

Ministère de l'Enseignement Supérieur
Et de la Recherche Scientifique

République du Mali
Un Peuple- un but- une Foi



Université des Sciences, des Techniques et
des Technologies de Bamako (USTTB)

FACULTE DE PHARMACIE
(FAPH)



Année universitaire 2019-2020

N°

Titre de la Thèse

Profil de rétention splénique ex-vivo des globules rouges parasités par *Plasmodium falciparum* chez les patients atteints de paludisme à Kéniéroba, Commune rurale de Bancoumana au Mali

Présentée et soutenue publiquement le .../.../2021 devant la Faculté de Pharmacie

Par M. Bakaina Diarra

Pour obtenir le grade de **Docteur en Pharmacie (Diplôme d'Etat)**

Jury

Président : Prof. Mouctar DIALLO

Membres : Dr Souleymane DAMA

Dr Bourama KEITA

Co-directeur : Dr Seidina A. S. DIAKITE

Directeur : Prof. Mahamadou DIAKITE

DEDICACES

Louange A ALLAH,

Le Tout Puissant, l'Omnipotent, l'Omniscient, le Très Haut, le Plus Savant qui nous a créé, façonné et nous a octroyé la santé physique, mentale, le temps nécessaire pour venir à bout de ce travail.

Nous rendons également grâce à son Prophète Mahomet (Paix et Salut sur Lui)

A mon père Souleymane Diarra

Ton investissement et ta disponibilité non mesurable pour l'éducation et la formation de tes enfants font de toi un père exemplaire et le meilleur pour nous. Ce travail est le fruit de ton dévouement sans faille.

Qu'Allah te garde longtemps à nos côtés dans un état de santé et de bien-être impeccable.

A ma mère Haoussa Maïga

Les mots ne pourront guère exprimer le respect, l'estime et l'amour que j'ai pour toi. Femme battante et dévouée, ton esprit de loyauté et de sincérité nous a été d'un apport capital. Ta présence à nos côtés nous a permis de surmonter un nombre incalculable de difficultés. Tu nous as appris très tôt le sens du travail bien fait. Notre complicité sans pareil est l'expression de ton amour inconditionné. Puisse Dieu le tout Puissant t'accorder une longue et heureuse vie. Je t'aime maman !

A mon frère Siaka Diarra

Tu as toujours été pour moi un modèle et une source d'inspiration pour me surpasser. Ce travail est plus le tien que le nôtre. Ton soutien tant sur le plan financier, matériel et physique ne nous a jamais fait défaut. Qu'Allah te le rend ici-bas et dans l'au-delà.

A ma tante feu Djénébou Diarra

Ta disparition nous a beaucoup touché mais tu es et resteras gravée dans nos cœurs. Nous aurions tant aimé partager ces moments de bonheur avec toi mais le destin en a décidé autrement. Qu'Allah dans son immense miséricorde t'accorde son paradis éternel.

A mon oncle Meydi Traore

Comme un père tu as toujours répondu présent quand le besoin s'est fait sentir. Tu m'as reçu et accompagné durant mes études universitaires comme l'aurait fait mon père. Que ce travail puisse t'émerveiller à la hauteur de ton investissement dans notre réussite. Puisse Allah te récompenser pour tout ce que tu as fait pour nous

REMERCIEMENT

- **A ma famille** : mon père Souleymane Diarra, ma mère Haoussa Maïga, mon frère Siaka Diarra, mes sœurs Kadidia Diarra, Agna, Bolo, mes cousins et cousines Ablo, Fana, Tchoutchou, mes oncles tonton Ablo, tonton Samba, tonton Alassane, mes tantes feu Djénebou, Djaba, Gnaber, Tènè, Hawa, Lavielle, Habi. Soyez rassurés de ma reconnaissance et de ma gratitude pour tous les soins, les conseils et l'affection que vous avez manifestée à mon égard.
- **A tous les membres de la 11^{ème} promotion du numerus clausus, section pharmacie**
- **A tout le personnel de l'officine MOHAMED V**
- **A tous les membres de l'état-major RASERE**
- **A mes proches** : Amadou Basoum, Lassine Diallo, Abdoulaye Diakite, Ismael Cella Dembéle, Mahamadou Sidibé, Souleymane Kaba, Tidiani Traore, Baba A.O Wangara, Makan Keita, M'barka Almoustapha, Salihou Coulibaly, Ousmane Maiga, Alou Traore, Mamady Konaté. La compagnie a été sincère et fructueuse. Que Dieu renforce d'avantage nos liens d'amitié.
- **Au Dr Ibrahim Konaté et Dr Bourama Keita** Merci pour toute votre gentillesse, votre disponibilité, aide et votre soutien sans faille. Soyez en remercier avec toute ma gratitude.
- **Au Pr Mahamadou Diakité**, pour m'avoir accueilli à bras ouvert au sein de son unité de recherche. Merci pour votre humanisme et votre encouragement.
- **Au Dr Drissa Konaté**, pour votre générosité, votre sympathie, votre dévouement, votre formation et votre soutien sans limite.
- **Au Dr Seidina A. S. Diakité**, pour votre simplicité sans pareil, votre gentillesse sans limite votre disponibilité et tout ce que vous faites pour la formation des internes.
- **A toute l'équipe de l'Unité « Immunogénétique & parasitologie » du MRTC** : Dr Karim Traoré, Dr Ibrahim Sanogo, Dr Mory Doumbouya, Dr Bourama Keita, Dr Fousseyni Doucouré, Dr Fatoumata Kassé, Dr Nouhoum Koné, Dr Souleymane Maiga, Dr Aboubakar Fomba, Mme Aminata Pléa, Mlle Larissa Denou, Mlle Kadidia Kone, Mr Job Koné, Mr Cheik oumar Traore dit DEV, Mr Fayçal Mohamed, Mr Abdourahamane Traore, Mr Kathrino

Mouhamedou Mr Abdrhame Cissé, Mlle Assitan Dembélé, Mlle Salimata Kanté, Mlle Maya Keita. Sans vous, cette thèse ne serait pas ce qu'elle est car vous avez tous participé à sa réalisation du fait de vos conseils, soutiens et encouragements. Merci pour votre gentillesse, disponibilité et bienveillance. Recevez ici mes sincères salutations ainsi que ma reconnaissance.

- **A tous mes camarades de la FMOS/FAPH**, pour les bons moments que nous avons passés ensemble durant nos années d'études.
- **A tous mes amis**, pour tout ce que nous avons vécu ensemble.
- **A tout le personnel de l'ICER-MALI et de la FMOS/FAPH**, pour votre soutien.

HOMMAGES AUX HONORABLES MEMBRES DU JURY

A NOTRE MAITRE ET PRESIDENT DU JURY

Pr Mouctar DIALLO,

- Titulaire d'un doctorat (PhD) en biologie parasitologie entomologie médicale ;
- Professeur de parasitologie/mycologie à la faculté de pharmacie (FAPH) ;
- Responsable de l'unité Diagnostic parasitaire au Malaria Research and Training Center (MRTC) ;
- Chef de DER de sciences fondamentales à la FAPH ;
- Président de l'association des biologistes techniciens de laboratoire au Mali.

Cher Maître,

C'est pour nous un grand honneur de vous avoir comme président du jury. Vous nous avez reçu avec beaucoup d'amabilité. Votre esprit d'ouverture et votre amour pour le travail bien fait vous procurent respect et considération. La qualité de vos enseignements fait de vous un maître model.

Veillez accepter Cher Maître l'expression de notre profonde reconnaissance.

A NOTRE MAITRE ET JUGE,

Dr Souleymane DAMA

- Docteur en Pharmacie
- Titulaire d'un Doctorat (PhD) en Parasitologie ISFRA
- Titulaire d'un Master en Parasitologie
- Assistant de Parasitologie à la FAPH

Cher Maître,

Nous apprécions à sa juste valeur l'intérêt avec lequel vous avez accepté de juger cette thèse. Votre simplicité et votre gentillesse nous ont beaucoup marqué.

En espérant que par ce travail nous avons comblé vos attentes, veuillez recevoir cher maître, l'expression de notre profonde gratitude.

A NOTRE MAITRE ET JUGE,

Dr Bourama KEITA

- Docteur en Médecine
- Master en épidémiologie
- Investigateur Clinique au MRTC

Cher maître,

C'est un privilège que vous nous accordez en acceptant de juger cette thèse, nous en sommes très honorés.

Merci pour vos corrections et suggestions très utiles qui ont permis d'améliorer notre travail. Trouvez ici l'expression de nos sincères remerciements.

A NOTRE MAITRE ET CO-DIRECTEUR,

Dr Seidina A. S. DIAKITE

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

Cher Maître,

Tout au long de ce travail, nous avons apprécié vos qualités humaines et scientifiques.

Votre disponibilité constante et votre amour pour le travail bien fait font de vous un maître respecté et respectable.

Permettez-nous, cher Maître, de vous adresser l'expression de notre immense gratitude et de nos sincères remerciements.

A NOTRE MAITRE ET DIRECTEUR DE THESE,

Pr Mahamadou DIAKITE

- DPhil en Immunogénétique à l'Université d'Oxford
- Vice-recteur de l'USTTB
- Responsable du Laboratoire Immunogénétique et Parasitologie MRTC
- Directeur Scientifique Adjoint du Centre Universitaire de Recherche Clinique
- Secrétaire Permanent du Comité d'Ethique de l'USTTB

Cher Maître,

Vous nous avez fait un immense honneur en nous acceptant dans votre équipe de recherche médicale. 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 font de vous un exemple à suivre.

Cher Maître, veuillez recevoir l'expression de notre immense gratitude.

Table des matières

1. INTRODUCTION	1
2. OBJECTIFS.....	3
2.1. Objectif général.....	3
2.2. Objectifs spécifiques	3
3. GENERALITES	4
3.1. Paludisme.....	4
3.1.1. Définition	4
3.1.2. Epidémiologie	4
3.1.3. Mode de transmission et vecteurs responsables du paludisme.....	6
3.1.4. Parasites responsables du paludisme	7
3.1.5. Cycle de vie du Plasmodium	8
3.1.6. Physiopathologie du paludisme	11
3.2. Rappel anatomophysiologique sur la rate	12
3.2.1. Rappel Anatomophysiopathologique de la rate	12
3.2.2. Fonctions physiologiques de la rate.....	14
3.2.3. Rate et infection palustre	15
3.2.4. Splénomégalie palustre hyper-réactive	28
3.2.5. Outils disponibles pour l'évaluation de la rate humaine	30
3.2.6. Remarques finales sur la rate et le paludisme.....	32
3.3. Glossaire.....	33
4. METHODOLOGIE	36
4.1. Cadre et Site d'étude	36
4.2. Situation géographique, climatique et hydrographique du village de Kéniéroba.....	36
4.3. Infrastructures sociaux sanitaires de Kéniéroba.....	38
4.4. Période d'étude	39
4.5. Type d'étude	39
4.6. Population d'étude	39
4.7. Echantillonnage.....	39
4.8. Critères d'inclusion et de non-inclusion	39
4.8.1. Critères d'inclusion	39
4.8.2. Critères de non-inclusion	39
4.9. Variables mesurées.....	40

4.10. Collecte des données	40
4.11. Déroulement de l'étude.....	40
4.12. Techniques de laboratoire utilisées	41
4.13. Gestion et analyse des données	44
4.14. Considérations éthiques	44
5. RESULTATS	46
5.1. Résultats globaux.....	46
5.2. Données sociodémographiques.....	46
5.3. Caractéristiques cliniques	49
5.4. Données analytiques sur le taux de rétention splénique des GR infectés	51
6. COMMENTAIRES ET DISCUSSION	55
6.1. Elimination splénique des globules rouges infectés	55
6.2. Rôle de l'élimination splénique des globules rouges infectés dans la genèse de l'anémie	57
6.3. Influence de la rate sur l'immunité innée et l'âge comme facteur indépendant de la gravité du paludisme.....	58
8. LIMITES DE NOTRE ETUDE	63
7. CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS	65
7.1. Conclusion.....	65
7.2. Recommandations	65
9. REFERENCE BIBLIOGRAPHIES	66
10. FICHE SIGNALÉTIQUE.....	75
11. ANNEXES.....	viii
11.1. Technique de microsphiltration.....	viii
11.2. Procédures standard opératoires (SOP) de la goutte épaisse et du frottis mince	viii
11.2.1. Goutte épaisse	viii
Technique de la goutte épaisse	ix
11.2.2. Frottis Mince	xiv
11.3. Procédures Standard Opératoire (SOP) : Détermination du taux d'hémoglobine	xviii

Liste des tableaux

Tableau 1. Classification des niveaux d'endémicité de la transmission du paludisme	5
Tableau 2. Double rôle de la rate dans le paludisme humain (Henry B et al. 2020).....	19
Tableau 3. Description de la parasitémie, des taux d'hémoglobines et des taux de rétention des GR infectés	49
Tableau 4. Répartition des participants selon le phénotype clinique du paludisme.....	49
Tableau 5. Répartition des participants selon les critères de gravité du paludisme	50
Tableau 6. Répartition des participants en fonction de la classification de la splénomégalie de Hackett.....	50

Liste des figures

Figure 1 : Cycle biologique du Plasmodium (<i>donner la référence de l'article !!</i>).....	10
Figure 2. Vue anatomique de la rate	13
Figure 3. Représentation cartographique du village de Kéniéroba	38
Figure 4 : Démarche expérimentale de la microfiltration (Source ???).....	42
Figure 5 : Dimensions et géométrie des fentes inter endothéliales et déformations correspondantes des globules rouges [54].....	43
Figure 6 . Répartition des patients de l'étude selon le sexe.....	46
Figure 7 . Répartition des sujets de l'étude selon l'ethnie.....	47
Figure 8. Répartition des patients de l'étude selon les tranches d'âge	48
Figure 9 . Taux de rétention des GR infectés en fonction de l'anémie.....	51
Figure 10 : Taux de rétention des GR infectés en fonction du phénotype clinique	51
Figure 11 : Taux de rétention <i>ex-vivo</i> des GR infectés en fonction du stade clinique de Hackett	52
Figure 12 : Taux de rétention <i>ex-vivo</i> des GR infectés en fonction des tranches d'âge	52
Figure 13 : Corrélation entre les parasitémies et les taux de rétention <i>ex-vivo</i> des GR infectés	53
Figure 14 : Corrélation entre le taux d'hémoglobine et le taux de rétention <i>ex-vivo</i> des GR infectés	53
Figure 15 : Corrélation entre le taux de rétention <i>ex-vivo</i> des GR infectés et l'âge des patients	54
Figure 16. Technique de la goutte épaisse.....	xi
Figure 17. Technique du frottis mince	xvi
Figure 18. Analyseur et Microcuvette HemoCue®.....	xviii
Figure 19. Mécanisme de mesure du taux d'Hb par l'appareil HemoCue® 201+.....	xix

Liste des abréviations

CD	Agrégat de différenciation (<i>Cluster of Differentiation</i>)
CPS	Chimio Prophylaxie Saisonnière du paludisme
CRF	Formulaire de Report de Cas
CTA	Combinaisons Thérapeutiques à base d'Artémisinine
EDS	Enquête Démographique et de Santé
FAPH	Faculté de Pharmacie
Fc	Fragment Cristallisable
FDC	Cellule Dendritique Folliculaire
FM	Frottis Mince
FMOS	Faculté de Médecine et d'odontostomatologie
FR	Fréquence Respiratoire
GE	Goutte Epaisse
GR	Globule Rouge
Hb	Hémoglobine
HRP2	Protéine 2 riche en histidine (Histidin Rich Protein 2)
Ht	Hématocrite
Ig	Immunoglobuline
IL	Interleukine
IP	Indice Plasmodique
LPS	Lipopolysaccharide
MRTC	Centre de Recherche et de Formation sur le Paludisme (Malaria Research and Training Center)
NK cell	Cellule tueuse naturelle (Natural Killer cell)
OMD	Objectifs du Millénaire pour le Développement
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
PBS	Tampon phosphate salé (Phosphate Buffer Salin)
PCR	Réaction de polymérisation en chaîne (Polymerase Chain Reaction)
pLDH	Lactate Déshydrogénase du Plasmodium
PNLP	Programme National de Lutte contre le Paludisme
PRR	Récepteur de reconnaissance de motifs (Pattern Recognition Receptor)
RBC (GR)	Globule rouge (Red Blood Cell)
RN	Route Nationale

S1P3	Sphingosine 1-Phosphate3
SIGLEC	Lectine de type immunoglobine adhérent à l'acide sialique (Sialic Acide-binding Immunoglobulin-type Lectins)
SPH	Splénomégalie palustre hyper-réactive
TDR	Test de Diagnostic Rapide
TNF	Facteur nécrosant de tumeurs (Tumor Necrosis Factor)
USTTB	Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako
WACCBIP	Centre oust African de biologie cellulaire des pathogènes infectieux (West African Centre of Cell Biology of Infectious Pathogen)

1. INTRODUCTION

Au niveau mondial, le paludisme est une maladie parasitaire dont le nombre de cas est estimé à 229 millions en 2019 dans 87 pays d'endémie palustre, soit une baisse par rapport aux 238 millions de 2000 [1]. La région Afrique de l'Organisation mondiale de la Santé (OMS) représente à elle seule 94 % (215 millions) des cas estimés en 2019. Dans cette région, le nombre de décès dus au paludisme a diminué de 44 %, passant de 680 000 en 2000 à 384 000 en 2019. Sur la même période, la mortalité associée a baissé de 67 %, chutant de 121 à 40 décès pour 100 000 habitants exposés au risque de paludisme.

En 2019, vingt-neuf pays ont concentré 95 % du nombre total de cas de paludisme dans le monde. Le Nigéria 27%, la République démocratique du Congo 12 %, l'Ouganda (5 %), le Mozambique 4 % et le Niger 3 % ont enregistré, à eux seuls, près de 51 % des cas. La région OMS-Afrique représente à elle seule 94 % 215 millions des cas estimés en 2019. Dans cette région Afrique de l'OMS, même si le nombre de cas de paludisme était moins élevé 204 millions en 2000 qu'en 2019, l'incidence du paludisme a baissé de 363 à 225 cas pour 1 000 habitants exposés au risque de paludisme sur cette période, ce qui traduit la complexité d'interpréter l'évolution de la transmission de la maladie au sein d'une population qui ne cesse de croître. La population vivant dans la région Afrique de l'OMS est passée de 665 millions en 2000 à 1,1 milliard en 2019 [1].

Parmi les personnes infectées par *P. falciparum*, environ 1 à 2% développent les formes sévères de la maladie et risquent d'en mourir. Cette létalité élevée parmi les formes graves s'explique par la méconnaissance de leur physiopathologie qui est complexe et multifactorielle. Les principaux mécanismes impliquent l'hôte et le parasite avec de nombreuses interactions souvent synergiques [2].

La fréquence élevée de la splénomégalie en zone d'endémie palustre, la survenue de ruptures spléniques pathologiques au cours ou au décours immédiat des accès palustres et, surtout, la gravité plus prononcée des premiers accès chez les patients splénectomisés illustrent le rôle central de la rate dans la physiopathologie du paludisme [3]. Les manifestations pathologiques de

l'infection à *P. falciparum* sont liés aux stades asexués se déroulant dans les globules rouges dont ils modifient les propriétés [4-6].

Il est logique que la rate ayant pour fonction de contrôler la qualité des globules rouges (GR) influence le cours de l'infection palustre. Les lits microcirculatoires spléniques filtrent les globules rouges altérés, ainsi la rate peut naturellement éliminer les sous-populations de globules rouges infectés ou non-infectés modifiés au cours du paludisme à *P. falciparum* [7]. La rate semble plus protectrice contre les manifestations sévères du paludisme chez les sujets naïfs [8]. Elle intervient dans la clairance parasitaire après certains traitements antipaludiques, notamment avec les dérivés de l'artémisinine (artésunate, dihydroartémisinine) [9]. La perte des GR au cours du paludisme contribue à l'anémie palustre, une forme clinique associée à une progression subaiguë, à une splénomégalie fréquente et à une parasitémie relativement faible mais chronique. Cette perte des globules rouges est exacerbée par l'élimination des GR nouvellement infectés et non-infectés mais modifiés par des parasites.

Cependant, ce phénomène semble être associé à un risque réduit de complications graves associées à de fortes parasitémies tel que le neuro-paludisme [10] mais, ces hypothèses restent spéculatives. En effet, l'exploration du rôle de la rate dans la physiopathologie du paludisme reste très compliquée à cause des difficultés de faisabilité *in-vivo*. Parmi les techniques d'exploration de la fonction filtrante de la rate, la microsphiltration est une technique expérimentale qui mime la rétention mécanique des particules peu déformables au niveau de la rate humaine [11, 12]. Elle peut être utilisée *in-vitro* sur des suspensions de culture de *Plasmodium* mais aussi *ex-vivo* en utilisant des isolats cliniques de parasites.

En outre, la microsphiltration *ex-vivo* des globules rouges de patients infectés par le paludisme pourrait être utilisée pour explorer l'état fonctionnel et la capacité de rétention de la rate chez les paludéens. En effet les globules rouges issus de sujets impaludés ont préalablement subi la filtration splénique *in vivo* et pourraient donc renseigner sur la fonctionnalité splénique du patient. Donc, l'état de déformabilité des GR, facteur déterminant de leur rétention splénique *ex-vivo*, reflèterait la capacité de la rate *in-vivo* à filtrer les GR peu déformables.

Dans la présente étude, en utilisant la microsphiltration *ex-vivo*, nous avons exploré le rôle de la rate dans la survenue des différentes formes cliniques du paludisme chez l'homme.

2. OBJECTIFS

2.1. Objectif général

Evaluer le profil de la rétention splénique *ex-vivo* des globules rouges infectés par *Plasmodium falciparum* à Kéniéroba au cours de la saison de transmission 2018

2.2. Objectifs spécifiques

- ❖ Déterminer le phénotype clinique du paludisme chez les patients atteints de paludisme à *Plasmodium falciparum* à Kéniéroba pendant la saison de transmission 2018 ;
- ❖ Déterminer les taux de rétention splénique *ex-vivo* des globules rouges infectés par *P. falciparum* chez les patients atteints de paludisme ;
- ❖ Déterminer le niveau d'association entre le taux de rétention *ex-vivo* des globules rouges infectés et les formes cliniques chez les patients atteints de paludisme à *Plasmodium falciparum* à Kéniéroba ;
- ❖ Mesurer le niveau de corrélation entre le taux de rétention *ex-vivo* des globules rouges infectés et les parasitémiées chez les patients atteints de paludisme à *Plasmodium falciparum* à Kéniéroba ;
- ❖ Mesurer le niveau de corrélation entre le taux de rétention *ex-vivo* des globules rouges infectés et le taux d'hémoglobine chez les patients atteints de paludisme à *Plasmodium falciparum* à Kéniéroba.

3. GENERALITES

3.1. Paludisme

3.1.1. Définition

Le paludisme est une maladie parasitaire fébrile et hémolysante causé par des parasites protozoaires du genre *Plasmodium* et transmis à l'homme par un moustique anophèle femelle au cours de son repas sanguin [13]. Par sa morbidité et sa mortalité élevées, le paludisme reste la première cause d'absentéisme au travail, à l'école et, est un véritable problème de santé publique dans les pays endémiques [14].

3.1.2. Epidémiologie

La situation palustre dans une communauté peut être décrite en termes d'*endémicité*, qui donne des indications sur l'importance de la transmission, sur la circulation du parasite dans la communauté et sur "*l'intensité*" de la maladie. Elle permet aussi de délimiter le problème palustre dans l'espace. L'indice de stabilité, déterminé par MacDonald [15] caractérise l'enracinement du paludisme et permet de distinguer :

- **les zones de paludisme stable** où la forte transmission entraîne une prémunition. Celle-ci n'empêche pas les habitants d'être infectés mais limite les manifestations pathologiques aux classes d'âge les plus jeunes alors que les adultes sont peu touchés. Ces zones incluent toute la région africaine au sud du Sahara. Ainsi, toutes régions situées au sud du Mali présentent un paludisme stable avec une intense transmission saisonnière de juin à octobre.

- **les zones de paludisme instable** où le caractère épisodique de la transmission ne permet pas le développement de la prémunition ou immunité partielle. La maladie sévit alors sous forme d'épidémie touchant toutes les classes d'âges. Les régions situées au Nord du Mali présentent un paludisme instable où la transmission dépend de la pluviométrie.

Entre ces deux extrêmes, existe toute une palette de situations intermédiaires, modulée par différents facteurs comprenant le type de transmission, le type de vecteur, l'espèce plasmodiale en cause et le niveau d'immunité dans la population ainsi que les caractéristiques environnementales. Au Mali, par exemple, les villes de

Bamako et de Mopti sont impropres à l'implantation du paludisme à cause de la pollution des gîtes larvaires et de l'environnement inapproprié au développement des moustiques de type anophèle.

Tableau 1. Classification des niveaux d'endémicité de la transmission du paludisme

Niveau d'endémicité	Transmission	Indice plasmodique Chez les enfants de 2-9 ans (%)	Commentaires
Paludisme hypoendémique	Faible : sub-périodique ou sporadique	Généralement ≤ 10	Les moustiques sont instables, généralement difficiles à détecter ; des épidémies sérieuses peuvent survenir.
Paludisme mésoendémique	Saisonnière, périodique suivant une bonne saison pluvieuse	11-50 en fonction du temps de surveillance	Les moustiques fluctuent, détectables en fonction des saisons, une fenêtre saisonnière peut survenir ; les habitants acquièrent une certaine immunité
Paludisme hyperendémique	Intense (saisonnière) chaque année	51-75	Fluctuation saisonnière des cas de paludisme ; fréquentes séquelles sévères chez les jeunes enfants ; une certaine immunité chez les adultes
Paludisme holoendémique	La transmission peut survenir à travers l'année avec des pics de transmission	> 75	On peut détecter les moustiques toute l'année avec des pics ; des taux élevés d'anémie chez les très jeunes enfants et la prémunition chez les adultes

D'autres indices paludométriques permettent de définir l'endémicité du paludisme. Il s'agit de :

- **L'indice splénique** (% d'enfants entre 2 et 9 ans présentant une splénomégalie) permet également le classement en zones « hypoendémique » (indice splénique de 0 à 19 %), « mésoendémique » (indice splénique de 20 à 49 %), « hyperendémique » (indice splénique de 50 à 75 %) et « holoendémique » (indice splénique constamment supérieur à 75 %).

