

N° d'ordre-----

MINISTERE DES ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET  
DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



\*\*\*\*\*

UNIVERSITE POLYTECHNIQUE DE BOBO-  
DIOULASSO

\*\*\*\*\*

UNITE DE FORMATION ET DE RECHERCHE EN  
SCIENCES ET TECHNIQUES

\*\*\*\*\*

GENIE BIOLOGIQUE

\*\*\*\*\*

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT  
SUPERIEUR DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE ET DE L'INNOVATION

\*\*\*\*\*

CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE ET TECHNOLOGIQUE

\*\*\*\*\*



\*\*\*\*\*

INSTITUT DE RECHERCHE EN SCIENCES DE LA  
SANTE

\*\*\*\*\*

DIRECTION REGIONALE DE L'OUEST

\*\*\*\*\*

01 BP : 545 BOBO-DIOULASSO 01

Tél : (226) 20 98 18 80 Fax : (226) 20 97 48 68

E-mail : drbobo.irss@fasonet.bf

## RAPPORT DE FIN DE CYCLE

*Pour obtenir la*

**LICENCE PROFESSIONNELLE DE GENIE BIOLOGIQUE**

**Option: Analyses Biologiques**

*Présenté par*

***OUATTARA Seydou Bienvenu***

*Sur le thème :*

Variabilité des paramètres parasitologiques et  
hématologiques d'une population sous chimioprévention  
du paludisme saisonnier

*Sous la direction de :*

Maître de stage : Dr. Rakiswendé Serge YERBANGA, chercheur

Superviseur : Mr. Bienvenue Koudraogo YAMEOGO, ingénieur de recherche

Directrice de rapport : Dr. Nina GOUBA, assistante

Année universitaire : 2014-2015

## DEDICACE

A :

- *Mon père Assoro OUATTARA (in memoriam)*
- *Ma mère Karidia KONATE (in memoriam)*
- *Mon oncle Adama SOULAMA*
- *Ma sœur Sogona SOULAMA/OUATTARA*

*Pour m'avoir soutenu et accompagné dans ma quête de savoir. Puissiez-vous trouver dans ce présent travail, entière satisfaction et l'expression de ma profonde gratitude.*

## REMERCIEMENTS

Ce rapport est le fruit du travail de recherche mené à l'Institut de Recherche en Sciences de la Santé-Direction Régionale de l'Ouest (IRSS-DRO) au laboratoire d'Infections Expérimentales de l'Unité de Paludisme et Maladies Tropicales Négligées. Il rentre dans le cadre de réalisation des activités du projet chimioprévention du paludisme saisonnier et transmission homme-vecteur (Projet PREVECT-JEAI). Il n'aurait été réalisé sans les efforts des personnes à qui je témoigne ici ma profonde gratitude.

Je tiens à remercier particulièrement :

- Le Professeur Roch K. DABIRE, Directeur de Recherche et Directeur Régional de l'IRSS-Direction Régionale de l'Ouest, pour m'avoir accepté dans son institut ;
- Le Professeur Jean Bosco OUEDRAOGO, Directeur de Recherche et Chef de l'Unité de Paludisme et Maladies Tropicales Négligées pour m'avoir accepté dans son Unité ;
- Le Dr. Rakiswendé Serge YERBANGA, chercheur en pharmacognosie-parasitologie et biochimie, chef du laboratoire d'Infections Expérimentales et mon maître de stage, pour m'avoir accepté dans son laboratoire, pour sa disponibilité à m'accompagner et son encadrement dont j'ai tiré profit tout au long de mon stage ;
- Le Dr. Thierry Lefèvre, PhD en écologie et biologie de l'évolution, chargé de recherche, Directeur de l'antenne de l'IRD de Bobo-Dioulasso, pour sa disponibilité et ses précieuses orientations pour l'analyse de mes données ;
- Dr. Nina GOUBA, assistante à l'Université Polytechnique de Bobo-Dioulasso, ma directrice de rapport qui n'a ménagé aucun effort pour m'accompagner dans la rédaction finale de mon rapport. Puissiez-vous trouver ici l'expression de ma plus haute considération.
- Mr. Bienvenue Koudraogo YAMEOGO, ingénieur de recherche, responsable technique du laboratoire de biologie moléculaire et mon superviseur, pour son assistance permanente, ses précieuses orientations lors des analyses et interprétations des résultats et les multiples conseils dont j'ai tiré profit tout au long de mon stage ;
- Mr. Pascal DIPAMA, technicien agricole spécialisé en plante médicinale, pour l'effort consenti pour ce stage. Puissiez-vous trouver ici l'expression de ma plus haute considération ;
- Tout le personnel du laboratoire d'Infections Expérimentales, pour l'accueil, les soutiens incessants et toutes les formes de contribution à ma formation pratique.

