie élevée est un marqueur positivement associé avec la gravité et le décès. Entre 2008 et 2013, douze cas ont été identifiés chez des voyageurs dont huit en Europe (un cas en France) ; un cas supplémentaire est diagnostiqué en France en 2014. Il a été récemment montré que ce *Plasmodium* a une sensibilité réduite à la méfloquine et une sensibilité modérée et variable à la chloroquine. Cependant, à ce jour, aucune chimiorésistance n'a été observée pour cette espèce.

## 3.4. Cycle biologique du *Plasmodium* :

Le cycle biologique des *Plasmodium* pathogènes pour l'homme exige deux hôtes : l'homme comme hôte intermédiaire chez qui, se succèdent des phases de réplication asexuée, et l'anophèle femelle comme hôte définitif chez lequel s'opère la reproduction sexuée.

### 3.4.1. Chez l'homme

Appelé développement schizogonique, la reproduction asexuée est subdivisée en 2 phases :

#### ✓ Phase hépatique ou pré-érythrocytaire ou exo-érythrocytaire

L'infestation naturelle de l'homme se fait par inoculation des sporozoïtes pendant la pique de l'anophèle. Après une trentaine de minutes, les sporozoïtes, véhiculés par le sang,

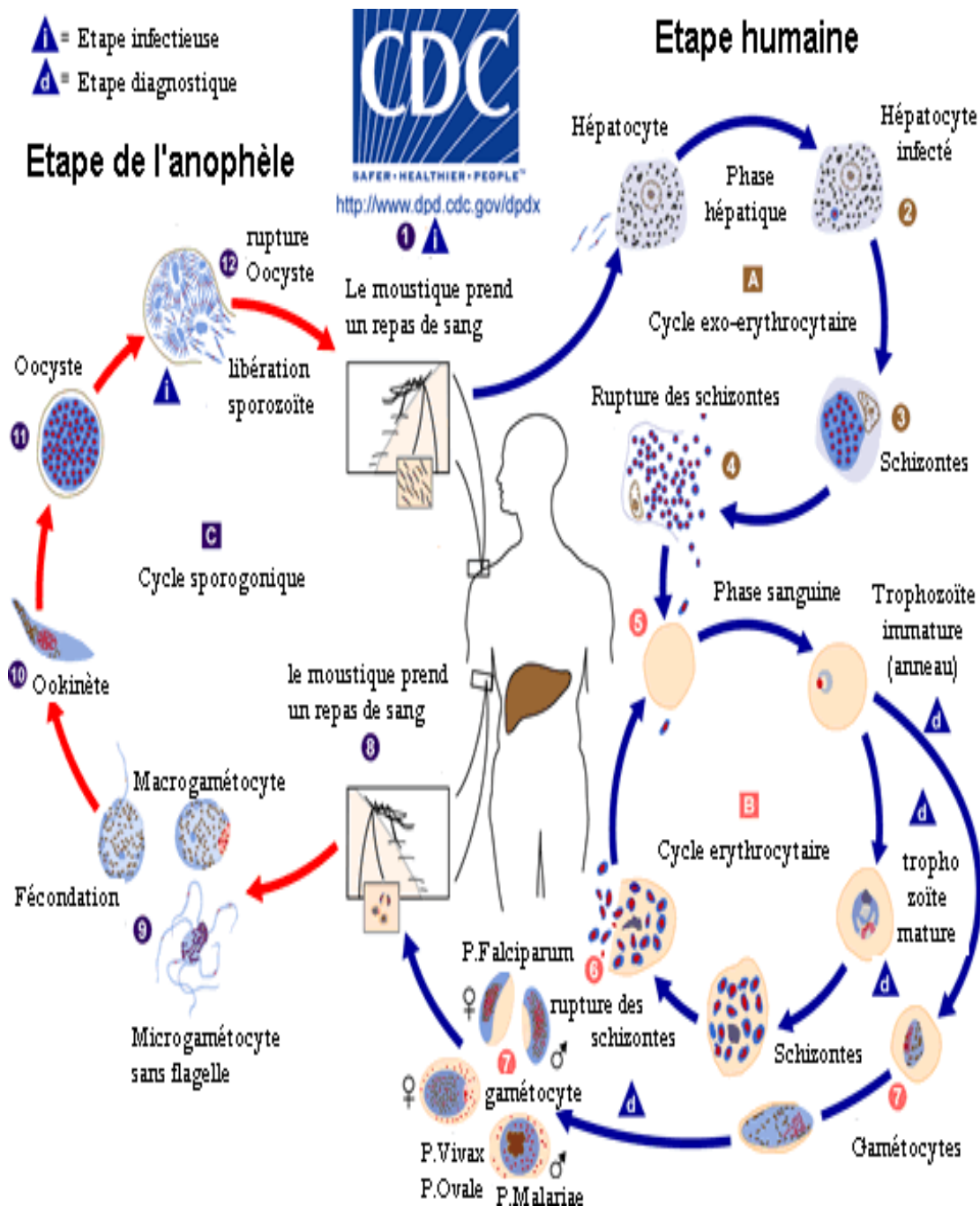
parviennent au niveau du foie. Dans les hépatocytes, ils se transforment trophozoites, puis en schizontes pré-érythrocytaires qui, après quelques jours de maturation, éclatent et libèrent des milliers de mérozoites dans le sang.

#### ✓ **Une phase érythrocytaire**

Une fois les mérozoites libérés dans le sang, ils pénètrent dans les érythrocytes, subissent une maturation en trophozoites, puis en schizontes érythrocytaires et conduisent à la destruction des érythrocytes libérant 8 à 32 nouveaux mérozoites. Ce cycle érythrocytaire se poursuit de façon synchrone à partir de ces nouveaux mérozoites. Après un certain nombre de cycles érythrocytaires, certains mérozoites subissent une maturation d'une dizaine de jours, accompagnée d'une différenciation sexuée ou gamétocytogénèse. Il en résulte la formation de gamétocytes mâles et femelles qui assureront la reproduction sexuée du parasite chez le moustique vecteur.

#### **3.4.2. Chez l'anophèle femelle**

Les gamétocytes ingérés par le moustique lors de son repas sanguin chez un hôte intermédiaire se transforment en gamètes mâles et femelles qui fusionnent en un œuf libre ou zygote qui évolue en une forme mobile, l'ookinète. Ce dernier quitte la lumière du tube digestif, se fixe ensuite à la paroi externe de l'estomac et se transforme en oocyste. Les cellules parasites se multiplient à l'intérieure de cet oocyste, produisent des centaines de sporozoites qui migrent ensuite vers les glandes salivaires du moustique. Les sporozoites sont les formes infectantes, prêtes à être inoculées avec la salive du moustique lors d'un prochain repas sanguin sur un volontaire humain.



Source: <http://www.cdc.gov/dpdx/>

**Figure 2:** Cycle de vie du *Plasmodium* et développement des gamétocytes parasites du paludisme.

### 3.5. Physiopathologie du paludisme

Suite à la piqûre infestante anophélienne, l'évolution du paludisme passe par la phase d'incubation à durée variable selon les espèces plasmodiales (7 à 15 jours pour *P. falciparum*, 12 à 21 jours pour *P. vivax*, 18 à 45 jours pour *P. malariae* et 15 jours à plusieurs mois pour *P. ovale*), et l'état immunitaire du sujet infesté.



### 3.5.1. Paludisme simple

Chez le sujet non immun l'accès de primo-invasions manifeste le plus souvent par des signes généraux (fièvre  $\geq 39^{\circ}\text{C}$ , céphalées, courbatures, malaise général...) associés à des signes digestifs (anorexie, nausées, vomissements, diarrhée) avec parfois à l'examen physique, une splénomégalie et une légère hépatomégalie. Cet accès peut guérir spontanément, mais évolue le plus souvent, soit vers les accès simples, soit vers l'aggravation. Le sujet immun avec portage asymptomatique de plasmodie est fréquent dans les zones où la transmission est pérenne. Il faut donc penser à une autre maladie infectieuse associée à un paludisme.

### 3.5.2. Paludisme grave

Plusieurs mécanismes sont incriminés (cellulaires, immunologiques et humoraux). Ces mécanismes sont probablement complémentaires. La séquestration des hématies parasitées par les formes matures de *Plasmodium falciparum* (associée aux phénomènes de cyto-adhésion, de formation de rosettes et d'auto-agglutination) au niveau des micro capillaires est sous la dépendance d'une interaction entre les récepteurs *PfEMP1* présents sur la membrane érythrocytaire des globules rouges parasités et le récepteur spécifique des cellules endothéliales ICAM-1 des organes nobles tel que le cerveau le poumon et le cœur. Des cytokines pro-inflammatoires (TNF- $\alpha$ , INF- $\gamma$ , IL1, IL6...) et différents produits métaboliques (NO, acide lactique...) sont produits, en cascade, au cours du neuropaludisme. Leur action se conjugue probablement au phénomène de blocage circulatoire conséquence de la séquestration. Une augmentation de la perméabilité de la barrière méningée entraînant une fuite du liquide céphalorachidien et un œdème cérébral. La coagulation intravasculaire disséminée. Phénomène immuno- pathologique avec dépôt de complexes immuns. Quel que soit le mécanisme, le ralentissement du flux capillaire intracérébral provoque l'anoxie, voire tardivement une ischémie responsable d'une hémorragie péri vasculaire et de lésion de la substance blanche qui ne sont pas sans séquelles. Le paludisme à *P. falciparum* du sujet non immun (jeune enfant en zone d'endémie, femme enceinte, expatrié, voyageur) est potentiellement mortel. Le décès, quand il survient, est secondaire à la défaillance aiguë d'une ou de plusieurs grandes fonctions et ce parfois même si la mise en place d'un traitement étiologique s'avère efficace. Seule l'instauration rapide d'une réanimation adaptée peut alors sauver le malade. Il est donc absolument fondamental de connaître les critères de gravité du paludisme à *P. falciparum* pour identifier les patients qui justifient d'une hospitalisation en urgence, si nécessaire dans une unité de soins intensifs. Un paludisme grave peut donc prendre différentes formes cliniques dont la plus importante est l'atteinte

cérébrale. On regroupe sous le terme de neuropaludisme (accès pernicieux ou "cerebral malaria" chez les anglo-saxons) toutes les manifestations neurologiques conséquence de l'atteinte cérébrale au cours de l'accès palustre : troubles de la conscience, prostration et convulsions. L'accès pernicieux à début progressif est marqué par l'installation d'une fièvre irrégulière, d'un syndrome algique diffus, associé à des troubles digestifs. L'examen clinique peut déjà révéler une composante neurologique faisant évoquer l'évolution vers un paludisme grave. En pratique clinique : « tout malade présentant une atteinte de la conscience ou tout autre signe de dysfonctionnement cérébral au retour d'une zone d'endémie palustre doit être traité dans la plus grande urgence comme un neuropaludisme ». Le neuropaludisme à début brutal se traduit par une triade symptomatique (fièvre, coma, convulsions) à laquelle s'ajoute fréquemment une détresse respiratoire. Il est fréquent chez le jeune enfant en zone d'endémie (< 5 ans) et peut entraîner la mort en quelques heures. Phase d'état, la fièvre est le plus souvent très élevée et le tableau neurologique se complète pouvant associer :

- ✓ Troubles de la conscience : ils sont constants mais d'intensité variable, allant de la simple obnubilation au coma profond. Le coma est généralement calme, sans rigidité de nuque (ou très discrète), sans photophobie, accompagné d'une abolition du réflexe cornéen.
- ✓ Convulsions : nettement plus fréquentes chez l'enfant que chez l'adulte ; elles peuvent être inaugurales. Elles peuvent être généralisées ou localisées, espacées dans le temps ou au contraire réaliser un état de mal convulsif. Elles peuvent parfois être paucisymptomatiques (clonies des lèvres, des muscles faciaux, mouvements oculaires rapides, salivation excessive). Elles doivent être distinguées des convulsions hyperthermiques : pour être retenues elles doivent être répétées dans le temps ( $\geq 2/24$  heures) avec une phase postcritique de trouble de la conscience  $> 15$  mn.
- ✓ Troubles du tonus : le malade est généralement hypotonique. La raideur et l'opisthotonos peuvent se voir dans les formes très évoluées et sont de mauvais pronostic. Les réflexes ostéotendineux sont variables, parfois très vifs, exceptionnellement abolis (de mauvais pronostic).
- ✓ Autres signes cliniques associés : les signes neurologiques peuvent dominer le tableau clinique ou être associés à d'autres manifestations viscérales. Pratiquement tous les organes peuvent être atteints, notamment les reins, les poumons (risque d'œdème pulmonaire), le foie ... Le tableau est parfois celui d'une défaillance multiviscérale. Parfois, sans signe neurologique évident, on observe des formes graves avec anémie profonde (chez l'enfant) ou insuffisance rénale aiguë (chez l'adulte).

Non traité, le neuropaludisme est mortel en deux ou trois jours. Avec une prise en charge adaptée, la mortalité reste lourde (10 à 30%). Lorsqu'elle est obtenue, la guérison se fait généralement sans séquelle, sauf chez l'enfant (5 à 10% de séquelles définitives). Le pronostic global repose essentiellement sur la rapidité du diagnostic.

### **3.5.3. Critères de gravité définis par l'OMS**

L'OMS a défini des critères de gravité du paludisme. La présence d'un seul de ces critères, clinique ou biologique, associé à la présence de *P. falciparum* dans le sang, fait porter le diagnostic d'accès palustre grave. Mais il est important de noter que ces critères, élaborés en zone d'endémie, n'ont pas été validés sur une population non-immune (cas de la majorité des paludismes d'importation observés en France) et notamment pas chez les enfants voyageurs(17).