- **Le taux d'inoculation entomologique (TIE ou *EIR en anglais*)** lequel est le nombre de piqûres infectantes de moustiques que reçoit une personne par unité de temps (Macdonald, 1957). C'est une mesure plus directe de l'intensité de la transmission [16]. Le TIE permet également le classement en zones d'hypoendémie (TIE < 0,25 ; endémicité faible), de mésoendémie (TIE : 0,25-10 ; endémicité modérée), d'hyper-endémie (TIE : 11-140 ; endémicité élevée) d'holoendémie (TIE >140 ; endémicité élevée). Dans les situations où le TIE est en dessous de 10, la prévalence du paludisme est presque directement proportionnelle au TIE et la transmission tend à être instable et est considérée d'intensité faible à modérée. A un TIE annuel au-dessus de 10, les personnes reçoivent de multiples piqûres infectantes et l'intensité de la transmission du paludisme est considérée comme élevée et tend à être stable [17].

3.1.3. Mode de transmission et vecteurs responsables du paludisme

La transmission du paludisme se fait essentiellement par la piqûre infectante de moustique femelle du genre *Anopheles*. D'autres modes de transmissions comme la transmission congénitale, la transfusion sanguine, la greffe d'organe ont été décrites [18]. Cependant, la transmission vectorielle du paludisme reste le mode le plus important du fait de sa fréquence. Cette transmission est sous la dépendance de facteurs liés au parasite, au vecteur, à l'hôte humain et à l'environnement [19].

Les vecteurs responsables du paludisme sont des moustiques de l'ordre de *Diptera*, de la famille des *Culicidae* et du genre *Anopheles*. De nos jours, plus de 3000 espèces de moustiques ont été recensés dans le monde, parmi ceux-ci une soixantaine d'espèces appartenant au genre *Anopheles* sont responsables de la transmission du paludisme chez l'homme. En Afrique, les espèces *Anopheles gambiae*, *A. funestus*, *A. nili* et *A. moucheti* sont les vecteurs majeurs, regroupant

chacun un ensemble d'espèces morphologiquement très proches mais génétiquement différentes. Ces insectes ont une activité nocturne et piquent jusqu'à l'intérieur des demeures [20].

3.1.4. Parasites responsables du paludisme

Le paludisme est causé 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. Ces espèces sont *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae*, et *P. knowlesi*. Ces agents responsables du paludisme ont un cycle de vie complexe et largement conservé qui commence chez l'hôte et se termine chez le moustique *anophèles* femelle [21].

-*P. falciparum*, Il reste le plus mortel et présente une résistance élevée à presque tous les antipaludiques. Le paludisme à *P. falciparum* se manifeste cliniquement par une fièvre tierce maligne avec une durée d'incubation allant de 7 à 15 jours et une longévité variant de 3 à 6 mois. *P. falciparum* est l'espèce la plus largement répandue à travers le monde et est responsable de la majorité des formes cliniques mortelles. Dans les régions subtropicales, il ne survient qu'en période chaude et humide (saison des pluies). Sa transmission s'interrompt lorsque la température tombe en dessous de 18°C et n'est plus transmis en altitude au-dessus de 1 500 mètres en Afrique et 2 500 mètres en Amérique et en Asie.

- *P. Vivax*, Il a une durée d'incubation chez l'homme pouvant aller de 11 jours à 9 mois ou plus et une Longévité allant de 3 à 5 ans. *P. vivax* est responsable de rechutes (accès de reviviscence) dues au réveil des hypnozoïtes, forme dormantes hépatiques, pendant 3 à 4 ans. Après *P. falciparum*, l'infection par *P. vivax* reste responsable des cas cliniques en Asie et en Amérique du Sud. On observe principalement lors des accès de reviviscence, une fièvre bénigne rythmée dite tierce du fait d'un cycle érythrocytaire de 48 heures. Des cas de résistance médicamenteuse de *P. vivax* à la chloroquine ont été observées [22, 23]. Contrairement à *P. falciparum*, les gamétocytes de *P. vivax* sont présents au début de l'infection, avant même que les symptômes ne se développent.

- *P. ovale*, l'infection à *P. ovale* se manifeste cliniquement par une fièvre tierce bénigne avec une durée d'incubation allant de 15 jours jusqu'à 4 ans et une

longévité comprise entre 3 et 5 ans. L'évolution de la maladie est bénigne mais on peut observer, comme avec *P. vivax*, des rechutes tardives (5 ans). *P. ovale* existe sous deux espèces sympatriques (*Plasmodium ovale curtisi* et *Plasmodium ovale wallikeri*) qui sont responsables de paludisme humain répandues en Afrique, en Asie et en Océanie [24].

P. malariae, la fièvre quarte représente sa manifestation clinique principale avec une durée d'incubation d'environ 3 semaines et une longévité pouvant atteindre 50 ans ou plus. Les récurrences tardives font parties de ses caractéristiques. Il sévit sur les trois continents tropicaux de manière beaucoup plus sporadique. Les mécanismes physiopathologiques responsables de ces rechutes tardives ne sont pas totalement élucidés. L'infection est bénigne mais *P. malariae* peut parfois entraîner des complications rénales.

P. knowlesi est un parasite du paludisme que l'on trouve dans la nature chez les macaques à longue queue et à queue de cochon. On pensait que les infections humaines acquises naturellement étaient extrêmement rares jusqu'à ce qu'un grand nombre d'infections humaines soient signalées en 2004 à Sarawak, dans l'État de Bornéo en Malaisie [25]. Depuis, des infections humaines ont été décrites dans toute l'Asie du Sud-Est, et *P. knowlesi* est maintenant reconnu comme la cinquième espèce de *Plasmodium* causant le paludisme chez l'homme [26]. Les données moléculaires, entomologiques et épidémiologiques indiquent que les infections humaines à *P. knowlesi* ne sont pas nouvelles et que le paludisme à *P. knowlesi* est avant tout une zoonose. Les infections humaines n'étaient pas diagnostiquées jusqu'à ce que des méthodes de détection moléculaires permettant de distinguer *P. knowlesi* des autres parasites humains notamment de *P. malariae*, morphologiquement similaire, soient disponibles. Les infections à *P. knowlesi* provoquent un spectre de maladies et sont potentiellement mortelles, mais si elles sont détectées suffisamment tôt, les infections chez l'homme sont facilement traitables [27].

3.1.5. Cycle de vie du Plasmodium

3.1.5.1 Chez le moustique

Le cycle de développement du *Plasmodium* débute chez l'anophèle femelle au cours de son repas sanguin par l'ingestion des gamétocytes mâles et femelles chez des

patients infectés par le *Plasmodium*. Ces gamétocytes migrent dans l'estomac du moustique où ils se transforment en gamètes après exflagellation du gamétocyte mâle. Les gamètes ainsi formés vont donner un œuf mobile (ookinète) par fécondation. L'ookinète migre sous la paroi stomacale de l'anophèle femelle où il se transforme en oocyste. La phase de développement s'achève par une succession de méiose et de mitose aboutissant à la naissance des sporozoïtes. Ces sporozoïtes vont gagner les glandes salivaires et constitués une forme infectante prête à être inoculer lors du prochain repas sanguin chez l'homme ou autre animal à travers la salive. La température extérieure conditionne la durée de ce cycle qui varie de 4 à 10 jours selon les différentes espèces [28].

3.1.5.2 Chez L'homme

Le déroulement du cycle du *Plasmodium* chez l'homme comprend deux phases de multiplications asexuées : la schizogonie hépatique ou cycle pré-érythrocytaire et la schizogonie érythrocytaire ou cycle intra-érythrocytaire.

3.1.5.2.1 Cycle pré-érythrocytaire

Il correspond à la première phase du cycle chez l'homme. Ce cycle débute après l'inoculation des sporozoïtes par l'anophèle femelle au cours de son repas sanguin. Les sporozoïtes inoculés envahissent les hépatocytes en quelques minutes après le passage dans la peau, la lymphe et le sang. Cette migration est rendue possible grâce à l'interaction entre la protéine majeure à la surface du sporozoïte et le récepteur spécifique situé sur la membrane cytoplasmique de l'hépatocyte. Une fois à l'intérieur des hépatocytes, les sporozoïtes portent le nom de trophozoïte. Ces derniers entrent alors en phase de réplication, le noyau du parasite évolue en schizonte qui après maturation éclatent et libèrent de milliers de mérozoïtes dans la circulation sanguine. On parle de schizogonie hépatique. Cette phase dure en moyenne 7 à 15 jours et correspond à la phase asymptomatique de l'infection chez l'homme.

Les espèces *P. vivax* et *P. ovale* peuvent rester quiescent dans le foie sous forme d'hypnozoïtes pendant plusieurs semaines à plusieurs mois après la piqûre de moustique, qui sont responsables des rechutes tardives.

3.1.5.2.2 Cycle intra-érythrocytaire

Cette phase fait suite à la libération des mérozoïtes après la rupture des schizontes hépatocytaires. C'est le début du cycle sanguin par infection des érythrocytes. Les mérozoïtes libérés pénètrent dans les globules rouges grâce à un processus parasitaire actif et se différencient au sein de la vacuole en trophozoïtes puis en schizonte au bout de 48 à 72 heures. Les schizontes après segmentation montrent une forme caractéristique de rosace, et l'hématie parasitée finit par se rompre libérant, ainsi, 4 à 32 mérozoïtes en fonction de l'espèce et du globule rouge infecté. Ces mérozoïtes infectent à leurs tours, d'autres globules rouges sains et un nouveau cycle de réplication commence.

Certains mérozoïtes subissent une maturation suivie d'une différenciation sexuée dans le compartiment médullaire sans division nucléaire pendant une dizaine de jours pour donner des gamétocytes mâles et femelles. Ces gamétocytes seront ingérés par un moustique lors du repas sanguin et ainsi débute un nouveau cycle.

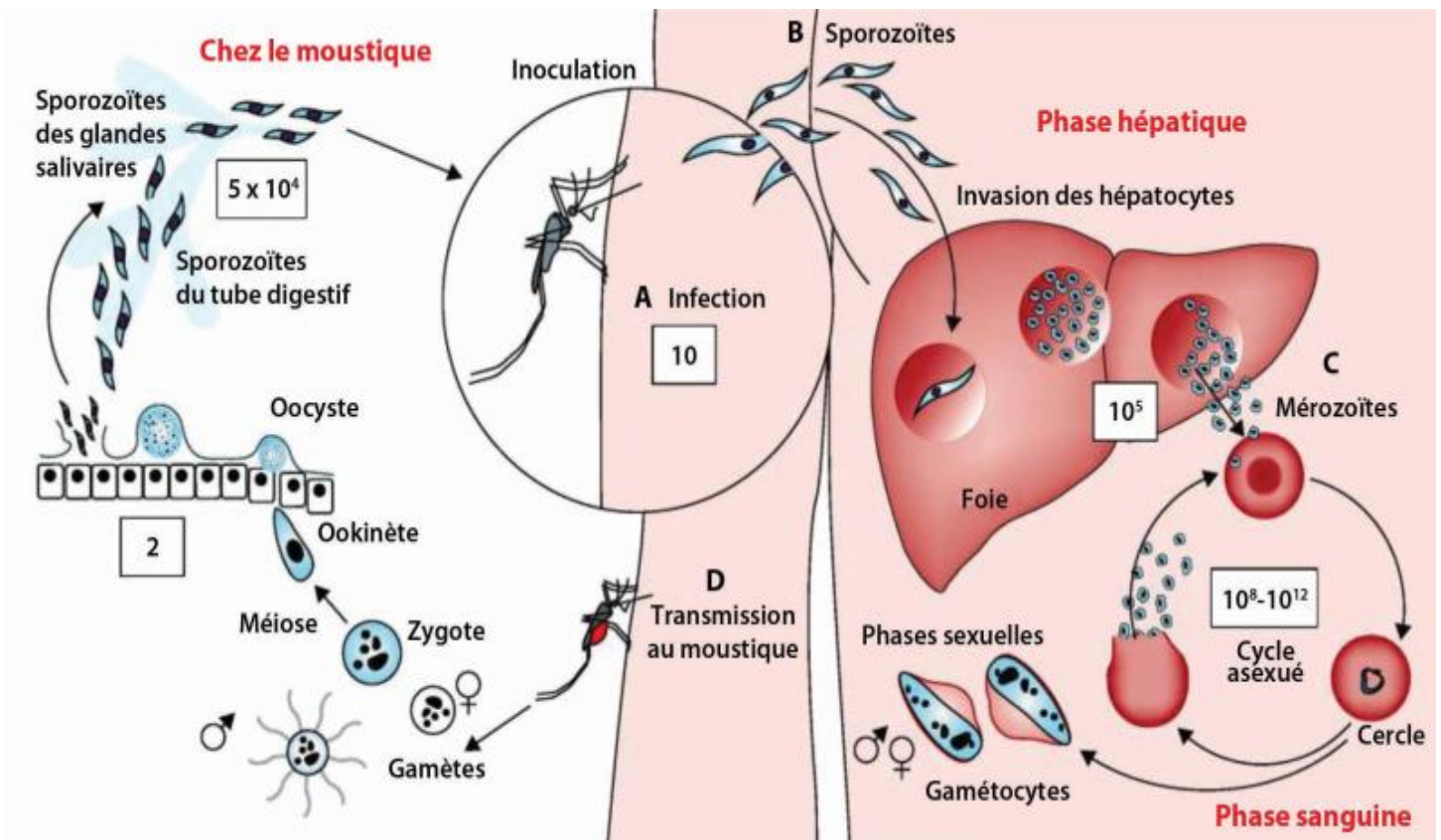


Figure 1 : Cycle biologique du *Plasmodium*

Source : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0515370018300041>

3.1.6. Physiopathologie du paludisme

Les manifestations cliniques du paludisme sont la résultante d'une cascade d'évènement faisant suite aux interactions entre le *Plasmodium* et l'homme. Ces manifestations débutent au stade intra-érythrocytaire du cycle de développement du parasite, l'éclatement des globules rouges et la libération des schizontes provoquent la mise en œuvre d'un ensemble d'évènement immunologique responsable de la fièvre [29].

La fièvre constatée au cours du paludisme est liée à la libération d'hémozoïne et de cytokines pro-inflammatoires (IL1, IL2, IL6 et surtout le TNF-alpha). La destruction et la séquestration des hématies parasitées sont responsables des formes graves et compliquées du paludisme qui sont le plus souvent imputable à *P. falciparum*. Le neuro-paludisme et l'anémie sévère palustre constituent les deux formes cliniques majeures et fréquemment rencontrées au cours du paludisme grave. Ils sont le résultat de deux phénomènes interdépendants :

3.1.5.1. Séquestration des hématies parasitées

Elle est le mécanisme prépondérant du neuro-paludisme et aboutit à l'obstruction des micro-capillaires par les globules rouges infectés à travers leur adhésion aux cellules endothéliales (au niveau du cerveau, du rein, des poumons, etc.). Cette obstruction par la formation d'agrégats d'hématies parasitées et non-parasitées entraîne un ralentissement de la circulation sanguine avec une anoxie des tissus en amont s'exprimant par une altération progressive de la conscience, par les convulsions et le coma. Trois mécanismes concourent à ce phénomène : l'auto-agglutination, la formation des rosettes et la cytoadhérence [30].

3.1.5.2. Phénomène immunologique

Le système à médiation cellulaire impliquant les lymphocytes T CD4 et les macrophages joue un rôle important dans la pathogenèse du paludisme grave. Les antigènes plasmodiaux facilitent le recrutement des macrophages et la libération de cytokines proinflammatoires qui concourent à la séquestration à la suite du ralentissement de la circulation sanguine. Ce phénomène immunologique fait intervenir le système immunitaire inné et le système immunitaire acquis. L'immunité

innée débute aux premières heures de l'infection. Elle inhibe ou ralentit le développement du parasite en impliquant des cellules phagocytaires de l'immunité naturelle. En outre, le complément, les chémokines, les interférons (alpha et bêta) jouent aussi un rôle dans l'immunité antipalustre.

L'immunité antipalustre est extrêmement complexe. Après quelques années d'exposition, la susceptibilité au paludisme grave diminue en fonction de l'âge. En zone endémique, les personnes qui ont une immunité acquise au paludisme restent susceptibles à l'infection mais ne font pas de formes sévères.

3.2. Rappel anatomophysiologique sur la rate

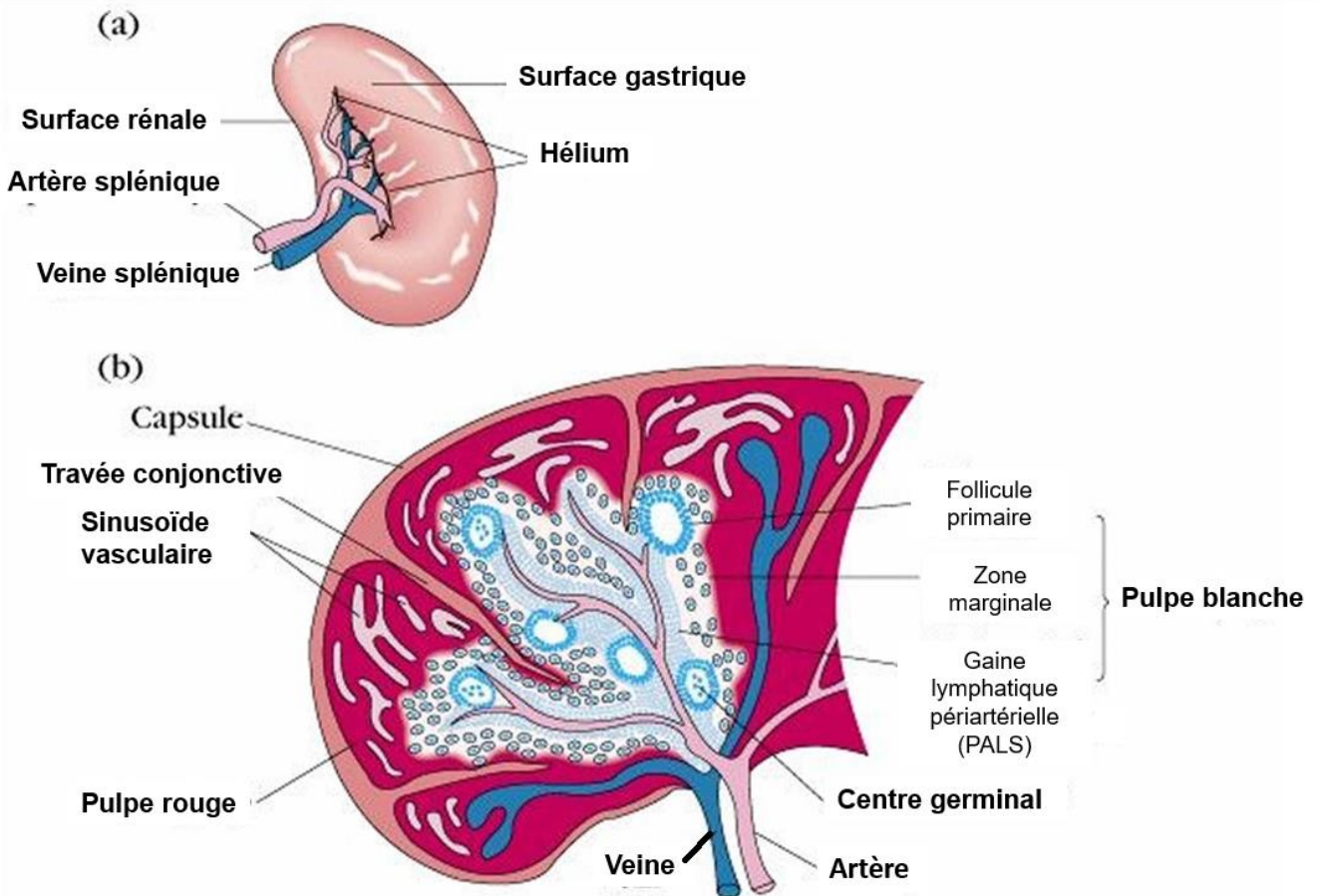
La rate est un organe lymphoïde secondaire et tout comme le foie, elle assure les fonctions hématopoïétiques. Elle joue un rôle clé dans les réponses immunitaires innées et adaptatives de l'homme par élimination sélective des GR âgés ou anormaux et dans l'élimination des agents pathogènes de la circulation sanguine. Elle intervient dans la physiopathologie de nombreuses maladies hématopoïétiques telles que le paludisme [11].

3.2.1. Rappel Anatomopathologique de la rate

La rate est un organe abdominal intra-péritonéal, situé dans l'hypochondre gauche. Elle n'est pas branchée sur la circulation lymphatique, mais sur la circulation sanguine. On y distingue :

- La pulpe rouge est directement localisée sous la capsule et joue un rôle important dans la régulation de la formation et de la destruction des éléments figurés du sang, notamment des hématies. Elle correspond à la partie la plus vaste de la rate et est constituée de deux éléments principaux :
 - Les cordons de Billroth composés de la trame réticulaire et des cellules associées. On observe des dépôts d'hémosidérine qui est une forme de stockage du fer.
 - Les capillaires sinusoides caractérisées, comme au niveau de la moelle osseuse rouge, d'une lame basale discontinue procurant une perméabilité plus importante.
- La pulpe blanche donne lieu à des rencontres antigènes-lymphocytes et est centrée par une artériole. Elle est construite en deux zones :

- La gaine lymphoïde péri-artérielle riche en lymphocyte T.
- Le corpuscule de Malpighi correspond à un amas de lymphocytes,



essentiellement de lymphocyte B [31].

Figure 2. Vue anatomique de la rate

Source : <https://www.google.com/search?q=anatomie+de+la+rate&oq=anatomie+de+la+rate&aqs=chrome.69i59j69i57.1685j0j7&sourceid=chrome&ie=UTF-8>

Située sous le diaphragme, la rate est un organe lymphatique qui vient se positionner contre les parois antérieures de l'estomac sur le côté gauche de la cavité abdominale (figure 2a). Il s'agit d'un organe mou situé dans la partie supérieure gauche de l'abdomen. On la retrouve environ au niveau de la 10ème et dernière côte (les côtes 11 et 12 étant considérées comme des côtes flottantes), que l'on qualifie de côte splénique. En situation normale, la rate n'est pas palpable. C'est une pyramide à trois faces plus une base et un sommet. A l'état normal, elle pèse environ 200g pour 12 cm de long, 6 cm de haut et 4 cm d'épaisseur, ce qui fait d'elle

le plus gros des organes lymphatiques. La rate est richement irriguée par des vaisseaux sanguins, en revanche elle ne reçoit aucune irrigation lymphatique (figure 2b).

3.2.2. Fonctions physiologiques de la rate

La rate est depuis toujours un organe mystérieux. Le fait que l'on puisse vivre sans, la confine souvent au deuxième plan. Cependant, de récentes découvertes révèlent de nouvelles fonctions pour cet organe dont l'importance physiopathologique devrait être réévaluée. Beaucoup moins connu que l'hypersplénisme, l'hyposplénisme correspond historiquement à la perte ou l'insuffisance des deux fonctions principales de la rate que sont la filtration d'éléments sanguins altérés ou sénescents et la lutte contre les infections.

3.2.2.1. Stockage/réservoir

La rate a une fonction de réservoir pour plusieurs lignées cellulaires : en particulier les thrombocytes (environ 30%) et les leucocytes. Le stockage des globules rouges dans la rate est quant à lui insignifiant, ne concernant qu'environ 1-2% des hématies circulantes. La perte de la rate ou son dysfonctionnement empêche le stockage de ces cellules, ce qui provoquera une thrombocytose et une leucocytose souvent sans conséquences cliniques [32].

3.2.2.2. Production et maturation cellulaire

Les réticulocytes finissent leur maturation dans la pulpe rouge splénique. La rate est également capable de fournir une hématopoïèse extramédullaire.

3.2.2.3. Filtration

Cette fonction est possible grâce à la structure particulière de la rate et est réalisée au moyen de deux techniques différentes qui sont le *pitting* et le *culling*.

- Le *pitting* : permet à la rate de se débarrasser des inclusions particulières des globules rouges sans les détruire. Les corps de Howell-Jolly, les corps de Heinz et même des parasites (*Plasmodium* par exemple) sont éliminés par cette technique. Ces inclusions n'étant pas assez déformables pour pouvoir

s'infiltrer au travers de la paroi des sinus spléniques, celles-ci sont retenues puis détachés de la cellule.

- Le *culling* (cueillette) : permet de filtrer les cellules sanguines «usées» ou défectueuses tels des sphérocytes et de phagocyter les bactéries circulantes.

3.2.2.4. Immunologiques

La rate est le seul organe lymphoïde situé directement sur la circulation sanguine. Elle est indispensable pour la prévention des infections aux microorganismes encapsulés et intra-érythrocytaires.

La rate se débarrasse des bactéries pauvrement opsonisées, ce qui est principalement le cas des microorganismes encapsulés tels que *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* ou *Neisseria meningitidis*. Le risque majeur est le développement de septicémie fulminante ou OPSI (*overwhelming postsplenectomy infection syndrom*). Ce risque est plus important les premières années qui suivent la splénectomie mais perdure toute la vie et des cas de septicémie fulminante ont été décrits jusqu'à 40 ans après l'opération.

La prévention des infections chez les patients avec une fonction splénique diminuée comprend la vaccination et une antibioprofylaxie efficace.

3.2.3. Rate et infection palustre

Au cours du développement intra-érythrocytaire asexué et sexuel de *P. falciparum*, de multiples processus moléculaires contribuent au remodelage des globules rouges infectés et non-infectés [33], mais la manière dont ces modifications conduisent à la maladie n'est pas entièrement élucidée. La rate, qui filtre les globules rouges altérés [8] est probablement un acteur important dans le large spectre des manifestations cliniques du paludisme, en particulier l'anémie. La physiologie splénique peut avoir un impact sur la pathogénie du paludisme. Plusieurs facteurs de complexité semblent jouer un rôle, notamment les altérations dynamiques dépendantes du stade des globules rouges induites par *P. falciparum* [34]. les divers mécanismes par lesquels la rate perçoit les altérations subtiles des globules rouges [8] et les facteurs liés à l'hôte et au parasite qui influencent le résultat clinique.

