

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

REPUBLIQUE DE COTE D'IVOIRE
UNION – DISCIPLINE – TRAVAIL



Année : 2017 – 2018

N°1948/18

THESE

Présentée en vue de l'obtention du

DIPLOME D'ETAT DE
DOCTEUR EN PHARMACIE

Par

KOFFI YAO BASILE ARNOLD

(Interne des Hôpitaux de Côte d'Ivoire)

Evaluation des performances de la PCR nichée dans le diagnostic de l'infestation plasmodiale chez les enfants d'âge scolaire à Grand-Bassam, Abengourou et San Pedro de 2015 à 2016

Soutenue publiquement le 24 Août 2018

Composition du jury

Président : Madame SAWADOGO DUNI, Professeur Titulaire
Directeur : Monsieur YAVO WILLIAM, Professeur Titulaire
Asseseurs : Monsieur DEMBELE BAMORY, Maître de Conférences Agrégé
: Madame KONE FATOUMATA, Assistante

**ADMINISTRATION ET PERSONNEL ENSEIGNANT
DE L'UFR DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET
BIOLOGIQUES**

I- HONORARIAT

Directeurs/Doyens	: Professeur RAMBAUD André
Honoraires	: Professeur FOURASTE Isabelle
	: Professeur BAMBA Moriféré
	: Professeur YAPO Abbé †
	: Professeur MALAN Kla Anglade
	: Professeur KONE Moussa †
	: Professeur ATINDEHOU Eugène

II- ADMINISTRATION

Directeur	Professeur KONE-BAMBA Diénéba
Sous-Directeur Chargé de la Pédagogie	Professeur Ag IRIE-N'GUESSAN Amenan
Sous-Directeur Chargé de la Recherche	Professeur Ag DEMBELE Bamory
Secrétaire Principal	Madame NADO-AKPRO Marie Josette
Documentaliste	Monsieur N'GNIMMIEN Koffi Lambert
Intendant	Monsieur GAHE Alphonse
Responsable de la Scolarité	Madame DJEDJE Yolande

III- PERSONNEL ENSEIGNANT PERMANENT

1. PROFESSEURS TITULAIRES

M. ABROGOUA Danho Pascal	Pharmacie Clinique
Mmes AKE Michèle	Chimie Analytique, Bromatologie
ATTOUNGBRE HAUHOUOT M.L	Biochimie et Biologie Moléculaire
MM. DANO Djédjé Sébastien	Toxicologie
INWOLEY Kokou André	Immunologie
Mme KONE BAMBA Diéneba	Pharmacognosie
M. KOUADIO Kouakou Luc	Hydrologie, Santé Publique

Mme KOUAKOU-SIRANSY Gisèle	Pharmacologie
MM. MALAN Kla Anglade	Chimie Analytique, Contrôle de Qualité
MENAN Eby Ignace	Parasitologie - Mycologie
MONNET Dagui	Biochimie et Biologie Moléculaire
Mme SAWADOGO Duni	Hématologie
M. YAVO William	Parasitologie - Mycologie

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

M. AHIBOH Hugues	Biochimie et Biologie Moléculaire
Mme AKE-EDJEME N'Guessan Angèle	Biochimie et Biologie Moléculaire
MM. AMARI Antoine Serge G.	Législation Pharmaceutique
AMIN N'Cho Christophe	Chimie Analytique
BONY François Nicaise	Chimie Analytique
DALLY Laba Ismaël	Pharmacie Galénique
DEMBELE Bamory	Immunologie
DJOHAN Vincent	Parasitologie - Mycologie
GBASSI K. Gildas	Chimie, Physique Générale
Mme IRIE-N'GUESSAN Amenan	Pharmacologie
M. KOFFI Angely Armand	Pharmacie Galénique
Mme KOUAKOU-SACKOU Julie	Santé Publique
MM. KOUASSI Dinard	Hématologie
LOUKOU Yao Guillaume	Bactériologie - Virologie
OGA Agbaya Stéphane	Santé Publique et Economie de la Santé
OUASSA Timothée	Bactériologie - Virologie
OUATTARA Mahama	Chimie Organique, Chimie Thérapeutique
Mmes POLNEAU-VALLEE Sandrine	Mathématiques - Statistiques
SANGARE TIGORI Béatrice	Toxicologie
MM. YAPI Ange Désiré	Chimie Organique, Chimie Thérapeutique
ZINZENDORF Nanga Yessé	Bactériologie - Virologie

3. MAITRES-ASSISTANTS

MM. ADJAMBRI Adia Eusebé	Hématologie
ADJOUNGOUA Attoli Léopold	Pharmacognosie
Mmes ABOLI-AFFI Mihessé Roseline	Immunologie
AKA ANY-GRAH Armelle Adjoua S.	Pharmacie Galénique
ALLA-HOUNSA Annita Emeline	Santé Publique
M. ANGORA Kpongbo Etienne	Parasitologie - Mycologie
Mmes AYE-YAYO Mireille	Hématologie
BAMBA-SANGARE Mahawa	Biologie Générale
BARRO-KIKI Pulchérie	Parasitologie - Mycologie
MM. CABLAN Mian N°Dédey Asher	Bactériologie - Virologie
CLAON Jean Stéphane	Santé Publique
Mmes DIAKITE Aïssata	Toxicologie
FOFIE N°Guessan Bra Yvette	Pharmacognosie
M. KASSI Kondo Fulgence	Parasitologie - Mycologie
Mme KONAN-ATTIA Akissi Régine	Santé Publique
M. KONAN Konan Jean Louis	Biochimie et Biologie Moléculaire
Mmes KONATE Abibatou	Parasitologie - Mycologie
KOUASSI-AGBESSI Thérèse	Bactériologie - Virologie
MM. MANDA Pierre	Toxicologie
N°GUESSAN Alain	Pharmacie Galénique
Mme VANGA ABO Henriette	Parasitologie - Mycologie
M. YAYO Sagou Eric	Biochimie et Biologie Moléculaire

4. ASSISTANTS

MM. ADIKO Aimé Cézaire	Immunologie
AMICHIA Attoumou Magloire	Pharmacologie
Mmes AKOUBET-OUAYOGODE Aminata	Pharmacognosie
ALLOUKOU-BOKA Paule-Mireille	Législation Pharmaceutique

Mmes APETE Sandrine	Bactériologie & Virologie
BEDIAKON-GOKPEYA Mariette	Santé Publique
BLAO-N ^o GUESSAN Amino Rebecca J.	Hématologie
MM. BROU Amani Germain	Chimie Analytique
BROU N ^o Guessan Aimé	Pharmacie Clinique
COULIBALY Songuigama	Chimie Organique, Chimie Thérapeutique
DJADJI Ayoman Thierry Lenoir	Pharmacologie
DJATCHI Richmond Anderson	Bactériologie - Virologie
Mmes DONOU-N ^o DRAMAN Aha Emma	Hématologie
DOTIA Tiepordan Agathe	Bactériologie - Virologie
M. EFFO Kouakou Etienne	Pharmacologie
Mme KABLAN-KASSI Hermance	Hématologie
MM. KABRAN Tano Kouadio Mathieu	Immunologie
KACOU Alain	Chimie Organique, Chimie Thérapeutique
KAMENAN Boua Alexis Thierry	Pharmacologie
KOFFI Kouamé	Santé Publique
KONAN Jean Fréjus	Biophysique
Mme KONE Fatoumata	Biochimie et Biologie Moléculaire
MM. KOUAHO Avi Kadio Tanguy	Chimie Organique, Chimie Thérapeutique
KOUAKOU Sylvain Landry	Pharmacologie
KOUAME Denis Rodrigue	Immunologie
KOUAME Jérôme	Santé Publique
KPAIBE Sawa André Philippe	Chimie Analytique
Mme KRIZO Gouhonon Anne-Aymonde	Bactériologie - Virologie
MM. LATHRO Joseph Serge	Bactériologie - Virologie
MIEZAN Jean Sébastien	Parasitologie - Mycologie
N ^o GBE Jean Verdier	Toxicologie
N ^o GUESSAN Déto Ursul Jean-Paul	Chimie Organique, Chimie Thérapeutique
Mmes N ^o GUESSAN Kakwokpo Clémence	Pharmacie Galénique
N ^o GUESSAN-AMONKOU A. Cynthia	Législation Pharmaceutique

Mmes ODOH Alida Edwige	Pharmacognosie
SIBLI-KOFFI Akissi Joëlle	Biochimie et Biologie Moléculaire
SICA-DIAKITE Amelanh	Chimie Organique, Chimie Thérapeutique
TANOH-BEDIA Valérie	Parasitologie-Mycologie
M. TRE Eric Serge	Chimie Analytique
Mme TUO Awa	Pharmacie Galénique
M. YAPO Assi Vincent De Paul	Biologie Générale
Mme YAPO-YAO Carine Mireille	Biochimie

5. CHARGEES DE RECHERCHE

Mmes ADIKO N'Dri Marcelline	Pharmacognosie
OUATTARA N'Gnôh Djénéba	Santé Publique

6. ATTACHE DE RECHERCHE

M. LIA Gnahoré José Arthur	Pharmacie Galénique
----------------------------	---------------------

7. IN MEMORIUM

Feu KONE Moussa	Professeur Titulaire
Feu YAPO Abbé Etienne	Professeur Titulaire
Feu COMOË Léopold	Maître de Conférences Agrégé
Feu GUEU Kaman	Maître Assistant
Feu ALLADOUM Nambelbaye	Assistant
Feu COULIBALY Sabali	Assistant
Feu TRAORE Moussa	Assistant
Feu YAPO Achou Pascal	Assistant

IV- ENSEIGNANTS VACATAIRES

1- PROFESSEURS

MM. DIAINE Charles	Biophysique
OYETOLA Samuel	Chimie Minérale

2- MAITRES DE CONFERENCES

MM. KOUAKOU Tanoh Hilaire	Botanique et Cryptogamie
YAO N'Dri Athanase	Pathologie Médicale

3- MAITRE-ASSISTANT

M. KONKON N'Dri Gilles	Botanique, Cryptogamie
------------------------	------------------------

4- NON UNIVERSITAIRES

MM. AHOUSSE Daniel Ferdinand	Secourisme
COULIBALY Gon	Activité sportive
DEMPAH Anoh Joseph	Zoologie
GOUEPO Evariste	Techniques officinales
Mme KEI-BOGUINARD Isabelle	Gestion
MM. KOFFI Alexis	Anglais
KOUA Amian	Hygiène
KOUASSI Ambroise	Management
N'GOZAN Marc	Secourisme
KONAN Kouacou	Diététique
Mme PAYNE Marie	Santé Publique

**COMPOSITION DES LABORATOIRES ET
DEPARTEMENTS DE L'UFR DES SCIENCES
PHARMACEUTIQUES ET
BIOLOGIQUES**

I- BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE

Professeur	LOUKOU Yao Guillaume	Maître de Conférences Agrégé Chef de Département
Professeurs	OUASSA Timothée ZINZENDORF Nanga Yessé	Maître de Conférences Agrégé Maître de Conférences Agrégé
Docteurs	CABLAN Mian N'Dédey Asher KOUASSI AGBESSI Thérèse APETE Sandrine DJATCHI Richmond Anderson DOTIA Tiepordan Agathe KRIZO Gouhonon Anne-Aymonde LATHRO Joseph Serge	Maître-Assistant Maître-Assistant Assistante Assistant Assistante Assistante Assistant

II- BIOCHIMIE, BIOLOGIE MOLECULAIRE, BIOLOGIE DE LA REPRODUCTION ET PATHOLOGIE MEDICALE

Professeur	MONNET Dagui	Professeur Titulaire Chef de Département
Professeurs	HAUHOUOT ép. ATTOUNGBRE M.L. AHIBOH Hugues AKE-EDJEME N'Guessan Angèle	Professeur Titulaire Maître de Conférences Agrégé Maître de Conférences Agrégé
Docteurs	KONAN Konan Jean Louis YAYO Sagou Eric KONE Fatoumata SIBLI-KOFFI Akissi Joëlle YAPO-YAO Carine Mireille	Maître-Assistant Maître-Assistant Assistante Assistante Assistante

III- BIOLOGIE GENERALE, HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE

Professeur	SAWADOGO Duni	Professeur Titulaire Chef de Département
Professeurs	INWOLEY Kokou André DEMBELE Bamory KOUASSI Dinard	Professeur Titulaire Maître de Conférences Agrégé Maître de Conférences Agrégé
Docteurs	ABOLI-AFFI Mihessé Roseline ADJAMBRI Adia Eusebé AYE-YAYO Mireille BAMBA-SANGARE Mahawa ADIKO Aimé Cézaire DONOU-N'DRAMAN Aha Emma KABLAN-KASSI Hermance KABRAN Tano K. Mathieu KOUAME Denis Rodrigue N'GUESSAN-BLAO A. Rebecca S. YAPO Assi Vincent De Paul	Maître-Assistant Maître-Assistant Maître-Assistant Maître-Assistant Assistant Assistante Assistante Assistant Assistant Assistante Assistant

IV- CHIMIE ANALYTIQUE, CHIMIE MINERALE ET GENERALE, TECHNOLOGIE ALIMENTAIRE

Professeur	MALAN Kla Anglade	Professeur Titulaire Chef de Département
Professeurs	AKE Michèle AMIN N'Cho Christophe BONY Nicaise François GBASSI Komenan Gildas	Professeur Titulaire Maître de Conférences Agrégé Maître de Conférences Agrégé Maître de Conférences Agrégé
Docteurs	BROU Amani Germain KPAIBE Sawa André Philippe TRE Eric Serge	Assistant Assistant Assistant

V- CHIMIE ORGANIQUE ET CHIMIE THERAPEUTIQUE

Professeur	OUATTARA Mahama	Maître de Conférences Agrégé Chef de Département
Professeur	YAPI Ange Désiré	Maître de Conférences Agrégé
Docteur	COULIBALY Songuigama	Assistant
	KACOU Alain	Assistant
	KOUAHO Avi Kadio Tanguy	Assistant
	N'GUESSAN Déto Ursul Jean-Paul	Assistant
	SICA-DIAKITE Amelanh	Assistante

VI- PARASITOLOGIE, MYCOLOGIE, BIOLOGIE ANIMALE ET ZOOLOGIE

Professeur	MENAN Eby Ignace H.	Professeur Titulaire Chef de Département
Professeurs	YAVO William	Professeur Titulaire
	DJOHAN Vincent	Maître de Conférences Agrégé
Docteurs	ANGORA Kpongbo Etienne	Maître-Assistant
	BARRO KIKI Pulchérie	Maître-Assistant
	KASSI Kondo Fulgence	Maître-Assistant
	KONATE Abibatou	Maître-Assistant
	VANGA ABO Henriette	Maître-Assistant
	MIEZAN Jean Sébastien	Assistant
	TANOH-BEDIA Valérie	Assistante

**VII- PHARMACIE GALENIQUE, BIOPHARMACIE, COSMETOLOGIE,
GESTION ET LEGISLATION PHARMACEUTIQUE**

Professeur	KOFFI Armand A.	Maître de Conférences Agrégé Chef de Département
Professeurs	AMARI Antoine Serge G. DALLY Laba Ismaël	Maître de Conférences Agrégé Maître de Conférences Agrégé
Docteurs	AKA ANY-GRAH Armelle A.S. N'GUESSAN Alain ALLOUKOU-BOKA P. Mireille LIA Gnahoré José Arthur NGUESSAN Kakwokpo Clémence N'GUESSAN-AMONKOU A. Cynthia TUO Awa	Maître-Assistant Maître-Assistant Assistante Attaché de recherche Assistante Assistante Assistante

**VIII- PHARMACOGNOSIE, BOTANIQUE, BIOLOGIE VEGETALE,
CRYPTOGAMIE,**

Professeur	KONE BAMBA Diénéba	Professeur Titulaire Chef de Département
Docteurs	ADJOUGOUA Attoli Léopold FOFIE N'Guessan Bra Yvette ADIKO N'Dri Marcelline AKOUBET-OUAYOGODE Aminata ODOH Alida Edwige	Maître-Assistant Maître-Assistant Chargée de recherche Assistante Assistante

IX- PHARMACOLOGIE, PHARMACIE CLINIQUE ET THERAPEUTIQUE ET PHYSIOLOGIE HUMAINE

Professeur	ABROGOUA Danho Pascal	Professeur Titulaire Chef de Département par intérim
Professeurs	KOUAKOU SIRANSY N°Doua G. IRIE N°GUESSAN Amenan G.	Professeur Titulaire Maître de Conférences Agrégé
Docteurs	AMICHIA Attoumou M. BROU N°Guessan Aimé DJADJI Ayoman Thierry Lenoir EFFO Kouakou Etienne KAMENAN Boua Alexis KOUAKOU Sylvain Landry	Assistant Assistant Assistant Assistant Assistant Assistant

X- PHYSIQUE, BIOPHYSIQUE, MATHÉMATIQUES, STATISTIQUES ET INFORMATIQUE

Professeur	POLNEAU-VALLEE Sandrine	Maître de Conférences Agrégé Chef de Département par intérim
Docteur	KONAN Jean-Fréjus	Maître-Assistant

XI- SANTÉ PUBLIQUE, HYDROLOGIE ET TOXICOLOGIE

Professeur	KOUADIO Kouakou Luc	Professeur Titulaire Chef de Département
Professeurs	DANO Djédjé Sébastien OGA Agbaya Stéphane KOUAKOU-SACKOU J. SANGARE-TIGORI Béatrice	Professeur Titulaire Maître de Conférences Agrégé Maître de Conférences Agrégé Maître de Conférences Agrégé
Docteurs	CLAON Jean Stéphane MANDA Pierre	Maître-Assistant Maître-Assistant

DIAKITE Aïssata	Maître-Assistant
HOUNSA-ALLA Annita Emeline	Maître-Assistant
KONAN-ATTIA Akissi Régine	Maître-Assistant
OUATTARA N'Gnôh Djénéba	Chargée de Recherche
BEDIAKON-GOKPEYA Mariette	Assistante
KOFFI Kouamé	Assistant
N'GBE Jean Verdier	Assistant

Dédicaces

A mon Seigneur et Sauveur Jésus-Christ

Pour son amour, sa grâce, et sa fidélité.

Que toute la GLOIRE te revienne.

*Je te glorifierai tous les jours de ma vie pour ta bonté car dans mes peines
comme mes malheurs, tu étais là toujours à me reconforter.*

Aide-moi toujours à marcher selon tes préceptes car source de richesse.

*Quand j'observe tout ce parcours, je ne puis dire que c'est par pure grâce car
sans toi je ne suis rien.*

*Je n'ai plus grand-chose à te dire que merci et te dédie cette œuvre qui est ton
œuvre, bénis-la.*

*Ps 23 : 4 « Même si je marche dans un ravin d'ombre et de mort, je ne crains
aucun mal, car tu es avec moi ; ton bâton, ton appui, voilà qui me rassure. »*

Merci à toi Père de continuer à faire de ma vie un témoignage.

En aucun cas, je ne me détournerai de ta face.

A MON CHER PERE KOUAME KOFFI EDOUARD

Que la gloire soit rendue à Dieu de m'avoir donné un père de ton rang, affectueux, généreux, attentionné, toujours soucieux du bien-être de ses enfants. Malgré ton absence par moment du fait de tes activités, tu ne manques sans cesse de nous porter ton estime, ta confiance sans faille. Le chemin fut long, parsemé de nombreuses embuches mais nous y sommes arrivés ensemble grâce à tes nombreuses prières et conseils. J'ai l'honneur aujourd'hui de te montrer toute ma gratitude et mon énorme respect. Merci pour tes nombreux sacrifices moraux, financiers, physiques consentis pour moi ton fils.

Que le Tout-Puissant te maintienne encore longtemps parmi nous dans la santé, la joie, la cohésion, l'amour.

AMEN.

A MA CHERE MERE KOBENAN KOSSIA JULIETTE †

Les mots sont insuffisants pour traduire fidèlement les sentiments que j'éprouve pour toi. Tu as toujours été attentive à tout ce que je faisais, tu m'as écouté et assisté à chaque instant de mon existence. Ton amour pour autrui, ta générosité, ton humilité, ton indulgence, la bonne éducation reçue de toi sont pour moi un modèle et ont fait de toi une véritable mère. Merci pour tes encouragements, tes conseils, ta confiance sans faille, tes sacrifices et pour les valeurs que tu m'as transmises de ton vivant. Je ne pourrai jamais assez te remercier.

Enfin ! Le chemin a été long mais voici un petit point d'aboutissement. Tes efforts ont payé, et le rêve d'hier est devenu aujourd'hui réalité : être pharmacien. Ce travail t'est dédié avec tout mon amour, et je prie que le Dieu Tout-Puissant te garde longtemps auprès de Lui et dans nos cœurs.

AMEN.

A MA FIANCEE KANGA NIAMKE VANESSA

Merci pour ton soutien et ton amour. Tu n'as cessé de croire en moi, même quand j'avais des doutes, tu m'as toujours encouragé et soutenu.

Je te suis reconnaissant pour ton amour et tes conseils.

Puisse Dieu nous donner longue vie pour profiter pleinement de notre amour. Je t'aime énormément.

A MES FRERES ET SŒURS : Marthe, Ange, Ingrid, Valérie, Emmanuel, Daniel, Divine

Merci de l'appui que vous m'avez apporté tout le long de mon existence.

Merci d'avoir prié pour moi et d'avoir été si aimable à mon égard.

Remerciement spécial à ma cadette Ange KOFFI (Comptable) de me soutenir même dans les moments de doute.

Je vous saurais gré d'accepter cette thèse comme le témoignage de mon affection.

Que DIEU vous en récompense au-delà de vos espérances.

AMEN.

A MES TANTES ET ONCLES : Tantie Adèle, Tantie Viviane, Tantie Ama, Tonton Emmanuel, Tonton Brou

Vous êtes comme des parents pour moi, vous m'avez toujours soutenu et apporté votre soutien à chaque étape de mon cursus. Votre sens de générosité, d'amour, de gaieté ne cesse d'illuminer ma vie.

Que le Très Haut vous garde longtemps auprès de nous.

AMEN.

A MES COUSINS ET COUSINES

Merci de m'avoir soutenu tout le temps. Recevez ce travail comme source de motivation.

Un remerciement spécial à mon cousin, Marc KOUAME pour son soutien sans faille.

AUX FAMILLES KOUAME, KOBENAN, KANGA

Merci pour tout votre soutien. J'ai toujours été accueilli avec joie et gaieté chaque fois que nous nous réunissons. Je vous suis reconnaissant vis-à-vis de Dieu pour votre soutien et amour.

Puisse Dieu vous donner santé, bonheur et longévité.

AMEN.

Remerciements

***A mon Cher et Maître, mon Directeur de thèse,
Le Professeur YAVO WILLIAM,***

*La valeur n'attend vraiment point le nombre des années,
Vous avez su vous imposer sur cette UFR tant par votre caractère que par votre
dévouement au travail,
Rigoureux et attentif au moindre détail, vous n'avez fait que confirmer l'estime
que j'avais pour vous.
Je vous suis également reconnaissant d'avoir su me communiquer votre passion
pour la recherche.
Merci d'avoir dirigé ces travaux.
J'espère sincèrement que nous pourrions continuer à travailler ensemble.*

***A tous les Enseignants de l'UFR des Sciences Pharmaceutiques
et Biologiques***

Merci à vous de nous avoir transmis vos connaissances.

Aux Docteurs Konaté, Bédia et M. GNAGNE,

*N'eût été votre apport tant dans la forme que dans le contenu, ce travail qui est
aussi le vôtre n'aurait pas vu le jour, merci pour votre compréhension et votre
disponibilité.
Que DIEU vous le rende au centuple.*

Aux Pharmaciens,

Dr KOUASSI MICHEL (Pharmacie du MARAIS)

Dr DIAWARA KONE FATY (Pharmacie de la BAGOE)

Dr YACE-DJIROSSE DOMINIQUE (Pharmacie AKWABA Aéroport)

Dr KOUROUMA IDRISSE (Pharmacie MALON)

*Merci à vous de m'avoir permis d'apprendre le métier dans vos différentes
Officines de pharmacie. Recevez ma profonde gratitude !*

***Aux Personnels du Centre de Recherche et de Lutte contre le
Paludisme (CRLP) et du Centre de Diagnostic et de Recherche
sur le SIDA et les Maladies Infectieuses (CeDReS)***

Merci pour votre collaboration et votre esprit d'équipe.

***A la 33^{ème} Promotion des ‘Pharmaciens’ de Côte d’Ivoire
(Pharmaciens 7 Etoiles), ma promotion***

*Merci pour tous ces beaux moments passés sur la faculté. C’est maintenant que
la famille aura son vrai sens.*

*Un remerciement spécial à MOHAMED, AHIZI, DOSSO, MOREL et
FRANCISK, pour moi vous n’êtes plus des amis, mais des frères. En dehors de
ce diplôme, vous êtes pour moi le plus beau cadeau que j’ai reçu sur cette
faculté. Merci pour ces bons moments passés ensemble.*

Que Dieu vous bénisse mes frères.

***Au Personnel administratif et technique de l’UFR des Sciences
Pharmaceutiques et Biologiques,***

*Je vous témoigne de ma reconnaissance et de celle de tous les étudiants de cette
UFR pour votre grande contribution à notre formation.*

A tous ceux qui, de près ou de loin, nous ont soutenus,

Recevez nos remerciements.

A nos Maîtres
et Juges

A NOTRE MAITRE ET PRESIDENTE DU JURY

Madame le Professeur SAWADOGO DUNI

- *Professeur Titulaire en Hématologie à l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques à Abidjan,*
- *Sous-Directeur de la commission Examens à l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques à Abidjan,*
- *Docteur en Pharmacie de l'Université d'Abidjan,*
- *Biologiste des Hôpitaux,*
- *Docteur en Biologie Cellulaire option Hématologie de l'Université de Navarre à Pampelune, Espagne,*
- *Chef du Département de Biologie générale (Histologie – Cytologie - Cytogénétique) d'Hématologie et d'Immunologie,*
- *Chef de l'Unité d'Hématologie du Laboratoire Central du CHU de Yopougon,*
- *Responsable de l'enseignement d'Hématologie-Biologie au DES de Biologie Médicale,*
- *Membre de la Commission Nationale Permanente de Biologie Médicale (CNPBM),*
- *Membre de plusieurs sociétés savantes :*
 - *Société Pharmaceutique de Côte d'Ivoire (SOPHACI),*
 - *Société Ivoirienne d'Hématologie, Immunologie, Oncologie Transfusion Sanguine (SIHIO-TS),*
 - *Société Africaine Francophone d'Hématologie (SAFHEMA),*
 - *Société Française d'Hématologie,*
 - *European Hematology Association (EHA),*
 - *American Society of Hematology (ASH),*
 - *American Society of Hematology Oncology (SOHO).*

Cher Maître,

Malgré vos charges, vous avez accepté spontanément de présider notre jury de thèse. Vous êtes d'une simplicité et d'une humilité qui étonnent mais qu'on ne peut qu'admirer. Nous avons eu la chance et le plaisir de profiter de vos enseignements limpides. Nous en sommes à la fois honorés et reconnaissants. Qu'il nous soit permis de vous exprimer ici notre vive gratitude et notre profond respect. Que la grâce de Dieu soit sur vous.

A NOTRE MAITRE ET DIRECTEUR DE THESE

Monsieur le Professeur YAVO WILLIAM

- *Professeur Titulaire de Parasitologie-Mycologie à l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques d'Abidjan au Département de Parasitologie-Mycologie,*
- *Sous-Directeur de l'Institut National de Santé Publique d'Adjamé,*
- *Pharmacien-Biologiste au Laboratoire de Microbiologie de l'INSP d'Adjamé,*
- *Docteur en Pharmacie diplômé de l'Université de Cocody,*
- *Biologiste des Hôpitaux (CES de Parasitologie-Mycologie, de Biochimie clinique et Hématologie),*
- *Responsable de la 1^{ère} année au DES de Biologie Médicale,*
- *Titulaire d'une Maîtrise en Santé Publique,*
- *Chef du Centre de Recherche et de Lutte contre le Paludisme de l'INSP,*
- *Titulaire d'un Doctorat unique de Biologie Humaine et Tropicale option Parasitologie,*
- *Ancien Interne des Hôpitaux de Cote d'Ivoire (Lauréat du Concours d'Internat de 1997),*
- *Membre titulaire de la Société de Pathologie Exotique (France),*
- *Membre de la Société Ouest Africaine de Parasitologie*
- *Membre de la Société Ivoirienne de Parasitologie et Mycologie.*

Cher Maître,

Notre admiration pour vous est d'autant plus grande que vous savez associer vos responsabilités administratives et celles d'enseignant.

Vous avez initié ce travail pour lequel vous n'avez ménagé ni vos efforts, ni votre temps.

Auprès de vous, nous avons toujours trouvé réconfort moral et les conseils pour supporter les coups durs que nous réserve la vie.

Ce travail est aussi le fruit de vos efforts. Trouvez ici l'expression de nos vifs remerciements et profond respect.

A NOTRE MAITRE ET JUGE

Monsieur le Professeur DEMBELE BAMORY

- *Maître de Conférences Agrégé au Département de Biologie Générale, Hématologie et d'Immunologie à l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques d'Abidjan,*
- *Vice-Doyen chargé de la Recherche à l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques d'Abidjan,*
- *Docteur de l'Université de Paris XI, option Immunologie,*
- *Titulaire d'un Diplôme d'Université en Transfusion sanguine de Paris VI,*
- *Pharmacien Biologiste au Centre National de Transfusion Sanguine de Côte d'Ivoire,*
- *Ancien Interne des Hôpitaux,*
- *Membre de la Société Ivoirienne d'Hématologie, Immunologie, Oncologie Transfusion Sanguine (SIHIO-TS),*
- *Membre de la Société Pharmaceutique de Côte d'Ivoire (SOPHACI).*

Cher Maître,

Malgré vos nombreuses obligations, vous nous avez fait l'honneur d'accepter, sans aucune hésitation, de juger cette thèse.

Nous vous avons toujours admiré pour votre ardeur au travail, votre simplicité et votre disponibilité.

Que ce travail soit pour nous l'occasion de vous témoigner notre grande admiration et notre profond respect.

A NOTRE MAITRE ET JUGE

Madame le Docteur KONE FATOUMATA

- *Assistant Chef de Clinique au Département de Biochimie et de Biologie Moléculaire à l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques d'Abidjan,*
- *Docteur en Pharmacie de l'Université d'Abidjan,*
- *Pharmacienne Biologiste au Centre de Diagnostic et de Recherche sur le SIDA et autres maladies infectieuses (CeDReS), CHU de Treichville d'Abidjan,*
- *Titulaire d'un Diplôme Universitaire de Rétrovirologie-Biologie de l'Université Cheikh Anta Diop du Sénégal,*
- *Titulaire d'un Diplôme d'Etudes Approfondies de Biologie Humaine et Tropicale, option Biochimie et Biologie moléculaire de l'Université des Sciences Médicales d'Abidjan,*
- *Titulaire d'un Master II de Biotechnologie-Biosécurité-Bioressources spécialité Biologie Fonctionnelle et Moléculaire, UFR Biosciences de l'Université Felix Houphouët Boigny d'Abidjan,*
- *Titulaire d'un Diplôme d'Etudes Spécialisées en Biologie Clinique de l'Université Felix Houphouët Boigny d'Abidjan,*
- *Ancien Interne des Hôpitaux de Côte d'Ivoire,*
- *Membre de la Cellule de Recherche en Santé de la Reproduction de Côte d'Ivoire (CRESARCI),*
- *Membre de la Société Africaine de Génétique Humaine (SAfGH).*

Cher Maître,

Nous avons été sensibles à vos qualités d'enseignante doublées de vos qualités humaines.

Qu'il nous soit permis de vous exprimer notre reconnaissance pour le grand honneur que vous nous faites de compter parmi nos juges.