**Tableau I:** Critères de gravité 2000 de l'OMS du paludisme grave

|                              |  |
|------------------------------|--|
| Troubles de la conscience    | Score de Glasgow modifié $\leq 9$ chez l'adulte et enfant de plus de 5 ans<br>Score de Blantyre $\leq 2$ chez le petit enfant                                    |
| Convulsions répétées         | $\geq 2$ / 24 heures (malgré la correction de l'hyperthermie)  |
| Prostration                  | Extrême faiblesse ou chez l'enfant : « Impossibilité, de tenir assis pour un enfant en âge de le faire, ou de boire pour un enfant trop jeune pour tenir assis » |
| Détresse respiratoire        | Définition clinique : tirage inter-costal, battement des ailes du nez, balancement thoraco-abdominal, entonnoir xiphoidien, geignement expiratoire               |
| Ictère                       | Clinique ou biologique (bilirubine $> 50 \mu\text{mol/L}$ )  |
| Hémoglobinurie macroscopique | Urines rouge foncé ou noires Hémoglobinurie ou myoglobinurie à la bandelette<br>Absence d'hématurie microscopique  |
| Collapsus circulatoire       | TAS $< 80$ mm Hg chez l'adulte TAS $< 50$ mm Hg chez l'enfant  |
| Œdème pulmonaire             | Définition radiologique  |
| Saignement anormal           | Définition clinique  |
| Anémie grave                 | Adulte : Hb $< 7$ g/dL ou Hte $< 20$ % Enfant : Hb $< 5$ g/dL ou Hte $< 15\%$  |
| Hypoglycémie                 | Glycémie $< 2,2$ mmol/L  |
| Acidose métabolique          | pH $< 7,35$ ou bicarbonates $< 15$ mmol/L  |
| Hyperlactatémie              | Lactates plasmatiques $> 5$ mmol/L   |
| Hyperparasitémie             | $> 4\%$ chez un sujet non immun  |
| Insuffisance rénale          | Créatininémie $> 265 \mu\text{mol/L}$ après réhydratation ou diurèse $< 400$ ml/24h chez l'adulte ( $< 12\text{mL/kg/24h}$ chez l'enfant)                        |

Les manifestations les plus pertinentes à prendre en compte pour une prise en charge en soins intensifs ou en réanimation (fréquence et mauvais pronostic) sont les suivantes :

- ✓ Défaillance neurologique (de l'obnubilation au coma),
- ✓ Convulsions répétées,
- ✓ Défaillance respiratoire,
- ✓ Défaillance cardiocirculatoire,
- ✓ Ictère,
- ✓ Acidose et/ou Hyperlactatémie,
- ✓ Hyperparasitémie,
- ✓ Insuffisance rénale imposant une épuration extrarénale

### **3.6. Autres complications**

L'infection palustre peut entraîner, de manière directe ou indirecte d'autres complications. Ces complications sont la conséquence d'infestations chroniques et surviennent donc de manière exceptionnelle chez des sujets caucasiens. En revanche on peut encore observer ces tableaux en zone d'endémie ou, en Europe, chez des migrants ayant vécu de nombreuses années en zone d'endémie et ayant souvent pratiqué une automédication insuffisante. Il faut citer le paludisme viscéral évolutif, la splénomégalie palustre hyperréactive et la fièvre bilieuse hémoglobinurique.

### **3.7. Diagnostic biologique :**

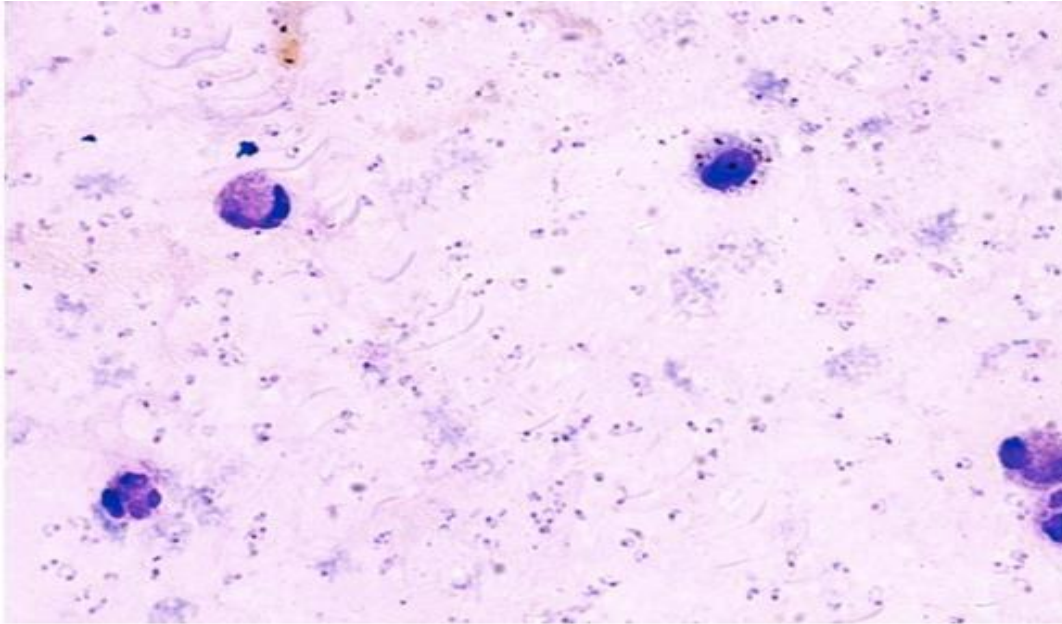
#### **3.7.1. Diagnostic direct**

C'est l'examen direct des prélèvements sanguins. Les techniques les plus utilisées sont la goutte épaisse et le frottis mince.

##### **3.7.1.1. Goutte épaisse (GE)**

Elle est l'examen de référence. Sa réalisation consiste à prélever une goutte de sang, par piqûre au bout du doigt ou le sang veineux collecte sur anticoagulant. Une goutte de sang est ensuite déposée sur une lame porte objet et defibrinée immédiatement par un mouvement en spirale à l'aide d'un coin d'une autre lame non encore utilisée. Ce mouvement aura pour effet d'étaler le sang sur une surface d'environ un centimètre de diamètre.

Le prélèvement est séché puis coloré, sans fixation préalable, à l'aide d'une solution aqueuse de Giemsa 10% ou 4% pendant 20 minutes et 45 minutes respectivement. Après coloration, sécher la lame et lire à l'objectif 100 sous immersion. L'estimation de la parasitémie se fait en comptant le nombre de parasite rapporté au nombre de leucocytes. La sensibilité de la goutte épaisse est de 5 à 10 parasites par microlitre de sang.



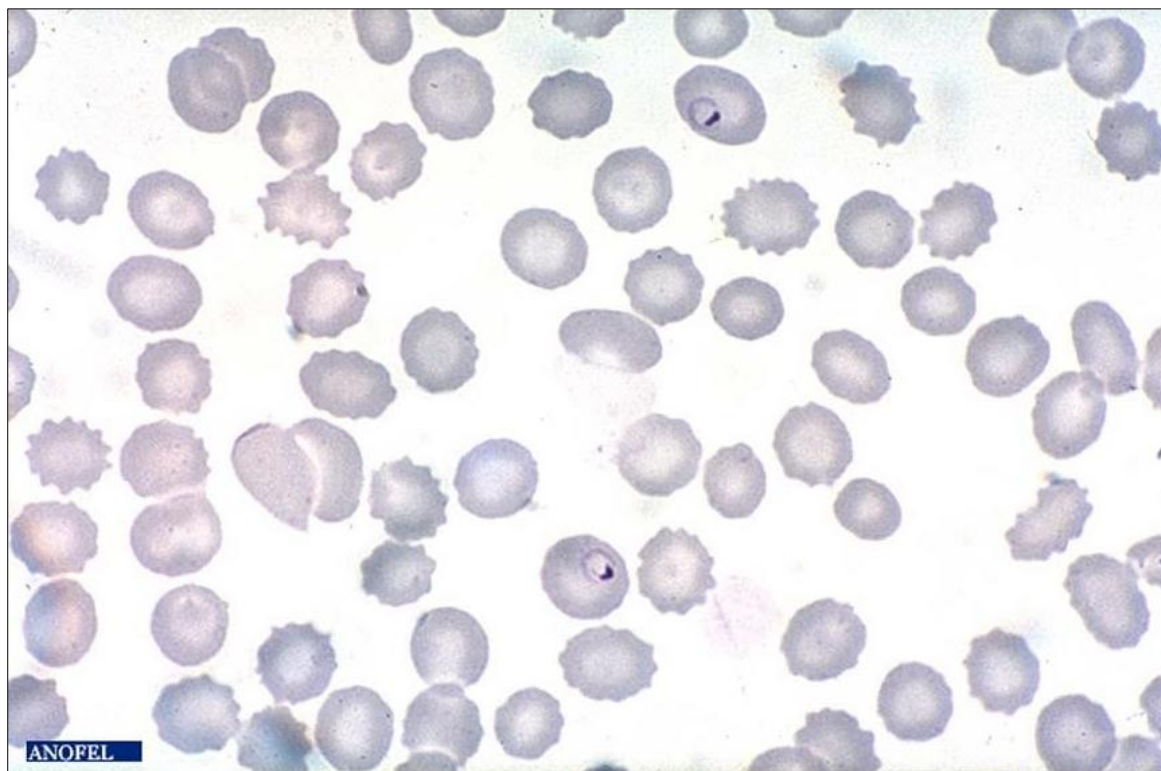
**Source :** ANOFEL, 2014

**Figure 3:** Vue microscope d'une goutte épaisse (100X). Trophozoites de *P. falciparum* (coloration GIEMSA)

### **3.7.1.2. Frottis mince (FM)**

C'est l'étalement fin d'une goutte de sang, prélevée au bout du doigt ou le sang veineux collecté sur anticoagulant, sur une lame porte objet. L'examen se fait après fixation au méthanol absolu et coloration au Giemsa. Il permet de faire le diagnostic d'espèce plasmodiale. La sensibilité du frottis est de 100 parasites par microlitre de sang.

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.



Source : ANOFEL, 2014

**Figure 4:** Vue microscopique d'un frottis sanguin (100X). Trophozoites de *P. falciparum* coloration MGG

### 3.7.1.3. Le QBC (Quantitative Buffy Coat)

C'est une méthode de fluorescence. Le principe consiste à concentrer une petite quantité de sang par centrifugation dans un micro tube à hémocrite. Les globules rouges parasités se trouvent aussi à l'interface des leucocytes et des hématies saines. L'acridine orange, agent intercalant spécifique des acides nucléiques, fait apparaître le parasite avec une fluorescence verte ou jaune-orangée à l'intérieur de l'hématie. Ses principales limites sont la difficulté d'établir un diagnostic d'espèce et la détermination de la densité parasitaire. Compte tenu de son coût élevé, cette technique est de plus en plus abandonnée pour le diagnostic de routine.

### 3.7.1.4. Les tests de diagnostic rapide (TDR)

Les tests de diagnostic rapide (TDR) sont des tests chromatographiques immunitaires ciblant les antigènes d'une ou plusieurs espèces de Plasmodium et offrent la possibilité d'étendre le diagnostic précis du paludisme dans les zones d'endémie. Ils furent développés dans les années 1990 en vue de contribuer au diagnostic du paludisme en zone d'endémie(18) . En 2018, 259 millions de TDR ont été distribués par les PNLP.

La plupart de ces TDR (64 %) étaient des tests livrés en Afrique subsaharienne et pouvant uniquement détecter le parasite *P. falciparum* (8).

Ils sont caractérisés par leur emploi facile et d'interprétation, l'obtention d'un résultat en moins de 30 minutes. Ces tests sont basés sur la détection d'antigènes circulants (protéines ou enzymes) du parasite. Les antigènes ou enzymes couramment utilisés sont : la lactate déshydrogénase (LDH), le glutamate déshydrogénase (GluDH) et l'aldolase des cinq espèces plasmodiales et l'Histidine Rich Protein 2 (HRP2) spécifique à *Plasmodium falciparum*.

Dans les stratégies de contrôle et d'élimination du paludisme, l'OMS recommande un diagnostic biologique précoce chez tous les cas suspects avant d'administrer un traitement. En Afrique, les TDR deviennent peu à peu les moyens diagnostiques du paludisme les plus utilisés dans les établissements publics de santé. Par conséquent le pourcentage de patients suspectés de paludisme et soumis à un test de diagnostic est en augmentation constante depuis 2010. La hausse la plus prononcée a été enregistrée dans la région Afrique de l'OMS, avec 74 % des patients suspectés de paludisme et soumis à un test de diagnostic entre 2015 et 2017 contre 40 % en 2010. Cette hausse s'explique surtout par une plus grande utilisation des TDR, lesquels ont représenté 75 % des moyens de diagnostic du paludisme en 2017 (1).

Les principaux avantages de ces TDR étant : (i) la facilité d'utilisation, (ii) la rapidité d'avoir les résultats, (iii) le coût relativement acceptable.

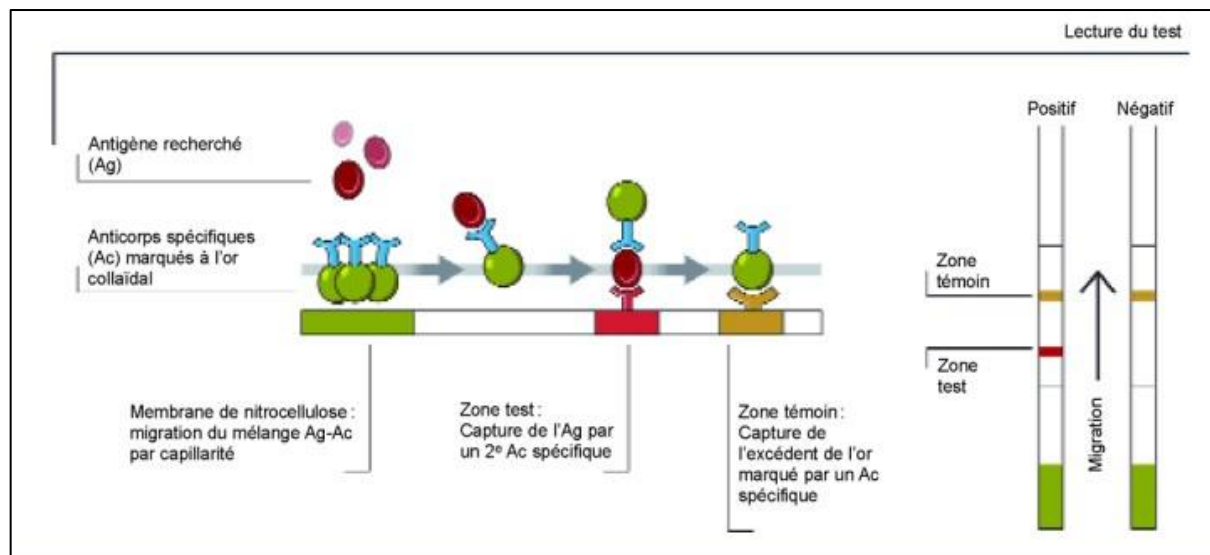
Malgré ces avantages indéniables, les TDR présentent certaines limites (19). En occurrence, le seuil de détection du parasite (100 parasites/l), la conservation difficile sur le terrain, la persistance de l'antigène HRP2 (2 à 3 semaines après traitement et élimination des parasites) dans le sang.

**Principe :** Le principe des différents tests repose sur l'immunochromatographie. Si l'antigène recherché est présent (HRP2, pLDH, GluDH, Aldolase ...), il va se lier avec un anticorps marqué le plus souvent à l'or colloïdal.

L'échantillon à tester (environ 20 microlitres de sang total obtenu à partir de sang capillaire ou de sang veineux) est déposé dans le puit réservé à cet effet sur la cassette du test. Ensuite, quatre gouttes de tampon contenant l'anticorps complémentaire marqué sont déposées dans le puit du « Tampon » pour faciliter la lyse des globules rouges ainsi que la migration de l'échantillon sur le support solide portant l'anticorps mono spécifique.



Les complexes antigènes - anticorps vont alors migrer par chromatographie. L'antigène sera capturé en sandwich par un anticorps de capture fixé sur le support solide.