3.2.3.1. Paradigme structure-fonction dans la filtration des globules rouges par la rate

- Le paradigme structure-fonction de la microcirculation splénique et de la fonction de filtrage des globules rouges a été progressivement décrit [8,35] comme le "splénon" par analogie avec le néphron. Ainsi, différentes étapes fonctionnelles successives dans la fonction de filtrage des globules rouges ont été proposées : "préfiltration", "filtration" et "post-filtration". Le néphron et le splénon sont tous deux des matériaux filtrants, mais le résultat diffère. Bien que le néphron exclue les éléments filtrés dans l'urine, le splénon les retient dans la pulpe rouge. Cela impose la destruction et le recyclage des globules rouges retenus, un processus probablement initié principalement par les macrophages. Les macrophages représentent environ la moitié du volume des cordons [8] ; leur abondance facilite les interactions directes entre les GR et les macrophages et le traitement d'au moins 20 ml de GR par jour dans des conditions physiologiques.
- Les particularités du milieu dans les cordons jouent peut-être un rôle dans les modifications des globules rouges qui suivent la rétention, aboutissant finalement à la phagocytose [8]. La capacité de la rate à filtrer de façon innée les globules rouges altérés, soit par des interactions ligand-récepteur, soit en détectant leurs propriétés mécaniques anormales, est probablement un processus clé lors de l'infection par *P. falciparum*. La clairance splénique des globules rouges altérés par *P. falciparum* peut, en effet, commencer très tôt pendant l'infection et peut contribuer à susciter une réponse spécifique à l'antigène par la phagocytose des globules rouges infectés (iGR) et des débris du parasite par les cellules présentatrices d'antigènes. En outre, la rate détecte et, éventuellement, traite des globules rouges non infectés altérés par des produits dérivés de parasites.

3.2.3.2. Déformabilité des globules rouges infectés et non-infectés

- L'issue du paludisme à *P. falciparum* n'est pas uniquement déterminée par la capacité de séquestration des formes matures, et il existe un large spectre de manifestations du paludisme grave, en plus du paludisme cérébral [36]. En particulier, l'anémie palustre grave, la manifestation grave la plus précoce et la plus fréquente de l'infection à *P. falciparum* dans les zones hyperendémiques [37],

résulte d'une perte massive de globules rouges et/ou d'une érythropoïèse altérée [38]. La rupture des iGR lors de la libération de mérozoïtes contribue en fait moins à la perte de globules rouges que la destruction des globules rouges non-infectés (nGR) [39]. En effet, les anneaux et les nGR sont modifiés par *P. falciparum* [34,33,40].

-
- Les interactions entre les protéines du parasite et les protéines de l'hôte dans le cytosquelette cortical des GR modifient la membrane, de sorte que la déformabilité des iGR est légèrement et nettement réduite dans les anneaux et les formes matures, respectivement [40,41,42]. La diminution modérée, mais significative, de la déformabilité des anneaux a été considérée comme déclenchant leur rétention dans la rate [40], bien que cette hypothèse n'ait pas été soutenue en raison de son apparente incohérence avec l'observation des anneaux dans la circulation périphérique. Cependant, des études récentes sur des rates humaines isolées et perfusées ont documenté la rétention d'une proportion importante d'anneaux dans la rate [43], indiquant que la réduction de la déformabilité des anneaux pourrait, en effet, déclencher leur élimination. Comme ce processus de rétention correspond à la clairance des parasites circulants, il réduit probablement la vitesse d'augmentation de la charge parasitaire et donc le rythme auquel l'infection se produit [44].
- La déformabilité des nGR présents dans le sang parasité est également légèrement altérée *in-vitro* [42,45,46]. Une partie des nGR provenant de cultures de parasites est "décorée" avec des molécules parasitaires libérées lors de l'invasion [47,48,33]. Ces nGR moins déformables ou décorés sont susceptibles de rétention splénique, de phagocytose ou de lyse à médiation par le complément en présence d'anticorps spécifiques [33,48]. Ces processus exacerbent probablement la perte d'érythrocytes chez les patients atteints de paludisme.
- En résumé, à plusieurs reprises au cours de leur vie, les anneaux et les nGR interagissent avec les capillaires des circulations systémiques et pulmonaires, et avec la microcirculation "ouverte" de la rate. Cela peut influencer non seulement le flux sanguin et la survie des globules rouges [46], mais aussi la cinétique de l'infection et peut donc avoir un impact sur le schéma clinique du paludisme et sa gravité [43,44,46].

- En outre, la détection mécanique par la rate des globules rouges hébergeant les stades sexuels du parasite (c'est-à-dire les gamétocytes immatures et matures) peut influencer la transmission. Des gamétocytes immatures ont été observés dans le sang périphérique de patients splénectomisés infectés par *P. falciparum*, mais pas par la rate intacte [49,50]. En revanche, des gamétocytes matures sont fréquemment observés dans le sang périphérique de patients dont la rate est intacte. La rate peut donc renforcer la cytoadhérence des gamétocytes immatures ou retenir mécaniquement ceux qui ne sont pas cytoadhérents. Les gamétocytes matures deviennent probablement moins cytoadhérents ou plus déformables (ou les deux) que les gamétocytes immatures. Ces deux caractéristiques sont, en effet, nécessaires à la circulation soutenue des gamétocytes matures en périphérie, une condition préalable essentielle à la transmission du parasite de l'hôte humain au vecteur anophèle.

3.2.3.3. Rate et paludisme à *P. falciparum*

3.2.3.3.1. Caractéristiques cliniques et pathologiques

- La splénomégalie est le principal marqueur clinique de l'endémicité dans les zones de transmission de *P. falciparum* [51], bien que la splénomégalie palpable soit fréquemment absente lors d'une infection aiguë chez des sujets non-immuns [52,39]. Au moment du décès, les patients adultes atteints de paludisme grave ont une rate plus grosse que les patients qui sont morts de septicémie [53]. Très rarement, la splénomégalie palustre entraîne une rupture pathologique de la rate [53]. Au niveau macroscopique, la rate est brune, un changement de couleur causé par le dépôt de pigment, la marque du paludisme à l'examen microscopique [54]. Le pigment se trouve principalement dans les macrophages et dans les formes matures intactes [54,55,56]. L'augmentation du poids de la rate est associée à l'expansion de la pulpe rouge et de la pulpe blanche [53].
- La pulpe rouge est congestionnée par les globules rouges [57] et le nombre relatif de macrophages augmente [53]. L'architecture de la pulpe blanche est nettement désorganisée avec dissolution de la zone marginale et perte relative des cellules B [53]. Au cours de la phase aiguë de l'infection mortelle, les globules rouges urinaires, les globules rouges positifs et négatifs s'accumulent dans la rate plus intensément

que dans le foie [55]. La cytoadhérence typique des formes matures se produit sur la face luminale de l'endothélium sinusal [55]. La microscopie électronique a montré que les iGRs contenant soit des parasites morphologiquement normaux, soit des restes de parasites, se pressaient à travers les fentes inter-endothéliales et, éventuellement, étaient retenus dans cette position [55,53]. On ne sait pas si les formes matures sont phagocytées principalement sous forme d'iGRs intacts ou après lyse des iGRs. La phagocytose des nGR est une constatation fréquente [56].

Tableau 2. Double rôle de la rate dans le paludisme humain [113]

	Attaque aiguë	Chez les patients traités	Portage chronique	Transmission
Rôle de protection	Rétention des IGR	Élimination des IGR (<i>pitting</i>)	Limitation du nombre de parasites circulants ?	Rétention des gamétocytes
Rôle préjudiciable	Rupture Contribution à l'anémie	Hémolyse retardée post-artésunate	- Contribution à l'anémie chronique ? - Splénomégalie palustre hyper-réactive - Lymphome splénique ?	Réservoir ? (contribution au portage asymptomatique chronique)

3.2.3.3.2. Études expérimentales sur des patients atteints de paludisme

- Quatre études expérimentales chez des adultes thaïlandais, qui ont déterminé la cinétique de clairance des globules rouges marqués à différents stades des attaques de *P. falciparum* [58-62] mettent en évidence le rôle de la rate dans la survie des globules rouges au cours de l'infection par *P. falciparum*. Chez les patients atteints

de paludisme non compliqué avec splénomégalie qui n'avaient pas encore reçu de traitement antipaludique, la clairance des globules rouges autologues renforcés par la chaleur a été améliorée. Chez les patients sans splénomégalie, une clairance accrue n'a été observée qu'après un traitement médicamenteux [58]. Il n'y a pas eu de dysfonctionnement splénique majeur chez ces patients, et la clairance accélérée des globules rouges rigides a persisté longtemps après la disparition du parasite [58]. Juste après la disparition du parasite [61], il y a eu une clairance accélérée, indépendante des anticorps et du complément, des globules rouges autologues ou donneurs marqués.

- La clairance des globules rouges sensibilisés à l'immunoglobuline G (IgG) a également été nettement accélérée, et cela a persisté pendant plusieurs semaines [59]. Chez les patients atteints de paludisme grave, la destruction des globules rouges autologues marqués a également été nettement accélérée [60].

En résumé, la clairance des globules rouges mécaniquement modifiés, altérés en surface et normaux est accélérée chez les adultes infectés par *P. falciparum*, un processus influencé par la thérapie antipaludique et la splénomégalie. Les modifications abruptes sous-jacentes des voies circulatoires, du nombre de macrophages ou du statut d'activation n'ont pas été déterminées. Comme il n'était pas possible de marquer spécifiquement les iGR, ces impressionnantes études expérimentales ne permettent qu'une inférence indirecte sur les mécanismes de la clairance des iGR par la rate.

3.2.3.3.3. Accès palustre aiguës chez les sujets splénectomisés

- Une approche puissante pour saisir le rôle physiologique ou pathogène d'un organe consiste à étudier ce qui se passe en cas d'absence de celui-ci. L'analyse des données publiées montre que parmi 94 patients splénectomisés atteints d'une infection à *P. falciparum*, 3 connaissent leur premier accès de paludisme ("naïve") et 22 avaient peu de crises antérieures ou des antécédents non documentés (et "peut-être immunisés"), et 69 vivaient dans une zone endémique depuis plus de 8 ans avant la splénectomie ("immunitaire") [63,64,65], et 3 ont connu un passage du portage chronique à l'attaque symptomatique dans les 3 à 8 semaines suivant la

splénectomie [50,66]. La splénectomie affecte également la clairance des iGR après un traitement antipaludique [9,67-69].

3.2.3.3.4. Accès palustre aiguës chez des sujets splénectomisés "naïfs" et "éventuellement immunisés"

- Lors des primo-infections à *P. falciparum* chez les patients splénectomisés, la gravité et la mort sont plus fréquentes, la parasitémie est plus élevée et les formes matures circulent plus fréquemment que chez les patients non splénectomisés. Ces données suggèrent que la rate joue un rôle protecteur majeur chez les patients naïfs. Le paludisme cérébral est fréquent dans ce contexte (7 patients sur 25), et l'expression des boutons et des adhérences de surface sur les iGR n'est pas altérée chez les patients splénectomisés [69]. Ainsi, la fréquence plus élevée des formes matures circulant chez les patients splénectomisés reflète probablement l'absence de clairance splénique, plutôt qu'une séquestration défectueuse. En l'absence d'anticorps contre les antigènes de surface des iGR chez les patients naïfs, la clairance des formes matures dans la rate implique probablement des interactions ligand-récepteur innées avec les macrophages [70] ou une rétention mécanique en amont des fentes interendothéliales [40]. La présence de parasitémies plus importantes chez les patients splénectomisés soutient également l'hypothèse selon laquelle la rate conserve de façon innée une proportion d'anneaux [44], ce qui réduit le nombre de formes matures qui cytoadhèrent dans les petits vaisseaux quelques heures plus tard.

En résumé, l'absence de rétention splénique des anneaux, comme les formes matures (ou les deux), explique probablement pourquoi la parasitémie est plus élevée, et l'infection plus grave, chez les patients splénectomisés que chez les patients naïfs dont la rate est intacte

3.2.3.3.5. Accès palustre aiguës chez des sujets immunisés splénectomisés

- Dans les régions où *P. falciparum* est endémique, la fièvre et la parasitémie sont nettement plus fréquentes chez les sujets splénectomisés que chez les patients dont la rate est intacte [63,64]. La gravité et la mortalité de l'infection à *P. falciparum* sont peut-être accrues, mais pas dans une large mesure. Chez les patients immunisés

ayant une rate ainsi que chez les patients splénectomisés, les anticorps aux adhésines de surface des formes matures empêchent leur séquestration dans la microcirculation, ce qui prévient de graves complications [63]. Chez les patients dont la rate est intacte, les formes matures, incapables de cytoadhérer, sont éliminées par la rate. En outre, la protection anticorps dépendante acquise [71,72] se combine avec une immunité "antitoxique" pour réduire les symptômes et les complications liés à l'inflammation.

La rétention dans la rate peut être favorisée par l'opsonisation dans les cordons riches en macrophages ou par le piégeage mécanique en amont des fentes inter-endothéliales, le second pouvant renforcer le premier. Cependant, chez les patients immunisés splénectomisés, les formes matures sont moins efficacement éliminées, soit parce que la microcirculation dans d'autres organes ne peut pas retenir mécaniquement les formes matures, soit parce que l'opsonisation est moins efficace dans les sinusoides du foie ou d'autres organes riches en macrophages que dans les cordons spléniques. Prises ensemble, ces observations montrent que la rate joue un rôle spécifique dans le contrôle des charges parasitaires de *P. falciparum*, même en présence d'une protection acquise préexistante. Cependant, ce rôle spécifique de la rate ne rend pas compte de l'ensemble de la protection, car la gravité n'est pas la règle. D'autres organes prennent le relais pour le contrôle des charges de *P. falciparum*, mais agissent moins efficacement que la rate.

3.2.3.3.6. Accès palustre aigus chez les porteurs chroniques subissant une splénectomie

- Des accès palustres aigus se produisant quelques semaines après la splénectomie chez des porteurs chroniques qui ne sont plus exposés à la transmission de *P. falciparum* ont été décrits [50,66]. Chez le seul patient chez qui cela a été exploré jusqu'à présent, il n'y avait pas d'expression de gènes pour les adhésines de surface, et la cytoadhérence des iGRs pendant le premier cycle après le prélèvement de l'échantillon, mais les deux ont été progressivement restaurés en culture [50]. Cela a été interprété comme reflétant la sélection positive de rares variantes chez les patients immunisés ayant une fonction splénique normale, qui, si le port de *P. falciparum* est maintenu suffisamment longtemps sans réinfection, conduit finalement à la sélection de variantes sans adhésine qui échappent

éventuellement à la clairance et à la destruction par la rate [50]. Comment de telles formes matures sans adhésine peuvent-elles se multiplier sans être éliminées par la rate ?

- Cela peut résulter soit de leur rétention mécanique dans la microvasculature, soit d'un développement intrasplénique de faible niveau avec ré-invasion dans les cordons riches en globules rouges, donnant lieu à une nouvelle vague de parasites de faible densité. Cette hypothèse est cohérente avec les dépôts importants de pigment du paludisme dans la rate du patient étudié [50]. L'existence d'un tel cycle cryptique intrasplénique correspond bien aux principales caractéristiques de la splénomégalie hyper-réactive du paludisme, à savoir, splénomégalie massive, absence de fièvre, parasites absents ou rares sur les frottis sanguins, niveaux élevés d'anticorps spécifiques, niveaux très élevés d'immunoglobuline M totale et résultat positif après un traitement antipaludique soutenu [73]. Lorsque la rate est retirée chez ces patients, la rétention mécanique, seul mécanisme puissant capable d'éliminer les variantes sans adhérence, disparaît, entraînant une augmentation rapide de la charge parasitaire et une attaque clinique aiguë.

3.2.3.3.7. Elimination des iGR (clairance parasitaire) chez les patients splénectomisés traités par des médicaments

- Quel que soit l'agent antipaludique utilisé (par exemple, l'artésunate ou la quinine, parfois associé à la tétracycline ou à la méfloquine), le temps de clairance du parasite est nettement prolongé chez les patients splénectomisés, prenant plusieurs semaines, au lieu de quelques jours, chez les patients ayant une rate. Chez un patient splénectomisé [74], la parasitémie n'a que légèrement diminué, passant de 63% à 30% après 13 jours de traitement, confirmant que la rate est l'acteur essentiel d'une élimination post-thérapeutique rapide du parasite [75]. Des études menées sur des patients ayant une rate [76] ont indiqué que le piquage des restes de parasites des globules rouges est le principal déterminant du temps d'élimination du parasite, en particulier lorsque des dérivés de l'artémisinine sont administrés. Ces observations confirment également que le pitting est un mécanisme spécifique à la rate. Il est intéressant de noter que les restes de parasites induits par l'artémisinine rappellent morphologiquement les corps de Howell-Jolly (c'est-à-dire les restes

nucléaires d'érythroblastes observés sur les frottis colorés au Giemsa dans une proportion de globules rouges de patients splénectomisés).

- Le piquage des restes de parasites peut donc résulter de la subversion d'un phénomène physiologique (c'est-à-dire le retrait des corps de Howell-Jolly des globules rouges en circulation). L'augmentation de la résistance des parasites aux dérivés de l'artémisinine en Asie du Sud-Est peut s'expliquer en partie par une transformation plus lente des parasites annulaires en restes de parasites indéformables ressemblant à des corps particuliers, ce qui retarde la formation de piqûres. Ce trait codé par le parasite [77] se manifesterait initialement essentiellement par un retard dans le temps d'élimination du parasite [78].

3.2.3.4. Influence de la rate sur le paludisme grave, y compris l'anémie

3.2.3.4.1. Mécanismes potentiels de l'anémie au cours du paludisme

- La pathogenèse de l'anémie chez les patients atteints d'infection à *P. falciparum* est multifactorielle. Toutefois, l'efficacité de l'administration continue ou intermittente des antipaludiques pour prévenir l'anémie palustre grave chez les enfants africains a indiqué que l'infection à *P. falciparum* est un facteur majeur et direct de cette complication [79]. Chez les sujets naïfs présentant une infection aiguë à *P. falciparum* et sans comorbidité, la perte des globules rouges est un mécanisme important de l'anémie [39]. Bien qu'elle soit souvent présente dans l'infection aiguë [80], la dysérythropoïèse est probablement un facteur mineur de l'anémie palustre aiguë, car l'abrogation complète de l'érythropoïèse seule n'entraîne qu'une diminution de 1% de la biomasse des globules rouges par jour [81].
- Inversement, chez les patients présentant un portage prolongé de *P. falciparum* de bas grade, l'inhibition de l'érythropoïèse joue probablement un rôle prédominant [44]. A l'extrémité chronique du continuum, l'hypersplénisme et l'hémolyse à médiation par anticorps sont considérés comme les mécanismes prédominants de l'anémie chez les patients atteints de splénomégalie palustre hyper-réactive [73]. L'anémie palustre sévère est donc plus un syndrome qu'une maladie, reflétant divers processus pathogènes. L'anémie aiguë chez les patients naïfs résulte probablement d'un nombre réduit de mécanismes, ce qui permet une analyse plus simple de la

pathogénèse [39]. Au moins dans certains contextes, l'anémie palustre sévère a une évolution principalement aiguë [37][52][82] ce qui souligne encore la perte de globules rouges comme mécanisme important.

3.2.3.4.2. Anémie palustre et rétention des globules rouges dans la rate

- Récemment, un nouveau paradigme a été proposé [43], selon lequel l'étendue de la rétention des globules rouges dans la rate, un mécanisme de perte des globules rouges, détermine non seulement la concentration d'hémoglobine et la taille de la rate, mais affecte également la charge parasitaire. En effet, comme la rétention des anneaux dans la rate correspond à la clairance des parasites circulants, elle réduit probablement la vitesse d'augmentation de la charge parasitaire et donc le rythme auquel l'infection se déroule. Ce lien entre la rétention innée des anneaux, d'une part, et la rétention innée des nGR, d'autre part, est parfaitement conforme aux observations selon lesquelles, chez les sujets naïfs ou faiblement immunisés, la splénomégalie est corrélée à une diminution de l'hématocrite ou du taux d'hémoglobine [58,39,52] et que la durée de la fièvre (de son apparition au diagnostic) est plus longue en présence d'une anémie [52,83].

3.2.3.4.3. Analyse des hypothèses alternatives

- Il a également été proposé que les récepteurs des cellules endothéliales cérébrales - nécessaires à la séquestration des formes matures conduisant au paludisme cérébral - sont absents chez les nourrissons et apparaissent plus tard dans l'enfance [37]. Comme les nourrissons dépourvus de récepteurs endothéliaux cérébraux seraient naturellement protégés du paludisme cérébral, les infections à *P. falciparum* ne seraient pas interrompues par le coma ou la mort, ce qui laisserait plus de temps à l'anémie et à la splénomégalie pour se développer. À l'inverse, les enfants plus âgés deviendraient comateux, seraient traités ou mourraient avant que l'anémie ne se développe. Dans un tel scénario, la fréquence plus élevée de l'anémie et de la splénomégalie chez les nourrissons reflèterait principalement la longue progression de l'infection.
- Deux observations vont cependant à l'encontre de ce modèle. Premièrement, la splénomégalie est associée à une perte de globules rouges indépendamment de la

durée de l'infection [39]. Deuxièmement, la parasitémie est plus faible chez les enfants atteints d'une anémie palustre grave que chez ceux atteints de paludisme cérébral [52], malgré la durée plus longue de la fièvre chez les premiers [39,52,83]. L'hypothèse selon laquelle l'âge module la rigueur de la rétention splénique des anneaux et des globules rouges universels concilie davantage d'observations épidémiologiques que l'absence de récepteur cérébral chez les nourrissons [44]. Elle prédit que le risque de paludisme cérébral augmente et que le risque d'anémie palustre sévère diminue avec l'âge des enfants [84], ce qui suggère fortement que le même mécanisme peut tout à fait précipiter une anémie palustre sévère et protéger contre le paludisme cérébral [44].

Ces différentes études soulignent l'impact potentiellement pathogène des variations de la déformabilité des globules rouges ou de la rigueur de la détection splénique des globules rouges dans les états physiologiques ou pathologiques. Les polymorphismes de l'âge et de l'hémoglobine peuvent tous deux être associés à ces variations.

3.2.3.5. Coévolution *P. falciparum*-homme : l'influence de la rate sur l'immunité innée

3.2.3.5.1. Age comme facteur indépendant de la gravité du paludisme

- Dans les zones à forte transmission, l'infection à *P. falciparum* n'est grave que chez les jeunes enfants, probablement parce que les enfants plus âgés et les adultes sont protégés par une immunité acquise [72,37]. De manière inattendue, chez les trans migrants non-immunisés [85], les voyageurs [86], et les patients faiblement immunisés en Asie du Sud-Est [87] ou au Vanuatu [88], l'infection à *P. falciparum* est moins fréquemment grave ou mortelle chez les enfants que chez les adultes. Chez les patients atteints de paludisme grave [87], l'incidence de l'hyperparasitémie et de la mortalité augmente avec l'âge, alors que l'anémie palustre grave est plus fréquente chez les enfants et moins habituellement mortelle que le paludisme cérébral [87,36]. Les patients plus âgés peuvent avoir des mécanismes de clairance parasitaire moins efficaces et une clairance des globules rouges non-infectés moins efficace que les patients plus jeunes [87].

- En résumé, l'âge de l'hôte comme facteur de risque de paludisme cérébral et d'anémie palustre grave, est partiellement indépendant de l'intensité de la transmission [84] et reflète donc non seulement l'acquisition d'une immunité, mais aussi des mécanismes de protection innée dépendant de l'âge, avec un profil "inversé" (c'est-à-dire que les enfants naïfs ont un risque plus faible de paludisme grave potentiellement mortel que les adultes naïfs). Un déterminant essentiel du risque de maladie au cours de la vie est donc "la capacité à développer une immunité spécifique à l'antigène tôt dans la vie, pendant une période où les mécanismes de protection innée peuvent fonctionner" [51].

3.2.3.5.2. Fonction de filtration de la rate et polymorphismes de l'hémoglobine

- Il est intéressant de noter qu'un autre facteur important de protection innée, le trait drépanocytaire, peut impliquer la rétention d'une forte proportion d'anneaux dans la rate. Quelques polymorphismes de l'hémoglobine protègent contre le paludisme grave à *P. falciparum*, notamment le portage homozygote de l'hémoglobine C [89], et le portage hétérozygote de l'hémoglobine S [90]. Nous aborderons ici ce dernier cas. La protection spécifique contre le paludisme conférée par le portage hétérozygote de l'HbS (HbAS) est bien établie pour les attaques cliniques et encore plus forte pour le paludisme cérébral et l'anémie palustre grave [90]. Les patients atteints de HbAS ont également des taux d'anticorps circulants de l'immunoglobuline G contre les antigènes de *P. falciparum* plus élevés que les enfants normaux [91,92], mais dans les zones hyperendémiques, la protection par l'HbAS existe avant qu'un niveau significatif d'immunité clinique ne soit atteint [93,94].
- La réduction de l'expression des adhésines de surface sur les formes matures peut expliquer la protection contre le paludisme cérébral, mais n'explique pas directement la protection contre l'anémie palustre grave [95]. Les mécanismes les plus convaincants qui sous-tendent la large protection antipalustre de l'HbAS sont donc soit la capacité réduite des parasites à se multiplier dans les cellules HbAS à faible pression d'oxygène, soit leur retrait prématuré de la circulation [90]. Ce dernier pourrait être lié à la rétention des anneaux dans la rate. En effet, lorsqu'ils sont exposés à une faible pression partielle d'oxygène, les anneaux HbAS faucillent beaucoup plus vite que les nGR HbAS [96,97], un phénomène susceptible d'induire

leur rétention par la rate. La réduction de base de la déformabilité des GR HbAS peut également jouer un rôle [44].

- Des preuves récentes indiquent que le portage d'HbS homozygote a également un impact sur la gravité clinique et l'infection [98,99]. La prévalence et la densité parasitaire étaient plus faibles chez les enfants atteints de drépanocytose que chez les patients sans drépanocytose au Kenya, avec une tendance vers des formes moins graves [99]. Cependant, la protection n'est pas complète et le paludisme est associé de manière significative à une anémie palustre grave et à la mort chez les patients HbS homozygotes hospitalisés [98]. Paradoxalement, la prévalence de la parasitémie était identique ou légèrement plus élevée chez les sujets atteints d'HbS que chez ceux atteints d'HbAS [98-100]. Le manque (ou la limitation) de la protection offerte par l'HbS, par rapport à l'HbAS, pourrait s'expliquer par deux processus qui s'opposent mutuellement : une protection plus forte des sujets atteints d'HbS en raison d'une concentration plus élevée d'HbS, d'une part, et une protection plus faible en raison d'un hyposplénisme progressif induit par la drépanocytose, d'autre part. L'anémie de base chez les enfants atteints de drépanocytose contribue probablement aussi à la gravité de la maladie. Il serait intéressant d'énumérer les cellules en poches (ou piquées) ainsi que d'autres marqueurs de l'hyposplénisme chez les enfants atteints d'HbSS avec ou sans paludisme aigu. La forte susceptibilité des sujets HbSS au paludisme pourrait s'expliquer par leur état d'hyposplénisme plus avancé.