SOMMAIRE

	Page
LISTE DES ABREVIATIONS -----	XXXI
LISTE DES UNITES -----	XXXII
LISTE DES FIGURES -----	XXXIII
LISTE DES TABLEAUX -----	XXXIV
INTRODUCTION -----	1
PREMIERE PARTIE : REVUE DE LA LITTERATURE SUR LE	
PALUDISME -----	5
I- DEFINITION ET HISTORIQUE -----	6
II- EPIDEMIOLOGIE -----	9
III- SIGNES CLINIQUES -----	37
IV- DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DU PALUDISME -----	40
V- POLITIQUE NATIONALE DE PRISE EN CHARGE DU PALUDISME -----	50
VI- CHIMIORESISTANCE -----	55
DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE -----	57
CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODES -----	58
I- MATERIEL -----	59
II- METHODES -----	69
CHAPITRE II : RESULTATS -----	83
CHAPITRE III : DISCUSSION -----	109
CONCLUSION -----	119
RECOMMANDATIONS -----	122
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES -----	124
ANNEXES -----	144

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN	: Acide Désoxyribo-Nucléique
ARN	: Acide Ribo-Nucléique
C	: Celsius
DBS	: <i>Dried Blood Spot</i>
EDTA	: Ethylène Diamine Tétra Acétique
ELISA	: <i>Enzym Linked Immuno Sorbent Assay</i>
FS	: Frottis Sanguin
Ha	: Hectare
INSP	: Institut National de Santé Publique
IFI	: ImmunoFluorescence Indirecte
j	: jour
MSLS	: Ministère de la Santé et de la Lutte contre le Sida
MSP 2	: <i>Merozoite Surface Protein-2</i>
OMS	: Organisation Mondiale de la Santé
PCR	: <i>Polymerase Chain Reaction</i>
PNLP	: Programme National de Lutte contre le Paludisme
QBC	: <i>Quantitative Buffy Coat</i>
Se	: Sensibilité
Sp	: Spécificité
SIDA	: Syndrome d'Immunodéficience Acquise
TAE	: Tris Acétate d'EDTA
TDR	: Test de Diagnostic Rapide
Tpz/μl	: Trophozoïtes par microlitre
TPI	: Traitement Préventif Intermittent
UFR	: Unité de Formation et de Recherche
VIH	: Virus de l'Immunodéficience Humaine

LISTE DES UNITES

dl	: décilitre
g	: gramme
kg	: kilogramme
km	: kilomètre
mg	: milligramme
ml	: millilitre
mmol	: millimole
ng	: nanogramme
µl	: microlitre
µmol	: micromole

LISTE DES FIGURES

	Page
Figure 1 : <i>Plasmodium falciparum</i> à différents stades, sur frottis mince et sur goutte épaisse -----	13
Figure 2 : <i>Plasmodium vivax</i> à différents stades, sur frottis mince et sur goutte épaisse -----	16
Figure 3 : <i>Plasmodium ovale</i> à différents stades, sur frottis mince et sur goutte épaisse -----	18
Figure 4 : <i>Plasmodium malariae</i> à différents stades, sur frottis mince et sur goutte épaisse -----	20
Figure 5 : <i>Plasmodium knowlesi</i> à divers stades de développement -----	23
Figure 6 : Anophèle femelle -----	25
Figure 7 : Cycle évolutif du <i>Plasmodium</i> chez l'homme et le moustique -----	30
Figure 8 : Pays où la transmission du paludisme est active, 2015 -----	34
Figure 9 : Observation des trophozoïtes sur une goutte épaisse (A) et un frottis sanguin (B) -----	44
Figure 10 : Différentes étapes de la PCR -----	49
Figure 11 : Les sites d'étude dans leurs districts sanitaires respectifs -----	60
Figure 12 : Exemple de séparation sur gel d'agarose -----	80
Figure 13 : Répartition des écoliers selon le sexe -----	84
Figure 14 : Répartition des écoliers selon la température corporelle -----	88
Figure 15 : Prévalence du paludisme chez les écoliers selon la technique utilisée -----	104

LISTE DES TABLEAUX

	Page
Tableau I : Traitement de relais après administration parentérale d'antipaludiques -----	52
Tableau II : Les sites d'étude et leurs coordonnées géographiques -----	61
Tableau III : Les amorces de la PCR nichée pour la détection des espèces plasmodiales -----	74
Tableau IV : Composition du „master mix“1 pour la 1 ^{ère} amplification -----	76
Tableau V : Composition du „master mix“2 pour la 2 ^{ème} amplification -----	77
Tableau VI : Répartition des écoliers selon l'âge -----	84
Tableau VII : Répartition des écoliers selon la localité -----	85
Tableau VIII : Répartition des écoliers selon la zone d'habitation -----	86
Tableau IX : Répartition des écoliers en fonction de l'utilisation des moyens de prévention -----	87
Tableau X : Répartition des écoliers selon les signes cliniques -----	89
Tableau XI : Infestation plasmodiale à la microscopie -----	90
Tableau XII : Répartition des écoliers en fonction de la densité parasitaire ---	91
Tableau XIII : Indice plasmodique en fonction des paramètres socio-démographiques -----	92
Tableau XIV : Indice spécifique en fonction de l'âge -----	93
Tableau XV : Indice spécifique en fonction de la localité -----	93
Tableau XVI : Indice spécifique en fonction de la zone d'habitation -----	94
Tableau XVII : Indice spécifique en fonction de la saison -----	95
Tableau XVIII : Densité parasitaire en fonction de l'âge -----	95
Tableau XIX : Densité parasitaire en fonction de la localité -----	96
Tableau XX : Densité parasitaire en fonction de la zone d'habitation -----	97
Tableau XXI : Densité parasitaire en fonction de la saison -----	98

Tableau XXII : Répartition des écoliers selon le type de parasitisme -----	98
Tableau XXIII : Infestation plasmodiale à la PCR nichée -----	99
Tableau XXIV : Indice plasmodique en fonction des paramètres socio-demographiques -----	100
Tableau XXV : Indice spécifique en fonction de l'âge -----	101
Tableau XXVI : Indice spécifique en fonction de la localité -----	101
Tableau XXVII : Indice spécifique en fonction de la zone d'habitation -----	102
Tableau XXVIII : Indice spécifique en fonction de la saison -----	103
Tableau XXIX : Répartition des écoliers selon le type de parasitisme -----	103
Tableau XXX : Résultats de la PCR nichée en fonction du résultat de la goutte épaisse -----	105
Tableau XXXI : Comparaison du type de parasitisme selon la technique utilisée -----	106
Tableau XXXII : Comparaison de la répartition des différentes espèces parasitaires selon la technique utilisée -----	107

Introduction

Endémie parasitaire majeure, le paludisme touche particulièrement les régions tropicales défavorisées d'Afrique, d'Amérique, de la Méditerranée orientale, d'Asie du Sud-Est et du Pacifique occidental représentant au total 216 millions de cas de paludisme, soit environ 5 millions de plus qu'en 2015. Les décès ont atteint 445 000 cas. La plupart des cas (90%) ont été enregistrés dans la région Afrique de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), loin devant la région Asie du Sud-Est (7%) et la région Méditerranée orientale (2%) [97].

Dans les régions où la transmission du paludisme est intense, les enfants de moins de 5 ans risquent tout particulièrement de contracter l'infection, de faire la maladie et de mourir. Plus de deux tiers (70%) des décès dus au paludisme surviennent dans cette tranche d'âge. Entre 2010 et 2015, le taux de mortalité chez les enfants de moins de 5 ans a baissé de 29% au niveau mondial [98].

En Côte d'Ivoire, le paludisme représente la première cause de morbidité avec 43 % des motifs de consultation dans les formations sanitaires du pays et un taux d'incidence de 105 pour 1000 dans la population générale contre 295 pour 1000 chez les enfants âgés de moins de 5 ans. Les enfants âgés de moins de 5 ans et les femmes enceintes constituent les populations les plus vulnérables. Sur le plan socioéconomique, le paludisme est responsable de 40% d'absentéisme en milieu scolaire et 42% d'absentéisme en milieu professionnel réduisant ainsi la capacité des ménages à contribuer à la productivité. Le paludisme entretient également la pauvreté au sein des familles qui chaque année lui consacrent 25% de leurs revenus pour le traitement et la prévention [34].

Différentes méthodes de diagnostic du paludisme sont actuellement disponibles. La microscopie (frottis sanguin et goutte épaisse) demeure la méthode de référence [44]. Elle permet de diagnostiquer la maladie (identification de l'espèce plasmodiale en cause et évaluation de la parasitémie), ce qui conditionne à la fois le pronostic et la conduite thérapeutique.

Par contre, les techniques de microscopie ne parviennent pas à détecter les infestations mixtes surtout quand une des espèces de *Plasmodium* est présente à des niveaux faibles. La fiabilité de l'examen microscopique exige une expérience dont ne disposent pas tous les biologistes.

Les tests immunologiques récents de diagnostic rapide, détectant les antigènes plasmodiaux sont simples, ne nécessitent pas de personnel qualifié par rapport à la microscopie et réduisent l'utilisation inappropriée des médicaments antipaludiques [5]. Leur sensibilité varie selon les fabricants et les études mais certains ont une sensibilité et une spécificité que l'OMS juge acceptables (> 95%) pour les densités parasitaires de 200 parasites/ μ l [90].

Ces dernières années, la détection moléculaire de *Plasmodium*, avec une sensibilité plus élevée, gagne en importance pour une détection précise.

Des méthodes telles que la PCR (*Polymerase Chain Reaction*) nichée sont capables de détecter 0,3 parasites/ μ l de sang [43 ; 57]. L'approche par PCR nichée identifie l'ADN de *Plasmodium* spécifique de l'espèce en amplifiant la région de l'ARN ribosomique 18 S du parasite [63].

Son indication se justifie principalement en cas de difficulté de la microscopie à cause de pauciparasitémies ou pour l'identification de l'espèce plasmodiale en cause et l'étude des gènes de résistance aux traitements antipaludiques.

En ce qui concerne les pauciparasitémies, il a récemment été estimé que les infestations sub-microscopiques mais détectables par PCR, représentent 20% des infestations palustres dans les zones à transmission élevée et jusqu'à 70% dans les zones hypoendémiques, où elles contribuent à hauteur de 40% de la transmission aux moustiques [86].

En effet, lorsque les densités parasitaires sont faibles ou lorsqu'il y a des infestations mixtes, les résultats de la microscopie sont par moment biaisés ou sujets à des imprécisions. La détection des parasites du paludisme par la PCR

nichée peut alors être une technique de diagnostic adéquate pour contourner les limites de la microscopie.

Il nous a paru donc important d'**évaluer les performances de la PCR nichée dans le diagnostic de l'infestation plasmodiale chez les enfants d'âge scolaire à Grand-Bassam, Abengourou et San Pedro de 2015 à 2016.**

Les objectifs spécifiques sont de :

- décrire les caractéristiques socio-démographiques et cliniques de la population d'étude ;
- estimer la prévalence de l'infestation plasmodiale en fonction des paramètres socio-démographiques et des moyens de prévention ;
- comparer les résultats des indices paludométriques à la microscopie et à la PCR.

Notre travail s'articulera autour de deux grandes parties : la première portera sur la revue de la littérature sur le paludisme, la seconde présentera le matériel et les méthodes utilisés au cours de l'étude, les résultats et la discussion qui en découlent ainsi que les recommandations formulées et nous terminerons par une conclusion.

Première partie :

REVUE DE LA LITTERATURE SUR LE PALUDISME

I- DEFINITION ET HISTORIQUE

I-1- DEFINITION

Endémie parasitaire, le paludisme (du latin palus = marais) ou malaria (de l'italien *mal'aria* = mauvais air) est une érythrocytopathie fébrile due à un hématozoaire du genre *Plasmodium*. Il est transmis à l'Homme par la piqûre de moustiques femelles infestés du genre *Anopheles* [7].

I-2- HISTORIQUE

Le paludisme est une maladie très ancienne, aussi l'Homme préhistorique a dû en souffrir. La maladie est probablement originaire d'Afrique et a suivi les migrations humaines vers les côtes de la Méditerranée jusqu'en Inde et en Asie du Sud-Est. Dans le passé, le paludisme était fréquent dans les marais Pontins, autour de Rome, et son nom a été tiré de l'italien (*mal'aria* ou "mauvais air").

Il était aussi connu sous le nom de fièvre romaine [55].

Toutefois, l'histoire de la maladie peut être envisagée sur plusieurs plans : clinique, biologique et thérapeutique.

I-2-1- Au plan clinique

Les symptômes de fièvre intermittente ont été décrits par Hippocrate au VI^{ème} siècle avant Jésus-Christ. Il lie ces fièvres à certaines conditions climatiques et

environnementales, et les divise en trois types, selon leur périodicité : quotidienne, tierce ou quarte [39].

Au II^{ème} siècle avant Jésus-Christ, les Grecs et les Romains avaient déjà établi un lien entre les fièvres intermittentes et la proximité des marécages [107].

AVICENNE et **AVENZOAR** décrivent la splénomégalie palustre et envisagent, après les Romains, le rôle du moustique dans la transmission palustre [53].

I-2-2- Au plan biologique

En 1878, l'hématozoaire du paludisme fut découvert par **LAVERAN A.**, médecin militaire français, à Bône (maintenant devenue ANNABA), en Algérie. Cette découverte fut confirmée en Constantine (Algérie) en 1880 par l'observation d'une exflagellation. Il démontre la nature parasitaire de l'affection en détectant l'agent pathogène dans le sang des patients atteints de fièvre intermittente : le *Plasmodium*.

De 1885 à 1897, en Italie, les travaux de **MARCHIAFAVA**, **CELLI**, **GOLGI**, **GRASSI**, **WELCH** et **FATELLI** confirment l'origine parasitaire de la maladie, et ils découvrent les trois premières espèces :

- *Plasmodium vivax* ;
- *Plasmodium falciparum* et
- *Plasmodium malariae*.

En 1897, **ROSS**, Médecin de l'armée des Indes, prouve le rôle de vecteur des moustiques dans la transmission du paludisme.

En 1898, **GRASSI** confirme la thèse de Ross et démontre que l'anophèle femelle est le vecteur de la maladie.

En 1922, **STEPHENS** décrit une quatrième espèce plasmodiale : *Plasmodium ovale*.

En 1930, **RAFFAELE** décrit la schizogonie exoérythrocytaire [24 ; 50 ; 51].

En 1948, **SHORTT** et **GARNHAM** décrivent l'étape intra-hépatique du développement du parasite dans l'organisme humain [52].

Une autre espèce plasmodiale, *Plasmodium knowlesi*, a été découverte en 1930 chez un macaque par **KNOWLESS** et **DAS GUPTA** à Calcuta en Inde.

Après plusieurs observations d'infestation naturelle de l'Homme dans certains pays d'Asie du Sud-Est, *P. knowlesi* sera admis comme 5^{ème} espèce plasmodiale humaine en 2004 [67 ; 114].

En 1976, **TRAGER** et **JANSEN** réussissent la culture continue de *Plasmodium falciparum*.

En 2011, il a été rapporté que *Plasmodium ovale* était en fait constitué de 2 espèces distinctes et sympatriques : *Plasmodium ovale curtisi* et *Plasmodium ovale wallikeri* [85].

En 2014, un premier cas de transmission humaine par *Plasmodium cynomolgi*, espèce plasmodiale d'origine simienne a été signalé [116].

I-2-3- Au plan thérapeutique

En 1630, **DON FRANCISCO LOPEZ** apprend des indiens du Pérou (Amérique du Sud), les vertus de l'écorce du quinquina « l'arbre à fièvre » [51].

En 1820, les Pharmaciens **PIERRE JOSEPH PELLETIER** et **BIENAIME CAVENTOU** isolent et identifient chimiquement l'alkaloïde actif du quinquina : la quinine [50].

En 1891, **ERLICH** et **GUTTMAN** observent les propriétés antiplasmodiales du Bleu de Méthylène [50].

En 1926, le premier antipaludique de synthèse est obtenu : la Primaquine. Il s'agit d'une 8-Amino-quinoléine.

ANDERSA synthétisa, en 1934, des dérivés 4-Amino-quinoléines dont la sentoquine et la chloroquine.

En 1934, la synthèse de l'Amodiaquine constitue, avec la chloroquine, la base de la thérapeutique antipalustre.

CURD et al. [24] mettent en évidence l'activité antimalarique de certains biguanides ; la première molécule synthétisée est le Proguanil.

En 1961, on note l'apparition de résistance des souches de *P. falciparum* à la chloroquine.

Dès 1963, les travaux de recherche s'orientent vers la mise au point de molécules actives sur les souches de *Plasmodium* chloroquinorésistantes.

En 1971, ces travaux aboutissent à la synthèse de la Méfloquine et de l'Halofantrine.

En 1972, les chercheurs de l'Institut de Shanghai, sous la direction de la Pharmacologue **YOUYOU TU**, mettent en évidence l'activité antiplasmodiale d'un extrait d'*Artemisia annua* L., l'artémisinine ou *qinghaosou* [15].

II- EPIDEMIOLOGIE

II-1- AGENTS PATHOGENES

Il existe cinq espèces du genre *Plasmodium* parasites de l'Homme. Il s'agit de protozoaires intracellulaires de 2 à 5 micromètres dont la multiplication est asexuée ou schizogonique chez l'Homme et sexuée ou sporogonique chez le moustique vecteur, l'anophèle femelle [15].

II-1-1- Taxonomie

La position systématique du genre *Plasmodium* est la suivante [51] :

- Règne ----- PROTISTES
- Sous-règne ----- PROTOZOEAE
- Phylum ----- APICOMPLEXA

- Classe ----- SPOROZOEA
- Sous-classe ----- COCCIDIA
- Ordre ----- EUCCOCCIDIIDA
- Sous-ordre ----- HAEMOSPORINA
- Famille ----- PLASMODIIDAE
- Genre ----- PLASMODIUM.

Cinq espèces sont pathogènes chez l'Homme [19] :

- *Plasmodium falciparum* ;
- *Plasmodium vivax* ;
- *Plasmodium ovale* (dont deux sous-espèces *P. ovale curtisi* et *P. ovale wallikeri*) ;
- *Plasmodium malariae* ;
- *Plasmodium knowlesi*.

Récemment, il a été décrit un cas de transmission humaine par *P. cynomolgi* [116].

II-1-2- Spécificités

- *Plasmodium falciparum*

C'est l'espèce la plus répandue et la plus mortelle dans le monde. Elle est à l'origine d'une fièvre tierce maligne. C'est l'espèce la plus répandue autour de l'Equateur.

Son cycle exo-érythrocytaire dure 7 à 15 jours. La schizogonie endo-érythrocytaire dure habituellement 48 heures et s'effectue dans les capillaires viscéraux.

Son évolution se fait sans rechute à distance, et sa longévité est de 2 mois en moyenne (mais peut atteindre 6 mois ou même 1 an) [53]. Ses critères diagnostiques (**figure 1**) sont les suivants :

- il parasite toutes les hématies quels que soient l'âge, la taille et la forme ;
- les hématies parasitées sont de taille normale ;
- les trophozoïtes en forme d'anneau apparaissent fins et graciles. On dit qu'ils ont un aspect en bague à chaton. Il peut en avoir deux ou trois à l'intérieur d'une hématie : c'est le polyparasitisme ;
- certains trophozoïtes peuvent avoir deux noyaux. On dit qu'ils sont polynuclées ;
- les schizontes et les rosaces ne sont, en général, pas visibles dans le sang périphérique ;
- les schizontes possèdent 8 à 24 noyaux ;
- les gamétocytes sont en forme de banane ou de faucille ; d'où le nom de cette espèce plasmodiale ;
- des taches de Maurer peuvent être présentes dans les hématies parasitées [27] ;
- le frottis sanguin est monotone.

Diversité génétique de *Plasmodium falciparum*

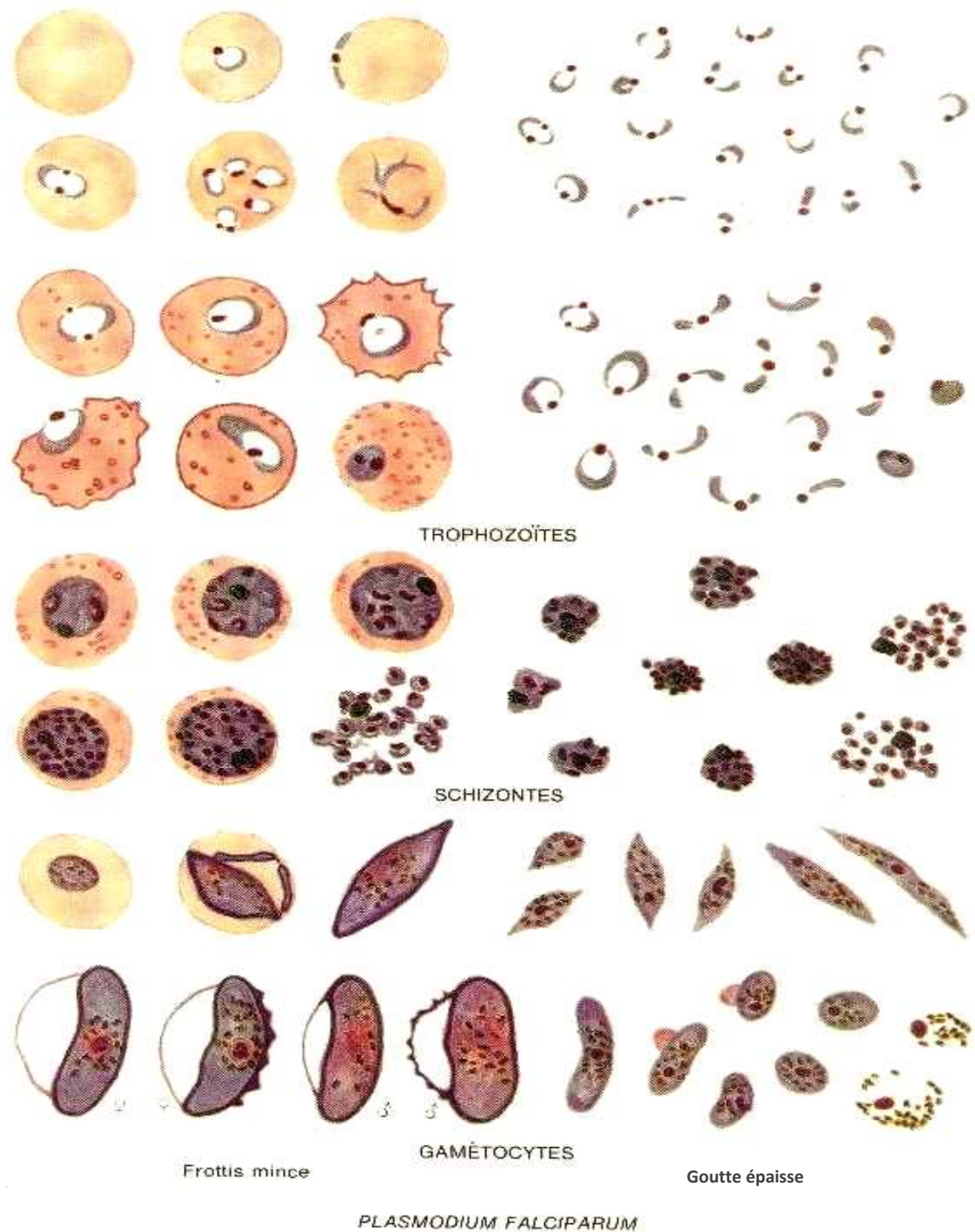
P. falciparum est un sporozoaire dont l'expansion mondiale aurait débutée il y a plusieurs dizaines de milliers d'années, à partir d'une petite population d'Afrique. Le génome nucléaire du clone 3D7 de *Plasmodium falciparum* (génome de référence) est composé de 22,8 méga bases (Mb) réparties sur quatorze chromosomes dont la taille varie de 0,643 à 5,29 Mb [104].

Ses 14 chromosomes possèdent 5300 gènes, dont une large proportion est dévolue à l'évasion immune et aux interactions hôte-parasite. Les parasites

exhibent un important polymorphisme génétique qui est le fruit des mutations génomiques générant de nouveaux allèles, mais surtout de nombreuses recombinaisons (crossing-over). Ces recombinaisons se produisent au sein du moustique lors de la courte phase diploïde issue de la fécondation. Lorsqu'un moustique ingère des gamétocytes et que ceux-ci sont issus de parasites génétiquement différents, des recombinaisons méiotiques se produisent et génèrent ainsi un brassage des gènes à l'origine de nouvelles combinaisons alléliques et de nouveaux haplotypes. Le polymorphisme génétique est donc plus important dans les régions où la transmission du paludisme est intense, car le parasitisme humain est fréquemment polyclonal (multiparasitisme) et les recombinaisons méiotiques chez l'anophèle femelle après un repas sanguin surviennent alors fréquemment entre des parasites génétiquement différents. Il apparaît au contraire limité dans les zones de faible transmission.

De nouvelles souches de *P. falciparum* génétiquement différentes peuvent en outre être importées par des personnes infectées voyageant depuis les régions voisines. Les flux de populations humaines et l'isolement géographique sont donc également des facteurs accroissant la diversité génétique au sein d'une population parasitaire [104].

A l'inverse, la diversité génétique des populations de *P. falciparum* peut être diminuée par divers types de pression de sélection, immune (chez l'Homme comme chez le moustique) ou médicamenteuse, qui sélectionnent alors les parasites hébergeant des mutations conférant un degré suffisant de résistance.



- *Plasmodium vivax*

Cette espèce est moins répandue que *P. falciparum*. Elle est à l'origine d'une fièvre tierce bénigne et se rencontre du 37^{ème} degré de latitude Nord au 25^{ème} degré de latitude Sud. Elle est néanmoins débilitante et parfois mortelle.

Son cycle exo-érythrocytaire dure 15 jours en moyenne et peut atteindre 9 mois. Ce parasite évolue avec des rechutes à distance dues à la présence des hypnozoïtes hépatiques. La schizogonie endo-érythrocytaire dure 48 heures. La longévité de *P. vivax* est de 3 à 4 ans.

Il parasite surtout les hématies jeunes (réticulocytes). De nombreuses observations épidémiologiques indiquaient que le paludisme à *Plasmodium vivax* ne touchait pas les populations de groupe sanguin Duffy négatives vivant en Afrique de l'Ouest, en Afrique Centrale ou en Amérique du Sud.

Plasmodium vivax était précédemment inféodé uniquement aux sujets Duffy positifs : l'antigène Duffy sur la paroi de l'érythrocyte était nécessaire à la pénétration du mérozoïte de *P. vivax*. Il était considéré comme exceptionnel chez les sujets mélanodermes [27 ; 51]. Mais récemment *P. vivax* a émergé chez les individus Duffy négatifs dans certains pays africains allant de Madagascar à la Mauritanie et également en Amérique du Sud. Ainsi, le groupe Duffy ne pourrait conférer une protection absolue contre *P. vivax* [75 ; 129].

Ses critères diagnostiques (**figure 2**) sont les suivants :

- les hématies parasitées sont habituellement hypertrophiées ;
- les granulations de Schüffner sont fréquemment observées dans les hématies ;
- les trophozoïtes matures, de forme ovale, ont tendance à devenir plus larges et grossiers. Ils ont une forme amiboïde et un cytoplasme abondant ;

- les formes en développement (schizontes, rosaces) sont fréquemment rencontrées ;
- les schizontes ont 16 à 24 noyaux ;
- les gamétocytes sont plus ou moins ovoïdes et remplissent le globule rouge [27] ;
- le frottis sanguin est panaché avec la présence simultanée dans le sang périphérique de toutes les formes de division du parasite.



Figure 2 : *Plasmodium vivax* à différents stades, sur frottis mince et sur goutte épaisse [95]

- *Plasmodium ovale*

Il est assez proche de *P. vivax*. Il est responsable d'une fièvre tierce bénigne. Sa longévité est grande (environ 5 ans). Son cycle endo-érythrocytaire dure 48 heures. Il évolue également avec des rechutes à distance dues aux hypnozoïtes hépatiques. Il parasite les hématies jeunes. Il est localisé surtout en Afrique, notamment en Afrique occidentale et centrale [51].

Ses critères diagnostiques (**figure 3**) sont les suivants :

- les hématies parasitées sont hypertrophiées de forme ovale avec des bords frangés ; elles contiennent précocement des granulations de James ;
- les trophozoïtes, proches de ceux de *P. vivax*, sont larges et grossiers avec une pigmentation prononcée, lorsqu'ils sont jeunes ;
- le schizonte est ovale, situé au centre de l'hématie et possède 8 à 12 noyaux en moyenne;
- le gamétocyte est ovoïde avec un gros noyau et de nombreuses granulations de Schüffner [27] ;
- le frottis sanguin est panaché avec la présence simultanée dans le sang périphérique de toutes les formes de division du parasite.

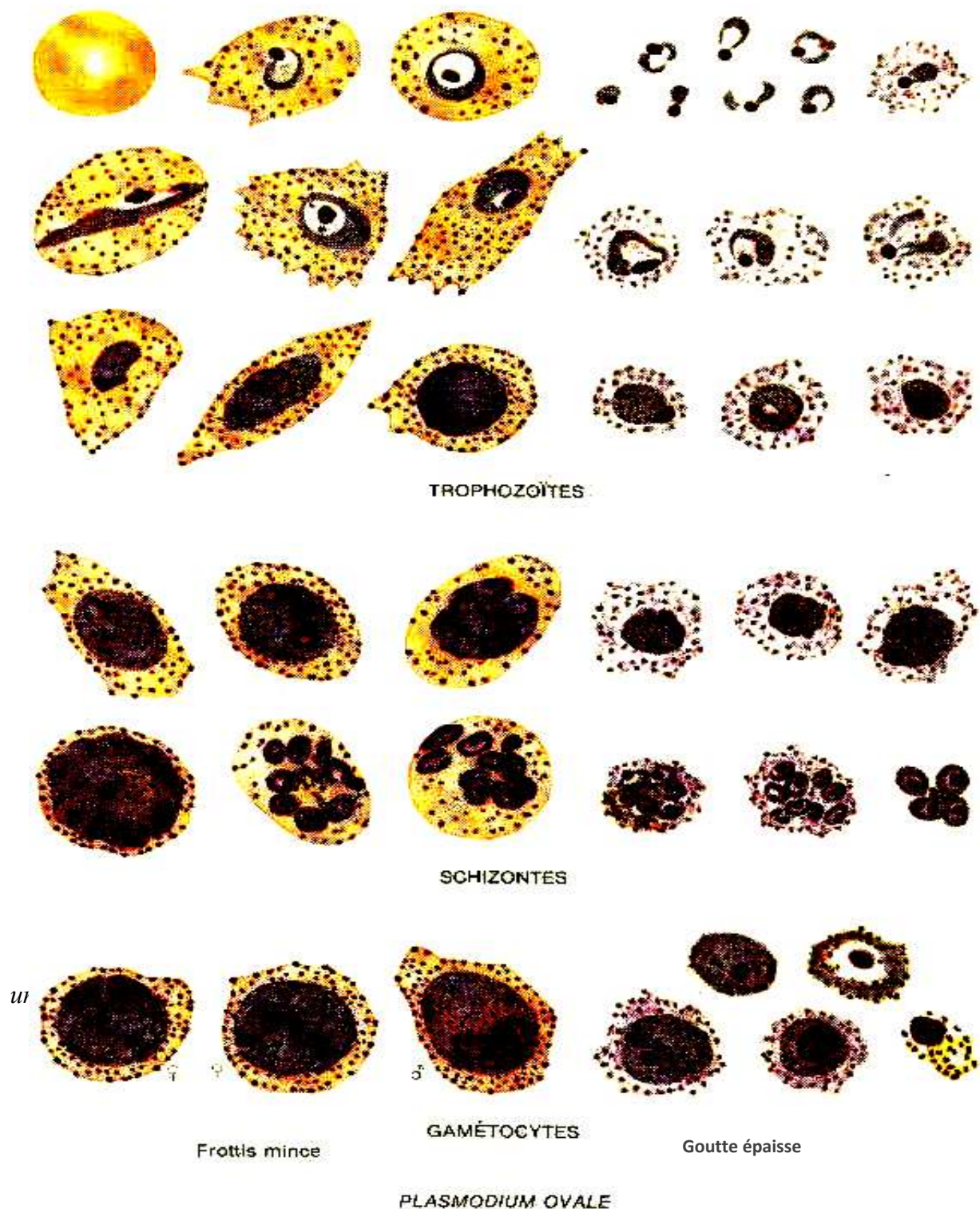


Figure 3 : *Plasmodium ovale* à différents stades, sur frottis mince et sur goutte épaisse [95]

- *Plasmodium malariae*

Il est responsable d'une fièvre quarte bénigne. La schizogonie endo-érythrocytaire dure 72 heures. On peut observer des recrudescences parasitémiqes après 3 ans voire 20 ans en dehors de toute nouvelle infestation. Ces recrudescences seraient dues à une réactivation des formes érythrocytaires latentes ou qui s'exprimeraient à l'occasion d'une agression telle une splénectomie [51]. Cette espèce est rencontrée dans les zones tempérées et tropicales.

Sa complication principale est une néphropathie quartane pouvant entraîner une insuffisance rénale grave. Ses critères diagnostiques (**figure 4**) sont les suivants :

- les hématies parasitées sont, en général, de vieilles hématies ; elles sont de petite taille et de forme normale ;
- le trophozoïte est annulaire et peut paraître ovale avec un pigment malarique précoce ;
- les formes en bande longitudinale caractérisent cette espèce, et on parle de trophozoïte en bande équatoriale ;
- le schizonte mature peut avoir une forme typique en marguerite grâce à ses noyaux au nombre de 6 à 8 disposés à la périphérie avec un pigment malarique au centre ;
- les gamétocytes sont petits, ronds, parsemés de pigment malarique et ne remplissent pas l'hématie [27] ;
- le frottis sanguin est panaché avec la présence simultanée dans le sang périphérique de toutes les formes de division du parasite.