Je ne saurai terminer sans remercier :

- Le président de l'Université Polytechnique de Bobo-Dioulasso, le Professeur Georges Anicet OUEDRAOGO d'avoir accepté l'ouverture de la filière génie biologique en général et de l'option analyses biologiques en particulier.
- Le Professeur Sado TRAORE, Directeur de l'Unité de Formation et de Recherche en Sciences et Techniques (UFR/ST), pour avoir autorisé la réalisation de ce stage.
- Tous les enseignants-chercheurs et le personnel administratif de l'UFR/ST pour leurs soutiens multiformes et les enseignements reçus lors de ma formation.

Mes remerciements vont aussi à l'endroit de tous mes camarades et tous ceux qui, de loin ou de près par leur soutien et leur aide multiforme m'ont permis de parvenir à réaliser ce rapport.

## SOMMAIRE

LISTE DES FIGURES.....	vii
LISTE DES TABLEAUX.....	vii
LISTE DES ABREVIATIONS .....	viii
RESUME.....	xi
ABSTRACT .....	xii
Introduction .....	1
Chapitre 1 : Généralité .....	3
1.1. Présentation de l'IRSS.....	3
1.2. Généralité sur le paludisme.....	4
1.2.1. Epidémiologie .....	4
1.2.1.1 Répartition géographique .....	4
1.2.1.2. Agent pathogène (parasite) .....	5
1.2.1.2.1. Taxonomie du parasite .....	5
1.2.1.2.2. Biologie du parasite.....	5
1.2.1.3. Le vecteur .....	8
1.2.1.3.1. Taxonomie systématique du vecteur .....	8
1.2.1.3.2. Cycle de développement des anophèles.....	8
1.2.1.4. Biologie de la transmission .....	9
1.2.1.4.1. Développement parasitaire et mode d'action des antipaludiques chez l'homme .....	9
1.2.1.4.2. Transmission .....	10
1.2.1.4.3. Développement sporogonique.....	10
1.2.1.4.4. Infection de l'homme .....	11
1.2.2. Diagnostic biologique du paludisme.....	11
1.2.2.1. Diagnostic direct.....	11
1.2.2.1.1. Réaction de Polymérisation en Chaîne (PCR).....	11
1.2.2.1.2. Examen microscopique.....	11
1.2.2.2. Diagnostic indirect .....	11
1.2.3. Lutte contre la maladie.....	12
1.2.3.1. Lutte antivectorielle .....	12
1.2.3.2. Lutte antiparasitaire.....	12
1.2.3.2.1. Les schizonticides .....	12