3.2.4. Splénomégalie palustre hyper-réactive

- Cette affection, d'abord appelée "syndrome de splénomégalie tropicale", puis décrite plus précisément en 1957, a été progressivement décryptée au cours des dernières décennies, le nom de splénomégalie palustre hyper-réactive (SPH) étant proposé en 1983 [101]. Les critères diagnostiques actuellement acceptés pour la SPH associent splénomégalie, IgM plasmatique totale supérieure à deux fois l'écart-type local, réponse clinique après traitement antipaludique et réponse lymphocytaire polyclonale [73]. On pense que la SPH représente une proportion importante (40%) de la splénomégalie massive dans les zones d'endémie palustre [102], mais les données épidémiologiques récentes et précises concernant sa prévalence dans la

population générale sont rares. En Gambie, il y a trois décennies, la prévalence de la SMH était estimée à 0,16% [103].

- La SPH a été essentiellement décrite chez des patients exposés de façon chronique au parasite et est très rare chez les voyageurs. En général, les patients présentent une splénomégalie grossière et constante, parfois cliniquement patente (gêne abdominale) est inconstamment associée à une hépatomégalie. Les IgM totales sont nettement élevées, avec un schéma polyclonal. Cette élévation précède généralement la splénomégalie. Une cytopénie d'importance variable peut être présente, généralement attribuée à l'hypersplénisme. Le diagnostic positif du paludisme est difficile dans les cas de SPH, car la densité parasitaire est généralement très faible et n'est détectée que par des méthodes moléculaires. Les caractéristiques biologiques de l'auto-immunité (cryoglobulinémie, facteur rhumatoïde, anticorps antinucléaires) ont été associées à la SPH. Récemment, un modèle relativement spécifique d'anticorps antinucléaires a été associé au paludisme chronique [104].
- Une composante génétique de la SPH est suspectée sur la base d'études familiales [105], mais sa base précise reste inconnue (bien qu'elle ne soit certainement pas mendélienne). L'examen pathologique de la rate dans la SPH a rarement été rapporté. Les cas publiés décrivent essentiellement la congestion de la pulpe rouge et l'érythrophagocytose, avec seulement de brèves descriptions de la pulpe blanche [106][107, 108]. La pathogénie de la SPH est mal comprise, l'hypothèse la plus communément acceptée impliquant un défaut des cellules T régulatrices, conduisant à une expansion des cellules B après une infection par le *Plasmodium*, à la production de complexes immuns qui seraient finalement phagocytés par les macrophages spléniques. Si cette hypothèse est conforme à la splénomégalie et à la réponse immunitaire accrue observée dans le cadre de la SPH, elle ne permet, cependant, pas d'expliquer l'anémie et la diminution de la densité parasitaire.

L'évolution de la SPH dans les zones endémiques reste largement inconnue. Les données historiques indiquant une mortalité très importante (N50%) pourraient être faussées par l'imprécision des causes de décès [109]. De rares données ont été recueillies chez les voyageurs, montrant une lente régression de l'hyper IgM et de la splénomégalie sur plusieurs mois [110]. Les voyageurs ou les expatriés affectés par la SPH ont tendance à souffrir d'épisodes similaires de SPH lors d'une réexposition au parasite, ce qui correspond à une composante pathogène innée et à une susceptibilité génétique [111].

- Un problème majeur est le risque d'évolution vers un lymphome splénique de zone marginale de bas grade (MZSL). Cette association, suspectée il y a 50 ans, a été essentiellement observée en Afrique de l'Ouest. Le MZSL partage de nombreuses caractéristiques avec la SMH. Dans une étude, la clonalité des récepteurs des cellules B a été évaluée chez des patients ghanéens atteints de SMH séparés selon leur réponse aux antipaludiques : la clonalité était absente chez les répondeurs, constante chez les non-répondants et observée chez deux des 13 répondeurs partiels [112]. Ces résultats, ainsi que ceux autres, ont conduit à l'hypothèse que le lymphome splénique représente une évolution ultime de la SPH non traitée [113,114], mais ce risque n'a pas été quantifié avec précision.
- Le traitement antipaludéen de la SPH repose sur des cures prolongées de primaquine, de proguanil, de méfloquine ou de chloroquine. Pour les voyageurs qui ne retournent pas dans les zones d'endémie du paludisme, un régime court est aussi efficace que des traitements prolongés [111]. L'intérêt de ces traitements de courte durée reste inconnu dans les zones d'endémie et la politique habituelle consiste à administrer une prophylaxie intermittente aux patients atteints de la SPH exposés de manière persistante au parasite [115]. La splénectomie peut s'avérer dangereuse pour les patients atteints de la SPH car elle comporte un risque de paludisme aigu postopératoire [66,116,50] et expose le patient aux risques à long terme associés à la splénectomie [117].

3.2.5. Outils disponibles pour l'évaluation de la rate humaine

3.2.5.1. Palpation de la rate

C'est la première et la seule évaluation disponible dans la plupart des pays d'endémie palustre. La taille de la rate est mieux quantifiée en utilisant la classification de Hackett. La prévalence de la splénomégalie est en corrélation positive avec l'endémicité du paludisme mais manque de spécificité. La splénomégalie est fréquente chez les enfants atteints d'anémie palustre dans les zones endémiques, mais rare chez les voyageurs présentant des accès palustres.

3.2.5.2. Imagerie médicale

- Elle évalue la taille et la structure de la rate et visualise les anomalies spléniques. L'échographie couplée au Doppler est la technique la plus largement disponible. L'échographie splénique à contraste amélioré utilisant des microbulles affine l'évaluation de la rate et permet la quantification relative du débit dans les circulations rapide et lente [118]. La scintigraphie utilisant des traceurs radiomarqués permet une évaluation fonctionnelle : les colloïdes de soufre et les globules rouges sensibilisés évaluent la fonction des macrophages tandis que les globules rouges renforcés par la chaleur évaluent la fonction de filtrage mécanique [119]. La fonction splénique peut être déduite de la cinétique de clairance des globules rouges marqués, et de l'intensité de la radioactivité dans la zone splénique par rapport à la zone hépatique ou cardiaque.

3.2.5.3. Marqueurs de la fonction splénique liés aux globules rouges

- Lorsque les fonctions de filtrage et de pitting sont altérées, des globules rouges contenant des corps de Howell-Jolly (petites sphères Giemsa-positives) apparaissent dans la circulation et peuvent être observés sur des frottis de sang périphérique. Les globules rouges empoisonnés contiennent de petites vésicules intracytoplasmiques, visibles au microscope à contraste d'interférence différentiel. Leur proportion dans le sang périphérique augmente au-dessus de 2 à 3 % en cas de dysfonctionnement chronique de la rate. Ce marqueur précis nécessite un équipement spécifique et un personnel formé [120].

3.2.5.4. Populations de cellules immunitaires en circulation

- Ces cellules, en particulier les cellules B à mémoire IgM, ont été liées à la fonction splénique. Cette sous-population est significativement réduite chez les sujets splénectomisés [121,122].

3.2.5.5. Perfusion *ex-vivo* de la rate humaine

- Lorsque les rates, prélevées après une pancréato-splénectomie gauche, sont perfusées *ex-vivo*, leurs fonctions filtrantes et phagocytaires sont préservées pendant quelques heures [11]. Cette approche a permis de découvrir la rétention mécanique innée d'une partie des globules rouges infectés par le *Plasmodium* [43], un processus confirmé par la suite par la filtration *in-vitro* [12,123].
- Certains outils biomimétiques tentent de reproduire la fonction splénique. La microsphiltration évalue la capacité des globules rouges à se faufiler à travers des fentes étroites entre des billes métalliques, et reflète avec précision la rétention mécanique des globules rouges dans la rate humaine [12,124,125]. Le dispositif expérimental initial [12] a été adapté à des microplaques de 96 ou 384 puits, permettant l'analyse parallèle de centaines d'échantillons [124]. Des puces microfluidiques mimétiques de la rate ont été récemment mises au point [126,127].
- Une rétention dépendant du stade a été observée lorsque les puces ont été infusées avec des globules rouges infectés et étiquetés.

3.2.6. Remarques finales sur la rate et le paludisme

La rate a fait l'objet d'études approfondies, dans des modèles animaux et chez l'homme, d'un point de vue immunologique. L'exploration de la manière dont la rate filtre de façon innée les globules rouges normaux et altérés, et finit par les éliminer (principalement dans la pulpe rouge), avait retenu l'attention des chercheurs il y a un demi-siècle. De nouveaux outils ont permis de progresser dans ce domaine au cours de la dernière décennie.

Une meilleure compréhension de la physiologie splénique humaine a permis de mettre en lumière le double rôle "Dr Jekyll et Mr Hyde-like" de la rate dans le paludisme chez l'homme. La rate limite l'augmentation de la biomasse parasitaire, réduisant ainsi la séquestration et le dysfonctionnement microvasculaire dans les principaux organes cibles comme le cerveau, mais contribue probablement de façon concomitante à l'anémie palustre. De même, la production de globules rouges une fois infectés par la rate après un traitement à l'artémisinine réduit la perte de globules rouges pendant la thérapie mais induit parfois une hémolyse retardée et cliniquement significative. La recherche actuelle et future étudiera le domaine prometteur de l'induction de la rétention splénique des gamétocytes de *Plasmodium*, un facteur potentiellement important dans les tentatives d'élimination du paludisme. De nouveaux outils exploratoires seront notamment importants pour étudier le rôle de la défense antipaludique de l'immunité cellulaire, un processus essentiellement étudié par des études *in-vitro* et dans des modèles animaux jusqu'à présent.

3.3. Glossaire

Cordes

Les structures circulatoires spécifiques à la pulpe rouge splénique dépourvue de revêtement endothélial. Dans les cordons, la circulation des globules rouges est lente, ce qui favorise des interactions étroites et prolongées avec les macrophages spléniques qui sont très abondants dans cet environnement unique. Les artérioles conventionnelles CD34+-positives traversent la pulpe rouge mais ne sont pas considérées comme un composant de la voie lente et ouverte de la pulpe rouge.

Ectacytométrie

Une méthode de mesure de la déformabilité des globules rouges. Une contrainte de cisaillement progressivement croissante est appliquée à une suspension de globules rouges diluée dans un milieu visqueux et iso-osmolaire. La mesure du diagramme de diffraction des RBC permet de calculer l'indice d'élongation, un corrélat de la déformabilité des RBC.

Erythrophagocytose

Phagocytose des globules rouges généralement altérés par des cellules effectrices, un processus qui se déroule principalement dans la pulpe rouge de la rate et qui est opéré par les macrophages de la pulpe rouge.

Fentes inter-endothéliales (IES)

Des espaces étroits (0,2-2 μm) entre les cellules endothéliales allongées adjacentes des sinus de la pulpe rouge splénique. Les sinus veineux n'ont pas de membrane basale mais une fibre basale hélicoïdale très discontinue. Les globules rouges doivent traverser les fentes inter-endothéliales lorsqu'ils passent des cordons à la circulation générale, ce qui remet en question leur déformabilité. Les fentes inter-endothéliales sont 2 à 10 fois plus étroites que les plus petits capillaires.

Hémolyse retardée post-artésunate

Anémie hémolytique aiguë, survenant 1 à 2 semaines après le traitement par des dérivés de l'artémisinine pour un paludisme grave, généralement hyper-parasitaire. Cet événement indésirable est déclenché par la clairance relativement synchrone des globules rouges piqués.

Pitting

Un mécanisme spécifique à la rate par lequel un corps intra-érythrocytaire est extrait du globule rouge. Le GR n'est pas lysé par le processus de pitting et retourne dans la circulation. Le pitting joue un rôle majeur dans l'élimination des parasites après un traitement à l'artémisinine (mais pas après un traitement avec d'autres agents antipaludiques actuellement disponibles).

Pulpe blanche

Partie du parenchyme splénique impliquée dans les réponses immunitaires, en particulier contre les antigènes circulants et les bactéries encapsulées. Il comprend des gaines lymphoïdes péri-artériolaires et des nodules lymphoïdes.

Pulpe rouge

Partie du parenchyme splénique impliquée dans le contrôle des propriétés biomécaniques et de surface des globules rouges, l'érythrophagocytose et la réaction aux antigènes circulants. Il comprend les cordons et les sinus veineux.

Sinus veineux

Les structures circulatoires qui collectent le sang en aval des cordes spléniques et de la circulation périfolliculaire fermée et rapide de la rate. Le revêtement endothélial des sinus veineux est constitué de cellules parallèles et allongées reposant sur des fibres basales discontinues.

Splénomégalie palustre hyperréactive (SPH)

Une forme rare de paludisme chronique, survenant chez des sujets exposés de façon persistante, définie par une splénomégalie macroscopique, des taux élevés d'IgM totales, des titres élevés d'anticorps anti-Plasmodium avec un schéma de réponse immunitaire polyclonal, et une réponse clinique aux antipaludiques.

Tests de diagnostic rapide

Des tests immunochromatographiques pour le diagnostic du paludisme. Ces tests sont effectués sur du sang capillaire prélevé par piqûre au doigt et détectent la présence d'antigènes plasmodiaux, soit pan-spécifiques (comme la lactate déshydrogénase), soit spécifiques à l'espèce (comme la protéine 2 riche en histidine).

4. METHODOLOGIE

4.1. Cadre et Site d'étude

Cette étude entre dans le cadre d'un projet de recherche sur la diversité génomique du *Plasmodium* au Mali financé par le DELTAS Africa, une initiative de l'Académie Africaine des Sciences à travers le Centre Ouest Africain de Biologie Cellulaire des Pathogènes Infectieux (West African Centre for Cell Biology of Infectious Pathogens WACCBIP) basé à l'Université du Ghana (Grant DEL-15-007 : Awandare). Au cours de cette étude, nous avons aussi bénéficié de l'accompagnement technique de l'Institut Sanger du Royaume Uni dans le cadre du consortium « MalariaGEN ».

Les patients ont été enrôlés dans le village de Kéniéroba situé le long du fleuve Niger dans la savane forestière de type guinéen au Mali. Le paludisme y est stable et endémique avec d'intense transmission correspondant à la saison des pluies (juin à octobre). Il existe une transmission annuelle faible du paludisme tout le long de la saison sèche (novembre à mai) à cause de la proximité du fleuve Niger et gîtes larvaires permanentes.

4.2. Situation géographique, climatique et hydrographique du village de Kéniéroba

Le village de Kéniéroba est situé le long du fleuve Niger (ou fleuve Djoliba) qui constitue le principal réseau hydrographique. La couverture végétale originale rencontrée sous un climat soudano-guinéen marque la transition entre la savane arborée et la forêt guinéenne. Ce type de végétation existe encore à l'état actuel au niveau des bois sacrés et le long du fleuve Niger.

La savane arborée constitue la principale formation végétale avec quelques galeries forestières. On distingue :

- une strate arborée avec les espèces telles que *Bombax costatum* (Kapokier), *Vitellaria paradoxa* C.F. Gaertn. (Karité), *Parkia biglobosa* Jacq. (Néré), *Tamarindus indica* L. (Tamarinier), *Manguifera indica* L. (Manguier) ;
- une strate arbustive composée de *Combretum micranthum* G. Don (Kinkéliba), *Guieras senegalensis* J F.Gmel (kundièn bambara), *Cassia sieberiana* DC (case de sieber, Sindja (Pular) ;

- une strate herbacée ou savane de graminées dont *Cymbopogon giganteus* Chiov. (Tièkala), *Pennisetum pedicellatum* Trin et *Andropogon sp* (Ouaga) ;
- une galerie forestière caractéristique de la savane guinéenne se forme le long du fleuve Niger.

Le village se situe dans une zone climatique soudano-guinéenne où deux grandes saisons se succèdent : la saison des pluies de juin à octobre et la saison sèche de novembre à mai. Une courte saison de transition s'étalant de novembre à janvier que les communautés rurales désignent sous l'appellation vernaculaire de fôbònda qui se caractérise par un adoucissement voire un rafraîchissement des températures par l'arrivée des vents de l'harmattan des côtes atlantiques.

L'habitat de type traditionnel est constitué de cases rondes et rectangulaires en terre battue et aux toitures en chaumes coniques, mais quelques maisons ont des toitures en tôle. Ces différents types de maisons, propices au repos des moustiques, favorisent le contact fréquent entre les moustiques et les hommes responsable de l'agressivité anophélienne élevée. L'environnement physique des villages est propice à la prolifération des moustiques maintenant ainsi la transmission du paludisme. Le village est situé dans une grande plaine qui s'étend jusqu'au fleuve Niger. La plaine présente de nombreuses retenues d'eau pendant la saison des pluies. C'est une plaine de riziculture. Les retenues d'eau avec des crevasses naturelles du sol peuvent être des gîtes larvaires potentiels. Pendant la saison des pluies, il existe des cultures intra-domiciliaires et une prolifération d'herbes sauvages dans le village, contribuant ainsi à augmenter la densité et l'agressivité des moustiques.

La température la plus élevée se situe à ~40°C au mois de mai et la plus basse est voisine de 18°C aux mois de décembre - janvier. La température moyenne annuelle est autour de 23°C. D'une manière générale, le climat y est assez agréable et la végétation est luxuriante.

La faune entomologique est constituée d'invertébrés et d'arthropodes. *Anopheles gambiae* et *An. funestus* abondent dans le village où ils assurent la transmission du paludisme et de la filariose de Bancrofti surtout en saison des pluies. Les simulies transmettent l'onchocercose durant l'hivernage tandis que les glossines (mouche tsé-tsé) transmettent la maladie du sommeil. *Anopheles gambiae* est le vecteur majeur du paludisme rencontré dans la zone d'étude.

4.3. Infrastructures sociaux sanitaires de Kéniéroba

La commune rurale de Bancoumana ou se situe Kéniéroba dispose :

- dans le domaine de l'éducation : dix écoles publiques dont 4 seconds cycles, trois (03) écoles communautaires, sept medersas communautaires et dix Huit (18) centres d'alphabétisation fonctionnels.
- dans le domaine de la santé : quatre dispensaires (Kéniéroba, Djiguidala, Ouoronina et Niamé), cinq maternités rurales, huit dépôts de produits pharmaceutiques, un centre de santé communautaire et une pharmacie privée à Bancoumana.

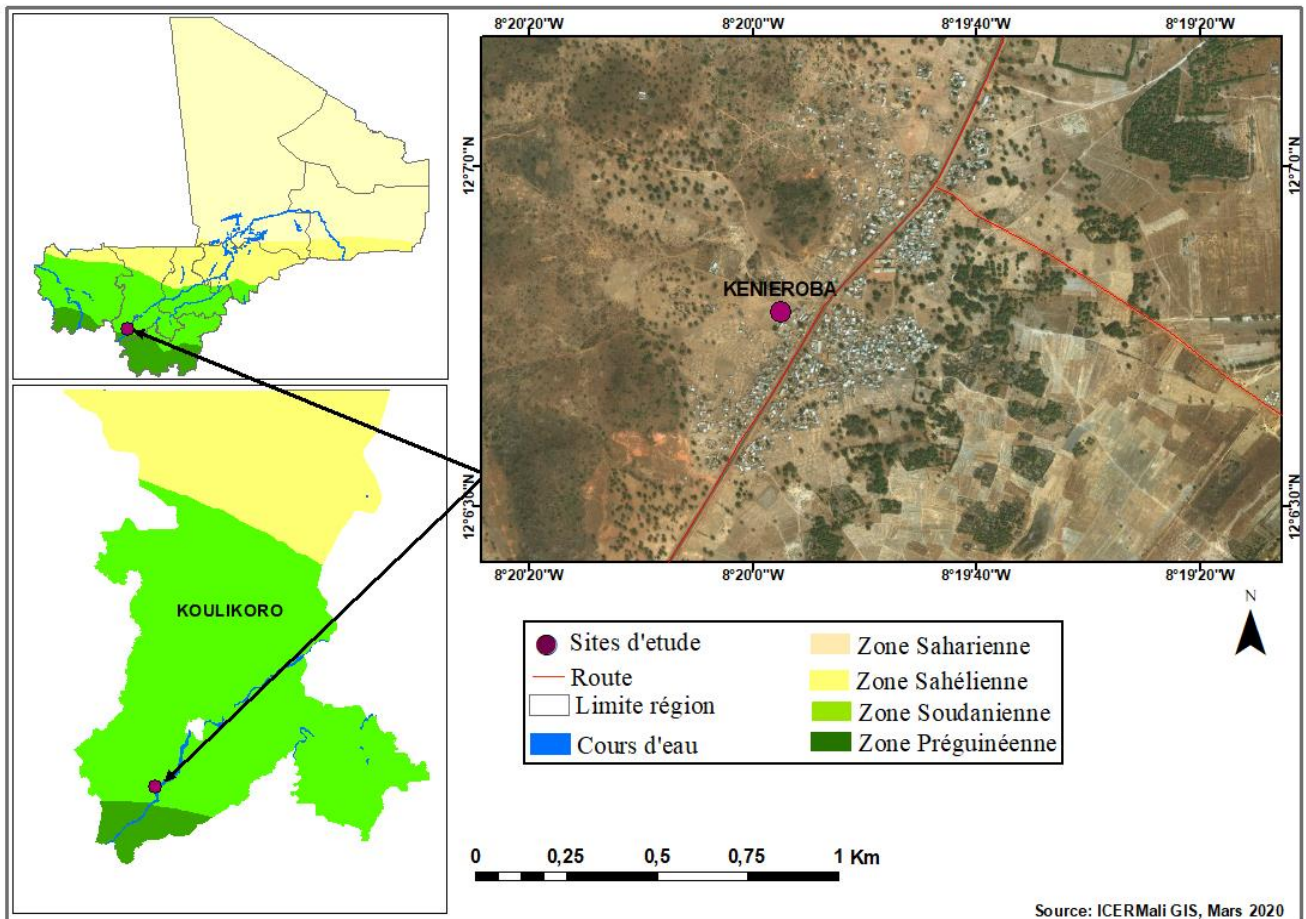


Figure 3. Représentation cartographique du village de Kéniéroba

Source : ICERMali GIS, Mars 2020

4.4. Période d'étude

Nous avons mené une étude allant de mai à décembre 2018, soit 8 mois. Cette période correspondant à la saison de transmission du paludisme.

4.5. Type d'étude

Nous avons mené une étude transversale prospective qui consistait à collecter des données chez les patients reçus en consultation au centre de santé de Kéniéroba.

4.6. Population d'étude

Notre population d'étude était composée de tous les patients âgés d'au moins 6 mois et qui se présentaient au centre de santé avec des symptômes de paludisme.

4.7. Echantillonnage

L'échantillonnage était exhaustif et a concerné tous les patients qui se sont présentés au centre de santé durant la période d'étude, ayant accepté de participer à l'étude et chez qui nous avons réalisé un prélèvement veineux sanguin pour des tests au laboratoire. Au total, 237 patients testés positifs à *P. falciparum* ont été enrôlés parmi lesquels, 25 patients ont été prélevés pour la microsphiltration *ex-vivo* en fonction de la disponibilité du laboratoire à Bamako et de la parasitémie (> 5000tf/ μ l).

4.8. Critères d'inclusion et de non-inclusion

4.8.1. Critères d'inclusion

Au cours de notre étude, nous avons inclus les patients qui remplissaient les conditions suivantes :

- donner son consentement libre et éclairé,
- être âgé d'au moins 6 mois, et
- présenter une infection mono-spécifique à *P. falciparum*.

4.8.2. Critères de non-inclusion

N'étaient pas inclus dans cette étude, les patients qui ont refusé de participer ou ayant présenté une autre espèce de parasite différent de *P. falciparum*.

4.9. Variables mesurées

Nous avons mesuré des variables suivantes :

- ✓ sociodémographiques : âge, sexe, et ethnie
- ✓ clinique : la température ; taille de la rate ; vomissement ; Prostration.
- ✓ biologique : taux d'hémoglobine,
- ✓ parasitologiques : parasitémie, taux de rétention splénique des GR infectés.

4.10. Collecte des données

Les données ont été collectées sur les formulaires de report de cas (CRF) contenant trois sections :

- identification,
- données cliniques, et
- données de laboratoires.

Un contrôle de qualité par comparaison des données cliniques et parasitologiques était effectué à la fin de chaque journée de travail afin de corriger les incohérences avant la validation.

4.11. Déroulement de l'étude

Avant le démarrage de l'étude, une autorisation communautaire a été obtenue auprès du chef de village, des chefs de familles et des autorités communautaires et administratives. Une formation sur le questionnaire et sur les bonnes pratiques de laboratoire et de clinique a été organisée pour l'équipe afin de faciliter la bonne conduite de l'étude.

Une équipe médicale assurait la permanence dans le centre de santé de Kéniéroba pendant toute la période de l'étude pour la détection passive des cas de paludisme.

Pour chaque participant inclus, un interrogatoire suivi d'un examen physique était réalisé. Puis un prélèvement sanguin était par la suite effectué au niveau du doigt pour réaliser quelques examens biologiques (tests de diagnostic rapide (TDR), goutte épaisse (GE) et taux d'hémoglobine (Hb)). Par la suite, un prélèvement veineux était effectué dans un tube EDTA chez les patients qui remplissaient les

critères d'inclusion. Les prélèvements veineux étaient directement acheminés à Bamako au laboratoire d'immunogénétique du MRTC pour la microfiltration.

4.12. Techniques de laboratoire utilisées

Goutte épaisse et frottis mince : la goutte épaisse et le frottis mince confectionnés sur le terrain ont été colorés au Giemsa et lus sur place pour la détection de la présence du *Plasmodium* et l'identification de l'espèce plasmodiale (cf. annexes).

Taux d'hémoglobine : le taux d'hémoglobine a été mesuré en utilisant l'appareil HemoCue® Hb201 et des microcuvettes pour hémoglobine (cf. annexes).