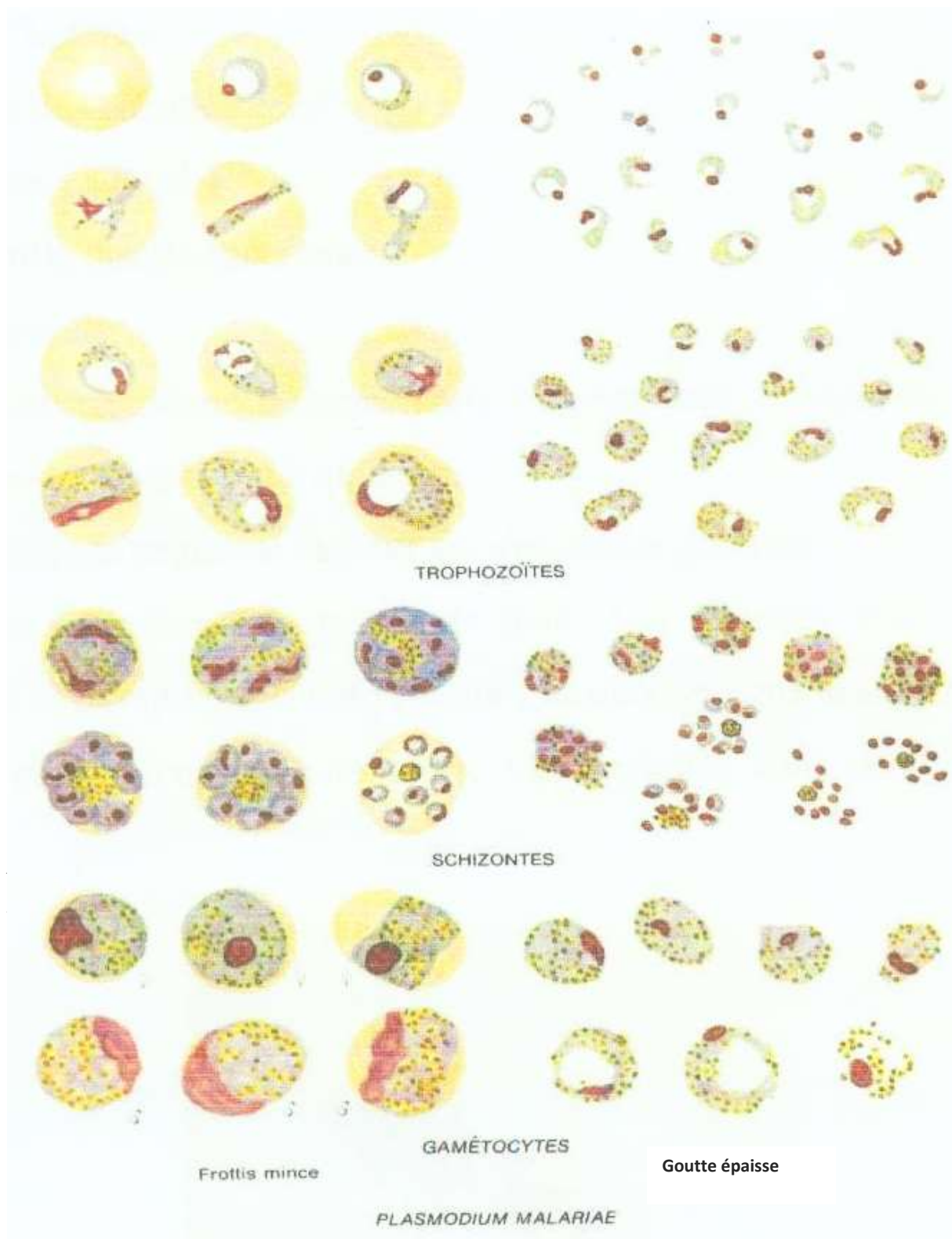


Figure 4 : *Plasmodium malariae* à différents stades, sur frottis mince et sur goutte épaisse [95]

- *Plasmodium knowlesi*

Il est localisé en Asie du Sud-Est et provoque une fièvre quotidienne. Il n'y a pas ici de récurrences, ni d'hypnozoïtes dans le foie et donc absence de rechutes à distance. Des formes létales sont observées [71 ; 114]. Les sujets Duffy Négatifs sont protégés vis-à-vis de *P. knowlesi* car leurs érythrocytes sont dépourvus de DARC (*Duffy Antigen Receptor of Chemokine*), récepteurs naturels à des agents du paludisme : *P. vivax* et *P. knowlesi*.

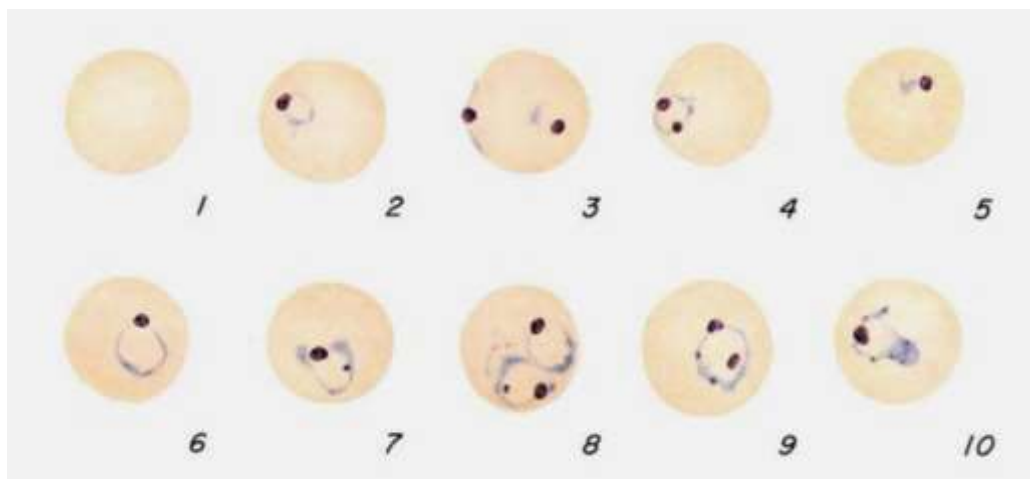
Les critères diagnostiques (**figure 5**) sont :

- les hématies parasitées sont de forme normale, arrondie, pas élargie, pas déformée ;
- tous les stades parasitaires sont rencontrés dans le sang périphérique ;
- le polyparasitisme est possible (2 ou 3 parasites dans l'érythrocyte) ;
- le trophozoïte jeune en forme d'anneau possède un cytoplasme dense avec 1 ou 2 voire 3 noyaux à l'intérieur ;
- le trophozoïte âgé possède un cytoplasme dense, légèrement amiboïde et irrégulier, forme en bande avec un pigment brun-foncé ;
- le schizonte mûr occupe tout l'érythrocyte avec 10 à 16 noyaux dispersés ou regroupés en grappes de raisin et des pigments dispersés ou réunis en une seule masse ;
- le gamétocyte arrondi et compact, occupe toute l'hématie avec des pigments dispersés ou réunis en une seule masse [114].

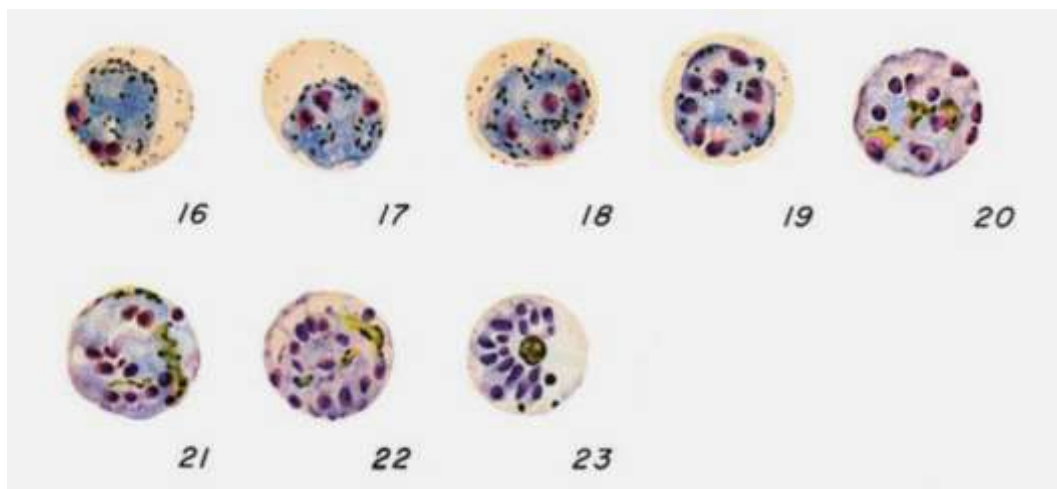
En pratique, le diagnostic microscopique conventionnel de *P. knowlesi* reste très limité. Les jeunes trophozoïtes sont morphologiquement similaires à ceux de *P. falciparum*. Tous les autres stades de développement sont semblables à ceux de *P. malariae* ; ce qui a occasionné des erreurs diagnostiques notamment dans les

régions endémiques où coexistent *P. knowlesi* et les autres espèces [10 ; 71 ; 114].

Au microscope, *P. knowlesi* est facilement confondu au conventionnel *P. malariae*, ce qui est gravissime car, contrairement à ce dernier, il peut être léthal pour l'Homme [10]. Mais, heureusement il est sensible aux simples médicaments usuels utilisés dans le paludisme à *P. malariae*, notamment la chloroquine. Actuellement, la méthode de choix permettant de réaliser un diagnostic sûr de *P. knowlesi* est la PCR [67].



Trophozoïtes de *P. knowlesi*



Schizontes de *P. knowlesi*



Gamétocytes de *P. knowlesi*

Figure 5 : *Plasmodium knowlesi* à divers stades de développement [71]

II-2- AGENTS VECTEURS

Il existe plus de 300 espèces d'anophèles connues dont 70 sont vectrices de *Plasmodium* humain. Ce sont des moustiques de 5 à 10 mm dont la classification est la suivante [78] :

- Règne ----- ANIMAL
- Phylum ----- ARTHROPODES
- Sous-Phylum ----- ANTENNATES
- Classe ----- INSECTES
- Sous- classe ----- PTERYGOTES
- Ordre ----- DIPTERES
- Sous-ordre ----- NEMATOCERES
- Famille ----- CULICIDAE
- Sous-famille ----- ANOPHELINES
- Genre ----- ANOPHELES.

En Afrique subsaharienne, les principaux vecteurs sont *Anopheles funestus*, *Anopheles gambiae* et *Anopheles arabiensis*. En Côte d'Ivoire, le principal vecteur est *A. gambiae*. Les mâles se nourrissent de nectar de fleurs tandis que les femelles sont hématophages (**figure 6**). Elles puisent les protéines sanguines indispensables à la maturation de leurs œufs en piquant l'Homme et les autres mammifères [55].



6 :

Figure

Anophèle femelle [92]

Ces vecteurs concentrent leurs activités entre 20 heures et 3 heures du matin. Seuls les anophèles femelles peuvent transmettre le paludisme.

La reproduction des anophèles nécessite de l'eau, du sang et de la chaleur. Les gîtes de ponte varient avec les espèces d'anophèles. Ceux d'*A. gambiae* et *A. arabiensis* peuvent être des collections d'eau peu profondes et ensoleillées (empreintes de pas, flaques, petites mares, marécages aménagés, rizières, flaques résiduelles des cours d'eau en décrue). Leurs larves se rencontrent aussi dans d'autres types de gîtes, mais de manière inhabituelle. Elles ne se rencontrent pas en principe dans les eaux fortement ombragées, à courant rapide, alcalines ou polluées. Les gîtes larvaires d'*A. funestus* sont typiquement des gîtes d'eaux profondes, claires, permanentes ou sub-permanentes, ombragées par la végétation (herbes, végétation flottante). Ce sont des mares, des marécages, des bordures de lacs et de cours d'eau [62].

Les œufs sont déposés à la surface de l'eau et l'éclosion a lieu, en général, au bout de 36 à 48 heures. Les larves vivent dans les eaux calmes. Le stade nymphal dure souvent moins de 48 heures. Les stades aquatiques œufs, larves, nymphes précèdent l'émergence des adultes ou imagos [28].

II-3- cycle évolutif des PLASMODIES

Le cycle de développement de tous les *Plasmodium* humains est essentiellement le même. Il comprend une phase asexuée (ou schizogonique) qui se déroule chez l'Homme et une phase sexuée (ou sporogonique) qui se développe chez l'anophèle femelle [131]. La phase asexuée comprend une phase exo-érythrocytaire ou hépatique et une phase érythrocytaire ou endo-érythrocytaire (figure 7).

II-3-1- Cycle asexué ou schizogonique

Le cycle du parasite fait suite à l'inoculation par l'anophèle femelle de formes infestantes (sporozoïtes) lors de son repas sanguin [25].

- Phase exo-érythrocytaire

Cette phase a lieu dans le foie et est asymptomatique. Elle débute après la piqûre de l'anophèle femelle infestée, qui inocule à l'Homme sain des sporozoïtes fusiformes au cours de son repas sanguin. Les sporozoïtes inoculés ne restent dans la circulation sanguine qu'une demi-heure au plus. Certains sont détruits par les phagocytes mais les autres gagnent le foie, pénètrent dans les hépatocytes et se transforment en cryptozoïtes. Ces cryptozoïtes se multiplient par division nucléaire pour former des schizontes pré-érythrocytaires (intra-hépatiques) qui se développent en quelques jours (*P. knowlesi* : 4 jours ; *P. falciparum* : 5-7 jours ; *P. vivax* : 6-8 jours ; *P. ovale* : 9 jours ; *P. malariae* : 14-16 jours).

Après plusieurs divisions nucléaires successives, chaque noyau s'individualise en s'entourant d'un fragment de cytoplasme pour donner un mérozoïte. Le schizonte mûr éclate et libère des milliers de mérozoïtes dans le sang. La période pré-patente est la période entre l'infestation et la détection d'une parasitémie sanguine. Elle dure au minimum moins de 5 jours pour *P. knowlesi*, 9 à 10 jours pour *P. falciparum*, 11 à 13 jours pour *P. vivax*, 10 à 14 jours pour *P. ovale* et 15 à 16 jours pour *P. malariae*. Certains sporozoïtes n'évoluent pas directement en schizonte pré-érythrocytaire ; ils entrent dans une phase dormante (hypnozoïte) qui peut durer plusieurs mois. Ils sont responsables des rechutes tardives. *P. falciparum*, *P. malariae* et *P. knowlesi* ne forment pas d'hypnozoïtes [25 ; 71 ; 131].

- Phase endo-érythrocytaire

Les mérozoïtes pénètrent par effraction dans les hématies (par invagination de la membrane cellulaire en formant une vacuole parasitophore) et se transforment en trophozoïtes. Les trophozoïtes se nourrissent d'hémoglobine et produisent un pigment malarique, l'hémozoïne qui est une substance pyrogène [25 ; 131]. Après une période de croissance, le trophozoïte âgé subit plusieurs divisions nucléaires et se transforme en schizonte endo-érythrocytaire qui évolue pour donner un schizonte mature ou corps en rosace. C'est la schizogonie endo-érythrocytaire. Au stade de schizonte mature, les érythrocytes éclatent et libèrent les mérozoïtes, avec l'hémozoïne. L'éclatement des rosaces est synchrone à l'apparition de la fièvre et des autres signes cliniques du paludisme. Cette schizogonie érythrocytaire dure 24 heures pour *P. knowlesi*, 48 heures pour *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale* et 72 heures pour *P. malariae*. Les mérozoïtes libérés vont parasiter d'autres hématies saines entraînant une augmentation progressive de la densité parasitaire dans le sang. Après plusieurs cycles schizogoniques, certains mérozoïtes vont se transformer en éléments sexués ou gamétocytes (mâle et femelle). Ces derniers ne vont continuer leur développement que s'ils sont ingérés par un anophèle femelle. Le délai entre l'infestation et l'apparition des signes cliniques correspond à la période d'incubation. Elle dure moins de 6 jours pour *P. knowlesi*, 12 jours pour *P. falciparum*, 15 jours à 6-12 mois pour *P. vivax*, 17 jours ou plus pour *P. ovale* et 28 jours ou plus pour *P. malariae* [25 ; 71 ; 131].

II-3-2- Cycle sexué ou sporogonique

L'anophèle femelle ingère des trophozoïtes, des schizontes, des rosaces et des gamétocytes lors de son repas sanguin chez un paludéen. Seuls les gamétocytes (forme sexuée du *Plasmodium*) survivent à la digestion dans l'estomac du moustique. Ils se transforment ensuite en gamètes mâles et en gamètes femelles dont la fusion donne naissance à un œuf mobile appelé ookinète. Celui-ci traverse la paroi stomacale de l'anophèle et s'enkyste au niveau de sa face externe formant l'oocyste, dans lequel s'individualisent les sporozoïtes. L'oocyste mature ou sporocyste éclate et libère les sporozoïtes qui migrent préférentiellement dans les glandes salivaires de l'anophèle femelle. Lors d'un repas sanguin ultérieur, l'anophèle inocule les sporozoïtes à l'individu et le cycle recommence [25 ; 131].

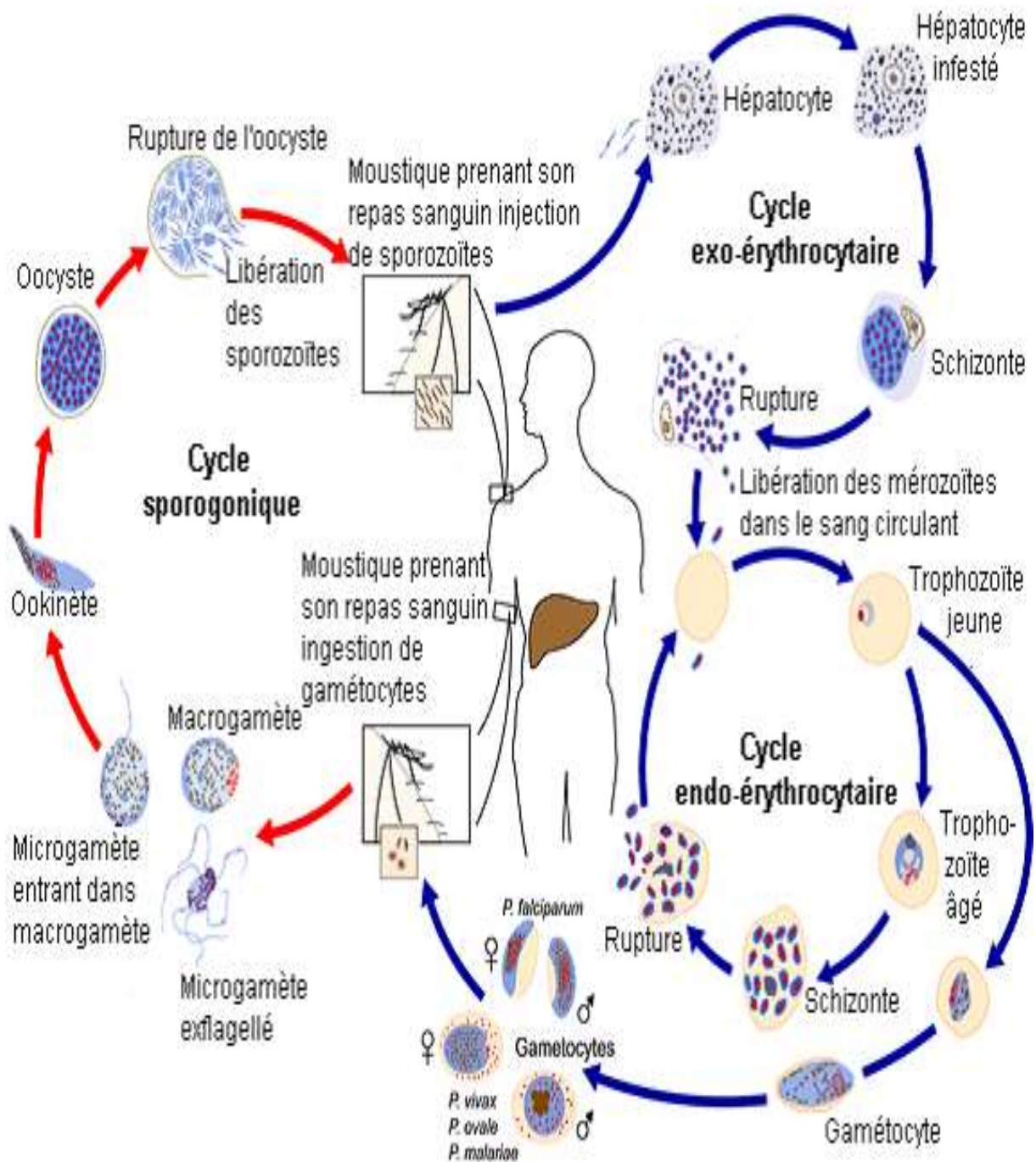


Figure 7 : Cycle évolutif du *Plasmodium* [25]

II-4- MODES DE TRANSMISSION

En général, la contamination de l'Homme se fait par la piqûre de l'anophèle femelle infesté. Cependant, il existe d'autres modes de transmission du paludisme.

On distingue ainsi :

- le paludisme transfusionnel : bien connu, ce type de paludisme devrait justifier la chimioprévention antipalustre presque systématique, administrée à l'occasion de toute transfusion sanguine ;
- le paludisme congénital ou transplacentaire : il s'agit d'une infestation parasitaire transmise de la mère au fœtus, *in utero*, par voie transplacentaire [21].

II-5- REPARTITION GEOGRAPHIQUE

Le paludisme sévit actuellement dans la ceinture de la pauvreté et touche environ 95 pays dans le monde (**figure 8**) [93]. En 1950, il a été éradiqué d'une grande partie de l'Europe, de l'Amérique Centrale et du Sud. Il est surtout redoutable en zone tropicale où l'on retrouve en majorité *P. falciparum*, agent du paludisme grave [87 ; 96].

II-5-1- En Europe

Le paludisme a disparu des foyers anciens, mais on constate une recrudescence du paludisme d'importation du fait de l'essor des déplacements vers les pays tropicaux et de la négligence de la chimioprophylaxie. On observe également le paludisme des aéroports dont la transmission est assurée, lors d'étés chauds autour des grands aéroports internationaux, par des anophèles femelles infestés « voyageurs » [61].

II-5-2- En Amérique

L'Amérique du nord n'est pas touchée par le paludisme, mais l'Amérique Centrale et l'Amérique du Sud sont très affectées. On y retrouve :

- *Plasmodium vivax* : dans les régions de basses altitudes ;
- *Plasmodium malariae* : autour de la mer des Caraïbes et le golfe du Mexique ;
- *Plasmodium falciparum* essentiellement dans le bassin amazonien [61].

II-5-3- En Océanie

Le paludisme sévit dans certaines îles comme la Nouvelle-Guinée et l'île Salomon. On y rencontre des souches de *P. vivax* résistantes à la chloroquine. D'autres îles, comme la Tahiti et la Nouvelle-Calédonie, sont indemnes de paludisme. On note la disparition des foyers de paludisme au Nord-Est de l'Australie [61].

II-5-4- En Asie

Le paludisme sévit intensément avec comme espèces prédominantes :

- *Plasmodium falciparum* présent en Asie du Sud et du Sud-Est ;
- *Plasmodium vivax* présent dans toute la partie tropicale ;
- *Plasmodium malariae* présent en Iran [61].

On rencontre des souches de *Plasmodium* multi-résistantes, entre autres *P. falciparum* résistant à la chloroquine, à la sulfadoxine-pyriméthamine, à la méfloquine et récemment aux dérivés de l'artémisinine en Asie du sud-est [45 ; 46 ; 84 ; 103].

II-5-5- En Afrique

Le paludisme est largement répandu dans toute l'Afrique intertropicale avec comme espèces prédominantes :

- *P. falciparum*, qui est surtout retrouvé en Afrique sub-saharienne ;
- *P. malariae*, qui est fréquent en zone tropicale et quelques foyers en Afrique du Nord ;
- *P. ovale*, qui est rare, mais il en existe quelques foyers en Afrique occidentale et centrale.

En Afrique du Nord, le paludisme est rare mais on y rencontre *P. vivax* [29].

II-5-6- En Côte d'Ivoire

Le paludisme est endémique en Côte d'Ivoire. Sa transmission se fait de manière permanente, au cours de l'année avec des pics saisonniers d'hyperendémicité pendant les périodes de pluies.

Le principal parasite présent dans 80 à 97% des cas est *P. falciparum*. Ensuite vient *P. malariae* avec 3 à 10% des cas [35].

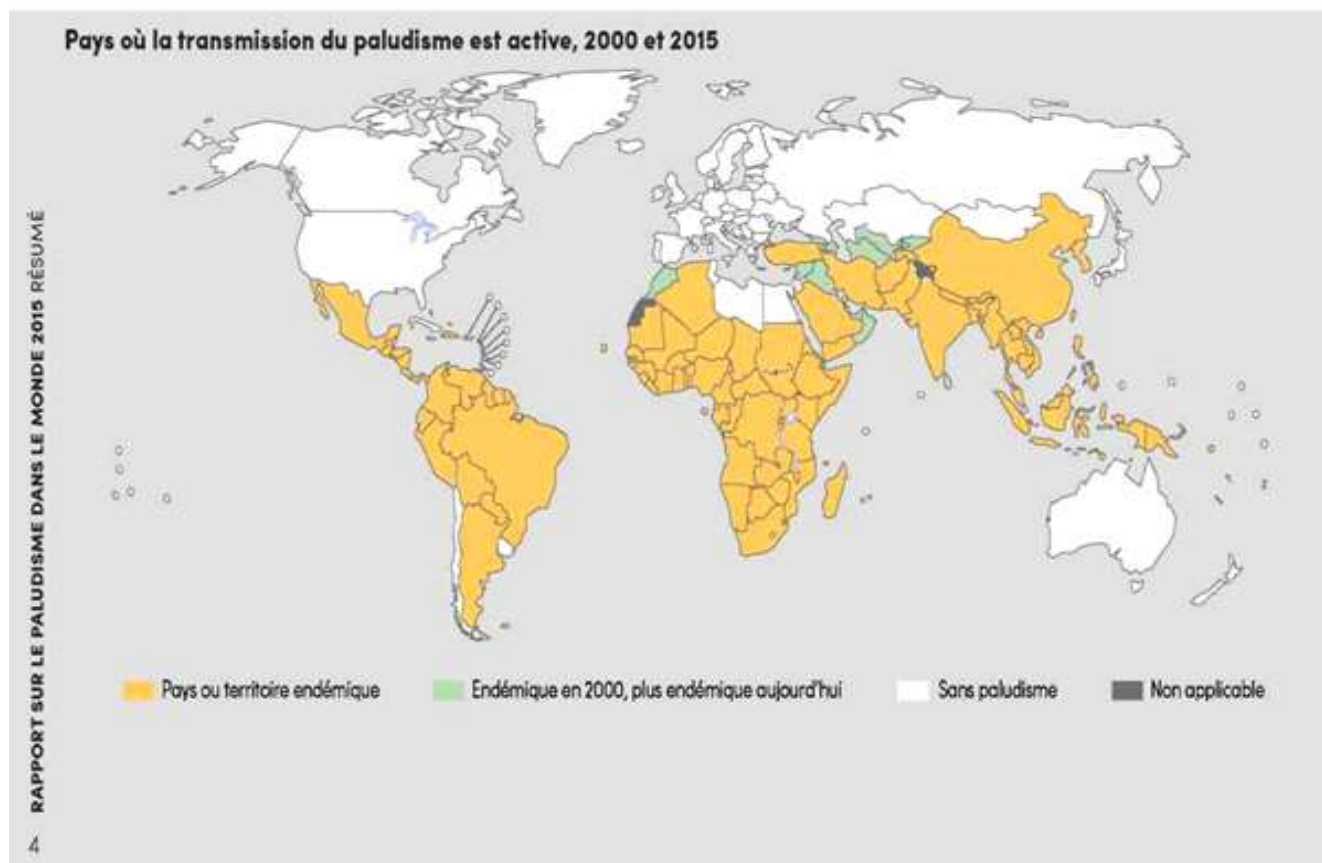


Figure 8 : Pays où la transmission du paludisme est active, 2015 [93]

II-6- SURVEILLANCE EPIDEMIOLOGIQUE

Certains indices permettent de suivre l'évolution épidémiologique du paludisme et de réaliser une classification. Ce sont :

- l'indice splénique (IS) : pourcentage de sujets examinés porteurs d'une splénomégalie notamment la proportion d'enfants de 2 à 9 ans ayant une splénomégalie ;
- l'indice plasmodique (IP) : pourcentage de sujets examinés présentant des *Plasmodium*. Il est mesuré chez les enfants d'âge compris entre 2 à 9 ans.

Ces deux premiers indices permettent une classification des zones d'endémie :

- zone hypo-endémique : $IS < 10\%$, $IP < 10\%$;
- zone méso-endémique : $IS = 11\% - 50\%$, $IP = 11\% - 50\%$;
- zone hyper-endémique : $IS = 51\% - 75\%$, $IP = 51\% - 75\%$;
- zone holo-endémique : $IS > 75\%$, $IP > 75\%$ [13].

D'autres indices sont également recensés :

- l'indice gamétocytaire, qui mesure le pourcentage de personnes examinées ayant des gamétocytes dans le sang et permet de connaître le potentiel infestant d'une population vis-à-vis du vecteur ;
- l'indice sporozoïtique, qui donne la proportion d'anophèles femelles examinés ayant des sporozoïtes dans les glandes salivaires et l'indice oocystique qui donne le pourcentage des anophèles femelles présentant des oocystes ;
- l'indice d'inoculation entomologique (I.I.E), qui mesure l'intensité de la transmission (nombre de piqûres infectantes reçues par personne et par unité de temps) [13 ; 105].

Le poids du paludisme est également estimé par :

- la prévalence des infestations plasmodiales (nombre d'individus infectés),
- l'incidence des infestations (nombre de nouvelles infections par unité de temps),
- la densité parasitaire moyenne et la multiplicité moyenne des infections (nombre de populations plasmodiales distinguées par géotypage dans un échantillon de sang) [13].

II-7- Immunité dans le paludisme

L'immunité dans le paludisme se définit comme la capacité à résister à l'infection résultant de tous les processus qui contribuent à détruire les plasmodies ou à en limiter la multiplication.

Deux types d'immunité sont observés dans le paludisme : l'immunité naturelle ou innée et l'immunité acquise [18].

II-7-1- Immunité naturelle ou innée

Elle correspond à l'état réfractaire d'un hôte vis-à-vis d'un parasite relevant de la constitution génétique de l'hôte. Certaines espèces plasmodiales ne se développent que chez des hôtes particuliers qui possèdent des conditions biologiques optimales pour leur développement avec, par exemple :

- le type d'hémoglobine du globule rouge (GR) ;
- l'équipement enzymatique intra érythrocytaire ;
- la nature des récepteurs membranaires du GR [18 ; 56].

Certains types hémoglobiniques peuvent en effet inhiber la croissance intracellulaire de *P. falciparum* : l'hémoglobine S semble protéger les paludéens contre les fortes parasitémies, l'hémoglobine F inhiberait la croissance de *P. falciparum*, ce qui expliquerait en partie le faible taux d'accès palustres chez le nourrisson. Les désordres quantitatifs portant sur une chaîne hémoglobinique (thalassémie) peuvent aussi ralentir la croissance du *Plasmodium*.

Des déficits enzymatiques, notamment en glucose-6-phosphate déshydrogénase, auraient aussi un rôle protecteur. Des récepteurs membranaires du GR interviendraient dans la protection contre le paludisme.

Cependant, le parasite peut éviter la plupart des mécanismes de défense et assurer sa survie chez cet hôte immunologiquement hostile, en changeant la composition antigénique de sa membrane, en se réfugiant dans certaines cellules ou en dérégulant le système immunitaire de l'hôte [18 ; 56].

II-7-2- Immunité acquise ou prémunition

Elle est soit active, soit passive.

L'immunité acquise active est un état immunitaire (permanent en zone endémique) conférant une protection relative acquise progressivement (2 à 6 mois), provoquée et entretenue par la présence du parasite dans l'organisme de l'hôte. Elle est labile et s'estompe après le départ de la zone endémique (12 à 24 mois), donc disparaît en l'absence de contacts fréquents entre l'hôte et le parasite. On parle alors de prémunition. L'effet protecteur est spécifique pour l'espèce plasmodiale à l'origine de l'infestation antérieure et non envers toutes les espèces plasmodiales [18].

L'immunité acquise passive correspond à la transmission à l'enfant in utero, par passage transplacentaire, d'immunoglobulines G (IgG) synthétisées par la mère prémunie. Le nouveau-né sera ainsi protégé pendant environ les six premiers mois de la vie contre les accès graves [18].