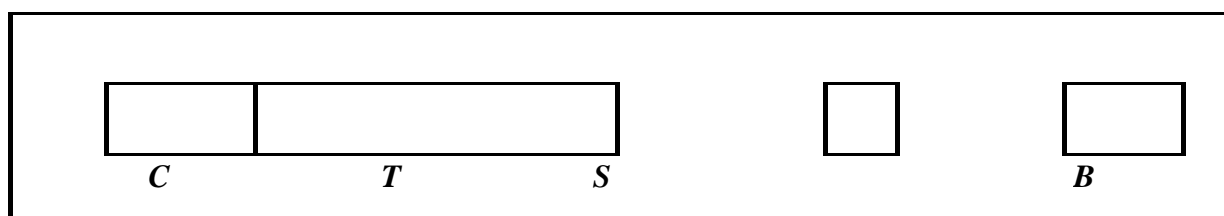


Source:

[http://untori2.crihan.fr/unsfp/2010\\_Lille\\_Goffard\\_Grippe/co/immunochromato\\_gif.html](http://untori2.crihan.fr/unsfp/2010_Lille_Goffard_Grippe/co/immunochromato_gif.html)

**Figure 5:** Principe de l'immunochromatographie

Description du TDR en cassette :



C : fenêtre de témoin                      S : puits d'échantillon

T : fenêtre de test                        B : puits de réactif

**Figure 6:** vue schématique d'un test immunochromatographique à flux latéral typique

**Matériel requis pour la réalisation du test :**

- ✓ Le coffret (kit) du test,
- ✓ Gants,
- ✓ Montre ou chronomètre,
- ✓ Marqueur indélébile,
- ✓ Coton ou gaze secs et propres.

### Mode opératoire du TDR :

Après s'être assuré de la bonne conservation du test, de l'intégrité de l'emballage du test et de la disponibilité du matériel nécessaire, les étapes à respecter de façon chronologique sont les suivantes :

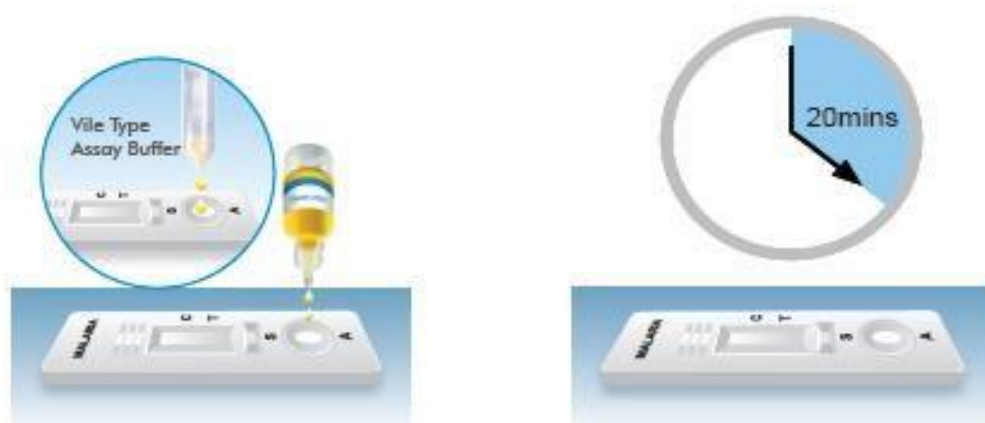
- ✓ Noter sur le cadre plastique du test : le nom ou code du patient, la date et le moment précis : heure et minute ;
- ✓ Désinfection de la partie choisie, soit le doigt (face palmaire du bout du 3<sup>ème</sup> ou 4<sup>ème</sup> doigt gauche de préférence), soit le gros orteil ou le talon chez le nourrisson avec le tampon d'alcool ;
- ✓ Piquer à l'aide de la lancette ;
- ✓ Nettoyer la première goutte de sang à l'aide d'un coton sec (Papier hygiénique) ;
- ✓ Déposer une goutte de sang prélevé dans le puits correspondant ;
- ✓ Déposer 4-6 gouttes de diluant (tampon) dans le puits correspondant ;
- ✓ Attendre le délai requis par le test pour l'interprétation des résultats (Variable de 15-30 minutes).

*Figure 7 : Procédure du test*



**Etape 1 :** Prélever l'échantillon de sang

**Etape 2 :** Ajouter 5µl du sang total dans le puits « S » à l'aide d'une pipette ou micropipette fournie.



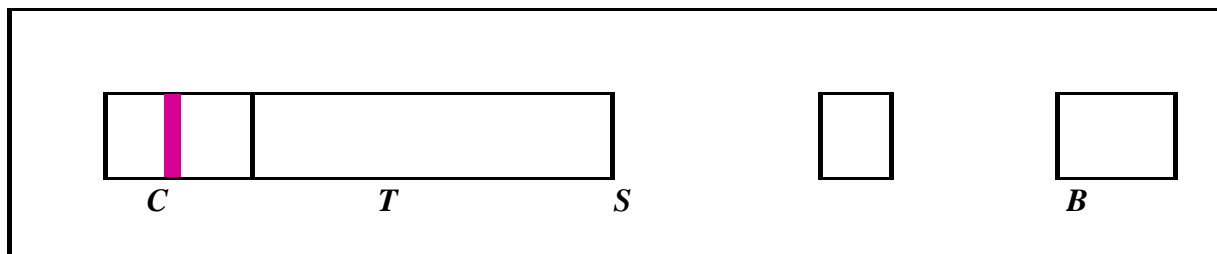
**Etape 3 :** Ajouter 60 5µl de solution du tampon d'essai (3 gouttes pour le type ampoule ou 2 gouttes pour le type bouteille) dans le puits « A »

**Etape 4 :** Lire le résultat au bout 20 minutes

**Interprétation des résultats :**

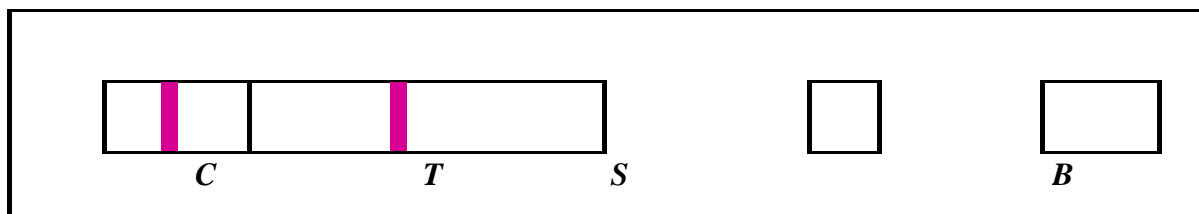
Une seule bande colorée rose apparaît dans la fenêtre de contrôle "C" (Puit de contrôle)

**Test négatif**



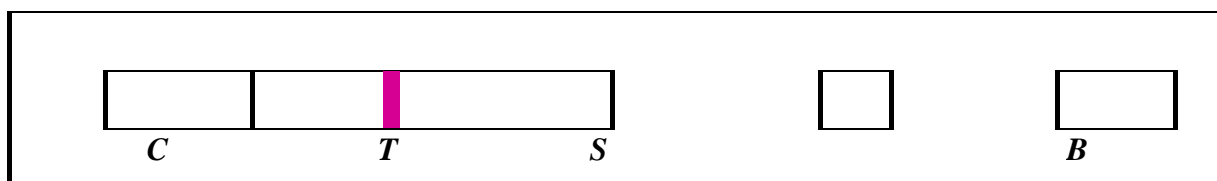
Une bande colorée rose apparaît dans la fenêtre de contrôle "C" et une bande distincte colorée apparaît également dans la fenêtre de test T (Puit Test)

**Test positif**



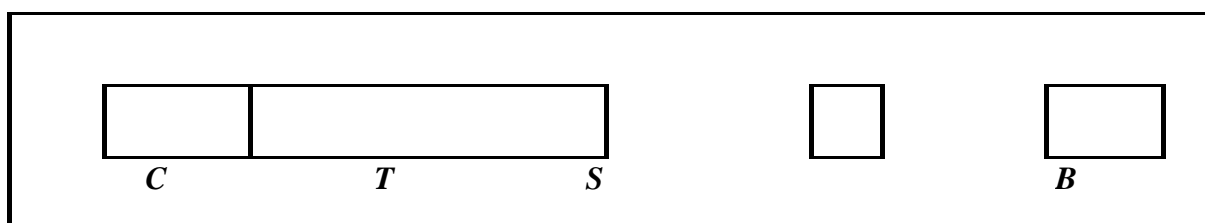
Une bande colorée rose n'apparaît pas dans la fenêtre de control "C" : Test invalide

### Test invalide



Aucune bande colorée rose n'apparaît dans la fenêtre de contrôle « C » : Test invalide

### Test invalide



NB : A la fin des 15 minutes le fond du test doit être légèrement rose ou blanc. Si le fond est rouge ou rouge foncé, trop de sang a été collecté et les résultats faiblement positifs peuvent être masqués.

#### 3.7.1.5. Quelques tests rapides commercialisés

Il existe différents types de TDR avec des sensibilités et spécificités différentes. Nous présentons ici quatre tests, basé chacun sur la protéine HRP 2 ou la pLDH ou les deux antigènes ensembles.

##### ✓ TDR ultra-sensible 05FK140 Alere™ Malaria Ag P.f

Le test Alere™ Malaria Ag P.f est un test qualitatif in vitro ultrasensible permettant la détection de l'antigène HRP-II (protéine riche en histidine II) du paludisme à *plasmodium falciparum* dans le sang total humain afin de faciliter le diagnostic d'une infection par le paludisme. Il est dix fois plus sensible que le test de diagnostic rapide du paludisme actuellement disponible pour la détection de l'antigène 1 HRP-II propre au *Plasmodium falciparum*. (7) .Il assure ainsi une meilleure identification des personnes présentant une faible parasitémie, avec ou sans symptôme manifeste d'une infection palustre.

#### Principe du test Alere™ Malaria Ag P.f

Le test Alere™ Malaria Ag P.f contient une bandelette de test une bandelette recouvert de ploystreptine immobilisée sur la ligne du test. Deux types de conjugué remontent sur la membrane chromatographiquement par capillarité. Lorsque le résultat est positif, un conjugué

de fragment recombinant la liaison à l'antigène (rfab) de mouton biotinylylé spécifique à la HRP-II de *P. falciparum* et de fragment rfab de souris spécifique à la HRP-II de Pf –latex carboxylé (CML) se forme dans la ligne de test, sur la région Pf de résultat. La ligne de test et la ligne de contrôle de la fenêtre ne sont pas visibles avant l'application de l'échantillon. La ligne de contrôle permet de contrôler la procédure et apparaît systématiquement si la procédure de test est réalisée correctement.

### Les limites du test Alere™ Malaria Ag P.f

- La procédure de test, les précautions et l'interprétation des résultats pour ce test doivent être respectées pendant la réalisation du test.
- Le test est limité à la détection de l'antigène du paludisme à *P. falciparum*. Bien que le test soit très exact pour la détection de la HRP-II spécifique à *P. falciparum*, une faible incidence de faux résultats peut être observée. D'autres tests cliniques doivent être en cas d'obtention de résultat douteux.
- En présence d'un résultat négatif lors de l'examen microscopique et d'un résultat positif du test Alere™ Malaria Ag P.f, il peut s'avérer nécessaire de procéder à un test de confirmation supplémentaire tel qu'une PCR.

### Caractéristique des performances

Evaluation interne du test Alere™ Malaria Ag *P.f* la limite de détection du test Alere™ Malaria Ag *P.f* est 0,08ng/ml.

Evaluation externe du test Alere™ Malaria Ag *P.f*

Le kit de test Alere™ Malaria Ag *P.f* affiche une sensibilité de 99,0 % (IC à 95% :97,1-100%) et une spécificité de 98,6% (IC à 95% :97,1-100%) pour l'antigène du *P. falciparum*.



Source : codixpharma.com

**Figure 8:** Présentation du test de diagnostic rapide ultra-sensible Alere™ Malaria Ag *P.f*

#### ✓ **Parasight F**

Consiste en la recherche dans le sang total de l'antigène protéique de type II riche en histidine (HPR2) de *Plasmodium falciparum*. La protéine PfHPR2 (*P. falciparum* Histidine Rich Proteine 2) est relativement spécifique de ce parasite. L'utilisation de bandelettes sur lesquelles ont été fixées 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, le 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. Ce test est plus performant que le précédent et mieux adapté au diagnostic de l'infection aiguë. 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.

#### ✓ **SD Bioline Malaria HRP2/pLDH (Pf/Pan)**

Il s'agit d'un test qualitatif utilisant du sang total et détectant la protéine Histidine Rich Protein2 de *Plasmodium falciparum* et l'isoenzyme LDH spécifique à *Plasmodium vivax* et l'isoforme LDH commune aux quatre espèces de *Plasmodium* pathogènes. Il permet donc le diagnostic de paludisme et la différenciation d'espèce entre *P. falciparum*, *P. vivax* et *P. ovale*, *P. malariae*. La protéine pLDH est produite par les formes asexuées (trophozoïtes) et sexuées (gamétocytes) du parasite. Elle est détectée par les anticorps monoclonaux spécifiques aux isoformes de l'enzyme permettant de faire une différenciation entre les espèces plasmodiales. Certaines études ont montré que les parasites devaient être vivants

dans le sang du patient afin qu'il y ait une production de pLDH (Makler and Piper, 2009), d'où l'intérêt dans l'évaluation de la réponse au traitement antipaludique chez un patient et de prédire les échecs thérapeutiques. D'autre part, les TDR basé sur la pLDH ne présentent pas d'effet prozone (faux négatifs par excès d'anticorps dans le cas de forte parasitémie) (Gillet et al., 2011) (20).



Source : [www.medicalexpo.fr](http://www.medicalexpo.fr)

**Figure 9:** Présentation du SD BIOLINE MALARIA TEST

Pour l'analyse des valeurs intrinsèques et extrinsèques, des TDR, la démarche suivante a été adoptée :

**Tableau II:** Tableau de contingence des tests diagnostiques

| <b>Test</b>         | <b>Maladie positive</b> | <b>Maladie négative</b> |
|---------------------|-------------------------|-------------------------|
| <b>Test positif</b> | Vrai positif            | Faux positif            |
| <b>Test négatif</b> | Faux négatif            | Vrai négatif            |

**Les valeurs intrinsèques :**

La sensibilité qui est la capacité d'un test à dépister les cas d'une maladie ou probabilité d'avoir un test positif parmi les malades.

**Sensibilité** = Vrai positif / Vrai positif + Faux négatif

La spécificité qui est la capacité d'un test à identifier les non malades ou la probabilité d'avoir un test négatif parmi les non malades(21).

**Spécificité** = Vrai négatif / Vrai négatif+ Faux positif

**Les valeurs extrinsèques** : La valeur prédictive positive qui est la probabilité d'être malade lorsque les résultats du test sont positifs.

**Valeur prédictive positive** = Vrai positif / Vrai positif + Faux positif

La valeur prédictive négative est la probabilité d'être non malade lorsque les résultats du test sont négatifs.

**Valeur prédictive négative** = Vrai négatif / Vrai négatif +Faux négatif.

### 3.7.1.6. Biologie moléculaire

La technique de biologie moléculaire basée sur la réaction de polymérisation en chaîne ou Polymerase Chain Reaction (PCR) en anglais, est l'une des techniques les plus sensibles et les plus spécifiques. Elle permet la détection des parasitemies submicroscopiques, de quantifier le nombre de parasite et de déterminer l'espèce plasmodiale. Les inconvénients de cette technique sont : son coût et le fait qu'elle nécessite un personnel qualifié et un équipement lourd, le temps d'analyse peut atteindre les 24 heures.