Microfiltration : La rétention splénique des globules rouges infectés par *P. falciparum* chez les patients atteints de paludisme a été étudiée en utilisant la méthode de microfiltration sur embout décrite précédemment par Duez et collaborateurs en 2018 ([124]; cf. Annexes). Chaque échantillon était filtré en duplicata. Les parasitémies moyennes (% des globules rouges infectés dans la suspension de globules rouges) dans les échantillons en amont (PAm) et en aval (PAv) étaient déterminées (figure 4).

Le taux de rétention des globules rouges (TR) pour chaque échantillon a été calculé à l'aide de la formule suivante : $TR = [(PAm - PAv) / PAm] \times 100$ [128]. Le comptage des cellules a été effectué à l'aide d'un cytomètre en flux Accuri C6® (Becton – Dickinson) après marquage au Syto61

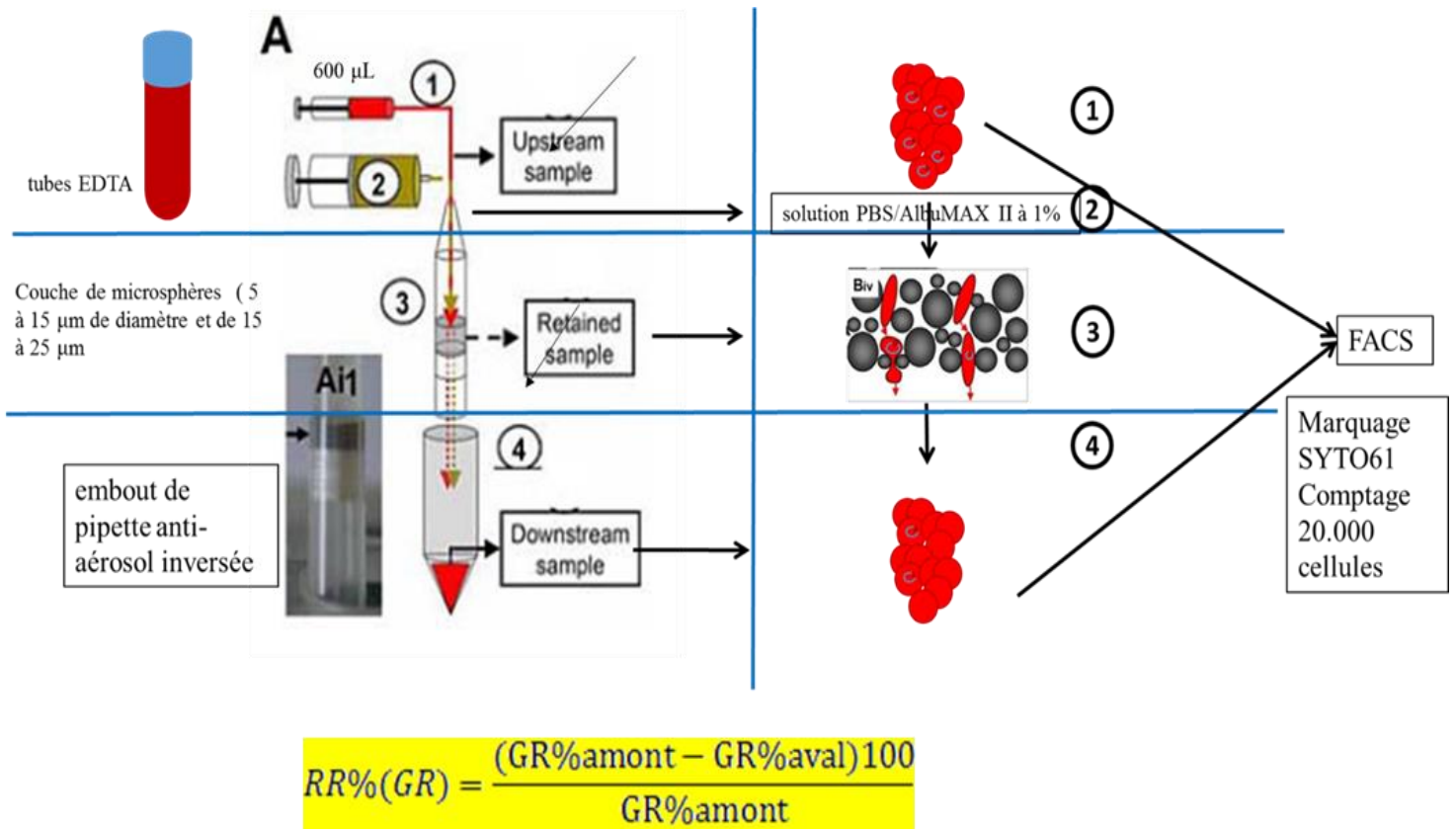


Figure 4: Démarche expérimentale de la microfiltration

Source : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21163923/>

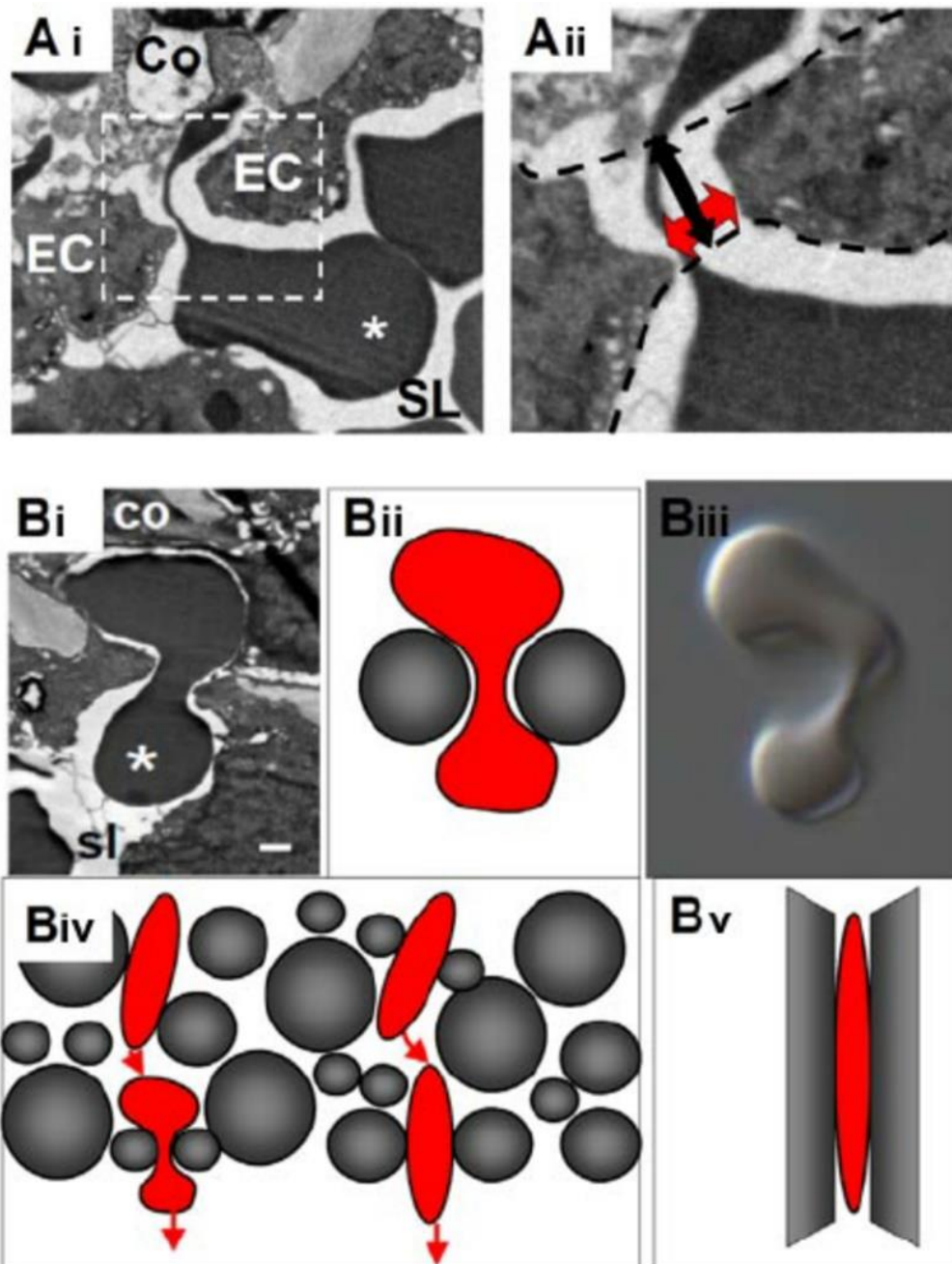


Figure 5 : Dimensions et géométrie des fentes inter endothéliales et déformations correspondantes des globules rouges [43]

Source : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21163923/>

(Ai) Micrographie électronique en transmission (grossissement original de 2000) de globules rouges se pressant à travers une fente inter-endothéliale (c'est-à-dire entre deux cellules endothéliales adjacentes [EC], du cordon [Co] à la lumière du sinus [SL]. L'étoile blanche montre le pôle antérieur des globules rouges). (Aii) Largeur (flèche rouge à deux têtes) et longueur (flèche noire à deux têtes) de la fente inter-endothéliale à fort grossissement d'origine (X5000), mesurées sur 11 images.

(B) Les globules rouges en forme d'haltère tels qu'observés sur un micrographe électronique à transmission (Bi, l'étoile blanche montre le pôle antérieur des globules rouges), ou tels qu'ils sont censés se produire lorsqu'un globule rouge se serre entre des microbilles (Bii), ou tels qu'observés au microscope à contraste de phase après fixation au formaldéhyde des globules rouges engagés dans la couche de microbilles (Biii). (Biv) Voies d'écoulement schématiques et déformation de la forme des globules rouges se pressant à travers un espace étroit et court entre les microbilles, entrecoupées d'espaces plus larges (voie de gauche), ou seulement à travers des espaces plus larges (voie de droite). (Bv) Allongement longitudinal schématique des globules rouges s'écoulant à travers un canal étroit et long dans un tamis en polycarbonate.

4.13. Gestion et analyse des données

Les données ont été saisies sur le logiciel Microsoft Excel 2007 et analysées à l'aide du logiciel Stata version 14. Nous avons utilisés des statistiques descriptives pour résumer les données. Les variables quantitatives sont représentées par des moyennes et de écart type. Les variables catégorielles sont caractérisées comme des fréquences. Le test de student a été utilisé pour la comparaison des moyennes. Le diagramme en boites de moustaches a été utilisé pour visualiser la distribution des données par quartiles. Une régression linéaire simple a été utilisée pour déterminer la corrélation entre les taux de rétention de la rate, de la parasitemie, les taux d'hémoglobine et l'âge. Un seuil de significativité statistique a été fixé à 5%

4.14. Considérations éthiques

Le protocole de cette étude a été approuvé par le comité d'éthique de l'université des sciences, des techniques et des technologies de Bamako (USTTB, cf. Lettre du CE en annexe). La sécurité et la confidentialité ont été assurées par les investigateurs de l'étude, seul le numéro d'étude était porté sur le CRF. Le consentement libre des participants a été obtenu avant leur inclusion dans l'étude.

5. RESULTATS

5.1. Résultats globaux

Au total, nous avons recensé 237 épisodes palustres parmi lesquels 25 patients ont été prélevés pour la microspiltration. La moyenne de densité parasitaire était de $36134,54 \pm 40983,57$ (tfr/UI). Le taux moyen d'hémoglobine était de $11,20 \pm 1,52$ (g/dl) et le taux moyen de rétention splénique des GR infectés était de $65,40 \pm 23,77$ (%) ($n = 25$). Le critère de gravité le plus souvent rencontré était le vomissement associé à la prostration avec 68,4%. L'hyperparasitémie et la convulsion avaient des proportions similaires 10,5% chacune.

5.2. Données sociodémographiques

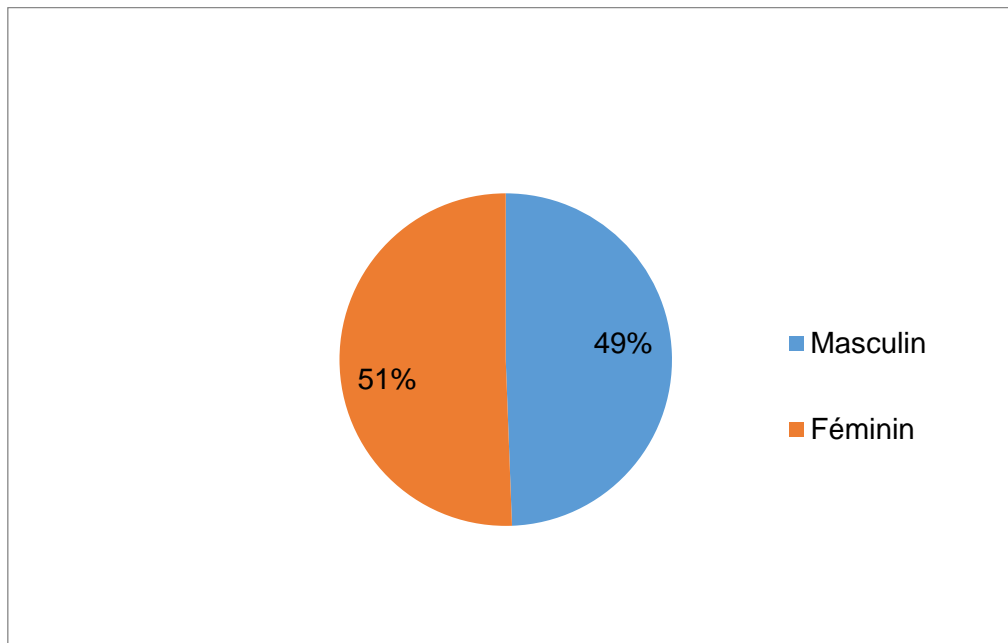


Figure 6 . Répartition des patients de l'étude selon le sexe.

Le sexe féminin était majoritaire avec 51% avec un sex ratio de 0,97.

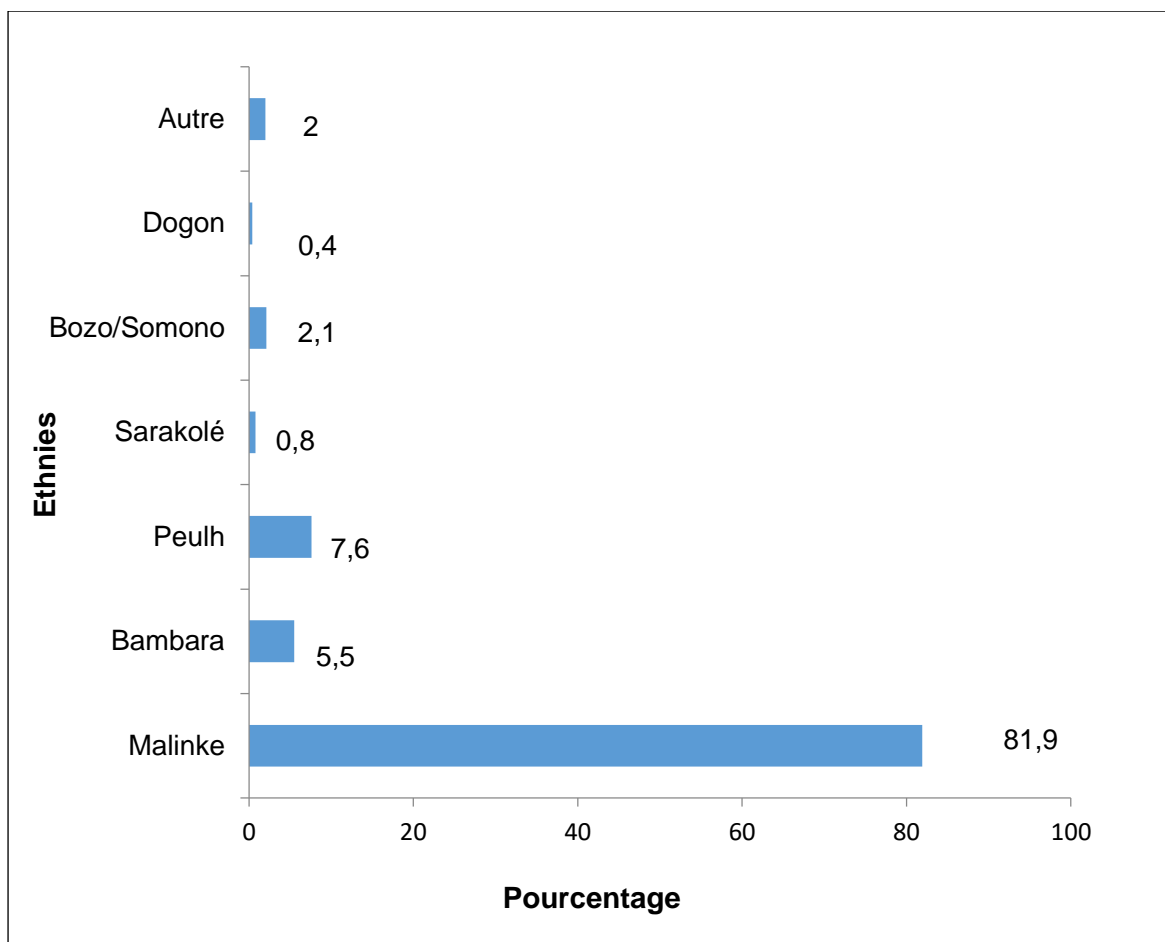


Figure 7 . Répartition des sujets de l'étude selon l'ethnie.

Dans l'étude, les malinkés étaient les plus représentés (81,9%) suivis par les peulhs (7,6%).

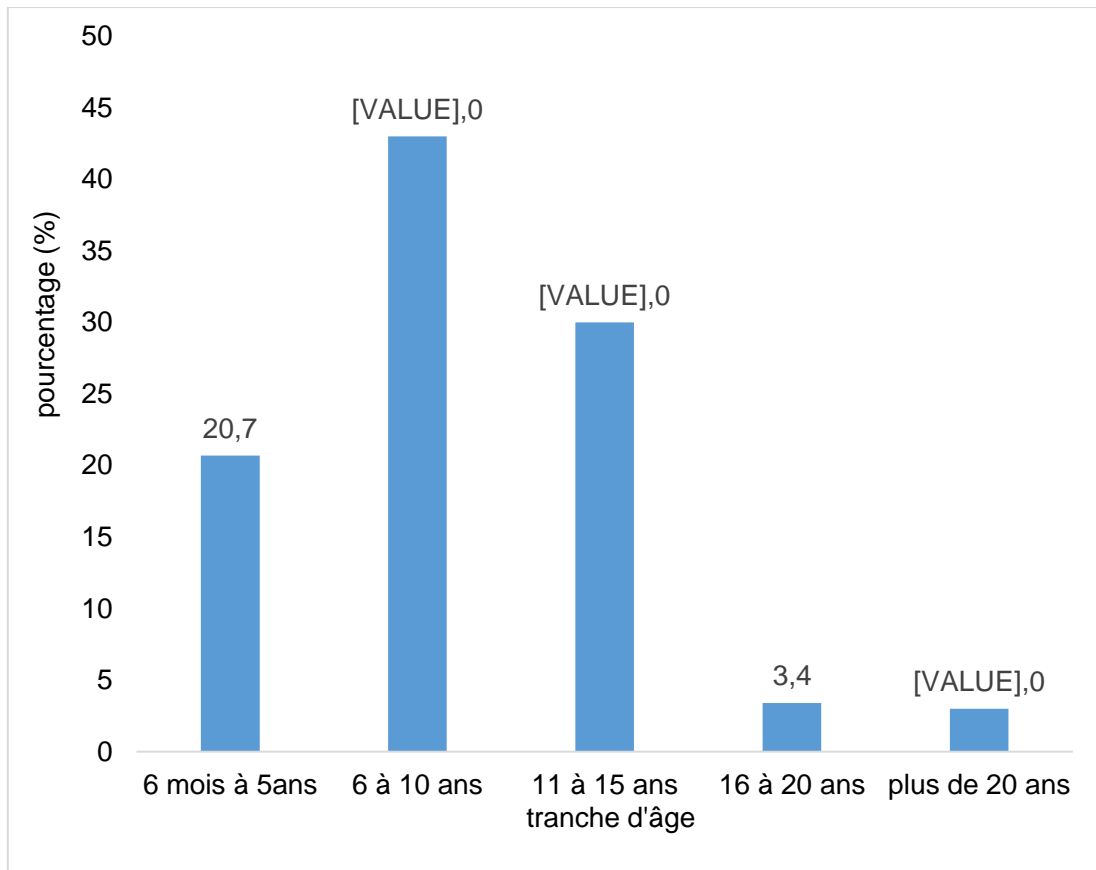


Figure 8. Répartition des patients de l'étude selon les tranches d'âge

La tranche d'âge de 6 à 10 ans était la plus représentée avec 43 % suivie de la tranche d'âge des 11 à 15 ans avec 30%.

Tableau 3. Description de la parasitémie, des taux d'hémoglobines et des taux de rétention des GR infectés

Variabes	Minimum	Moyenne Arithmétique	Maximum
Parasitémie (tfr/μl)	672	36134,54 ± 40983,57	342720
Taux d'hémoglobine (g/dl)	7,10	11,20 ± 1,52	15,40
Taux de rétention (%)	11,11	65,40 ± 23,77	94,44

La moyenne de densité parasitaire était de 36134,54 ± 40983,57 avec un minimum de 672 tfr/ul et un maximum de 342720 tfr/ul.

Le taux moyen d'hémoglobine était de 11,20 ± 1,52 avec un minimum de 7,10 g/dl et un maximum de 15,40 g/dl.

Le taux moyen de rétention splénique des GR infectés était de 65,40 ± 23,77 avec un minimum de 11,11% et un maximum de 94,44%.

5.3. Caractéristiques cliniques

Tableau 4. Répartition des participants selon le phénotype clinique du paludisme

Phénotype du paludisme	Fréquence	Proportion
Paludisme simple	218	92
Paludisme grave	19	8
Total	237	100

La majorité des participants (92%) présentait un accès palustre simple contre seulement 8% d'accès palustre grave.

Tableau 5. Répartition des participants selon les critères de gravité du paludisme

Critères de gravité	Fréquence	Proportion
Hyperparasitémie	2	10,5
Prostration + hyperparasitémie	2	10,5
Vomissement + prostration	13	68,5
Convulsion	2	10,5
Total	19	100,0

La majorité des cas graves de paludisme était l'association entre les vomissements et la prostration (68,4%) tandis que l'hyperparasitémie, la convulsion et l'association prostration plus hyperparasitémie étaient retrouvés à des proportions similaires (10,5%).

Tableau 6. Répartition des participants en fonction de la classification de la splénomégalie de Hackett

Stade clinique de Hackett	Fréquence	Proportion
Stade 0	13	5,5
Stade 1	217	91,5
Stade 2	7	3,0
Total	237	100,0

Dans la plupart des cas, la splénomégalie de stade I selon Hackett était retrouvée chez 91,5% des participants alors que 3% des cas était du stade 2.

5.4. Données analytiques sur le taux de rétention splénique des GR infectés

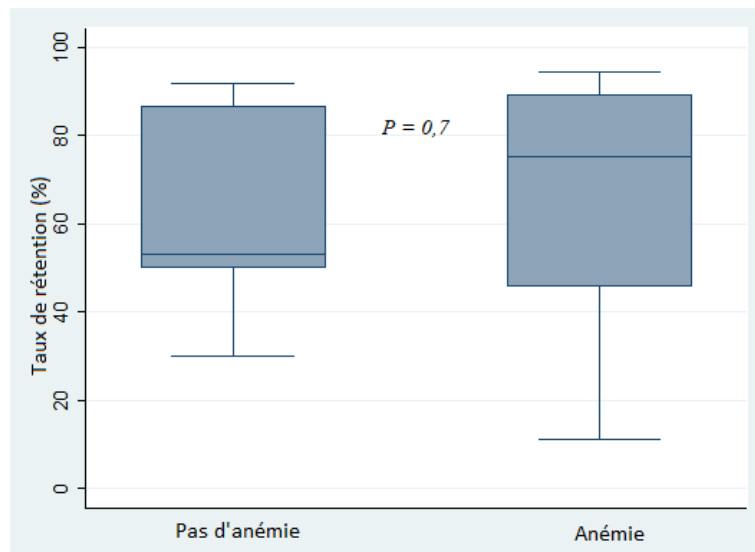


Figure 9. Taux de rétention des GR infectés en fonction de l'anémie

Nous n'avons pas trouvé de différence statistiquement significative du taux de rétention en fonction de l'anémie ($p = 0,7$).

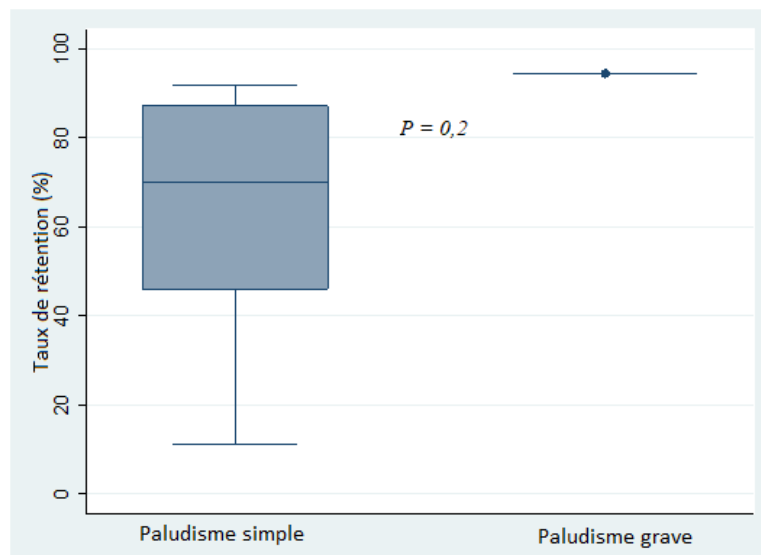


Figure 10. Taux de rétention des GR infectés en fonction du phénotype clinique du Paludisme

Nous n'avons pas observé de différence du taux de rétention *ex-vivo* des GR infectés selon le type d'accès palustre ($p = 0,2$).