III- SIGNES CLINIQUES

Les manifestations cliniques du paludisme sont diverses dans leur expression, leur gravité et dépendent à la fois de l'espèce plasmodiale, de la réceptivité génétique et de l'état immunitaire du sujet. Plusieurs formes cliniques sont observées [16].

III-1- ACCES PALUSTRE SIMPLE OU NON COMPLIQUE

L'accès palustre simple est caractérisé par des accès fébriles, avec une fièvre souvent élevée, supérieure à 39°C, des frissons, suivis d'une chute de température accompagnée de sueurs abondantes et d'une sensation de froid [82].

A côté de cette triade (fièvre, frissons, sueur), on peut observer également des céphalées, myalgies, une anorexie, un malaise général et des troubles digestifs.

III-2- ACCES PERNICIEUX OU PALUDISME GRAVE

Ce paludisme peut survenir à n'importe quel moment de l'évolution d'un paludisme à *P. falciparum*. Il doit être reconnu le plus précocement possible et requiert la mise en route d'un traitement d'urgence.

P. falciparum est capable de déterminer des parasitémies élevées et d'encombrer la circulation dans les capillaires viscéraux. Ce qui confère au paludisme dû à cette espèce une gravité particulière.

Les critères de gravité du paludisme selon l'OMS [118] sont les suivants :

- 1- Neuropaludisme (score de Glasgow < 9) ;
- 2- Troubles de la conscience (score de Glasgow < 15 et > 9) ;
- 3- Convulsions répétées (< 1/24 heures) ;
- 4- Prostration ;
- 5- Syndrome de détresse respiratoire ;
- 6- Ictère (clinique) ;
- 7- Acidose métabolique (bicarbonate plasmatique < 15 mmol/l) ;
- 8- Anémie grave (Hg < 5 g/dl ou Hte < 15 %) ;
- 9- Hyperparasitémie (> 4 % chez les sujets non immuns ou > 20 % chez les sujets immuns) ;
- 10- Hypoglycémie (< 2,2 mmol/l) ;
- 11- Hémoglobinurie massive ;
- 12- Insuffisance rénale :
 - adulte : diurèse < 400 ml/kg/24 h ou créatinémie >265 µmol/l ;
 - enfant : diurèse < 12 ml/kg/24h ou créatinémie élevée pour l'âge ;

13- Collapsus circulatoire (TAS < 50 mmHg avant 5 ans, TAS < 80 mmHg après 5 ans) ;

14- Hémorragie anormale ;

15- Œdèmes pulmonaires (radiologique).

Le paludisme est dit grave lorsqu'au moins un de ces signes est présent avec une goutte épaisse positive.

III-3- PALUDISME VISCERAL EVOLUTIF

Aussi appelé cachexie palustre, il survient en zone d'endémie chez les sujets soumis à des infestations palustres massives et répétées et ne se soumettant pas à un traitement ou à une chimioprophylaxie efficace [14].

Les plus concernés sont les enfants de 2 à 5 ans des régions rurales d'endémies. Il peut s'observer chez les adultes originaires des pays du Nord qui ne se soumettent pas à une prophylaxie.

Le tableau clinique est marqué par :

- une anémie qui entraîne une pâleur ;
- une fièvre avec une température allant de 37,5 à 38,5°C ;
- une asthénie ;
- une anorexie ;
- une splénomégalie ;
- des œdèmes des membres inférieurs ;
- un souffle systolique anorganique ;
- un retard staturo-pondéral chez l'enfant ;
- un amaigrissement chez l'adulte.

En cas de traitement spécifique, la guérison est lente mais spectaculaire, sinon les troubles disparaissent lentement et parallèlement à l'installation de l'immunité [69].

III-4- FIEVRE BILIEUSE HEMOGLOBINURIQUE

La fièvre bilieuse hémoglobinurique, également appelée “BLACK WATER FEVER” par les anglo-saxons, est une réaction immuno-allergique grave, caractérisée par une hémolyse intra-vasculaire aiguë survenant classiquement après la reprise de Quinine par un sujet résidant de longue date en zone d'endémie à *Plasmodium falciparum*, et prenant itérativement et irrégulièrement ce médicament [23 ; 42]. Aujourd'hui, des études récentes montrent que l'Halofantrine, la Mefloquine et la Luméfantrine, des molécules apparentées à la Quinine (famille des amino-alcools) peuvent causer aussi cet accident [42].

Cliniquement, la symptomatologie apparaît brutalement et intensément avec émission d'urines de couleur rouge-porto, ictère, pâleur, nausées, fièvre élevée et insuffisance rénale aiguë. L'anémie aiguë de type hémolytique est d'emblée profonde [42].

La parasitémie est faible ou nulle. Le mécanisme de l'insuffisance rénale est une nécrose tubulaire [23].

La physiopathogénie est mal connue, mais il semble que la conjonction d'une double sensibilisation des hématies à *P. falciparum* et aux amino-alcools soit indispensable au déclenchement de l'hémolyse.

La gravité du tableau impose souvent une prise en charge initiale en réanimation. Mais de nos jours, le pronostic connaît une amélioration [23].

IV- DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DU PALUDISME

Il est réalisé avec plusieurs méthodes, et son but est d'apporter une certitude biologique. Deux groupes de méthodes sont utilisées :

- le diagnostic indirect (ou arguments) de présomption ;
- le diagnostic direct de certitude [110].

IV-1- DIAGNOSTIC INDIRECT DE PRESOMPTION

C'est le diagnostic d'orientation du paludisme sur la base d'arguments biologiques qui ne lui sont pas spécifiques. Ce sont l'hémogramme et d'autres examens (biochimiques et sérologiques) [41 ; 44 ; 51].

IV-1-1- Hémogramme

Il met en évidence :

- une anémie hémolytique associée à une baisse de l'hématocrite, du nombre de globules rouges et du taux d'hémoglobine, avec *P. falciparum* en général ;
- une hyperleucocytose à polynucléaires neutrophiles et à monocytes dans l'accès palustre grave à *P. falciparum* chez l'enfant ;
- une leucopénie dans les accès de reviviscence et au cours du paludisme viscéral évolutif ;
- une thrombopénie [44].

IV-1-2- Examens biochimiques

Ils montrent :

- une hypercholestérolémie et une hypertriglycéridémie à la phase aiguë des accès palustres ;
- une atteinte hépatique avec une élévation de la lactate déshydrogénase (LDH) et des transaminases ;
- une hypercréatininémie en faveur d'une insuffisance rénale,
- une hypoglycémie,
- un rapport albumine / globuline abaissé [17].

IV-1-3- Examens sérologiques

La sérologie n'a aucun intérêt dans le diagnostic des accès palustres aigus en raison de l'apparition tardive des anticorps (Ac) antipalustres par rapport à l'émergence des parasites dans le sang [110].

Elle repose sur la mise en évidence dans le sérum d'immunoglobulines spécifiques (IgG ; IgM) de *Plasmodium*. Les antigènes utilisés en routine de biologie clinique ou d'épidémiologie sont ceux des formes asexuées du sang.

Les techniques les plus utilisées sont : l'immunofluorescence indirecte (IFI), méthode de référence en raison de sa sensibilité et le test immunoenzymatique ELISA [17].

IV-2- DIAGNOSTIC DIRECT DE CERTITUDE

Le diagnostic direct de certitude repose sur la mise en évidence d'hématozoaires dans le sang circulant. Il peut être réalisé par plusieurs techniques :

- ❖ la goutte épaisse (GE) ;
- ❖ le frottis sanguin (FS) ;
- ❖ le QBC ;
- ❖ les tests immunochromatographiques ou tests de diagnostic rapide ;
- ❖ la technique de PCR [36].

IV-2-1- Goutte épaisse

C'est une technique d'observation au microscope du sang, dont on étale une grosse goutte sur une lame de verre. Une fois séchée, traitée et colorée, cette goutte permet de mettre en évidence le parasite du paludisme dans les globules rouges sans faire le diagnostic d'espèces (**figure 9**).

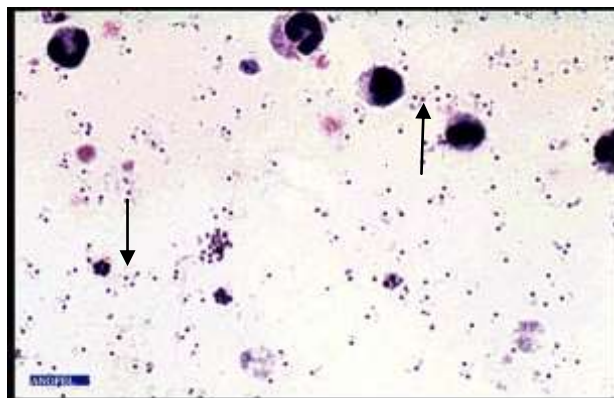
La goutte épaisse consiste à concentrer une grande quantité de parasites sur une petite surface ; la lecture est réalisée après coloration. La couche épaisse montre plus d'éléments, donc plus de chances de voir des parasites. Mais, elle ne peut

donner de résultats rapides. Elle permet la numération parasitaire et partant un contrôle de l'efficacité du traitement antipaludique par le suivi de la parasitémie.

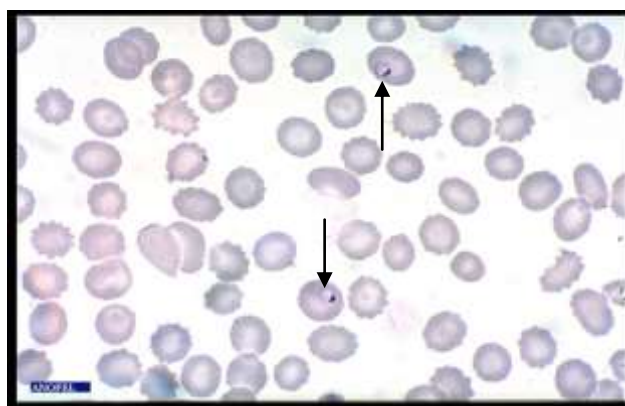
IV-2-2- Frottis sanguin

Cet examen permet la recherche de parasite dans un étalement en couche mince d'une goutte de sang après coloration (**figure 9**). Il est de réalisation et lecture plus rapides que la goutte épaisse, et permet l'identification de l'espèce plasmodiale.

Le frottis sanguin fait partie avec la goutte épaisse des techniques de référence pour diagnostiquer le paludisme [44].



A



B

G×100

→ Indique les trophozoïtes à l'examen microscopique

Figure 9 : Observation des trophozoïtes sur une goutte épaisse (A) et un frottis sanguin (B) [120]

IV-2-3- QBC test : *Quantitative Buffy Coat*

Cette technique consiste à concentrer les hématies parasitées par centrifugation à haute vitesse dans un tube à hématocrite contenant de l'acridine orange et un anticoagulant (EDTA). L'acridine orange a la propriété de se fixer sur l'ADN qui prendra une coloration verte-fluorescente sous lumière UV.

Le QBC a une sensibilité et une spécificité de 100% comparées à la GE.

Il se présente comme un test permettant d'identifier correctement les sujets indemnes de paludisme. De plus, sa courte durée de manipulation et sa lecture relativement aisée ont contribué à renforcer ses atouts par rapport aux autres examens [133].

Le QBC ne permet pas de quantifier la parasitémie de façon précise et de poser un diagnostic d'espèce, sauf en cas de présence de gamétocytes de *P. falciparum*.

IV-2-4- Tests immunochromatographiques ou tests de diagnostic rapide

Les tests de diagnostic rapide (TDR) consistent en la détection des antigènes (Ag) plasmodiaux. Ils reposent sur le principe de l'immunochromatographie en utilisant des bandelettes sensibilisées par des anticorps monoclonaux spécifiques détectant des antigènes plasmodiaux [105 ; 110]. Les antigènes détectés sont :

- l'*Histidine Rich Protein 2* (HRP2), glycoprotéine spécifique de l'espèce *P. falciparum* est produite par tous les stades érythrocytaires asexués du parasite ;

- la lactate déshydrogénase (LDH) et l'aldolase parasitaires, enzymes glycolytiques communes aux 4 espèces plasmodiales (*P. falciparum*, *P. malariae*, *P. ovale* et *P. vivax*) et détectées à tous les stades sexués et asexués du parasite [110].

Les TDR sont d'exécution rapide, de lecture facile pouvant être réalisés par un personnel peu expérimenté, d'emploi facile, d'un coût accessible et leur positivité permet une prise en charge adéquate et rapide des patients. En revanche, leur négativité ne doit pas écarter le diagnostic [106 ; 110].

IV-2-5- Technique de PCR

La PCR est une technique d'amplification d'ADN *in vitro*. Elle permet d'obtenir, à partir d'un échantillon complexe et peu abondant, d'importantes quantités d'un fragment d'ADN spécifique et de longueur définie. L'ordre de grandeur à retenir est celui du million de copies en quelques heures [57].

Le principe et les conditions expérimentales qui en découlent sont très simples. Il s'agit de réaliser une succession de réactions de réplication d'une matrice double brin d'ADN.

Ces réactions sont :

- La dénaturation thermique de l'ADN : les liaisons d'hydrogènes sont rompues à 95°C et les 2 brins de l'ADN se séparent. L'ADN passe sous forme simple brin dans le milieu ;
- L'hybridation des amorces : le milieu réactionnel contient 2 amorces, chacune complémentaire d'un des 2 brins. La température permettant la fixation des amorces sur les monobrins d'ADN est comprise entre 50°C et

65°C. Les amorces en larges excès, s'hybrident dès lors qu'elles rencontrent les séquences complémentaires ;

- L'extension des amorces : l'intervention de la Taq polymérase (ADN polymérase) qui allonge les amorces en y incorporant les désoxyribonucléiques complémentaires de la séquence de la matrice auquel elle est hybridée. Cette étape donne lieu à 2 molécules d'ADN et s'effectue à une température de 72°C (**figure 10**) [43 ; 57].

Chaque réaction met en œuvre deux amorces oligonucléotidiques dont les extrémités 3-prime pointent l'une vers l'autre. Les amorces ou « *primers* » en anglais définissent alors, en la bornant, la séquence à amplifier.

La PCR permet de détecter de très faibles parasitémies de l'ordre de 0,3 parasite/ μ l avec une possibilité de quantification de l'ADN plasmodial en utilisant la PCR quantitative. Le test de PCR est d'un apport appréciable pour le suivi post-thérapeutique (notamment les essais d'efficacité des médicaments antipaludiques) en permettant de faire la différence entre réinfestation et recrudescence, par l'identification de la souche plasmodiale en cause. Ce test est également utilisé pour l'étude des gènes impliqués dans la résistance aux antipaludiques [18 ; 126 ; 114].

La PCR nichée pour la détection des espèces plasmodiales

La PCR nichée consiste à réaliser deux PCR successives en utilisant des couples d'amorces différents, le deuxième couple d'amorces encadrant une séquence incluse dans celle qui est amplifiée par le premier couple d'amorces. Ainsi si le premier couple d'amorces est artéfactuelle, lors de la deuxième PCR les amorces du deuxième couple ne pourront pas s'hybrider et il n'y aura pas d'amplification.

L'approche par PCR nichée, identifie l'ADN de *Plasmodium* spécifique de l'espèce en amplifiant la région de l'ARN ribosomique 18S du parasite [63].

Les gènes de l'ARN ribosomique dans *Plasmodium* sont de quatre à huit copies par génome haploïde et sont dispersés sur différents chromosomes, avec deux sous-groupes distincts dont l'expression est régulée par les gènes de type A et de type B exprimés dans les stades asexués et sexuels de l'hôte vertébré, respectivement [8 ; 31]. La séquence nucléotidique du SSUrRNA (acide ribonucléique à petite sous-unité ribosomique) est largement conservée entre *Plasmodium* et différentes espèces révèlent une hétérogénéité génétique dans leurs régions ribosomales respectives. Cette variation, associée à l'abondance des ribosomes dans le parasite, a conduit au développement de sondes diagnostiques efficaces basées sur les séquences SSUrRNA [73].

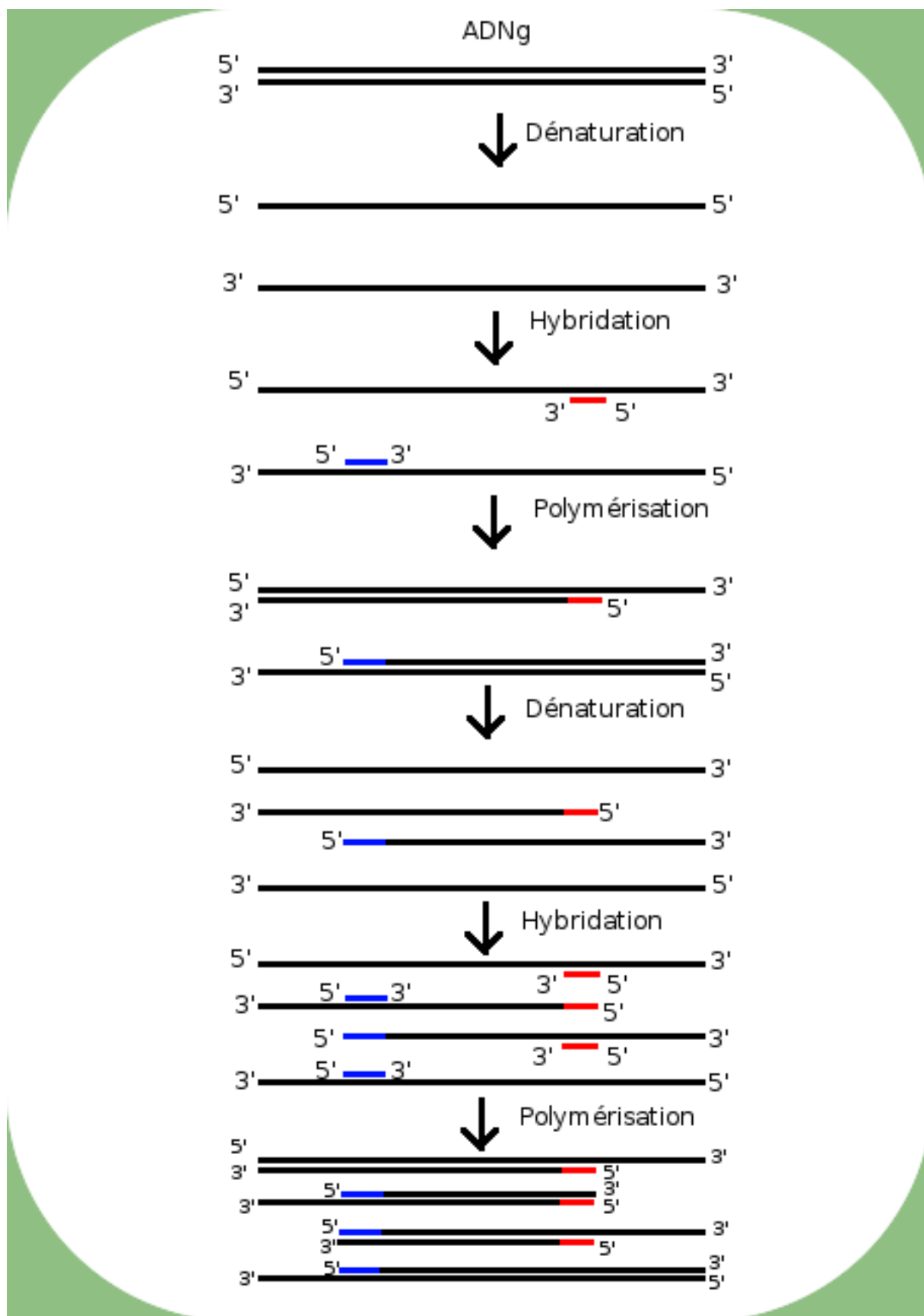


Figure 10 : Différentes étapes de la PCR [49]

V- POLITIQUE NATIONALE DE PRISE EN CHARGE DU PALUDISME

Afin de mieux lutter contre le paludisme et compte tenu de l'importance de la chloroquino-résistance en Côte d'Ivoire, le Ministère de la Santé et de la lutte contre le Sida à travers le PNLP (Programme National de Lutte contre le Paludisme) a mis sur pied un nouveau schéma thérapeutique pour la prise en charge du paludisme [32 ; 131].

V-1- POLITIQUE DE PRISE EN CHARGE S'APPLIQUANT A TOUS LES NIVEAUX DE LA PYRAMIDE SANITAIRE

V-1-1- En cas de paludisme simple

Chez toute personne en général (sauf la femme enceinte), le traitement du paludisme simple se fera en première intention avec l'une des combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine (CTA) fixes suivantes en 3 jours consécutifs par voie orale :

- Artésunate + Amodiaquine (AS+AQ) à la posologie de 4 mg/kg/jour d'Artésunate + 10 mg/kg/jour d'Amodiaquine ;
- Artéméther + Luméfantrine (AL) à la posologie de 4 mg/kg/jour d'Artéméther + 24 mg/kg/jour de Luméfantrine.

En cas de prise biquotidienne, il faut observer un délai de 12 heures entre les deux prises.

En cas d'échec de ces combinaisons, l'alternative est la Quinine orale qui devient ainsi le médicament de deuxième intention à la dose de 25 mg/kg/jour de Quinine base fractionnée en 3 prises pendant 5 à 7 jours.

Par ailleurs, en cas de non disponibilité des deux combinaisons recommandées ou de contre-indications : l'Artésunate + Amodiaquine et de l'Artéméther + Luméfantrine, il existe d'autres possibilités de traitement du paludisme qui sont autorisées. Il s'agit de :

- l'Artésunate + Mefloquine (AS+MF) à la posologie de 4 mg/kg de AS + 8,3 mg/kg de MF base par jour pendant 3 jours consécutifs ;
- la Dihydroartémisinine + Pipéraquline (DHA+PPQ) à la posologie de 4 mg/kg de DHA + 18 mg/kg de PPQ par jour pendant 3 jours consécutifs [36].

Le schéma thérapeutique en cas de paludisme simple chez la femme enceinte est le suivant :

La Quinine par voie orale à la dose de 25 mg/kg/jour de Quinine base fractionnée en 3 prises pendant 5 à 7 jours, quel que soit l'âge gestationnel.

En cas de non disponibilité de la Quinine orale et uniquement aux 2^{ème} ou 3^{ème} trimestres de la grossesse : Artésunate + Amodiaquine ou Artéméther + Luméfantrine par voie orale.

V-1-2- En cas de paludisme grave

La politique nationale du traitement du paludisme grave recommande l'utilisation de l'Artésunate injectable, l'Artéméther injectable ou la Quinine injectable.

En raison de son efficacité et de sa tolérance (avec baisse de la mortalité de 20,6% à 34,7% de décès liés au paludisme grave) comparativement à la Quinine injectable, l'Artésunate injectable doit être choisi de façon préférentielle.

- L'Artésunate injectable sera administré à la posologie de 2,4 mg/kg en intraveineuse à H0, H12, H24, H48 et H72.

NB : La poudre d'acide artésuniquique doit être dissoute dans 1 ml de solution de bicarbonate de sodium à 5% pour obtenir l'artésunate, puis diluée dans 5 ml de

dextrose à 5% et administrée immédiatement par intraveineuse en bolus ou par voie intramusculaire.

- L'Artéméther injectable sera administrée à la posologie de :
 - Chez l'enfant : 3,2 mg/kg de poids en intramusculaire dès l'admission, puis 1,6 mg/kg par jour pendant 5 jours ;
 - Chez l'adulte : 160 mg en intramusculaire le premier jour puis 80 mg les jours suivants pendant 5 jours.
- La Quinine injectable sera administrée à la posologie de 24 mg/kg de Quinine base par jour, répartie dans 3 perfusions le premier jour, soit 8 mg/kg de Quinine base par perfusion puis à partir du deuxième jour, poursuivre par 2 perfusions par jour soit 12 mg/kg de Quinine base par perfusion pendant 4 à 6 jours.

*NB : - Prendre le relais par voie orale lorsque l'état du malade le permet, après 3 jours de traitement parentéral selon le **tableau I**.*

- Le traitement de relais doit débiter au moins 12 heures après la dernière dose du traitement parentéral afin d'éviter des interactions médicamenteuses avec risque accru d'effets indésirables [36].

Tableau I : Traitement de relais après administration parentérale d'antipaludiques

Traitement parentéral initial	Relais Préférentiel au bout de 12h	Relais alternatif au bout de 24 h
Artésunate IV directe	AS+AQ	AL ou quinine orale
Artémether IM	AL	AS + AQ ou Quinine orale
Quinine en perfusion IV	Quinine orale	CTA

V-1-3- En cas de formes chroniques du paludisme

Le traitement des cas de paludisme viscéral évolutif ou de splénomégalie palustre hyperactive, repose sur le schéma suivant :

Artésunate + Amodiaquine ou Artémether + Luméfantrine selon les posologies recommandées. Puis, le relais est pris une semaine après l'administration de la Sulfadoxine-Pyriméthamine en une dose (3 comprimés) tous les 15 jours pendant 6 mois [36].

V-2- Politique de prise en charge S'APPLIQUANT au niveau communautaire

Le schéma thérapeutique au niveau communautaire pour la prise en charge du paludisme simple, en dehors de toute contre-indication (allergie, 1^{er} trimestre de grossesse) est le suivant : la combinaison Artésunate + Amodiaquine à la posologie de 4 mg/kg/jour d'Artésunate et 10 mg/kg/jour d'Amodiaquine ou la combinaison Artémether + Luméfantrine à la posologie de 4 mg/kg/jour d'Artémether et 24 mg/kg/jour de Luméfantrine pendant 3 jours.

En cas d'apparition de signes de gravité (hyperthermie, vomissements répétés, convulsions, troubles neurologiques), il faut se référer au centre de santé le plus proche.

Chez l'enfant de moins de 5 ans, avant de référer :

- Envelopper l'enfant avec une serviette ou un drap humide ;
- Administrer de l'eau sucrée par voie orale, si possible ;
- Administrer un dérivé de l'Artémisinine par voie rectale (suppositoire).

V-3- POLITIQUE DE PREVENTION CHEZ LES GROUPES

PARTICULIERS

En plus de l'utilisation régulière de la moustiquaire imprégnée d'insecticide, le schéma de prévention du paludisme chez les groupes particuliers en dehors de toute contre-indication est le suivant :

V-3-1- Chez la femme enceinte

Le régime retenu est le traitement préventif intermittent (TPI) à la Sulfadoxine-Pyriméthamine (SP) administrée par voie orale à partir du 2^e trimestre de la grossesse en trois doses séparées d'au moins un mois.

Chez la séropositive (VIH) ne prenant pas de Cotrimoxazole en régime de prophylaxie primaire des infections opportunistes, utiliser le traitement préventif intermittent (TPI) à la Sulfadoxine-Pyriméthamine (SP) administrée par voie orale à partir du 2^{ème} trimestre de la grossesse en trois doses séparées d'au moins un mois.

Chez la séropositive sous Cotrimoxazole, pour des raisons de toxicité, on n'administrera pas la Sulfadoxine-Pyriméthamine (l'association de deux sulfamides entraînant une potentialisation de leurs toxicités).

V-3-2- Chez les personnes transfusées

Toute personne ayant subi une transfusion doit bénéficier d'un traitement antipaludique suivi d'un contrôle.

V-3-3- Chez les personnes venant des zones non impaludées

Il faut administrer, trois semaines avant de quitter son pays de résidence, un traitement préventif à base de Méfloquine ou Atovaquone-Proguanil ou encore la Doxycycline à raison d'un comprimé par jour. Ce traitement sera poursuivi dans le pays de résidence pendant 6 semaines maximum.

V-3-4- Chez tous les enfants

Aucun traitement préventif n'est recommandé chez les enfants âgés de moins de 5 ans, tout comme chez l'adulte.

L'utilisation de la moustiquaire imprégnée d'insecticide (MII), des grillages imprégnés aux portes et aux fenêtres doit être préconisée à tous, en particulier à la femme enceinte dès le premier contact avec un centre de santé, aux enfants et aux personnes provenant des zones impaludées.

VI- CHIMIORESISTANCE

L'Organisation mondiale de la Santé (OMS) a défini en 1965 et 1973 la résistance comme la capacité d'une souche plasmodiale à survivre et/ou à se multiplier en dépit de l'administration et de l'absorption d'un médicament donné à doses égales ou supérieures à celles habituellement recommandées mais dans les limites de tolérance du malade. Il a été ajouté en 1986 que la forme active du médicament devait pouvoir atteindre le parasite ou accéder à l'intérieur de l'érythrocyte infecté pendant la durée nécessaire à son action normale. Il s'agissait de tenir compte du fait que les individus pouvaient différer par leur capacité à métaboliser les antipaludiques comme les sulfonamides et les sulfones, que les molécules antipaludiques pouvaient se lier fortement aux protéines plasmatiques et que des médicaments administrés de façon simultanée pouvaient avoir un effet antagoniste sur l'efficacité de l'antipaludique. Pour des raisons historiques et pratiques, la définition de la résistance est donc essentiellement clinique et parasitologique [103].

Quatre approches méthodologiques permettent d'évaluer la chimiorésistance du *Plasmodium* dans une zone géographique donnée. Ce sont :

- les tests de chimiosensibilité *in vitro* consistent à mesurer la réponse du *Plasmodium* en culture, en présence de concentrations croissantes de médicaments antipaludiques en dehors des contextes pathologiques et immunologiques de l'organisme hôte [17] ;
- les tests de résistance *in vivo* ou d'efficacité thérapeutique visent à évaluer directement l'efficacité thérapeutique chez les malades [88 ; 91] ;
- les tests moléculaires d'étude des gènes impliqués dans la résistance ;
- les tests de biodisponibilité par dosage des antipaludiques dans le sang du malade [11].

Deuxième partie :

ETUDE EXPERIMENTALE

Chapitre I :

MATERIEL ET

METHODES

I- MATERIEL

I-1- SITES ET PERIODES D'ETUDE

Notre étude a été initiée par le Centre de Recherche et de Lutte contre le Paludisme (CRLP) de l'Institut National de Santé Publique et le Département de Parasitologie-Mycologie de l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de l'Université Félix Houphouët-Boigny de Cocody à Abidjan.

Elle s'est déroulée de mai 2015 à avril 2016 dans les districts sanitaires de Grand-Bassam, Abengourou et San Pedro, selon le chronogramme suivant :

- A Grand-Bassam : du 13 au 15 mai 2015 et le 8 octobre 2015 pendant la saison pluvieuse puis du 19 au 21 janvier 2016 pendant la saison sèche ;
- A Abengourou : du 17 au 19 novembre 2015 pendant la saison pluvieuse et du 1 au 3 mars 2016 pendant la saison sèche ;
- A San Pedro : du 19 au 21 avril 2016 pendant la saison pluvieuse et du 23 au 25 février 2016 pendant la saison sèche.

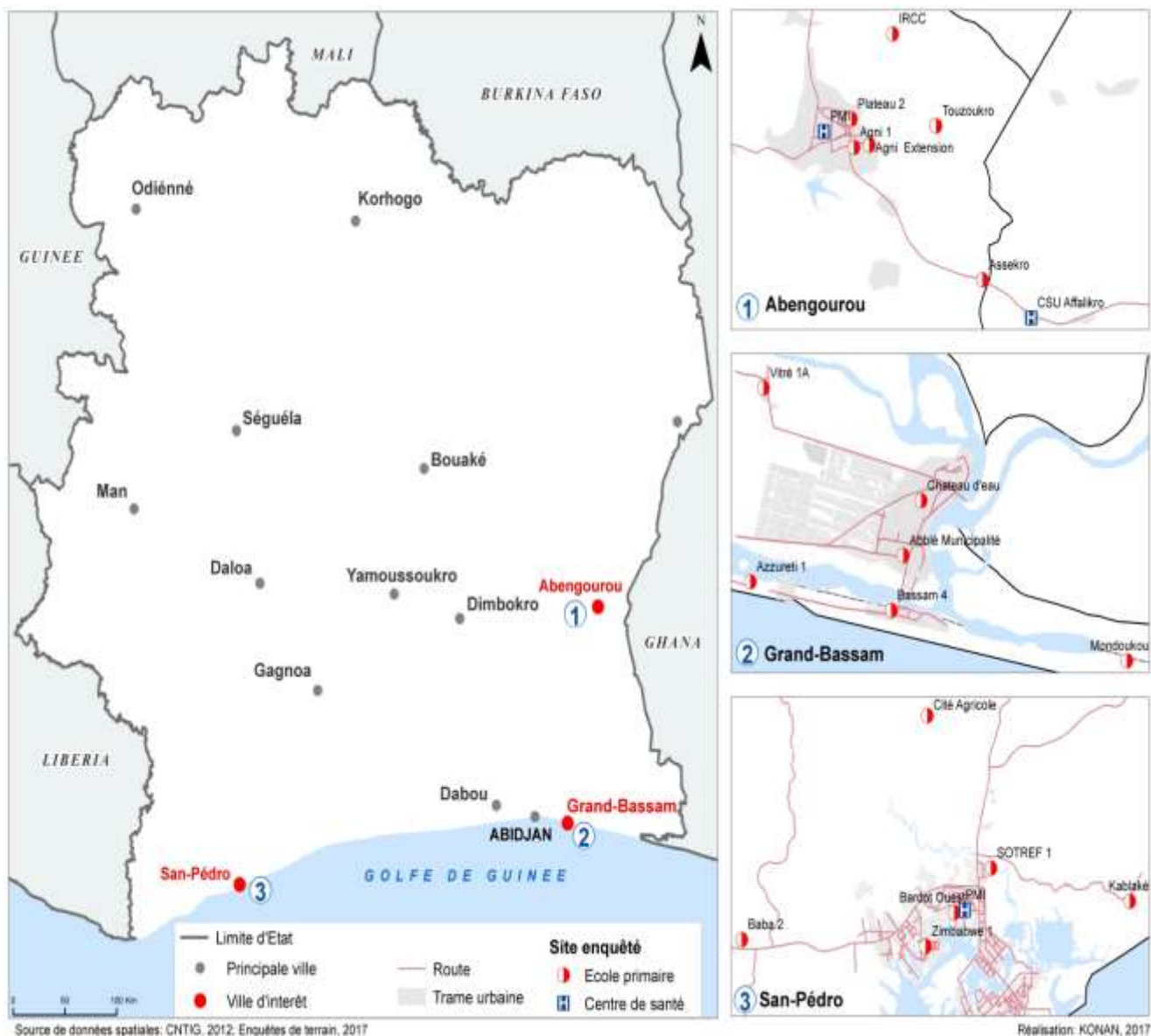


Figure 11 : Les sites d'étude dans leurs districts sanitaires respectifs [65]

Les sujets de notre étude ont été enrôlés dans six (6) écoles tirées au sort, à savoir trois (3) écoles primaires en zone rurale et trois (3) écoles primaires en zone urbaine au niveau de chaque site (**figure 11, tableau II**).