### 3.7.2. Diagnostic indirect

#### ✓ Méthodes sérologiques

La sérologie peu utile dans le diagnostic des accès palustres aigus en raison de l'apparition tardive des anticorps anti palustres par rapport à l'émergence des parasites dans le sang et leur persistance après l'élimination des parasites après plusieurs mois. De nos jours, plusieurs techniques permettent de détecter les anticorps plasmodiaux circulants : Immunofluorescences Indirecte (IFI), Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA), Hémagglutination Indirecte (HD), Immunodiffusion.



### 3.8. Traitement

#### 3.8.1. Traitement curatif

##### 3.8.1.1. Paludisme simple (22)

Selon les recommandations de l'OMS, le Mali à travers sa politique de prise en charge des cas de paludisme simple a opté pour les CTA. Les options thérapeutiques actuellement retenues par le PNLP sont :

✓ **Artéméther + Luméfantrine (AL) :**

Ces produits sont actuellement disponibles en association fixe sous la forme de comprimés. Le traitement recommandé consiste à administrer 6 doses sur 3 jours pour les présentations disponibles dans les structures de santé publique. Le schéma thérapeutique et la posologie sont basés sur le nombre de comprimés par dose administré en fonction poids prédéterminées en tranche (5–14 kg : 1 comprimé ; 15–24 kg : 2 comprimés ; 25–34 kg : 3 comprimés ; > 34 kg : 4 comprimés) deux fois par jour pendant trois jours. Relativement au poids corporel, cette posologie correspond respectivement à 1,7 et 12 mg/kg d'Artéméther et de Luméfantrine par dose, administrés deux fois par jour pendant trois jours, la marge thérapeutique étant de 1,4–4 mg/kg pour l'Artéméther et de 10–16 mg/kg pour la Luméfantrine.

✓ **Artésunate + Amodiaquine (AS+AQ) :**

Ces produits sont actuellement disponibles en association fixe sous la forme de comprimés sécables séparés contenant respectivement 25/67,5 mg, 50/135 mg ou 100/270 mg d'Artésunate et d'Amodiaquine. Des comprimés sécables, séparés respectivement dosés à 50 et 153 mg d'artésunate et d'Amodiaquine base, sont également présentés sous forme de plaquette thermoformée. La dose cible est de 4 mg/kg/jour d'artésunate et de 10 mg/kg/jour d'Amodiaquine une fois par jour pendant 3 jours, avec une marge thérapeutique de 2–10 mg/kg/jour pour l'artésunate et de 7,5–15 mg/kg/jour pour l'Amodiaquine.

##### 3.8.1.2. Paludisme grave (22) :

Les médicaments recommandés pour le traitement du paludisme grave au Mali sont : l'artésunate injectable, l'Artéméther injectable et la quinine injectable. Il est recommandé d'administrer des antipaludiques par voie parentérale pendant au moins 36 heures à partir du début du traitement (que le malade soit capable ou non de tolérer une thérapie orale).

Au-delà des 36 heures, si le malade peut tolérer une thérapie orale, poursuivre le traitement jusqu'à son terme au moyen des CTA (Artéméther + Luméfantrine ou Artésunate + Amodiaquine).

✓ **L'artésunate injectable :**

L'artésunate est le médicament de choix pour le traitement du paludisme grave. Elle peut être administrée en injection intra veineuse (IV) ou intra musculaire (IM).

**Posologie :** 2,4 mg/kg de poids corporel administrés par voie intraveineuse (IV) ou intramusculaire (IM) à l'admission (t = 0), puis 12 h et 24 h plus tard et, par la suite, une fois par jour pour les patients de 20 kg et plus jusqu'à ce que le patient puisse prendre ses médicaments par voie orale. Pour les enfants de moins de 20kg : artésunate 3mg/kg de poids corporel conformément aux temps indiqués précédemment.

✓ **Artéméther injectable :**

**Posologie et mode d'administration :**

Traitement sur 5 jours par voie intramusculaire : la posologie est de 3,2 mg/kg de poids corporel en une injection à l'admission du malade suivi de 1,6 mg/kg en une injection par jour pendant 4 jours.

✓ **Quinine**

**Posologie recommandée :**

Quinine administrée par perfusion lente dans du sérum glucose ou du sérum sale si le patient est diabétique, une dose de charge de 20 mg de sel de quinine/kg) à l'admission chez l'adulte et l'enfant. Ensuite, une dose d'entretien de 10 mg/kg de sels de chlorhydrate de quinine (8,3mg base) dilués dans 10 ml/kg de sérum glucosé à 10 % (ou dextrose à 4,3% ou sérum salé à 0,9 % chez les diabétiques) toutes les 8 heures. La durée d'une perfusion est de 2 à 4 heures.

Ou

15 mg/kg de sels de chlorhydrate de quinine (12,4 mg base) dilués dans 10 ml/kg de sérum glucosé à 10 % (ou dextrose à 4,3% ou sérum salé à 0,9 % chez les diabétiques). Durée de la perfusion : 2 – 4 heures. Intervalle entre le début des perfusions : 12 heures. Passer à la voie orale avec les CTA dès que le malade peut avaler.

**NB :** La dose de charge est administrée seulement lorsque le malade n'a pas pris de quinine dans les 24 heures précédentes ou la Méfloquine dans les 7 jours, si oui c'est la dose d'entretien qui est retenue.

### **3.8.2. Traitement préventif**

#### **A. Lutte anti-vectorielle**

La lutte anti-vectorielle est l'un des moyens efficaces de prévenir le paludisme. Elle peut être faite de différentes façons :

- Aménagement de l'environnement destiné à diminuer le nombre de gîtes anophéliens,
- Pulvérisation intra-domiciliaires d'insecticides à effet rémanent,
- Moustiquaires imprégnées d'insecticides à longue durée d'action : c'est un outil majeur de prévention du paludisme au niveau communautaire, stratégie de lutte recommandée par l'OMS

#### **B. Chimio-prévention**

- **Traitement préventif intermittent (TPIg) pendant la grossesse :**

Le traitement recommandé est la Sulfadoxine-Pyriméthamine (SP), chaque comprimé est dosé à 500 mg de Sulfadoxine et 25 mg de Pyriméthamine. Le TPIg débute au deuxième trimestre après apparition des mouvements actifs du fœtus. Il consiste à administrer 3 comprimés de SP en une prise orale à partir du deuxième trimestre de la grossesse jusqu'à l'accouchement en respectant un intervalle minimum d'un mois entre deux prises.

- **Chimio prévention du Paludisme Saisonnier chez les enfants de moins 5 ans (CPS)**

La CPS consiste à administrer une dose curative de l'Amodiaquine+Sulfadoxine Pyriméthamine (AQ+SP) chaque mois chez les enfants de moins de 5 ans pendant la période de haute transmission du paludisme. Depuis 2012, l'OMS a recommandé cette stratégie dans la prévention contre le paludisme pour les pays du Sahel. Les médicaments utilisés pour la CPS, (AQ+SP) sont administrés pendant une durée de 4 mois à partir du début de la saison de haute transmission du paludisme chez les enfants âgés de 3 à 59 mois(23).

### **3.8.3. La vaccination contre le paludisme**

Le vaccin RTS, S /AS01 est le seul à avoir atteint la phase 3. Il empêche la survenue d'un grand nombre de cas de paludisme clinique sur une période de 18 mois chez les jeunes nourrissons et les enfants lorsqu'il est administré avec ou sans une dose de rappel(24). Son efficacité a été améliorée par l'administration d'une dose de rappel chez ces deux catégories d'âge. L'OMS a confirmé en novembre 2016 que le vaccin RTS, S /AS01 sera déployé en

Afrique subsaharienne, dans le cadre de projets pilotes. Toutefois, ce vaccin, n'étant que partiellement efficace, viendra renforcer les mesures de prévention, de diagnostic et de traitement recommandées par l'OMS, auxquelles il ne se substituera pas(25).

## IV. METHODOLOGIE

### 4.1. Cadre de l'étude

L'étude s'est déroulée dans la commune de Ouélessébougou, une zone endémique et saisonnière du paludisme (cercle de Kati, région de Koulikoro au Mali), situé à 80 km au sud de Bamako sur la route nationale N°7 (RN-7). Sa population est estimée à 50335 habitants (enquête RGPH, 2009).

Le district sanitaire de la commune rurale de Ouélessébougou compte 16 aires de santé. La ville de Ouélessébougou comporte un centre de santé de référence (CSRéf), un centre de santé communautaire (CSCoM), trois cliniques privées et deux officines de Pharmacie.

Le centre de recherche et de formation sur le paludisme (MRTC) de Ouélessébougou a été initié en 2008 en collaboration avec l'Ecole d'Hygiène et de Santé Publique de Londres (London School of Hygiene and Tropical Medicine) et la Fondation Bill et Melinda Gate. Le centre conduit la recherche sur différents aspects du paludisme y compris l'épidémiologie, l'immunologie ainsi que les essais cliniques de médicaments, de vaccins et des stratégies de lutte contre le paludisme et les maladies infectieuses en collaboration avec diverses institutions comme GSK, LSHTM, NIAID/NIH, l'Université de Californie à San Francisco aux USA, Médecins Sans Frontières en France.

Le centre est composé de quatre de blocs : un bloc pour le CSCoM et trois blocs pour l'unité de recherche MRTC (qui sont eux-mêmes composés de six bureaux dont trois bureaux de consultation, deux bureaux pour personnels et un bureau de consultation pour les sage-femmes ; trois laboratoires clinique, une salle informatique, une salle de réunion, une salle d'observation, une salle de vaccination pour les essais cliniques, deux salles de garde, deux toilettes et quatre WC).

L'équipe de recherche du MRTC est composée de médecins, de pharmaciens, de biologistes, des sage-femmes, d'infirmiers, de gestionnaires des données, d'étudiants en fin cycle pour des thèses d'exercice, de stagiaires, de personnels locaux dans le cadre des activités de recherche (guides) et le personnel de soutien (chauffeurs, manœuvres, gardiens). L'équipe travaille en étroite collaboration avec le CSCoM et le CSRéf de Ouélessébougou.



Source : <https://fr.wikipedia.org/wiki/Oueléssebougou>

**Figure 10:** Carte du Mali montrant le site de l'étude.

#### **4.2. Type l'étude**

Il s'agissait d'un essai clinique de phase II, en simple aveugle, randomisé au cours duquel chaque participant inclus était suivi pendant 21 jours.

#### **4.3. Période d'étude**

L'étude s'est déroulée de Juillet 2019 à Mai 2020 avec la collecte des données sur le terrain, l'équipe parasito-clinique était basée sur le site de recherche de Ouélessébougou pendant toute la durée de l'étude. L'analyse des échantillons a été réalisée à la fin des visites de suivi et collecte des échantillons.

#### **4.4. Population d'étude**

La population d'étude était constituée de volontaires, hommes et femmes non enceintes, non fébriles, âgés de 5 à 50 ans portant des parasites sexués et ou asexués de *P. falciparum* et résidants à Ouélessébougou ou dans les environs.

#### **4.5. Critères de sélection**

##### **4.5.1. Critères inclusion**

- Accepter de prendre part à l'étude en donnant un consentement libre et éclairé ;
- Age compris entre  $\geq 5$  ans et  $\leq 50$  ans ;

- Absence de paludisme symptomatique à *P. falciparum* défini par une fièvre à l'enrôlement (température axillaire  $\geq 37,5^{\circ}\text{C}$ ) ;
- Présence de formes sexuées avec  $\geq 16$  gamétocytes / $\mu\text{L}$  (i.e.  $\geq 1$  gamétocyte compté dans la goutte épaisse sur 500 leucocytes) avec ou sans forme asexuées de *P. falciparum* dans la GE à une densité de 16 - 2000/ $\mu\text{L}$
- Absence d'infection palustre mixte à *P. malariae*, *P. vivax* ou *P. ovale* ou toute autre espèce ;
- Absence d'allergies connue aux médicaments de l'étude ;
- Ne pas avoir utilisé un antipaludique dans les 7 jours précédant l'enrôlement (rapportée par le participant) ;
- Avoir un taux d'hémoglobine  $\geq 9,5$  g/dL ;
- Avoir un poids corporel  $< 80$  kg ;
- Absence d'évidence de maladie grave ou chronique au moment de l'inclusion.

#### 4.5.2. Critères de non-inclusion

- Refus de prendre part à l'étude ;
- Age  $< 5$  ans ou  $> 50$  ans ;
- Grossesse ;
- Allergie connue aux médicaments de l'étude ;
- Paludisme grave ;
- Transfusion de sang au cours des 90 jours précédant l'enrôlement ;
- Présence de signes cliniques ou des symptômes d'atteinte hépatique ;
- Présence d'insuffisance rénale connue ou de signes cliniques ou symptômes d'insuffisance rénale ;
- Présence de maladie chronique.

#### 4.6. Taille de l'échantillon

L'étude était portée sur 100 participants suivi pendant 21 jours ; tous porteurs asymptomatiques de parasites asexués et/ou de gamétocytes de *P. falciparum*.

## **4.7. Procédure de l'étude**

### **4.7.1. Information et permission communautaire**

Des médecins, des internes en médecine portaient dans les villages pour l'information et la permission communautaire. Nous avons convoqué des réunions au niveau de chaque village avec les différents chefs de village et les chefs de famille, le relais du village où nous avons expliqué, avec le formulaire de consentement l'information générale sur l'étude, le protocole y compris les objectifs de l'étude, les populations cibles, les procédures de l'étude, les avantages de l'étude pour le village et pour la recherche dans la lutte contre le paludisme. La permission communautaire a été obtenue avant la mise en œuvre des procédures de l'étude.

### **4.7.2. Consentement individuel**

Les procédures de consentement ont varié en fonction de l'âge des participants. Les participants âgés de 18 ans et plus ont donné leur consentement libre et éclairé écrit. Pour les participants de moins de 18 ans, nous avons demandé le consentement parental. En plus du consentement parental, l'assentiment a été obtenu pour les participants âgés de 12-17 ans. Le consentement a été obtenu pour chaque participant avant toute procédure à l'étude.

### **4.7.3. Prélèvement pour goutte épaisse et frottis mince**

Cette tâche était assurée par des biologistes et des étudiants en médecine et en pharmacie en année de thèse. Venus directement du poste clinique avec un numéro de screening, les volontaires intéressés à participer à l'étude après avoir donné leur consentement écrit, libre et éclairé étaient prélevés pour le diagnostic du paludisme (la goutte épaisse/frottis mince), le dosage du taux d'hémoglobine et le test de grossesse pour les femmes en âge de procréer. Les lames ont été lus majoritairement au centre, la lecture des lames était assurée par des biologistes et des techniciens de laboratoire certifiés en lecture de lames de goutte épaisse/frottis mince.