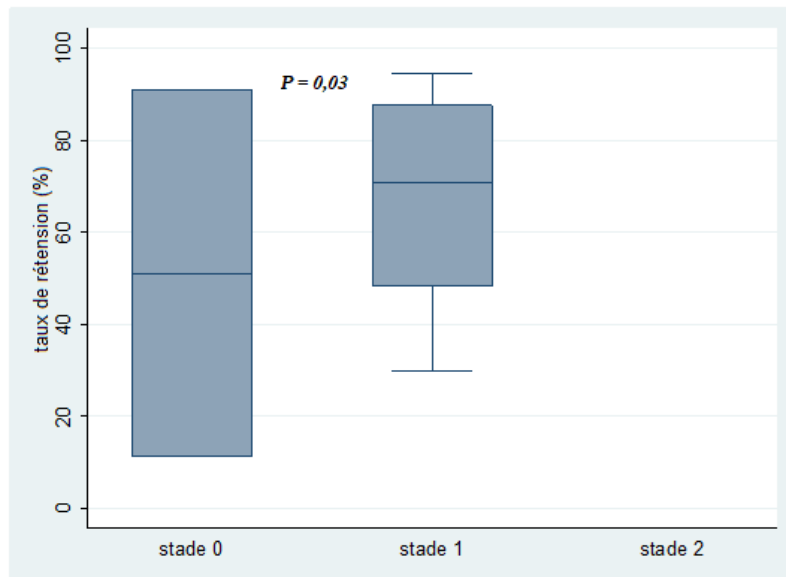


Figure 11. Taux de rétention *ex-vivo* des GR infectés en fonction du stade clinique de Hackett

Nous avons trouvé une différence statistiquement significative entre le taux moyen de rétention splénique des GR infectés et le stade de la splénomégalie selon Hackett ($p = 0,03$).

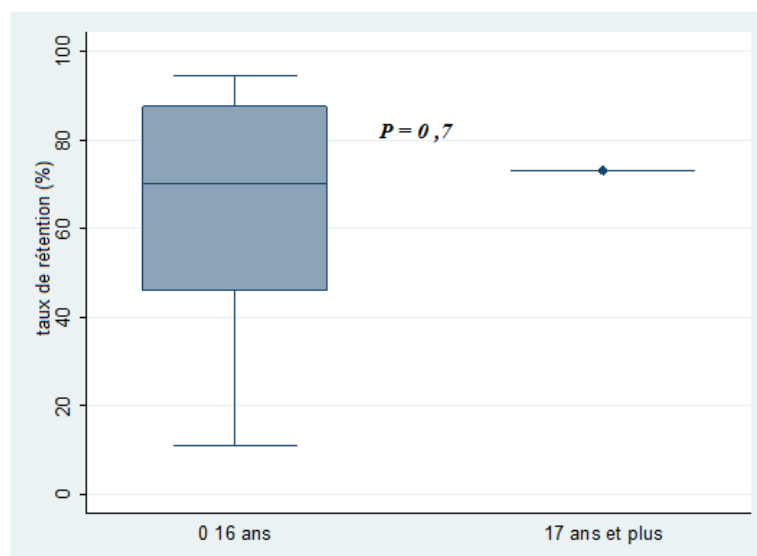


Figure 12. Taux de rétention *ex-vivo* des GR infectés en fonction des tranches d'âge

Nous n'avons pas trouvé de différence statistiquement significative entre les tranches d'âge et le taux de rétention splénique ($p = 0,7$).

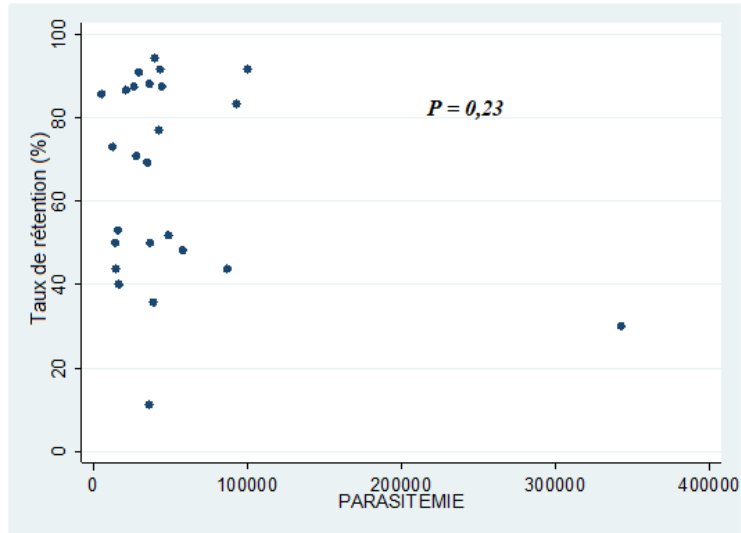


Figure 13. Corrélation entre les parasitémiés et les taux de rétention *ex-vivo* des GR infectés

Nous n'avons pas trouvé de corrélation entre le taux moyen de rétention et la densité parasitaire moyenne ($p = 0,23$).

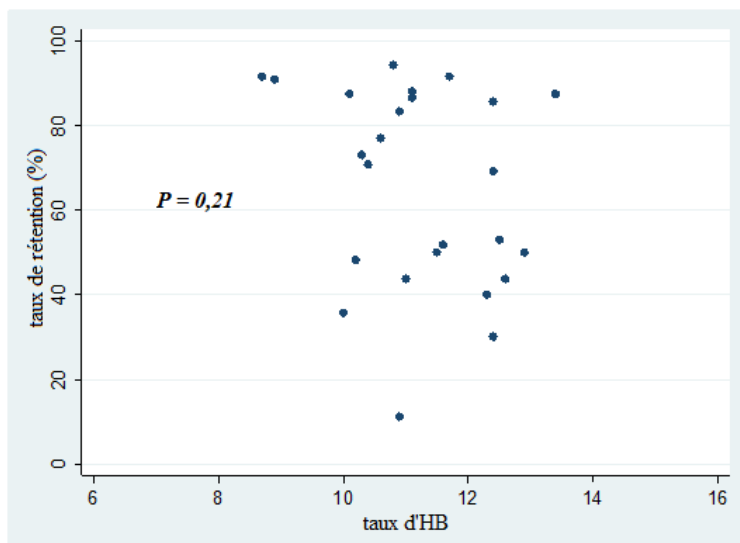


Figure 14. Corrélation entre le taux d'hémoglobine et le taux de rétention *ex-vivo* des GR infectés

Nous n'avons pas trouvé de corrélation entre le taux moyen de rétention et le taux moyen d'hémoglobine ($p = 0,21$).

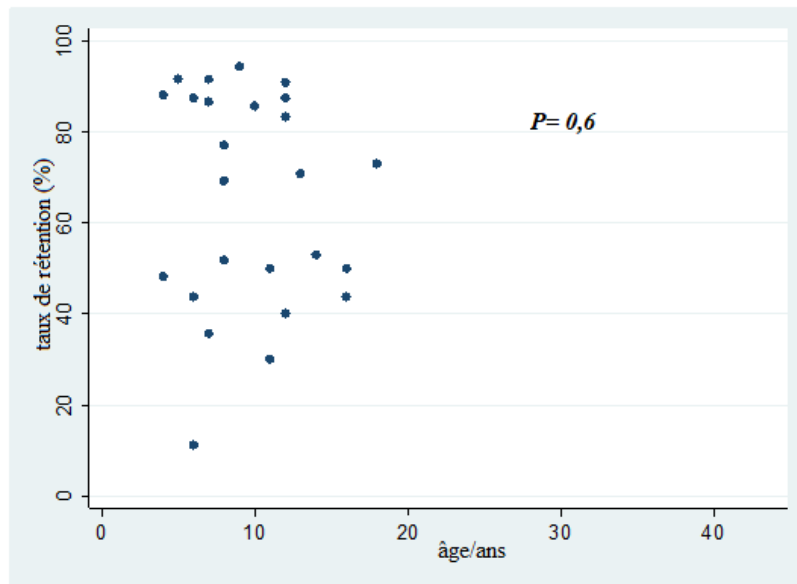


Figure 15. Corrélation entre le taux de rétention *ex-vivo* des GR infectés et l'âge des patients

Nous n'avons pas trouvé de corrélation entre le taux moyen de rétention des GR infectés et l'âge des patients ($p = 0,6$).

6. COMMENTAIRES ET DISCUSSION

Le paludisme est une maladie infectieuse et hématologique. L'infection à *P. falciparum*, est l'une des maladies des globules rouges (GR) les plus fréquentes dans le monde [1]. Au cours du développement intra-érythrocytaire asexué et sexuel de *P. falciparum*, de multiples processus moléculaires contribuent au remodelage des GR infectés et non-infectés [34,33] mais la manière dont ces modifications conduisent à la maladie n'est pas entièrement claire. La rate, qui filtre les globules rouges altérés [8], est probablement un acteur important dans le large spectre des manifestations cliniques du paludisme, en particulier l'anémie.

6.1. Elimination splénique des globules rouges infectés

La rate est depuis toujours un organe mystérieux. Le fait que l'on puisse vivre sans, la confine souvent au deuxième plan. Cependant, de récentes découvertes révèlent de nouvelles fonctions pour cet organe dont l'importance physiopathologique devrait être réévaluée. Beaucoup moins connu que l'hypersplénisme, l'hyposplénisme correspond historiquement à la perte ou l'insuffisance des deux fonctions principales de la rate que sont la filtration d'éléments sanguins altérés ou sénescents et la lutte contre les infections. Le rôle de la rate dans la survenue des différentes manifestations cliniques du paludisme a longtemps été évoqué [3]. Cependant, les preuves directes de ces assertions n'ont toujours pas été rapportées à cause des difficultés d'exploration *in-vivo* de la fonction splénique. Au cours de cette étude, nous nous sommes proposé d'explorer à distance la fonction splénique chez des paludéens en utilisant la technique de microsphiltration *ex-vivo* des GR infectés. Notre étude pilote a porté sur 25 paludéens chez qui des données cliniques et biologiques ainsi que les taux de rétention à la microsphiltration *ex-vivo* ont été collectés.

La microsphiltration est une technique expérimentale de mesure de la déformabilité des GR mimant la rétention splénique des globules rouges peu déformables. Cette technique a été validée sur des suspensions de GR infectés par différents stades de développement du *P. falciparum in-vitro* [12]. Dans cette étude, nous avons utilisé la microsphiltration *ex vivo* réalisée sur des GR issus directement de patients pour explorer l'état fonctionnel de la rate et déterminer son impact sur les paramètres cliniques et biologiques du paludisme. Nous avons émis l'hypothèse que l'état de

déformabilité *ex-vivo* des GR ayant subi la filtration splénique *in-vivo*, est fonction de l'état de la fonction filtrante de la rate chez les patients. Ainsi, des taux élevés de rétention par microfiltration *ex-vivo* seraient associés à un dysfonctionnement de la fonction filtrante splénique chez les patients et vice-versa.

- Les GR peuvent être éliminés de la circulation lorsque des altérations de leur taille, de leur forme et de leur déformabilité sont détectées. Cette fonction est modulée par la structure spécifique de la fente inter-endothéliale de la rate (IES). Les études montrent que la rate sélectionne les GR pour une circulation continue en fonction de leur géométrie, conformément aux observations *in-vivo* antérieures [129]. Une analyse complémentaire fournit les limites critiques reliant la surface et le volume des globules rouges sains au-delà desquelles les globules rouges échouent au "test d'aptitude physique" pour passer à travers l'IES, ce qui soutient les expériences indépendantes [130]. Ces résultats sont également conformes aux résultats expérimentaux indépendants obtenus en mettant en cause des rates humaines avec des globules rouges humains modifiés soit artificiellement [131], soit par infection avec le parasite intra-érythrocytaire *P. falciparum* [123]. Les calculs actuels ne tiennent pas pleinement compte des interactions entre la bicouche lipidique et le cytosquelette, ce qui nécessitera inévitablement un modèle à deux composants plus coûteux en termes de calculs. Les calculs ne tiennent pas non plus compte des effets de la rigidité intrinsèque du complexe membrane-cytosquelette et de la viscosité du cytoplasme sur le passage des globules rouges à travers les fentes spléniques. Cependant, comme observé expérimentalement [130] et prédit, le rapport surface/volume est de loin le paramètre le plus important de la déformabilité des globules rouges.

Les différentes études suggèrent que la rate joue un rôle important dans la détermination des distributions de la taille et de la forme des globules rouges sains. En accord avec les résultats expérimentaux, la perte de surface d'un GR infecté s'avère être un déterminant plus important de la rétention splénique que la rigidité de sa membrane. Le taux moyen de rétention splénique des GR infectés était de $65,40 \pm 23,77$ (tableau 3). Ce résultat est largement supérieur à celui rapportés par Diakité et collaborateurs en 2016 qui trouvent comparant le taux de rétention en fonction du type d'hémoglobine chez les enfants au Mali [132]. Ce taux élevé pourrait s'expliquer

d'une part, par les conditions de filtration notamment le temps écoulé entre le prélèvement et la microsphiltration.

- La déformabilité des érythrocytes fait l'objet d'un contrôle qualité régulier imposé par la rate humaine. Tout érythrocyte incapable de se déformer suffisamment pour franchir les étroits espaces inter-endothéliaux spléniques est mécaniquement retenu, puis éliminé de la circulation. En conditions physiologiques, cela prévient l'obstruction des microvaisseaux par des érythrocytes sénescents ou dont la biomécanique est altérée. La rétention des érythrocytes peu déformables est un important déterminant de la pathogenèse du paludisme et vraisemblablement du bénéfice clinique de la transfusion. Une modulation de la rétention mécanique splénique des érythrocytes a préalablement été proposée comme alternative thérapeutique dans ces deux champs de recherche. Dans ce but, le développement de microplaques pour la filtration érythrocytaire sur tamis microsphériques (microsphiltration) à haut débit a récemment été entrepris [133].
- Récemment, des examens pathologiques et moléculaires complets de la rate (et simultanément du sang périphérique) chez des patients, pour la plupart non traités, subissant une splénectomie dans une région d'Indonésie où *P. falciparum* et *P. vivax* sont très endémiques, ont montré que, par rapport au sang périphérique, les globules rouges parasités non phagocytés se concentrent dans la rate [134]. Ces observations non seulement apportent une certaine substance au rôle protecteur du filtre de la rate dans l'élimination des parasites, mais suggèrent également que la rate pourrait être un abri pour les parasites, en soutenant peut-être un cycle parasitaire intrasplénique cryptique [50,10].

6.2. Rôle de l'élimination splénique des globules rouges infectés dans la genèse de l'anémie

La pathogenèse de l'anémie palustre aiguë est complexe et n'est que partiellement comprise. Elle est associée à l'hémolyse intra- et extravasculaire, à la dysérythropoïèse et à l'élimination d'une plus grande proportion de globules rouges non-infectés que de globules rouges infectés [135]. Plusieurs observations indiquent une contribution splénique à la pathogenèse de l'anémie palustre aiguë. La

congestion de la pulpe rouge est une caractéristique post-mortem clé du paludisme mortel [136,137]. La diminution de la déformabilité des globules rouges, qui déclenche la rétention intrasplénique *ex-vivo*, est corrélée avec le taux d'hémoglobine [138]. La splénomégalie est plus fréquente chez les patients atteints d'anémie palustre grave que dans les autres formes graves, et la clairance splénique des globules rouges est accrue après les accès de paludisme [113]. Enfin, l'érythrophagocytose est accrue en cas de paludisme aigu, et les altérations des globules rouges infectés les rendent sujets à la phagocytose [113]. La fonction phagocytaire des monocytes est également activée dans le cas du paludisme [139]. Le fait que l'érythrophagocytose dans le paludisme se produit principalement dans la rate riche en macrophages reste à démontrer directement chez l'homme. Même si l'anémie est associée à une forte rétention des GR infectés *in-vivo* ce qui devrait se traduire par des taux de rétention *ex-vivo* faibles, nous n'avons pas trouvé de corrélation statistiquement significative entre les taux de rétention *ex-vivo* des GR infectés et le taux d'hémoglobine des patients ($p = 0,21$, figure 14). Notre hypothèse supposait que le taux de rétention faible *ex-vivo* refléterait une rétention splénique forte *in-vivo* qui serait associé à de faibles parasitémies.

6.3. Influence de la rate sur l'immunité innée et l'âge comme facteur indépendant de la gravité du paludisme

- Dans les zones à forte transmission, l'infection à *P. falciparum* n'est grave que chez les jeunes enfants, probablement parce que les enfants plus âgés et les adultes sont protégés par une immunité acquise [72,37]. De manière inattendue, chez les transmigrants non-immunisés [85], les voyageurs [86], et les patients faiblement immunisés en Asie du Sud-Est [87] ou au Vanuatu [88], l'infection à *P. falciparum* est moins fréquemment grave ou mortelle chez les enfants que chez les adultes. Chez les patients atteints de paludisme grave [87], l'incidence de l'hyperparasitémie et de la mortalité augmente avec l'âge, alors que l'anémie palustre grave est plus fréquente chez les enfants et moins habituellement mortelle que le paludisme cérébral [87,36]. Les patients plus âgés peuvent avoir des mécanismes de clairance parasitaire moins efficaces et une clairance des globules rouges non-infectés moins efficace que les patients plus jeunes [87].

- En résumé, l'âge de l'hôte comme facteur de risque de paludisme cérébral et d'anémie palustre grave, est partiellement indépendant de l'intensité de la transmission [84] et reflète donc non seulement l'acquisition d'une immunité, mais aussi des mécanismes de protection innée dépendant de l'âge, avec un profil "inversé" (c'est-à-dire que les enfants naïfs ont un risque plus faible de paludisme grave potentiellement mortel que les adultes naïfs). Un déterminant essentiel du risque de maladie au cours de la vie est donc "la capacité à développer une immunité spécifique à l'antigène tôt dans la vie, pendant une période où les mécanismes de protection innée peuvent fonctionner" [51].
- Nous n'avons pas trouvé de corrélation entre le taux de rétention et l'âge ($p = 0,7$ figure 12). L'âge aussi pourrait influencer la fonction filtrante de la rate chez les sujets vivant en zone d'endémie palustre. En effet, en zones d'endémie palustre, les patients sont plus susceptibles à développer une insuffisance splénique à cause des sollicitations successives de la rate au cours de multiples infections [3,140]. L'âge est un marqueur surrogatoire de l'état d'immunité d'une personne vivant en zone endémique palustre. Chez les voyageurs non immunisés traités à l'artémisinine, le *pitting* est un mécanisme majeur de l'élimination des parasites [141]. Chez les enfants maliens traités à l'artémisinine, les mécanismes de clairance peuvent être plus complexes et influencés par le statut immunitaire de l'hôte. Le *pitting* semble contribuer de manière importante à l'élimination des parasites chez les nourrissons, qui devraient avoir une faible immunité humorale antiparasitaire. Cependant, chez les enfants plus âgés, l'immunité est en corrélation avec une élimination encore plus rapide du parasite, probablement par phagocytose à médiation immunitaire, et peut-être, par rétention splénique sans *pitting* [142]. Le *pitting* est marqué chez les patients traités avec de l'artésunate intraveineux ou avec des dérivés de l'artémisinine par voie orale, et beaucoup plus faibles après un traitement à la quinine, à la méfloquine ou à l'atovaquone-proguanil [143].
- Comme le montrent les perfusions *ex-vivo* de rate humaine avec des globules rouges infectés par *P. falciparum*, la rate conserve une proportion (environ la moitié) de globules rouges infectés par les parasites jeunes, en plus de la rétention attendue, presque complète de globules rouges infectés contenant des schizontes [43]. La rétention mécanique des globules rouges contenant des schizontes devrait

avoir un faible impact pathogène *in-vivo*, car la majorité des formes matures cytoadhèrent dans d'autres organes, ce qui les empêche d'être filtrés par la rate. La rétention des anneaux, qui affecte un composant principalement circulant de la biomasse du parasite, a lieu dans la pulpe rouge. Ce mécanisme, qui est difficile à explorer directement chez l'homme, devrait réduire la charge parasitaire circulante, réduisant ainsi la biomasse parasitaire susceptible d'être séquestrée dans d'autres organes [43]. L'analyse de la parasitémie en fonction du taux de rétention *ex-vivo* n'a pas révélé de corrélation entre ces deux variables ($p = 0,23$, figure 13). Les parasitémies élevées chez les patients atteints de paludisme sont associées à des manifestations graves de la maladie comme le neuropaludisme qui semble être en faveur d'une faible rétention splénique *in-vivo* [7]. L'absence de corrélation entre la parasitémie et le taux de rétention *ex-vivo* dans notre étude pourrait s'expliquer par le fait que nous avons travaillé uniquement sur des parasitémies supérieures à 5000 parasites par microlitre.

- Comme attendu, nous avons observé de forts taux de rétention *ex-vivo* de GR infectés provenant de patients présentant une splénomégalie selon la classification de Hackett ($p = 0,03$). En effet, le stade clinique de Hackett définit le degré de splénomégalie elle-même associée à un hyposplénisme. La pathogenèse de l'anémie chez les patients atteints d'infection à *P. falciparum* est multifactorielle. Toutefois, l'efficacité de l'administration continue ou intermittente des antipaludiques pour prévenir l'anémie palustre grave chez les enfants africains a indiqué que l'infection à *P. falciparum* est un facteur majeur et direct de cette complication [79]. Chez les sujets naïfs présentant une infection aiguë à *P. falciparum* et sans comorbidité, la perte des globules rouges est un mécanisme important de l'anémie [39]. Bien qu'elle soit souvent présente dans l'infection aiguë [80], la dysérythropoïèse est probablement un facteur mineur de l'anémie palustre aiguë, car l'abrogation complète de l'érythropoïèse seule n'entraîne qu'une diminution de 1% de la biomasse des globules rouges par jour [81].
- Inversement, chez les patients présentant un portage prolongé de *P. falciparum* de bas grade, l'inhibition de l'érythropoïèse joue probablement un rôle prédominant [44]. A l'extrémité chronique du continuum, l'hypersplénisme et l'hémolyse à médiation par anticorps sont considérés comme les mécanismes prédominants de l'anémie

chez les patients atteints de splénomégalie palustre hyperréactive [73]. L'anémie palustre sévère est donc plus un syndrome qu'une maladie, reflétant divers processus pathogènes. L'anémie aiguë chez les patients naïfs résulte probablement d'un nombre réduit de mécanismes, ce qui permet une analyse plus simple de la pathogénèse [39]. Au moins dans certains contextes, l'anémie palustre sévère a une évolution principalement aiguë [37,82] ce qui souligne encore la perte de globules rouges comme mécanisme important.

- Récemment, un nouveau paradigme a été proposé [43], selon lequel l'étendue de la rétention des globules rouges dans la rate, un mécanisme de perte des globules rouges, détermine non seulement la concentration d'hémoglobine et la taille de la rate, mais affecte également la charge parasitaire. En effet, comme la rétention des anneaux dans la rate correspond à la clairance des parasites circulants, elle réduit probablement la vitesse d'augmentation de la charge parasitaire et donc le rythme auquel l'infection se déroule. Ce lien entre la rétention innée des anneaux, d'une part, et la rétention innée des nGR, d'autre part, est parfaitement conforme aux observations selon lesquelles, chez les sujets naïfs ou faiblement immunisés, la splénomégalie est corrélée à une diminution de l'hématocrite ou du taux d'hémoglobine [58,39,52] et que la durée de la fièvre (de son apparition au diagnostic) est plus longue en présence d'une anémie [52,83].
- Il a également été proposé que les récepteurs des cellules endothéliales cérébrales - nécessaires à la séquestration des formes matures conduisant au paludisme cérébral sont absents chez les nourrissons et apparaissent plus tard dans l'enfance [37]. Comme les nourrissons dépourvus de récepteurs endothéliaux cérébraux seraient naturellement protégés du paludisme cérébral, les infections à *P. falciparum* ne seraient pas interrompues par le coma ou la mort, ce qui laisserait plus de temps à l'anémie et à la splénomégalie pour se développer. À l'inverse, les enfants plus âgés deviendraient comateux, seraient traités ou mourraient avant que l'anémie ne se développe. Dans un tel scénario, la fréquence plus élevée de l'anémie et de la splénomégalie chez les nourrissons reflèterait principalement la longue progression de l'infection.

- Deux observations vont cependant à l'encontre de ce modèle. Premièrement, la splénomégalie est associée à une perte de globules rouges indépendamment de la durée de l'infection [39]. Deuxièmement, la parasitémie est plus faible chez les enfants atteints d'une anémie palustre grave que chez ceux atteints de paludisme cérébral [52], malgré la durée plus longue de la fièvre chez les premiers [52,39,83]. L'hypothèse selon laquelle l'âge module la rigueur de la rétention splénique des anneaux et des globules rouges universels concilie davantage d'observations épidémiologiques que l'absence de récepteur cérébral chez les nourrissons [44]. Elle prédit que le risque de paludisme cérébral augmente et que le risque d'anémie palustre sévère diminue avec l'âge des enfants [84], ce qui suggère fortement que le même mécanisme peut tout à fait précipiter une anémie palustre sévère et protéger contre le paludisme cérébral [44].

Ces différentes études soulignent l'impact potentiellement pathogène des variations de la déformabilité des globules rouges ou de la rigueur de la détection splénique des globules rouges dans les états physiologiques ou pathologiques. Les polymorphismes de l'âge et de l'hémoglobine peuvent tous deux être associés à ces variations. La rate a fait l'objet d'études approfondies, dans des modèles animaux et chez l'homme, d'un point de vue immunologique. L'exploration de la manière dont la rate filtre de façon innée les globules rouges normaux et altérés, et finit par les éliminer (principalement dans la pulpe rouge), avait retenu l'attention des chercheurs il y a un demi-siècle. De nouveaux outils ont permis de progresser dans ce domaine au cours de la dernière décennie.

Une meilleure compréhension de la physiologie splénique humaine a permis de mettre en lumière le double rôle "Dr Jekyll et Mr Hyde-like" de la rate dans le paludisme chez l'homme. La rate limite l'augmentation de la biomasse parasitaire, réduisant ainsi la séquestration et le dysfonctionnement microvasculaire dans les principaux organes cibles comme le cerveau, mais contribue probablement de façon concomitante à l'anémie palustre. De même, l'épépinage des globules rouges infectés par la rate après un traitement à l'artémisinine relarguant en circulation des GR épépinés (pitting) réduit la perte de globules rouges pendant la thérapie. Cependant ce phénomène induit parfois une hémolyse retardée et cliniquement significative. Les lignes de recherche actuelles et futures étudieront le domaine

prometteur de l'induction de la rétention splénique des gamétocytes de *Plasmodium*, un facteur potentiellement important dans les tentatives d'élimination du paludisme. De nouveaux outils exploratoires seront notamment importants pour étudier le rôle de la défense antipaludique de l'immunité cellulaire, un processus essentiellement étudié par des études *in-vitro* et des modèles animaux jusqu'à présent.