1.2.3.2.2. Les gamétocytocides .....	14
1.2.3.2.3. Les sporonticides .....	14
1.2.4. Chimio-prévention du paludisme saisonnier (CPS).....	15
1.2.4.1. Définition .....	15
1.2.4.2. Période d'administration.....	15
1.2.4.3. Régions appropriées pour la mise en œuvre.....	16
1.2.4.4. Résistance.....	17
<b>Chapitre 2 : Matériel et méthodes .....</b>	<b>18</b>
2.1. Site de l'étude .....	18
2.2. Population d'étude.....	18
2.3. Durée de l'étude .....	18
2.4. Matériel.....	18
2.5. Méthodologie .....	19
2.5.1. Collecte d'échantillon .....	19
2.5.2. Mesure des paramètres.....	20
2.5.2.1. Mesure des paramètres hématologiques.....	20
2.5.2.1.1. Détermination des globules rouges, globules blancs et plaquettes .....	21
2.5.2.1.2. Détermination du taux d'hémoglobine .....	22
2.5.2.2. Mesure des paramètres parasitologiques.....	22
2.5.2.2.1. Identification de l'espèce en cause .....	24
2.5.2.2.2. Détermination de la parasitémie.....	24
2.5.2.3. Traitement des données.....	26
<b>Chapitre 3 : Résultats .....</b>	<b>27</b>
3.1. Résultats des paramètres parasitologiques.....	27
3.1.1. Prévalence et parasitémie des formes asexuées du <i>Plasmodium</i> .....	27
3.1.1.1. Prévalence en <i>Plasmodium</i> en fonction du traitement et des cycles. ....	27
3.1.1.2. Parasitémie en fonction du traitement et des cycles .....	28
3.1.2. Prévalence de la forme sexuée (gamétocytes) et gamétocytémie en fonction des cycles 30	
3.2. Résultats des paramètres hématologiques .....	31
<b>Chapitre 4 : Discussion .....</b>	<b>34</b>
4.1. Discussion des paramètres parasitologiques .....	34
4.1.1. Prévalence du <i>Plasmodium</i> et parasitémie des formes asexuées.....	34

