

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

REPUBLIQUE DU MALI
Un Peuple-Un But-Une Foi

UNIVERSITE DES SCIENCES, DES TECHNIQUES ET DES TECHNOLOGIES DE
BAMAKO

FACULTE DE PHARMACIE



ANNEE UNIVERSITAIRE 2019/2020

THESE N°.....

Profil de pitting (épépinage) des globules rouges parasités chez
les enfants atteints de paludisme grave traités avec l'artésunate
au Service de pédiatrie du CHU Gabriel Touré à Bamako

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

Par Mlle Kadidia KONE

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

Jury

Président : Pr Amagana Dolo

Membres : Dr Touré Dinkorma Ouologuem

Dr Merepen dite Agnès Guindo

Co-directeur: Dr Seidina A.S. DIAKITE

Directeur : Pr Mahamadou DIAKITE

DEDICACES ET REMERCIEMENTS

Dédicaces

Au nom d'Allah le Tout Clément, le Très Miséricordieux, Louange à Allah qui m'a donné la chance de voir ce jour en bonne santé.

Je remercie **Allah Soubhana Wa t'Allah**, qui m'a accordé l'énergie, l'inspiration et surtout la base spirituelle nécessaire à la réalisation de ce travail. C'est de Toi que nous venons et c'est Toi dont nous implorons l'assistance, sans Toi je n'en serai pas là aujourd'hui, je Te dédie ce travail et Te prie de m'accorder Ta grâce durant toute ma carrière. Guide-moi vers le droit chemin. Amen !

Bénédictions et salut sur le **Prophète Muhammad (Paix et Salut sur Lui)**, Sceau des Prophètes, pour son message clair et précis.

Je dédie cette thèse :

A mon père Kassim Koné

Vous êtes à l'origine de ce que je deviens aujourd'hui car c'est toi qui m'a inscrit à l'école et tu as suivi mes pas jusqu'à maintenant. Ta rigueur, ta persévérance et ton courage dans le travail ont été pour nous une source d'inspiration inépuisable. Papa je ne pourrai jamais te récompenser. Que Dieu te donne une longue vie afin que tu puisses profiter de tous les efforts fournis pour l'éducation de tes enfants, Amen !

A ma mère Mahawa Touré

Chère maman tu m'as donné l'amour, l'affection et la tendresse, tu as toujours été présente quand j'avais besoin de toi, les conseils et l'éducation dont tu m'as fait bénéficier m'ont beaucoup servi, les mots me manquent pour t'exprimer tout ce que je ressens au fond du cœur. Qu'ALLAH te garde pour moi et me garde pour te servir (AMEN !).

Remerciements

Au terme de mes études en Pharmacie dans cette prestigieuse faculté de Pharmacie, je tiens à remercier tous ceux qui ont cru en moi, m'ont aidé et soutenu pour que ce jour voit la présentation de ma thèse pour l'obtention du **grade de docteur en pharmacie (DIPLOME D'ETAT)**

Au Pr Mahamadou Diakité qui m'a accueilli à bras ouverts et qui a eu confiance en moi en me confiant ce sujet de thèse malgré mes faibles connaissances dans le domaine. Merci cher maître pour votre humilité, votre disponibilité et vos encouragements. Que le Tout-Puissant vous bénisse et vous accorde une longue vie.

Au Dr Seidina A. S. Diakité, pour votre sens du travail bien fait, l'amour et l'attention particulière avec lesquels vous m'avez traitée depuis mon arrivée resteront gravés dans ma mémoire. Je ne vous remercierai jamais assez pour votre assistance multiforme pour la réalisation de ce travail. Tout au long de ces travaux, j'ai été impressionnée par vos qualités scientifiques et professionnelles. J'ai découvert en vous un être sociable, de qualité intellectuelle inestimable et d'une rigueur scientifique incommensurable. Vous resterez pour moi une source d'inspiration tant sur le plan moral qu'intellectuel.

Au Dr Drissa Konaté, pour toute l'attention que vous avez eue à mon égard, vous avez été toujours là quand le besoin s'est fait sentir. Votre sens aigu du travail bien fait, votre apport scientifique et moral ne m'ont jamais manqué. Vous m'avez aidé durant tout ce travail de thèse. Vous êtes si simple et généreux. C'est Dieu qui vous récompensera.

Au Dr Bourama Keita, grand frère, formateur courageux, rigoureux, engagé, ayant le souci du travail bien fait, merci pour votre soutien.

A tout le personnel de l'Unité Immunogénétique et Hémoglobinopathie du MRTC:

Dr Karim Traoré, Dr Ibrahim Sanogo, Dr Mory Dombia, Dr Bourama Kéita, Dr Oumou Coulibaly, Dr Fousseyni Doucouré, Dr Fatoumata Kassé, Dr Djakalidja Konaté, Dr Aboubacar, Dr Nouhoum Koné, Dr Souleymane Maiga, Dr Larissa Denou, Dr Bakaina Diarra, Dr Cheick O. Traoré, interne Job Koné, Abdourahamane Traoré, Salimata Kanté, Assitan Dembélé, Abdourahamane Cissé, ainsi que tous les autres, sans vous, cette

thèse ne serait pas ce qu'elle est. Vous avez tous participé à sa réalisation de par vos conseils et vos encouragements. Merci pour votre gentillesse et votre disponibilité. Recevez ici mes sincères salutations ainsi que ma reconnaissance

A toute l'équipe du MRTC /FMOS-FAPH/USTTB, pour votre soutien

Un grand merci à mon tonton Dr Birama Touré qui crût en moi depuis le jour que j'ai choisi de devenir pharmacienne et qui m'a toujours soutenu par ses bénédictions et par ses conseils.

A toutes mes tantes, merci pour vos bénédictions et vos conseils

A mes oncles surtout Madou Touré, vous avez été toujours là pour nous **et tantes paternels et maternels**, merci pour vos bénédictions et vos conseils.

A mes frères et sœurs feu Assitan Koné, Massitan, Habiba, Sinaly, Sidi Mohamed, Abdoulaye, Mahamane Koné, Adja Coulibaly

Je ne saurais jamais vous remercier assez pour l'estime et l'amour que j'ai reçus auprès de vous. Vous avez été mes premiers compagnons pour la vie. Je vous souhaite beaucoup de courage et de chance dans la vie pour qu'ensemble nous puissions adoucir et remplir de bonheur, les vieux jours de nos parents.

A toutes les familles : Koné, Touré, Coulibaly

Vous avez contribué de près comme de loin à la réussite de ce travail surtout toi Mamy qui n'a jamais cessé de me prendre comme exemple dans la famille, votre tendresse, votre dévouement et votre soutien moral m'ont tant aidé.

Trouvez ici l'expression de ma profonde affection et mes respects.

A mes cousins et cousines, neveux et nièces dont je ne citerai pas de noms pour ne pas oublier certains. Merci pour votre soutien moral.

A mes amis, Fatoumata Minta, Oumar Coulibaly et Souleymane Sidibé, Mahamane Traoré, Mahamadou Sidibé

Vous avez été des amis, nous avons vécu des bons moments ensemble. Merci pour vos soutiens et vos conseils.

A tous ceux et celles que je n'ai pas pu citer ici : Sachez que j'ai une pensée pour chacun de vous.

A mon tonton N'Golo Sanogo, pour votre générosité, votre sympathie, votre dévouement et votre soutien moral et financier merci.

A l'équipe d'ImmunoCore de l'UCRC

Encadrer n'est pas une tâche facile, c'est l'occasion de vous adresser mes vifs remerciements.

Au Dr Alioune NDour : chercheur à INTS INSERM Paris Pr associé à l'université Paris Descartes et son équipe, vous avez conçu et appuyé la réalisation de ce travail sur le plan financier et matériel par vos conseils et vos encouragements. Merci pour votre gentillesse et votre disponibilité. Recevez ici mes sincères salutations ainsi que ma reconnaissance.

HOMMAGE AUX MEMBRES DU JURY

Hommage aux membres du jury

A notre maître et président du jury : Pr Amagana Dolo

- Professeur Titulaire de Parasitologie-Mycologie à la FAPH
- Directeur de l'Ecole Doctorale des Sciences et des Technologies du Mali (EDSTM) ;
- Responsable du DES de biologie clinique à la FMOS/FAPH ;
- Enseignant-Chercheur à la faculté de pharmacie FAPH ;

Honorable Maître,

Cher Maître, C'est pour nous un grand honneur de vous avoir comme président du jury. Vous nous avez reçus 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 maitre model.

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

A notre maître et juge : Dr Mérepen dite Agnès GUINDO

- Docteur en Pharmacie
- Assistante en Immunologie à la FAPH
- Master en Parasitologie
- PhD, Candidate en Immunologie

Cher Maitre,

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 maître et juge : Dr Touré Dinkorma OULOGUEM

- Docteur en Pharmacie
- PhD en biologie Cellulaire à l'université Pennsylvania aux USA
- Maître-assistante de biologie Cellulaire à la FAPH
- Boursière post-doc de l'académie Africaine des Sciences Delta-Delgeme

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 maître et co-directeur : Dr Seidina A. S. DIAKITE

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

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 maître et directeur de thèse : Pr Mahamadou Diakité

- PhD 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 Maitre,

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.

Veillez recevoir en toute modestie l’expression de notre immense gratitude.

LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS

AL	Artéméther-Luméfantrine
AQ	Amodiaquine
ART	Artémisinine
AS	artésunate
ATM	Artéméther
ATP	Adénosine triphosphate
CNR	Centre national de référence
CTA	Combinaisons Thérapeutiques à base d'artémisinine
DHA	Dihydroartémisinine
DAPI	DiAmidino Phenyl Indole, marqueur d'ADN, ici parasitaire
DHA-PQ	Dihydroartémisinine-Pipéraquline
EMIF	Erythrocyte Membrane ImmunoFluorescence
GR	Globule Rouge
IFN- γ	Interféron-gamma
IL	Interleukine
IP	Indice Plasmodique
IS	Indice Splénique
LMVR	Laboratory of Malaria and Vector Research (Laboratoire de Recherche sur le Paludisme et les Vecteurs)
MILD	Moustiquaire Imprégnée d'Insecticide de Longue Durée
MQ	Méfloquine
MRTC	Malaria Research and Training Center (Centre de Recherche et de Formation sur le Paludisme)
NIH	National Institutes of Health (Instituts Nationaux de la Santé)
NK Cell	Natural Killer Cell (Cellule tueuse naturelle)
NO	Nitrogen Oxyde (oxyde nitrique)
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
HRPA	Post Artesunate Delayed Hemolysis (Hémolyse retardée post-artésunate)
PCR	Polymerase Chain Reaction (Réaction de polymérisation en chaîne)

PECAM	Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule (Molécule d'adhésion cellulaire à l'endothélium des plaquettes, PECAM -1)
<i>Pf</i>	<i>Plasmodium falciparum</i>
PfCRT	<i>Plasmodium falciparum</i> chloroquine Resistance transporter (Transporteur de <i>Plasmodium falciparum</i> chloroquinorésistant)
PfEMP	<i>Plasmodium falciparum</i> Erythrocyte Membrane Protein-1 (Protéine-1 de <i>P. falciparum</i> sur la membranaire érythrocytaire)
PID	Pulverisation Intra-Domiciliaire
PNLP	Programme National de lutte contre le Paludisme
RBC	Red Blood Cell (Erythrocyte)
RESA	Ring Erythrocyte Surface Antigen (Antigène de surface des érythrocytes annulaires)
SP	Sulfadoxine-Pyriméthamine
TDR	Test de diagnostic rapide
TNF	Tumor necrosis factor (Facteur de nécrose Tumorale)

Table des matières

DEDICACES ET REMERCIMENTS	i
HOMMAGE AUX MEMBRES DU JURY	vii
1. INTRODUCTION.....	1
2. OBJECTIFS	3
2.1. Objectif général.....	3
2.2. Objectifs spécifiques.....	3
3. GENERALITE	4
3.1. Epidémiologie du paludisme.....	4
3.1.1. Faciès épidémiologiques du paludisme	5
3.1.2. Indices paludométriques	6
3.1.3. Groupes à risque élevé de paludisme sévère	9
3.2. Agents pathogènes du paludisme.....	9
3.2.1. Espèces plasmodiales	9
3.2.2. Vecteurs.....	10
3.2.3. Cycle de développement du <i>Plasmodium</i>	11
3.3. Physiopathologie du paludisme	13
3.3.1. Immunité	14
3.3.2. Caractéristiques cliniques du paludisme	15
3.4. Prévention du paludisme	18
3.4.1. Lutte contre les vecteurs ou prévention contre les piqûres des moustiques	18
3.4.2. Chimio prophylaxie.....	20
3.4.3. Vaccins.....	21
3.5. Diagnostic du paludisme.....	22
3.6. Gestion thérapeutique des accès palustres.....	24
3.6.1. Principes essentiels du traitement médicamenteux de la malaria.	24
3.7. Artémisinine et ses dérivées.....	25
3.7.1. Historique (77).....	26
3.7.2. Molécules dérivées de l'artémisinine.....	28
3.7.3. Mécanisme d'action de l'artémisinine.....	29
3.7.4. Artémisinine et le « <i>pitting</i> » :	30

4. METHODOLOGIE	32
4.1. Cadre de l'étude	32
4.1.1. Service des Urgences Pédiatriques	32
4.1.2. Laboratoire Immunogénétique et parasitologie du MRTC/FMOS-FAPH/ USTTB	33
4.2. Période d'étude.....	34
4.3. Type d'étude	34
4.4. Population d'étude	34
4.5. Critère d'inclusion.....	34
4.7. Critère de non-inclusion ou d'exclusion	35
4.8. Variables mesurées	35
4.9. Techniques de laboratoire	36
4.10. Collecte, saisie et analyse des données.....	36
4.11. Définitions opérationnelles.....	36
4.12. Déroulement de l'étude.....	36
4.13. Traitement des cas de paludisme	37
4.14. Considérations éthiques	37
5. Résultats	38
5.1. Résultats descriptifs.....	38
5.2. Résultats analytiques.....	41
6. Commentaires et discussion	46
8. Conclusion et recommandations	52
Au terme de notre étude et vu nos résultats, nous pouvons formuler les recommandations suivantes :	52
8.1. Conclusion.....	52
8.2. Recommandations.....	52
9. Références bibliographiques	53
10. Annexes	63
10.1. Technique de goutte épaisse.....	63
10.2. Technique de Détermination du taux de pitémie.....	67
11. Fiche signalétique	70

SERMENT DE GALIEN 72

Liste des tableaux

Tableau 1: Classification de l'endémicité palustre en fonction de l'indice plasmodique (21).....	8
Tableau 2. Répartition des patients en fonction de la tranche d'âge	38
Tableau 3. Répartition des patients en fonction du sexe	38
Tableau 4. Répartition des patients en fonction du type d'hémoglobine.....	39
Tableau 5. Répartition des Sujets en fonction de la sévérité de l'anémie à l'entrée	39

Liste des figures

Figure 1: Cycle de développement du Plasmodium	13
Figure 2: Feuille d'armoise annuelle (76)	26
Figure 3: Structure chimique de l'artémisinine et de certains de ses dérivés	29
Figure 4: Illustration du phénomène de pitting et de sa mise en évidence par utilisation de marqueur de protéine palustre RESA (Pf155) à la surface interne de la membrane globulaire. EMIF: Erythrocyte Membrane ImmunoFluorescence. DAPI: DiAmidino Phenyl Indole, marqueur d'ADN, ici parasite (89).....	31
Figure 5. Evolution de la pitémie moyenne au cours du suivi de 28 jours	40
Figure 6. Parasitémie moyenne en fonction des tranches d'âge	41
Figure 7. Evolution de la pitémie en fonction des classes d'âge	42
Figure 8. Evolution de la pitémie en fonction de l'anémie à l'inclusion	43
Figure 9. Evolution de la pitémie en fonction de la parasitémie à l'inclusion	44
Figure 10. Evolution de la pitémie en fonction du type d'hémoglobine	45
Figure 11. Technique de la goutte épaisse.....	64
Figure 12: Illustration de la procédure d'analyse au cytométrie de flux pour la détermination du taux de pitémie	69

1. INTRODUCTION

Le paludisme reste encore l'une des maladies parasitaires les plus fréquentes à travers le monde et particulièrement en Afrique au sud du Sahara. En 2019, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) estimait à 228 millions le nombre de cas de paludisme et à 405 000 le nombre de décès occasionné par le paludisme. La majorité de ces décès surviennent en Afrique particulièrement chez les enfants de moins de 5 ans et les femmes enceintes (1). Au Mali, comme dans la plupart des pays de l'Afrique subsaharienne, le paludisme est considéré comme la première cause de mortalité et de morbidité chez les enfants de moins de 5 ans. Il constitue le premier motif de consultation dans les formations sanitaires (39%) avec une prévalence nationale de 19% chez les enfants de moins de 5 ans (2).

Malgré les différentes interventions telles que l'utilisation des moustiquaires d'imprégnés d'insecticides, la pulvérisation intradomiciliaire, le traitement préventif intermittent au cours de la grossesse (TPIp) par la sulfadoxine-pyriméthamine (SP), la prise en charge des cas, le paludisme reste toujours un problème majeur de santé publique. Il est considéré comme un facteur majorant la pauvreté de par son impact négatif sur le développement économique et humain dans les zones endémiques (3).

Plusieurs molécules sont utilisées pour traiter le paludisme selon les manifestations cliniques de la maladie. Cependant face au développement et à la propagation rapide de la résistance de *Plasmodium falciparum* à ces différentes molécules, l'OMS a recommandé l'utilisation des combinaisons thérapeutique base d'artémisinine (CTA) pour le traitement des cas non compliqués du paludisme(4). Au Mali le programme national de lutte contre le paludisme (PNLP) préconise l'utilisation de des CTA pour le traitement des cas non compliqués de paludisme et l'Artemether injectable et la quinine en perfusion pour le traitement des cas graves de paludisme (5).

L'artésunate injectable réduit de façon considérable la mortalité due à *Plasmodium falciparum*. Il est le traitement de choix pour les patients atteints de paludisme grave et a été recommandé par l'OMS comme traitement de première intention dans la prise en charge du paludisme grave (4).

Le mode d'action de l'artémisinine et de ses dérivés et leur efficacité sur les formes jeunes permettent une élimination rapide des parasites circulants, évitant l'apparition de certains phénomènes comme la cytoadhérence et la séquestration des formes matures de *P. falciparum* dans les micro-vaisseaux sanguins, des phénomènes impliqués dans le développement des formes sévères du paludisme (6).

L'effet bénéfique de cette molécule sur la mortalité liée au paludisme et sur la tolérance a été démontrée en comparaison aux autres molécules antipaludiques (7, 8). Cependant, cet avantage procuré par la molécule peut s'accompagner de certains inconvénients comme l'apparition d'anémie quelques jours après le traitement. Il s'agit d'une hémolyse différée qui est désigné sous le nom d'hémolyse retardée post-artésunate (HRPA en anglais PADH pour *Post-Artesunate Delayed Hemolysis*). Cet effet indésirable intervient tardivement alors que le patient est cliniquement guéri du paludisme et que les globules rouges (GR) ont été débarrassés des parasites (9).

L'incidence réelle de la HRPA reste à définir chez les enfants vivant en zone d'endémie, de même que sa gravité et son impact. Certaines études rapportent une anémie généralement modérée, mais quelques cas graves menaçant le pronostic vital notamment via une insuffisance rénale aiguë ont été décrits (10, 11). D'autres études ont rapporté l'apparition de l'anémie suite à l'hémolyse des globules rouges (GR) épépinés (Pittés) des parasites tués au stade jeune de leur développement (12, 13) .

L'épépinage (pitting) des GR des parasites tués constitue un important mode d'élimination des parasites après traitement à l'artémisinine (14). En effet, les GR contenant des parasites tués par l'action de l'artémisinine sont pittés des parasites morts au cours de leur passage au niveau des fentes inter-endothéliales des veinules de la pulpe rouge de la rate. Le pitting relargue dans la circulation sanguine les GR pittés encore fonctionnels mais fragilisés. La destruction massive et différée de ces GR serait responsable de la HRPA. Le pitting a été étudié en France chez les patients atteints de paludisme d'importation et chez des enfants maliens atteints de paludisme non compliqué (15, 16).