8. LIMITES DE NOTRE ETUDE

Nous avons mené une étude pilote dont les résultats ne sont pas suffisants pour tirer une conclusion. La présente étude a le mérite de développer le concept d'exploration de la fonction splénique à travers la microsphiltration ex-vivo des GR infectés. Cependant, il apparaît la nécessité de mieux élaborer la démarche de recherche et de travailler sur un plus grand échantillon.

En zone d'endémie, il serait intéressant d'étudier le risque du paludisme chez les personnes splénectomisées ou chez les patients présentant une altération partielle de la fonction splénique. De même, chez les sujets splénectomisés, d'autres organes riches en macrophages, tels que le foie ou le poumon, exercent-ils une défense antipalustre aussi efficace que la rate ?

Les globules rouges infectés par le *Plasmodium* qui sont conservés dans la rate sont-ils intrinsèquement différents de ceux qui s'y trouvent ? La différence est-elle liée au parasite ou au RBC de l'hôte ? Quelles protéines parasitaires et quels récepteurs de l'hôte sont particulièrement impliqués dans la rétention splénique des globules rouges infectés ? Dans quelle mesure l'érythrophagocytose intrasplénique contribue-t-elle à l'anémie palustre grave ?

Une étude sur le rôle pathogène de la rate dans l'infection chronique serait d'une importance en vue d'étudier les contributions relatives de la rétention mécanique intrasplénique et de la phagocytose des globules rouges dans l'anémie palustre chronique. Enfin, il serait utile d'étudier la fonction immunitaire de la rate humaine dans le paludisme - notamment la réponse immunitaire humorale précoce au *Plasmodium*, en particulier la réponse IgM.

7. CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

7.1. Conclusion

Cette étude pilote nous a permis de tester la faisabilité d'une exploration *ex-vivo* de la fonction filtrante de la rate chez des patients atteints de paludisme au Mali. Des corrections méthodologiques associées à une taille élevée de l'échantillon permettront de générer des données permettant de tirer des conclusions fiables.

7.2. Recommandations

A la fin de notre étude et vu nos résultats, nous pouvons formuler les recommandations suivantes :

Aux chercheurs

Evaluer la physiopathologie de la rate dans les différentes formes cliniques de l'infection palustre ;

Aux autorités

Faciliter la recherche fondamentale et appliquée dans le domaine des maladies infectieuses et particulièrement du paludisme au Mali.

A la population

Adhérer aux protocoles de recherche clinique afin de faciliter la collecte des informations pouvant aider à l'amélioration de la prise en charge des pathologies courantes.

9. REFERENCE BIBLIOGRAPHIES

1. (OMS), O.M.d.I.s. *RAPPORT 2020 SUR LE PALUDISME DANS LE MONDE*. 2020; Available from: https://www.who.int/docs/default-source/malaria/world-malaria-reports/world-malaria-report-2020-briefing-kit-fre.pdf?sfvrsn=69c55393_7 consulté le 12/01/2020.
2. Dalko, E., et al., *Multifaceted Role of Heme during Severe Plasmodium falciparum Infections in India*. *Infect Immun*, 2015. **83**(10): p. 3793-9.
3. Gomez-Perez, G.P., et al., *Plasmodium falciparum malaria and invasive bacterial co-infection in young African children: the dysfunctional spleen hypothesis*. *Malar J*, 2014. **13**: p. 335.
4. Schwartz, R.S., et al., *Altered plasma membrane phospholipid organization in Plasmodium falciparum-infected human erythrocytes*. *Blood*, 1987. **69**(2): p. 401-7.
5. Cooke, B.M., N. Mohandas, and R.L. Coppel, *The malaria-infected red blood cell: structural and functional changes*. *Adv Parasitol*, 2001. **50**: p. 1-86.
6. Scherf, A., et al., *Molecular mechanisms of Plasmodium falciparum placental adhesion*. *Cell Microbiol*, 2001. **3**(3): p. 125-31.
7. Huang, S., et al., *In vivo splenic clearance correlates with in vitro deformability of red blood cells from Plasmodium yoelii-infected mice*. *Infect Immun*, 2014. **82**(6): p. 2532-41.
8. Groom, A.C., E.E. Schmidt, and I.C. MacDonald, *Microcirculatory pathways and blood flow in spleen: new insights from washout kinetics, corrosion casts, and quantitative intravital videomicroscopy*. *Scanning Microsc*, 1991. **5**(1): p. 159-73; discussion 173-4.
9. Chotivanich, K., et al., *Central role of the spleen in malaria parasite clearance*. *J Infect Dis*, 2002. **185**(10): p. 1538-41.
10. Buffet, P.A., et al., *The pathogenesis of Plasmodium falciparum malaria in humans: insights from splenic physiology*. *Blood*, 2011. **117**(2): p. 381-92.
11. Buffet, P.A., et al., *Ex vivo perfusion of human spleens maintains clearing and processing functions*. *Blood*, 2006. **107**(9): p. 3745-52.
12. Deplaine, G., et al., *The sensing of poorly deformable red blood cells by the human spleen can be mimicked in vitro*. *Blood*, 2011. **117**(8): p. e88-95.
13. Agnero, M.A., et al., *Malaria-Infected Red Blood Cell Analysis through Optical and Biochemical Parameters Using the Transport of Intensity Equation and the Microscope's Optical Properties*. *Sensors (Basel)*, 2019. **19**(14).
14. Kayentao, K., et al., *Impact evaluation of malaria control interventions on morbidity and all-cause child mortality in Mali, 2000-2012*. *Malar J*, 2018. **17**(1): p. 424.
15. Macdonald, G., *Epidemiological basis of malaria control*. *Bull World Health Organ*, 1956. **15**(3-5): p. 613-26.

16. Beier, J.C., G.F. Killeen, and J.I. Githure, *Short report: entomologic inoculation rates and Plasmodium falciparum malaria prevalence in Africa*. Am J Trop Med Hyg, 1999. **61**(1): p. 109-13.
17. OMS. *Rapport sur la santé dans le monde, 2008*. [rapport] 2008 [cited 149 pages; 149]. Available from: https://www.who.int/whr/2008/08_report_fr.pdf?ua=1 (consulté le 13/08/2020).
18. Iro, A., et al., *Transfusional Malaria and Associated Factors at the National Blood Transfusion Center of Niamey-Niger*. J Trop Med, 2019. **2019**: p. 7290852.
19. OMS, *world malaria report 2019*. 2019: p. 232.
20. Matubi, E.M., et al., *[Determination of biological and entomological parameters of Anopheles gambiae sl in malaria transmission in Bandundu city, Democratic Republic of Congo]*. Pan Afr Med J, 2015. **22**: p. 108.
21. Toro-Moreno, M., et al., *RNA-Seq Analysis Illuminates the Early Stages of Plasmodium Liver Infection*. mBio, 2020. **11**(1).
22. Baird, J.K., et al., *Resistance to chloroquine by Plasmodium vivax in Irian Jaya, Indonesia*. Am J Trop Med Hyg, 1991. **44**(5): p. 547-52.
23. Collins, W.E., et al., *The susceptibility of the Indonesian I/CDC strain of Plasmodium vivax to chloroquine*. J Parasitol, 1992. **78**(2): p. 344-9.
24. Sutherland, C.J., et al., *Two nonrecombining sympatric forms of the human malaria parasite Plasmodium ovale occur globally*. J Infect Dis, 2010. **201**(10): p. 1544-50.
25. Singh, B., et al., *A large focus of naturally acquired Plasmodium knowlesi infections in human beings*. Lancet, 2004. **363**(9414): p. 1017-24.
26. White, N.J., *Plasmodium knowlesi: the fifth human malaria parasite*. Clin Infect Dis, 2008. **46**(2): p. 172-3.
27. Singh, B. and C. Daneshvar, *Human infections and detection of Plasmodium knowlesi*. Clin Microbiol Rev, 2013. **26**(2): p. 165-84.
28. Bannister, L.H. and G.H. Mitchell, *The malaria merozoite, forty years on*. Parasitology, 2009. **136**(12): p. 1435-44.
29. Dei-Cas, E., *Physiopathologie du paludisme*. 1986: p. 9.
30. Newton, C.R. and S. Krishna, *Severe falciparum malaria in children: current understanding of pathophysiology and supportive treatment*. Pharmacol Ther, 1998. **79**(1): p. 1-53.
31. Lacerda, H.A.d.P.M.F.T.B.L.M.J.J.L.M.V.G., *The role of the spleen in malaria*. 2012: p. 19.
32. William, B.M. and G.R. Corazza, *Hyposplenism: a comprehensive review. Part I: basic concepts and causes*. Hematology, 2007. **12**(1): p. 1-13.

33. Layez, C., et al., *Plasmodium falciparum* rhoptry protein RSP2 triggers destruction of the erythroid lineage. *Blood*, 2005. **106**(10): p. 3632-8.
34. Maier, A.G., et al., *Malaria parasite proteins that remodel the host erythrocyte*. *Nat Rev Microbiol*, 2009. **7**(5): p. 341-54.
35. Steiniger, B., E.M. Timphus, and P.J. Barth, *The splenic marginal zone in humans and rodents: an enigmatic compartment and its inhabitants*. *Histochem Cell Biol*, 2006. **126**(6): p. 641-8.
36. Marsh, K., et al., *Indicators of life-threatening malaria in African children*. *N Engl J Med*, 1995. **332**(21): p. 1399-404.
37. Snow, R.W., et al., *Severe childhood malaria in two areas of markedly different falciparum transmission in east Africa*. *Acta Trop*, 1994. **57**(4): p. 289-300.
38. Lamikanra, A.A., et al., *Malarial anemia: of mice and men*. *Blood*, 2007. **110**(1): p. 18-28.
39. Price, R.N., et al., *Factors contributing to anemia after uncomplicated falciparum malaria*. *Am J Trop Med Hyg*, 2001. **65**(5): p. 614-22.
40. Cranston, H.A., et al., *Plasmodium falciparum* maturation abolishes physiologic red cell deformability. *Science*, 1984. **223**(4634): p. 400-3.
41. Nash, G.B., et al., *Abnormalities in the mechanical properties of red blood cells caused by Plasmodium falciparum*. *Blood*, 1989. **74**(2): p. 855-61.
42. Li, J., et al., *Spectrin-level modeling of the cytoskeleton and optical tweezers stretching of the erythrocyte*. *Biophys J*, 2005. **88**(5): p. 3707-19.
43. Safeukui, I., et al., *Retention of Plasmodium falciparum ring-infected erythrocytes in the slow, open microcirculation of the human spleen*. *Blood*, 2008. **112**(6): p. 2520-8.
44. Buffet, P.A., et al., *Retention of erythrocytes in the spleen: a double-edged process in human malaria*. *Curr Opin Hematol*, 2009. **16**(3): p. 157-64.
45. Mills, J.P., et al., *Effect of plasmodial RESA protein on deformability of human red blood cells harboring Plasmodium falciparum*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007. **104**(22): p. 9213-7.
46. Dondorp, A.M., et al., *Abnormal blood flow and red blood cell deformability in severe malaria*. *Parasitol Today*, 2000. **16**(6): p. 228-32.
47. Pouvelle, B., et al., *Cytoadhesion of Plasmodium falciparum ring-stage-infected erythrocytes*. *Nat Med*, 2000. **6**(11): p. 1264-8.
48. Awah, N.W., et al., *Mechanisms of malarial anaemia: potential involvement of the Plasmodium falciparum low molecular weight rhoptry-associated proteins*. *Acta Trop*, 2009. **112**(3): p. 295-302.
49. Israeli, A., M. Shapiro, and M.A. Ephros, *Plasmodium falciparum malaria in an asplenic man*. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 1987. **81**(2): p. 233-4.

50. Bachmann, A., et al., *Absence of erythrocyte sequestration and lack of multicopy gene family expression in Plasmodium falciparum from a splenectomized malaria patient*. PLoS One, 2009. **4**(10): p. e7459.
51. Snow, R.W., et al., *Relation between severe malaria morbidity in children and level of Plasmodium falciparum transmission in Africa*. Lancet, 1997. **349**(9066): p. 1650-4.
52. Giha, H.A., et al., *Severe malaria in an unstable setting: clinical and laboratory correlates of cerebral malaria and severe malarial anemia and a paradigm for a simplified severity scoring*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2009. **28**(6): p. 661-5.
53. Urban, B.C., et al., *Plasmodium falciparum-infected erythrocytes modulate the maturation of dendritic cells*. Nature, 1999. **400**(6739): p. 73-7.
54. Aikawa, M., et al., *The pathology of human cerebral malaria*. Am J Trop Med Hyg, 1990. **43**(2 Pt 2): p. 30-7.
55. Prommano, O., et al., *A quantitative ultrastructural study of the liver and the spleen in fatal falciparum malaria*. Southeast Asian J Trop Med Public Health, 2005. **36**(6): p. 1359-70.
56. Pongponratn, E., et al., *Spleen in falciparum malaria: ultrastructural study*. Southeast Asian J Trop Med Public Health, 1987. **18**(4): p. 491-501.
57. Oo, M.M., et al., *Human cerebral malaria: a pathological study*. J Neuropathol Exp Neurol, 1987. **46**(2): p. 223-31.
58. Looareesuwan, S., et al., *Dynamic alteration in splenic function during acute falciparum malaria*. N Engl J Med, 1987. **317**(11): p. 675-9.
59. Lee, S.H., et al., *Antibody-dependent red cell removal during P. falciparum malaria: the clearance of red cells sensitized with an IgG anti-D*. Br J Haematol, 1989. **73**(3): p. 396-402.
60. Looareesuwan, S., et al., *Erythrocyte survival in severe falciparum malaria*. Acta Trop, 1991. **48**(4): p. 263-70.
61. Looareesuwan, S., et al., *Reduced erythrocyte survival following clearance of malarial parasitaemia in Thai patients*. Br J Haematol, 1987. **67**(4): p. 473-8.
62. Munasinghe, A., et al., *Spleen modulation of cytoadherence properties of Plasmodium falciparum*. Scand J Infect Dis, 2009. **41**(6-7): p. 538-9.
63. Bach, O., et al., *Falciparum malaria after splenectomy: a prospective controlled study of 33 previously splenectomized Malawian adults*. Trans R Soc Trop Med Hyg, 2005. **99**(11): p. 861-7.
64. Boone, K.E. and D.A. Watters, *The incidence of malaria after splenectomy in Papua New Guinea*. BMJ, 1995. **311**(7015): p. 1273.

65. Saint-Yves, I.F., *Splenectomy: follow-up of patients in the Solomon Islands*. P N G Med J, 1977. **20**(1): p. 33-7.
66. Bidegain, F., et al., *Acute Plasmodium falciparum malaria following splenectomy for suspected lymphoma in 2 patients*. Clin Infect Dis, 2005. **40**(11): p. e97-100.
67. Le, T.A., et al., *Delayed parasite clearance in a splenectomized patient with falciparum malaria who was treated with artemisinin derivatives*. Clin Infect Dis, 1997. **25**(4): p. 923-5.
68. Guerin, B., et al., *[Persistent parasitemia after treatment of Plasmodium falciparum flare-up in a non-immune patient with splenectomy]*. Ann Med Interne (Paris), 1996. **147**(2): p. 129-30.
69. Ho, M., et al., *Cytoadherence and ultrastructure of Plasmodium falciparum-infected erythrocytes from a splenectomized patient*. Infect Immun, 1992. **60**(6): p. 2225-8.
70. Ayi, K., et al., *Enhanced phagocytosis of ring-parasitized mutant erythrocytes: a common mechanism that may explain protection against falciparum malaria in sickle trait and beta-thalassemia trait*. Blood, 2004. **104**(10): p. 3364-71.
71. Oeuvray, C., et al., *Merozoite surface protein-3: a malaria protein inducing antibodies that promote Plasmodium falciparum killing by cooperation with blood monocytes*. Blood, 1994. **84**(5): p. 1594-602.
72. Bull, P.C. and K. Marsh, *The role of antibodies to Plasmodium falciparum-infected-erythrocyte surface antigens in naturally acquired immunity to malaria*. Trends Microbiol, 2002. **10**(2): p. 55-8.
73. Bates, I. and G. Bedu-Addo, *Review of diagnostic criteria of hyper-reactive malarial splenomegaly*. Lancet, 1997. **349**(9059): p. 1178.
74. Pongponratn, E., et al., *Absence of knobs on parasitized red blood cells in a splenectomized patient in fatal falciparum malaria*. Southeast Asian J Trop Med Public Health, 2000. **31**(4): p. 829-35.
75. White, N.J. and S. Krishna, *Treatment of malaria: some considerations and limitations of the current methods of assessment*. Trans R Soc Trop Med Hyg, 1989. **83**(6): p. 767-77.
76. Newton, P.N., et al., *A comparison of the in vivo kinetics of Plasmodium falciparum ring-infected erythrocyte surface antigen-positive and -negative erythrocytes*. Blood, 2001. **98**(2): p. 450-7.
77. Anderson, T.J., et al., *High heritability of malaria parasite clearance rate indicates a genetic basis for artemisinin resistance in western Cambodia*. J Infect Dis, 2010. **201**(9): p. 1326-30.
78. Dondorp, A.M., et al., *Artemisinin resistance in Plasmodium falciparum malaria*. N Engl J Med, 2009. **361**(5): p. 455-67.

79. Greenwood, B., *Review: Intermittent preventive treatment--a new approach to the prevention of malaria in children in areas with seasonal malaria transmission.* Trop Med Int Health, 2006. **11**(7): p. 983-91.
80. Wickramasinghe, S.N. and S.H. Abdalla, *Blood and bone marrow changes in malaria.* Baillieres Best Pract Res Clin Haematol, 2000. **13**(2): p. 277-99.
81. Seed TM, K.J., *Erythrocyte Destruction Mechanisms in Malaria.* 1980.
82. Lackritz, E.M., et al., *Effect of blood transfusion on survival among children in a Kenyan hospital.* Lancet, 1992. **340**(8818): p. 524-8.
83. Sowunmi, A., et al., *Factors contributing to anaemia after uncomplicated Plasmodium falciparum malaria in children.* Acta Trop, 2010. **113**(2): p. 155-61.
84. Reyburn, H., et al., *Association of transmission intensity and age with clinical manifestations and case fatality of severe Plasmodium falciparum malaria.* JAMA, 2005. **293**(12): p. 1461-70.
85. Baird, J.K., *Age-dependent characteristics of protection v. susceptibility to Plasmodium falciparum.* Ann Trop Med Parasitol, 1998. **92**(4): p. 367-90.
86. Legros, F., et al., *Risk factors for imported fatal Plasmodium falciparum malaria, France, 1996-2003.* Emerg Infect Dis, 2007. **13**(6): p. 883-8.
87. Dondorp, A.M., et al., *The relationship between age and the manifestations of and mortality associated with severe malaria.* Clin Infect Dis, 2008. **47**(2): p. 151-7.
88. Bastien, P., *[Epidemiological peculiarities of pernicious attacks by Plasmodium falciparum in the context of a malaria epidemic. Vanuatu, 1975-1985].* Med Trop (Mars), 1987. **47**(2): p. 125-31.
89. Modiano, D., et al., *Haemoglobin C protects against clinical Plasmodium falciparum malaria.* Nature, 2001. **414**(6861): p. 305-8.
90. Weatherall, D.J., *Genetic variation and susceptibility to infection: the red cell and malaria.* Br J Haematol, 2008. **141**(3): p. 276-86.
91. Marsh, K., et al., *Antibodies to blood stage antigens of Plasmodium falciparum in rural Gambians and their relation to protection against infection.* Trans R Soc Trop Med Hyg, 1989. **83**(3): p. 293-303.
92. Cabrera, G., et al., *The sickle cell trait is associated with enhanced immunoglobulin G antibody responses to Plasmodium falciparum variant surface antigens.* J Infect Dis, 2005. **191**(10): p. 1631-8.
93. Aidoo, M., et al., *Protective effects of the sickle cell gene against malaria morbidity and mortality.* Lancet, 2002. **359**(9314): p. 1311-2.

94. Kreuels, B., et al., *Differing effects of HbS and HbC traits on uncomplicated falciparum malaria, anemia, and child growth*. Blood, 2010. **115**(22): p. 4551-8.
95. Cholera, R., et al., *Impaired cytoadherence of Plasmodium falciparum-infected erythrocytes containing sickle hemoglobin*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008. **105**(3): p. 991-6.
96. Luzzatto, L., E.S. Nwachuku-Jarrett, and S. Reddy, *Increased sickling of parasitised erythrocytes as mechanism of resistance against malaria in the sickle-cell trait*. Lancet, 1970. **1**(7642): p. 319-21.
97. Roth, E.F., Jr., et al., *Sickling rates of human AS red cells infected in vitro with Plasmodium falciparum malaria*. Science, 1978. **202**(4368): p. 650-2.
98. Makani, J., et al., *Malaria in patients with sickle cell anemia: burden, risk factors, and outcome at the outpatient clinic and during hospitalization*. Blood, 2010. **115**(2): p. 215-20.
99. Komba, A.N., et al., *Malaria as a cause of morbidity and mortality in children with homozygous sickle cell disease on the coast of Kenya*. Clin Infect Dis, 2009. **49**(2): p. 216-22.
100. Sadarangani, M., et al., *An observational study of children with sickle cell disease in Kilifi, Kenya*. Br J Haematol, 2009. **146**(6): p. 675-82.
101. Bryceson, A., et al., *Malaria and splenomegaly*. Trans R Soc Trop Med Hyg, 1983. **77**(6): p. 879.
102. Bedu-Addo, G. and I. Bates, *Causes of massive tropical splenomegaly in Ghana*. Lancet, 2002. **360**(9331): p. 449-54.
103. Greenwood, B.M., et al., *Ethnic differences in the prevalence of splenomegaly and malaria in The Gambia*. Ann Trop Med Parasitol, 1987. **81**(4): p. 345-54.
104. Hommel, B., et al., *Chronic malaria revealed by a new fluorescence pattern on the antinuclear autoantibodies test*. PLoS One, 2014. **9**(2): p. e88548.
105. Martin-Peprah, R., et al., *Investigation of familial segregation of hyperreactive malarial splenomegaly in Kumasi, Ghana*. Trans R Soc Trop Med Hyg, 2006. **100**(1): p. 68-73.
106. Ackerman, L., *Hyperreactive malarial syndrome*. J Am Board Fam Pract, 1996. **9**(5): p. 356-9.
107. Chim, C.S., et al., *Concurrent hyperreactive malarial splenomegaly and quartan malarial nephropathy - Plasmodium malariae revisited*. Haematologica, 2004. **89**(7): p. ECR21.
108. Pryor, D.S., *Splenectomy in tropical splenomegaly*. Br Med J, 1967. **3**(5569): p. 825-8.
109. Crane, G.G., J.V. Wells, and P. Hudson, *Tropical splenomegaly syndrome in New Guinea. I. Natural history*. Trans R Soc Trop Med Hyg, 1972. **66**(5): p. 724-32.
110. Puente, S., et al., *Hyperreactive malarial splenomegaly in Europeans: report of five cases*. J Travel Med, 2001. **8**(6): p. 322-4.

111. Van den Ende, J., et al., *Hyperreactive malaria in expatriates returning from sub-Saharan Africa*. Trop Med Int Health, 2000. **5**(9): p. 607-11.
112. Bates, I., et al., *Use of immunoglobulin gene rearrangements to show clonal lymphoproliferation in hyper-reactive malarial splenomegaly*. Lancet, 1991. **337**(8740): p. 505-7.
113. Henry, B., et al., *The Human Spleen in Malaria: Filter or Shelter?* Trends Parasitol, 2020. **36**(5): p. 435-446.
114. Bates, I. and G. Bedu-Addo, *Chronic malaria and splenic lymphoma: clues to understanding lymphoma evolution*. Leukemia, 1997. **11**(12): p. 2162-7.
115. Bisoffi, Z., et al., *Chronic malaria and hyper-reactive malarial splenomegaly: a retrospective study on the largest series observed in a non-endemic country*. Malar J, 2016. **15**: p. 230.
116. Camprubi, D., et al., *Post-splenectomy acute glomerulonephritis due to a chronic infection with Plasmodium falciparum and malariae*. J Travel Med, 2019. **26**(4).
117. Kristinsson, S.Y., et al., *Long-term risks after splenectomy among 8,149 cancer-free American veterans: a cohort study with up to 27 years follow-up*. Haematologica, 2014. **99**(2): p. 392-8.
118. Omar, A. and S. Freeman, *Contrast-enhanced ultrasound of the spleen*. Ultrasound, 2016. **24**(1): p. 41-9.
119. de Porto, A.P., et al., *Assessment of splenic function*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2010. **29**(12): p. 1465-73.
120. Di Sabatino, A., R. Carsetti, and G.R. Corazza, *Post-splenectomy and hyposplenic states*. Lancet, 2011. **378**(9785): p. 86-97.
121. Cameron, P.U., et al., *Splenectomy associated changes in IgM memory B cells in an adult spleen registry cohort*. PLoS One, 2011. **6**(8): p. e23164.
122. Lammers, A.J., et al., *Hyposplenism: comparison of different methods for determining splenic function*. Am J Hematol, 2012. **87**(5): p. 484-9.
123. Safeukui, I., et al., *Surface area loss and increased sphericity account for the splenic entrapment of subpopulations of Plasmodium falciparum ring-infected erythrocytes*. PLoS One, 2013. **8**(3): p. e60150.
124. Duez, J., et al., *High-throughput microfiltration to assess red blood cell deformability and screen for malaria transmission-blocking drugs*. Nat Protoc, 2018. **13**(6): p. 1362-1376.
125. Duez, J., et al., *Splenic retention of Plasmodium falciparum gametocytes to block the transmission of malaria*. Antimicrob Agents Chemother, 2015. **59**(7): p. 4206-14.
126. Rigat-Brugarolas, L.G., et al., *A functional microengineered model of the human splenon-on-a-chip*. Lab Chip, 2014. **14**(10): p. 1715-24.