## **LISTE DES ABREVIATIONS**

**An.** : *Anopheles*

**AQ** : Amodiaquine

**AQSP** : Amodiaquine- Sulfadoxine/Pyriméthamine

**BIOMEDICAL/SP** : Biomédical et Santé Publique

**CBC** : Cell Blood Count

**CDA** : Chlorproguanil + Dapsone + Artesunate

**CDC** : Centers for Disease Control and Prevention (Centre de prévention et de Contrôle des maladies)

**CNRST** : Centre National de la Recherche Scientifique et Technologique

**CPS** : Chimioprévention du Paludisme Saisonnier

**CTA** : Combinaison Thérapeutique à base d'Artémisinine

**DHAPQ** : DihydroArtemisinin-Pipéraquline

**DHFR** : Dihydrofolate réductase

**DHPS** : Dihydroptéroate synthase

**DRO** : Direction Régionale de l'Ouest

**DPFm** : Densité Parasitaire sur Frottis mince

**DPGE** : Densité Parasitaire sur Goutte Epaisse

**EDS** : Enquête Démographique et de Santé

**EDTA** : Ethylène Diamine Tétra-Acétique

**ELISA** : Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay

**FM** : Frottis Mince

**G6PD** : Glucose-6-Phosphate-Déshydrogénase

**GE** : Goutte Epaisse

**Gf** : Gamétocyte du *Plasmodium falciparum*

**Gm** : Gamétocyte du *Plasmodium malariae*

**GMP** : Global Malaria Programme

**Go** : Gamétocyte du *Plasmodium ovale*

**HB** : Hémoglobine

**HBsAg** : Antigène de l'hépatite B

**HiCN** : Cyanure-hémoglobine (HiCN)

**IRD** : Institut de Recherche pour le Développement

**IRSS** : Institut de Recherche en Sciences de la Santé

**JEAI** : Jeunes Equipes Associées à l'IRD

**LED**: Light Emitting Diode (diode électro-luminescente)

**MEPHATRA/PH** : Médecine, Pharmacopée Traditionnelles et Pharmacie

**MICS** : Multi-Indicator Cluster Survey (enquête sur grappes à multiples indicateurs)

**MILDA** : Moustiquaires Imprégnées à Longue Durée d'Action

**MMV** : Medecines for Malaria Venture

**MS** : Ministère de la Santé

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé

**P** : *Plasmodium*

**PCR** : Polymerase Chain Reaction (réaction de polymérisation en chaîne)

**PNLP** : Programme National de Lutte contre le Paludisme

**QBC** : Quantitative Buffy Coat malaria test (Test de fluorescence du paludisme)

**Sf**: Schizonte du *Plasmodium falciparum*

**Sm**: Schizonte du *Plasmodium malariae*

**SMC**: Seasonal Malaria Chemoprevention

**So**: Schizonte du *Plasmodium ovale*



**SP:** Sulfadoxine-Pyriméthamine

**TDR :** Tests de Diagnostic Rapide

**Tf :** Trophozoïte du *Plasmodium falciparum*

**Tm :** Trophozoïte du *Plasmodium malariae*

**To :** Trophozoïte du *Plasmodium ovale*

## RESUME

Les enfants de moins de cinq ans constituent une des populations les plus vulnérables au paludisme. La chimioprévention du paludisme saisonnier (CPS) cible les enfants de moins de cinq ans des zones où la morbidité palustre est supérieure à dix cas sur cent au cours de la saison de transmission. Son efficacité a été prouvée dans les travaux de plusieurs auteurs en Afrique de l'Ouest. C'est dans le but d'étudier l'effet de la CPS au Burkina Faso que nous avons mené notre étude en nous focalisant sur son influence sur les paramètres parasitologiques et hématologiques. Des enfants de 3 à 59 mois ont reçu une dose unique de sulfadoxine-pyriméthamine accompagnée d'un traitement de trois jours avec l'amodiaquine une fois par mois pendant les mois d'août à novembre à l'Ouest de Bobo-Dioulasso. Des prélèvements de sang veineux ont été effectués sur les enfants recrutés et inclus dans l'étude entre le 14<sup>ème</sup> et le 21<sup>ème</sup> jour après administration des médicaments. Des gouttes épaisses et frottis minces ont été réalisés pour estimer la prévalence et la densité parasitaire. La mesure des paramètres hématologiques a été faite à l'aide d'automate ABX PENTRA 60. Ces paramètres ont été ensuite comparés avec ceux d'une population contrôle (sans CPS). Un total de 301 enfants de moins de cinq ans vivants dans les villages ruraux de Houndé ont été recrutés et inclus dans l'étude. L'analyse des paramètres parasitologiques a révélé une faible prévalence du *Plasmodium* tant au stade asexué (2,94%) qu'au stade sexué (3,43%) chez les enfants sous chimioprévention alors que la prévalence du contrôle est élevée (48,59% et 79,14%). Les analyses hématologiques ont montré une hausse du taux moyen d'hémoglobine (11,308g/dl) et du nombre moyen de globules rouges ( $4,465 \cdot 10^6/\text{mm}^3$ ) chez les enfants sous chimioprévention par rapport à ceux du contrôle (10,023 g/dl ;  $3,9375 \cdot 10^6/\text{mm}^3$ ). Cette étude a montré que la CPS contribue à la réduction de la charge parasitaire et des anémies chez les enfants de moins de cinq ans pendant toute la période de haute transmission du paludisme au Burkina Faso.