Tableau II : Les sites d'étude et leurs coordonnées géographiques

Grand-Bassam		Abengourou		San Pedro	
<i>zone rurale</i>	<i>zone urbaine</i>	<i>zone rurale</i>	<i>zone urbaine</i>	<i>zone rurale</i>	<i>zone urbaine</i>
EPP Vitré 1A (05°14'19.7" N ; 003°46'13.1" W)	EPP Ablé municipalité (05°12'48.4" N ; 003° 44'17.9" W)	EPP IRCC (06°46'33.0" N ; 003°27'57.6" W)	EPP Plateau 2 (06°44'11.8" N ; 003°29'05.0" W)	EPP Kablaké (04°47'00.4" N ; 006°35'11.7" W)	EPP Zimbabwe 1 (04°45'38.4" N ; 006°39'58.5" W)
EPP Azuretti 1 (05°12'11.2" N ; 003°46'43.4" W)	EPP Château d'eau 1 (05°13'10.7" N ; 003°43'55.3" W)	EPP Assékro (06°39'50.0" N ; 003°24'44.5" W)	EPP Agni 1 (06°43'25.6" N ; 003°29'03.9" W)	EPP Cité agricole (04°49'35.1" N ; 006°39'57.7" W)	EPP Sotref 1 (04°47'05.0" N ; 006°38'55.8" W)
EPP Mondoukou (05°11'14.5" N ; 003°40'52.4" W)	EPP Bassam 4 (05°11'49.5" N ; 003°44'21.0" W)	EPP Touzoukro (06°43'58.6" N ; 003°26'10.6" W)	EPP Agni extension (06°43'29.4" N ; 003°28'31.2" W)	EPP Baba 2 (04°45'48.1" N ; 006°44'04.5" W)	EPP Bardot ouest (04°46'15.5" N ; 006°39'20.8" W)

Toutes les écoles primaires retenues ont servi de cadre pour les prélèvements sanguins. Les spécimens biologiques ont été ensuite transportés au CRLP à Abidjan pour le district sanitaire de Grand-Bassam, au laboratoire de la PMI pour le district sanitaire d'Abengourou et à la PMI de Bardot ouest pour le district sanitaire de San-Pedro.

Ceux-ci ont été utilisés pour la confection des gouttes épaisses, des frottis sanguins et des confettis.

La lecture des frottis mixtes a été réalisée au CRLP. Les tests moléculaires (PCR) ont, quant à eux, été effectués à la fois au CRLP et au Centre de Diagnostic et de Recherche sur le SIDA et les autres Maladies Infectieuses (CeDReS) sis au CHU de Treichville.

I-2- DONNEES GEOGRAPHIQUES ET NIVEAU D'ASSAINISSEMENT

❖ Grand-Bassam

Située à environ 45 km à l'Est de la ville d'Abidjan, la commune de Grand-Bassam couvre une superficie totale de 130 km² environ avec une population estimée à environ 179 063 habitants (2014).

Au niveau du relief, elle présente un sol plat et sableux, des bas-fonds plus ou moins marécageux par endroit, avec présence d'îlots. Le faciès littoral est très humide avec une pluviométrie annuelle moyenne dépassant 1500 mm. Le régime climatique comporte quatre saisons bien marquées qui alternent en fonction de la position du Front Intertropical (FIT).

Il s'agit de la grande saison des pluies (avril à juin), la grande saison sèche (décembre à mars), la petite saison des pluies (octobre à novembre) et la petite saison sèche (juillet à septembre) [128].

Azuretti, un des sites ruraux, est entouré de la lagune Ebrié, et d'un lac. Ces points d'eau naturels constituent de permanents lieux de reproduction des moustiques. En outre, des pirogues usagées abandonnées au bord de ces points d'eau constituent aussi des gîtes naturels. Pour faciliter l'acquisition d'eau, les populations ont creusé des puits dans les cours et conservent de l'eau dans des bassines, des seaux et divers récipients. Ces puits et récipients ne sont pas généralement couverts et constituent des gîtes de reproduction des vecteurs du paludisme.

❖ Abengourou

Abengourou est le chef-lieu de la région de l'Indénié-Djuablin dans le district de la Comoé. Il a une superficie avoisinant les 5200 km² et est situé dans la partie sud-est de la Côte d'Ivoire entre les latitudes 5°45 et 7°10 nord et les longitudes 3°10 et 3°50 ouest [3].

Ce département est limité au nord par le district sanitaire d'Agnibilékrou, au sud par le district sanitaire d'Aboisso et d'Alépé, à l'ouest par le district sanitaire de Daoukro et à l'est par le Ghana.

Cette situation géographique fait d'Abengourou un véritable carrefour favorisant les affaires et les comportements à risques.

Les principales pathologies rencontrées sont le paludisme, les diarrhées, les anémies et les traumatismes [37].

Les régimes climatiques sont le régime de type équatorial de transition atténué dans le nord et équatorial de transition dans l'extrême sud (Béttié). Ces climats sont marqués par quatre saisons dont la grande saison des pluies (mi-mars à mi-juillet), la petite saison sèche (mi-juillet à août), la petite saison des pluies (septembre à mi-novembre) et la grande saison sèche (mi-novembre à mi-mars). La population d'Abengourou est estimée en [2014](#) à plus de 336 148 habitants [127].

❖ San Pedro

Chef-lieu de région du Bas-Sassandra dans le sud-ouest de la Côte d'Ivoire, San Pedro est située à environ 350 km d'Abidjan la capitale économique.

Sur le plan démographique, c'est la troisième ville du pays et un de ses quartiers, le Bardot, est considéré comme le plus grand bidonville de toute l'Afrique de l'ouest [66].

La population de San Pedro était estimée à environ 261 616 habitants selon le recensement général de la population et de l'habitation de 2014 avec un taux d'accroissement de 8,9%, taux le plus élevé en Côte d'Ivoire (Institut National de la Statistique, 2014) [58]. Quant au climat, il est de type tropical humide avec un faciès littoral, caractérisé par quatre saisons, dont une grande saison des pluies (avril à mi-juillet) et une petite saison pluvieuse (septembre à novembre), une grande saison sèche (décembre à mars) et une petite saison sèche (mi-juillet à septembre). Cette zone est caractérisée par une pluviométrie moyenne relativement abondante, allant de 1203,6 mm à 1392 mm de pluie par an et une température moyenne mensuelle d'environ 26°C.

La ville de San Pedro souffre de véritables lacunes d'assainissement. Le ramassage des ordures ménagères qui doit être assuré par les services techniques de la mairie est quasi-inexistant, occasionné par le mauvais état de la voirie. Les ordures sont alors déversées à même le sol dans les quartiers. Les décharges actuelles ne respectent pas les normes de salubrité. Les travaux de constructions de l'incinérateur de déchets du programme de management environnemental n'ont été effectués qu'à 50% [53].

La quasi-absence de canalisation pour évacuer les eaux usées et pluviales, occasionne une présence permanente de nombreux points d'eau stagnante. Ces différents facteurs additionnés aux conditions de pluviométrie et de température favorisent la prolifération de l'anophèle femelle et partant, la transmission permanente du paludisme.

I-3- POPULATION D'ETUDE

Elle était constituée d'enfants d'âge scolaire fréquentant les écoles primaires sélectionnées et recrutés selon les critères suivants :

❖ Critères de sélection

Critères d'inclusion

Etaient inclus dans l'étude, les écoliers :

- d'âge allant de 4 à 16 ans quel que soit le sexe et présents dans la zone d'étude depuis au moins 2 mois ;
- inscrits dans les écoles choisis pour l'étude ;
- dont les parents ou les tuteurs légaux ont signé les fiches de consentement éclairé ;
- dont l'assentiment éclairé a été obtenu par l'élève de 9 ans et plus.

Critères de non inclusion

N'ont pas été sélectionnés, les élèves :

- présentant les signes de paludisme grave ou absents du site le jour de l'enquête ;
- qui avaient reçu un traitement antipaludique durant les 7 jours précédant l'enquête.

❖ Taille de l'échantillon

La formule de Schwartz a été utilisée pour déterminer la taille de l'échantillon :

$$N = E^2 \cdot (PQ) / i^2$$

Avec :

N : taille de l'échantillon

E : taux de confiance à 95% (valeur type $t = 1,96$)

P : proportion estimable de la population présentant la caractéristique étudiée (P=63%) [47]

Q : proportion de la population ne présentant pas la caractéristique étudiée (Q=1-P=37%)

i : risque d'erreur ($i=0,05$)

$$N = 1,96^2 (0,63 \times 0,37) / (0,05^2)$$

$$N = 358,19$$

L'échantillon minimal de notre étude devait être de 358 enfants.

I-4- MATERIEL ET REACTIFS DE LABORATOIRE

→ **Pour les gouttes épaisses, les frottis sanguins et les confettis**

Ils étaient constitués par :

- des microscopes optiques binoculaires ;
- des lames porte-objets ;
- des lancettes stériles ;
- du coton hydrophile ;
- des gants propres ;
- des thermomètres (thermoflash) ;
- des compteurs manuels de cellules ;
- des aiguilles à ailettes ;
- des corps vacutainer™ ;
- des boîtes de sécurité ;

- des tubes de prélèvement (tube violet avec anticoagulant „EDTA”) ;
- des micropipettes 1-200 µl ;
- des portoirs pour tube de prélèvement ;
- des coffrets de rangement de lames ;
- des cryotubes ;
- des glacières ;
- des accumulateurs de froid ;
- des garrots ;
- un appareil GPS pour la localisation ;
- des bacs de coloration de lames ;
- des stylos et marqueurs ;
- de gel hydro alcoolique ;
- des papiers essuie-tout ;
- des papiers Whatman n°3 pour les confettis ;
- des antipaludiques et du paracétamol ;
- une solution de Giemsa pure ;
- du méthanol pur ;
- de l'éthanol à 70° ;
- de l'huile à immersion ;
- de l'eau de javel ;
- du savon liquide.

→ **Pour la PCR nichée**

Ce sont :

- des gants en nitrile sans talc ;
- des microtubes de 0,2 ml, 0,5 ml, 1,5 ml ;
- des tubes stériles à fond conique de 15 ml, 50 ml ;
- des pipettes de 10 µl, 20 µl, 200 µl, 1000 µl ;
- des embouts à filtre de 10 µl, 200 µl, 1000 µl ;

- un kit d'extraction d'ADN de *ZYMO RESEARCH*
- une microcentrifugeuse
- un agitateur ;
- des marqueurs indélébiles ;
- une cuve à électrophorèse ;
- des peignes de 16 dents ;
- une hotte ;
- une balance type *METTLER PM600* et une spatule ;
- du papier aluminium ;
- des erlenmeyers ;
- une éprouvette graduée de 250 ml ;
- un thermocycleur de type *Simpli Amp* de *Applied Biosyst* ;
- un transilluminateur UV de marque *Biocom* ;
- un générateur de courant électrique
- un système photo *VWR* ;
- de la parafilm ;
- un microonde de marque *HAIER* ;
- des pissettes (javel et alcool) ;
- des poubelles (pour les déchets contaminés et non contaminés)
- de l'agarose ;
- des témoins négatif (eau physiologique) et positif (spécifique à l'espèce)
- de l'eau *RNase free* ;
- un marqueur de taille (*GeneRuler 100-1500 bp Plus DNA Ladder, ThermoScientific*) ;
- un tampon de charge (*Gel Loading Dye Blue (6X), BioLabs®*) ;
- un marqueur fluorescent de l'ADN, le BET (bromure d'éthidium, *ThermoScientific*) ;

- une solution tampon, le TAE 1X (Tris Acétate d'EDTA) ph = 8 de marque *BioLabs*[®];
- la Taq polymérase (*One Taq 2X Master Mix with Standard Buffer, Eurobio Life Science*).

II- METHODES

II-1- TYPE D'ETUDE

Il s'agit d'une étude transversale.

II-2- PROCEDURES

L'enquête a été réalisée par une équipe de recherche constituée d'un médecin, d'un ingénieur biologiste, d'un technicien biologiste et d'un étudiant en thèse.

Elle avait pour but d'évaluer les performances (sensibilité, spécificité, valeurs prédictives) de la PCR nichée comparativement à la microscopie considérée comme la technique de référence.

II-2-1- Recrutement

Avant le démarrage de l'étude, un courrier était adressé aux Inspecteurs des Enseignements primaires de Grand-Bassam, d'Abengourou et de San Pedro ainsi qu'aux différents Directeurs départementaux de la santé.

Après l'autorisation de ces autorités administratives, les responsables des écoles sélectionnées ont été contactés afin de recevoir des explications sur le déroulement de l'étude.

Les écoliers ont été inclus dans l'étude par un sondage en grappe à deux degrés. Ainsi, dans chaque site (milieu rural ou urbain), 6 classes ont été tirées au sort, et il a été procédé, dans chaque classe sélectionnée, au tirage par "pas de

sondage" de 11 élèves ; soit un total de 66 écoliers par site. Les formulaires de consentement éclairé ont été distribués.

Un questionnaire a été administré à chaque écolier et/ou parent d'écolier pour recueillir les données socio-démographiques et cliniques. Chaque élève a été recruté dans sa classe en présence de son instituteur de niveau.

Après signature du consentement éclairé, la température était prise par le thermoflash au niveau temporal, puis une fiche d'enquête était remplie (voir **annexe V**) par le médecin de l'équipe et enfin un prélèvement sanguin veineux était réalisé sur l'enfant par le technicien biologiste.

II-2-2- Prélèvement

Le prélèvement veineux a été fait au pli du coude. Cette partie du corps est désinfectée avec un tampon imbibé d'alcool éthylique à 70°C puis à l'aide d'une aiguille stérile, d'un corps de prélèvement et d'un tube contenant un anticoagulant EDTA (tube violet), le sang était recueilli.

Les échantillons de sang prélevés ont été ensuite acheminés dans les différents laboratoires en fonction des sites d'étude pour la confection de frottis mixtes (goutte épaisse et frottis mince sur la même lame). En parallèle, un confetti de sang total (dépôt de 3 gouttes de sang sur du papier Whatman) par sujet a été confectionné pour le diagnostic moléculaire du paludisme. Il a été séché pendant 24 heures à la température du laboratoire à l'abri de la poussière avant d'être conservé dans un sachet „*Zip Bag*“ contenant du silicagel.

II-2-3- Techniques utilisées

✓ Réalisation du frottis mixte

❖ Mode opératoire du frottis sanguin mince [120]

On dépose une petite goutte de sang à l'extrémité d'une lame L1 propre et bien dégraissée ; une deuxième lame L2 placée au contact de la goutte à environ 45° par rapport à l'horizontale, permet un étalement du sang par capillarité.

D'un mouvement rectiligne uniforme, le sang est étalé sur la première moitié de la lame L1. Le frottis, ainsi confectionné, est rapidement séché par agitation pour éviter que les hématies soient crénelées. A l'aide d'un crayon à papier, nous avons porté le numéro d'identification de l'élève sur le frottis ; le frottis séché est ensuite fixé avec du méthanol pur.

❖ Mode opératoire de la goutte épaisse [1 ; 118]

Une goutte de sang est déposée sur la deuxième partie de la lame L1 (nous avons utilisé la technique du double étalement). Avec la pointe de la lame L2, on réalise des mouvements circulaires d'environ un centimètre de diamètre. La goutte épaisse est ensuite séchée à la température du laboratoire.

❖ Coloration

Elle est faite avec une solution de GIEMSA diluée au 1/10^{ième}, préparée de façon extemporanée. Le frottis sanguin et la goutte épaisse fixés sur la lame L1 (posée horizontalement) sont entièrement recouverts du GIEMSA pendant 15 minutes. Après rinçage, la lame est séchée à la température du laboratoire.

❖ Examen du frottis mixte

On met tout d'abord une goutte d'huile à immersion sur chaque étalement, et on fait la lecture au microscope à immersion (grossissement x100).

❖ Détermination de la parasitémie [94]

Le décompte porte sur le nombre de trophozoïtes par champ microscopique.

La goutte épaisse permet de déterminer la parasitémie. Celle-ci consiste à parcourir la lame tout en comptant simultanément le nombre de trophozoïtes et de leucocytes rencontrés. La parasitémie P est calculée comme suit :

$$P = \frac{N \times B}{C}$$

Ainsi :

- Si le nombre de trophozoïtes (N) pour 200 globules blancs comptés est supérieur ou égal à 100, on a :

$$P = \frac{N \times 8000}{200}$$

- Si le nombre de trophozoïtes (N) pour 200 globules blancs comptés est inférieur à 100, poursuivre jusqu'à 500 globules blancs, on a :

$$P = \frac{N \times 8000}{500}$$

Avec :

P : densité parasitaire (trophozoïtes / microlitre de sang)

N : nombre de trophozoïtes comptés dans un certain nombre de champs

B : 8000 leucocytes par microlitre de sang

C : nombre de leucocytes comptés dans le même champ

La lecture microscopique pour la recherche de *Plasmodium* est effectuée par deux techniciens indépendants. Un troisième sera nécessaire s'il y a une discordance de plus de 50% en ce qui concerne la parasitémie.

La densité parasitaire finale est calculée à partir de la moyenne des valeurs les plus proches.

✓ Réalisation de la PCR nichée

❖ Mode opératoire

La PCR nichée ou *Nested PCR* est une modification de la PCR classique dans le but de réduire la quantité de produits non spécifiques consécutifs à la liaison des amorces ou *primers* à des sites inattendus. La réaction en chaîne par polymérase en elle-même est un processus qui permet d'amplifier des séquences d'ADN *via* l'utilisation d'une ADN polymérase thermorégulée [113].

La PCR conventionnelle requiert des amorces complémentaires aux extrémités de la cible ADN. La liaison des amorces à des sites incorrects est un problème récurrent aboutissant à l'amplification de séquences inattendues. Ainsi, la PCR nichée permet, par l'implication de deux paires d'amorces utilisées successivement de limiter ce phénomène, la seconde paire d'amorces étant censée amplifier une séquence se trouvant au sein du produit de la première PCR.

Les amorces spécifiques du genre sont rPLU5 et rPLU6. Celles qui ont été utilisées pour la détermination des espèces sont : rFAL1/rFAL2 (pour *P. falciparum*), rVIV1/rVIV2 (pour *P. vivax*), rOVA1/ rOVA2 (pour *P. ovale*) et rMAL1/rMAL2 (pour *P. malariae*) (**tableau III**).

Tableau III : Les amorces de la PCR nichée pour la détection des espèces plasmodiales [113]

Espèces	Amorces	Séquence (5' – 3')	Taille du produit PCR (bp)
<i>Plasmodium sp.</i>	rPLU5 rPLU6	CCTGTTGTTGCCTTAAACTTC TTAAAATTGTTGCAGTTAAAACG	1,100
<i>P. falciparum</i>	rFAL1 rFAL2	TTAAACTGGTTTGGGAAAACC AAATATATT ACACAATGAACTCAATCATGA CTACCCGTC	205
<i>P. vivax</i>	rVIV1 rVIV2	CGCTTCTAGCTTAATCCACAT AACTGATAC ACTTCCAAGCCGAAGCAAAGA AAGTCCTTA	120
<i>P. ovale</i>	rOVA1 rOVA2	ATCTCTTTTGCTATTTTTTATAG TATTGGAGA GGAAAAGGACACATTAATTGT ATCCTAGTG	800
<i>P. malariae</i>	rMAL1	ATAACATAGTTGTACGTTAAG AATAACCGC	144

	rMAL2	AAAATTCCCATGCATAAAAAA TTATACAAA	
--	-------	---------------------------------	--

➤ Extraction de l'ADN plasmodial

L'extraction de l'ADN est une étape indispensable à la réalisation de la PCR. Elle permet d'isoler l'ADN de cellules plasmodiales.

L'ADN ainsi extrait, peut être utilisé pour des analyses moléculaires telles que la « *Nested* » PCR afin d'identifier les espèces plasmodiales [63].

Le kit *Universal Quick-DNA™* de *ZYMO RESEARCH* a été utilisé pour l'extraction de l'ADN plasmodial à partir de confettis de sang.

Protocole :

N.B. : Ajouter 1,060 µl de tampon de stockage dans chaque tube contenant 20 mg de Protéinase K et conserver à -20°C

1. Pour un échantillon de sang séché dans un microtube EPPENDORF, ajouter une solution de :
 - 95 µl d'eau *RNase free*
 - 95 µl de *Solid Tissue Buffer (BLUE)*
 - 10 µl de *Protéinase K*
2. Vortexer 10 - 15 secondes, puis incuber le tube à 55°C pendant 1 à 3 heures ou jusqu'à ce que ce tissu soit solubilisé. Vortexer avant de poursuivre.
3. Ajouter 400 µl de *Genomic Binding Buffer* pour digérer la digestion. Vortexer 10 - 15 secondes.

4. Transférer le mélange dans une **colonne *Zymo-Spin IIC-XL*** dans un tube collecteur. Centrifuger à 12 000 tours/min pendant une minute. Eliminer le tube collecteur contenant le filtrat de centrifugation et placer la colonne dans un nouveau tube collecteur.
5. Ajouter 400 µl de ***DNA Pre-Wash Buffer***. Centrifuger à 12 000 tours/min pendant une minute. Vider le tube collecteur.
6. Ajouter 700 µl de ***g-DNA Wash Buffer*** et centrifuger à 12 000 tours/min pendant une minute. Vider le tube collecteur.
7. Ajouter 200 µl de ***g-DNA Wash Buffer*** et centrifuger à 14 000 tours/min pendant une minute. Eliminer les tubes collecteurs contenant le filtrat de centrifugation et placer la colonne dans un nouveau microtube.
8. Ajouter 100 µl de ***DNA Elution Buffer***, incubé pendant cinq (5) minutes à température ambiante et centrifuger à 12 000 tours/min pendant une minute.

➤ Préparation des solutions

Préparer le „master mix“ ou mélange réactionnel en fonction du nombre total d'échantillons à traiter par réaction selon le **tableau IV**. Le volume du mélange réactionnel, par tube sans ADN, est de **23 µl** pour **2 µl** d'ADN, soit un total de **25 µl** par tube.

Tableau IV : Composition du „master mix“ 1 pour la première amplification

Réactifs	Concentration	Volume / réaction en µl
Amorce rPLU5 (10 µM)	0,250 µM	0,5
Amorce rPLU6 (10 µM)	0,250 µM	0,5
<i>One Taq 2X Master Mix with Standard Buffer</i>	1X	12,5

H₂O	qsp	9,5
Total		23

N.B. : le *Master Mix* contient des dNTP (désoxyribonucléotide triphosphate), du MgCl₂, des tampons (Tris HCl, KCl) et des stabilisants de la réaction.

Préparer le „master mix“ pour la deuxième amplification en fonction du nombre d'échantillons à traiter par réaction selon le **tableau V**, (23 µl par échantillon) pour chacune des quatre espèces plasmodiales.

La quantité d'ADN à ajouter (amplicon de la première PCR) est **2 µl**, soit un total de **25 µl** par tube.

Tableau V : Composition du „master mix“² pour la deuxième amplification

Réactifs	Concentration	Volume / réaction en µl
Amorce 1 (10 µM)*	0,250 µM	0,5
Amorce 2 (10 µM)*	0,250 µM	0,5
<i>One Taq 2X Master Mix with Standard Buffer</i>	1X	12,5
H ₂ O	qsp	9,5
Total		23

*Les amorces spécifiques de chaque espèce sont :

- Pour *P. falciparum* : rFAL1/rFAL2
- Pour *P. vivax* : rVIV1/rVIV2
- Pour *P. ovale* : rOVA1/rOVA2

- Pour *P. malariae* : rMAL1/rMAL2

➤ Technique

Première amplification utilisant les amorces rPLU5 et rPLU6 (**tableau IV**)

- Porter des gants en nitrile et nettoyer l'aire de travail ainsi que les pipettes ;
- Placer les réactifs dans un plateau de glace ;
- Identifier les tubes nécessaires pour la réaction PCR envisagée ;
- Préparer le „master mix“ 1 ;
- Ensuite, repartir dans chaque tube 23 µl du „master mix“ 1 ;
- Ajouter 2 µl d'extrait d'ADN dans chaque tube correspondant au numéro d'échantillon ;
- Bien fermer les tubes et les placer dans le thermocycleur pour la première amplification en utilisant le programme ci-dessous :

Programme de la **première amplification** rPLU5/rPLU6 :

1. Dénaturation initiale à 95°C pendant 5 minutes ;
2. Hybridation à 58°C pendant 2 minutes ;
3. Extension à 72°C pendant 2 minutes ;
4. Dénaturation à 94°C pendant 1 minute ;
5. 24 cycles de l'étape 2 à 4 ;
6. Hybridation à 58°C pendant 2 minutes ;
7. Extension finale à 72°C pendant 5 minutes ;
8. 10°C durée illimitée pour la fin de l'amplification ;
9. Sortir les tubes et les garder à +4°C.

Deuxième amplification utilisant les amorces spécifiques aux espèces plasmodiales (**tableau V**)

- Etiqueter les tubes pour la 2^{ème} amplification en fonction de chaque espèce plasmodiale en portant les numéros précédents ;
- Préparer le „master mix“² ;
- Repartir dans chaque tube 23 µl du „master mix“² ;
- Ajouter 2 µl du produit de la 1^{ère} amplification (amplicon) dans chaque tube correspondant ;
- Placer les tubes dans le thermocycleur pour la deuxième amplification en utilisant le programme ci-dessous :

Programme de la **deuxième amplification** spécifique d'espèces :

1. Dénaturation initiale à 95°C pendant 5 minutes ;
2. Hybridation à 58°C pendant 2 minutes ;
3. Extension à 72°C pendant 2 minutes ;
4. Dénaturation à 94°C pendant 1 minute ;
5. 30 cycles de l'étape 2 à 4 ;
6. Hybridation à 58°C pendant 2 minutes ;
7. Extension finale à 72°C pendant 5 minutes ;
8. 10°C durée illimitée pour la fin de l'amplification ;
9. Enlever les tubes du thermocycleur et les placer à +4°C dans le réfrigérateur si l'électrophorèse n'est pas systématique.

❖ Electrophorèse sur gel d'agarose

Faire une migration électrophorétique avec 5 µl du produit de la dernière amplification sur gel d'agarose à 1,5% contenant du bromure d'éthidium (0,5 µg/ml) en présence d'un témoin négatif. Le bromure d'éthidium est un marqueur d'acide nucléique.

Le générateur électrique était réglé à 100 volts et la migration était réalisée de la cathode (-) vers l'anode (+) en tenant compte de la masse des acides nucléiques. La durée était de 30 mn. Un transilluminateur UV a été utilisé pour observer les différentes bandes d'ADN fluorescente. L'estimation de la taille des fragments est faite grâce à la comparaison avec l'échelle de marqueur de taille moléculaire (*DNA-ladder*) utilisée simultanément dans un autre puits lors de la migration.

Le gel est photographié avec un appareil photo numérique. Les images sont ensuite interprétées.

En ayant connaissance de la taille des fragments obtenus, nous avons été directement en mesure de déterminer l'espèce plasmodiale (**figure 12**).

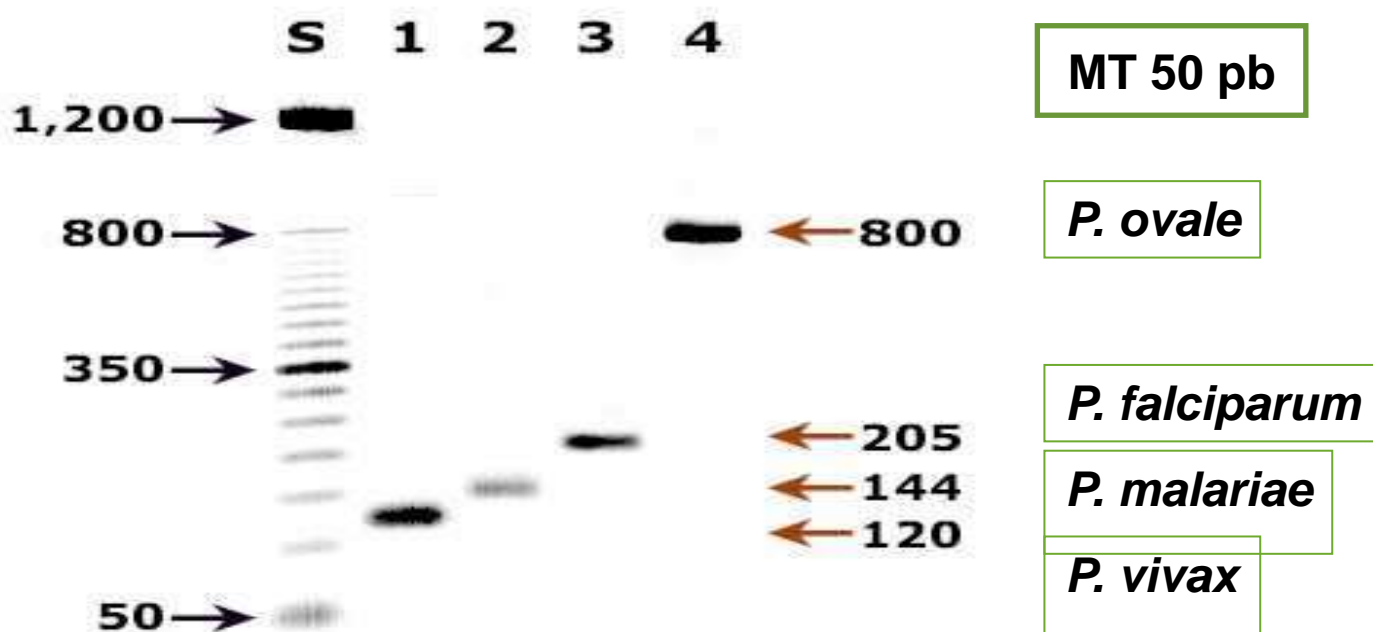


Figure 12 : Exemple de séparation sur gel d'agarose [26]

Ligne S : Marqueur de poids moléculaire standard (50-bp *ladder*).

Ligne 1 : La flèche montre la bande de diagnostic pour *P. vivax* (120 pb).

Ligne 2 : La flèche montre la bande de diagnostic pour *P. malariae* (144 pb).

Ligne 3 : La flèche montre la bande de diagnostic pour *P. falciparum* (205 pb).

Ligne 4 : La flèche montre la bande de diagnostic pour *P. ovale* (800 pb).

II-3- ANALYSES STATISTIQUES DES DONNEES

Les données collectées ont fait l'objet d'une codification et d'une saisie grâce aux logiciels informatiques **Epi Data 3.1**, **Excel 2010** et **Word 2010**. L'analyse a consisté à l'utilisation du logiciel SPSS version 16.0 pour Windows. Les données ont été présentées sous forme de pourcentage, effectif et moyenne à l'aide de tableaux et des graphiques (histogramme, diagramme circulaire).

Le test statistique du **Khi-Deux** a été choisi pour le croisement des données au seuil d'erreur de 5%.