### **4.7.4. Transfert au centre pour examen clinique et enrôlement pour les porteurs de parasites.**

Après la lecture des lames de GE, ceux qui étaient porteurs de parasites sexués et/ou asexués ont été convoqué au centre pour examen clinique et enrôlement. Au centre, par ordre d'arrivée, les porteurs de gamétocytes ont subi un examen clinique complet minutieux. Les renseignements cliniques ont été porté dans un cahier d'observation (CRF : case report form) pour les participants éligibles et recevait un numéro d'inclusion par ordre d'inclusion.



Ceux qui avaient une GE positive et qui ne remplissaient pas les critères d'inclusion ont été traités avec la CTA, le traitement standard du paludisme simple selon les directives du Ministère de la Santé du Mali.

#### **4.7.5. Poste d'administration des médicaments de l'étude au centre**

Ce poste était assuré par des pharmaciens et des thésards en pharmacie. Les pharmaciens de l'étude administraient la Dihydroartémisinine-Pipéraquline (DP) ou la Pyronaridine-Artésunate (PA) en association avec la primaquine (PQ) (Sanofi) à une faible dose unique de 0,25 mg/kg comme le recommande actuellement l'Organisation mondiale de la santé. La faible dose unique de PQ était donnée jour 0 avec la DP ou la PA, (après un repas pour prévenir les douleurs et les crampes abdominales), administrée une solution aqueuse, conformément au mode opératoire normalisé (MON) fourni par le fabricant. Tous les médicaments de l'étude étaient administrés au centre de santé par des pharmaciens de l'étude qui étaient les seuls à connaître les groupes de randomisation des participants des quatre groupes de traitement suivants : DP (n = 25), PA (n = 25), DP-PQ (n = 25) ou PA-PQ (n = 25).

**Tableau III:** Posologie de la Dihydroartémisinine-Pipéraquline en fonction du poids

| Poids corporel (kg) | Dose quotidienne (mg) (à donner 1 fois/jour pendant 3 jours) |     | Dosage du comprimé et nombre de comprimés par prise |
|---------------------|--|-----|---|
|                     | Pipéraquline   | DHA |   |
| 5 à < 7             | 80   | 10  | ½ x 160mg / 20mg comprimé                           |
| 7 à <13             | 160  | 20  | 1 x 160mg / 20mg comprimé                           |
| 13 à < 24           | 320  | 40  | 1 x 320mg / 40mg comprimé                           |
| 24 à < 36           | 640  | 80  | 2 x 320mg / 40mg comprimé                           |
| 36 à <75            | 960  | 120 | 3 x 320mg / 40mg comprimé                           |
| 75 à 80             | 1280   | 160 | 4 x 320mg / 40mg comprimé                           |
| > 80                | Ne sont pas éligibles.                                       |     |   |

Les participants des bras PA et PA-PQ ont reçu aussi un traitement complet avec la DP au jour 21 pour assurer la prophylaxie.

Les participants du groupe PA ou PA-PQ ont été traités avec des doses standard de PA. Les comprimés de PA contenant 180 mg de Pyronaridine-tétraphosphate/60 mg d'artésunate (Pyramax, Shin Poong Pharmaceutical Co.) seront administrés conformément aux directives du fabricant indiquées ci-dessous :

**Tableau IV:** Posologie de la Pyronaridine-Artésunate en fonction du poids.

| Poids (kg) | Dose quotidienne (mg)<br>(administré 1 fois par jour pendant 3 jours) |            | Nombre de comprimés 180/60mg par prise |
|------------|---|------------|--|
|            | Pyronaridine-tétraphosphate   | Artésunate |  |
| 20 - <24kg | 180   | 60         | 1                                      |
| 24 - <45kg | 360   | 120        | 2                                      |
| 45 - <65kg | 540   | 180        | 3                                      |
| > 65kg     | 720   | 240        | 4                                      |

#### 4.7.6. Le suivi

##### ✓ Examen clinique

Le suivi des participants a commencé dès l'administration de la première dose du médicament de l'étude (J0). A chaque visite les participants subissaient un examen clinique complet. Les renseignements cliniques, la parasitémie, les médicaments concomitants, étaient portés dans un cahier d'observation (CRF : case report form) pour les suivis élaborés conformément aux objectifs de l'étude. Tous les événements indésirables ont été enregistrés avec les informations suivantes : le degré de gravité (léger, modéré, sévère), sa relation avec le ou les médicaments de l'étude (liés / non liés), sa durée (dates de début et de fin ou si persistant lors de l'examen final), les mesures prises, le devenir, s'il constitue ou non un événement indésirable grave (EIG). Tous les participants ont été suivis pendant 21 jours.

✓ **Les tests de laboratoire**

A l'inclusion et à chaque visite de suivi (J1 à J21), des échantillons de sang veineux étaient prélevés pour la parasitologie (la goutte épaisse / frottis mince et la détection de la HRP2 par le TDRst, et le TDRus) comme indique le tableau ci-dessous :

**Tableau V:** Prélèvements sanguins des participants

| Type l'échantillon                     | Volume requis | Anticoagulant | J0 | J2 | J7 | J14 | J21 |
|--|---------------|---------------|----|----|----|-----|-----|
| TDR standard                           | 5µl           | EDTA          | *  | *  | *  | *   | *   |
| TDRus                                  | 105µl         | EDTA          | *  | *  | *  | *   | *   |
| Densité des parasites (microscopie)    | 20µl          | EDTA          | *  | *  | *  | *   | *   |
| Taux d'hémoglobine                     | 20µl          | EDTA          | *  | *  | *  | *   | *   |
| Tests moléculaires sur les Gamétocytes | 750µl         | EDTA          | *  | *  | *  | *   | *   |

\* Tous les participants, \*\* seulement les bras DP et PA.

✓ **La goutte épaisse/ frottis mince**

▪ **La goutte épaisse**

A chaque visite de J0 à J21 après l'examen clinique les participants étaient dirigés vers le laboratoire, à l'arriver ils étaient portés dans le registre de prélèvement l'identification du patient, le jour de la visite, ainsi que la date. Les prélèvements étaient faits par ponctions veineuse dans un tube un anticoagulant (EDTA) puis à l'aide d'une pipette on recueillait le sang une ou deux gouttes déposées sur lame comportant l'identification du participant le jour de sa visite la date et l'initiale de celui qui a prélevé. A l'aide de l'angle d'une autre lame, nous faisons un mouvement circulaire de façon à étaler le sang sur un cercle d'environ un centimètre de diamètre.

#### ▪ **Le frottis mince**

Une goutte de sang est étalée sur une lame porte-objet soigneusement dégraissée. Placer le petit côté de la 2<sup>ème</sup> lame, bien tenue entre le pouce et l'index au contact de la goutte de sang au centre de la première lame. Attendre que le sang fuse sur le bord. Incliner cette 2<sup>ème</sup> lame à 45°C par rapport à la 1<sup>ère</sup> et la pousser vers le bord libre avec un geste rapide, sans discontinuité jusqu'à épuisement de sang pour avoir un étalement très fin. Les lames sont ensuite séchées, fixées avec du méthanol (frottis mince seulement) et colorées avec une solution de Giemsa à 10% pendant 15 minutes, rincées à l'eau puis séchées.

#### ✓ **Examen microscopique (la goutte épaisse et le frottis mince)**

La microscopie est la méthode de référence pour le diagnostic du paludisme et peut être utilisée pour identifier les espèces, la densité parasitaire et la réponse au traitement antipaludique.

Les gouttes épaisses étaient lues par un biologiste certifié à l'aide d'un microscope optique binoculaire avec huile à immersion (objectif 100). La densité parasitaire était déterminée en comptant les formes asexuées et les formes sexuées (gamétocytes) de chaque espèce plasmodiale observée contre 200 leucocytes pour les formes asexuées et 500 pour les gamétocytes.

Le frottis mince était utilisé pour le diagnostic d'espèce. Toutes les lames ont été lues par deux microscopistes indépendants. Après la lecture, les lames étaient conservées dans des boîtes d'arrangement des lames type OMS.

#### ✓ **Dosage du taux d'hémoglobine**

Nous avons utilisé l'appareil HemoCue (Hemocue AB, Angelholm, Suède) pour mesurer du taux d'hémoglobine. Nous remplissons la microcuvette de sang que l'on introduisait ensuite dans l'hémoglobinomètre qui était préalablement allumé et le résultat était affiché en quelques secondes. La valeur du taux d'hémoglobine était exprimée en g/d. Le taux d'hémoglobine a été évalué aux jours 1, 2, 7, 14 et 21 jours pour chaque patient et pendant les visites imprévues. L'anémie a été définie comme un taux d'hémoglobine < 9.5 g/dl.

#### ✓ **Les Tests de Diagnostic Rapide**

##### ▪ **Le TDR ultra-sensible**

Les échantillons étaient conservés dans le laboratoire du site dans un tube contenant l'anticoagulant (EDTA) à - 80 °C, les échantillons ont été amené à la température ambiante

avant la réalisation du test. Les participants étaient suivis pendant 49 jours, le test a été réalisé chaque jour de visite de J0 à J21, le test était arrêté à chaque fois que deux résultats consécutifs étaient négatifs avant J21 selon le protocole. Après avoir ouvert le kit du test on procédait comme suit :

- Poser la cassette sur une surface plane et sèche ;
- Note sur la cassette du test le numéro d'identification du participant, le jour de la visite ;
- Prendre une cupule de prélèvement à usage unique (5µl) fournie et immerger l'extrémité circulaire dans l'échantillon de sang, puis placer soigneusement l'extrémité circulaire de la cupule de prélèvement dans le puits rond du test ;
- Tenir le flacon de tampon du diluant du dosage à la verticale et déposer quatre gouttes dans le puits carré réservé au diluant du dosage ;
- Attendre 20 minutes, puis lire le résultat du test.

### **Interprétation**

Les tests ont été lus par deux lecteurs indépendants conformément au protocole.

#### **Résultat du test négatif**

La présence dans la fenêtre de résultat, d'une ligne contrôle « C » colorée (violette) en l'absence de coloration de la ligne de Test, indique un résultat négatif.

#### **Résultat test positif**

La présence dans la fenêtre de résultat, de deux lignes colorées, à savoir la ligne de contrôle « C » (violette) et la ligne de test « Pf » (bleu marine), indique un résultat positif. Si une ligne de test est présente, même très pale, le résultat du test est considéré comme positif.

#### **Résultat test non valide**

Lors de l'interprétation, si aucune ligne colorée n'est visible dans la fenêtre de résultat au niveau de la ligne de contrôle « C » (violette), le résultat est non valide. Il se peut que les instructions n'aient pas été suivies correctement ou que le test soit endommagé. Il est recommandé d'analyser à nouveau l'échantillon à l'aide d'un nouveau dispositif de test.

#### ▪ **Le TDR standard SD BIOLINE**

A chaque visite de J0 à J21, le test était fait jusqu'à ce que le résultat de deux tests consécutifs soit négatif. Après avoir ouvert le kit du test on procédait comme suit :

Poser la cassette sur une surface plane et sèche ;

- Noter sur la cassette du test le numéro d'identification, le jour de la visite ;

- Prendre une cupule de prélèvement à usage unique (5µl) fournie et immerger l'extrémité circulaire dans l'échantillon de sang, puis placer soigneusement l'extrémité circulaire de la cupule de prélèvement dans le puit rond du test ;
- Tenir le flacon de tampon du diluant du dosage à la verticale et déposer quatre gouttes dans le puit carré réservé au diluant du dosage ;
- Attendre le délai requis par le test pour l'interprétation des résultats (15 minutes).

### **Interprétation**

#### **Résultat du test Négatif :**

Une ligne dans la fenêtre de contrôle et pas de ligne dans la fenêtre de test.

#### **Résultats du test Positif :**

Une ligne dans la fenêtre de contrôle et une ligne dans la fenêtre de test Si des lignes apparaissent dans les deux fenêtres, le résultat est positif même si la ligne de test est très fine.

#### **Résultat du test non valide :**

Pas de ligne dans la fenêtre de contrôle mais une ligne dans la fenêtre de test Pas de ligne dans la fenêtre de contrôle et pas de ligne dans la fenêtre de test

Les tests ont été réalisés et interprétés par des Pharmaciens, des biologistes, des étudiants en médecine et en pharmacie durant toute la durée de l'étude.

#### ▪ **qRT-PCR (26)**

Le matériau de départ est la NA totale extraite au MagNaPure (généralement dans des plaques 96 puits à coque dure), utilisez des pointes de filtre et des réactions de configuration dans une enceinte PCR.

- Préparer la disposition des plaques pour la plaque DNaseI, cDNA et qPCR.

#### **Synthèse d'ADNc avec le kit de synthèse d'ADNc haute capacité (Applied Biosystems) :**

- Décongeler tous les tampons, les vortexer et ralentir à 10 000 tr/min pendant 10 sec. Ne pas mélanger les tampons après l'essorage.
- Synthèse de l'ADNc : 4 µl d'ARN + 4 µl de mélange d'ADNc 2x (ou ajustez si vous avez besoin de plus d'ADNc, selon un ratio 1 :1)
- Préparer le mastermix selon le schéma ci-dessous, toujours préparer +9 réactions supplémentaires. Soit garder les enzymes sur de la glace, soit les sortir du congélateur pour pipeter et remettre immédiatement :

|               | <b>1x</b> | <b>105x</b> |
|---------------|-----------|-------------|
| ddH2O         | 1,48      | 155,4 µl    |
| 10x RT buffer | 0,8       | 84 µl       |
| Random primer | 0,8       | 84 µl       |
| dNTP's        | 0,32      | 33,6 µl     |
| MT            | 0,4       | 42 µl       |
| RNasin        | 0,2       | 21 µl       |

- Remplir 4 µl/puits avec pipette à répétition et 0,5 ml combitip dans une armoire PCR.
- Utiliser les plaques PCR VWR.
- Ajouter 4 µl d'ARN avec multicanal et sceller avec un sceau en plastique
- Essorer pendant 20 sec en essoreuse à plaques
- Exécuter le programme d'ADNc sur une machine PCR ordinaire (15 min 25 degrés, 2 h 37 degrés, 5 min 85 degrés
- Après le tour d'exécution de la machine PCR, et stocker la plaque à -20 ou procéder à la qPCR.
- **qPCR avec le kit GoTaq qPCR (Promega) :**
- Décongeler le tampon et les amorces
- qPCR : 18 µl de mélange + 2 µl d'ADNc, amorces 225 nM
- Préparer le mastermix selon le schéma ci-dessous, toujours préparer +4 réactions supplémentaires.
- Décongeler le tampon GoTaq et commencer à préparer le mélange immédiatement, mélangez la solution Gotaq 2x en pipetant de haut en bas :

|                               | <b>1x</b> | <b>100x</b> |
|-------------------------------|-----------|-------------|
| ddH2O                         | 7,41      | 741 µl      |
| Primer FW + Rev (50 uM stock) | 0,09      | 9 µl        |
| GoTaq mix 2x                  | 10        | 1000 µl     |

- - Remplir 17,5 ul/puits avec une pipette à répétition et 0,5 ml de combitip dans une armoire
- PCR. Utiliser les plaques 96 puits à coque dure BioRad

- Ajouter 2,5 ul d'ADNc avec pipettes multicanaux (utiliser les 12 canaux) et sceller avec un joint en plastique
- Essorer pendant 20 sec enessoreuse à plaques
- Exécuter le programme GoTaq qPCR sur la machine BioRAD CFX qPCR : allumer la machine PCR, l'ordinateur est toujours allumé
- Démarrer le gestionnaire BioRad CFX
- Sélectionner le type d'exécution « Défini par l'utilisateur »
- Sélectionnez « Sélectionner existant » dans le dossier créé à cet effet
- GoTaq qPCR (programme qPCR: 95 C 2 min > 95 C 15 s, 60 C 1 min, 40 cycles)
- Ouvrir le couvercle et placer la plaque dans la machine PCR
- Fermer le couvercle
- Lancer l'analyse: enregistrer le fichier dans le dossier créé à cet effet
- Après l'analyse de la plaque à 96 puits, éteignez la machine PCR (laisser l'ordinateur allumé)

#### **Analyse des données de la qPCR**

- Après l'exécution, l'analyse des données s'ouvre automatiquement
- Cocher la case échelle log
- Clic droit sur le graphique d'amplification > Paramètres de base > Seuil unique fixé à 200 > puis cliquer OK
- Cliquer avec le bouton droit sur le graphique d'amplification
- Sélectionner Afficher la valeur seuil
- Si nécessaire (puits vides donnant par exemple un signal de fond) > Paramètres >
- Paramètres de la ligne de base > Appliquer la correction de dérive de fluorescence
- Configuration de la plaque > afficher/éditer la plaque > sélectionner le fluorophore FAM, et désélectionner les autres > OK
- Remplir les dilutions de courbe standard : sélectionnez d'abord bien, remplir Type d'échantillon : standard, remplir la concentration, 1,00E+06 > cliquer sur charger, répéter pour les dilutions suivantes > OK > appliquer les modifications : JA
- Ouvrir un document Excel et copier-coller le graphique d'amplification et le graphique de courbe standard
- Ouvrir la fiche technique de quantification > Cliquer dans le coin supérieur gauche (tous les puits sont maintenant sélectionnés) > CtrlC et collez dans Excel >



enregistrer le fichier dans le dossier créé à cet effet, > nommer le fichier et enregistrer.