**Mots clés :** Paludisme, anémie, chimioprévention, Houndé, Burkina Faso.

## ABSTRACT

Children under five years are the most vulnerable populations to malaria. The seasonal malaria chemoprevention (SMC) targets children under five years old in areas where malaria morbidity is greater than ten cases percent during the transmission season. Its effectiveness has been proved in the works of several authors in West Africa. In order to study the effect of SMC in Burkina Faso, our study focused on its influence on parasitological and hematological parameters. Children aged 3 to 59 months received a single dose of sulfadoxine-pyrimethamine accompanied by a three-day treatment with amodiaquine once a month during the months of August to November in west of Bobo-Dioulasso. Venous blood samples were taken from children recruited and included between the 14th and the 21st day after drug administration. Thick and thin blood smears were used to estimate prevalence and parasite density. The hematological parameters were measured using ABX PENTRA 60. These parameters were then compared with those of a control population (without SMC). A total of three hundred and one children under five years living of in the rural villages of Hounde were recruited and included in the study. Analysis of parasitological parameters revealed a low prevalence of *Plasmodium* in both the asexual stage (2.94%) and the sexual stage (3.43%) in children under chemoprevention, while the prevalence of control was high (48, 59% and 79.14%). Hematological analyzes showed an increase in mean hemoglobin (11.308 g / dl) and in the average number of red blood cells ( $4.465 \times 10^6 / \text{mm}^3$ ) in children under chemoprevention compared to controls (10.023 g /dl;  $9375 \times 10^6 / \text{mm}^3$ ). This study showed that SMC is contributing to the reduction of parasitic load and anemia in children under five years during the period of high malaria transmission in Burkina Faso.

**Key words:** Malaria, anemia, chemoprevention, Hounde, Burkina Faso.

## Introduction

Le paludisme est une parasitose causée par un parasite du genre *Plasmodium*. Il est transmis à l'homme par la piqûre d'un moustique femelle infecté du genre *Anopheles* (Aubry et Gaüzère, 2015b). Selon les estimations de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), 214 millions de personnes sont touchées par le paludisme avec 438000 cas de décès (OMS, 2015b). Environ, 80% des cas cliniques surviennent en Afrique subsaharienne où les enfants de moins de cinq ans et les femmes enceintes sont les plus touchés (OMS, 2015b). Sur le plan mondial, une baisse considérable du poids du paludisme a été enregistrée ces 15 dernières années (OMS, 2015a). Au Burkina Faso, le paludisme représente l'une des préoccupations importantes de santé publique car il est le premier motif de consultation (46,5%), d'hospitalisation (61,5%) et de mortalité (30,5%) dans les formations sanitaires (Ministère de la santé, 2014).

Il existe plusieurs espèces de parasites du *Plasmodium*, seulement cinq (05) sont retrouvées en pathologies humaines. Il s'agit du *Plasmodium falciparum*, *P. malariae*, *P. ovale*, *P. vivax* et *P. knowlesi*. Ces parasites ont été depuis longtemps décrits, seul le *P. knowlesi* est la plus récente (Figtree et al., 2010). *P. falciparum* est l'espèce majoritaire retrouvée dans plus de 90% des cas de paludisme au Burkina Faso (Ministère de la santé, 2014).

En Afrique subsaharienne, les vecteurs connus comme vecteurs majeurs dans la transmission du *Plasmodium* sont : *Anopheles gambiae*, *An. coluzzii*, *An. arabiensis*, *An. nili* et *An. funestus* (Pages, Orlandi-Pradines, et Corbel, 2007; Robert et al., 1985). Au Burkina Faso, *An. gambiae*, *An. arabiensis* et *An. funestus* sont les plus majoritaires (OMS, 2015a).

La lutte contre cette maladie repose essentiellement sur la lutte antiparasitaire et la lutte antivectorielle. La lutte antiparasitaire est basée sur l'utilisation de la chimiothérapie. Quant à la lutte antivectorielle, elle repose essentiellement sur l'utilisation des moustiquaires imprégnées à longue durée d'action (MILDA) et les pulvérisations intra-domiciliaires d'insecticides à effet rémanent (PID). En Afrique subsaharienne, de nombreux cas de paludisme ont été évités entre 2001 et 2015 avec 69% grâce à l'utilisation des MILDA, 10% dû au PID et 21% grâce aux CTA (OMS, 2015a). Ces deux (02) stratégies de lutte ont réduit de 32% l'incidence du paludisme en Afrique subsaharienne depuis 2000 (OMS, 2015b). Malgré ces moyens de lutte, on observe une plus grande mortalité chez les enfants de moins de 5 ans (OMS, 2015a). Face à cette préoccupation sanitaire, l'OMS a approuvé en 2012 la mise en place de la chimioprévention du paludisme saisonnier (CPS) chez les enfants de moins de 5 ans vivant dans les zones de paludisme à transmission saisonnière (McGibney, 2016). Elle est déployée dans