Pour $p < 0,05$, la différence trouvée est dite statistiquement significative,

Pour $p \geq 0,05$, la différence trouvée est dite non significative au seuil de 5%.

II-4- CONSIDERATIONS ETHIQUES

Avant la mise en œuvre de cette étude, le protocole a été soumis et a reçu l'approbation (N°020/MSLS/CNER-dkn) du Comité National d'Ethique et de la Recherche de Côte d'Ivoire (CNER-CI) (**voir annexe I**). Il a été conduit conformément au texte de la Déclaration d'Helsinki adopté par la 18^{ème} Assemblée Médicale Mondiale en 1964 et à ses amendements, aux recommandations ICH concernant les études cliniques ainsi qu'aux lois et réglementations nationales de la Côte d'Ivoire.

➤ Formulaire d'information aux patients

Le parent d'enfant ou son représentant légal a reçu des explications sur le but et les modalités de l'étude. Pour les sujets incapables de lire et de comprendre la langue française, la notice d'information leur a été lue et expliquée dans la langue locale devant un témoin (**voir annexe II**).

➤ Formulaire de consentement éclairé des patients

Le parent ou le représentant légal de l'enfant a donné son consentement par écrit (date et signature) sur le formulaire de consentement éclairé. Dans le cas où l'une de ces personnes ne pouvait signer, elle apposait son empreinte digitale sur le formulaire de consentement.

L'investigateur ou son collaborateur a également signé et daté le formulaire de consentement.

Il est à noter que le parent ou le tuteur légal de l'élève était tout à fait libre de retirer à tout moment de l'étude son enfant ou son protégé, sans être sanctionné d'une quelconque façon (**voir annexe III**).

➤ Formulaire d'assentiment éclairé

L'enfant, âgé de 9 ans et plus, a donné son assentiment par écrit (date et signature) sur le formulaire d'assentiment éclairé. Dans le cas où l'enfant ne pouvait signer, il apposait son empreinte digitale sur ledit formulaire.

L'investigateur ou son collaborateur a également signé et daté le formulaire d'assentiment (**voir annexe IV**).

Chapitre II : RESULTATS

I. DONNÉES ÉPIDÉMIOLOGIQUES GLOBALES

Au total, 360 écoliers ont été recrutés dans cette étude.

I-1- SEXE

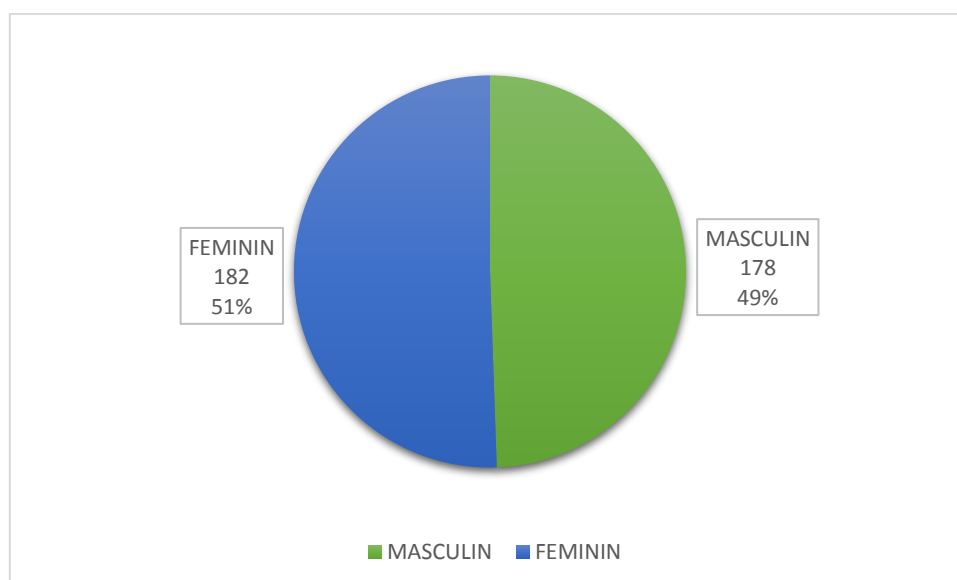


Figure 13 : Répartition des écoliers selon le sexe

Lors de notre étude, les sujets de sexe féminin étaient les plus nombreux (51%). Le sex-ratio était de 0,98.

I-2- AGE

Tableau VI : Répartition des écoliers selon l'âge

Tranches d'âge (an)	Effectifs (n)	Pourcentage (%)
[4-6]	54	15,0
[7-9]	143	39,7
[10-12]	114	31,7
[13-16]	49	13,6
Total	360	100,0

Age moyen = 9,3 ans

Ecart-type = 2,580 ans

Minimum = 4 ans

Maximum = 16 ans

Les écoliers, d'âge compris entre 7 et 9 ans, étaient les plus représentés dans cette étude, avec 39,7%.

I-3- RÉPARTITION DES ECOLIERS SELON LA LOCALITE

Tableau VII : Répartition des écoliers selon la localité

Localité	Effectifs (n)	Pourcentage (%)
Grand-Bassam	89	24,7
Abengourou	129	35,8
San Pedro	142	39,5
Total	360	100,0

Les écoliers d'Abengourou et de San Pedro étaient les plus représentés, avec respectivement 35,8% et 39,5%.

I-4- RÉPARTITION DES ECOLIERS SELON LA ZONE D'HABITATION

Tableau VIII : Répartition des écoliers selon la zone d'habitation

Etablissements scolaires / Zones d'habitation		Effectifs (n)	Pourcentage (%)
Grand-Bassam			
- EPP Vitré 1A	} zone rurale	62	17,2
- EPP Azuretti 1			
- EPP Mondoukou			
- EPP Ablé municipalité	} zone urbaine	27	7,5
- EPP Château d'eau 1			
- EPP Bassam 4			
Abengourou			
- EPP IRCC	} zone rurale	66	18,1
- EPP Assèkro			
- EPP Touzoukro			
- EPP Plateau 2	} zone	63	17,7
- EPP Agni 1			
urbaine			
- EPP Agni extension			

San Pedro			
- EPP Kablaké	} zone rurale	80	22,2
- EPP Cité agricole			
- EPP Baba 2			
- EPP Zimbabwe 1	} zone urbaine	62	17,3
- EPP Sotref 1			
- EPP Bardot ouest			
Total		360	100,0

Notre population d'étude provenait plus des écoles situées en zone rurale, soit 57,5%.

I-5- RÉPARTITION DES ECOLIERS EN FONCTION DE L'UTILISATION DES MOYENS DE PRÉVENTION

Tableau IX : Répartition des écoliers en fonction de l'utilisation des moyens de prévention

Utilisation des moyens de prévention	Effectifs (n)	Pourcentage (%)
Moustiquaires Imprégnés d'Insecticides (MII)	108	30
Insecticides	41	11,4
MII + Insecticides	79	21,9
Aucun	132	36,7

Il ressort de ce tableau que, 63,3% des écoliers utilisaient au moins un moyen de prévention contre le paludisme, avec 30% d'utilisateurs de moustiquaires imprégnées d'insecticides uniquement.

II. DONNEES CLINIQUES

II-1- REPARTITION DES ECOLIERS SELON LA TEMPERATURE CORPORELLE

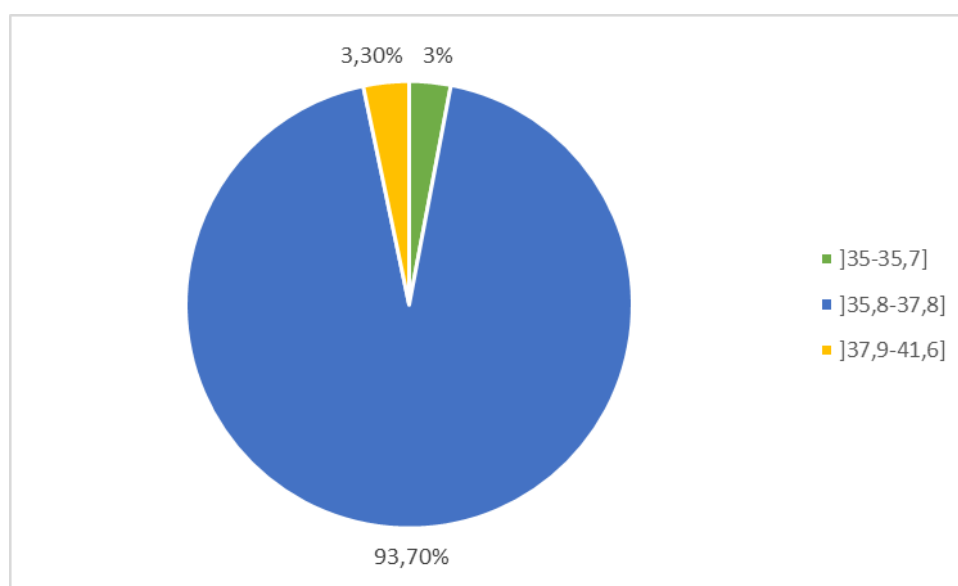


Figure 14 : Répartition des écoliers en fonction de la température corporelle

Température moyenne = 36,7°C

Ecart-type = 1,37

Minimum = 35°C

Maximum = 41,6°C

Au cours de notre étude, 337 (93,7%) écoliers présentaient une température normale comprise entre 35,8 et 37,8°C* et 12 (3,3%) une hyperthermie (température supérieure à 37,8°C).

*avec le *Thermoflash*, toute température comprise entre 35,8 et 37,8°C est considérée comme normale.

II-2- REPARTITION DES ECOLIERS SELON LES SIGNES CLINIQUES

Tableau X : Répartition des écoliers selon les signes cliniques

Signes cliniques	Effectif (n)	Pourcentage (%)
Céphalées	89	30
Douleurs abdominales	52	17
Pâleur des conjonctives	50	16,6
Nausées	21	7
Diarrhées	18	6,6
Arthralgies	17	6
Autres	16	5,6
Vomissements	14	4,6
Fièvre	12	3,3
Frissons	12	3,3

Le signe clinique majeur associé au paludisme était la présence de céphalées chez les écoliers (30%).

La pâleur des conjonctives, les douleurs abdominales et les nausées constituaient entre autres les symptômes les plus retrouvés.

Plusieurs signes pouvaient être retrouvés chez un même écolier à l'inclusion.

III. DONNEES PARASITOLOGIQUES

III-1- RESULTATS GLOBAUX

III-1-1- Indice plasmodique

Sur l'ensemble des trois sites d'étude, nous avons reçu 360 écoliers dont 247 ont présenté une goutte épaisse positive, d'où un indice plasmodique de 68,6%.

III-1-2- Infestation plasmodiale

Tableau XI : Infestation plasmodiale à la microscopie

Espèces parasitaires	Effectifs (n)	Pourcentage (%)
<i>P. falciparum</i>	232	94
<i>P. malariae</i>	1	0,4

<i>P. falciparum</i> + <i>P. malariae</i>	10	4
<i>P. ovale</i>	1	0,4
<i>P. falciparum</i> + <i>P. ovale</i>	3	1,2
Total	247	100,0

Parmi les porteurs de parasites, *Plasmodium falciparum* constituait l'espèce majoritairement retrouvée sur les frottis sanguins avec 99,2% (n = 245/247), suivie de *P. malariae* (4,4%) et de *P. ovale* (1,6%).

III-1-3- Densité parasitaire

Tableau XII : Répartition des écoliers selon la densité parasitaire

Densité parasitaire (tpz/ μ l)	Effectifs (n)	Pourcentage (%)
≤ 100	54	21,9
[101-1000]	86	34,8
[1001-4999]	66	26,7
≥ 5000	41	16,6
Total	247	100,0

Parasitémie moyenne = 2110,3 trophozoïtes/ μ l

Ecart-type = 6529,31

Minimum = 16 trophozoïtes/ μ l

Maximum = 79520 trophozoïtes/ μ l

La prévalence des écoliers, qui avaient une densité parasitaire comprise entre 101 et 1000 trophozoïtes/ μ l, était de 34,8%.

III-2- DONNEES ANALYTIQUES

III-2-1- Indice plasmodique en fonction des paramètres socio-démographiques

Tableau XIII : Indice plasmodique en fonction des paramètres socio-démographiques

Paramètres sociodémographiques	GE+	GE-	Valeurs de p
[4-6]	31	23	
Tranche d'âge [7-9]	101	42	0,169
[10-12]	84	30	

n= 360 ; 100%	[13-16]	31	18	
	Grand-Bassam	52	37	
Localité	Abengourou	90	39	0,034
n= 360 ; 100%	San Pedro	105	37	
	Rurale	151	56	
Zone	Urbaine	96	57	0,025
n= 360 ; 100%	Pluvieuse	144	57	
Saison	Sèche	103	56	0,205

GE+ = goutte épaisse positive ; GE- = goutte épaisse négative

III-2-2- Indice spécifique en fonction de l'âge

Tableau XIV : Indice spécifique en fonction de l'âge

Espèces parasitaires	Tranche d'âge (an)				Total
	[4-6]	[7-9]	[10-12]	[13-16]	
<i>P. falciparum</i>	29	92	82	29	232
<i>P. malariae</i>	2	7	1	1	11
<i>P. ovale</i>	0	2	1	1	4
Total	31	101	84	31	247

Parmi les sujets infestés, les écoliers de 7 à 9 ans étaient les plus atteints en raison de 101/247, soit 40,8%, et l'espèce en cause était *Plasmodium falciparum* avec 39,6% (n = 92/232).

$p = 0,171 \geq 0,05$, les différences observées ne sont pas statistiquement significatives. Il n'y a pas de lien entre la répartition des espèces parasitaires et l'âge.

III-2-3- Indice spécifique en fonction de la localité

Tableau XV : Indice spécifique en fonction de la localité

Espèces parasitaires	Localité			Total
	Grand-Bassam	Abengourou	San Pedro	
<i>P. falciparum</i>	48	84	100	232
<i>P. malariae</i>	3	6	2	11
<i>P. ovale</i>	1	0	3	4
Total	52	90	105	247

Sur 11 espèces de *Plasmodium malariae*, 54,5% (n=6/11) ont été retrouvées à **Abengourou**, et 3 espèces de *P. ovale* sur 4 ont été retrouvées à **San Pedro**.

$p = 0,066 \geq 0,05$, les différences observées ne sont pas statistiquement significatives. Il n'y a pas de lien entre la répartition des espèces parasitaires et la localité.

III-2-3- Indice spécifique en fonction de la zone d'habitation

Tableau XVI : Indice spécifique en fonction de la zone d'habitation

Espèces	Zone d'habitation	

parasitaires	Grand-Bassam		Abengourou		San Pedro		Total
	zone rurale	zone urbaine	zone rurale	zone urbaine	zone rurale	zone urbaine	
	<i>P. falciparum</i>	39	9	40	44	61	
<i>P. malariae</i>	2	1	4	2	1	1	11
<i>P. ovale</i>	1	0	0	0	3	0	4
Total	42	10	44	46	65	40	247

Parmi les sujets infestés à la GE, 61,1% ont été retrouvés en zone rurale contre seulement 38,9% en zone urbaine.

$p = 0,304 \geq 0,05$, les différences observées ne sont pas statistiquement significatives. Il n'y a pas de lien entre la répartition des espèces parasitaires et la zone d'habitation.

III-2-4- Indice spécifique en fonction de la saison

Tableau XVII : Indice spécifique en fonction de la saison

Espèces parasitaires	Saison		Total
	Pluvieuse	Sèche	
<i>P. falciparum</i>	134	98	232
<i>P. malariae</i>	8	3	11
<i>P. ovale</i>	2	2	4
Total	144	103	247

Parmi les sujets infestés à la GE, 58% ont été retrouvés en saison pluvieuse contre 42% en zone urbaine.

$p = 0,268 \geq 0,05$, les différences observées ne sont pas statistiquement significatives. Il n'y a pas de lien entre la répartition des espèces parasitaires et la saison.

III-2-5- Densité parasitaire en fonction de l'âge

Tableau XVIII : Densité parasitaire en fonction de l'âge

Densité parasitaire (tpz/ μ l)	Tranche d'âge (an)				Total
	[4-6]	[7-9]	[10-12]	[13-16]	
≤ 100	7	16	18	13	54
[101-1000]	9	33	34	10	86
[1001-4999]	5	34	22	5	66
≥ 5000	10	18	10	3	41
Total	31	101	84	31	247

Les écoliers de 7 à 9 ans ont présenté les densités parasitaires les plus élevées avec 44% ($n = 18/41$).

$p = 0,021 \leq 0,05$, la différence observée est statistiquement significative. Il existe un lien entre la densité parasitaire et l'âge.

III-2-6- Densité parasitaire en fonction de la localité

Tableau XIX : Densité parasitaire en fonction de la localité

Densité	Localité	Total
---------	----------	-------

parasitaire (tpz/ μ l)	Zone d'habitation			Total
	Grand-Bassam	Abengourou	San-Pedro	
≤ 100	11	8	35	54
[101-1000]	25	22	39	86
[1001-4999]	13	34	19	66
≥ 5000	3	26	12	41
Total	52	90	105	247

Les écoliers d'Abengourou avaient les densités parasitaires les plus élevées, avec 63,4% (n = 26/41).

$p = 0,090 \geq 0,05$, les différences observées ne sont pas statistiquement significatives. Il n'y a pas de lien entre la densité parasitaire et la localité.

III-2-7- Densité parasitaire en fonction de la zone d'habitation

Tableau XX : Densité parasitaire en fonction de la zone d'habitation

Densité parasitaire (tpz/ μ l)	Zone d'habitation						Total
	Grand-Bassam		Abengourou		San Pedro		
	zone rurale	zone urbaine	zone rurale	zone urbaine	zone rurale	zone urbaine	

≤ 100	11	0	5	3	19	16	54
[101-1000]	19	6	9	13	30	9	86
[1001-4999]	10	3	17	17	7	12	66
≥ 5000	2	1	13	13	9	3	41
Total	42	10	44	46	65	40	247

Les densités parasitaires les plus élevées ont été retrouvées en zone rurale (58,5% ; n = 24/41).

p = 0,00 ≤ 0,05, la différence observée est statistiquement significative. Il y a un lien entre la densité parasitaire et la zone d'habitation.

III-2-8- Densité parasitaire en fonction de la saison

Tableau XXI : Densité parasitaire en fonction de la saison

Densité parasitaire (tpz/μl)	Saison		Total
	Pluvieuse	Sèche	
≤ 100	42	12	54
[101-1000]	45	41	86

[1001-4999]	36	30	66
≥ 5000	21	20	41
Total	144	103	247

Les densités parasitaires les plus élevées ont été retrouvées en saison pluvieuse (51,2% ; n = 21/41).

$p = 0,011 \leq 0,05$, la différence observée est statistiquement significative. Il existe un lien entre la densité parasitaire et la saison.

III-2-9- Répartition des écoliers selon le type de parasitisme

Tableau XXII : Répartition des écoliers selon le type de parasitisme

Type de parasitisme	Effectifs (n)	Pourcentage (%)
Mono-Infestation	234	94,7
Poly-Infestation	13	5,3
Total	247	100,0

Avec la microscopie, il y avait 5,2% de poly-infestations détectés.

IV. DONNEES MOLECULAIRES

IV-1- RESULTATS GLOBAUX

IV-1-1- Indice plasmodique

Sur l'ensemble des 360 écoliers reçus, 269 ont présenté une PCR nichée positive avec un indice plasmodique de 74,7%.

IV-1-2- Infestation plasmodiale

Tableau XXIII : Infestation plasmodiale à la PCR nichée

Espèces parasitaires	Effectifs (n)	Pourcentage (%)
<i>P. falciparum</i>	202	75,1
<i>P. malariae</i>	4	1,4
<i>P. falciparum</i> + <i>P. malariae</i>	39	14,5
<i>P. ovale</i>	1	0,4
<i>P. falciparum</i> + <i>P. ovale</i>	13	4,8
<i>P. malariae</i> + <i>P. ovale</i>	1	0,4
<i>P. falciparum</i> + <i>P. malariae</i> + <i>P. ovale</i>	9	3,4
Total	269	100,0

Parmi les porteurs de parasites, *Plasmodium falciparum* constituait l'espèce majoritairement retrouvée avec 97,8% (n = 263/269), suivie de *P. malariae* (19,7%), de *P. ovale* (9%) et de 9 cas (2,5%) de triple infestation.

IV-2- DONNEES ANALYTIQUES

IV-2-1- Indice plasmodique en fonction des paramètres socio-démographiques

Tableau XXIV : Indice plasmodique en fonction des paramètres socio-démographiques

Paramètres sociodémographiques		PCR+	PCR-	Valeurs de p
Tranche d'âge n= 360 ; 100%	[4-6]	36	18	0,332
	[7-9]	107	36	
	[10-12]	89	25	
	[13-16]	37	12	
Localité n= 360 ; 100%	Grand-Bassam	53	36	0,062
	Abengourou	101	28	
	San Pedro	115	27	
Zone n= 360 ; 100%	Rurale	164	42	0,055
	Urbaine	105	49	
Saison n= 360 ; 100%	Pluvieuse	156	45	0,083
	Sèche	113	46	

PCR+ = PCR positive ; PCR- = PCR négative

IV-2-2- Indice spécifique en fonction de l'âge

Tableau XXV : Indice spécifique en fonction de l'âge

Espèces parasitaires	Tranche d'âge (an)				Total
	[4-6]	[7-9]	[10-12]	[13-16]	

<i>P. falciparum</i>	23	81	70	28	202
<i>P. malariae</i>	9	19	15	5	48
<i>P. ovale</i>	4	7	4	4	19
Total	36	107	89	37	269

Parmi les sujets infestés, les écoliers de 7 à 9 ans étaient les plus atteints en raison de 107/269, soit 40,7%, et l'espèce en cause était *Plasmodium falciparum* avec 41% (n = 81/202).

$p = 0,332 \geq 0,05$, les différences observées ne sont pas statistiquement significatives. Il n'y a pas de lien entre la répartition des espèces parasitaires et l'âge.

IV-2-3- Indice spécifique en fonction de la localité

Tableau XXVI : Indice spécifique en fonction de la localité

Espèces parasitaires	Localité			Total
	Grand-Bassam	Abengourou	San-Pedro	
<i>P. falciparum</i>	46	69	87	202
<i>P. malariae</i>	6	20	22	48
<i>P. ovale</i>	1	12	6	19
Total	53	101	115	269

Sur 48 espèces de *P. malariae* découvertes à la PCR nichée, 46% (n = 22/48) ont été retrouvées à **San Pedro**, et 12 espèces de *P. ovale* sur 19 ont été retrouvées à **Abengourou**.

$p = 0,062 \geq 0,05$, les différences observées ne sont pas statistiquement significatives. Il n'y a pas de lien entre la répartition des espèces parasitaires et la localité.

IV-2-4- Indice spécifique en fonction de la zone d'habitation

Tableau XXVII : Indice spécifique en fonction de la zone d'habitation

Espèces parasitaires	Zone d'habitation						Total
	Grand-Bassam		Abengourou		San Pedro		
	zone rurale	zone urbaine	zone rurale	zone urbaine	zone rurale	zone urbaine	
<i>P. falciparum</i>	37	9	30	39	51	36	202
<i>P. malariae</i>	5	1	12	9	15	6	48
<i>P. ovale</i>	1	0	9	3	4	2	19
Total	43	10	51	51	70	44	269

Parmi les sujets infestés à la PCR nichée, 61,4% ont été retrouvés en zone rurale contre 38,6% en zone urbaine.

$p = 0,055 \geq 0,05$, les différences observées ne sont pas statistiquement significatives. Il n'y a pas de lien entre la répartition des espèces parasitaires et la zone d'habitation.

IV-2-5- Indice spécifique en fonction de la saison

Tableau XXVIII : Indice spécifique en fonction de la saison

Espèces parasitaires	Saison		Total
	Pluvieuse	Sèche	
<i>P. falciparum</i>	112	90	202
<i>P. malariae</i>	35	13	48
<i>P. ovale</i>	9	10	19
Total	156	113	269

Parmi les sujets infestés à la PCR nichée, 58% ont été retrouvés en saison pluvieuse contre 42% en zone urbaine.

$p = 0,083 \geq 0,05$, les différences observées ne sont pas statistiquement significatives. Il n'y a pas de lien entre la répartition des espèces parasitaires et la saison.

IV-2-6- Répartition des écoliers selon le type de parasitisme

Tableau XXIX : Répartition des écoliers selon le type de parasitisme

Type de parasitisme	Effectifs (n)	Pourcentage (%)
Mono-Infestation	207	77
Poly-Infestation	62	23
Total	269	100,0

Avec la PCR nichée, il y avait 23% de poly-infestations détectés.

V. COMPARAISON ENTRE LES DONNEES MICROSCOPIQUES ET MOLECULAIRES

V-1- PREVALENCE ET PERFORMANCES DE LA TECHNIQUE PCR NICHEE PAR RAPPORT A LA MICROSCOPIE

De manière globale, une prévalence moins élevée de parasites était détectée avec la microscopie optique (**68,6%**, n=247/360) comparée à la PCR nichée (**74,7%**, n=269/360) (**figure 15**).

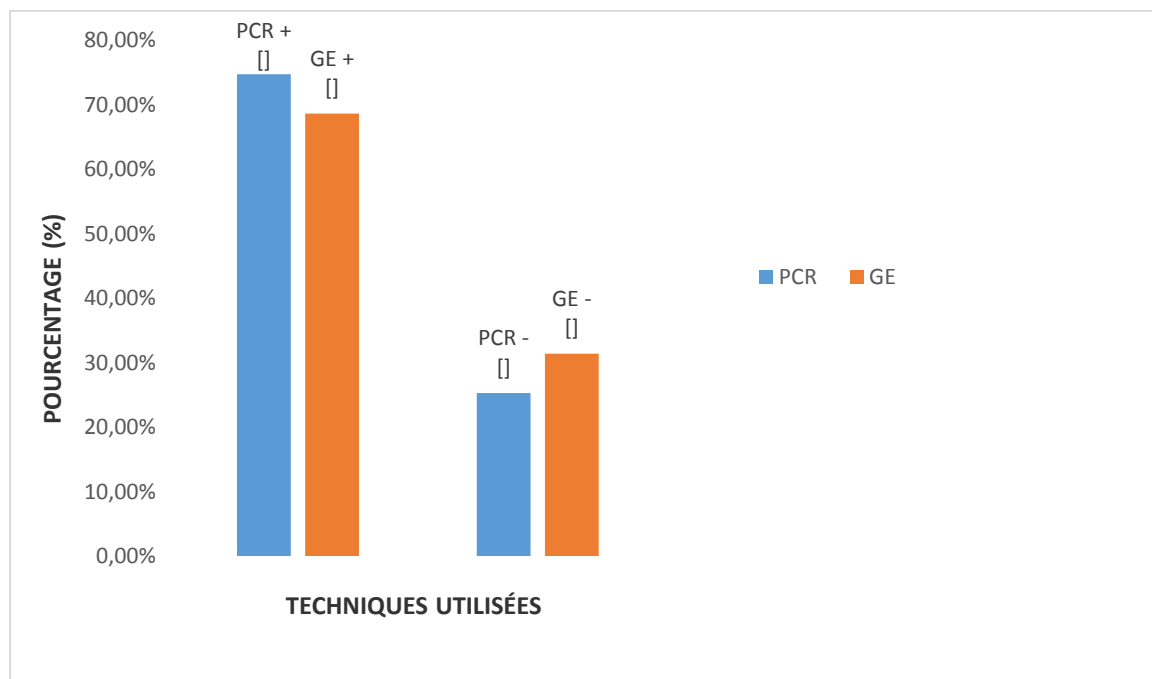


Figure 15 : Prévalence du paludisme chez les écoliers selon la technique utilisée

Tableau XXX : Performances de la PCR nichée en fonction du résultat de la goutte épaisse

Techniques	Goutte épaisse (n)		Total	
	GE+	GE-		
PCR	PCR +	247	22	269
	PCR -	0	91	91
Total		247	113	360

GE+ = goutte épaisse positive ; GE- = goutte épaisse négative ; PCR+ = PCR positive ; PCR- = PCR négative

Parmi les échantillons négatifs avec la microscopie optique (n = 113), il est à noter que l'utilisation de la PCR nichée a permis de mettre en exergue 22 écoliers effectivement porteurs de *Plasmodium*, soit 6,11% (n = 22/360) de parasitémies sub-microscopiques détectées.

La sensibilité de la PCR était de 100% avec une spécificité de 80,5% comparé à la goutte épaisse. Les VPP et VPN étaient respectivement de 91,8% et 100% selon les formules suivantes :

- SENSIBILITE : $Se = \frac{\text{Vrai Positif}}{\text{Vrai Positif} + \text{Faux Négatif}}$
- SPECIFICITE : $Sp = \frac{\text{Vrai Négatif}}{\text{Vrai Négatif} + \text{Faux Positif}}$
- VALEUR PREDICTIVE POSITIVE : $VPP = \frac{\text{Vrai Positif}}{\text{Vrai Positif} + \text{Faux Positif}}$
- VALEUR PREDICTIVE NEGATIVE : $VPN = \frac{\text{Vrai Négatif}}{\text{Vrai Négatif} + \text{Faux Négatif}}$

V-2- COMPARAISON DU TYPE DE PARASITISME SELON LA

TECHNIQUE UTILISEE

Tableau XXXI : Comparaison du type de parasitisme selon la technique utilisée

TECHNIQUE UTILISEE	TYPE DE PARASITISME		TOTAL
	MONO-INFESTATION	POLY-INFESTATION	
MICROSCOPIE	234 (94,8%)	13 (5,2%)	247
PCR NICHEE	207 (77%)	62 (23%)	269

$p = 0,00 \leq 0,05$, la différence observée est statistiquement significative. Il y a un lien entre le type de parasitisme et la technique utilisée.

V-3- COMPARAISON DE LA REPARTITION DES DIFFERENTES

ESPECES PARASITAIRES SELON LA TECHNIQUE UTILISEE

Tableau XXXII : Comparaison de la répartition des différentes espèces parasitaires selon la technique utilisée

MICROSCOPIE	PCR NICHEE							Négatif	Total
	<i>P. falciparum</i>	<i>P. malariae</i>	<i>P. falciparum</i> + <i>P. malariae</i>	<i>P. ovale</i>	<i>P. falciparum</i> + <i>P. ovale</i>	<i>P. malariae</i> + <i>P. ovale</i>	<i>P. falciparum</i> + <i>P. malariae</i> + <i>P. ovale</i>		
<i>P. falciparum</i>	180	1	35	0	11	0	5	0	232
<i>P. malariae</i>	0	0	0	0	1	0	0	0	1
<i>P. falciparum</i> + <i>P. malariae</i>	6	0	2	0	0	0	2	0	10
<i>P. ovale</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>P. falciparum</i> + <i>P. ovale</i>	1	0	1	0	0	0	1	0	3
Négatif	14	3	1	1	1	1	1	91	113
Total	202	4	39	1	13	1	9	91	360

L'examen microscopique des frottis sanguins a révélé 232 cas de *P. falciparum*, un cas de *P. malariae* et un cas de *P. ovale* dans tous les sites d'étude. Treize cas d'infestations mixtes (10 de *P. falciparum* avec *P. malariae* et 3 cas de *P. falciparum* avec *P. ovale*) ont été détectées.

Sur les 232 cas de *P. falciparum* confirmés par examen microscopique, 180 cas (77,5%) étaient des mono-infestations pour *P. falciparum*, 35 cas (15%) étaient

des infestations doubles avec *P. falciparum* et *P. malariae*, 11 cas (4,7%) d'infestations doubles avec *P. falciparum* et *P. ovale* et cinq cas (2,1%) étaient des triples infestations par la PCR nichée.

Sur les 113 cas négatifs confirmés par examen microscopique, 14 cas (12,3%) étaient des mono-infestations pour *P. falciparum*, trois cas étaient des mono-infestations pour *P. malariae*, une mono-infestation pour *P. ovale*, trois cas de double infestation (*P. falciparum* avec *P. malariae*, *P. falciparum* avec *P. ovale* et *P. malariae* avec *P. ovale*) et un cas de triple infestation à la PCR nichée.

P. vivax n'a été détecté ni par microscopie, ni par PCR nichée. En somme, 49 infestations mixtes ont été détectés par la PCR nichée.

Chapitre III :

DISCUSSION

I. ASPECTS EPIDEMIOLOGIQUES

I-1- SEXE

Au total 360 écoliers ont participé à l'étude, dont 178 garçons et 182 filles, soit un sex-ratio de 0,98.

Notre valeur est proche de celle de **VABOU [121]**, qui a enregistré, au cours de ses travaux, un sex-ratio de 0,89 en faveur du sexe féminin, mais différent de celui rapporté par le Ministère de l'Education nationale ivoirien à travers sa direction de l'évaluation et de la planification statistique qui estime le sex-ratio dans les écoles primaires publiques de Côte d'Ivoire à 1,17 en faveur des garçons [33]. Ce sex-ratio en faveur des garçons dans la plupart des pays au sud du Sahel peut s'expliquer par un niveau de scolarisation de la petite fille relativement bas [119].