Ce phénomène n'a pas encore été étudié chez les enfants atteints de paludisme grave dans les conditions de prise en charge en zones d'endémie palustre. La présente étude avait pour but d'évaluer le profil de pitting chez les enfants atteints de paludisme grave traités au service de pédiatrie du CHU Gabriel Touré par l'artésunate. Les résultats de cette étude permettront d'éclairer les prises de décision relative à la prise en charge du paludisme par l'artésunate et ses molécules dérivées.

2. OBJECTIFS

2.1. Objectif général

Etudier le profil de pitting chez les enfants atteints de paludisme grave traités par l'artésunate au CHU-GT entre Juillet 2019 et décembre 2019.

2.2. Objectifs spécifiques

- Décrire le profil sociodémographique des enfants atteints de paludisme grave traités par l'artésunate au CHU-GT entre juillet et décembre 2019.
- Déterminer la prévalence de l'anémie chez les enfants atteints de paludisme grave traités par l'artésunate au CHU-GT entre juillet et décembre 2019.
- Déterminer la proportion de GR pittés chez les enfants atteints de paludisme grave avant traitement et au troisième, septième, quatorzième, vingt-unième et vingt-huitième jour après traitement par l'artésunate au CHU-GT entre juillet et décembre 2019.
- Déterminer l'influence de l'âge sur le profil de pitting chez les enfants atteints de paludisme traités par l'artésunate au CHU-GT entre juillet et décembre 2019.

3. GENERALITE

3.1. Epidémiologie du paludisme

Le paludisme est une maladie potentiellement mortelle due à des parasites du genre *Plasmodium* transmis à l'homme par des piqûres de moustiques femelles infestés du genre *Anopheles*. Les jeunes enfants, les femmes enceintes et les voyageurs non-immunisés venant de régions exemptes de paludisme sont particulièrement vulnérables à la maladie. Il demeure un problème majeur de santé publique dans le monde.

Environ 3,2 milliards de personnes soit près de la moitié de la population mondiale sont exposés au risque de contracter le paludisme (6). La Région africaine de l'OMS a recensé elle seule 94% des décès dus au paludisme en 2018. Les enfants de moins de 5 ans sont le groupe le plus vulnérable touché par le paludisme. En 2018, ils représentaient 67% (272000) de tous les décès dus au paludisme dans le monde (1). En 2018, seules la Région africaine de l'OMS et la Région OMS de l'Asie du Sud-Est ont enregistré des réductions des décès dus au paludisme par rapport à 2010. Par ailleurs, le taux de réduction de la Mortalité due au paludisme a également ralenti depuis 2016 (1). Le paludisme touche une centaine de pays dans le monde, particulièrement les zones tropicales. Aujourd'hui, le paludisme est une pathologie endémique des régions tropicales et subtropicales d'Afrique, d'Asie du sud-est, d'Amérique Latine et du Moyen orient. En effet, L'Afrique subsaharienne supporte une part disproportionnée de la charge Mondiale du paludisme. Cette maladie a des répercussions socio-économiques sur les populations des pays les plus touchés (6).

Au Mali, en 2018, un total de 3 572 794 cas suspects ont été enregistrés. Parmi ces cas suspects 3 457 267 (97%) ont été testés et 2 345 481 (66%) cas testés ont été confirmés (SLIS 2018) (17). Le paludisme constitue un problème également chez les femmes enceintes où il est à l'origine de la moitié des anémies et de la plupart des faibles poids de naissance. Le paludisme est endémique au Mali avec une intense transmission au cours de la saison pluvieuse dont la durée est variable en fonction des zones éco-

climatiques. Mais des poussées épidémiques sont souvent observées dans certaines localités de la zone subsaharienne.

3.1.1. Faciès épidémiologiques du paludisme

Les indices palustres permettant de classer les zones de transmission du paludisme sont en fonction des facteurs qui conditionnent l'épidémiologie du paludisme. L'indice de stabilité définie par Macdonald permet de classer le paludisme en deux faciès (18).

- Les zones de paludisme stable où la forte transmission entraîne une prémunition. Cette transmission est intense et permanente. La prémunition n'empêche pas les habitants d'être parasités mais limite les manifestations pathologiques aux classes d'âge les plus jeunes alors que les adultes sont peu touchés.
- Les zones de paludisme instable où le caractère épisodique de la transmission ne permet pas le développement de la prémunition. La maladie sévit alors sous forme d'épidémie touchant toutes les classes d'âge. La transmission y est faible et périodique et dépend fortement de la pluviométrie.

Entre ces deux extrêmes, existe toute une zone intermédiaire, 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, le paludisme est endémique avec une intense transmission saisonnière au cours de la saison pluvieuse dont la durée est variable en fonction des zones écoclimatiques. Mais des poussées épidémiques sont souvent observées dans certaines localités de la zone subsaharienne. La variation de transmission d'une région à l'autre permet de définir des zones épidémiologiques (19).

Plusieurs modalités de transmission du paludisme ont été décrites.

- Une zone soudano-guinéenne à transmission saisonnière longue de 4 à 6 mois où l'indice plasmodique (IP) chez les enfants est constamment supérieure à 75%. L'état de prémunition est acquis vers l'âge de 5-6 ans avec un coût humain élevé.

- Une zone sahélienne à transmission saisonnière courte 3 à 4 mois. L'IP se situe entre 50-75%. L'état de prémunition est rarement atteint avant l'âge de 9-10 ans et tous les groupes d'âge sont à risque de paludisme sévère.
- Une zone de transmission sporadique voire épidémique correspondant aux régions situées dans le Nord du pays (Gao, Tombouctou, Kidal) et à certaines localités des régions de Koulikoro, Ségou, Mopti et de Kayes. L'IP est inférieur à 5%. Tous les groupes d'âge sont à risque de paludisme grave.
- Des zones de transmission bi- ou plurimodales comprenant le delta intérieur du fleuve Niger et les zones de barrage et de riziculture. L'IP se situe entre 40-50%. L'anémie reste un phénotype clinique important dans ces régions.
- Des zones peu propices à l'impaludation particulièrement dans les milieux urbains comme Bamako et Mopti où le paludisme est hypoendémique. L'IP est $\leq 10\%$ et les adultes peuvent faire des formes graves et compliquées de paludisme.

3.1.2. Indices paludométriques

Ces indices sont les outils qui permettent aux épidémiologistes d'évaluer dans une région donnée, le niveau de l'endémicité palustre. On peut citer :

- **Indice plasmodique (IP)** qui est le pourcentage des enfants (2 à 9 ans) examinés ayant des hématozoaires dans leur sang,
- **Indice splénique (IS)** est le pourcentage des enfants (2 à 9 ans) qui présentent une splénomégalie. C'est un bon marqueur de l'immunité dans une population donnée.

Le Taux d'Inoculation Entomologique (TIE) est généralement interprété comme le nombre de piqûres infectantes de *P. falciparum* reçues par un individu au cours d'une période donnée. Le TIE estime le niveau d'exposition aux moustiques infectés par *Plasmodium falciparum* et est la mesure la plus utilisée pour évaluer l'endémicité et l'intensité de la transmission du paludisme (20). Les évaluations du TIE peuvent être particulièrement utiles pour estimer l'effet des efforts visant à réduire le contact entre l'homme et les vecteurs.

D'autres indices sont utilisés lors des activités de recherche sur le paludisme mais ne sont pas utilisés dans la définition de l'endémicité palustre. Par exemple, on peut citer :

- les enquêtes séro-immunologiques qui permettent également d'évaluer le taux des anticorps par classe d'âge et de suivre leurs variations saisonnières. Leur valeur est plus grande que celle de l'indice splénique car l'étiologie de splénomégalies tropicales est variée.
- l'indice sporozoïtique et l'indice oocystique qui est le pourcentage des anophèles femelles présentant respectivement des sporozoïtes dans les glandes salivaires et des oocystes sur la paroi externe de l'estomac. Bien qu'il existe de nombreuses espèces de Plasmodium d'animaux présentes chez les anophèles, ces indices peuvent refléter l'anthropophilie du moustique.

Tableau 1: Classification de l'endémicité palustre en fonction de l'indice plasmodique (21)

Niveau d'endémicité	Transmission	IP chez les enfants de 2-9 ans (%)	Commentaires
Hypoendémique	Faible, sub-périodique ou sporadique	Généralement ≤ 10	Les moustiques sont instables, généralement difficiles à détecter, des épidémies sérieuses peuvent survenir.
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.
Hyperendémique	Intense (saisonnière) chaque année	51-75	Fluctuation saisonnière des cas de paludisme, fréquentes séquelles sévères chez les jeunes les enfants, une certaine immunité chez les adultes.
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 prémuniton chez les adultes.

3.1.3. Groupes à risque élevé de paludisme sévère

Les personnes à risque de paludisme sévère sont (OMS, 2019) :

- les enfants vivants dans les régions hyper- ou Holoendémique en particulier ceux âgés de six mois à cinq ans ;
- les sujets de tout âge dans les régions hypo- ou mésoendémique ;
- les voyageurs venant des régions où il n'existe pas de transmission de paludisme et qui se rendent dans une région impaludée ;
- les femmes enceintes (à risque pour toutes les complications).
- les personnes qui retournent dans des régions fortement endémiques après quelques années d'absence (1)

3.2. Agents pathogènes du paludisme

3.2.1. Espèces plasmodiales

Le paludisme est transmis à l'homme par un protozoaire appartenant au genre *Plasmodium*. Il existe de très nombreuses espèces de *Plasmodium* (plus de 140), touchant diverses espèces animales mais seulement cinq de ces espèces sont retrouvées en pathologie humaine. Il s'agit de *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae* et *P. knowlesi* (parasite habituel du singe accidentellement transmis à l'homme). Les cinq espèces diffèrent par des critères biologiques, cliniques, par leur répartition géographique et par leur capacité à développer des résistances aux antipaludiques.

P. falciparum est classé comme suit :

PHYLUM : *Apicomplexa*

CLASSE : *Sporozoaires*

ORDRE : *Eucoccidis*

FAMILLE : *Plasmodiidae*

GENRE : *Plasmodium*

ESPECE : *falciparum*

P. falciparum présente des particularités par rapport aux autres espèces plasmodiales. Il est largement répandu à travers le monde. Il développe plus facilement des résistances aux antipaludiques et est responsable des formes cliniques potentiellement mortelles de la maladie (21).

3.2.2. Vecteurs

Le paludisme est transmis à l'homme par la piqûre d'un moustique culicidé du genre *Anopheles* au moment de son repas sanguin dont la femelle est hématophage. La femelle se nourrit du sang pour pouvoir mûrir ses œufs. Elle pond entre 150 et 200 œufs tous les 2 ou 3 jours. Elle ne pique qu'à partir du coucher du soleil avec un maximum d'activité entre 23 heures et 6 heures. Cela explique que l'utilisation des moustiquaires soit le moyen de prévention individuelle le plus efficace.

Les larves des anophèles se développent dans les collections d'eau surtout les eaux stagnantes. La nature des sols, le régime des pluies, la température et l'altitude, la végétation naturelle ou l'agriculture, rendent les collections d'eau plus ou moins propices au développement des espèces vectrices. Certaines espèces ont pu s'adapter à des milieux particuliers comme le milieu urbain. Le développement et la longévité des anophèles dépendent de la température avec un optimum entre 20 et 30°C pour une durée de vie de l'ordre de 30 jours.

Il existe de très nombreuses espèces d'anophèles mais toutes ne transmettent pas le paludisme. Les espèces les plus dangereuses sont les espèces anthropophiles qui ont une préférence pour effectuer leur repas sanguin sur l'homme plutôt que sur l'animal et les espèces endophiles qui se reposent à l'intérieur des maisons. De très nombreux facteurs climatiques et/ou environnementaux, naturels (sécheresses, variations de température, etc.) ou dus à l'activité humaine (assèchement de marécages, construction de barrages, irrigations, construction de routes ...) peuvent modifier la répartition des anophèles dans une région donnée et par conséquent influencer la transmission du paludisme. La répartition des anophèles à travers le monde dépasse largement celle du paludisme. Si les conditions favorables de réimplantation dans des foyers actuellement éradiqués survenaient, la transmission pourrait s'y établir de nouveau. Par ailleurs des résistances aux insecticides sont apparues limitant les moyens de lutte (21).

3.2.3. Cycle de développement du *Plasmodium*

Le cycle se déroule successivement en deux phases :

- Une phase asexuée chez **l'homme** (l'hôte intermédiaire).
- Une phase sexuée chez **l'anophèle** (l'hôte définitif)

3.2.3.1. Cycle chez l'homme

Chez l'homme le cycle est lui-même divisé en 2 phases :

- la phase hépatique ou pré-érythrocytaire (= exo-érythrocytaire) : elle correspond à la phase d'incubation, cliniquement asymptomatique.
- la phase sanguine ou érythrocytaire : elle correspond à la phase clinique de la maladie.

La phase pré-érythrocytaire débute par inoculation du sporozoïte lors de la piqûre du moustique. En effet, au cours d'un repas sanguin, l'anophèle femelle infecté par le *Plasmodium* inocule des sporozoïtes dans l'hôte humain. Ces sporozoïtes inoculés restent pendant une trentaine de minutes maximum dans la peau, la lymphe et le sang. Beaucoup sont détruits par les macrophages cutanés mais certains parviennent à gagner les hépatocytes. Ils se transforment en schizontes pré-érythrocytaires ou « corps bleus » (formes multinucléées) qui, après 7 à 15 jours de maturation, éclatent et libèrent des milliers de mérozoïtes dans le sang (10 000 à 30 000 mérozoïtes en fonction des espèces). La schizogonie hépatique est unique dans le cycle, la cellule hépatique ne pouvant être infectée que par des sporozoïtes.

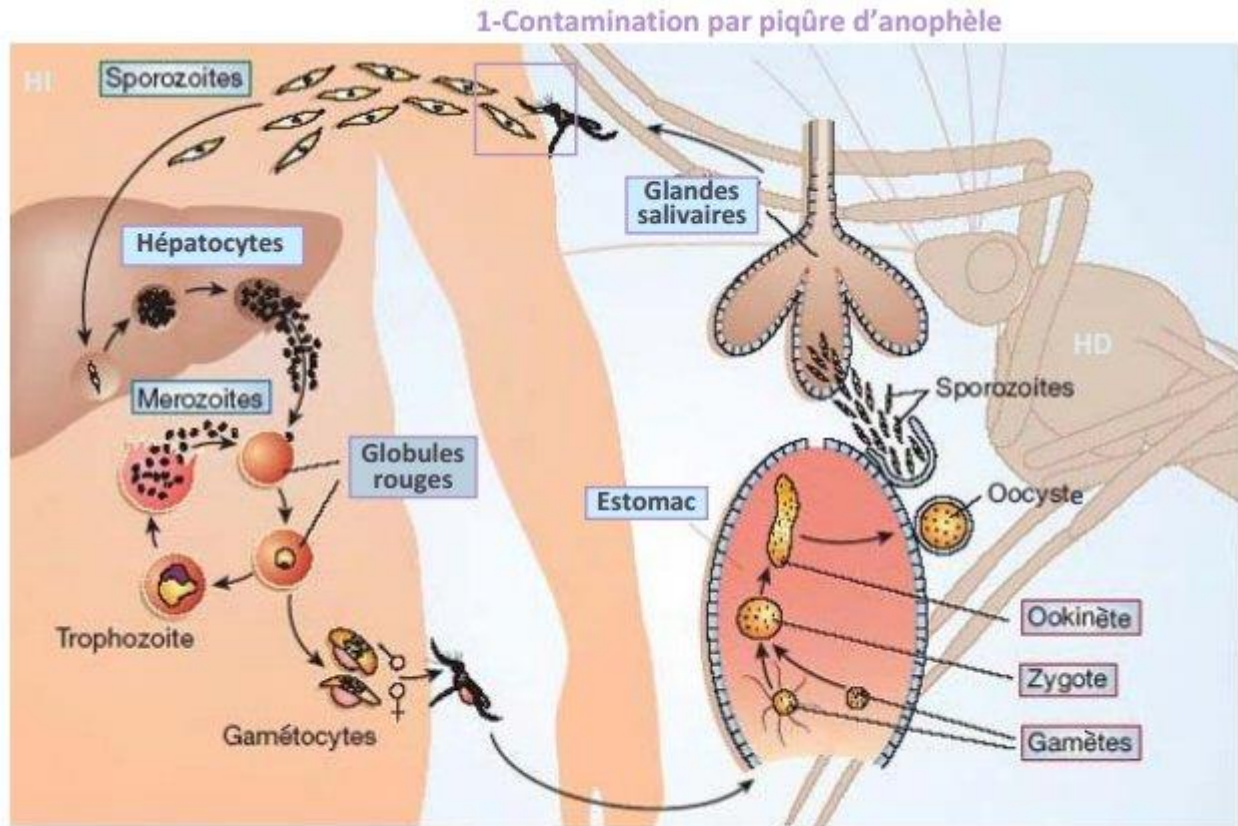
Dans les infections à *P. vivax* et *P. ovale*, certains sporozoïtes intra-hépatiques restent quiescents (hypnozoïtes) et sont responsables d'une schizogonie hépatique retardée. Ce phénomène entraîne la libération dans le sang de mérozoïtes plusieurs mois après la piqûre infectante du moustique, expliquant les reviviscences tardives observées avec ces deux espèces. Les hypnozoïtes n'existent pas dans l'infection à *P. falciparum* (pas de rechute) et ils n'ont pas été mis en évidence non plus dans l'infection à *P. malariae* malgré l'existence de rechutes tardives, ni-semble-t-il pour *P. knowlesi* (21).

La phase sanguine ou érythrocytaire dure 48 heures chez *P. falciparum*. Cette phase est caractérisée par la pénétration des mérozoïtes dans les érythrocytes où ils se transforment en trophozoïtes puis en schizontes érythrocytaires dont chacun comporte 16 ou 32 noyaux. Ces mérozoïtes pénètrent dans de nouveaux GR et débutent un nouveau cycle de réplication. Cette partie du cycle correspond à la phase clinique de l'infection palustre. La parasitémie s'élève, le patient devient fébrile, c'est l'accès palustre. En l'absence de traitement, tous les parasites évoluent progressivement au même rythme (on dit qu'ils deviennent synchrones), tous les schizontes érythrocytaires arrivent à maturation au même moment, entraînant la destruction d'un grand nombre de globules rouges de manière périodique toutes les 24 heures (pour *P. knowlesi*), 48 heures (fièvre tierce de *P. falciparum*, *P. vivax* ou *P. ovale*) ou toutes les 72 heures (fièvre quarte de *P. malariae*).

En pratique, on observe que la fièvre tierce due à *P. falciparum* est rarement synchrone. Après un certain nombre de cycles érythrocytaires, certains mérozoïtes subissent une maturation d'une dizaine de jours, accompagnée d'une différenciation sexuée. Ils se transforment en gamétocytes à potentiel mâle ou femelle qui vont rester dans la circulation sanguine pendant 10 à 15 jours (21).

3.2.3.2. Cycle chez l'anophèle femelle (sporogonie)

Lors de son repas sanguin sur un individu infecté, l'anophèle femelle ingère des gamétocytes à potentiel mâle et femelle. Ceux-ci parviennent dans l'estomac du moustique et se transforment en gamètes. Le gamète mâle subit un processus d'exflagellation à la suite duquel les gamètes femelles sont fécondés. Il en résulte un zygote appelé ookinète (ou œuf mobile) qui va s'implanter sous la paroi stomacale de l'anophèle et former l'oocyste. Cette brève phase diploïde s'achève par une division méiotique qui sera suivie de plusieurs milliers de mitoses conduisant au développement de sporozoïtes. Ces derniers vont gagner préférentiellement les glandes salivaires et constituent les formes infectantes prêtes à être inoculées avec la salive lors du repas sanguin sur l'homme ou autre animal. L'ensemble de ce cycle se déroule en 4 à 10 jours, suivant la température extérieure et les espèces en cause (22)



▶ Ménard R. Medicine: knockout malaria vaccine? Nature. 2005 Jan 13;433(7022):113-4.

Figure 1: Cycle de développement du *Plasmodium*

3.3. Physiopathologie du paludisme

Traditionnellement, le paludisme a été défini par rapport à des paroxysmes périodiques de fièvre qui coïncident avec les cycles intra-érythrocytaires du parasite de chaque espèce (24 h pour l'infection à *P. knowlesi* ; 48 h pour *P. falciparum*, *P. vivax* et *P. ovale* ; et 72 h pour *P. malariae*).