#### **4.8. Gestion et analyse des données**

Toutes les données ont été collectées après l'inclusion dans l'étude et étaient saisies sur des supports papier (CRF individuel). Nous avons recueilli ces données, ressaisi et stockées dans des bases de données sécurisées et protégées par des mots de passe avec EXCEL. Les données ont été analysées avec le logiciel Stata version 14. Un test de chi<sup>2</sup> de Pearson a été utilisé pour comparer les variables qualitatives ayant une distribution normale. Les données obtenues par le biais des appareils portatifs ou directement produites par les équipements de laboratoire ont été examinées pour l'assurance de la qualité et introduites dans la base de données en double saisie. Un plan d'analyse complet a été préparé avant le début de l'étude et a été examiné par le comité de surveillance des données et de la sécurité (CSDS).

#### **4.9. Considérations éthiques**

Cette étude a été conduite en conformité au protocole, les bonnes pratiques cliniques (BPC) et toutes les exigences réglementaires applicables. Le protocole d'étude, les formulaires de consentement et assentiment éclairés et tout autre document qui a été remis aux participants de l'étude a été aussi soumise aux comités d'éthique (CE) de toutes les institutions impliquées. Une approbation écrite a été obtenue des toutes ces institutions pour le protocole initial et tous les amendements ultérieurs apportés au protocole, au document de consentement éclairé et tout autre document de l'étude comme mentionné ci-dessus. Les investigateurs ont veillé à ce que l'anonymat des sujets soit respecté. Les participants ne sont pas identifiés dans aucun rapport rendu public de cette étude. Tous les enregistrements sont gardés confidentiels dans les mesures prévues par les lois et règlements en vigueur. Les moniteurs de l'étude et d'autres représentants des autorités réglementaires ont inspecté tous les documents et registres qui étaient gardés par l'investigateur. Tous les échantillons de laboratoire, les formulaires d'évaluation, les rapports et autres documents qui sortent du site ont été identifiés par un code afin de maintenir la confidentialité du participant. L'investigateur a informé les CE et le CSDS des violations et violations au protocole. L'approbation éthique a été obtenue au comité d'éthique des Facultés de médecine et d'odontostomatologie et de pharmacie de l'Université des sciences, techniques et technologies de Bamako (Bamako, Mali) et au comité d'éthique de la recherche de la London School of Hygiene & Tropical Medicine (Londres,

Royaume-Uni). L'activité de terrain a commencée après l'obtention de l'approbation des deux comités d'éthiques.

## V. RESULTATS

### 5.1. Caractéristiques sociodémographiques

**Tableau VI:** Répartition des volontaires en fonction du sexe

| Sexe     | Effectif | Pourcentage % |
|----------|----------|---------------|
| Masculin | 45       | 45,0          |
| Féminin  | 55       | 55,0          |
| Total    | 100      | 100,0         |

Le sexe féminin était prédominant avec 55% de l'échantillon. Le sexe-ratio était de 1,2 en faveur du sexe féminin.

**Tableau VII:** Répartition des volontaires en fonction de la tranche d'âge

| Tranche d'âge | Effectif | Pourcentage % |
|---------------|----------|---------------|
| 5-11 ans      | 56       | 56,0          |
| 12-17 ans     | 25       | 25,0          |
| 18-50 ans     | 19       | 19,0          |
| TOTAL         | 100      | 100,0         |

La tranche d'âge de 5-11 ans était la plus représentée avec une fréquence de 56,0%.

## 5.2. Résultats parasitologiques selon la méthode de diagnostic et en fonction du groupe de traitement à l'inclusion (J0).

**Tableau VIII:** Répartition des résultats de la PCR selon le bras de traitement à Jour 0.

| PCR            | CTA       |              | CTA+PQ    |              | Total     |              |
|----------------|-----------|--------------|-----------|--------------|-----------|--------------|
|                | n         | %            | N         | %            | N         | %            |
| <b>Positif</b> | 44        | 91,7         | 46        | 85,8         | <b>90</b> | <b>93,8</b>  |
| <b>Négatif</b> | 4         | 8,3          | 2         | 4,2          | <b>6</b>  | <b>6,2</b>   |
| <b>Total</b>   | <b>48</b> | <b>100,0</b> | <b>48</b> | <b>100,0</b> | <b>96</b> | <b>100,0</b> |

Pearson chi<sup>2</sup> = 0,7111 ; p = 0,40

A l'inclusion avant le traitement 93,8 % des résultats de la PCR sont revenues positives. Il n'y avait pas de différence statistiquement significative entre le groupe CTA et le groupe CTA +PQ, 91,7% contre 85,8 %, avec un ( p = 0,40 )

**Tableau IX:** Répartition des résultats du TDR ultrasensible selon le bras de traitement à J0

| TDRus           | CTA       |              | CTA+PQ    |              | Total     |              |
|-----------------|-----------|--------------|-----------|--------------|-----------|--------------|
|                 | n         | %            | n         | %            | N         | %            |
| <b>Positive</b> | 44        | 91,7         | 47        | 98,0         | <b>91</b> | <b>94,8</b>  |
| <b>Négative</b> | 4         | 8,3          | 1         | 2,0          | <b>5</b>  | <b>5,2</b>   |
| <b>Total</b>    | <b>48</b> | <b>100,0</b> | <b>48</b> | <b>100,0</b> | <b>96</b> | <b>100,0</b> |

Pearson chi<sup>2</sup> = 1,8989 ; p = 0,17

A l'inclusion avant le traitement, 94,8% des TDRus réalisés sont revenus positifs sans aucune différence statistiquement significative entre les groupes de traitement ( p = 0,17).

**Tableau X:** Répartition des résultats de la GE selon le bras de traitement à J0

| GE              | CTA       |              | CTA+PQ    |              | Total     |              |
|-----------------|-----------|--------------|-----------|--------------|-----------|--------------|
|                 | n         | %            | n         | %            | N         | %            |
| <b>Positive</b> | 34        | 70,2         | 38        | 79,2         | <b>72</b> | <b>75,0</b>  |
| <b>Négative</b> | 14        | 29,8         | 10        | 20,0         | <b>24</b> | <b>25,0</b>  |
| <b>Total</b>    | <b>48</b> | <b>100,0</b> | <b>48</b> | <b>100,0</b> | <b>96</b> | <b>100,0</b> |

Pearson chi2 = 0,8889 ; p = 0,35

A l'inclusion avant le traitement, 75% des gouttes épaisses sont revenues positives avec une parasitémie asexuée sans différence statistiquement significative entre les groupes de traitement, ( p = 0,35).

**Tableau XI:** Répartition des résultats du TDR standard (TDRst) selon le bras de traitement à J0.

| TDR standard    | CTA       |              | CTA+PQ    |              | Total     |              |
|-----------------|-----------|--------------|-----------|--------------|-----------|--------------|
|                 | n         | %            | N         | %            | N         | %            |
| <b>Positive</b> | 38        | 79,2         | 43        | 89,6         | <b>81</b> | <b>84,4</b>  |
| <b>Négative</b> | 10        | 20,8         | 5         | 10,42        | <b>15</b> | <b>15,6</b>  |
| <b>Total</b>    | <b>48</b> | <b>100,0</b> | <b>48</b> | <b>100,0</b> | <b>96</b> | <b>100,0</b> |

Pearson chi2 = 1,9753 ; p = 0,16

A l'inclusion avant le traitement 84,4% des TDR standard réalisés sont revenus positifs. il n'y avait pas de différence statistiquement significative entre les groupes de traitement ( p = 0,16) .

### 5.3. Performance du TDR ultrasensible

**Tableau XII:** Valeurs diagnostiques du TDR ultra-sensible (TDRus) par rapport à la PCR à J0.

|         | PCR +     | PCR –    | Total     |
|---------|-----------|----------|-----------|
| TDRus + | 88        | 3        | 91        |
| TDRus – | 2         | 3        | 5         |
| Total   | <b>90</b> | <b>6</b> | <b>96</b> |

**Sensibilité** =  $88/90 = 97,8\%$

**Spécificité** =  $3/6 = 50\%$

**Valeur prédictive positive** =  $88/91 = 96,7\%$

**Valeur prédictive négative** =  $3/5 = 60,0\%$

**Kappa** =  $\text{Pr}(a) - \text{Pr}(e) / (1 - \text{Pr}(e))$

**Pr(a)** = 0,95

**Pr(e)** = 0,89

**Kappa** = 0,55 = 55%

La sensibilité du TDR ultra-sensible par rapport à la PCR était de 97,8% et sa spécificité était de 50%. Les valeurs prédictives positives et négatives étaient de 96,7% et 60,0% respectivement.

Nous avons obtenu un accord modéré de 0,55 entre le TDRus et la PCR.

**Tableau XIII:** Valeurs diagnostiques du TDR standard (TDRst) par rapport à la PCR à J0.

|                | PCR +     | PCR –    | Total     |
|----------------|-----------|----------|-----------|
| TDR standard + | 79        | 2        | 81        |
| TDR standard – | 11        | 4        | 15        |
| <b>Total</b>   | <b>90</b> | <b>6</b> | <b>96</b> |

**Sensibilité** =  $79/90 = 87,8\%$

**Spécificité** =  $4/6 = 66,7\%$

**Valeur prédictive positive** =  $79/81 = 97,5\%$

**Valeur prédictive négative** =  $4/15 = 26,7\%$

**Kappa** =  $\text{Pr}(a) - \text{Pr}(e) / (1 - \text{Pr}(e))$

**Pr(a)** = 0,86

**Pr(e)** = 0,80

**Kappa** = 0,3 = 30%

En fonction de la PCR, la sensibilité obtenue par le TDR standard était de 87,8% avec une spécificité de 66,7%. Les valeurs prédictives positives et négatives étaient de 97,5% et 26,7% respectivement.

Nous avons obtenu un accord faible de 0,30 entre le TDRst et la PCR

**Tableau XIV:** Valeurs diagnostiques de la goutte épaisse (GE) par rapport à la PCR à J0

|       | PCR +     | PCR-     | Total     |
|-------|-----------|----------|-----------|
| GE +  | 71        | 1        | 72        |
| GE-   | 19        | 5        | 24        |
| Total | <b>90</b> | <b>6</b> | <b>96</b> |

**Sensibilité** =  $71/90 = 78,9\%$

**Spécificité** =  $5/6 = 83,3\%$

**Valeur prédictive positive** =  $71/72 = 98,6\%$

**Valeur prédictive négative** =  $5/24 = 20,8\%$

**Kappa** =  $\text{Pr}(a) - \text{Pr}(e) / (1 - \text{Pr}(e))$

**Pr(a)** = 0,79

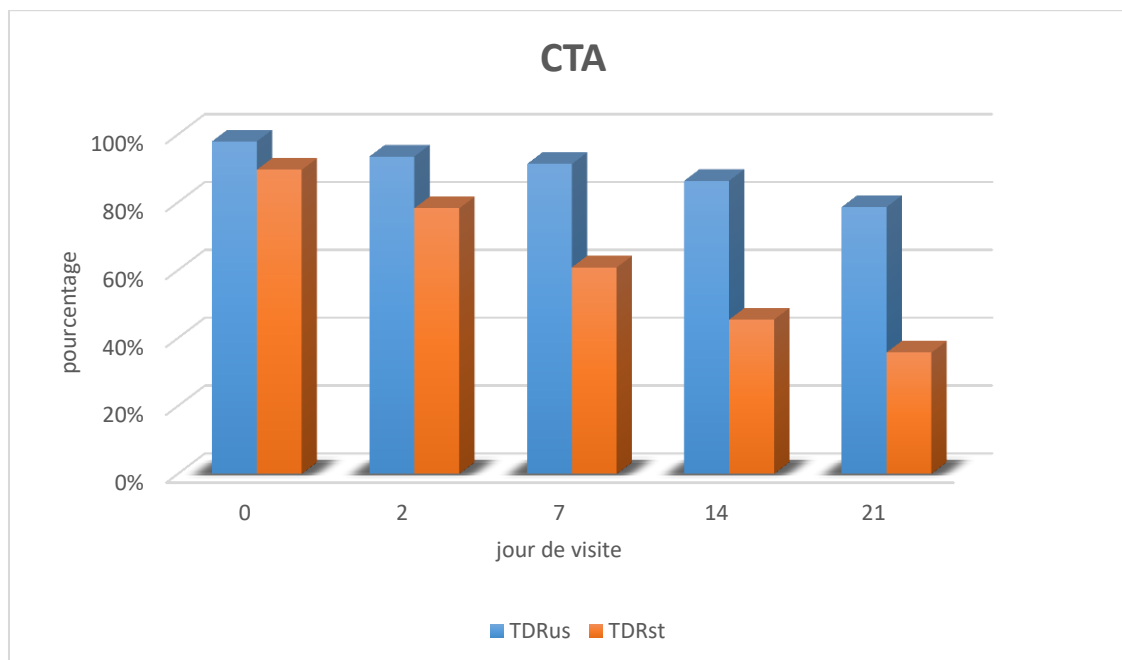
**Pr(e)** = 0,72

**Kappa** =  $0,25 = 25\%$

La sensibilité obtenue par la goutte épaisse était de 78,9% avec une spécificité de 83,3%. Les valeurs prédictives positives et négatives étaient de 98,6% et 20,8% respectivement. Nous avons obtenu un accord faible de 0,25 entre la GE et la PCR.