Au vu de ces résultats, nous pouvons affirmer que le paludisme n'est pas lié au sexe.

I-2- AGE

L'âge moyen des écoliers était de 9,3 ans, avec 39,7% (143/360) des écoliers ayant un âge compris entre 7 et 9 ans. Notre résultat peut s'expliquer par le fait qu'en Côte d'Ivoire, la tranche âge officielle du cycle primaire est de 6 à 11 ans avec une moyenne d'âge de 8,9 ans dans les écoles primaires publiques. La proportion d'élèves de cette tranche d'âge est de 78% [33].

Notre étude a également enregistré les plus grandes charges parasitaires dans cette même tranche d'âge. Cela pourrait s'expliquer par la faible immunité chez les enfants de moins de 10 ans.

I-3- UTILISATION DES MOYENS DE PRÉVENTION

Plus de la moitié (63,3% ; 228/360) des écoliers utilisaient au moins un moyen de prévention contre le paludisme, avec 51,9% (187/360) d'utilisateurs de moustiquaires imprégnées d'insecticides. Ces résultats sont supérieurs à ceux rapportés par l'Institut National de la Statistique lors de son enquête démographique de santé à indicateurs multiples en Côte d'Ivoire en 2015 [59], qui estimait à 33% les ménages utilisateurs de moustiquaires. Cela pourrait s'expliquer par les campagnes de distributions de MII qui ont eu lieu entre 2015 et 2017.

De plus, 33,3% (120/360) des écoliers de notre étude utilisaient des insecticides, résultats proches des données de l'OMS qui estimait, en 2015, à 34,9% les utilisateurs d'insecticides dans les zones de forte transmission palustre [59].

II. ASPECTS CLINIQUES

II-1- REPARTITION DES ECOLIERS SELON LA TEMPERATURE CORPORELLE

La température corporelle moyenne de notre population d'étude était de 36,7°C (écart-type = 1,37) avec un minimum de 35°C et un maximum de 41,6°C.

La majorité des écoliers (93,7%) présentait une température comprise entre 35,8 et 37,8°C, et 3,3% avaient une température supérieure à 37,9°C.

Ce taux de sujets fébriles est différent de ceux de YAO [132] et BOSSE [16] qui sont respectivement de 77,6% et de 72,5%. Il ressort, de notre étude, que seulement 3,3% des écoliers ont présenté une hyperthermie. Ces résultats pourraient être dus au fait que notre population d'étude était constituée de sujets symptomatiques et asymptomatiques.

II-2- REPARTITION DES ECOLIERS SELON LES SIGNES

CLINIQUES

Les signes cliniques les plus fréquents, dans notre étude, étaient les céphalées (30%), les douleurs abdominales (17%), la pâleur des conjonctives (16,6%) et les nausées (7%). Douze écoliers (3,3%) avaient une fièvre.

Ces résultats sont différents de ceux de **BOSSE [16]** qui a relevé une fièvre dans 89,1% des cas comme signe majeur.

De même que **KOUADIO [64]** (fièvre 100%) et **MIEZAN [76]** (fièvre 100%). Par contre, l'ordre et la fréquence des autres signes cliniques diffèrent d'une étude à l'autre. Ainsi, **MAYXAY et al. [72]** rapportaient des signes cliniques variés à l'admission (céphalées, frissons, myalgies, asthénie...) tandis que **AMINLIN [4]** notait fièvre, anorexie, céphalées, frissons...

Au vu de ces résultats, nous pouvons affirmer que les écoliers de notre étude ne présentaient pas le principal signe d'appel du paludisme qui est la fièvre [92].

III. ASPECTS PARASITOLOGIQUES ET MOLECULAIRES

III-1- DONNEES GLOBALES

III-1-1- Infestations plasmodiales

Au cours de notre étude, *Plasmodium falciparum* était majoritairement retrouvé à la microscopie avec un indice d'infestation de 99,2%, suivi de *P. malariae* (4,4%) et de *P. ovale* (1,6%).

A la PCR, *P. falciparum* était toujours majoritaire avec 97,8%, ensuite *P. malariae* (19,7%) et *P. ovale* (9%).

Concernant les infestations mixtes, la microscopie comptait 4% d'infestations par *P. falciparum* et *P. malariae* et 1,2% par *P. falciparum* et *P. ovale*. Tandis que la PCR dénombrait 17,9% d'infestations par *P. falciparum* et *P. malariae*,

8,2% par *P. falciparum* et *P. ovale*, 3,8% par *P. ovale* et *P. malariae* et 2,5% de triple infestation.

ADJI [2] et **VABOU [121]** à Abidjan ont identifié uniquement *Plasmodium falciparum* à la microscopie au cours de leurs études.

De même **YAO [132]** a rapporté un taux d'infestation à *Plasmodium falciparum* de 98,43% et à 1,57% de *Plasmodium ovale*.

Dans le sud-ouest forestier, **N'ZEYIMANA I. et al. [80]** ont également obtenu des taux de 84%, 14% et 2%, respectivement pour *P. falciparum*, *P. malariae* et *P. ovale*. Ce sont autant de résultats qui confirment la responsabilité de *P. falciparum* dans la plupart des cas de paludisme en Côte d'Ivoire et dans le monde.

De plus, une prévalence élevée d'infestations mixtes, en particulier avec *Plasmodium falciparum* et *P. malariae*, indépendamment des sites d'étude ont été observées. En effet, sur 62 poly-infestations (23%), seulement 13 (5,2%) ont été détectés par la microscopie.

La raison pour laquelle la microscopie a échoué à détecter des infestations mixtes pourrait être due à la présence d'un plus grand nombre de parasites d'une espèce par rapport à l'autre ou à la tendance d'une espèce à dominer par rapport à une autre [125].

III-1-2- Densité parasitaire

Lors de notre étude, la densité parasitaire de nos écoliers variait de 16 à 79520 trophozoïtes/ μ l de sang avec une moyenne de 2110,3 trophozoïtes/ μ l de sang.

Ces résultats sont différents de ceux de **BOSSE [16]** qui trouva un résultat supérieur au nôtre avec une parasitémie moyenne de 68138 trophozoïtes/ μ l de sang.

Quant à **NANA [81]** et **SALISSOU et al. [108]** au Niger, ils ont rapporté des parasitémies moyennes respectivement de 14288,75 trophozoïtes/ μ l et de 18663 trophozoïtes/ μ l de sang.

Les écoliers asymptomatiques inclus avaient généralement des densités parasitaires faibles au cours de l'étude même s'il est possible d'observer des densités parfois élevées en zone d'endémie [6].

Nous constatons, au vu de ces résultats, que la parasitémie moyenne varie d'une étude à une autre. Cela pourrait être dû à la période pendant laquelle l'étude a été réalisée, ainsi qu'à l'intensité de la transmission palustre dans le pays.

III-2- DONNEES ANALYTIQUES

Lors de notre étude, les écoliers de 7 à 9 ans étaient les plus touchés par le paludisme, et l'espèce en cause était *Plasmodium falciparum* tant à la microscopie qu'à la PCR.

Aucune association significative n'a été trouvée entre l'âge et le statut d'infestation par *P. falciparum*, ce qui contraste avec d'autres études [111]. Cependant, les enfants âgés de 11 à 16 ans présentaient des niveaux de parasitémie nettement inférieurs à ceux de leurs homologues plus jeunes.

Dans les zones à forte endémicité, l'exposition initiale aux piqûres de moustiques crée une immunité partielle, ce qui entraîne des niveaux inférieurs d'infestation par *P. falciparum* et une parasitémie avec l'âge [70].

La transmission du paludisme était plus forte en saison pluvieuse (58%) qu'en saison sèche (42%) à la microscopie, ainsi qu'à la PCR.

Dans leur étude menée au Mali, **COULIBALY D. [38]** et **WASSER [123]** trouvèrent la parasitémie du paludisme qui variait considérablement entre deux villages avec une forte saisonnalité dans CARRIERE (52,0-18,9% en saison pluvieuse et saison sèche, respectivement) par rapport à BINKO (29,8-23,8%

en saison pluvieuse et saison sèche, respectivement), ce qui corrobore nos résultats.

IV. COMPARAISON ENTRE LES DONNEES MICROSCOPIQUES ET MOLECULAIRES

Le diagnostic du paludisme est traditionnellement réalisé par examen microscopique des frottis sanguins. La microscopie est capable de détecter les espèces de parasites et de déterminer les densités de parasites. La limite de détection par microscopie en couche épaisse est de l'ordre de 5 à 100 parasites/ μ l de sang [9 ; 89 ; 130]. Cependant, la qualité de la microscopie peut varier de manière significative [130 ; 134] parce que sa précision repose largement sur l'expérience et la formation des microscopistes pour réaliser et colorer correctement une lame de sang et la lire avec précision.

La conséquence qui en découle est que certains sujets se voient diagnostiquer faussement négatifs ; ce qui peut faire courir un risque vital au patient en retardant le traitement d'une pathologie grave.

La PCR nichée utilise des marqueurs spécifiques des genres et des espèces pour la détection des parasites de *Plasmodium*. Cela permet de détecter des infestations à faible densité sub-microscopiques et, plus important encore, des infestations mixtes, qui sont rarement manquées dans la microscopie [111] et rend la PCR nichée un test de confirmation idéal pour le diagnostic du paludisme.

IV-1- PERFORMANCES DE LA TECHNIQUE PCR NICHEE PAR RAPPORT A LA MICROSCOPIE

Les données analysées, dans cette étude, ont montré une grande sensibilité de la technique PCR (100%) pour la détection de l'infestation plasmodiale.

Cette sensibilité est proche de celle trouvée par **BOUYOU-AKOTET et al. [20]** en 2010 (94%) avec la PCR-MSP2. Une VPP de 91,8% vient conforter la valeur de sensibilité trouvée.

Une spécificité de 80,5% de la PCR nichée avec une VPN de 100% ont été trouvées. Cette valeur est due au nombre élevé d'infestations sub-microscopiques détectée (6,11%, n = 22/360).

OKELL et al. [86] ont montré que près de 20-50% d'infestation sub-microscopique n'étaient pas détectées par la microscopie. Ce qui corrobore nos résultats.

Le seuil de détection pour la PCR est limité à la présence d'au moins un parasite dans un échantillon. À de faibles densités parasitaires, la présence d'un parasite dans un petit volume de sang est sujette à une variation stochastique. Ceci, combiné avec une dégradation possible de l'ADN pendant le stockage et le transport des échantillons, pourrait entraîner une PCR faussement négative, bien que cela ait été rapporté comme une cause improbable [11].

IV-2- COMPARAISON DE LA REPARTITION DES DIFFERENTES ESPECES PARASITAIRES SELON LA TECHNIQUE UTILISEE

La raison d'être de l'étude était d'évaluer les limites de la microscopie dans la différenciation de *Plasmodium*, ce qui pourrait contribuer à améliorer la vie de l'individu par une administration appropriée d'antipaludiques.

Les méthodes de microscopie n'ont pas permis de détecter de multiples infestations, comme le montrent d'autres études qui ont comparé la microscopie

avec le diagnostic moléculaire [30 ; 60 ; 68 ; 79 ; 99-101 ; 117]. Une étude récente de l'Ethiopie suggère que la PCR a un potentiel beaucoup plus élevé pour détecter les infestations sub-microscopiques [54].

Dans la présente étude, 22 (6,11%) échantillons, considérés comme négatifs par la microscopie, ont donné des résultats positifs à la PCR nichée (infestations sub-microscopiques).

Ces résultats indiquent qu'un nombre considérable d'infestations à *Plasmodium* ont été manquées. Le facteur parasitologique le plus important de ces infestations sub-microscopiques est que certaines espèces de *Plasmodium* peuvent persister (*P. malariae*) ou rechuter (*P. ovale*) sur des périodes prolongées. Cependant, le degré de persistance de *P. falciparum* chez les personnes présentant un certain degré d'immunité est actuellement inconnu [40]. La présence d'infestations sub-microscopiques à *P. falciparum* peut représenter un défi important pour les programmes de lutte contre le paludisme puisque ces individus parasitémiques peuvent servir de réservoir d'infestation et contribuer à l'infestation des moustiques [83 ; 115 ; 122]. De plus, une campagne de dépistage et de traitement de masse peut inclure de tels individus, mais leur parasitémie resterait invisible à la microscopie optique classique, ce qui nécessite l'utilisation de techniques de criblage moléculaire. D'autant plus que des études ont montré que la microscopie manque en moyenne la moitié de toutes les infestations à *P. falciparum* dans les zones endémiques par rapport à la PCR [102].

Il convient de noter que l'infestation sub-microscopique est très fréquente chez les enfants d'âge scolaire dans de nombreuses zones d'endémie palustre [115 ; 122], de sorte que même des associations modestes avec des conséquences cliniques peuvent entraîner une morbidité importante dans cette population.

Les prévalences de *P. malariae* et de *P. ovale* dans notre étude étaient respectivement de 19,7% et de 9% à la PCR nichée.

Bien que considéré comme bénin, *P. malariae* peut provoquer un syndrome néphrotique chronique qui, une fois établi, ne répond pas au traitement et entraîne un taux élevé de mortalité [48]. En outre, *P. malariae* est connu pour causer des infestations chroniques qui peuvent durer des années [124] et pourraient se reproduire des décennies après l'exposition initiale quand les gens ont depuis longtemps quitté les régions endémiques [109]. Le fardeau de santé de telles infestations chroniques ou récurrentes dans un contexte endémique n'est pas clair.

Des études transversales ont rapporté des associations positives entre les infestations de *P. falciparum* et *P. malariae* et/ou *P. ovale* [22 ; 74 ; 77 ; 112].

Ces associations sont plus susceptibles de représenter des différences individuelles d'exposition c'est-à-dire les enfants présentant un risque élevé d'infestation à *P. falciparum* ont également un risque élevé de contracter d'autres infestations [112] ou une susceptibilité à l'infestation [74], plutôt que de véritables interactions biologiques entre les espèces parasites.

On sait peu de choses sur le potentiel d'interactions entre *P. ovale* et d'autres infestations palustres. La prévalence de *P. ovale* et la parasitémie sont constamment faibles, il arrive souvent que les observations soient insuffisantes pour permettre des évaluations statistiques significatives concernant les interactions entre *P. ovale* et les autres espèces de parasites du paludisme qui infectent les Hommes.

Conclusion

La microscopie ne fait pas souvent de distinction de manière fiable entre *P. falciparum*, *P. malariae* et *P. ovale* dans les régions de la Côte d'Ivoire où les trois espèces se produisent fréquemment. Un diagnostic erroné de *P. falciparum*, de *P. malariae* ou encore de *P. ovale*, et *vice versa*, est commun, entraînant potentiellement un traitement inapproprié.

L'objectif de cette étude était de comparer les résultats de la PCR nichée et de la microscopie dans le diagnostic du paludisme chez des enfants d'âge scolaire à Grand-Bassam, Abengourou et San Pedro.

Un grand nombre d'infestations sub-microscopiques à *P. falciparum* ont été identifiées dans les zones d'étude. Bien que la transmission du paludisme soit saisonnière et instable dans ces régions, un nombre significatif d'élèves portaient des densités parasitaires sub-microscopiques inférieures au seuil de la microscopie. Il est important de maximiser la détection de ces cas probablement infectieux pour les moustiques en utilisant des techniques de diagnostic améliorées. D'où l'utilisation de la PCR nichée, qui est plus sensible dans la détection de faibles taux d'infestations sub-microscopiques et dans la détermination de la prévalence du paludisme dans une population donnée. Ainsi, la PCR nichée peut être le meilleur outil pour mesurer la prévalence du paludisme que la microscopie.

La présence d'infestations sub-microscopiques à *Plasmodium* rend le contrôle et la réduction de la transmission du paludisme plus faciles à faire car elles ne peuvent pas être détectées par les méthodes de diagnostic classiques, à savoir la microscopie. Les infestations palustres sous-jacentes, détectables également par la PCR nichée, peuvent contribuer de façon significative au maintien de la transmission du paludisme.

L'enquête, réalisée dans ces trois régions, a montré de façon générale une forte sensibilité et une bonne spécificité de la PCR nichée en prenant la microscopie comme référence.

Selon ces résultats obtenus, il s'est avéré que la PCR nichée est un excellent outil de diagnostic de parasites sub-microscopiques ainsi que les infestations mixtes.

En définitive, la fausse négativité et la sous-déclaration des infestations mixtes à la microscopie nécessitent une attention particulière et devraient être prises en compte dans les stratégies de contrôle et d'élimination du paludisme.

Recommandations

A la suite de ce qui précède, nous pouvons formuler comme recommandations :

❖ **Au Ministère de la Santé**

- Faciliter l'accès du matériel adéquat pour la réalisation d'analyses moléculaires par les laboratoires de référence pour une meilleure prise en charge du paludisme.
- Apporter un appui aux instituts de recherche dans leurs projets de recherche et de lutte contre le paludisme.

❖ **Au PNL**

- Assurer la formation continue des Biologistes et techniciens de laboratoire sur les techniques de diagnostic biologique du paludisme notamment la microscopie et les tests moléculaires à travers des séminaires de formation, des conférences, ...
- Envisager l'introduction des techniques moléculaires telles que la PCR nichée dans les enquêtes épidémiologiques.

Références Bibliographiques

1. Adimi Ben Benterki.

Laboratoire de Biomathématiques, Statistiques Médicales et Epidémiologiques, Informatique. Paludisme et OMS. Risque de Paludisme (selon l'OMS). (Consulté le 02/06/2017).

<<http://edisan.timone.univ-mrs.fr/edisan/Guide/CarteOMS.html>>.

2. Adji B. G.

Evaluation d'un test de diagnostic rapide du paludisme : le SD BIOLINE Malaria Antigen Pf/Pan.14.

Th. Pharm. : Abidjan. Univ Cocody, 2010, 1425/10.

3. Aka N., Bamba Siaka B., Soro G., et al.

Etude hydrochimique et microbiologique des nappes d'Altérites sous climat tropical humide : cas du Département d'Abengourou (Sud-est de la Côte d'Ivoire).

Les Cahiers d'Outre-Mer. 2013 : 207-209.

4. Aminlin B.

Etude de l'efficacité et de la tolérance de l'association Artésunate /Amodiaquine dans le traitement du paludisme simple à *Plasmodium falciparum* dans la ville d'Abengourou. 120p.

Th. Pharm. : Abidjan 2014, 1688.

5. Ashton R.A., Kefyalew T., Tesfaye G.

Exécution de trois tests de diagnostic rapide multi-espèces pour le diagnostic du paludisme à *Plasmodium falciparum* et à *Plasmodium vivax* dans l'État régional d'Oromia en Éthiopie.

Malar J. 2010 ; 9 : 297.

6. Assoumou A., Adoubryn, K.S., Kouadio-Yapo C.G., et al.

Portage symptomatique et asymptomatique de *Plasmodium falciparum* chez les enfants de 6 mois à 6 ans à l'hôpital général d'Abobo (Abidjan, Côte d'Ivoire).

Bull Soc Pathol Exot. 2008 : 50-53.

7. Aubry P.

Paludisme. Actualités 2006. (Consulté le 05/03/2014).

<[http://www.medecinetropicale.free.fr/cours/paludisme :html](http://www.medecinetropicale.free.fr/cours/paludisme.html). Juillet 2007>.

8. Ayele D.G., Zewotir T.T., Mwambi H.G.

Prévalence et facteurs de risque du paludisme en Ethiopie.

Malar J. 2012 ; 11 : 195.

9. Babiker H.A., Schneider P., Reece S.E.

Gamétocytes : connaissances acquises au cours d'une décennie de surveillance moléculaire.

Tendances Parasitol. 2008 ; 24 : 525-530.

10. Barder B.E., William T., Griqq M.G., et al.

Limitations of microscopy to differentiate plasmodium species in a region co-endemic for *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax* and *Plasmodium knowlesi*.

Malar J. 2013 ; 12 : 8.

11. Barker R.H., Banchongaksorn T., Courval J.M., et al.

Plasmodium falciparum et *P. vivax* : facteurs affectant la sensibilité et la spécificité du diagnostic du paludisme basé sur la PCR.

Exp Parasitol. 1994 ; 79 : 41-49.

12. Basco L.K., Ringwald D.P.

Chimiorésistance du Paludisme : Problème de la définition et l'approche technique.

Cahiers Santé. 2000 ; 10 (1) : 47-50.

13. Baudon D.

Les faciès épidémiologiques des paludismes en Afrique Sub-saharienne : conséquences pour la lutte antipaludique.

Sci. Med. Afr. 2010 ; 2 (1) : 141-145.

14. Beauvais B., Derouin F., Lariviere M.

Parasitologie Médicale.

Paris : Ellipses, 1987. P 18-34.

15. Bergal S., Nores J.M., Rosenheim M.

Paludisme.

Paris : Edition Spéciale, 1987. P 11-42.

16. Bosse K. D.

Evaluation du « BERI COS PHARM MALARIA pLDH » test rapide pour le diagnostic biologique du paludisme à Abidjan. 133p.

Th. Pharm. : Abidjan. Univ Cocody, 2008, 1309.

17. Bouchaud O., Doumbo O., Gaye O., et al.

Mémento thérapeutique du Paludisme en Afrique. 1^{ère} éd.

Paris : Doin, 2008. 124p.

18. Boudin C., Baudon D., Devoucoux R.

Immunologie du paludisme : les relations hôte-parasite dans l'infection paludéenne.

O.R.S.T.O.M. Fonds Documentaires. 1987 ; 15 (174) : 91-92.

19. Bouree P., Taugoudeau Ph., Vannng-Anh.

Le paludisme.

Paris : Ed. Dopamine, 1993. 40p.

20. Bouyou-Akotet M.K.

Comparaison des performances diagnostiques de deux techniques de PCR pour la détection de l'infection à *Plasmodium falciparum* chez la parturiente à Libreville.

Méd Afr Noire, 2010 ; 57 : 65-70.

21. Bricaire F., Danis M., Gentilini M.

Paludisme et grossesse.

Cahier Santé. 1993 ; 3 (4) : 289-292.

22. Browne E.N.

Malariometric update for the rainforest and savanna of Ashanti region, Ghana.

Ann. Trop. Med. Parasitol. 2000 ; 94 : 15-22.

23. Bruneel F., Gachot B., Wolf M., et al.

Fièvre bilieuse hémoglobinurique.

Presse Med. 2002 ; 31 (28) : 1329-1334.

24. Bryskier A., Labro Mt., Curd, et al.

Paludisme et médicaments.

Paris : Arnette, 1988. 272p.

25. Center for Disease Control and Prevention. Atlanta.

Cycle évolutif du *Plasmodium*. (Consulté le 13/05/2010).

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

**26. Centre National de Recherche et de Formation sur le Paludisme.
Ouagadougou.**

Identification des espèces plasmodiales par PCR nichée. (Consulté le 02/05/2017). 13p

27. Chakour M., Koeck J., Chadli M., et al.

Diagnostic biologique rapide en contexte épidémiologique : état des lieux et perspectives.

Médecine et Maladies Infectieuses. 2003, 33 : 396-412.

28. Charmot G., Coulaud J.P.

Paludisme.

Cahier Santé. 1993 ; 3 : 211-238.

29. Charmot G., Rhodihain F.

La chimiothérapie à *Plasmodium falciparum* ; analyse des facteurs d'apparition et d'extension.

Méd trop. 1982 ; 42 (4) : 417-426.

30. Coleman R.E., Sattabongkot J., Promstaporm S., et al.

Comparison of PCR and microscopy for the detection of asymptomatic malaria in a *Plasmodium falciparum/vivax* endemic area in Thailand.

Malar J. 2006 ; 5 : 121-125.

31. Corredor V., Enea V.

Les petites isoformes de l'ARN de la sous-unité ribosomale dans *Plasmodium cynomolgi*.

La génétique. 1994 ; 136 : 857-865.

32. Côte d'Ivoire : Ministère de la Santé Publique.

Arrêté N° 109/CAB/MSLS du 14 Juillet 2014 modifiant l'arrêté 144/MSHP/CAB du 23 septembre 2010 portant institution d'un schéma thérapeutique de prise en charge du paludisme en Côte d'Ivoire.

33. Côte d'Ivoire. Ministère de l'Education Nationale.

Etat de l'école en Côte d'Ivoire. Rapport d'analyse 2015-2016.

Direction de l'Information de la Planification de l'Evaluation et des Statistiques. 2017 : 75.

34. Côte d'Ivoire. Ministère de la Santé et de l'Hygiène Publique.

Plan Stratégique de Lutte contre le Paludisme 2016-2020.

35. Côte d'Ivoire. Ministère de la Santé et de l'Hygiène Publique.

Programme National de Lutte contre le Paludisme. 16p.

Rapport d'activités 2004. Abidjan : PNLP, 2004.

36. Côte d'Ivoire. Ministère de la Santé et de la Lutte contre le SIDA.

Directives nationales de prise en charge du paludisme ; version mai 2013.

Abidjan : PNLP, 2013. P 12-13 ; 22-24.

37. Côte d'Ivoire. Ministère de la Santé Publique.

District Sanitaire d'Abengourou. Equipe Cadre du District. 22p.

Rapport annuel d'activités 2009. Abidjan : DSA, 2009.

38. Coulibaly D.

Stable malaria incidence despite scaling control strategies in a malaria vaccine testing site in Mali.

Malar J. 2014 ; 13 : 374.

39. Cox F.

History of human parasitology.

Clin. Microbial Rev. 2001 ; 15 (4): 594-612.

40. Da Silva-Nunes M., Moreno M., Conn Jan E., et al.

Paludisme amazonien : réservoirs humains asymptomatiques, défis diagnostiques, changements environnementaux dans les populations de moustiques vecteurs et mandat pour des stratégies de lutte durable.

Acta Trop. 2012 ; 121 : 281-291.

41. Danis M.

Symptomatologie. In : Danis M, Mouchet J Paludisme.

Paris : Ellipses, 1991. P 87-99.

42. Daubrey-Potey T.H., Die-Kacou H., Kamagate M., et al.

Fièvre bilieuse hémoglobinurique au cours du traitement antipaludique à Abidjan: à propos de 41 cas.

Bull Soc Pathol Exot. 2004 ; 97 (5) : 325-328.

43. De Monbrison F., Angei C., Staal A., et al.

Simultaneous identification of the four human *Plasmodium* species and quantification of *Plasmodium* DNA load in human blood by real-time polymerase chain reaction.

Trans R Soc Trop Med Hyg. 2003 ; 97 : 387-390.

44. Diagnostic du Paludisme.

Le Diagnostic du paludisme. (Consulté le 30/05/10).

<<http://www.royal.perth.hospitalpalu.fr/>>.

45. Dondorp A.M., Fairhurst M.R., Slutsker L., et al.

The threat of artemisinin-resistant malaria.

N Engl J Med. 2011 ; 365 (12) : 1073-1075.

46. Dondorp A.M., Nosten F., Yi P., et al.

Artemisinin resistance in *Plasmodium falciparum* malaria.

N Engl Med. 2009 ; 361 (5) : 455-467.

47. Eboumbou M., Bogreau H., Briolant S., et al.

Marqueurs moléculaires de résistances de *Plasmodium falciparum* aux antipaludiques.

Med. Trop. 2009 ; 69: 606-612.

48. Eiam-Ong S.

Malaria néphropathie.

Semin. Nephrol. 2003 ; 23 : 21-33.

49. Etapes de la PCR.

Les différentes étapes de la PCR. (Consulté le 23/04/17).

<http://srvimg0.weezblog.com/small/pcr2_1265412915.png>.

50. Gentilini M.

Généralités. In : Danis M., Mouchet J. Paludisme.

Paris : Ellipses, 1991. P 13-16.

51. Gentilini M.

Maladies parasitaires : paludisme. 5è éd., 2è tir actualisé.

Paris : Flammarion Méd. Sciences, 1995. P 91-122.

52. Gentilini M., Duflo B.

Maladies parasitaires : paludisme. 4^e éd.

Paris : Flammarion Med. Sciences, 1986. P 81-144.

53. Gentilini M., Nozais J-P.

Historique du paludisme. In : Danis M. Paludisme.

Paris : Ellipses, 1991. P 17-21.

54. Golassa L., Enweji N., Erko B., et al.

Detection of a substantial number of sub-microscopic *Plasmodium falciparum* infections by polymerase chain reaction: a potential threat to malaria control and diagnosis in Ethiopia.

Malar J. 2013 ; 12 : 352.

55. Golvan Y. J.

Paludisme. 4^eème éd.

Paris : Flammarion Med. Sciences, 1993. P 239-275.

56. Gualde N.

L'épidémie et la démorésilience : la résistance des populations aux épidémies.

Paris : Ed. L'Harmattan, 2011 ; P 108.

57. Hanscheid T., Grobusch M.P.

How useful is PCR in the diagnosis of malaria ?

Trends in Parasitology. 2002 ; 18 : 395-398.

58. Institut National de la Statistique (Abidjan).

Abidjan : INS. 2014. P 2.

59. Institut National de Statistique (Abidjan).

Enquête démographique de santé et à indicateurs multiples, Côte d'Ivoire.

Abidjan : INS. 2016 : 42-47.

60. Jam Jamé, Azhar E.A., Tonkol A.K.

Détection du paludisme en Arabie Saoudite par PCR en temps réel.

J Egypte Soc Parasitol. 2006 ; 36 : 737-748.

61. Janssens P.G.

Le procès du paludisme.

J. Trop. Med. Hyg. 1974 ; 77s : 39-46.

62. Kettle D.S.

Medical and veterinary entomology. 2ème éd.

Wallingford : CAB International, 1995. 725p.

63. Kimura M., Kaneko O.

Identification of the four species of human malaria parasites by nested PCR that targets variant sequences in the small subunit rRNA gene.

Parasitol Int 1997 ; 46 : 91-95.

64. Kouadio E.

Evaluation in vivo de la sensibilité de *Plasmodium falciparum* à l'association sulfadoxine-pyriméthamine chez les enfants de moins de 5 ans dans le district d'Abidjan (Koumassi) (protocole OMS de 14 jours). 108p.

Th. Pharm. : Abidjan 2006, 1022.

65. Kouadio J.

Enquêtes de terrain. Côte d'Ivoire ; 2017. CNTIG, 2012.

Abidjan : INS. 2017.

66. Kouassi K.G.

Analyse technique et socio-économique de l'exploitation agricole de M. Djato Emmanuel à Emmanuel-Bango (Département de San Pedro). 4p.

Mém Ing Agro ESA : Yamoussoukro. INPHB, 2010, 57.

67. Link L., Bart A., Verhaar N.

Molecular detection of *Plasmodium knowlesi* in a dutch traveler by real-time PCR.

J Clin Microb. 2012 ; 50 (7) : 2523-2524.

68. Lorenzetti A., Fornazari P., Bonini-Domingos C.

Infections mixtes à *Plasmodium falciparum* et ses implications cliniques dans quatre régions de la région amazonienne brésilienne.

Acta Trop. 2008 ; 107 : 8-12.

69. Louis F. J.

Problème de diagnostic de l'accès palustre.

Malaria. 1997 ; (7) : 24-28.

70. Malvy D.

Plasmodies – Malaria forme clinique, diagnostic.

Encycl. Méd. Chir., maladies infectieuses 8-507-A 20, 2000. P 16.

71. Martinez-Salazar E., Tobon-Castano A., Blair S.

Malaria en humanospor infection natural con *Plasmodium knowlesi*.

Boimédica. 2012 ; 32 (Suppl. 1) : 121-130.

72. Mayxay M., Khanthavong M., Chanthongthip O., et al.

Efficacy of artemether-lumefantrine, the nationally-recommended artemisinin combination for the treatment of uncomplicated falciparum malaria, in southern Laos.

Malar J. 2012 ; (11) : 184.

73. Mccutchan T.F., De La Cruz V.F., Lal A.A., et al.

Séquences primaires de deux petits gènes d'ARN ribosomiaux de sous-unités de *Plasmodium falciparum*.

Mol Biochem Parasitol. 1988 ; 28 : 63-68.

74. McKenzie F.E., Bossert W.H.

Multispecies *Plasmodium* infections of humans.

J. Parasitol. 1999 ; 85 : 12-18.

75. Menard D., Chaner Benedet C.

Whole genome sequencing of field isolates reveals a common duplication of the Duffy binding protein gene in Malagasy *Plasmodium vivax* strains.

PlosNegl Trop Dis. 2013 ; 7 (11) : e2489.

76. Miezán A.

Evaluation de l'efficacité thérapeutique et de la tolérance de l'association Artéméther- Luméfantrine chez les patients souffrant du paludisme simple à San Pédro. 131p.

Th. Pharm. : Abidjan 2014, 1561.