P. falciparum est l'unique espèce capable de provoquer des infections multiples sur un seul globule rouge ainsi que d'envahir les globules rouges de tout âge, ce qui se traduit par une plus grande virulence et une multiplication plus rapide entraînant une maladie plus grave. Les déterminants du parasite et de l'hôte contribuent tous deux à l'apparition et à l'évolution du paludisme grave et cérébral, bien que l'on ignore encore pourquoi certains individus développent une maladie grave (23).

La séquestration des globules rouges, l'inflammation et le dysfonctionnement endothélial sont des éléments clés du "triumvirat pathologique" qui conduit au paludisme grave (24). Tout d'abord, il est suggéré que la séquestration est médiée par l'adhésion de formes matures de globules rouges infectés aux récepteurs de l'hôte exprimés sur les capillaires de la muqueuse endothéliale de l'hôte, sur les globules rouges non infectés pour former des rosettes (25) et sur les plaquettes pour former des amas à médiation plaquettaire (26). La cytoadhésion, une caractéristique clé de la pathogénèse des infections associées à *P. falciparum*, est médiée par la protéine 1 de la membrane érythrocytaire de *P. falciparum* (PfEMP1) (27), qui se lie à de nombreux récepteurs de l'hôte.

Deuxièmement, le paludisme sévère, y compris l'anémie palustre sévère et le neuropaludisme, a également été corrélé à une réponse immunitaire excessive de l'hôte et, par conséquent, à un état inflammatoire dérégulé. En troisième lieu, le dysfonctionnement endothélial gagne en importance en tant qu'élément clé de la pathogénèse du paludisme sévère, reliant la séquestration et l'inflammation (28). Une biomasse parasitaire élevée est également directement liée au paludisme sévère et aux phénomènes de séquestration des globules rouges, d'inflammation et de dysfonctionnement endothélial (24). La protéine 2 riche en histidine de *P. falciparum* (HRP2) est une protéine hydrosoluble produite par le parasite et libérée par les globules rouges, dont la mesure fournit une estimation plus robuste de la biomasse parasitaire totale de l'organisme, en particulier lorsqu'on la compare à la parasitémie périphérique (23, 29). De fortes concentrations de l'HRP-2 sont associées au paludisme sévère et à une mortalité plus élevée (30, 31).

3.3.1. Immunité

Il n'existe pas d'immunité stérilisante contre l'infection palustre. Cependant, l'exposition répétée à des piqûres de moustiques infectieux entraîne l'acquisition progressive d'une immunité clinique et protège contre les maladies graves et la mort. C'est le cas des enfants nés dans des zones à forte transmission qui, après une exposition répétée à des piqûres infectées, acquerront une immunité contre le paludisme sévère s'ils survivent aux premières années de leur vie (32). Cela ne signifie pas qu'ils ne souffriront pas d'infections

au cours de leur enfance ou leur vie adulte, mais la probabilité que ces infections deviennent cliniquement évidentes et graves sera considérablement réduite.

D'autre part, lorsque la transmission est faible et l'exposition moins fréquente, une maladie grave peut être présente à tout âge en raison de l'absence de développement d'une immunité clinique. Dans un contexte de réduction significative de l'incidence du paludisme, il faut en tenir compte, car la réduction de la transmission peut affecter l'acquisition des réponses immunitaires naturelles et donc entraîner des changements dans le spectre clinique de la maladie (33). Ces réponses et les mécanismes associés sont loin d'être complètement compris (34).

3.3.2. Caractéristiques cliniques du paludisme

La grande majorité des infections de paludisme ne provoquent qu'une maladie bénigne, avec seulement ~1% des infections de *P. falciparum* provoquant des manifestations cliniques graves. Un cas de paludisme non compliqué est défini comme un patient ayant un diagnostic clinique de paludisme avec une parasitémie asexuée à *Plasmodium* > 0 parasites/ μ L et ne répondant pas aux critères du paludisme sévère. Le signe cardinal du paludisme est la fièvre, une température corporelle anormalement élevée. En outre, les premiers symptômes de la maladie sont non spécifiques, notamment un malaise général, de la fatigue, de l'arthralgie, de la myalgie, des céphalées, une gêne abdominale, des nausées, des vomissements ou une hypotension orthostatique. Dans les zones d'endémie, le paludisme est la cause la plus fréquente de fièvre et la plupart des patients ne présentent que peu de signes physiques anormaux. Dans les zones non endémiques, le paludisme doit être suspecté chez les patients ayant des antécédents de voyage dans des pays endémiques.

Le paludisme sévère est une maladie multi-systèmes complexe qui peut être définie différemment selon la tranche d'âge qu'elle touche. La plupart des enfants atteints de paludisme sévère peuvent être identifiés par la combinaison de seulement trois syndromes qui se chevauchent et qui diffèrent par leurs caractéristiques biologiques, cliniques et épidémiologiques : le paludisme cérébral (CM), l'anémie palustre sévère

(APS) et l'acidose/hyperlactatémie (se manifestant cliniquement par une détresse respiratoire). Les autres manifestations comprennent l'hypoglycémie, les lésions rénales aiguës, la jaunisse, les convulsions répétées, l'œdème pulmonaire, les saignements importants, l'hyperparasitémie ou le choc (35).

Les manifestations cliniques du paludisme diffèrent entre les adultes et les enfants, la défaillance de plusieurs organes et le choc étant plus fréquents chez les premiers. De nouvelles données, telles que la démonstration d'une prévalence élevée de lésions rénales aiguës chez les enfants (36), confirment toutefois que certaines caractéristiques cliniques considérées comme plus typiques des adultes sont également fréquentes chez les enfants. Quel que soit l'âge, l'atteinte neurologique, l'acidose et l'insuffisance rénale sont associées à de mauvais résultats et leur combinaison peut aggraver le pronostic (37-39).

Quelques définitions opérationnelles

Altération de la conscience - Un score de coma de Glasgow < 11 chez les adultes ou un score de coma de Blantyre < 3 chez les enfants.

Acidose - Déficit en bases >8 meq/l ou, si non disponible, un taux de bicarbonate plasmatique <15 mM ou un taux de lactate plasmatique veineux > 5 mM. L'acidose grave se manifeste cliniquement par une détresse respiratoire - respiration rapide, profonde et laborieuse.

Hypoglycémie - Glycémie sanguine ou plasmatique < 2,2 mM (<40 mg/dl).

Anémie palustre grave - Une concentration d'hémoglobine < 5 g/dl ou un taux d'hématocrite < 15 % chez les enfants de moins de 12 ans (< 7 g/dl et < 20 %, respectivement, chez les adultes) ainsi qu'un nombre de parasites > 10 000/µl.

Insuffisance rénale (lésion rénale aiguë) - Créatinine plasmatique ou sérique >265 µM (3 mg/l) ou urée sanguine >20 mM.

Jaunisse - Bilirubine plasmatique ou sérique > 50 IM (3 mg/dl) associée à un nombre de parasites >100,000/µl

Œdème pulmonaire - Confirmé par radiologie, ou saturation en oxygène < 92 % de l'air ambiant avec une fréquence respiratoire > 30/min, souvent avec un tirage sous-costal et des crépitations à l'auscultation.

Saignements importants y compris les saignements récurrents ou prolongés des gencives, du nez ou des sites de ponction veineuse ; hématurie ou méléna.

Choc compensé est défini comme une recharge capillaire ≥ 3 s ou un gradient de température sur la jambe (membre moyen à proximal), mais pas d'hypotension.

Choc décompensé est défini comme une pression artérielle systolique < 70 mm Hg chez l'enfant ou < 80 mm Hg chez l'adulte avec des signes d'altération de la perfusion (périphérie froide ou recharge capillaire prolongée).

Hyperparasitémie - Parasitémie à *Plasmodium falciparum* >10%.

Le paludisme cérébral se caractérise par une altération grave de la conscience (coma profond) en l'absence d'autres explications ou diagnostics. Le paludisme cérébral peut également présenter des crises répétées ou d'autres anomalies neurologiques et est associée à différents déficits cognitifs et neurologiques à long terme chez un tiers des survivants (40-45). Le paludisme cérébral, tant chez les adultes que chez les enfants, peut atteindre un taux de létalité de 20 %, le gonflement du cerveau étant un événement pathogène clé pour expliquer ces pourcentages élevés (46-49).

La détresse respiratoire est une manifestation courante du paludisme sévère qui se développe chez jusqu'à 25% des adultes et 40% des enfants atteints de paludisme grave à *falciparum* (50). Elle se manifeste généralement par une respiration profonde (acidose) et laborieuse, une tachypnée, un tirage sous-costal et un évitement nasal soutenu. Bien que le paludisme sévère soit principalement causée par *P. falciparum*, l'anémie palustre sévère peut être présente dans tous les types de paludisme (51). La prévalence de l'anémie dans les zones d'endémie du paludisme est très élevée, en particulier chez les enfants, et a une étiologie multifactorielle (52). L'anémie associée au paludisme diminue avec l'âge et augmente avec l'exposition (24). Bien que le paludisme cérébral associée

soit plus faible, mais en raison de son incidence élevée, l'anémie palustre sévère est la principale cause de mortalité attribuable au paludisme dans le monde.

Au cours de la dernière décennie, le potentiel pathogène d'autres espèces telles que *P. vivax* ou *P. knowlesi* est également devenu évident. Ces deux espèces ne doivent plus être considérées comme bénignes et doivent faire l'objet d'une approche plus vigoureuse en termes de gestion.

3.4. Prévention du paludisme

3.4.1. Lutte contre les vecteurs ou prévention contre les piqûres des moustiques

Les mesures visant à réduire la population de moustiques ou à limiter le contact entre l'homme et les moustiques sont les meilleures mesures de prévention contre le paludisme (53). L'intensification des interventions à base d'insecticide, centrées sur le foyer, telles que les moustiquaires imprégnées d'insecticide longue durée (MILD) et la pulvérisation intra domiciliaire d'insecticides à effet rémanent (PID), contribue certainement de manière importante à la diminution significative de la charge du paludisme observée dans le monde entre 2000 et 2015 (54). Toutefois, ce succès est menacé par l'émergence de moustiques résistants aux pyréthrinoïdes (55), le seul insecticide actuellement utilisé dans les MILD, et à d'autres insecticides utilisés dans le cadre d'autres stratégies de lutte contre les vecteurs. En outre, plusieurs changements de comportement des moustiques constituent des défis biologiques importants dans notre lutte contre le paludisme, notamment le passage à des piqûres en plein air ou précoces, la sortie rapide des maisons juste après avoir nourri et même partiellement nourri les animaux.

Ces changements de comportement peuvent permettre aux vecteurs d'éviter les insecticides et de maintenir la transmission à un niveau élevé même en présence d'une bonne couverture en MILD ou en PID dans un phénomène connu sous le nom de transmission résiduelle (56). Des approches innovantes sont nécessaires pour contrôler la transmission résiduelle, certaines options étant envisagées, notamment l'utilisation de médicaments (comme par exemple l'ivermectine, un endectocide puissant (57) qui tue les moustiques se nourrissant des personnes ou des animaux traités, des appâts à sucre

ciblés attractifs et des répulsifs spatiaux (58). En 2006, le gouvernement malien a mis en place un programme de distribution gratuite de moustiquaires imprégnées d'insecticide (MII) lors des consultations prénatales (ANC) et de traitement préventif intermittent pendant la grossesse avec la sulfadoxine-pyriméthamine (IPTp-SP) pour les femmes enceintes. De mars à novembre 2009, nous avons mené une étude transversale dans les zones périurbaines de Bamako au Mali pour déterminer la prévalence du paludisme chez les femmes enceintes et leurs nouveau-nés dans le cadre de cette politique (59).

Le Mali a adopté les méthodes de lutte anti vectorielle pouvant être utilisées au niveau individuel et communautaire pour protéger contre les piqûres de moustiques. Il s'agit de:

- La promotion des moustiquaires imprégnées d'insecticide par la distribution gratuite à travers :

- la consultation prénatale pour la protection des femmes enceintes (CPN+),

- le programme élargi de vaccination pour la protection des enfants de moins d'un an (PEV+).

- La promotion des moustiquaires imprégnées d'insecticide à travers le circuit commercial pour la population générale.

- Le traitement ciblé des gîtes larvaires est réalisé dans la ville de Bamako;

- La pulvérisation intra domiciliaire avec son objectif de réduire la population vectrice. La PID est retenue comme l'une des composantes majeures de la lutte anti vectorielle. Dans un premier temps, elle est réalisée sous forme d'un projet pilote qui servira de base pour le renforcement de capacités des structures du Ministère en PID. Le passage à l'échelle sera envisagé après une évaluation de cette phase pilote. Des dispositions réglementaires seront prises pour faciliter l'acquisition des produits insecticides dans l'optique de la décentralisation et de la contractualisation des futures interventions (60).

- La promotion de l'hygiène et de l'assainissement.

3.4.2. Chimio prophylaxie

3.4.2.1. Traitement préventif intermittent

Il s'agit de programmes de prévention innovants pour l'administration de différents traitements antipaludéens séparés dans le temps pour les groupes à risque, bénéficiant d'une couverture élevée des populations endémiques par le système de santé (61). Le traitement préventif des femmes enceintes à la sulfadoxine-pyriméthamine (SP) est une recommandation mise en œuvre dans de nombreux pays africains où l'endémicité de *P. falciparum* est élevée, et présente des avantages évidents pour la santé de la mère enceinte et du nouveau-né. L'OMS recommande actuellement au moins trois doses (à un mois d'intervalle) pendant la grossesse, bien que la couverture d'une telle recommandation reste encore sous-optimale (62). En 2012, l'Organisation mondiale de la santé (OMS) a mis à jour sa politique sur le traitement préventif intermittent pendant la grossesse avec la sulfadoxine-pyriméthamine (IPTp-SP) (63).

3.4.2.2. Chimio prévention du paludisme saisonnier

Il s'agit d'une stratégie visant à protéger les enfants de moins de cinq ans au Sahel où le paludisme est très saisonnier et où la transmission ne se produit que pendant quelques mois consécutifs de l'année. Elle consiste à administrer une dose mensuelle d'un antipaludéen sans artémisinine (SP-Amodiaquine) pendant la saison de transmission du paludisme (généralement de 3 à 4 mois). Une telle stratégie a démontré une réduction de 80 % des épisodes de paludisme et de près de 60 % de la mortalité toutes causes confondues lorsqu'elle est mise en œuvre de manière appropriée. L'OMS recommande également une prophylaxie intermittente chez les nourrissons dans les zones où la transmission du paludisme est modérée à élevée et où la résistance de *P. falciparum* à la SP est inférieure à 50 % (64), mais le manque de données en temps réel sur la fréquence de ce phénotype a entravé cette recommandation. L'OMS a publié ses recommandations sur la chimio prévention du paludisme saisonnier en mars 2012. Avant cette date, la CPS était citée dans la littérature de recherche en tant que traitement préventif intermittent des enfants, ou TPIe. En décembre 2012, l'OMS a publié un guide de mise en œuvre pour assister les pays dans l'adoption et la mise en œuvre de cette nouvelle intervention (65).

3.4.2.3. Prophylaxie à court terme

La chimioprophylaxie antipaludique est recommandée pour tous, en particulier pour les enfants, qui voyagent dans des régions où le paludisme est endémique. Elle doit être effectuée avec le médicament ou la combinaison de médicaments (atovaquone-proguanil, doxycycline, méfloquine, etc.) le mieux adapté à la zone à visiter et qui s'adapte le mieux à l'idiosyncrasie du voyageur, en suivant toujours les recommandations actuelles de l'OMS ou des *Centres américains de contrôle et de prévention des maladies* (CDC)(66). Le médicament ou la combinaison de médicaments doit être commencé avant le voyage, dans le but d'atteindre de bons niveaux sanguins à l'arrivée à destination, et doit généralement être poursuivi pendant une à quatre semaines supplémentaires après le retour, pour couvrir la période d'incubation d'une éventuelle piqûre infectieuse reçue dans les derniers jours du voyage. Les patients infectés par le VIH qui reçoivent du cotrimoxazole comme prophylaxie des infections opportunistes sont partiellement protégés contre les infections palustres, mais doivent envisager de prendre des médicaments supplémentaires car ce régime ne suffit pas à garantir une protection totale.

3.4.3. Vaccins

La grande variabilité antigénique dont fait preuve le parasite du paludisme tout au long de son cycle de vie a fait de la conception de vaccins efficaces une tâche titanesque. Le vaccin antipaludique RTS,S/AS01, approuvé par des autorités réglementaires rigoureuses (Agence européenne des médicaments) en 2015, est actuellement le seul composé efficace et a toujours montré des niveaux significatifs (bien que partiels) de protection, à la fois contre le paludisme clinique et les maladies paludéennes graves (67). Un programme pilote de mise en œuvre à grande échelle, promu par l'OMS, a été lancé en 2019 dans trois pays africains, à savoir le Ghana, le Kenya et le Malawi, afin d'évaluer son efficacité protectrice, la faisabilité de l'administration de 4 doses, l'impact sur la mortalité infantile globale et la sécurité de son utilisation systématique dans les pays endémiques. On s'attend à ce qu'après trois ans de mise en œuvre de ce programme pilote, une recommandation claire émerge sur la nécessité d'inclure ce vaccin dans le cadre du programme élargi de vaccination dans les milieux endémiques de *falciparum*.

Le développement d'un vaccin contre *P. vivax* est loin derrière celui des vaccins contre *P. falciparum*, aucun essai clinique récent n'ayant dépassé la phase II. Une autre approche pour le développement d'un vaccin efficace, consiste à tenter de développer une réponse immunitaire à la suite de l'inoculation de sporozoïtes de *P. falciparum* irradiés et donc atténués. Une telle approche, plus complexe sur le plan logistique, a cependant donné des premiers résultats prometteurs chez des volontaires humains soumis à un test expérimental de paludisme, mais l'efficacité d'un tel vaccin doit être confirmée dans les zones d'endémie du paludisme (68) .

Les vaccins qui agissent en bloquant la transmission sont conçus pour arrêter le développement du parasite chez le moustique et pour réduire ainsi ou arrêter la transmission de la maladie. L'objectif de tels vaccins est d'induire des anticorps dirigés contre les antigènes qui sont exprimés par les stades sexuels du parasite, par exemple les gamétocytes et ainsi stopper leur combinaison subséquente dans l'intestin du moustique et leur développement en sporozoïtes infectants.(69).

3.5. Diagnostic du paludisme

Les manifestations du paludisme sont non spécifiques et difficiles à distinguer des autres maladies uniquement sur la base d'une approche clinique. Les directives actuelles recommandent de confirmer la présence du parasite dans tous les cas suspectés de paludisme avant d'entamer un traitement précoce, spécifique et approprié. Les frottis sanguins épais et minces restent la référence pour le diagnostic du paludisme. Les frottis sanguins épais (gouttes épaisses) sont très sensibles pour définir la présence ou l'absence d'infection, et les frottis sanguins fins permettent de différencier les espèces et de quantifier les parasites du paludisme avec une limite de détection entre 50 et 500 parasites/ μ L qui peut atteindre 5 parasites/ μ L avec des microscopistes experts.

Toutefois, les tests de diagnostic rapide (TDR) sont aujourd'hui l'option la plus largement disponible et souvent la méthode d'investigation de première ligne, car ils permettent un diagnostic simple, sensible et spécifique basé sur la détection de la protéine-2 riche en histidine (HRP-2), du pan-paludisme ou des antigènes lactate déshydrogénase (LDH) spécifiques à une espèce, ou de l'aldolase dans des échantillons de sang prélevés par

piqûre du doigt (70) .En effet, les TDR ont provoqué une révolution diagnostique, permettant aux zones endémiques d'échapper à un traitement empirique basé sur un diagnostic de paludisme présumé. Dans l'ensemble, ces caractéristiques font des TDR une excellente option pour améliorer la gestion des cas de paludisme, en particulier dans les régions où les ressources de laboratoire sont limitées. Ils constituent également une option précieuse pour les enquêtes et les investigations sur les épidémies.