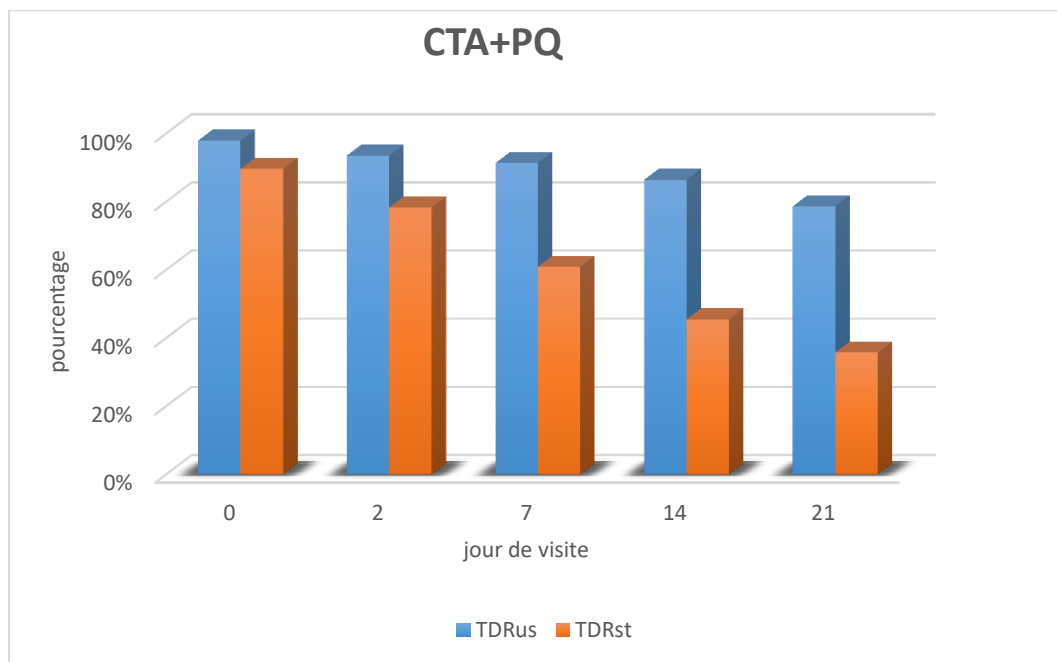


#### 5.4. La dynamique de la protéine HRP2 après le traitement antipaludique, avec ou sans faible dose de primaquine évaluée par les tests de diagnostic rapide.



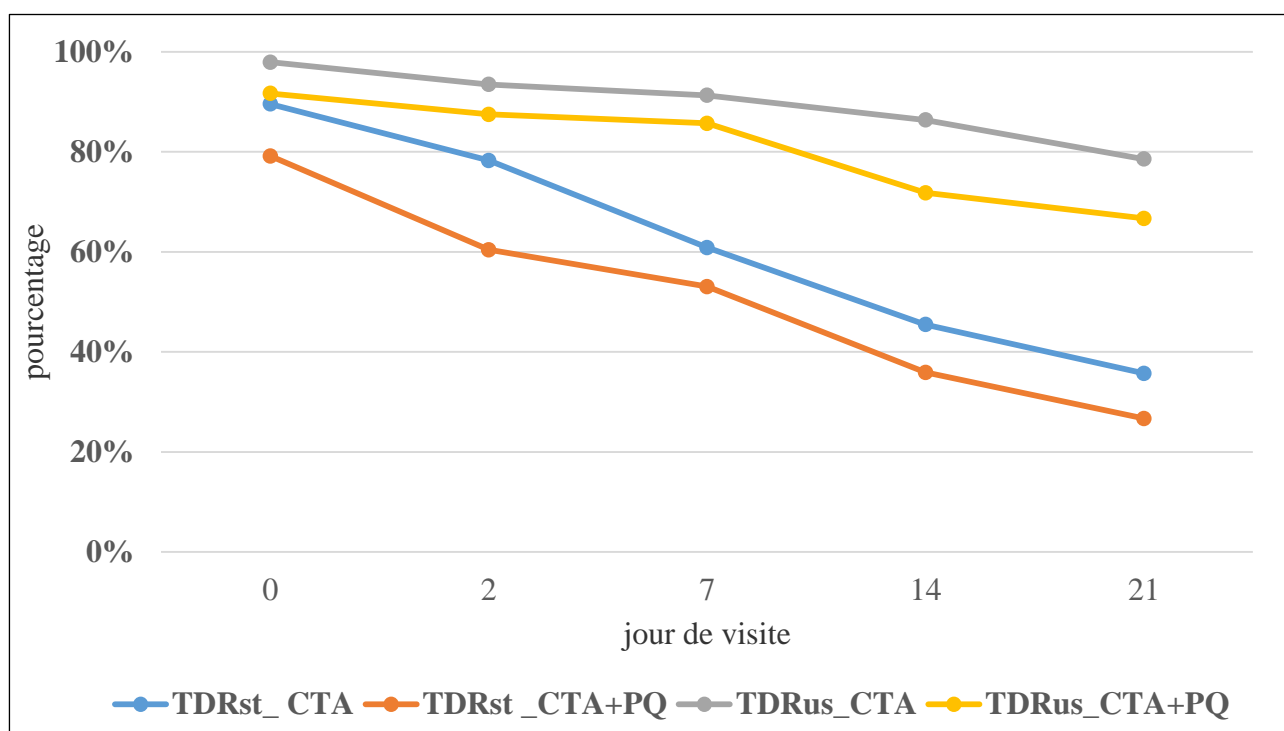
**Figure 11:** La dynamique de la protéine HRP2 évaluée par le TDR-ultrasensible et le TDR standard en fonction des jours de visite après le traitement par les CTA seulement.

Nous notons une légère et progressive diminution de la positivité du TDR ultra-sensible évaluant la présence de la protéine HRP2, lorsque les participant sont traités par les CTA entre le jour 0 et le jour 21 par contre cette diminution est beaucoup plus accentuée avec le TDR standard à base de la même protéine.



**Figure 12 :** La dynamique de la protéine HRP2 évaluée par le TDR ultra-sensible et le TDR standard en fonction des jours de visite après le traitement par les CTA plus faible dose de primaquine.

Nous avons noté une diminution progressive de la positivité du TDR ultra-sensible suivant les jours de visite après le traitement par les CTA combiné à une faible dose de primaquine par contre cette diminution est beaucoup plus accentuée avec le TDR standard après le septième jour du suivi.



**Figure 13** : Courbe montrant la dynamique de la protéine HRP2 évaluée par les TDR-ultrasensible et standard 21 jours après le traitement par les CTA avec ou sans faible dose de primaquine.

Malgré le traitement par les combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine, nous notons plus de 60% des participants avaient un TDRus positif, 21 jours après le traitement complet.

## VI. COMMENTAIRES ET DISCUSSION

Cette étude nous a permis de déterminer les valeurs diagnostiques du TDRus Alere™ Ag pf dans la détection de l'infection asymptomatique du paludisme par rapport à la réaction de polymérisation en chaîne (PCR).

Au total 1044 volontaires ont été dépistées et 100 participants porteurs de gamétocytes éligibles ont été inclus dans l'essai. En somme, 92% (92/100) des participants ont effectué des visites d'étude jusqu'au jour 21, et 89% (89/100) ont effectué toutes les visites de l'étude.

Nous avons comparé différentes méthodes qui n'explorent pas la même caractéristique du parasite, l'une mettant en évidence le génome du parasite par amplification génique et l'autre aux antigènes. C'est ainsi que sur les 100 échantillons collectés à l'inclusion et soumis à la PCR, 96 échantillons ont été analysés avec succès à la fois à la technique de la PCR et au TDR ultrasensible. Nous avons obtenu 93,8% (90) des volontaires positifs à la PCR et 91 au TDR ultrasensible soit 94,8%. La PCR a été considérée comme la technique de référence.

Le test a une bonne sensibilité (97,8%) elle se situe donc entre les bornes d'acceptabilité recommandées par l'OMS pour un TDR (> 95%), une spécificité (50%), le test est simple à utiliser, mais ne permet pas une quantification de la parasitémie et ne précise pas le stade de développement du parasite. Les autres paramètres diagnostics tels que la valeur prédictive négative et la valeur prédictive positive ont été respectivement de 96,7% et de 60,0%.

Nos résultats sont similaires à celui de Margian NJ en termes de sensibilité dans l'évaluation des tests de diagnostics rapides du paludisme au Madagascar qui avait obtenu 97,7% (27) et dans la même étude la spécificité du test était à 96,7% qui est supérieure à la spécificité de notre de test 50%. Cette différence de spécificité pourrait être due à la taille des échantillons analysés. Nos résultats sont supérieurs à ceux obtenus par Das et collaborateurs qui avaient obtenu des sensibilités de 84% et 44% en Ouganda et au Myanmar respectivement et dans les mêmes études la spécificité de notre test reste inférieur à ceux qu'ils avaient obtenu 92% et 99,8% en Ouganda et au Myanmar respectivement(7). Cette différence de sensibilité pourrait s'explique par le fait que notre étude s'est déroulée dans une zone à haute transmission saisonnière alors que leur étude a été faite dans une zone à faible transmission de paludisme. Nos résultats sont également supérieurs à ceux obtenus par Heichert et collaborateurs à Bancoumana au Mali en terme de sensibilité 78% et une spécificité de 74%

(28) qui supérieure à la spécificité de notre test 50%. Cette différence aussi pourrait s'expliquer par les différences de population d'étude ou par la variation des densités parasitaires qui varient en fonction de la saison et d'une part différent test que nous avons utilisé comme référence. Notre spécificité moins bonne s'expliquerait par la persistance pendant plusieurs semaines de la protéine HRP2 dans le sang circulant même après l'élimination du parasite (29). Aussi, nous suspectons des cas de délétion sur le gène *Pfhrp2* décrites dans d'autres études conduisant une protéine *PfHRP2* non détectable par le test basé sur la protéine normale(30).

Dans notre étude la sensibilité du TDR standard était de 87,8% par rapport à la PCR. Ce résultat est similaire à celui d'une étude menée au Madagascar par Margiano NJ dans l'évaluation des tests de diagnostics rapides du paludisme qui avait trouvé une sensibilité de 87,4%(27) et comme spécificité 98,2% qui est supérieure à la spécificité de notre test 66,8%.

Cependant nos résultats sont différents de celui Vasquez AM et collaborateurs en Colombie qui ont obtenu dans la détection du parasite dans le sang périphérique des femmes enceintes une sensibilité avec TDR standard 64,3% chez les patientes asymptomatique(31) et comme spécificité 100% qui est supérieure à la spécificité de notre test 66,7%. Cette différence entre nos deux tests pourrait être due au période d'étude, notre étude a été fait dans une zone de transmissions endémique et saisonnière du paludisme.

Dans notre étude la sensibilité de la goutte épaisse était de 78,9% par rapport à la PCR pris comme référence. Ce résultat est inférieur à celui obtenu par Vasquez AM et collaborateurs en Colombie qui ont obtenue dans la détection du parasite dans le sang périphérique des femmes enceintes une sensibilité de 95,2% chez les patientes symptomatique et 50% chez les patientes asymptomatique(31). Dans la même étude la spécificité obtenue chez les patientes symptomatiques était de 100% et 100% chez les patientes asymptomatiques. Cette différence aussi pourrait s'expliquer par les différences de population d'étude ou par la variation des densités parasitaires qui varient en fonction de la saison.

La PCR était la méthode de référence. Dans le groupe CTA à l'inclusion la positivité du TDR ultra sensible de 97,9% était supérieure au TDR standard 89,6%. Cette différence entre les deux est beaucoup plus accentuée au jour 7 du suivi 91,3% pour le TDR ultra-sensible contre 60,8% pour le TDR standard, au jour 14 du suivi 86,4% pour le TDR ultra-sensible contre 45,5% pour le TDR standard et jour 21 du suivi 78,6% pour le TDR ultra-sensible contre 35,7% pour le TDR standard. Nos résultats montrent la persistance de la protéine

HRP2 jusqu'au jour 21 du suivi 78,6% des volontaires pour le TDR ultra-senssible et 35,7% des volontaires pour le TDR standard. Ces résultats sont comparables à ceux de Heichert et collaborateurs à Bancoumana au Mali qui avaient trouvé une majorité de 52,5% de positivité avec TDRus 21 jours après le traitement antipaludique (28). D'autre part cela s'expliquerait par la persistance pendant plusieurs semaines de la protéine HRP2 dans le sang circulant même après l'élimination du parasite (32).

Par comparaison, le groupe CTA et CTA plus faible dose de primaquine la dynamique de la protéine HRP2 évaluée avec les tests de diagnostic rapide de l'inclusion jusqu'au jour 21 du suivi nous n'avions pas trouvé assez de différence dans élimination de la protéine HRP2 entre les deux groupes de traitement.

## VII. CONCLUSION

Les résultats de cette étude montrent que le TDR Alere™ Malaria Ag Pf a une bonne sensibilité et est légèrement plus sensible que la PCR. Ainsi, ces résultats suggèrent que le TDR Alere™ Malaria Ag Pf serait un outil performant pour détecter l'infection asymptomatique et non détectable à la microscopique. Cependant, avec la persistance du gène HRP2 dans le sang jusqu'au moins 21 jours après le traitement par les CTA, des tests post-traitement positifs peuvent conduire à une utilisation abusive des médicaments pouvant entraîner à une baisse de leur efficacité voire induire une résistance.

## VIII. RECOMMANDATIONS

### 8.1. Aux chercheurs

- Tester le TDR Alere™ Malaria Ag Pf dans différents contextes pour mieux appréhender la performance par rapport aux autres techniques de diagnostic et aux TDR déjà disponible.

### 8.2. Aux autorités sanitaires nationales

- Promouvoir le TDR Alere™ Malaria Ag Pf à tous les niveaux de la pyramide sanitaire pour le diagnostic rapide des accès palustres liés aux faibles parasitémies en vue d'une prise en charge rapide et précoce des cas.

### 8.3. Aux praticiens

- Se rassurer qu'en cas de TDR positif que les patients n'ont pas reçu de traitement, compte tenu de la persistance des antigènes parasitaires après le traitement par les CTA.