77. Molineaux L.

A longitudinal study of human malaria in the West African Savanna in the absence of control measures: relationships between different *Plasmodium* species, in particular *P. falciparum* and *P. malariae*.

Am. J. Trop. Med. Hyg. 1980 ; 29 : 725–737.

78. Mouchet J., Robert V., Ace P.

Le défi de la lutte contre le paludisme en Afrique tropicale : place et limite de la lutte antivectorielle.

Cahier Santé. 1991 ; 1 : 227-288.

79. Mula P., Fernandez-Martinez A., Ramos J.M., et al.

Détection des niveaux élevés de mutations impliquées dans la résistance aux médicaments antipaludiques chez *Plasmodium falciparum* et *Plasmodium vivax* dans un hôpital rural en sud de l'Ethiopie.

Malar J. 2011 ; 10 : 214.

80. N'Zeyimana I., Henry M-C., Dossou-Yovo J., et al.

The epidemiology of malaria in the southwestern forests of Ivory Coast (Tai region).

Bull Soc Path Ex. 2002 ; 95 (2) : 89-94.

81. Nana L.

Etude comparée de l'efficacité et de la tolérance des combinaisons artesunate-amodiaquine versus artemether-lumefantrine en prise non supervisée dans le traitement du paludisme simple à *Plasmodium falciparum* chez les enfants de 6 à 59 mois à Nanoro (Burkina Faso) 80p. : Ouagadougou 2010.

<www.beep.ird.fr/collect/uouaga/index/assoc/M13038.dir/M13038.pdf>.

82. Nau A., Cordier P., Pouliquen G.

L'accès palustre: diagnostic-critères de gravité prise en charge initiale.

Urgences. 2011 ; 40 : 443-453.

83. Newby G., Hwang J., Koita K., et al.

Examen de l'administration massive de médicaments contre le paludisme et de ses défis opérationnels.

Am J. Trop. Med. Hyg. 2015 ; 93 : 125-134.

84. Noedl H., SE Y., Schaecher K., et al.

Evidence of artémisinine resistant malaria in western Cambodia.

N Engl J. 2008 ; 359 : 2619-2620.

85. Oguike M.C., Betson M., Burke M., et al.

Plasmodium ovale curtisi and *Plasmodium ovale wallikeri* circulate simultaneously in African communities.

Int J Parasitol 2011 ; 41 (6-10) : 677-685.

86. Okell L.C.

Factors determining the occurrence of submicroscopic malaria infections and their relevance for control.

Nat Commun. 2012, Vol. 3 : 1237.

87. OMS. Genève.

Centre des médias. Décembre 2014. (Consulté le 02/02/2015).

<www.who.int/mediacentre/factsheets/fs094/fr/>.

88. OMS. Genève.

Classification de la réponse thérapeutique ; Test in vivo de 28 jours.

WHO/CDS/EPH/2002.17. WHO/CDS/RBM/2002.39.

Genève : OMS, 2002.

89. OMS. Genève.

Diagnostic du paludisme : mémorandum d'une réunion de l'OMS.

Bull World Health Organ. 1988 ; 66 : 575-59.

90. OMS. Genève.

Directives OMS pour le traitement du paludisme. WHO/HTM/MAL/1108

Genève : OMS, 2006

91. OMS. Genève.

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

Genève : OMS, 2003. P 1-67.

92. OMS. Genève.

Le rapport sur le paludisme en Afrique.

Genève : OMS, 2003. 38p.

93. OMS. Genève.

Maîtrise de la résistance à l'artémisinine. (Consulté le 24/12/2016).

<www.who.int/malaria/areas/drug_resistance/contenement/fr/>.

94. OMS. Genève.

Pays et territoires affectés par le paludisme en 2010.

Genève : OMS, 2012.

95. OMS. Genève.

Planches pour le diagnostic du paludisme chez l'homme. Programmes d'action antipaludique.

Genève : OMS, 1985. P 1-4.

96. OMS. Genève.

Rapport 2014 sur le paludisme dans le monde, points essentiels 1p. (Consulté le 08/08/2014).

<www.who.int/malaria/.../world...2014/wmr-2014-points-essentiels.pdf>.

97. OMS. Genève.

Rapport sur le paludisme dans le monde 2017.

Disponible sur : <www.who.int/world-malaria-report-2017>.

98. OMS. Genève.

Stratégie de coopération de l'OMS avec les pays 2009-2013. Côte d'Ivoire, Juillet 2009, 38p.

99. Osman M.M., Nour By, Sedig M.F.

Prise de décision éclairée avant de passer au TDR : comparaison de la microscopie, du test de diagnostic rapide et des techniques moléculaires pour le diagnostic et l'identification des parasites du paludisme à Kassala, dans l'est du Soudan.

Trop Med Int Santé. 2010 ; 15 : 1442-1448.

100. Parajuli K., Hanchana S., Inwong M.

Évaluation comparative de la microscopie et de la réaction en chaîne de la polymérase (PCR) pour le diagnostic chez les patients suspects de paludisme au Népal.

Népal Med Coll J. 2009 ; 11 : 23-27.

101. PF Hommes, Schoone G.J., PA Kager, et al.

Détection et identification d'espèces de *Plasmodium* humaines avec une amplification basée sur une séquence d'acide nucléique quantitative en temps réel.

Malar J. 2006 ; 5 : 80.

102. Poirot E., Skarbinski J., Sinclair D.

Administration massive de médicaments contre le paludisme.

Base de données Cochrane Syst Rev. 2013 ; 12 : CD008846.

103. Pradines B., Dormoi J., Briolant S., et al.

La résistance aux anti-infectieux : la résistance aux antipaludiques.

Revue Francophone des Laboratoires. 2010 ; 422 : 51-62.

104. Rebaudet S.

Epidémiologie moléculaire et génétique des populations de *Plasmodium falciparum* dans l'archipel des Comores. Implications pour la lutte antipaludique. Marseille 2009 56p.

Th. Med. : Marseille, 2009. (Consulté le 31/07/2014).

<<https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00514306/>>.

105. Rogier C., Henry M.C., Trape J.F.

Evaluation épidémiologique du paludisme en zone d'endémies.

Med. Trop. 2009 ; 69 : 123-142.

106. Rosenthal P.J.

How do we best diagnose malaria in Africa ?

Am. J. Med. Hyg. 2012 ; 86 (2) : 192-193.

107. Royal Perth Hospital. Perth.

Malaria : Historique. (Consulté le 25/05/10).

<www.rph.wa.gov.au/malaria/french/historique.html>.

108. Salissou A., Halima B.M., Boureima S., et al.

Efficacité et tolérance de l'association artéméther-luméfantrine dans le traitement du paludisme simple à *Plasmodium falciparum* au Niger.

Journal Home. 2012 ; 14 (1). (Consulté le 31/03/2015).

<www.ajol.info>.

109. Siala A.

Paludisme à *Plasmodium malariae*, une rechute 20 ans après un séjour en zone impaludée.

Presse Med. 2005 ; 34 : 371-372.

110. Siala A., Ben Abdallah R., Bouratbine A., et al.

Actualité du diagnostic biologique du paludisme.

Revue Tunisienne d'Infectiologie. 2010, Vol 4 : 5-9.

111. Singh B.

A genus and species specific nested polymerase chain reaction malaria detection assay for epidemiologic studies.

J. Trop. Med. Hyg. 1999 ; 60 : 687-692.

112. Smith T.

Prospective risk of morbidity in relation to malaria infection in an area of high endemicity of multiple species of *Plasmodium*.

Am. J. Trop. Med. Hyg. 2001 ; 64 : 262-267.

113. Snounou G. S., Viriyakosol S., Zhu X. P., et al.

High sensitivity of detection of human malaria parasites by the use of nested polymerase chain reaction.

Mol. Biochem. Parasitol. 1993 ; 61 : 315–320.

114. Subbarao S.K.

Plasmodium knowlesi : from macaque monkeys to humans in south-east Asia and the risk of its spread in India.

J Parasit. Dis.: 2011 ; 35 (2) : 87-93.

115. Sumari D., Mwingira F., Selemani M., et al.

Prévalence du paludisme chez les enfants asymptomatiques et symptomatiques à Kiwangwa, district de Bagamoyo, Tanzanie.

Malar J. 2017 ; 16 : 222.

116. Ta Th., Hisam S., Lanza M., et al.

First case of a naturally acquired human infection with *Plasmodium cynomolgi*.

Malar J. 2014 ; 13 : 68.

117. Tao Zy, Zhou Hy, Xia H., et al.

Adaptation d'une technique d'amplification isotherme à médiation par boucle visualisée pour la détection sur le terrain de l'infection à *Plasmodium vivax*.

Vecteurs de parasite. 2011 ; 4 : 115.

118. Touze J. E., Charmot G.

Le paludisme à *Plasmodium falciparum* : situation actuelle et perspectives.

Cahier Santé. 1993 ; 3 (4) : 217-219.

119. UNESCO.

Rapport d'évaluation de l'Education pour tous : Afrique Subsaharienne, 2015.

Institut Internationale de Planification Pôle de Dakar. 2016 ; 113.

120. Université Médicale Virtuelle Francophone.

Le paludisme 2011 ; 25p. (Consulté le 01/02/2015).

<<http://www.fmp-usmba.ac.ma/umvf/UMVfmiroir/campus-numeriques/campus-parasitologie/enseignement/paludisme/site/html/cours.pdf>>.

121. Vabou Anda Nabousse.

Evaluation du « SD BIOLINE MALARIA Antigen Pf », test pour le diagnostic rapide du paludisme à Abidjan (Côte d'Ivoire) en 2013. 135p.

Th. Pharm.: Abidjan, Univ FHB, 2014, 1634.

122. Walldorf J.J., Cohee L.M., Coalson J.E., et al.

Les enfants d'âge scolaire constituent un réservoir d'infection palustre au Malawi.

PLoS ONE. 2015 ; 10 : e0134061.

123. Wasser M.D.A.

Effect of rice cultivation patterns on malaria vector abundance in rice-growing villages in Mali.

Am J. Trop. Med. Hyg. 2007 ; 76 : 869–874.

124. White N.J.

Malaria. In: Cook GC, Zumla AI, editors. Manson's Tropical Diseases. 21st Edition.

W.B. Saunders ; 2003. P. 1205–1296.

125. WHO. Geneva.

Malaria Key Facts (December 2014).

<<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs094/en/>>.

126. WHO. Geneva.

Roll Back Malaria.

<<http://www.rollbackmalaria.org/fr/keyfacts.php>>.

127. Wikipédia. Abengourou.

Démographie d'Abengourou. In : Abengourou [Internet]. 2016. (Consulté le 19/04/2017).

Disponible sur : <<https://fr.wikipedia.org/wiki/Abengourou>>.

128. Wikipédia. Ville de Grand-Bassam.

Climat, végétation, hydrographie.

Disponible sur : <[https://fr.wikipedia.org/wiki/Grand Bassam](https://fr.wikipedia.org/wiki/Grand_Bassam)>.

129. Woldearegai T., Kremsner P., Kun J., et al.

Plasmodium vivax malaria in Duffy-negative individuals from Ethiopia.

Trans R Soc Trop Med Hyg. 2013 ; 107 (5) : 328-331.

130. Wongsrichanalai C., Barcus M.J., Muth S., et al.

Une revue des outils de diagnostic du paludisme : microscopie et test de diagnostic rapide (TDR).

Am J. Trop. Med. Hyg. 2007 ; 77 (Suppl. 6) : 119-127.

131. Wotodjo A.N.

Etude du paludisme chez les adultes dans deux villages du Sénégal : Dielmo et N'Diop.

P11-12.

Mém Master II Parasit : Dakar, Univ Cheikh Anta Diop, 2010, 39.

132. Yao K. F.

Evaluation de la faisabilité d'un test rapide de diagnostic biologique du paludisme « BERI COS PHARM MALARIA pLDH HRPII » dans la prise en charge du paludisme non compliqué dans un établissement de premier contact.
150p.

Th. Pharm. : Abidjan, Univ. Cocody, 2008, 1413.

133. Yavo W., Ackra K. N., Menan E. I., et al.

Comparative study of four techniques used in Ivory Coast for malaria's biological diagnosis.

Bull Soc Pathol Exot. 2002 ; 95 (4) : 238-240.

134. Zurovac D., Midia B., Ochola S.A., et al.

Microscopie et prise en charge des cas de paludisme ambulatoire chez les enfants plus âgés et les adultes au Kenya.

Trop Med Int Santé. 2006 ; 11 : 432-440.

Annexes

(ANNEXE I) CLAIRANCE DU COMITE D'ETHIQUE



MINISTERE DE LA SANTE
ET DE LA LUTTE CONTRE LE SIDA

COMITE NATIONAL D'ETHIQUE ET
DE LA RECHERCHE (CNER)

Le Président

REPUBLIQUE DE COTE D'IVOIRE
UNION-DISCIPLINE-TRAVAIL

N° 020/MSLS/CNER-dkn

Abidjan, le 05 mai 2015

Au
Professeur YAVO WILLIAMS
CRLP

OBJET: Autorisation de mise en œuvre du projet de recherche intitulé « Diversité génétique et épidémiologie moléculaire de la chimiorésistance de plasmodium falciparum chez les porteurs asymptomatiques versus symptomatiques dans les différents faciès de la Côte d'Ivoire ».

Professeur,

Au cours de la session du mercredi 16 avril 2015, le Comité National d'Ethique et de la Recherche (CNER) a examiné votre demande d'autorisation de mise en œuvre du projet cité en objet.

Sous cette perspective, il a été émis un avis favorable à l'utilisation de ce protocole.

Par conséquent, je vous autorise à mettre en œuvre votre enquête telle que soumise au Comité National d'Ethique.

Toutefois, il faut noter que la validité de cette autorisation est **d'un an (1) à compter de la date de signature.**

Par ailleurs, je vous saurai gré de bien vouloir transmettre au CNER une copie du rapport de cette étude dès la fin de sa mise en œuvre.

Je vous prie d'agréer, **Professeur**, l'expression de mes salutations distinguées.

Le Président
Dr. Louis PENALI

(ANNEXE II)

NOTICE D'INFORMATION DU SUJET

Titre du projet :

« Diversité génétique et épidémiologie moléculaire de la chimiorésistance de *Plasmodium falciparum* chez les porteurs asymptomatiques *versus* symptomatiques dans différents faciès de la Côte d'Ivoire »

Equipe de recherche

Investigateur principal : Pr YAVO William, 02 68 30 00, UFR SPB, Université Félix Houphouet Boigny- Cocody

Chercheurs Associés :

Pr NGUETTA Assanvo Simon Pierre, 08 97 08 73, UFR BIOSCIENCES, Université Félix Houphouet Boigny- Cocody

Mr GNAGNE Akpa Patern, 06 17 84 79 / 47 88 58 21, UFR BIOSCIENCES, Université Félix Houphouet Boigny- Cocody

Information de la population d'étude

Madame / Monsieur/ Chers Parents,

Nous avons le plaisir de vous inviter à participer à une étude sur l'infestation et la diversité génétique de *Plasmodium falciparum* en Côte d'Ivoire.

Ce formulaire de consentement vous informe au sujet du but, des objectifs et de la procédure de cette étude. En outre, il explique les avantages prévus, le risque potentiel de l'étude et le malaise qu'elle peut susciter. Enfin elle vous informe des critères d'inclusion et de vos droits concernant votre participation à cette étude. Sachez aussi que cette étude est menée en parallèle dans cinq autres sites. Environ 360 sujets (enfants) par site devraient y participer. Elle est réalisée dans le cadre de la lutte contre l'agent responsable du paludisme.

1. But de la recherche

Le but de cette étude est de déterminer la diversité génétique et le niveau de la chimiorésistance de *Plasmodium falciparum* dans différents faciès épidémiologiques de la Côte d'Ivoire. Les enfants concernés sont ceux qui ont dans leur sang le parasite qui donne le paludisme c'est-à-dire le *Plasmodium* ; qu'ils soient malades ou non.

2. Encadrement et protection des patients

Cette étude est conforme aux recommandations internationales et nationales sur la recherche.

A tout moment, vous pourrez joindre l'investigateur principal : Pr YAVO William (Cel : 02 68 30 00) ou le Président du Comité National d'Éthique et de Recherche, le Dr Penali Louis Koné (Cel : 07 34 07 07).

Ce protocole a été soumis le 16 avril 2015 au Comité National d'Éthique et de Recherche de Côte d'Ivoire qui a émis un avis favorable.

La participation de votre enfant est libre. Vous pouvez à tout moment vous réserver le droit l'interrompre sans que cela n'affecte vos droits. Votre position dans la communauté ne sera également affectée en aucune façon, même si vous décidez de ne pas participer à l'étude.

3. Déroulement de l'étude

Si votre enfant remplit les critères de sélection pour cette étude et si vous acceptez qu'il participe vous devez signer le consentement éclairé ci-joint pour confirmer votre accord.

a. Visites

Votre enfant devra se rendre dans son école pour rencontrer l'équipe de recherche.

b. Examens

Au cours de la visite, un examen clinique et la prise de la température seront effectués pour connaître l'état de santé de votre enfant.

Un prélèvement de quelques gouttes de sang au bout du doigt sera effectué pour rechercher la présence des parasites du paludisme contenus dans le sang de votre enfant. Ensuite si les examens sont positifs pour le paludisme, un prélèvement équivalent une cuillère à café sera effectué pour réaliser des tests de génétiques du parasite. Ces derniers se feront au Centre de Recherche et de Lutte contre le Paludisme et au Centre de Génomique de l'Institut Sanger à Cambridge en Angleterre. Ils ne concerneront que le parasite responsable du paludisme.

c. Traitement et surveillance

Si au cours de la visite votre enfant a le paludisme, il recevra un traitement adéquat. Au cas où votre enfant est porteur du parasite du paludisme mais sans aucun signe clinique de la maladie, il sera suivi pendant 07 jours afin de détecter l'apparition éventuelle de tout signe de paludisme. Dans ce cas, il recevra dans le centre de santé.....

les antipaludiques nécessaires pour son traitement. Dans tous les cas, dans l'intervalle des 7 à 28 jours après son inclusion dans l'étude, si votre enfant présente des signes du paludisme, il devra se rendre le centre de santé pour recevoir gratuitement des médicaments antipaludiques en cas de confirmation de la maladie par un examen de laboratoire.

4. Risques et malaise

Il n'existe aucun risque lié à votre participation à cette étude en dehors de la douleur du léger malaise que votre enfant pourrait ressentir lors du prélèvement du sang.

5. Avantages

Durant l'étude, les médicaments antipaludiques recommandés par le Programme National de Lutte contre le Paludisme vous seront fournis gratuitement. Aucune participation financière ne vous sera demandée pour les consultations et les examens biologiques spécifiques liés à cette étude. En participant à cette étude, vous contribuerez à avoir des informations sur la diversité génétique et épidémiologie moléculaire de la chimiorésistance de *Plasmodium falciparum* dans différents faciès de la Côte d'Ivoire. A partir de ces informations, les scientifiques pourront développer de nouveaux moyens pour lutter efficacement contre le paludisme.

6. Confidentialité

Les informations médicales recueillies dans le cadre de cette étude seront traitées de façon anonyme et confidentielle. Seuls le numéro d'inclusion de votre enfant et ses initiales figureront dans le dossier médical. Seul le principal investigateur de l'équipe de recherche aura accès à votre dossier. Il est probable que des données obtenues à partir des analyses faites sur votre enfant puissent être publiées dans des journaux médicaux; cependant, son identité ne sera pas révélée.

Contacts

Vous pouvez poser toutes les questions sur l'étude maintenant ou plus tard. Pour de plus amples informations, vous pouvez entrer en contact avec les personnes suivantes:

Pr YAVO William, 02 68 30 00, UFR SPB, Université Félix Houphouet Boigny- Cocody

Mr GNAGNE Akpa Patern, 06 17 84 79 / 47 88 58 21, UFR BIOSCIENCES, Université Félix Houphouet Boigny- Cocody

(ANNEXE III)
FORMULAIRE DE CONSENTEMENT ECLAIRE

Je soussigné(e), Nom et Prénoms :

.....

Parent/tuteur légal de l'enfant :

.....

Signature : Contact (s) :

Nom et Prénoms du Témoin :

Signature du témoin : Contact(s) du témoin :

Accepte par la présente que mon enfant participe à la recherche intitulée :

« Diversité génétique et épidémiologie moléculaire de la chimiorésistance de *Plasmodium falciparum* chez les porteurs asymptomatiques *versus* symptomatiques dans différents faciès de la Côte d'Ivoire » conduite par le Professeur YAVO William (investigateur principal).

J'ai bien pris connaissance de l'objectif de l'étude et les conditions de sa réalisation m'ont été clairement indiquées par l'investigateur ou son représentant.

Je reconnais la possibilité qui m'est réservée de refuser mon consentement ou de le retirer à tout moment quelle qu'en soit la raison et sans avoir à le justifier.

Les données de cette étude resteront strictement confidentielles. Je n'autorise leur consultation que par les personnes qui collaborent à la recherche, désignées par l'investigateur principal, les promoteurs et les autorités de santé.

J'ai lu et reçu une copie de ce formulaire et j'accepte que mon enfant participe à la présente étude.

Fait à le / / 2015

Je confirme qu'en accord avec la réglementation en vigueur et les exigences légales, j'ai bien expliqué la nature, le but et les effets envisageables de l'essai au patient identifié ci-dessus.

Noms et signature du chercheur investigateur :

Date / / 2015

(ANNEXE IV)

FORMULAIRE D'ASSENTIMENT ECLAIRE

Titre du projet : « Diversité génétique et épidémiologie moléculaire de la chimiorésistance de *Plasmodium falciparum* chez les porteurs asymptomatiques versus symptomatiques dans différents faciès de la Côte d'Ivoire »

Si vous acceptez de participer à cette étude, s'il vous plaît écrivez votre nom / ou mettre votre empreinte ci-dessous:

Nom du participant/Empreinte du pouce du participant

Ecrire votre **nom / ou mettre l'empreinte du pouce** signifie que :

- vous comprenez ce qui arrivera ou ce qui peut arriver dans l'étude ;
- vous acceptez de prendre le médicament qui vous sera éventuellement donné si vous avez les signes du paludisme ;
- vous prévoyez de faire ce qu'on attend de vous dans l'étude ;
- mais aussi vous savez que vous avez le droit de changer d'avis et de cesser de participer à l'étude après.

Je confirme qu'en accord avec la réglementation en vigueur et les exigences légales, j'ai bien expliqué la nature, le but et les effets envisageables de l'essai au patient identifié ci-dessus.

Nom et Signature de l'investigateur :

Date :/...../ 2015

(ANNEXE V)

Diversité génétique et épidémiologie moléculaire de la chimiorésistance de *Plasmodium falciparum* chez les porteurs asymptomatiques *versus* symptomatiques dans différents faciès de la Côte d'Ivoire.

IDENTIFICATION

Ville : _____ |__|__|
 Commune : _____ |__|__|
 Quartier : _____ |__|__|
 Etablissement scolaire : _____ |__|__|
 Structure de santé : _____ |__|__|
 Code enfant : |__|__|__| |__|__|__|__|__|__| |__|__|
 Date : |__|__| |__|__| |__|__|__|__|

SECTION 1 : CARACTÉRISTIQUES SOCIO-DÉMOGRAPHIQUES DE L'ENFANT

N°	LIBELLES ET INSTRUCTIONS	CODE CATEGORIES / MODALITES
Q101	Notez le sexe de l'enfant	1. M 2. F __
Q102	Quel est l'âge de l'enfant	AGE __ __ ans

SECTION 2 : MOYENS DE PREVENTION DU PALUDISME

N°	LIBELLES ET INSTRUCTIONS	CODE CATEGORIES / MODALITES
Q201	Dormez-vous sous Moustiquaire Imprégnée d'Insecticide ?	1. Oui 2. Non 9.NSP __
Q202	Utilisez-vous des insecticides régulièrement ?	1. Oui 2. Non 9.NSP __

SECTION 3 : RENSEIGNEMENTS CLINIQUES

Antécédents

Q301	L'enfant a-t-il des symptômes liés au paludisme dans les deux dernières semaines précédentes ? 1. Oui 2. Non 3.NSP <input type="checkbox"/>
Q302	Si, oui lesquels : _____

Examens cliniques

Q303	Température temporelle (°C)	<input type="text"/> , <input type="text"/> si $T^{\circ} \geq 37,8^{\circ}\text{C}$ voir les signes ci-dessous pour déclarer le sujet symptomatique
Q304	Céphalées 1. Oui 2. Non	<input type="checkbox"/>
Q305	Pâleurs des conjonctives 1. Oui 2. Non	<input type="checkbox"/>
Q306	Douleurs abdominales 1. Oui 2. Non	<input type="checkbox"/>
Q307	Arthralgies 1. Oui 2. Non	<input type="checkbox"/>
Q308	Nausées 1. Oui 2. Non	<input type="checkbox"/>
Q309	Vomissements 1. Oui 2. Non	<input type="checkbox"/>
Q310	Diarrhée 1. Oui 2. Non	<input type="checkbox"/>
Q311	Frissons 1. Oui 2. Non	<input type="checkbox"/>
Q312	Autres à préciser	_____

SECTION 4 : TEST DU PALUDISME

→ Q401 : REPORTEZ LE RESULTAT DU TDR

TDR : 1. Positif 2. Négatif

Espèce(s) Plasmodiale(s) si TDR positif : 1. Fal 2. Pan

**Ajoutez les codes en cas d'association d'espèces plasmodiales*

SECTION 5 : EXAMENS MICROSCOPIQUES

→ Q501 : REPORTEZ LE RESULTAT DE LA GOUTTE EPAISSE

G.E : 1. Positif 2. Négatif

Si G.E positive, notez la densité parasitaire :

→ Q502 : REPORTEZ LE RESULTAT DU FROTTIS SANGUIN

FROTTIS SANGUIN : 1. Positif 2. Négatif

Si FS positif, notez l'espèce: 1. Fal 2. Mal 4. Ova 8. Viv

**Ajoutez les codes en cas d'association d'espèces plasmodiales*

Gamétocytes : 1. Présence 2. Absence

SECTION 6 : TESTS DE BIOLOGIE MOLECULAIRE

→ Q601 : Extraction d'ADN 1. Oui 2. Non

→ Q602 : Typage moléculaire de *Plasmodium*

1. *falciparum* 2. *malariae* 4. *ovale* 8. *vivax*

**Ajoutez les codes en cas d'association d'espèces plasmodiales*

→ Q603 : msp1 1. Oui 2. Non

→ Q604 : msp2 1. Oui 2. Non

Q605 : Deep Sequencing 1. Oui 2. Non

SECTION 7 : ETUDE DES MARQUEURS DE RESISTANCE

→ Q701 : dhfr(dihydrofolate reductase) **1. Oui** **2. Non**

→ Q702 : dhps(dihydropteroate synthétase) **1. Oui** **2. Non**

→ Q703 : Typage de la protéine pfprt K76T **1. Oui** **2. Non**

→ Q704 : Génotypage SNPs de la protéine K 13 **1. Oui** **2. Non**

Nom et Signature de l'investigateur:.....

TABLE DES MATIERES

	Page
LISTE DES ABREVIATIONS -----	XXXI
LISTE DES UNITES -----	XXXII
LISTE DES FIGURES -----	XXXIII
LISTE DES TABLEAUX -----	XXXIV
INTRODUCTION -----	1
PREMIERE PARTIE : REVUE DE LA LITTERATURE SUR LE PALUDISME -----	5
I- DEFINITION ET HISTORIQUE -----	6
I-1- DEFINITION -----	6
I-2- HISTORIQUE -----	6
II- EPIDEMIOLOGIE -----	9
II-1- AGENTS PATHOGENES -----	9
II-2- AGENTS VECTEURS -----	24
II-3- CYCLE EVOLUTIF DES PLASMODIES -----	26
II-4- MODES DE TRANSMISSION -----	31
II-5- REPARTITION GEOGRAPHIQUE -----	31
II-6- SURVEILLANCE EPIDEMIOLOGIQUE -----	34
II-7- IMMUNITE DANS LE PALUDISME -----	35
III- SIGNES CLINIQUES -----	37
III-1- ACCES PALUSTRE SIMPLE OU NON COMPLIQUE -----	37
III-2- ACCES PERNICIEUX OU PALUDISME GRAVE -----	38
III-3- PALUDISME VISCERAL EVOLUTIF -----	39
III-4- FIEVRE BILIEUSE HEMOGLOBINURIQUE -----	39
IV- DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE -----	40
IV-1- DIAGNOSTIC INDIRECT DE PRESOMPTION -----	40
IV-2- DIAGNOSTIC DIRECT DE CERTITUDE -----	42
V- POLITIQUE NATIONALE DE PRISE EN CHARGE DU PALUDISME -----	50
V-1- POLITIQUE DE PRISE EN CHARGE S'APPLIQUANT A TOUS LES NIVEAUX DE LA PYRAMIDE SANITAIRE -----	50
V-2- POLITIQUE DE PRISE EN CHARGE S'APPLIQUANT AU NIVEAU COMMUNAUTAIRE -----	53

V-3- POLITIQUE DE PREVENTION CHEZ LES GROUPES PARTICULIERS -----	54
VI- CHIMIORESISTANCE -----	55
DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE -----	57
CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODES -----	58
I- MATERIEL -----	59
I-1- SITES ET PERIODES D'ETUDE -----	59
I-2- DONNEES GEOGRAPHIQUES ET NIVEAU D'ASSAINISSEMENT -----	62
I-3- POPULATION D'ETUDE -----	65
I-4- MATERIEL ET REACTIFS DE LABORATOIRE -----	66
II- METHODES -----	69
II-1- TYPE D'ETUDE -----	69
II-2- PROCEDURES -----	69
II-3- ANALYSES STATISTIQUES DES DONNEES -----	81
II-4- CONSIDERATIONS ETHIQUES -----	81
CHAPITRE II : RESULTATS -----	83
I- DONNEES EPIDEMIOLOGIQUES GLOBALES -----	84
II- DONNEES CLINIQUES -----	88
III- DONNEES PARASITOLOGIQUES -----	90
IV- DONNEES MOLECULAIRES -----	99
V- COMPARAISON ENTRE LES DONNEES MICROSCOPIQUES ET MOLECULAIRES -	104
CHAPITRE III : DISCUSSION -----	109
CONCLUSION -----	119
RECOMMANDATIONS -----	122
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES -----	124
ANNEXES -----	144

RESUME

JUSTIFICATION : Différentes méthodes de diagnostic du paludisme sont actuellement disponibles. La microscopie (frottis sanguin et goutte épaisse) demeure la méthode de référence. Elle permet de confirmer la maladie, d'identifier l'espèce plasmodiale en cause et d'évaluer la parasitémie. Cependant, la fiabilité de cet examen exige une expérience dont ne disposent pas tous les biologistes.

Lorsque les densités parasitaires sont faibles ou lorsqu'il y a des infections mixtes, les résultats de la microscopie sont par moment biaisés ou sujets à des imprécisions. La détection des parasites du paludisme par la PCR nichée peut alors être une technique de diagnostic adéquate pour contourner les limites de la microscopie.

OBJECTIF : Comparer les résultats de la PCR nichée et de la microscopie dans le diagnostic de l'infestation plasmodiale chez des enfants d'âge scolaire à Abengourou, Grand-Bassam et San-Pedro de 2015 à 2016.

MATERIEL ET METHODES : A l'initiative du Centre de Recherche et de Lutte contre le Paludisme de l'INSP, une étude transversale a été réalisée dans 6 écoles réparties dans trois villes (Abengourou, Grand-Bassam et San-Pedro) de la Côte d'Ivoire sur la période allant du 13 mai 2015 au 21 avril 2016. Tous les élèves de 4 et 16 ans quel que soit le sexe et présents dans la zone d'étude depuis au moins deux mois ont été inclus.

Le sang des écoliers inclus a été prélevé. Les prélèvements ont été utilisés pour la confection des gouttes épaisses, des frottis sanguins et des confettis. Les techniques de PCR nichée ont été effectuées à la fois au Centre de Recherche et de Lutte contre le Paludisme (CRLP) et au Centre de Diagnostic et de Recherche sur le SIDA et les autres Maladies Infectieuses (CeDReS) sis au CHU de Treichville.

RESULTATS : L'enquête, réalisée dans ces écoles, a montré de façon générale, une grande sensibilité et une bonne spécificité de la PCR nichée par rapport à la microscopie.

La PCR nichée a également permis de mettre en exergue 22 infestations sub-microscopiques (6,11%) et 49 infestations mixtes, toutes manquées par la microscopie.

CONCLUSION : Les résultats de notre étude montrent que la PCR nichée est un excellent outil de diagnostic de parasites submicroscopiques ainsi que les infections mixtes.

MOTS CLES : Paludisme, Microscopie, PCR nichée, *Plasmodium falciparum*, Côte d'Ivoire