Toutefois, ces tests sont principalement qualitatifs et certains d'entre eux ne font pas de distinction entre les espèces, ce qui donne moins d'informations que la microscopie pour une gestion adéquate de la maladie. Les TDR peuvent rester positifs pendant plusieurs semaines après une infection aiguë et une élimination complète du parasite, ce qui présente la possibilité qu'ils donnent des résultats faussement positifs qui ne font que refléter une infection récente. Un autre problème important a été récemment identifié concernant les tests de diagnostic basés sur le HRP2, qui peuvent donner des résultats négatifs dans les infections causées par des parasites *P. Falciparum* dépourvus des gènes PfHRP-2/3, une évolution génétique du parasite qui rend ces RDT inutiles. Ce phénomène est de plus en plus évident et, dans des pays comme l'Érythrée ou le Pérou, jusqu'à 80 % des souches de *falciparum* en circulation peuvent être déficientes en HRP2/3(71), ce qui rend nécessaire l'inclusion de RDT non basés sur la HRP2 dans leur arsenal de diagnostic. En outre, certains RDT peuvent également ne pas fonctionner en présence de parasitémies à *P. falciparum* très élevées (effet prozone), ou être incapables de détecter des parasitémies faibles (le seuil de détection est d'environ 100 parasites/ μ L) (72).

Les tests basés sur l'amplification des acides nucléiques peuvent détecter les infections à faible densité de paludisme, mais dans les pays endémiques, leur utilisation est limitée pour la recherche épidémiologique et la cartographie des enquêtes et ils n'ont pas de rôle pratique dans la gestion clinique du paludisme (64). Dans les pays à revenu élevé, ils peuvent être utilisés pour le diagnostic précis des espèces de paludisme importées.

3.6. Gestion thérapeutique des accès palustres

Une gestion efficace des cas de paludisme repose sur un diagnostic et un traitement, précoces et précis. La découverte des dérivés de l'artémisinine de la plante *Artemisia annua* (73) a changé le paradigme du traitement du paludisme en passant des thérapies à base de quinolone à celles à base d'artémisinine, qui sont désormais le premier choix pour traiter le paludisme simple et grave à *P. falciparum* compte tenu de leur rapidité, de leur puissance et de leur innocuité (74) .

3.6.1. Principes essentiels du traitement médicamenteux de la malaria.

3.6.1.1. Paludisme grave

3.6.1.1.1. Traitement de choix

- Artésunate (i.v. ou i.m.) 2,4 mg/kg* immédiatement, puis à 12, 24 h et quotidiennement jusqu'à ce que le patient soit capable de boire et de manger (*Pour les enfants < 20 kg, la dose d'artésunate parentérale est de 3 mg/kg)

3.6.1.1.2. Alternatives

- Artéméther (i.m.) 3,2 mg/kg de dose initiale, suivie de 1,6 mg/kg par jour jusqu'à ce qu'un médicament oral puisse être pris de manière fiable

- Dihydrochlorure de quinine (20 mg de sel/kg) par perfusion intraveineuse lente sur 4 h, suivie de 10 mg de sel/kg 8 h jusqu'à ce que le patient soit capable d'avalier.

3.6.1.2. Paludisme non compliqué

3.6.1.2.1. Paludisme simple à *P. falciparum*

- Artéméther 1,4-4 mg/kg de poids corporel + lumefantrine 10-16 mg/kg de poids corporel deux fois par jour pendant 3 jours

- Artésunate 4 mg/kg de poids corporel + amodiaquine 10 mg/kg de poids corporel une fois par jour pendant 3 jours

- Artésunate 4 mg/kg de poids corporel + méfloquine 8,3 mg/kg de poids corporel une fois par jour pendant 3 jours

- Dihydroartémisinine 4 mg/kg de poids corporel + piperaquine 18 mg/kg de poids corporel une fois par jour pendant 3 jours (pour les enfants < 25 kg, la dose de dihydroartémisinine est d'au moins 2,5 mg/kg par jour)

- Artésunate 4 mg/kg de poids corporel + sulfadoxine-pyriméthamine 25/1,25 mg/kg de poids corporel, une fois par jour pendant 3 jours

- Artésunate 4 mg/kg de poids corporel + pyronaridine 7,5-15 mg/kg de poids corporel, une fois par jour pendant 3 jours

3.6.1.2.2. Paludisme chloroquine-sensible non compliquée *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae*, *P. Knowlesi*

- Dose de chloroquine de 10 mg base/kg de poids corporel aux jours 1 et 2, suivie de 5 mg base/kg de poids corporel au jour 3.

a. Dans les régions où les infections sont résistantes à la chloroquine, les adultes et les enfants atteints de paludisme non compliqué à *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae* ou *P. knowlesi* (à l'exception des femmes enceintes au cours de leur premier trimestre) peuvent être traités avec un dérivé de l'artémisinine (sauf l'artésunate-sulfadoxine-pyriméthamine pour *P. vivax*).

b. En l'absence de contre-indications (grossesse, enfants <6 mois, déficit en glucose-6-phosphate-déshydrogénase), le traitement de *P. vivax* et *P. ovale* doit être suivi d'une cure radicale de primaquine 0,5-1 mg/kg de poids corporel une fois par jour pendant 7-14 jours. Par ailleurs, un traitement à dose unique de tafénoquine a déjà été approuvé par la FDA chez les patients de ≥16 ans (dose de 300 mg), bien qu'il ne soit pas encore largement mis en œuvre ou recommandé par l'OMS.

3.7. Artémisinine et ses dérivées

Artémisinine est extrait des feuilles d'*Artemisia annua* (armoïse annuelle). L'armoïse est une plante originaire de la Chine (Quinghao en chinois), de la famille des *Asteraceae*, de

l'ordre des astérales. Sa fleur est de couleur blanche et son fruit est un akène. Sa pollinisation se fait par anémogamie. Elle est utilisée en tisane depuis plus de 2000 ans dans Son pays d'origine. Elle est difficile à cultiver et sa teneur en artémisinine dépend du sol, de la période de culture, des conditions de récolte, de son séchage et du stockage (75). Cette plante contient des alcaloïdes et est connue en Chine pour ses vertus antipyrétiques. C'est un puissant schizonticide sanguin et un gamétocytocide actif contre toutes les espèces *Plasmodium* (15).



Figure 2: Feuille d'armoise annuelle (76)

3.7.1. Historique (77)

La plante, qui appartient à la famille des *Asteraceae*, est utilisée en herbologie chinoise depuis plus de 2 000 ans. Son plus ancien usage formulé par écrit figure dans un texte appelé *Recettes pour cinquante-deux maladies* datant de 168 av. J.-C. découvert, dans une tombe mise à jour sur le site de Mawangdui et datant de la dynastie Han . Une des recettes décrit « comment faire tremper les feuilles et les branches de la plante de *qing*

hao dans l'eau pendant une nuit, puis boire cette eau en tant que traitement contre le paludisme ».

Ge Hong en parle aussi dans son ouvrage intitulé *Manuel de prescriptions pour les situations d'urgence* rédigé au début du IV^e siècle⁶ ainsi que l'herboriste Li Shizhen dans son *Grand Traité d'herbologie* (écrit entre 1552 et 1587). (78)

L'histoire contemporaine de l'artémisinine commence pendant la guerre du Viêt Nam lorsque l'armée nord-vietnamienne était confrontée à une épidémie de paludisme consécutive une prolifération d'anophèles vecteurs du paludisme dans les eaux de pluie stagnante au niveau des tunnels creusés pour les besoins de guerre. Les Nord-vietnamiens se sont alors tournés vers la Chine de Mao Zedong pour essayer de trouver une solution. (77)

En 1967, des chercheurs militaires chinois se sont donc attelés à l'étude des remèdes traditionnels à base de plantes avec l'espoir d'en trouver un d'efficace contre la variété de paludisme endémique dans la péninsule indochinoise. Ils ont assez rapidement trouvé l'Armoise annuelle et, dans une région de Chine peu touchée par cette maladie, ils ont observé, qu'au premier symptôme de paludisme, les habitants de cette région buvaient, selon une tradition millénaire, une décoction issue de qing hao. Généralement administrée sous forme de macération, elle n'avait pas d'effet secondaire visible et semblait très efficace (79).

Après l'étude de plus de 2 000 remèdes traditionnels et le test de 380 extraits, l'isolement de l'artémisinine fut réussie, sous la direction du professeur Tu. C'est en 1972 qu'un des chercheurs, essayant d'extraire la (ou les) substance(s) active(s) de la feuille d'Armoise annuelle, eut l'idée originale d'utiliser un solvant non aqueux (hexane ou alcool suivant les versions). Il obtint (après purifications répétées sur gel de silice) une substance huileuse jaunâtre qu'il put cristalliser en une poudre blanchâtre faiblement soluble dans l'eau mais bien dans la plupart des solvants organiques (dichlorométhane, acétone) présentant une bonne stabilité thermique à température ambiante et, le plus important, capable de tuer *Plasmodium falciparum in vitro*. Ses actions antipaludiques et l'élaboration d'un procédé d'extraction simple ont rapidement suivi (80).

Sa structure a été confirmée en 1979 par des analyses cristallographiques par rayons X et l'utilisation d'un microscope électronique à balayage. C'est une lactone sesquiterpénique avec deux atomes d'oxygène liés par un pont peroxyde au-dessus d'un cycle à sept atomes de carbone (cf. le tableau ci-dessus). Elle possède sept centres d'asymétrie autorisant un grand nombre de stéréoisomères, mais, par chance, *Artemisia annua* n'en synthétise qu'un seul ; néanmoins, le caractère totalement asymétrique de la molécule d'artémisinine rend sa synthèse artificielle particulièrement difficile, en particulier à des coûts acceptables (d'où l'utilisation de dérivés semi-synthétiques comme l'artésunate, l'artéméther et l'artéméthér).

Ce n'est qu'après le constat, au début des années 1990, de l'aggravation des phénomènes de résistance du parasite envers les médicaments classiques comme la chloroquine ou l'amodiaquine que les laboratoires pharmaceutiques ont commencé à s'y intéresser, et il fallut attendre 2001 pour que l'Organisation mondiale de la santé (OMS) déclare l'artémisinine « le plus grand espoir mondial contre le paludisme ». En 2006, elle recommandait toutefois d'arrêter la monothérapie afin d'éviter les risques de résistance : l'artémisinine affaiblit le parasite mais ne le tue pas systématiquement, et elle présente son efficacité maximale en association avec d'autres anti-paludiques (ACT). Malgré cela, en mai 2009 deux études indépendantes ont rapporté pour la première fois une augmentation significative de la résistance à l'artémisinine de *P. falciparum* sur le terrain, au Cambodge, probablement en conséquence de pratiques et de traitements incorrects, tel que cela avait été prédit en 2006 par l'OMS. En 2015 Tu Youyou reçu un prix Nobel de médecine pour sa découverte (81).

3.7.2. Molécules dérivées de l'artémisinine

Il y a cinq molécules : artémisinine, dihydroartémisinine (ou arténimol), artéméthér, arteether, artésunate. Elles ont toutes pour structure commune, une sesquiterpène avec un pont endoperoxyde essentiel à l'activité de la molécule. Elle est la base des médicaments antipaludiques les plus récents et actuellement les plus efficaces (76).

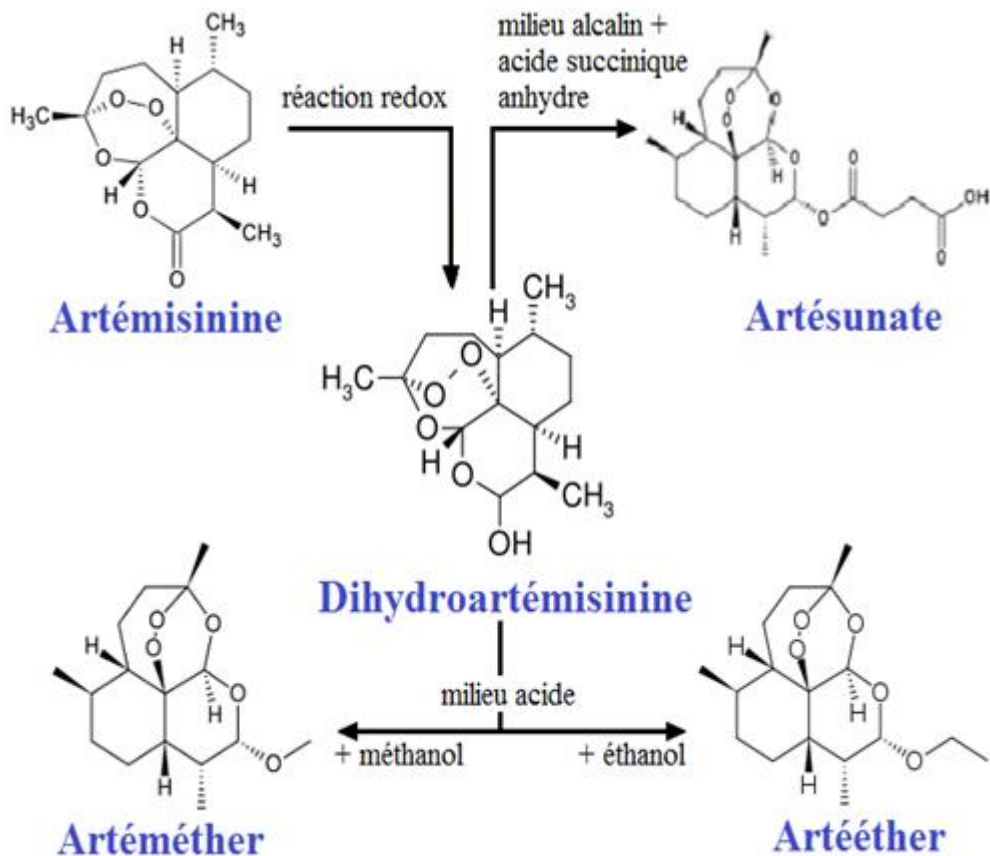


Figure 3: Structure chimique de l'artémisinine et de certains de ses dérivés

3.7.3. Mécanisme d'action de l'artémisinine

Les dérivés de l'artémisinine ont une structure chimique commune une sesquiterpène lactone avec un pont endopéroxyde. Par interaction avec le fer organique Fe^{2+} , ce pont est clivé et libère des radicaux libres aux propriétés toxiques directes sur le parasite en développement et sur sa vacuole nutritive (inhibition des pompes calcium ATPase parasitaires) (82). Les dérivés de l'artémisinine sont actifs sur les parasites au stade le plus jeune, dit stade anneau, ces derniers sont rapidement éliminés des GR et de la circulation sanguine. En revanche, ils n'ont pas d'action sur les formes pré-érythrocytaires du parasite et non plus sur les hypnozoïtes de *P. vivax* et de *P. ovale*. L'activité spécifique de ces composés sur une très large période du cycle biologique du parasite revêt deux conséquences thérapeutiques majeures.

D'une part, l'élimination massive des parasites jeunes circulants entraîne une réduction de la parasitémie ce qui empêche donc leur maturation et leur séquestration. D'autre part, le traitement précoce est associé à une diminution du nombre de gamétoocyte et à une diminution de la transmission. Ces particularités confèrent aux dérivés de l'artémisinine une efficacité supérieure à celle des autres molécules utilisées dans le traitement du paludisme grave et compliqué (83).

3.7.4. Artémisinine et le « pitting » :

Le pitting ou épépinage splénique des érythrocytes parasités consiste en l'expulsion du parasite mort de l'érythrocyte hôte lorsque celui-ci traverse une structure microcirculatoire splénique appelée « fente interendothéliale ». Ces érythrocytes pittés retournent sans destruction immédiate dans la circulation générale. En effet La clairance parasitaire est beaucoup plus rapide sous dérivés de l'artémisinine que sous quinine (84, 85). Le pitting pourrait expliquer cette rapidité. Le globule ainsi débarrassé de son parasite est remis en circulation générale sans hémolyse immédiate.

Le traitement par les dérivés de l'artémisinine induit donc une inhibition rapide de la cytoadhérence, accompagnée d'une baisse de la parasitémie, sans destruction (au moins à court terme) des GR. Le pitting est observé en l'absence de traitement mais à un taux généralement faible (<5%) (86). Il existe aussi sous quinine mais à des taux significativement moindres que sous artésunate (87). Un travail préliminaire mené par Ndour et al sur les premiers patients traités par AS en France a montré que, à mesure que la clairance parasitaire se produit, les GRP sont remplacés par des GR « déparasités » ou « pittés » (7, 8, 88).

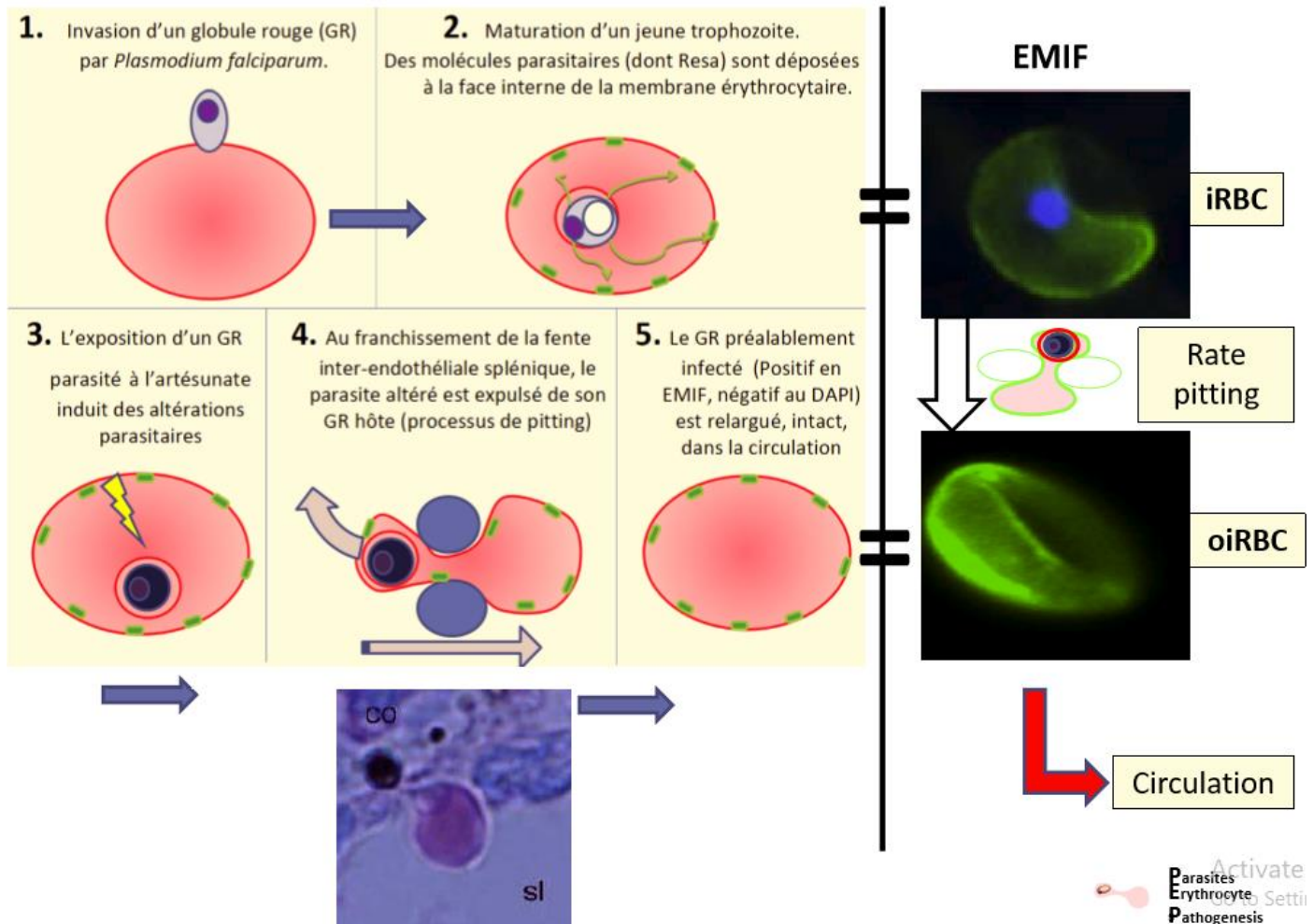


Figure 4: Illustration du phénomène de pitting et de sa mise en évidence par utilisation de marqueur de protéine palustre RESA (Pf155) à la surface interne de la membrane globulaire. EMIF: Erythrocyte Membrane ImmunoFluorescence. DAPI: DiAmidino Phenyl Indole, marqueur d'ADN, ici parasitaire (89).