les zones où l'incidence du paludisme est supérieure à 60% pendant quatre mois par an et où l'efficacité de la sulfadoxine/pyriméthamine (SP) et de l'amodiaquine (AQ) demeure (Zongo et al., 2015). La CPS, autrefois appelée « traitement préventif intermittent du paludisme chez les enfants », est définie comme « l'administration intermittente d'un traitement complet par un médicament antipaludique pendant la saison de haute transmission du paludisme pour éviter la maladie (OMS, 2011). Son objectif est de maintenir des concentrations thérapeutiques de médicament antipaludique dans le sang pendant la période où le risque de contracter le paludisme est plus élevé. La stratégie de la CPS consiste à administrer un maximum de quatre cycles de traitement de sulfadoxine/pyriméthamine et de l'amodiaquine (SP + AQ) à intervalles d'un mois à des enfants âgés de 3 à 59 mois dans les régions de forte transmission saisonnière du paludisme (OMS, 2011). Le choix de cette molécule est basé non seulement sur son efficacité clinique et sa bonne tolérance (faible risque de toxicité) mais également sur son accessibilité à la grande majorité des africains (Michel, 2013). L'efficacité de cette stratégie a été prouvée dans les travaux de plusieurs auteurs en Afrique (Cisse et al., 2006; Dicko et al., 2008; Kweku et al., 2008; Zongo et al., 2015). La combinaison utilisée a une action tant sur les composantes sanguines que sur le *Plasmodium* qui est à l'origine des troubles hématologiques (Kayentao et al., 2009; Kweku et al., 2008; Maiga et al., 2015).

En raison de la haute saisonnalité de la transmission dans la quasi-totalité du pays, le Burkina Faso a bénéficié de la mise en œuvre de cette nouvelle approche (Zongo et al., 2015). Depuis 2014, un essai clinique dénommé Seasonal Malaria Chemoprevention (SMC) mesurant l'efficacité de la CPS sur la mortalité et la morbidité des enfants recevant le traitement a commencé au Burkina Faso, dans la localité de Houndé à l'ouest de Bobo-Dioulasso. Il nous a paru nécessaire de nous interroger sur l'effet de la CPS sur les paramètres parasitologiques et hématologiques dans cette partie du Burkina Faso. Ce travail repose sur le projet SMC et a pour objectif général d'étudier l'influence de la CPS sur les paramètres parasitologiques et hématologiques. Plus spécifiquement, il s'agit de déterminer l'effet de la CPS sur les espèces de *Plasmodium* ainsi que sur les stades du parasite et enfin, de déterminer l'effet de la CPS sur les paramètres hématologiques d'une population avec et sans CPS.