127. Picot, J., et al., *A biomimetic microfluidic chip to study the circulation and mechanical retention of red blood cells in the spleen*. Am J Hematol, 2015. **90**(4): p. 339-45.
128. Lavazec, C., et al., *Microspherulitration: a microsphere matrix to explore erythrocyte deformability*. Methods Mol Biol, 2013. **923**: p. 291-7.
129. Pivkin, I.V., et al., *Biomechanics of red blood cells in human spleen and consequences for physiology and disease*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2016. **113**(28): p. 7804-9.
130. Mebius, R.E. and G. Kraal, *Structure and function of the spleen*. Nat Rev Immunol, 2005. **5**(8): p. 606-16.
131. Safeukui, I., et al., *Quantitative assessment of sensing and sequestration of spherocytic erythrocytes by the human spleen*. Blood, 2012. **120**(2): p. 424-30.
132. Diakite, S.A., et al., *Stage-dependent fate of Plasmodium falciparum-infected red blood cells in the spleen and sickle-cell trait-related protection against malaria*. Malar J, 2016. **15**(1): p. 482.
133. Duez, J., et al., *Mechanical clearance of red blood cells by the human spleen: Potential therapeutic applications of a biomimetic RBC filtration method*. Transfus Clin Biol, 2015. **22**(3): p. 151-7.
134. Kho S., e.a. *A Hidden Biomass of Non-phagocytosed Asexual and Sexual Stages of Plasmodium vivax and P. falciparum in the Human Spleen Presented at the 7th International Conference on Plasmodium vivax Research, Institut Pasteur, Paris, France (2019) 2019*; Available from: www.vivax2019.conferences-pasteur.org/programme consulté le 15/01/20.
135. Douglas, N.M., et al., *The anaemia of Plasmodium vivax malaria*. Malar J, 2012. **11**: p. 135.
136. Harnagel, E.E. and F.V. Rhudy, *Falciparum malaria; report of a fatal case and autopsy findings*. Calif Med, 1954. **81**(2): p. 89-91.
137. Muehlethaler, K., et al., *Fulminant cerebral malaria in a Swiss patient*. Infection, 2005. **33**(1): p. 33-5.
138. Dondorp, A.M., et al., *Red blood cell deformability as a predictor of anemia in severe falciparum malaria*. Am J Trop Med Hyg, 1999. **60**(5): p. 733-7.
139. Fendel, R., et al., *Hemolysis is associated with low reticulocyte production index and predicts blood transfusion in severe malarial anemia*. PLoS One, 2010. **5**(4): p. e10038.
140. Hommel, B., et al., *Hyposplenism revealed by Plasmodium malariae infection*. Malar J, 2013. **12**: p. 271.
141. White, N.J., *Malaria parasite clearance*. Malar J, 2017. **16**(1): p. 88.

142. Ndour, P.A., et al., *Plasmodium falciparum* clearance is rapid and pitting independent in immune Malian children treated with artesunate for malaria. J Infect Dis, 2015. **211**(2): p. 290-7.
143. Wojnarski, M., et al., *Plasmodium falciparum* Clearance Is Pitting-Dependent With Artemisinin-Based Drugs but Pitting-Independent With Atovaquone-Proguanil or Mefloquine. J Infect Dis, 2019. **220**(3): p. 535-539.

10. FICHE SIGNALÉTIQUE

Nom & Prénom : DIARRA BAKAINA

Faculté et Pays d'origine : Faculté de Pharmacie de Bamako, MALI

Email : baghaga@gmail.com; **Tel** : 00223 / 00223 70 00 59 86

Année universitaire : 2019-2020 **Ville de soutenance** : Bamako

Dépôt légal : Bibliothèque de la FMOS/FAPH de Bamako

Source d'intérêt : Immunologie, parasitologie, santé publique.

Titre de la thèse : Profil de rétention splénique *ex-vivo* de *Plasmodium falciparum* chez les patients atteints de paludisme à Kéniéroba, commune rurale de Bancoumana au Mali

Résumé

Au cours du développement intra-érythrocytaire asexué et sexuel de *P. falciparum*, de multiples processus moléculaires contribuent au remodelage des GR infectés et non-infectés mais la manière dont ces modifications conduisent à la maladie n'est pas entièrement claire. La rate, qui filtre les globules rouges altérés, est probablement un acteur important dans le large spectre des manifestations cliniques du paludisme, en particulier l'anémie. Nous avons évalué la fonction splénique chez les paludéens vivants à Kéniéroba en utilisant la technique de microsphiltration *ex-vivo* des globules rouges infectés. Au total, 25 patients ont été inclus dans notre étude dont 2 patients avaient une rate de stade 0, 22 patients de stade 1 et 1 patient de stade 2 selon la classification de Hackett. La parasitémie moyenne était de $50\,774,40 \text{ tf}/\mu\text{l} \pm 65\,540,854$. Le taux moyen d'hémoglobine était de $11,2280\text{g/l} \pm 1$. Le taux de rétention splénique a varié de 11,11% à 94,44 % avec une moyenne de $65,40\% \pm 23,77$. Nous avons observé une bonne corrélation entre le taux de rétentions *ex-vivo* de GR infectés et la splénomégalie selon Hackett ($p = 0,03$). Cette étude pilote nous a permis de tester la faisabilité de l'exploration *ex-vivo* de la fonction filtrante de la rate chez des patients infectés par *P. falciparum* au Mali. Elle doit être complétée par d'autres études spécifiques prenant en compte les limites de la présente étude tout en augmentant la taille de l'échantillon.

Mots clés : Paludisme, Microsphiltration, rétention splénique, Mali

Summary

During the asexual and sexual intraerythrocytic development of *P. falciparum*, multiple molecular processes contribute to the remodeling of infected and uninfected RBCs, but it is not entirely clear how these changes lead to disease. The spleen, which filters out the altered red blood cells, is probably an important player in the broad spectrum of clinical manifestations of malaria, particularly anemia. We evaluated splenic function in malaria patients living in Kéniéroba using the technique of ex-vivo microspherulization of infected red blood cells. A total of 25 patients were included in our study of which 2 patients had stage 0 spleen, 22 stage 1 patients and 1 stage 2 patient according to Hackett's classification. The mean parasitemia was $50,774.40 \text{ tf}/\mu\text{l} \pm 65,540,854$. The mean hemoglobin level was $11,2280\text{g/l} \pm 1$. The splenic retention rate ranged from 11.11% to 94.44% with an average of $65.40\% \pm 23.77$. We observed a good correlation between the rate of ex-vivo retention of infected RBCs and splenomegaly according to Hackett ($p = 0.03$). This pilot study allowed us to test the feasibility of ex-vivo exploration of the filtering function of the spleen in *P. falciparum* infected patients in Mali. It needs to be complemented by other specific studies considering the limitations of the present study while increasing the sample size.

Key Words: Malaria, Microspherulization, Splenic retention, Mali

11. ANNEXES

11.1. Technique de microsphiltration

Des microsphères (microbilles métalliques calibrées composées de 96,5% d'étain, 3,0% d'argent et 0,5% de cuivre) de diamètres différents ont été utilisées pour réaliser des couches de billes dans des embouts des espaces très étroits imitant les fentes inter-endothéliales des micro-veines de la pulpe rouge de la rate humaine (sinus). Brièvement un mélange à poids égal (1g) de poudre de microsphères de 5 à 15 µm de diamètre et de 15 à 25 µm de diamètre était suspendu dans 5 ml de solution PBS/AlbuMAX II à 1% (Invitrogen). Un volume de 800 µl de cette suspension de microsphères était versé dans un embout de pipette anti-aérosol inversée de 1000 µl (Neptune, BarrierTips) et laissé reposer, conduisant à la formation d'une couche de microsphères de 5 mm d'épaisseur au-dessus du filtre anti-aérosol. Les microsphères ont été obtenues auprès de l'industrie des Poudres Sphériques (24A, rue de la Résistance-BP 438, Annemasse 74108, France).

Un volume de 600 µl de GR de patients lavés au RPMI et suspendu à 1% d'hématocrite dans du PBS/AlbuMAX II 1% était introduit instantanément en amont de la couche de microsphères et entraîné à travers la couche de microsphères avec 6 ml de PBS / AlbuMAX II à 1% à l'aide d'une pompe électrique (Syramed µsp6000, Arcomed'Ag). Le débit de la filtration était de 60 ml /H. Un échantillon en aval (6,6 ml) et une aliquote de l'échantillon en amont étaient collectés pour la détermination de la parasitemie.

11.2. Procédures standard opératoires (SOP) de la goutte épaisse et du frottis mince

11.2.1. Goutte épaisse

Procédures standard opératoires (SOP) de la goutte épaisse

Principe :

C'est une technique de concentration permettant un repérage rapide des parasites dans le sang et l'identification des différentes espèces (frottis sanguin)

Matériel

- Deux (2) lames porte-objet propres et bien dégraissées
- Vaccinostyle stérile
- Alcool 70°
- Colorant de Giemsa pur
- Coton hydrophile sec
- Eau tamponnée, PH=7,2
- Boîte à lames ou couvercle pour protéger les frottis pendant le séchage
- Chiffon de coton propre et ne peluchant pas
- Crayon noir à mine grasse ou marqueur indélébile
- Stylo à bille
- Bacs de coloration
- Eprouvettes graduées
- Râtelier, chronomètre
- Huile d'immersion
- Registre ou formulaire de notification
- Un compteur manuel
- Gant

Lieu du prélèvement

A l'extrémité d'un doigt gauche (en général 3^e doigt après le pouce), sur la face latérale du doigt sain.

Au lobe de l'oreille, après l'avoir réchauffé entre les doigts.

Au talon ou gros orteil chez le nourrisson, après l'avoir réchauffé.

Technique de la goutte épaisse

Après avoir noté les renseignements relatifs sur le formulaire ou le registre approprié, ainsi que l'identité du patient sur la lame, réaliser la goutte comme suite :

1. En tenant la main gauche du malade la paume tournée vers le haut, choisir le troisième doigt après le pouce (le gros orteil peut être utilisé chez les nourrissons. Le pouce ne doit jamais être utilisé chez les adultes ou les enfants).

2. Avec un tampon de coton légèrement imbibé d'alcool, nettoyer le doigt en appuyant fermement pour enlever la saleté et la graisse du bout du doigt.
3. Avec le chiffon de coton propre, essuyer le doigt en appuyant fermement pour stimuler la circulation du sang.
4. Avec un vaccinostyle stérile, piquer le bout du doigt d'un seul geste.
5. Essuyer la première goutte de sang avec du coton sec. S'assurer qu'il ne reste pas de fibres de coton sur le doigt, qui pourraient se mélanger au sang.
6. En procédant rapidement et en tenant les lames propres uniquement par les bords, recueillir le sang comme suit :
7. Appuyer doucement sur le doigt et recueillir une petite goutte de sang au milieu de la lame (cf. figure).
8. Essuyer le sang restant sur le bout du doigt avec un tampon de coton.
9. Tenir la lame supérieure par les bords.
10. Placer le coin de l'autre lame au centre de la goutte de sang
11. Étendre légèrement la surface de la goutte par des mouvements spiralés appuyés de la lame (cf. figure).
12. Assurer cette défibrination mécanique pendant quelques secondes et étendre la goutte sur environ 1 cm de diamètre.
13. Laisser la préparation à plat, à l'abri de la poussière, de la chaleur et des mouches pendant deux heures en zone sahélienne. Respecter ce long temps de séchage sinon il y a risque de décollement de la préparation lors de la coloration (cf. figure).

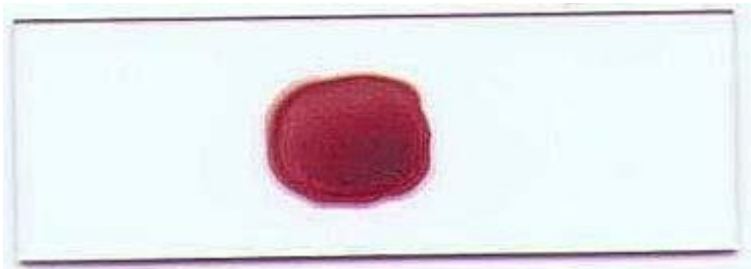
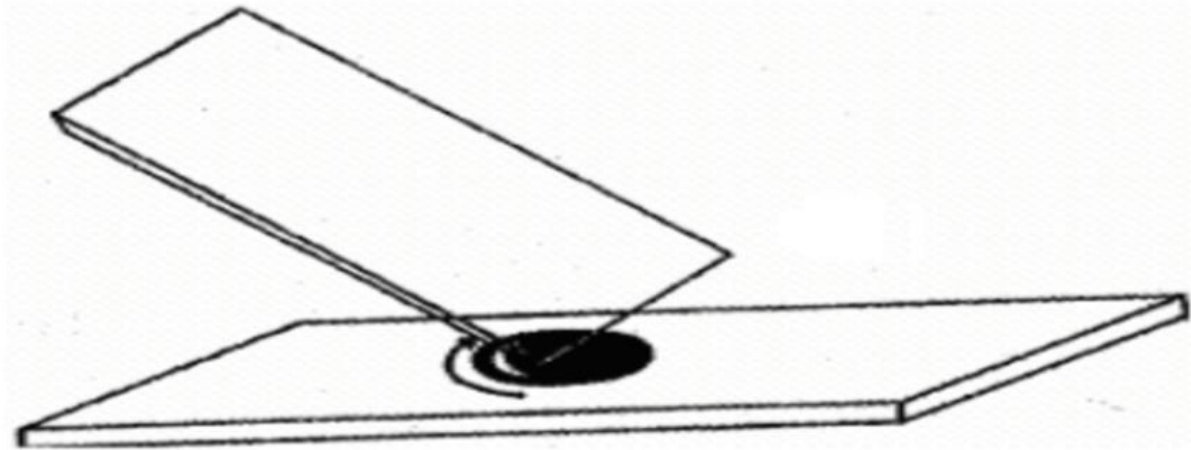


Figure 16. Technique de la goutte épaisse

Technique de coloration de Giemsa

C'est une méthode de coloration classique employée en routine pour la coloration des étalements sanguins et pour le diagnostic du paludisme.

Toujours maintenir la bouteille bien fermée dans un endroit frais, à l'abri de la lumière solaire directe. Les bouteilles en verre blanc peuvent être recouvertes d'une enveloppe de papier noir épais pour les protéger de la lumière.

Fixer le frottis mince en le tapotant doucement avec un tampon de coton imbibé de méthanol, ou en le trempant dans un récipient de méthanol pendant quelques secondes.

Préparer la solution de Giemsa à 3 ou 5 dans l'eau tamponnée (PH 7,2) et bien mélanger le colorant.

Verser doucement le colorant dans la bague jusqu'à ce que la lame soit entièrement recouverte.

Laisser colorer pendant 30 à 45 mn pour 30 (15mn pour 10), à l'abri de la lumière solaire et de la poussière.

Les lames sont ensuite rincées et séchées sur un râtelier.

Aspects

La lecture se fait au microscope à l'objectif 100 à l'huile d'immersion

Le fond doit être propre, exempt de débris, coloré en bleu

Les noyaux des leucocytes sont en violet foncé.

Les parasites du paludisme sont bien définis, avec une chromatine rouge foncé et un cytoplasme de couleur bleu pale. Dans les infections à *P. vivax* et *P. ovale*, on peut voir un semis de granulations de Schuffner dans le fantôme de l'érythrocyte hôte, en particulier sur les bords du frottis.

Méthodes de numération des parasites du paludisme dans les gouttes épaisses Parasites par μl (= mm^3)

On trouvera ci-dessous une méthode pratique de précision suffisante. Elle consiste à dénombrer les parasites par μl de sang dans un frottis épais, par rapport à un nombre prédéterminé de leucocytes. On prend comme norme une moyenne de 7 500 leucocytes par μl . Malgré l'imprécision due aux variations du nombre de leucocytes parmi des personnes en bonne santé et aux variations encore plus grandes observées chez les malades, cette valeur permet des comparaisons valables. Avant de commencer à compter, on examinera l'équivalent de 0,25 μl de sang (environ 100 champs, avec un oculaire 7X (ou 10X) et un objectif à immersion dans l'huile 100X) dans le frottis épais pour déterminer l'espèce de parasite et les stades présents. Ensuite, on appliquera la méthode suivante qui convient pour les frottis positifs :

1. Un compteur manuel à 4 chiffres nécessaire pour dénombrer séparément les parasites et les leucocytes.

2. a) Si, après avoir compté 300 leucocytes, on a identifié 10 parasites ou plus, noter les résultats sur le formulaire de notification, en indiquant le nombre de parasites par 300 leucocytes.

b) Si, après avoir compté 300 leucocytes, on a identifié neuf parasites ou moins, continuer de compter jusqu'à 500 leucocytes et noter le nombre de parasites par 500 leucocytes.

3. Dans chaque cas, le nombre de parasites par rapport au nombre de leucocytes peut être converti en nombre de parasites par μl par la simple formule mathématique suivante :

Nombre de parasites X 7 500

----- = parasites par μl

Nombre de leucocytes

En d'autres termes, si 300 leucocytes sont comptés, le nombre de parasites est à multiplier par 25 et si 500 leucocytes sont comptés, le nombre de parasites est à multiplier par 15.

11.2.2. Frottis Mince

Le frottis sanguin consiste en la réalisation d'un étalement monocellulaire des éléments sanguins. Lames à tenir par les bords pour éviter les empreintes digitales graisseuses. Plus la lamelle utilisée pour faire le frottis est mince, plus fin le frottis sera.

Matériel

- 2 lames porte-objet dégraissées
- Vaccinostyle stérile
- Alcool 70°
- Colorant de Giemsa pur
- Coton hydrophile sec
- Eau tamponnée, pH= 7,2
- Méthanol absolu

Lieu du prélèvement

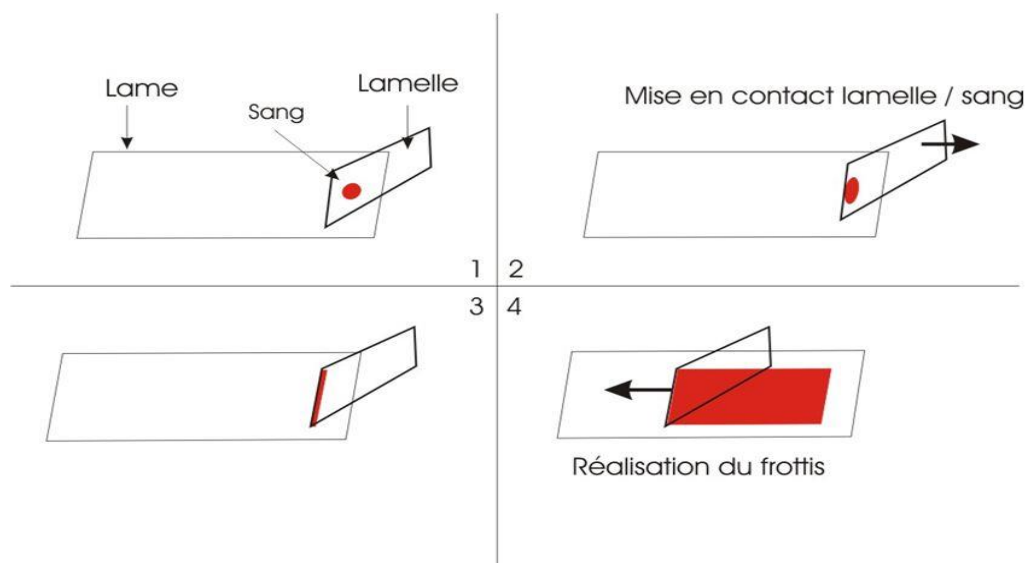
- a. A l'extrémité d'un doigt gauche (ni index, ni pouce), sur la face latérale du doigt qui ne doit être ni œdémateux, ni cyanosé, ni traumatisé, ni infecté.
- b. Au lobe de l'oreille, après l'avoir réchauffé entre les doigts
- c. Au talon ou au gros orteil chez le nourrisson, après l'avoir réchauffé.

Technique

1. Dégraisser la lame à l'alcool (ou au toluène); faire sécher à l'air ou près d'une flamme ou avec un appareil-sèche cheveu (fig. 9a).
2. Désinfecter le bout du 3eme ou 4eme doigt avec de l'alcool 70°.
3. Piquer le doigt avec un vaccinostyle stérile, d'un seul geste.
4. Essuyer la première goutte de sang avec du coton sec.
5. Déposer une goutte de sang capillaire ou veineux à l'une des extrémités de la lame.

6. Poser le bord de la deuxième lame en avant de la goutte de sang, le faire glisser en arrière jusqu'au contact de la goutte de sang qui va se répandre sur toute la largeur du bord de la lame supérieure dans l'angle formé par les 2 lames (fig. 9b).
7. Incliner la lame supérieure de 45°.
8. Pousser fermement la deuxième lame le long de la lame de sang, en la tenant inclinée à 45°, d'un geste rapide et régulier, en avant, vers l'extrémité libre de la lame porte-objet. S'assurer que la deuxième lame reste bien en contact avec la surface de la lame de sang pendant qu'on procède à l'étalement.
9. Faire sécher le film mince de sang obtenu en agitant la lame à l'air. Le frottis doit présenter deux bords et une queue, zones électives de lecture (fig.9c).
10. Porter le nom du patient ou le numéro de l'examen sur la marge de la lame ou sur la partie large du frottis sanguin au crayon de papier (fig. 9d, 9e).
11. Placer la lame dans la boîte horizontale (type OMS), à l'abri des mouches, de la poussière et d'une trop forte chaleur si on ne peut la colorer immédiatement.
12. Fixer le frottis sanguin avec le méthanol
13. Appliquer le colorant de May-Grunwald-Giemsa, ou l'Hémacolor ou colorer avec le Giemsa 3% dans de l'eau tamponnée.

La réalisation du frottis



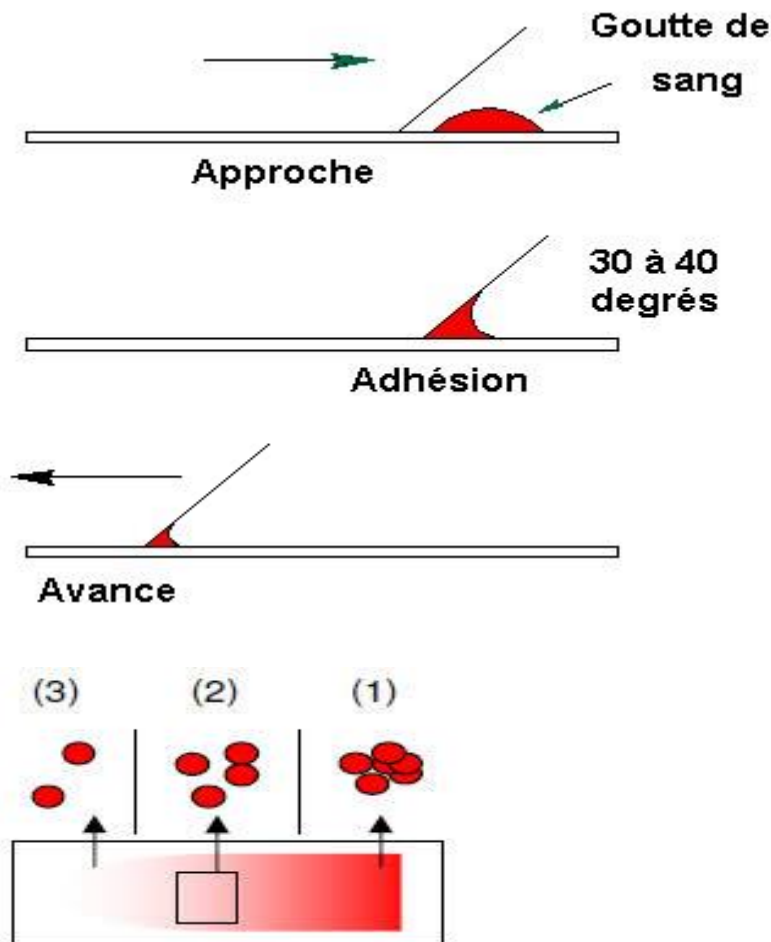


Figure 17. Technique du frottis mince

Coloration avec l'Hemacolor®

- Fixer le frottis avec le méthanol en plongeant deux fois 3 secondes
- Laisser sécher la lame à l'air libre ou faire sécher avec une machine sèche-cheveux.
- Plonger la lame 3 à 5 fois une seconde dans la solution d'éosine, qui colore le noyau du parasite en rouge.
- Rincer à l'eau propre.
- Plonger la lame 3 à 5 fois une seconde dans la solution de bleu de Méthylène qui colore le cytoplasme du parasite en bleu.
- Rincer à l'eau propre.

- Laisser sécher.
- Lire la lame au microscope optique binoculaire avec l'objectif 100 en immersion.

Méthodes de numération des parasites du paludisme dans les frottis minces

Une méthode simple pour dénombrer les parasites dans le frottis mince consiste à compter 1000 hématies sur la queue, zone élective de lecture du frottis mince. On dénombre les hématies parasitées sur 1000 hématies dans un frottis mince. Le résultat est exprimé en pourcentage d'hématies parasitées.

Cette méthode est surtout utilisée dans les essais cliniques de nouveaux médicaments antipaludiques. Elle semble être plus précise que le nombre de parasites par μl de sang. L'inconvénient majeur est qu'elle consomme suffisamment de temps.

11.3. Procédures Standard Opératoire (SOP) : Détermination du taux d'hémoglobine

Le taux d'hémoglobine a été mesuré par l'appareil HemoCue Hb201+ microcuvette



Figure 18. Analyseur et Microcuvette HemoCue®

Principe de la méthode

La réaction dans la microcuvette repose sur une réaction modifiée de formation d'azoture de méthémoglobine. Les érythrocytes sont hémolysés pour libérer l'hémoglobine. L'hémoglobine est convertie en méthémoglobine, laquelle réagit avec de l'azoture pour donner de l'azoture de méthémoglobine dont l'absorbance est mesurée dans l'analyseur. Cette absorbance est directement proportionnelle à la concentration de l'Hb.

Matériel et réactifs

- Appareil analyseur
- Microcuvette HemoCue
- Lancette
- Alcool 70°

-Coton

Technique

-cibler un doigt, bien désinfecté avec le tampon d'alcool à 70°;

-piquer en un coup sec avec une lancette ; nettoyer la première goutte de sang, presser le bout du doigt pour avoir une deuxième goutte ;

- Appliquer la microcuvette sur la goutte de sang. La quantité nécessaire est aspirée automatiquement dans la microcuvette par capillarité.

-Après avoir enlevé minutieusement toute trace de sang présente à la surface de la microcuvette, la mettre sur son support et l'insérer ensuite dans le photomètre



Figure 19. Mécanisme de mesure du taux d'Hb par l'appareil HemoCue[®] 201+
Le résultat est exprimé en gramme d'hémoglobine par décilitre de sang (g/dl)

Source : www.hemocue.com

SERMENT DE GALIEN

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

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

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

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ; En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels ; Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque !

Je le jure.