4. METHODOLOGIE

4.1. Cadre de l'étude

Cette étude a été menée dans le cadre d'un projet de recherche collaboratif entre des chercheurs de l'Institut National de Transfusion Sanguine (INTS, Paris France), le service des urgences pédiatriques du Centre Hospitalier Universitaire Gabriel Touré (CHU-GT) et le Laboratoire immunogénétique du MRTC/FMOS-FAPH/ USTTB. Le projet avait pour but d'étudier le rôle du pitting dans la survenue de l'anémie chez les enfants atteints de paludisme grave après traitement utilisant l'artésunate en I.V au Service de pédiatrie du CHU-GT et de valider un test prédictif de cette anémie.

4.1.1. Service des Urgences Pédiatriques

Il a été créé en 2010 dans le cadre de la restructuration du Département de pédiatrie du CHU-GT. Le CHU-GT constitue l'un des hôpitaux de troisième niveau de référence au sommet de la pyramide sanitaire de la République du Mali. Il a été érigé en Hôpital et baptisé « Gabriel TOURE », le 17 janvier 1959 à la mémoire d'un jeune étudiant en médecine victime d'une infection de peste pulmonaire. Il est situé en plein centre-ville de Bamako aux abords des chemins de fer Bamako-Dakar dans la commune III du district de Bamako entre l'École Nationale des Ingénieurs Abdramane Baba Touré (ENI-ABT). Il reçoit des patients de toutes les communes du district de Bamako et ceux référés par les autres localités du Mali. Malgré l'existence des centres de santé communautaires (CSCoM) et des centres de santé de référence (CSRéf), l'affluence des patients reste élevée.

Le service des Urgences Pédiatriques comporte :

- un hall d'accueil qui fait office de salle d'attente avec une télévision écran plat pour les accompagnants,
- une salle de tri,
- deux boîtes de consultation où la permanence est assurée de 08h à 16h par deux étudiants en Diplôme d'Etudes Spécialisées (DES) de pédiatrie, deux étudiants « thésard » et le tout supervisé par un médecin pédiatre,

- un secteur d'hospitalisation de 23 lits constitué de deux salles pour les nourrissons et une salle pour les grands enfants.

L'effectif du personnel des Urgences Pédiatriques est composé :

- de deux Pédiatres praticiens hospitaliers et un maitre-assistant,
- des médecins en cours de spécialisation en DES de Pédiatrie,
- des étudiants en thèse de doctorat de médecine,
- deux techniciens supérieurs de santé,
- onze techniciens de santé,
- une technicienne de surface, et
- un agent de surveillance.

Le service des urgences pédiatriques fonctionne 24h/24, 7jours/7 et assure la prise en charge des enfants malades, les hospitalisations des cas graves, qui après amélioration sont secondairement transférés en pédiatrie générale et la formation théorique et pratique des médecins en spécialisation et des étudiants thésards.

4.1.2. Laboratoire Immunogénétique et parasitologie du MRTC/FMOS-FAPH/USTTB

Le laboratoire d'immunogénétique du MRTC/FMOS-FAPH/USTTB a été créé en 2008 au sein du programme entomologie du MRTC. C'est le fruit d'une collaboration entre les chercheurs de la FMOS-FAPH/USTTB et le Laboratoire de recherche sur le paludisme et les vecteurs des Instituts Nationaux de la Santé des Etats-Unis d'Amérique (LMVR/NIH/USA). Le Laboratoire d'Immunogénétique a conduit de nombreuses études sur les différents aspects du paludisme notamment l'immunité innée et acquise palustre, la résistance aux antipaludiques et l'évaluation des stratégies de lutte et de prévention. En outre, le laboratoire a appuyé de nombreux programmes de recherches du MRTC. Les études ont été menées sur différents sites épidémiologiques du Mali comme les villages de Kéniéroba, de Dangassa, etc.

Le laboratoire d'immunogénétique dispose d'équipements variés adaptés à ses activités comme les équipements de biologie cellulaire, de biologie moléculaire, d'immunologie,

de culture cellulaire, le tout soutenu par un réseau informatique et une chaîne de froid adaptée au stockage des données et à conservation de différents types d'échantillons. Le laboratoire dispose d'un personnel qualifié et diversifié comprenant des immunologistes, un pharmacologue, des épidémiologistes, des médecins, des pharmaciens et des techniciens de laboratoire. Le laboratoire a également participé à plusieurs publications dans des revues scientifiques en collaboration avec des chercheurs de renommée internationale. Les analyses de biologie clinique et de recherche ont été effectuées dans ce laboratoire.

4.2. Période d'étude

Notre étude s'est déroulée au cours de la période de forte transmission saisonnière du paludisme qui s'étalait de juillet à décembre 2019.

4.3. Type d'étude

Il s'agissait d'une étude prospective transversale observationnelle qui consistait à collecter les données chez les patients atteints de paludisme grave reçu en consultation au CHU-GT durant la forte transmission du paludisme.

4.4. Population d'étude

La population cible de cette étude était constituée des enfants de 6 mois à 14 ans admis dans le service des urgences pédiatriques au CHU GT et présentant des signes de paludisme sévère. Les prélèvements sanguins, la prise en charge thérapeutique ont été réalisés par l'équipe du CHU-GT. Nous avons réalisé un échantillonnage exhaustif de tous les malades répondant aux critères d'inclusion.

4.5. Critère d'inclusion

Les patients répondant aux critères suivants ont été inclus dans cette étude :

- être âgé d'au moins 6 mois ou plus
- avoir donné son consentement libre et éclairé pour tous les enfants

- avoir un TDR de paludisme positif,
- avoir une goutte épaisse (GE) positive, et
- Être hospitalisé (critère de gravité)

4.7. Critère de non-inclusion ou d'exclusion

Certaines conditions ont empêché d'inclure des patients dans l'étude. Il s'agissait de :

- toutes les situations ne permettant pas de recueillir le consentement des parents ou l'assentiment des adolescents,
- le refus de participer,
- un antécédent connu d'anémie hémolytique chronique,
- être splénectomisé,
- Présenter des signes d'asplénisme (drépanocytose, maladie inflammatoire du tube digestif, immunodépression),
- avoir une parasitémie faible inférieure à 5 000Tf/ μ l de sang, et
- être infecté par d'autres espèces que *P. falciparum*.

Après inclusion, nous avons exclu les participants suivants au cours du suivi :

- être transfusé avant l'inclusion ou au cours du suivi thérapeutique, et/ou
- présenter une maladie grave évolutive en cours.

4.8. Variables mesurées

Les variables mesurées ont été classées en différentes catégories :

- les variables sociodémographiques : sexe, âge, résidence, antécédents des parents et antécédents personnels,
- les variables hématologiques : taux d'hémoglobine, taux de pitting.
- les variables parasitologiques : parasitémie et espèce plasmodiale.

4.9. Techniques de laboratoire

Au cours de notre étude, nous avons utilisé :

- La technique de la goutte épaisse et du frottis mince pour l'identification de l'espèce plasmodiale et la numération de la parasitémie (cf. annexe 1)
- La technique du pitting ou technique de détermination du taux de pitémie. Elle consiste à déterminer la proportion de globules rouges pités en utilisant la cytométrie de flux après marquage des protéines parasitaires larguées par les formes précoces (anneaux) de *P. falciparum* (RESA) dans les GR infectés (cf. annexe 2).
- Typage de l'hémoglobine : Elle a été réalisée par la technique de chromatographie en phase liquide haute performance (D-10)

4.10. Collecte, saisie et analyse des données

Nos données ont été collectées dans un registre et sur les supports durs imprimés des automates. Elles ont été saisies sur Microsoft Excel 2013 et analysées sur SPSS version 20.0. Les figures et les courbes ont été réalisées en utilisant le logiciel *Prism Graph Pad*, version 5.

4.11. Définitions opérationnelles

L'absence d'anémie a été définie comme un taux d'hémoglobine ≥ 10 g/dl.

L'anémie modérée a été définie comme un taux d'hémoglobine [8-10] g/dl.

L'Anémie sévère a été définie comme un taux d'hémoglobine ≤ 7 g/dl.

Nous avons défini le paludisme sévère comme tous les cas de paludisme hospitalisés étaient considérés comme paludisme sévère

4.12. Déroulement de l'étude

Les participants de notre étude ont été inclus dans le service des urgences pédiatriques de l'hôpital Gabriel Touré. Après obtention du consentement éclairé du parent ou titulaire, un dossier individuel de rapport de cas a été établi par le médecin de l'étude. Ensuite, un premier prélèvement de 4 ml de sang a été effectué dans un tube EDTA (acide éthylène diamine tétra-acétique) pour la détermination de la parasitémie, de la pitémie initiale et

de la numération formule sanguine (NFS). La prise en charge thérapeutique du patient a été effectuée selon les protocoles en vigueur dans le service.

Tous les enfants inclus dans l'étude ont été revus par l'équipe de l'étude et ont été suivis sur une période de 28 jours. Un autre prélèvement de 4 ml de sang veineux a été effectué aux jours J3+/-1, J7 (entre J5 et J10), J14 et J21 et J28. Tous les prélèvements sanguins du jour de l'inclusion et des jours de suivi étaient transportés au laboratoire d'immunogénétique du MRTC au Point-G où un tube a été utilisé pour déterminer la pittémie et la parasitémie alors que le reste du prélèvement a été utilisé pour la Numération Formule Sanguine.

4.13. Traitement des cas de paludisme

Tous les enfants de l'étude ont été traités par l'artésunate conformant aux recommandations du programme national de lutte contre le paludisme(PNLP). Il s'agit de :

- Artésunate (i.v) 2,4 mg/kg* immédiatement, puis à 12, 24 h et quotidiennement jusqu'à ce que le patient soit capable de boire et de manger (*Pour les enfants < 20 kg, la dose d'artésunate parentérale est de 3 mg/kg). Le relais du traitement était assuré par une combinaison thérapeutique à base d'artémisinine (CTA) en occurrence l'Artémether +la luméfantine oral

4.14. Considérations éthiques

L'étude a été approuvée par le comité d'éthique (CE) de la Faculté de Médecine et d'Odontostomatologie (FMOS) du Mali. Nous avons utilisé le matériel stérile à usage unique. Tout le personnel de l'étude a été certifié sur les bonnes pratiques cliniques et de laboratoire. Chaque participant a reçu un numéro d'identification unique afin d'assurer la confidentialité des données cliniques et biologiques. Seul le personnel clé de l'étude avait accès aux données qui étaient gardées dans une cantine fermée à clé.

A la fin de l'étude, une restitution a été faite aux participants et aux responsables sanitaires du CHU-GT. Les résultats seront également présentés au cours des conférences internationales.

5. Résultats

Au total, 71 patients ont été inclus dans notre étude et on fait l'objet d'un suivi de 28 jours à partir de l'inclusion. Les données de pitting ont été collectées chez 19 patients au J3, 18 patients au J7, 25 patients au J14, 19 patients au J21 et 23 patients au J28. Seuls 5 patients ont fait un suivi complet.

5.1. Résultats descriptifs

Tableau 2. Répartition des patients en fonction de la tranche d'âge

Tranche d'âge	Effectif	Pourcentage
0-5 ans	30	42,2
6-10 ans	33	46,5
11-14 ans	8	11,3
Total	71	100,0

La majorité de nos participants (46,5%) était âgés entre 6 et 10 ans alors que les plus de 11 ans représentaient 11,3% des participants.

Tableau 3. Répartition des patients en fonction du sexe

Genre	Effectif	Pourcentage
Masculin	35	49,3
Féminin	36	50,7
Total	71	100

La proportion de répartition de nos participants était similaire entre le sexe masculin et féminin (~50%) avec un sex-ratio de 1,02 en faveur du genre féminin.

Tableau 4. Répartition des patients en fonction du type d'hémoglobine

Type d'hémoglobine	Effectif	Proportion
AA	61	85,9
AC	9	12,7
AS	1	1,4
Total	71	100

Seuls les traits d'hémoglobine HbAS (1,4%) et HbAC (12,7%) ont été retrouvée chez nos patients.

Tableau 5. Répartition des Sujets en fonction de la sévérité de l'anémie à l'entrée

Anémie g/dl	Effectif	Proportion
Anémie sévère < 7	37	52,8
Anémie modérée [8-10]	19	27,1
Absence d'anémie >10	14	20,1
Total	70	100

La majorité de nos participants présentait une anémie sévère (52,8%) ou modérée (27,1%) à l'entrée soit une proportion globale d'anémie de 78.9%.

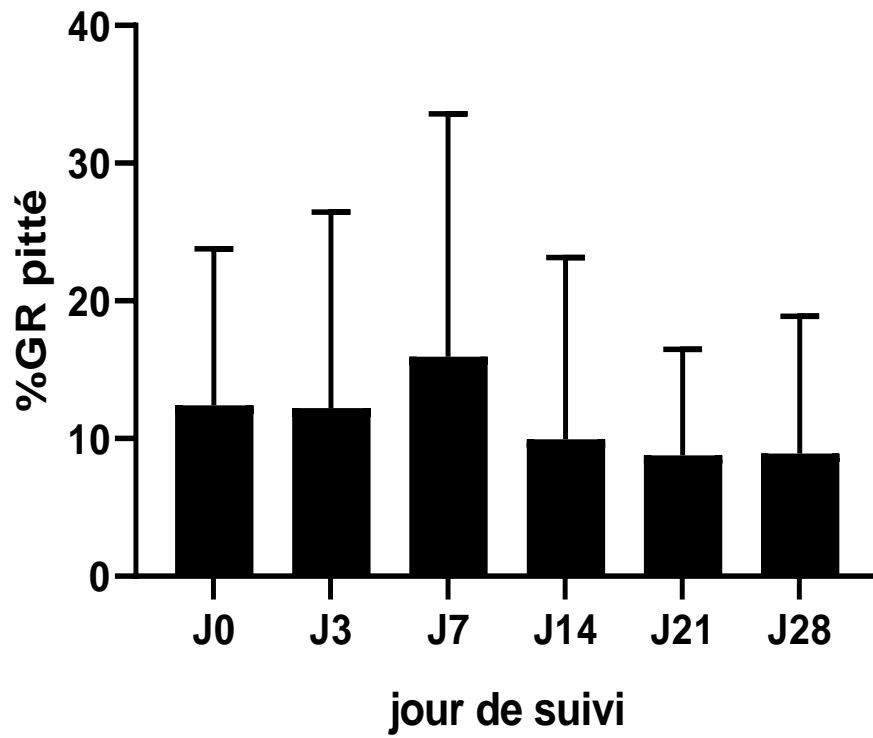


Figure 5. Evolution de la pittedmie moyenne au cours du suivi de 28 jours

Le pic de la pittedmie était observé au septième jour de suivi avec une moyenne de 15,94%.

5.2. Résultats analytiques

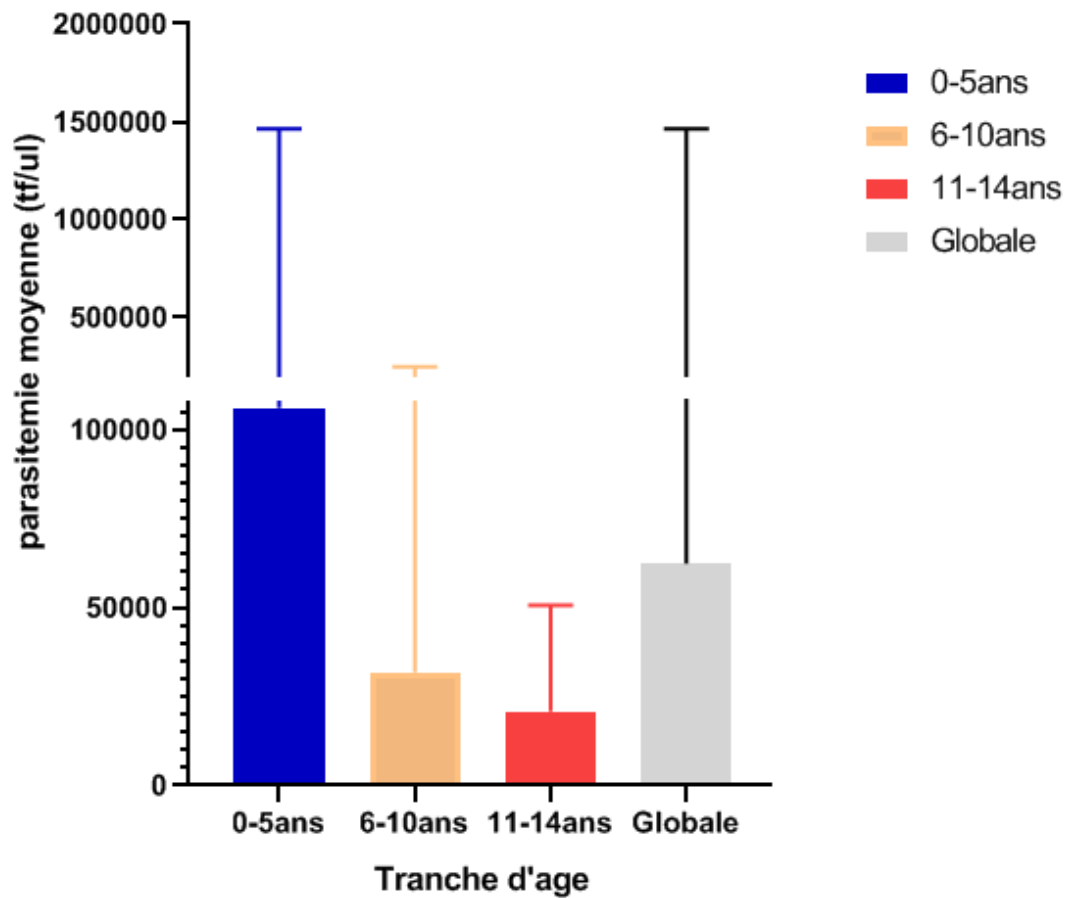


Figure 6. Parasitémie moyenne en fonction des tranches d'âge

La parasitémie diminue en fonction de l'âge. La moyenne de parasitémie était de 106 000 Tf/ μ l chez les moins de 5 ans alors qu'elle n'était que 20 800Tf/ μ l chez les 11-14 ans.

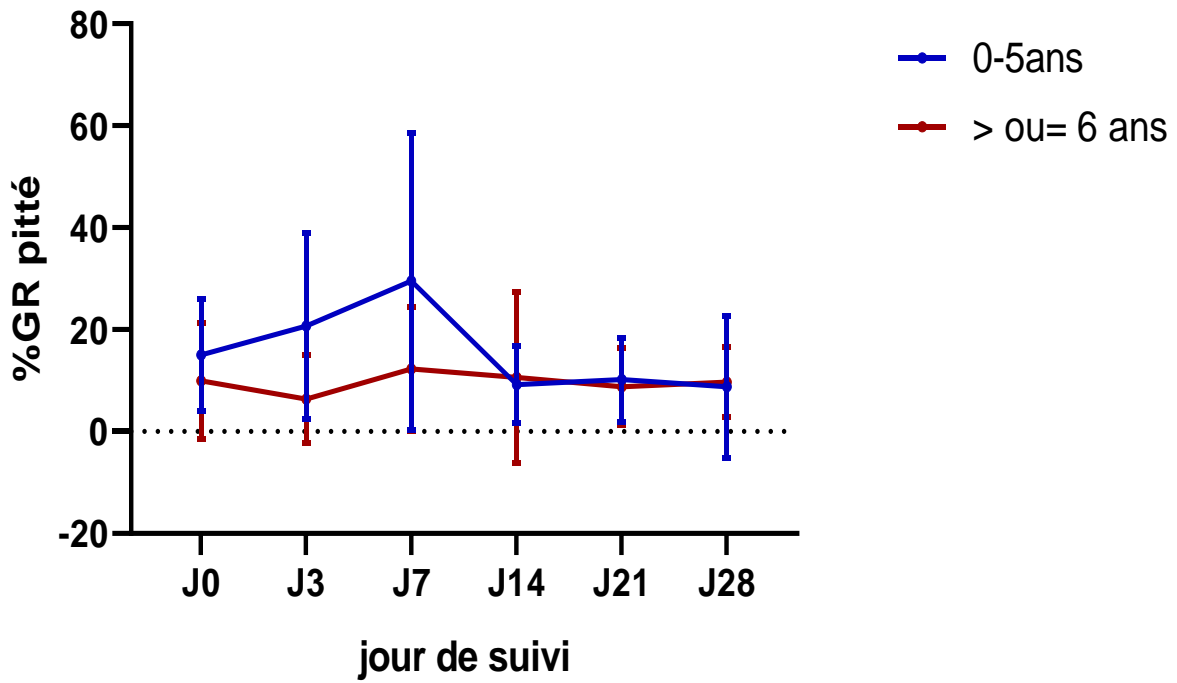


Figure 7. Evolution de la pitié en fonction des classes d'âge

Les plus fortes pitièmes ont été observées dans la classe d'âge de 0-5 ans avec un pic à J7 (29,5%).