## IX. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. World Health Organization. World malaria report 2018 [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2018 [cité 19 sept 2021]. 166 p. Disponible sur: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/275867>
2. World Health Organization. Regional Office for South-East Asia. WORLD MALARIA REPORT 2020 [Internet]. New Delhi: World Health Organization. Regional Office for South-East Asia; 2021 [cité 17 déc 2021]. Disponible sur: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/344764>
3. EDSM-VI, enquête démographique et de santé du mali (EDSM-V) 2018. [Internet]. [cité 9 sept 2021]. Disponible sur: <https://dhsprogram.com/pubs/pdf/FR358/FR358.pdf>
4. Crompton PD, Pierce SK, Miller LH. Crompton PD, Pierce SK, Miller LH. Advances and challenges in malaria vaccine development. J Clin Invest. 1 déc 2010;120(12):4168-78. J Clin Invest. 1 déc 2010;120(12):4168-78.
5. Organisation mondiale de la Santé. Stratégie technique mondiale de lutte contre le paludisme 2016-2030 [Internet]. Genève: Organisation mondiale de la Santé; 2015 [cité 19 sept 2021]. 33 p. Disponible sur: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/176720>
6. Gatton ML, Rees-Channer RR, Glenn J, Barnwell JW, Cheng Q, Chiodini PL, et al. Gatton ML, Rees-Channer RR, Glenn J, Barnwell JW, Cheng Q, Chiodini PL, et al. Pan-Plasmodium band sensitivity for Plasmodium falciparum detection in combination malaria rapid diagnostic tests and implications for clinical management. Malar J. 18 mars 2015;14(1):115. Malar J. 18 mars 2015;14:115.
7. Das S, Jang IK, Barney B, Peck R, Rek JC, Arinaitwe E, et al. Performance of a High-Sensitivity Rapid Diagnostic Test for Plasmodium falciparum Malaria in Asymptomatic Individuals from Uganda and Myanmar and Naive Human Challenge Infections. Am J Trop Med Hyg. 8 nov 2017;97(5):1540-50.
8. 1. World Health Organization: world malaria report 2019. Geneve;2019 [Internet]. [cité 9 sept 2021]. Disponible sur: <https://www.who.int/malaria/publications/world-malaria-report-2019/World-Malaria-Report-2019-briefing-kit-fr.pdf>
9. Enquête sur les Indicateurs du Paludisme (EIPM) 2015 Programme National de Lutte contre le Paludisme Ministère de la Santé Publique et de l'Hygiène Publique Bamako, Mali Institut National de la Statistique Ministère de l'Aménagement du Territoire et de la Population Bamako, Mali INFO-STAT Bamako, Mali Institut National de la Recherche en Santé Publique Ministère de la Santé Publique et de l'Hygiène Publique Bamako, Mali ICF International Rockville, Maryland, USA Juillet 2016 [Internet]. [cité 7 juill 2020]. Disponible sur: <https://www.dhsprogram.com/pubs/pdf/MIS24/MIS24.pdf> [Internet]. [cité 19 sept 2021]. Disponible sur: <https://www.dhsprogram.com/pubs/pdf/MIS24/MIS24.pdf>
10. Doumbo O. Epidémiologie du paludisme au Mali : étude de la chloroquinorésistance, essai de stratégie de contrôle basée sur l'utilisation de rideaux imprégnés de perméthrine associée au traitement systématique des accès fébriles [Internet] [These de doctorat].

- Montpellier 2; 1992 [cité 7 juill 2020]. Disponible sur:  
<http://www.theses.fr/1992MON20039>
11. Diallo M. Epidémiologie de la transmission du paludisme dans trois villages riverains du fleuve Niger, Mali. 2009;96.
  12. Mali Malaria Operational Plan FY 2018. :66.
  13. Coetzee M, Koekemoer LL. Molecular systematics and insecticide resistance in the major African malaria vector *Anopheles funestus*. *Annu Rev Entomol.* 2013;58:393-412.
  14. Touré YT, Petrarca V, Traoré SF, Coulibaly A, Maïga HM, Sankaré O, et al. Ecological genetic studies in the chromosomal form Mopti of *Anopheles gambiae* s.str. in Mali, West Africa. *Genetica.* 1 juin 1994;94(2):213-23.
  15. Niangaly A, Karthigayan Gunalan null, Amed Ouattara null, Coulibaly D, Sá JM, Adams M, et al. *Plasmodium vivax* Infections over 3 Years in Duffy Blood Group Negative Malians in Bandiagara, Mali. *Am J Trop Med Hyg.* sept 2017;97(3):744-52.
  16. Cox-Singh J, Davis TM, Lee K-S, Shamsul SS, Matusop A, Ratnam S, et al. *Plasmodium knowlesi* malaria in humans is widely distributed and potentially life threatening. *Clinical infectious diseases.* 2008;46(2):165-71.
  17. Paludisme, Association Française des Enseignants de Parasitologie et Mycologie (ANOFEL) 2014 [Internet]. [cité 19 déc 2021]. Disponible sur:  
<http://campus.cerimes.fr/parasitologie/enseignement/paludisme/site/html/cours.pdf>
  18. Laurent A, Schellenberg J, Shirima K, Ketende SC, Alonso PL, Mshinda H, et al. Performance of HRP-2 based rapid diagnostic test for malaria and its variation with age in an area of intense malaria transmission in southern Tanzania. *Malar J.* 26 oct 2010;9:294.
  19. Tiono AB, Ouédraogo A, Diarra A, Coulibaly S, Soulama I, Konaté AT, et al. Lessons learned from the use of HRP-2 based rapid diagnostic test in community-wide screening and treatment of asymptomatic carriers of *Plasmodium falciparum* in Burkina Faso. *Malar J.* 27 janv 2014;13:30.
  20. Gillet P, Scheirlinck A, Stokx J, De Weggheleire A, Chaúque HS, Canhanga ODJV, et al. Prozone in malaria rapid diagnostics tests: how many cases are missed? *Malar J.* 15 juin 2011;10:166.
  21. Bharti PK, Silawat N, Singh PP, Singh MP, Shukla M, Chand G, et al. The usefulness of a new rapid diagnostic test, the First Response Malaria Combo (pLDH/HRP2) card test, for malaria diagnosis in the forested belt of central India. *Malar J.* 11 juill 2008;7:126.
  22. Mali treatment guidelines\_0.pdf [Internet]. [cité 7 juill 2020]. Disponible sur:  
[https://www.severemalaria.org/sites/mmv-smo/files/content/attachments/2017-07-25/Mali%20treatment%20guidelines\\_0.pdf](https://www.severemalaria.org/sites/mmv-smo/files/content/attachments/2017-07-25/Mali%20treatment%20guidelines_0.pdf)

23. Chanda E, Remijo CD, Pasquale H, Baba SP, Lako RL. Scale-up of a programme for malaria vector control using long-lasting insecticide-treated nets: lessons from South Sudan. *Bulletin of the World Health Organization*. 1 avr 2014;92(4):290-6.
24. Hogan AB, Winskill P, Ghani AC. Estimated impact of RTS,S/AS01 malaria vaccine allocation strategies in sub-Saharan Africa: A modelling study. *PLOS Medicine*. 30 nov 2020;17(11):e1003377.
25. WHO Strategic Advisory Group on Malaria Eradication. Malaria eradication: benefits, future scenarios and feasibility: executive summary [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2019 [cité 19 déc 2021]. Disponible sur: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/326551>
26. Tadesse FG, van den Hoogen L, Lanke K, Schildkraut J, Tetteh K, Aseffa A, et al. The shape of the iceberg: quantification of submicroscopic *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* parasitaemia and gametocytaemia in five low endemic settings in Ethiopia. *Malaria Journal*. 3 mars 2017;16(1):99.
27. NJ Margiano Evaluation des tests diagnostiques rapides du paludisme à Madagascar [Internet]. [cité 15 sept 2021]. Disponible sur: [http://biblio.univ-antananarivo.mg/pdfs/NestorJeanM\\_DOC\\_MED\\_2018.pdf](http://biblio.univ-antananarivo.mg/pdfs/NestorJeanM_DOC_MED_2018.pdf)
28. Reichert EN, Hume JCC, Sagara I, Healy SA, Assadou MH, Guindo MA, et al. Ultra-sensitive RDT performance and antigen dynamics in a high-transmission *Plasmodium falciparum* setting in Mali. *Malaria Journal*. 3 sept 2020;19(1):323.
29. Tjitra E, Suprianto S, McBroom J, Currie BJ, Anstey NM. Persistent ICT Malaria P.f/P.v Panmalarial and HRP2 Antigen Reactivity after Treatment of *Plasmodium falciparum* Malaria Is Associated with Gametocytemia and Results in False-Positive Diagnoses of *Plasmodium vivax* in Convalescence. *J Clin Microbiol*. mars 2001;39(3):1025-31.
30. Santé O mondiale de la. Protocole type pour la surveillance des délétions des gènes p<sub>pfhrp2</sub>/p<sub>pfhrp3</sub> [Internet]. Genève: Organisation mondiale de la Santé; 2020 [cité 16 nov 2021]. Disponible sur: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/333521>
31. Vásquez AM, Medina AC, Tobón-Castaño A, Posada M, Vélez GJ, Campillo A, et al. Performance of a highly sensitive rapid diagnostic test (HS-RDT) for detecting malaria in peripheral and placental blood samples from pregnant women in Colombia. *PLoS One*. 2 août 2018;13(8):e0201769.
32. Kyabayinze DJ, Tibenderana JK, Odong GW, Rwakimari JB, Counihan H. Operational accuracy and comparative persistent antigenicity of HRP2 rapid diagnostic tests for *Plasmodium falciparum* malaria in a hyperendemic region of Uganda. *Malaria Journal*. 29 oct 2008;7(1):221.

## X. Fiche signalétique

**Nom :** Diallo

**Prénom :** Makonon

**Nationalité :** Malienne

**Année de soutenance :** 2021

**Ville de soutenance :** Bamako

**Email:** [makonondiallo@gmail.com](mailto:makonondiallo@gmail.com)

**Directeur de thèse :** Pr. Mouctar DIALLO

**Titre de la thèse :** La performance du test de diagnostic rapide ultra-sensible Alere™ Malaria Ag Pf dans la détection de l'infection palustre à *plasmodium falciparum* à Ouélessébougou, Mali.

**Lieu de dépôt :** Bibliothèque de la Faculté de Pharmacie et de la Faculté de Médecine et d'Odontostomatologie de l'U.S.T.T.B.

**Secteurs d'intérêt :** Santé publique, Parasitologie, et Epidémiologie.

### Résumé :

Malgré l'utilisation massive des TDR, leur capacité à détecter les infections palustres n'a pas été suffisamment étudiée en zone d'endémie. C'est dans cette optique que nous avons testé l'hypothèse selon laquelle le TDR ultra-sensible pourrait être utilisé pour la détection des infections palustre à *Plasmodium falciparum* en zone d'endémie.

Le TDR ultra-sensible a été réalisé sur des échantillons de sang total collectés dans le cadre d'un essai clinique de phase 2 en simple aveugle randomisé qui s'est déroulée entre juillet 2019 et janvier 2020, chez les hommes et les femmes non enceintes volontaires, non fébriles, âgés de 5 à 50 ans présentant des parasites sexués (gamétocytes) avec sans formes asexuées de *P. falciparum* suivi pendant 21 jours. La goutte épaisse et le TDR standard ont été réalisés au moment de la visite. Les échantillons ont été conservés au laboratoire à -80°C, la réalisation des tests a été fait après avoir être mis à la température ambiante pour chaque participant aux jours de visite de J0 à J21 dans le but d'évaluer la performance du test de diagnostic rapide ultrasensible Alere™ Malaria Ag *P.f* dans la détection l'infection palustre à *Plasmodium falciparum*

Au total a l'inclusion, 96 échantillons ont été analysés avec succès avec la qPCR dont 93,8% étaient positifs. L'analyse par le TDR ultrasensible a montré une positivité de 94,8%.

L'analyse des données du TDR standard a montré une sensibilité de 87,8%, une spécificité de 66,8%, une valeur prédictive positive de 97,5%, une valeur prédictive négative de 26,7 % avec la qPCR pris comme référence

L'analyse des données de la goutte épaisse a montré une sensibilité de 78,9%, une spécificité de 83,8%, une valeur prédictive positive de 98,6%, une valeur prédictive négative de 20,8 % avec la qPCR pris comme référence

La positivité du test Alere™ Malaria Ag *Pf* est proportionnelle à la densité parasitaire détectée par la goutte épaisse. Le test Alere™ Malaria Ag *Pf* est d'utilisation simple et rapide.

**Conclusion :** Les résultats de cette étude montrent que le test Alere™ Malaria Ag *Pf* une sensibilité satisfaisante et une spécificité peu satisfaisante dans la détection de l'infection palustre. Ainsi, ces résultats suggèrent qu'à l'état actuel, le TDR ultrasensible outil performant pour détecter l'infection palustre à *Plasmodium falciparum*.

Notre étude montre ainsi que ce TDR peut tenir une place importante dans le contrôle et l'élimination du paludisme au Mali.

**Mots clés :** Infection palustre, sensibilité, spécificité, valeur prédictive positive, valeur prédictive négative.

**First name:** MAKONON

**Last name:** DIALLO

**Graduation year:** 2021

**Thesis supervisor:** Pr Mouctar DIALLO

**Email:** [makonondiallo@gmail.com](mailto:makonondiallo@gmail.com)

**Nationality:** Malian

**Title of the thesis:** The performance of the ultra-sensitive rapid diagnostic test Alere™ Malaria Ag Pf in the detection of *plasmodium falciparum* malaria infection in Ouélessébougou, Mali.

**Field of interest:** Public health, epidemiology, parasitology

**Deposit local :** Library of "Faculté de Médecine et d'Odontostomatologie (FMOS)

**Abstract:** Despite the widespread use of RDTs, their ability to detect malaria infections has not been sufficiently studied in endemic areas. With this in mind, we tested the hypothesis that the ultrasensitive RDT could be used to detect malaria infections in endemic areas.

Ultrasensitive RDT was performed on whole blood samples collected in a randomized, single-blind, phase 2 clinical trial that ran from July 2019 to January 2020, in volunteer, non febrile, non pregnant men and women aged 5 to 50 years with *P. falciparum* sex parasites (gametocytes) followed for 49 days. Thick drop and standard RDT were performed at the time of the visit. The samples were stored in the laboratory at -80°C, and the tests were performed after being brought to room temperature for each participant on visit days from D0 to D21 in order to evaluate the performance of the ultrasensitive rapid diagnostic test Alere™ Malaria Ag P.f in the detection of Plasmodium falciparum malaria infection.

A total of 96 samples were successfully tested with PCR at inclusion, of which 93.8% were positive. Ultrasensitive RDT analysis showed a positivity of 94.8%. The analysis of the standard RDT data showed a sensitivity of 87.8%, a specificity of 66.8%, a positive predictive value of 97.5% ; a negative predictive value of 26.7% with the PCR taken as reference.

The analysis of the thick drop data showed a sensitivity of 78.9%, a specificity of 83.8%, a positive predictive value of 98.6% ; a negative predictive value of 20.8% with PCR taken as reference

The positivity of the Alere™ Malaria Ag Pf test is proportional to the parasite density detected by the thick drop. The Alere™ Malaria Ag Pf test is simple and fast to use.

**Conclusion:** The results of this study show that the Alere™ Malaria Ag Pf test has a satisfactory sensitivity and an unsatisfactory specificity in the detection of malaria infection. Thus, these results suggest that at the present time, the ultrasensitive RDT is a powerful tool to detect *Plasmodium falciparum* malaria infection.

Our study shows that this RDT can play an important role in the control and elimination of malaria in Mali.

**Key words:** Malaria infection, sensitivity, specificity, positive predictive value, negative predictive value.

## SERMENT D'HIPPOCRATE

En 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. Je 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. Admis 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.**