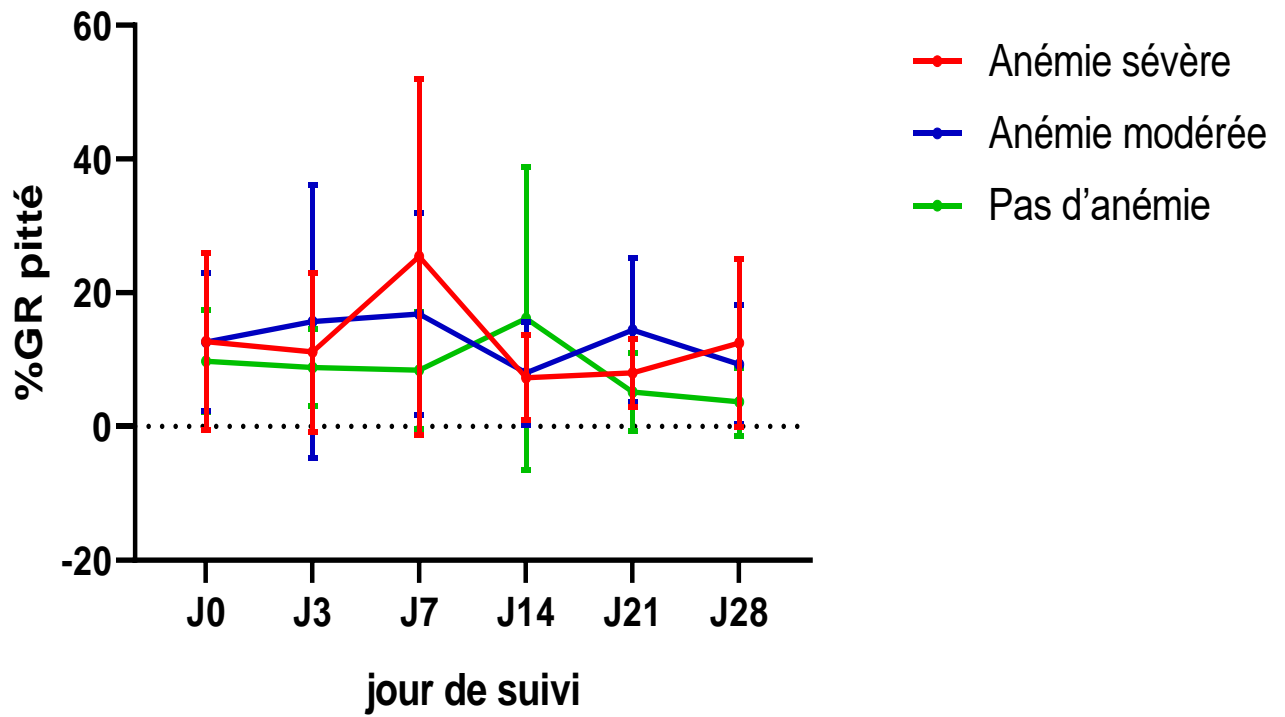


Figure 8. Evolution de la pitémie en fonction de l'anémie à l'inclusion

Le pic du taux de pitémie a été observé chez les patients présentant une anémie sévère à J7 (25%) alors qu'il été observé à J14 chez les patients non-anémiques.

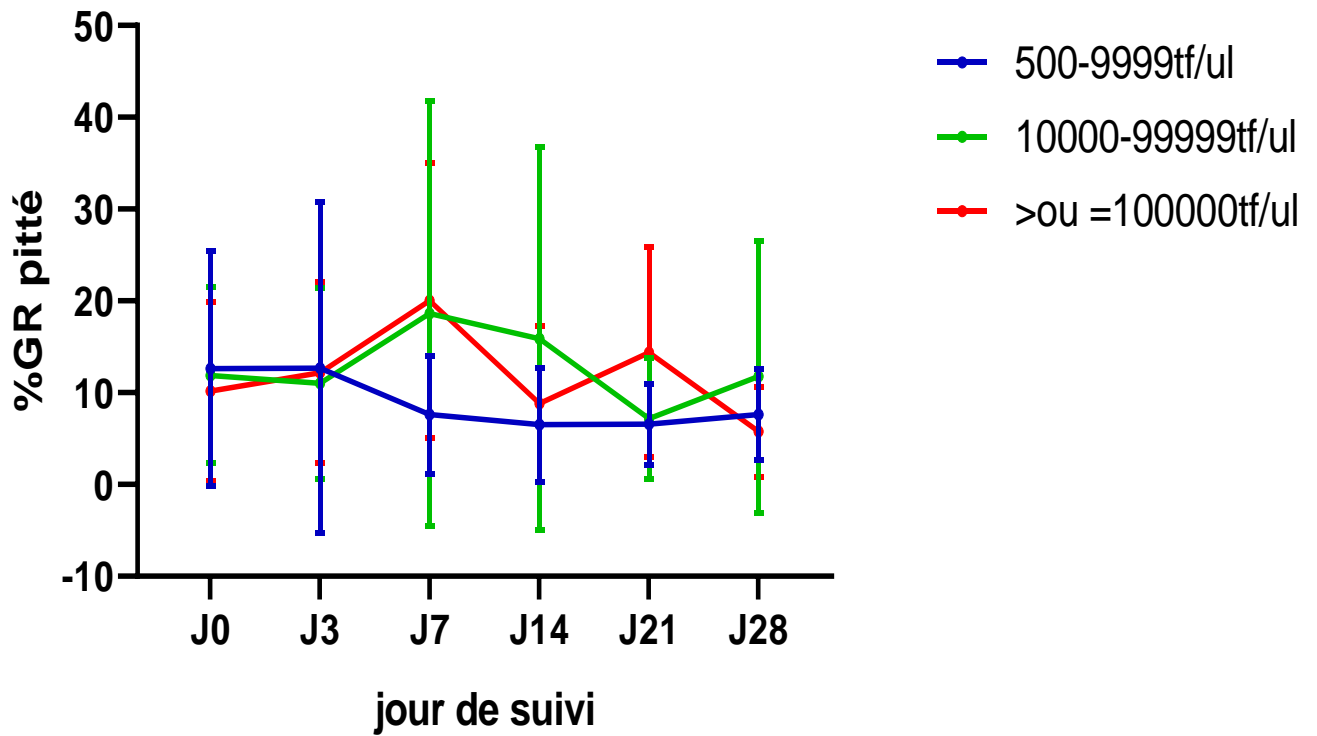


Figure 9. Evolution de la pitié en fonction de la parasémie à l'inclusion

Le taux de pitié était faible chez les patients présentant une faible parasémie (500 Tf/ μ l à 9 999 Tf/ μ l). Le pic de la pitié a été observé à J7 chez les patients présentant une parasémie élevée (> 10 000 Tf/ μ l).

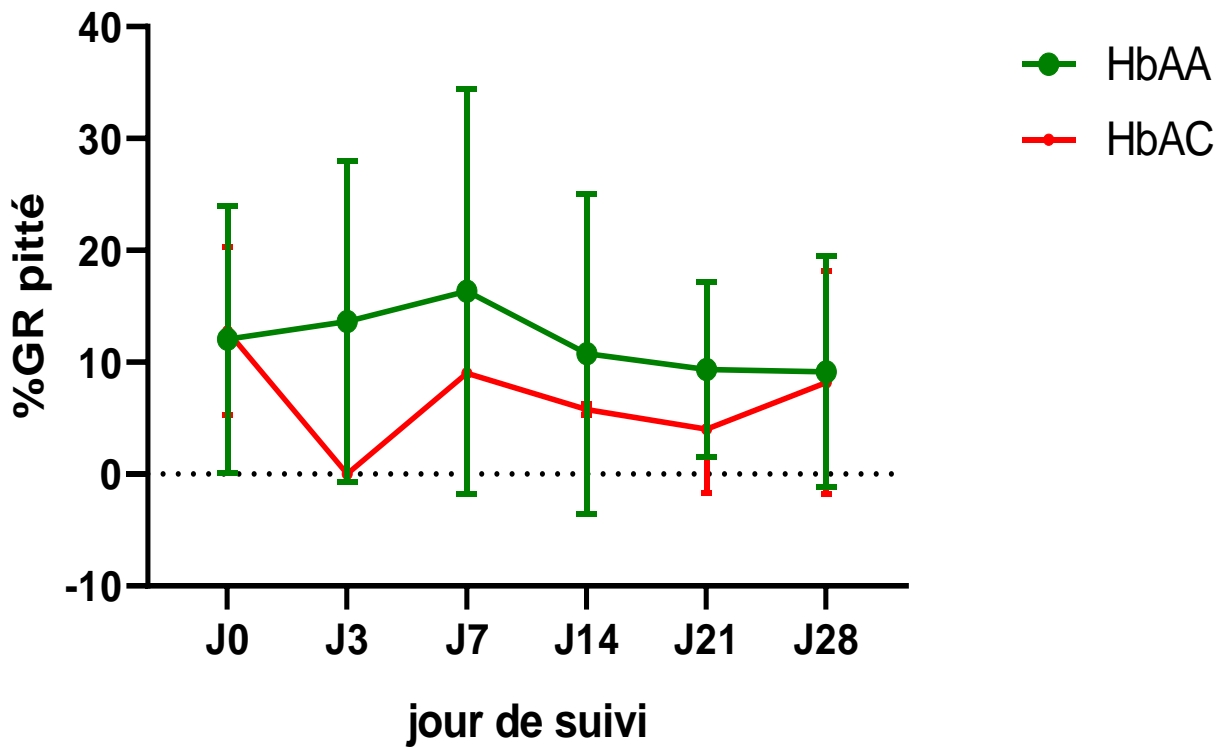


Figure 10. Evolution de la pitié en fonction du type d'hémoglobine

Le taux de pitié était élevé chez les patients ayant une hémoglobine normale (HbAA) avec un pic à J7 comparé aux patients porteurs d'HbAC. Aucun cas d'HbAS n'a été observé.

6. Commentaires et discussion

Après le traitement antipaludique, la destruction des parasites asexués du paludisme et leur élimination semblent être des processus de premier ordre. Les parasites du paludisme endommagés dans les érythrocytes circulants sont retirés de la circulation principalement par la rate. Les érythrocytes infectés sont entièrement éliminés par la rate soit par rétention mécanique en raison de leur déformabilité réduite ou de la liaison accrue des anticorps, soit, par pitting lorsque les jeunes parasites sont tués au stade de l'anneau dans les GR. Le pitting splénique des parasites tués par le médicament est un mécanisme important de la clairance parasitaire. Les érythrocytes autrefois infectés et pittés qui sont retournés dans la circulation ont une survie réduite. Cela contribue à l'hémolyse post-artésunate qui peut suivre la guérison chez les patients hyperparasités non-immuns (90). L'hémolyse post-administration de l'artésunate et de ses dérivés est secondaire l'élimination différée des érythrocytes pittés au cours du traitement.

Le but de notre étude était de déterminer les facteurs pouvant influencer le phénomène de pitting chez les enfants âgés de 0 à 14 et souffrant de paludisme sévère et traités avec les dérivées de l'artémisinine au service des urgences du CHU-GT. Au total, nous avons inclus 71 patients qui ont été suivis sur 28 jours. Le choix du service des urgences du CHU-GT s'explique par la position centrale de l'hôpital dans la ville de Bamako et la présence du plus grand service de pédiatrie au Mali. Cela nous offrait la possibilité de recruter le maximum de patients sur une courte période de temps. En 2013 sur 1.625 enfants hospitalisés dans ce service, Doumbia et coll. ont enregistré 45% d'infection palustre sévère (91) provenant de tout le Mali.

Les enfants de 6 à 10 représentaient la majorité de nos patients (46,5% contre 42,3% pour les enfants de moins de cinq ans (Tableau 2). Cela pourrait s'expliquer par l'impact de l'implémentation de la chimioprévention saisonnière (CPS) chez les enfants de moins de cinq ans au Mali depuis 2012. Avec la CPS, les études ont démontré un glissement du pic du paludisme des enfants de 0-5 ans vers les enfants âgés de 6-10 ans comme rapporté à Kita et à Dangassa (92) .

Dans le but de déterminer l'impact des types d'hémoglobine sur le profil de pitting, nous avons fait le génotypage de l'hémoglobine chez les participants à notre étude. Bien que la prévalence de l'hémoglobine S (HbS) soit élevée au Mali jusqu'à 18% (93), nous avons enregistré un seul cas d'HbS au cours de notre étude. L'effet protecteur du trait drépanocytaire (HbAS) contre les formes graves du paludisme a été décrit au cours de différentes études au Mali (94-96).

Nous avons constaté une forte prévalence de l'anémie chez les patients à l'entrée (78,9%) dont plus de la moitié était sévère (52,8%). Même si ces anémies n'ont pas fait l'objet d'investigation approfondie, cette prévalence anormalement élevée pourrait s'expliquer en partie par le caractère chronique de l'infection palustre. En effet, la grande majorité des cas de patients hospitalisés au service d'urgence pédiatrique du CHU-GT sont des cas référés après un paludisme qui induit une inflammation chronique responsable d'anémie par la perturbation de l'hématopoïèse (97). L'anémie du paludisme est multifactorielle impliquant plusieurs mécanismes allant de la destruction massive des GR parasités et non-parasités (97-99) à l'inhibition de l'hématopoïèse par les cytokines inflammatoires comme le TNF α et l'IL1- β (97).

L'hémolyse post-artésunate retardée associe une diminution du taux d'hémoglobine (Hb) >10% à une augmentation du taux de lactate déshydrogénase (LDH) >10% et survient après le 8e jour suivant le début du traitement et la guérison parasitologique et généralement 2 à 3 semaines après le début de la maladie (100). Une parasitémie initiale élevée et/ou des concentrations précoces d'érythrocytes une fois infectés sont associées à un risque plus élevé de hémolyse retardée (100). L'hémolyse retardée a été signalée chez 15 à 30 % des patients non-immuns contre le paludisme, la moitié d'entre eux nécessitant une transfusion (100). Le risque d'hémolyse retardée post-artémisinine est plus faible car les combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine sont utilisées pour le traitement de l'accès palustre simple avec une parasitémie initiale faible (100). La physiopathologie de l'hémolyse retardée n'est pas entièrement élucidée. On a émis l'hypothèse que l'hémolyse retardée est liée au pitting, un processus splénique par lequel les parasites morts sont expulsés des érythrocytes de leur hôte (100). Ces érythrocytes une fois infectés retournent dans la circulation avec une durée de vie réduite, ce qui

entraîne une hémolyse retardée, qui se corrige généralement en quelques jours à <6 semaines (100). La plupart des patients atteints de l'hémolyse retardée grave reçoivent une transfusion (100).

De façon globale, les parasitémies observées au cours de cette étude mesurées par la technique de la goutte épaisse étaient élevées avec une moyenne de 62.300Tf/ μ l. Comme attendue, la parasitémie diminuait parallèlement à l'augmentation de l'âge, marqueur surrogatoire de l'immunité antipalustre. En effet, dans les zones d'endémie palustre, l'immunité antipalustre non stérilisante (prémunition) chez les grands enfants les aide à contrôler la parasitémie et non l'infection. Dans le cas du paludisme à *P. falciparum*, un grand nombre d'érythrocytes parasités s'accumulent dans le placenta et la concentration splénique des érythrocytes parasités peut être importante chez les patients atteints de splénomégalie (101, 102) .

Les patients atteints de paludisme non compliqué se présentent généralement aux centres de santé avec une prédominance de jeunes parasites au stade de l'anneau dans le frottis sanguin périphérique, ce qui indique une rupture récente des schizontes (70). En revanche, chez les patients atteints de paludisme grave à *P. falciparum*, les stades parasitaires prédominants dans les frottis sanguins périphériques apparaissent répartis au hasard. Des fluctuations marquées de la densité parasitaire peu après le début du traitement peuvent donc se produire comme conséquence naturelle de l'infection elle-même. Si la majorité des parasites présents dans l'organisme sont des schizontes matures qui n'ont pas encore éclaté, une forte augmentation de la parasitémie peut se produire immédiatement après l'admission à l'hôpital (ces augmentations soudaines de parasitémie se produisent également dans le cas du paludisme non compliqué, mais passent inaperçues car le comptage fréquent des parasites est rarement effectué en ambulatoire) (103-105).

Des augmentations soudaines et alarmantes de la densité parasitaire étaient plus fréquentes après le début de la quinine que celles qui sont maintenant observées après le traitement du paludisme grave à *P. falciparum* à l'artésunate. À l'inverse, dans une infection synchrone, dans laquelle les parasites de *P. falciparum* au stade de l'anneau

prédominant dans le frottis sanguin, il peut y avoir une baisse soudaine de la densité parasitaire au fur et à mesure que ces parasites se fixent, donnant la fausse impression d'une excellente réponse au traitement antipaludique (102).

La clairance rapide résulte des dommages causés par les médicaments aux parasites en circulation et de leur élimination ultérieure, principalement par la rate (106). Cela permet d'éviter la cytoadhérence (6) et les conséquences pathologiques de la séquestration, et cela explique en grande partie pourquoi l'artésunate réduit considérablement la mortalité dans le paludisme grave à *P. falciparum* par rapport à la quinine (8).

Le phénomène de pitting a été initialement décrit dans le cadre de l'expulsion des débris issu de la fragmentation des noyaux des érythroblastes (d'Howell-Jolly) et d'autres éléments solides intra-érythrocytaire comme les corps de Heinz (107). La présence de ces inclusions intraérythrocytaire est associée au dysfonctionnement de la fonction filtrante de la rate (108). Le pitting des parasites des Globules rouges parasités est un phénomène naturel observé chez les patients paludéens (85). Le pitting de ces globules rouges parasités est réalisé dans la pulpe rouge de la rate au cours de leur passage par les fentes interendothéliales pour rejoindre la circulation (14, 89). Certains traitements antipaludiques tels que l'artémisinine et ses dérivés induisent une production massive des globules rouges pittés ce qui serait à l'origine de l'une des rares effets secondaire aujourd'hui connu de ces molécules, l'anémie retardée post-artémisinine (12, 14, 109).

Nous avons identifié et déterminé la proportion des globules rouges pittés en identifiant les protéines parasitaires reléguées dans les globules rouges en forme d'anneau (RESA, *Ring Erythrocyte Surface Antigen*) en utilisant la cytométrie en flux. La proportion des globules rouges pittés (pittémie) a été déterminée chez les patients avant- et après traitement avec les dérivés de l'artémisinine aux jours 3, 7, 14, 21 et 28. A l'inclusion, le pittémie moyenne était de 12,4%. Ndour et coll. en 2012 avaient rapporté une proportion de pittémie 7% chez les enfants maliens à Kéniéroba (13). Une grande proportion des patients du service de pédiatrie du CHU-GT ont été référés après traitement dans les structures périphériques de Bamako. Ceci pourrait expliquer la proportion élevée de

pittémie dans notre étude. Le pic de la pittémie a été observé au 7^e jour du suivi avec une proportion moyenne de pittémie de 15,94% (Figure 4).

Une analyse du profil de pitting sur les 28 jours de suivi (évolution du taux de pittémie sur les 28 jours de suivi) en fonction des différents paramètres liés aux patients a confirmé certaines hypothèses. Nous avons observé que les taux moyens de pittémie étaient plus élevés chez les sujets plus jeunes avec près de 30% (figure 5) confirmant l'hypothèse de la prédominance d'une clairance post-artésunate pitting-dépendante chez les sujets jeunes comparés aux sujets plus âgés chez qui la clairance serait plutôt anticorps-dépendante [Tatiana et al](94). En plus, dans les zones d'endémie palustre, les sollicitations successives de la rate lors des différentes infections palustres au fil du temps pourraient induire un hyposplénisme affectant la capacité de pitting de la rate chez les sujets plus âgés

Les patients présentant les plus fortes parasitémies à l'entrée ont été ceux qui avaient aussi les plus fortes proportions de pittémie au cours du suivi (figure7). Cette observation avait été rapportée par Fanello et coll dans une étude comparative entre l'artésunate et la quinine en 2017 (15). De meme, Ndour et coll. avait démontré que chez certains patients au Mali, la proportion de pittémie à J3 égalait la parasitémie initiale au début du traitement par les dérivés de l'artésunate (110).

Nous avons constaté que le portage de l'HbAC réduit fortement la proportion de globules pittés (figure 8). Cette observation est compréhensible au vu des caractéristiques rhéologiques des globules rouges contenant l'HbC. En effet, l'HbC induit une sénescence accélérée des globules rouges en favorisant le dépôt d'hémichrome sur la paroi interne de leur membrane cytoplasmique (111). Ce dépôt provoque une rigidification de la membrane réduisant ainsi, la déformabilité du globule rouge. Les globules rouges parasités peu déformables sont plus prône à la rétention qu'au phénomène de pitting au moment de leur passage à travers la fente inter endothéliale des veinules de la pulpe rouge de la rate (112, 113). Cela expliquerait la faible proportion de pittémie chez les patients porteurs de l'HbAC.

L'étude du profil de la pittémie chez les enfants traités avec les dérivés de l'artémisinine ainsi que les facteurs pouvant influencer ce phénomène permettra de mieux comprendre

le rôle du pitting dans la survenue de l'anémie hémolytique retardée observée après traitement à les dérivés de l'artémisinine. Une meilleure compréhension de l'anémie retardée permettra de développer des outils de prédiction afin de minimiser cet effet secondaire du traitement avec les dérivés de l'artémisinine.

Malgré l'importance des informations rapportée ici nous avons relevé quelques insuffisances au cours de notre étude. En effet cette étude s'est intéressée seulement au profil de pitting chez les cas grave du paludisme. Aussi la relation entre le pitting et la survenue de l'anémie hémolytique après traitement par l'artésunate n'a pas été investiguer dans ce document.

Outre la faiblesse de la taille de notre échantillon, nous avons enregistré beaucoup de perte de vue sur les 28 jours de suivi.

8. Conclusion et recommandations

Au terme de notre étude et vu nos résultats, nous pouvons formuler les recommandations suivantes :

8.1. Conclusion

La rate joue un rôle central dans l'élimination des parasites circulants du paludisme. Les fonctions de clairance splénique augmentent sensiblement dans les cas de paludisme aigu. Après un traitement aux dérivés de l'artémisinine, nous avons observé une proportion non négligeable de pitémie de 12% chez les participants de moins de 5 ans (30%) et chez les patients présentant une parasitémie élevée (15%). En revanche, les porteurs de l'HbAC avaient une faible proportion de pitémie au cours du suivi.

8.2. Recommandations

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

Aux autorités sanitaires

- Informer le personnel soignant de la possibilité d'anémie retardée après le traitement utilisant les dérivés de l'artémisinine ;
- Mettre à la disposition des centres de santé des tests de diagnostic rapide (TDR) pour le diagnostic biologique du paludisme ;
- Sensibiliser les patients sur la survenue de l'anémie retardée après traitement avec les dérivés de l'artémisinine.

Aux structures de recherches

- Mener des études sur les facteurs impliqués dans la survenue de l'anémie retardée post-artésunate ;
- Etudier le phénomène de l'anémie retardée avec les autres médicaments antipaludiques.

A la population

- Amener les enfants au centre de santé dès les premiers signes du paludisme et en cas d'anomalie après un traitement antipaludique ;

9. Références bibliographiques

1. OMS. Le Rapport sur le paludisme dans le monde 2019 en un clin d'oeil 2019. Available from: <https://www.who.int/malaria/media/world-malaria-report-2019/fr/> (consulté le 08/06/2020).
2. EDS-VI. Enquête Démographique et de Santé 2018 2018. Available from: <https://dhsprogram.com/pubs/pdf/FR358/FR358.pdf> (consulté le 11/12/2020).
3. EPIM. Enquête sur les Indicateurs du Paludisme 2015.
4. OMS. Directives pour le traitement du paludisme, Deuxième édition, 2011 . 2011.
5. Paludisme PPNdLcl. Plan Strategique de Lutte contre le Paludisme 2018-2022 2020. Available from: [file:///C:/Users/hp/Downloads/Plan%20strategique%20national%20Paludisme%202020-2024%20\(2\).pdf](file:///C:/Users/hp/Downloads/Plan%20strategique%20national%20Paludisme%202020-2024%20(2).pdf) (consulté le 29/03/2021).
6. Udomsangpetch R, Pipitaporn B, Krishna S, Angus B, Pukrittayakamee S, Bates I, et al. Antimalarial drugs reduce cytoadherence and rosetting *Plasmodium falciparum*. J Infect Dis. 1996;173(3):691-8.
7. Dondorp A, Nosten F, Stepniewska K, Day N, White N. Artesunate versus quinine for treatment of severe *falciparum* malaria: a randomised trial. Lancet. 2005;366(9487):717-25.
8. Dondorp AM, Fanello CI, Hendriksen IC, Gomes E, Seni A, Chhaganlal KD, et al. Artesunate versus quinine in the treatment of severe *falciparum* malaria in African children (AQUAMAT): an open-label, randomised trial. Lancet. 2010;376(9753):1647-57.
9. Santé EDed. The DHS Program ICF Rockville, Maryland, USA. 2018.
10. Plewes K, Haider MS, Kingston HW, Yeo TW, Ghose A, Hossain MA, et al. Severe *falciparum* malaria treated with artesunate complicated by delayed onset haemolysis and acute kidney injury. Malar J. 2015;14:246.
11. Cohuet A, Osta MA, Morlais I, Awono-Ambene PH, Michel K, Simard F, et al. Anopheles and *Plasmodium*: from laboratory models to natural systems in the field. EMBO Rep. 2006;7(12):1285-9.
12. Jaureguiberry S, Ndour PA, Roussel C, Ader F, Safeukui I, Nguyen M, et al. Postartesunate delayed hemolysis is a predictable event related to the lifesaving effect of artemisinin. Blood. 2012;124(2):167-75.

13. Ndour PA, Lopera-Mesa TM, Diakite SA, Chiang S, Mouri O, Roussel C, et al. *Plasmodium falciparum* clearance is rapid and pitting independent in immune Malian children treated with artesunate for malaria. *J Infect Dis.* 2014;211(2):290-7.
14. Camprubi D, Pereira A, Rodriguez-Valero N, Almuedo A, Varo R, Casals-Pascual C, et al. Positive direct antiglobulin test in post-artesunate delayed haemolysis: more than a coincidence? *Malar J.* 2019;18(1):123.
15. Fanello C, Onyamboko M, Lee SJ, Woodrow C, Setaphan S, Chotivanich K, et al. Post-treatment haemolysis in African children with hyperparasitaemic *falciparum* malaria; a randomized comparison of artesunate and quinine. *BMC Infect Dis.* 2017;17(1):575.
16. Jaureguiberry S, Ndour PA, Roussel C, Ader F, Safeukui I, Nguyen M, et al. Postartesunate delayed hemolysis is a predictable event related to the lifesaving effect of artemisinins. *Blood.* 2014;124(2):167-75.
17. Ministère de la Santé (MS). Cellule de Planification et de Statistique (CPS) ASS. ANNUAIRE STATISTIQUE 2018 DU SYSTEME LOCAL D'INFORMATION SANITAIRE DU MALI. Available from: <http://www.sante.gov.ml/docs/AnnuaireSLIS2018VFdu27avril.pdf> (Consulte le 30/03/2021).
18. Macdonald G. Epidemiological basis of malaria control. *Bull World Health Organ.* 1956;15(3-5):613-26.
19. Doumbo O, Dabo A, Diallo M, Doucoure B, Akory AI, Balique H, et al. [Epidemiology of human urban schistosomiasis in Bamako in Mali (the case of the "populous" quarter of Bankoni)]. *Med Trop (Mars).* 1992;52(4):427-34.
20. Burkot TR, Graves PM. The value of vector-based estimates of malaria transmission. *Ann Trop Med Parasitol.* 1995;89(2):125-34.
21. ANOFEL. Paludisme 2014. Available from: <http://campus.cerimes.fr/parasitologie/enseignement/paludisme/site/html/cours.pdf> (consulte le 22/02/2020).
22. Bannister LH, Mitchell GH. The malaria merozoite, forty years on. *Parasitology.* 2009;136(12):1435-44.
23. Dondorp AM, Desakorn V, Pongtavornpinyo W, Sahassananda D, Silamut K, Chotivanich K, et al. Estimation of the total parasite biomass in acute *falciparum* malaria from plasma PfHRP2. *PLoS Med.* 2005;2(8):e204.
24. Cunnington AJ, Walther M, Riley EM. Piecing together the puzzle of severe malaria. *Sci Transl Med.* 2013;5(211):211ps18.

25. Udomsangpetch R, Wahlin B, Carlson J, Berzins K, Torii M, Aikawa M, et al. *Plasmodium falciparum*-infected erythrocytes form spontaneous erythrocyte rosettes. *J Exp Med*. 1989;169(5):1835-40.
26. Pain A, Ferguson DJ, Kai O, Urban BC, Lowe B, Marsh K, et al. Platelet-mediated clumping of *Plasmodium falciparum*-infected erythrocytes is a common adhesive phenotype and is associated with severe malaria. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001;98(4):1805-10.
27. Baruch DI, Pasloske BL, Singh HB, Bi X, Ma XC, Feldman M, et al. Cloning the *P. falciparum* gene encoding PfEMP1, a malarial variant antigen and adherence receptor on the surface of parasitized human erythrocytes. *Cell*. 1995;82(1):77-87.
28. de Jong GM, Slager JJ, Verbon A, van Hellemond JJ, van Genderen PJ. Systematic review of the role of angiopoietin-1 and angiopoietin-2 in *Plasmodium* species infections: biomarkers or therapeutic targets? *Malar J*. 2016;15(1):581.
29. Desakorn V, Dondorp AM, Silamut K, Pongtavornpinyo W, Sahassananda D, Chotivanich K, et al. Stage-dependent production and release of histidine-rich protein 2 by *Plasmodium falciparum*. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2005;99(7):517-24.
30. Hendriksen IC, Mwanga-Amumpaire J, von Seidlein L, Mtove G, White LJ, Olaosebikan R, et al. Diagnosing severe falciparum malaria in parasitaemic African children: a prospective evaluation of plasma PfHRP2 measurement. *PLoS Med*. 2012;9(8):e1001297.
31. Rubach MP, Mukemba J, Florence S, John B, Crookston B, Lopansri BK, et al. Plasma *Plasmodium falciparum* histidine-rich protein-2 concentrations are associated with malaria severity and mortality in Tanzanian children. *PLoS One*. 2012;7(5):e35985.
32. Crompton PD, Moebius J, Portugal S, Waisberg M, Hart G, Garver LS, et al. Malaria immunity in man and mosquito: insights into unsolved mysteries of a deadly infectious disease. *Annu Rev Immunol*. 2014;32:157-87.
33. Fowkes FJ, Boeuf P, Beeson JG. Immunity to malaria in an era of declining malaria transmission. *Parasitology*. 2016;143(2):139-53.
34. Malaguarnera L, Musumeci S. The immune response to *Plasmodium falciparum* malaria. *Lancet Infect Dis*. 2002;2(8):472-8.
35. WHO. Severe malaria. *Trop Med Int Health*. 2014;19 Suppl 1:7-131.
36. Conroy AL, Hawkes M, Elphinstone RE, Morgan C, Hermann L, Barker KR, et al. Acute Kidney Injury Is Common in Pediatric Severe Malaria and Is Associated With Increased Mortality. *Open Forum Infect Dis*. 2016;3(2):ofw046.

37. Bruneel F, Tubach F, Corne P, Megarbane B, Mira JP, Peytel E, et al. Severe imported *falciparum* malaria: a cohort study in 400 critically ill adults. PLoS One. 2010;5(10):e13236.
38. Dondorp AM, Lee SJ, Faiz MA, Mishra S, Price R, Tjitra E, et al. The relationship between age and the manifestations of and mortality associated with severe malaria. Clin Infect Dis. 2008;47(2):151-7.
39. von Seidlein L, Olaosebikan R, Hendriksen IC, Lee SJ, Adedoyin OT, Agbenyega T, et al. Predicting the clinical outcome of severe *falciparum* malaria in african children: findings from a large randomized trial. Clin Infect Dis. 2012;54(8):1080-90.
40. Bangirana P, Opoka RO, Boivin MJ, Idro R, Hodges JS, Romero RA, et al. Severe malarial anemia is associated with long-term neurocognitive impairment. Clin Infect Dis. 2014;59(3):336-44.
41. Boivin MJ. Effects of early cerebral malaria on cognitive ability in Senegalese children. J Dev Behav Pediatr. 2002;23(5):353-64.
42. Fernando SD, Rodrigo C, Rajapakse S. The 'hidden' burden of malaria: cognitive impairment following infection. Malar J. 2010;9:366.
43. John CCK, E.Mugarura, K.Opoka, R. O. Adjunctive therapy for cerebral malaria and other severe forms of *Plasmodium falciparum* malaria. Expert Rev Anti Infect Ther. 2010;8(9):997-1008.
44. Shikani HJ, Freeman BD, Lisanti MP, Weiss LM, Tanowitz HB, Desruisseaux MS. Cerebral malaria: we have come a long way. Am J Pathol. 2012;181(5):1484-92.
45. Zimmerman GA, Castro-Faria-Neto H. Persistent cognitive impairment after cerebral malaria: models, mechanisms and adjunctive therapies. Expert Rev Anti Infect Ther. 2010;8(11):1209-12.
46. Idro R, Jenkins NE, Newton CR. Pathogenesis, clinical features, and neurological outcome of cerebral malaria. Lancet Neurol. 2005;4(12):827-40.
47. Krishna S, Waller DW, ter Kuile F, Kwiatkowski D, Crawley J, Craddock CF, et al. Lactic acidosis and hypoglycaemia in children with severe malaria: pathophysiological and prognostic significance. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1994;88(1):67-73.
48. Murphy SC, Breman JG. Gaps in the childhood malaria burden in Africa: cerebral malaria, neurological sequelae, anemia, respiratory distress, hypoglycemia, and complications of pregnancy. Am J Trop Med Hyg. 2001;64(1-2 Suppl):57-67.

49. Seydel KB, Kampondeni SD, Valim C, Potchen MJ, Milner DA, Muwalo FW, et al. Brain swelling and death in children with cerebral malaria. *N Engl J Med*. 2015;372(12):1126-37.
50. Taylor WRJ, Hanson J, Turner GDH, White NJ, Dondorp AM. Respiratory manifestations of malaria. *Chest*. 2012;142(2):492-505.
51. White NJ. Anaemia and malaria. *Malar J*. 2018;17(1):371.
52. Moraleda C, Aguilar R, Quinto L, Nhampossa T, Renom M, Nhabomba A, et al. Anaemia in hospitalised preschool children from a rural area in Mozambique: a case control study in search for aetiological agents. *BMC Pediatr*. 2017;17(1):63.
53. WHO. malaria report 2019 2019. 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 19/02/2021).
54. Bhatt S, Weiss DJ, Cameron E, Bisanzio D, Mappin B, Dalrymple U, et al. The effect of malaria control on *Plasmodium falciparum* in Africa between 2000 and 2015. *Nature*. 2015;526(7572):207-11.
55. Ranson H, Lissenden N. Insecticide Resistance in African Anopheles Mosquitoes: A Worsening Situation that Needs Urgent Action to Maintain Malaria Control. *Trends Parasitol*. 2016;32(3):187-96.
56. Killeen GF. Characterizing, controlling and eliminating residual malaria transmission. *Malar J*. 2014;13:330.
57. Chaccour CJ, Kobylinski KC, Bassat Q, Bousema T, Drakeley C, Alonso P, et al. Ivermectin to reduce malaria transmission: a research agenda for a promising new tool for elimination. *Malar J*. 2013;12:153.
58. Killeen GF, Tatarsky A, Diabate A, Chaccour CJ, Marshall JM, Okumu FO, et al. Developing an expanded vector control toolbox for malaria elimination. *BMJ Glob Health*. 2017;2(2):e000211.
59. Famanta A, Diakite M, Diawara SI, Diakite SA, Doumbia S, Traore K, et al. [Prevalence of maternal and placental malaria and of neonatal low birth weight in a semi-urban area of Bamako (Mali)]. *Sante*. 2011;21(1):3-7.
60. MALI MDLSD. PROMOUVOIR L'UTILISATION GENERALISEE DES COMBINAISONS THERAPEUTIQUES A BASE D'ARTEMISININE POUR LE TRAITEMENT DU PALUDISME SIMPLE AU MALI [NOTE TECHNIQUE]. 2010. Available from: https://www.who.int/evidence/resources/policy_briefs/Policybriefmaliatreatmentmali.pdf?ua=1 (consulté le 01/04/2021).

61. Kayentao K, Kodio M, Newman RD, Maiga H, Doumtabe D, Ongoiba A, et al. Comparison of intermittent preventive treatment with chemoprophylaxis for the prevention of malaria during pregnancy in Mali. *J Infect Dis.* 2005;191(1):109-16.
62. Diarra SS, Konate D, Diawara SI, Tall M, Diakite M, Doumbia S. Factors Associated with Intermittent Preventive Treatment of Malaria During Pregnancy in Mali. *J Parasitol.* 2019;105(2):299-302.
63. Webster J, Hoyt J, Diarra S, Manda-Taylor L, Okoth G, Achan J, et al. Adoption of evidence-based global policies at the national level: intermittent preventive treatment for malaria in pregnancy and first trimester treatment in Kenya, Malawi, Mali and The Gambia. *Health policy and planning.* 2021;35(10):1364-75.
64. WHO. Guidelines for the Treatment of Malaria 2015. Available from: <https://www.who.int/docs/default-source/documents/publications/gmp/guidelines-for-the> (Consulté le 19/02/2021).
65. OMS. Chimio-prévention du paludisme saisonnier (CPS) 2013. Available from: https://www.who.int/malaria/areas/preventive_therapies/children/fr/ (Consulté le 31/03/2021).
66. Paludisme O-Pmdlcl. Paludisme : Informations aux voyageurs 2020. Available from: <https://www.who.int/malaria/travellers/fr> (Consulté le 31/03/2021).
67. Rts SCTP. Efficacy and safety of the RTS,S/AS01 malaria vaccine during 18 months after vaccination: a phase 3 randomized, controlled trial in children and young infants at 11 African sites. *PLoS Med.* 2014;11(7):e1001685.
68. Seder RA, Chang LJ, Enama ME, Zephir KL, Sarwar UN, Gordon IJ, et al. Protection against malaria by intravenous immunization with a nonreplicating sporozoite vaccine. *Science.* 2013;341(6152):1359-65.
69. Miller LH, Hoffman SL. Research toward vaccines against malaria. *Nature medicine.* 1998;4(5 Suppl):520-4.
70. White NJ, Pukrittayakamee S, Hien TT, Faiz MA, Mokuolu OA, Dondorp AM. Malaria. *Lancet.* 2014;383(9918):723-35.
71. Thomson R, Beshir KB, Cunningham J, Baiden F, Bharmal J, Bruxvoort KJ, et al. pfhpr2 and pfhpr3 Gene Deletions That Affect Malaria Rapid Diagnostic Tests for *Plasmodium falciparum*: Analysis of Archived Blood Samples From 3 African Countries. *J Infect Dis.* 2019;220(9):1444-52.
72. Ashley EAPP, A.Woodrow, C. J. Malaria. *Lancet.* 2018;391(10130):1608-21.

73. Su XZ, Miller LH. The discovery of artemisinin and the Nobel Prize in Physiology or Medicine. *Sci China Life Sci.* 2015;58(11):1175-9.
74. OMS. Note d'information de l'OMS sur l'anémie hémolytique tardive après le traitement à l'artésunate 2013. Available from: https://www.who.int/malaria/publications/atoz/who_note_delayed_haemolytic_anaemia_oct13_fr.pdf?ua=1 (consulté le 08/06/2020).
75. Badshah SL, Ullah A, Ahmad N, Almarhoon ZM, Mabkhot Y. Increasing the Strength and Production of Artemisinin and Its Derivatives. *Molecules.* 2018;23(1).
76. Song Y, Lee SJ, Jang SH, Kim TH, Kim HD, Kim SW, et al. Annual Wormwood Leaf Inhibits the Adipogenesis of 3T3-L1 and Obesity in High-Fat Diet-Induced Obese Rats. *Nutrients.* 2017;9(6).
77. Efferth T, Romero MR, Wolf DG, Stamminger T, Marin JJ, Marschall M. The antiviral activities of artemisinin and artesunate. *Clin Infect Dis.* 2008;47(6):804-11.
78. Martino E, Tarantino M, Bergamini M, Castelluccio V, Coricello A, Falcicchio M, et al. Artemisinin and its derivatives; ancient tradition inspiring the latest therapeutic approaches against malaria. *Future Med Chem.* 2019;11(12):1443-59.
79. Hsu E. Reflections on the 'discovery' of the antimalarial qinghao. *Br J Clin Pharmacol.* 2006;61(6):666-70.
80. Koulu M, Orma S, Liljeblad A, Niemela P. Artemisiae as medicinal and herbal medicinal plants from ancient times to the present day. *Duodecim.* 2016;132(19):1763-70.
81. Molyneux DH, Ward SA. Reflections on the Nobel Prize for Medicine 2015--The Public Health Legacy and Impact of Avermectin and Artemisinin. *Trends Parasitol.* 2015;31(12):605-7.
82. Muangphrom P, Seki H, Fukushima EO, Muranaka T. Artemisinin-based antimalarial research: application of biotechnology to the production of artemisinin, its mode of action, and the mechanism of resistance of Plasmodium parasites. *J Nat Med.* 2016;70(3):318-34.
83. Leadem CA, Yagenova SV. Effects of specific activation of mu-, delta- and kappa-opioid receptors on the secretion of luteinizing hormone and prolactin in the ovariectomized rat. *Neuroendocrinology.* 1987;45(2):109-17.
84. Nealon C, Dzeing A, Muller-Romer U, Planche T, Sinou V, Kombila M, et al. Intramuscular bioavailability and clinical efficacy of artesunate in gabonese children with severe malaria. *Antimicrob Agents Chemother.* 2002;46(12):3933-9.

85. Bartoloni A, Tomasoni L, Bartalesi F, Galli L, Sani S, Veloci S, et al. Combined intravenous treatment with artesunate and quinine for severe malaria in Italy. *Am J Trop Med Hyg.* 2010;83(2):274-6.
86. JAUREGUIBERRY S. Rétention et « pitting » splénique des globules rouges au cours du paludisme grave traité par dérivés de l'artémisinine. 2015.
87. S. Jauréguiberry(1-3) ÉK, A. Ndour(3), M. Thellier(2-4), P. Buffet(2-. Traitement par l'artésunate intraveineux en France 2012. Available from: [<https://www.edimark.fr/Front/frontpost/getfiles/19131.pdf>].
88. travail Rdgd. Place de l'artésunate injectable dans le traitement du paludisme grave de l'adulte et de l'enfant 2013. Available from: http://www.hcsp.fr/explore.cgi/hcspr20130201_palugraveartesunate.pdf.
89. Buffet PA, Milon G, Brousse V, Correas JM, Dousset B, Couvelard A, et al. Ex vivo perfusion of human spleens maintains clearing and processing functions. *Blood.* 2006;107(9):3745-52.
90. Lebrun D, Floch T, Brunet A, Julien G, Romaru J, N'Guyen Y, et al. Severe post-artesunate delayed onset anaemia responding to corticotherapy: a case report. *J Travel Med.* 2018;25(1).
91. Doumbia AK TB, Togo P, Traoré F, Coulibaly O, Dembélé A, Maïga B, Dicko F, Diakité AA,, M S. MORBIDITE ET MORTALITE CHEZ LES ENFANTS DE 01 A 59 MOIS HOSPITALISES AU SERVICE DE PEDIATRIE GENERALE DU CHU GABRIEL TOURE DE JANVIER A DECEMBRE 2013.
92. Konate D, Diawara SI, Toure M, Diakite SAS, Guindo A, Traore K, et al. Effect of routine seasonal malaria chemoprevention on malaria trends in children under 5 years in Dangassa, Mali. *Malar J.* 2020;19(1):137.
93. DOUMBOUYA M. Prévalence des polymorphismes de l'hémoglobine (HbS, HbC, α -thalassemie) et du globule rouge (déficit en G6PD, groupe sanguin ABO) connus comme protecteurs contre les formes graves du paludisme dans la commune rurale de ancoumana, Kati 2010.
94. Tatiana. Retraction: 'An ~400 kDa membrane-associated complex that contains one molecule of the resistance protein Cf-4' by Susana Rivas, Tatiana Mucyn, Harrold A. van den Burg, Jacques Vervoort and Jonathan D. G. Jones. *Plant J.* 2017;90(6):1214.
95. Lopera-Mesa TM, Doumbia S, Konate D, Anderson JM, Doumbouya M, Keita AS, et al. Effect of red blood cell variants on childhood malaria in Mali: a prospective cohort study. *Lancet Haematol.* 2015;2(4):e140-9.

96. Diakite SA, Ndour PA, Brousse V, Gay F, Roussel C, Biligui S, 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):482.
97. Punath K, Dayanand KK, Chandrashekhar VN, Achur RN, Kakkilaya SB, Ghosh SK, et al. Association between inflammatory cytokine levels and anemia during *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* infections in Mangaluru: A Southwestern Coastal Region of India. *Trop Parasitol*. 2019;9(2):98-107.
98. Waitumbi JN, Opollo MO, Muga RO, Misore AO, Stoute JA. Red cell surface changes and erythrophagocytosis in children with severe *plasmodium falciparum* anemia. *Blood*. 2000;95(4):1481-6.
99. Merry AH, Looareesuwan S, Phillips RE, Chanthavanich P, Supanaranond W, Warrell DA, et al. Evidence against immune haemolysis in *falciparum* malaria in Thailand. *Br J Haematol*. 1986;64(1):187-94.
100. Roussel C, Caumes E, Thellier M, Ndour PA, Buffet PA, Jaureguiberry S. Artesunate to treat severe malaria in travellers: review of efficacy and safety and practical implications. *J Travel Med*. 2017;24(2).
101. Clark HC. The Diagnostic Value of the Placental Blood Film in Aestivo-Autumnal Malaria. *J Exp Med*. 1915;22(4):427-44.
102. White NJ. The assessment of antimalarial drug efficacy. *Trends Parasitol*. 2002;18(10):458-64.
103. Gachot B, Houze S, Le Bras J, Charmot G, Bedos JP, Vachon F. Possible prognostic significance of a brief rise in parasitaemia following quinine treatment of severe *Plasmodium falciparum* malaria. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1996;90(4):388-90.
104. White NJ. Assessment of the pharmacodynamic properties of antimalarial drugs in vivo. *Antimicrob Agents Chemother*. 1997;41(7):1413-22.
105. White NJ, Looareesuwan S, Warrell DA, Warrell MJ, Bunnag D, Harinasuta T. Quinine pharmacokinetics and toxicity in cerebral and uncomplicated *Falciparum* malaria. *Am J Med*. 1982;73(4):564-72.
106. Chotivanich K, Udomsangpetch R, McGready R, Proux S, Newton P, Pukrittayakamee S, et al. Central role of the spleen in malaria parasite clearance. *J Infect Dis*. 2002;185(10):1538-41.
107. Crosby WH. Normal functions of the spleen relative to red blood cells: a review. *Blood*. 1959;14(4):399-408.

108. Mathew H, Dittus C, Malek A, Negroiu A. Howell-Jolly bodies on peripheral smear leading to the diagnosis of congenital hyposplenism in a patient with septic shock. *Clin Case Rep.* 2015;3(8):714-7.
109. Newton CR, Krishna S. Severe falciparum malaria in children: current understanding of pathophysiology and supportive treatment. *Pharmacol Ther.* 1998;79(1):1-53.
110. Phyo AP, Win KK, Thu AM, Swe LL, Htike H, Beau C, et al. Poor response to artesunate treatment in two patients with severe malaria on the Thai-Myanmar border. *Malar J.* 2018;17(1):30.
111. Tokumasu F, Nardone GA, Ostera GR, Fairhurst RM, Beaudry SD, Hayakawa E, et al. Altered membrane structure and surface potential in homozygous hemoglobin C erythrocytes. *PLoS One.* 2009;4(6):e5828.
112. Li H, Lu L, Li X, Buffet PA, Dao M, Karniadakis GE, et al. Mechanics of diseased red blood cells in human spleen and consequences for hereditary blood disorders. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2018;115(38):9574-9.
113. Safeukui I, Buffet PA, Deplaine G, Perrot S, Brousse V, Sauvanet A, et al. Sensing of red blood cells with decreased membrane deformability by the human spleen. *Blood Adv.* 2018;2(20):2581-7.

10. Annexes

10.1. Technique de 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).

Taux d'hémoglobine

✓ 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, chiffon de coton propre, crayon noir à mine grasse ou marqueur indélébile, stylo à bille, bacs de coloration, éprouvette graduées, râtelier, chronomètre, huile d'immersion, registre ou formulaire de notification, un compteur manuel et gant.

✓ Lieu du prélèvement

Face latérale à l'extrémité d'un doigt (en général gauche, 3^e doigt après le pouce), sur le lobe de l'oreille après avoir réchauffé avec les doigts, au niveau du talon ou gros orteil chez le nourrisson.

✓ Réalisation 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 :

- 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) ;
- 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 ;
- Avec le chiffon de coton propre, essuyer le doigt en appuyant fermement pour stimuler la circulation du sang ;
- Avec un vaccinostyle stérile, piquer le bout du doigt d'un seul geste ;

- 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 ;
- Appuyer doucement sur le doigt et recueillir une petite goutte de sang au milieu de la lame.
- Essuyer le sang restant sur le bout du doigt avec un tampon de coton ;
- Tenir la lame supérieure par les bords ;
- Placer le coin de l'autre lame au centre de la goutte de sang ;
- Étendre légèrement la surface de la goutte par des mouvements spiralés appuyés de la lame.
- Assurer cette défibrination mécanique pendant quelques secondes et étendre la goutte sur environ 1 cm de diamètre ;
- 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.

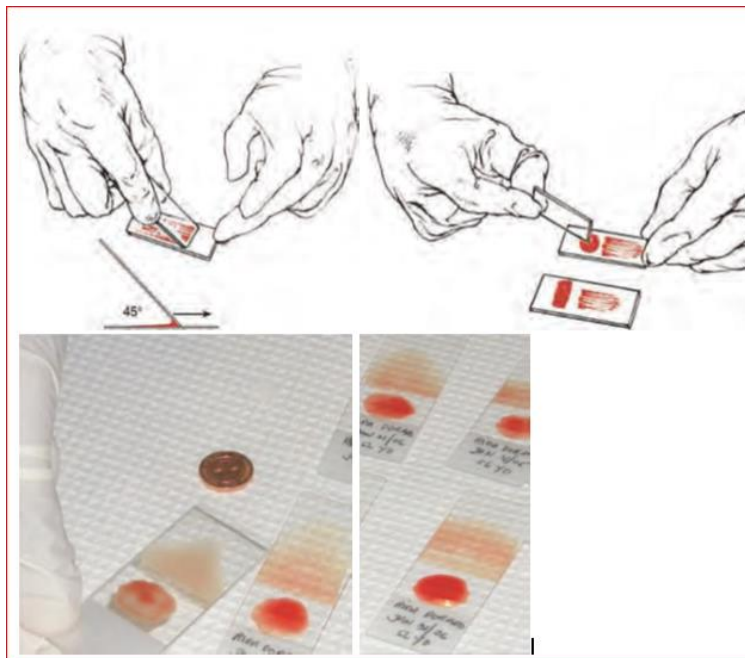


Figure 11. Technique de la goutte épaisse

Source : https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/164472/9789242547825_fre.pdf;jsessionid=E91A5F3B156FD17C40C695BEED177FFB?sequence=1

✓ Coloration au 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 foncée et un cytoplasme 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

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 de sang 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 0,25gr de sang (environ 100 champs, avec un oculaire 7 X (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 est 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 μ par la simple formule mathématique suivante :

$$\frac{\text{Nombre de parasites} \times 7\,500}{\text{Nombre de leucocytes}} = \text{parasites par } \mu\text{l}$$

10.2. Technique de Détermination du taux de pitémie

Principe

La technique de détermination du taux de pitémie est basée sur la détection des protéines parasitaires contenues dans les globules rouges parasités pitémés. Il s'agit d'une technique de cytométrie en flux. Les protéines parasitaires contenues dans les globules rouges pitémés sont marquées par un anticorps primaire puis révélées par un anticorps secondaires anti IgG couplé à un fluorescent. Les globules rouges ainsi marqués sont détectés et comptés au cytomètre en flux et leur proportion déterminée après analyse.

Matériel

- Un cytomètre (BD Accuri C6 Sampler)
- Centrifugeuse Eppendorf
- Tube Eppendorf 1.5
- Tube sec pour lecture
- Pipette 200 et embout correspondant
- Pipette 10 embout correspondant
- Pipette 1000 embout correspondant

Réactifs

- anticorps Primaire (anti RESA)
- anticorps Secondaire (*Goat anti-humain Alexa 568*)
- albumax 1%
- PBS 1X
- Syber Green
- Glutaraldehyde 1%

Procédure

Lavage des GR

- Transférer 500 µl de sang veineux du patient dans un tube Eppendorf,
- Centrifuger à 1000 t/min pendant une minute,
- Prendre 5 µl de culot et le transférer dans un nouveau tube Eppendorf
- Ajouter 200 µl de PBS 1X et centrifuger à 2000t/mn pendant 2 minutes et jeter le surnageant

- Reprendre cette dernière opération 2 fois
- Ajouter 200µl de PBs 1x glutaraldéhyde 1%,
- Centrifuger à 2000t/mn pendant 2 minutes
- Ajouter 200µl de PBS 1X et centrifuger à 2000t/mn pendant 2 minutes et jeter le surnageant
- Reprendre cette dernière opération 2 fois

Marquage

- Ajouter 200µl de la solution d'anticorps primaire (10µd'Ac1+ 1µl triton 100X+PBS1X Albumax 1% QSP 1ml)
- Incuber à la température ambiante sous agitation pendant 25 minutes
- Laver 2 fois avec du PBS 1X
- Ajouter la solution d'anticorps secondaire (4µl d'Ac2 + 1µl de triton+ PBS1X Albumax 1% QSP 1ml)
- Incuber à la température ambiante sous agitation et à l'abri de la lumière pendant 25 minutes
- Laver 2 fois avec du PBS 1X
- Resuspendre dans du PBS1X
- Faire l'acquisition à la cytométrie en flux (10000 événements)

Analyse et Interprétation

Les Globules rouge sont identifiés en fonction de leur taille et de leur et de leur granulation (FSC= [20000- 1500000] et SSC = [200000 - 2000000]). Les globules rouges marque sont détectés dans le filtre F11 et leur proportion est déterminée

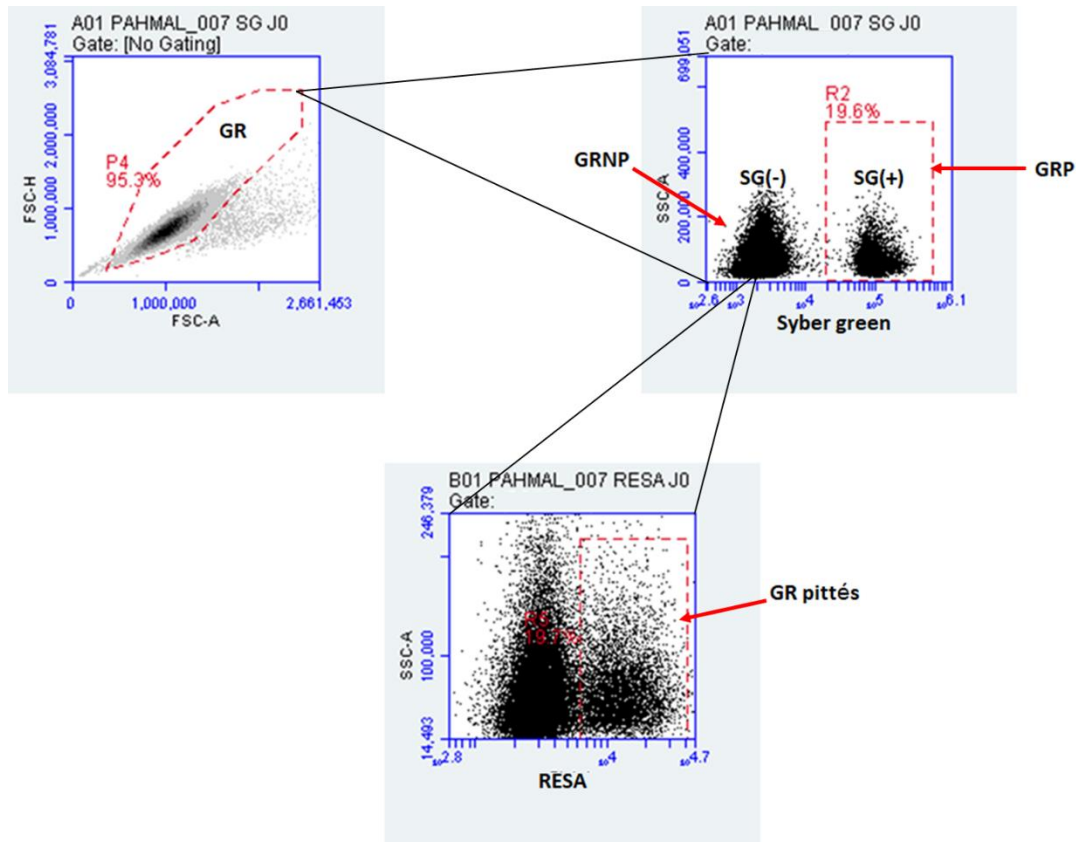


Figure 12: Illustration de la procédure d'analyse au cytométrie de flux pour la détermination du taux de pitiéme

11. Fiche signalétique

Nom : Koné

Prénom : Kadidia

Numéro matricule : 13Q1F02244Q

Titre : Profil de pitting (épépinage) des globules rouges parasités chez les enfants atteints de paludisme grave traités par l'artémisinine au service de pédiatrie du CHU Gabriel Touré

Nationalité : Malienne

Année et ville de soutenance : 2021, Bamako

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

Secteur d'intérêt : Parasitologie, Santé publique, Immunologie

Résumé

Des études précédentes ont indiqué le rôle du pitting dans la survenue de l'anémie hémolytique retardée consécutive au traitement du paludisme grave par les dérivés de l'artémisinine. Dans le but de mieux comprendre ce phénomène, nous avons mené une étude afin de déterminer le profil de pitting ainsi que les facteurs pouvant l'influencer la survenue de l'anémie retardée chez les patients du service de pédiatrie du CHU Gabriel Touré. Le taux de pitémie a été déterminé en utilisant la cytométrie de flux après marquage des protéines parasitaires contenues dans les globules infectés.

Après un traitement aux dérivés de l'artémisinine, nous avons observé une proportion non négligeable de pitémie de 12% chez les participants de moins de 5 ans (30%) et chez les patients présentant une parasitémie élevée (15%). En revanche, les porteurs de l'HbAC avaient une faible proportion de pitémie au cours du suivi. Cette étude nous a permis de mieux comprendre le phénomène de pitting chez les enfants Maliens traités avec l'artésunate.

Mots clés : Paludisme, *P. falciparum*, Artemisinine, Pitting, Globules rouges, Cytométrie en flux

Summary

Previous studies have indicated the role of pitting in the occurrence of delayed hemolytic anemia following treatment of severe malaria with artemisinin derivatives. In order to better understand this phenomenon, we have conducted a study to determine the pitting profile and the factors that may influence the occurrence of delayed anemia in patients in the pediatrics department of the Gabriel Touré UHC. The rate of pitting was determined using flow cytometry after labeling of parasitic proteins contained in infected blood cells.

After treatment with artemisinin derivatives, we observed a non-negligible proportion of pitting of 12%. This was observed in participants less than 5 years old (30%) and in patients with high parasitemia (15%). In contrast, HbAC carriers had a low proportion of pitting during follow-up. This study has allowed us to better understand the mechanism of delayed anemia in patients treated with artemisinin derivatives.

Key Words: Malaria, *P. falciparum*, Artemisinin, Pitting, Red Blood Cells, Flow Cytometry.

SERMENT DE GALIEN

Je jure en présence des maîtres de la faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et 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 consentirais à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

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

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

Je le jure !