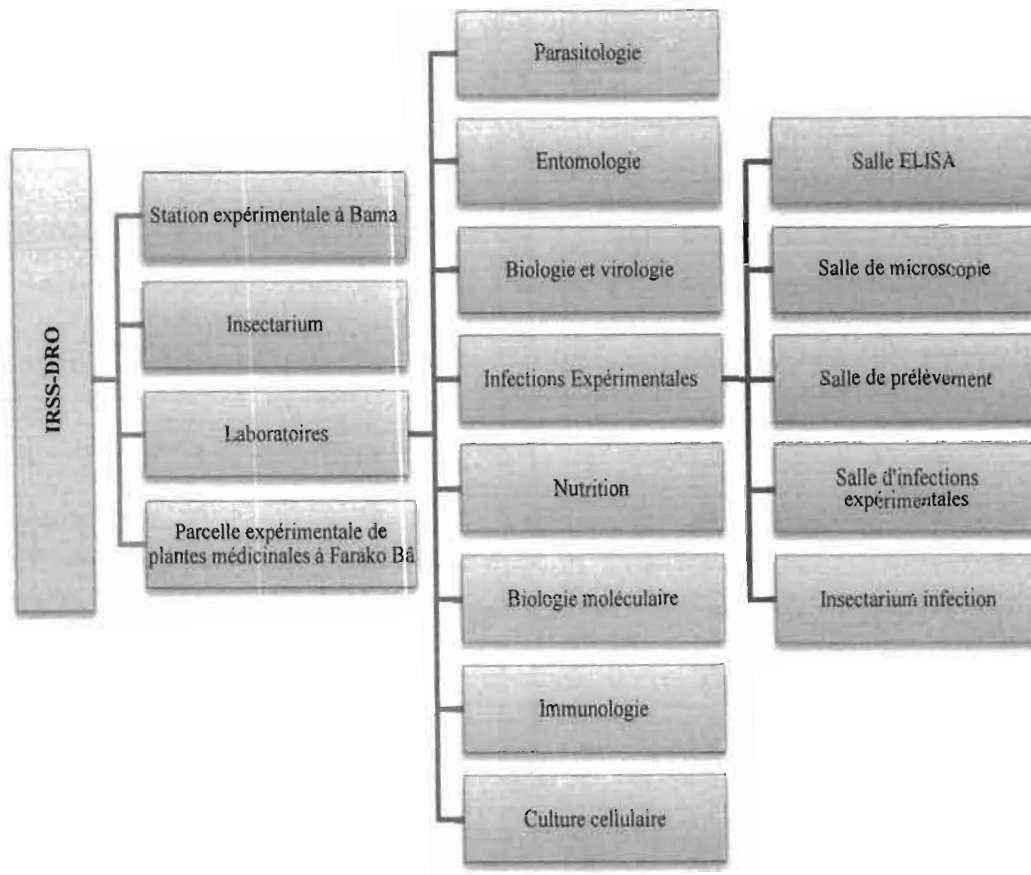
## **Chapitre 1 : Généralité**

### **1.1. Présentation de l'IRSS**

En 1997, l'Institut de Recherche en Sciences de la Santé (IRSS), l'un des quatre instituts du Centre National de la Recherche Scientifique et Technologique (CNRST) a été créé suite à l'adoption du plan stratégique national de recherche scientifique et technologique en 1995 par le gouvernement burkinabé. Deux ans plus tard (1999), la Direction Régionale de l'Ouest de l'IRSS (IRSS-DRO) sise à la Rue 399, Avenue de la Liberté a été créée à Bobo-Dioulasso.

La création de l'IRSS traduit la volonté de faire de la recherche un outil de prise de décisions éclairées pour l'élaboration et la mise en œuvre de la politique sanitaire, dans la lutte contre les maladies, les endémies et les épidémies. L'institut est structuré en deux départements (Le département Biomédical et Santé Publique (BIOMEDICAL/SP) et le département Médecine, Pharmacopée Traditionnelle et Pharmacie (MEPHATRA/PH)). L'IRSS s'est vu assigné comme mission, d'apporter, par la recherche des solutions aux problèmes prioritaires de santé du Burkina Faso. La Direction Régionale de l'Ouest de l'IRSS possède huit (08) laboratoires (y compris le laboratoire d'Infections Expérimentales), un insectarium, une station expérimentale à Bama et une parcelle expérimentale pour la culture de plantes médicinales située à Farako Bâ (figure 1).

Le laboratoire d'Infections Expérimentales est doté d'une salle ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay), d'une salle de microscopie, d'une salle de prélèvement, d'une salle d'infections expérimentales et d'un insectarium post-infection. Les premières infections expérimentales y ont été réalisées en 2007.



**Figure 1:** Organigramme des laboratoires de l'IRSS-DRO

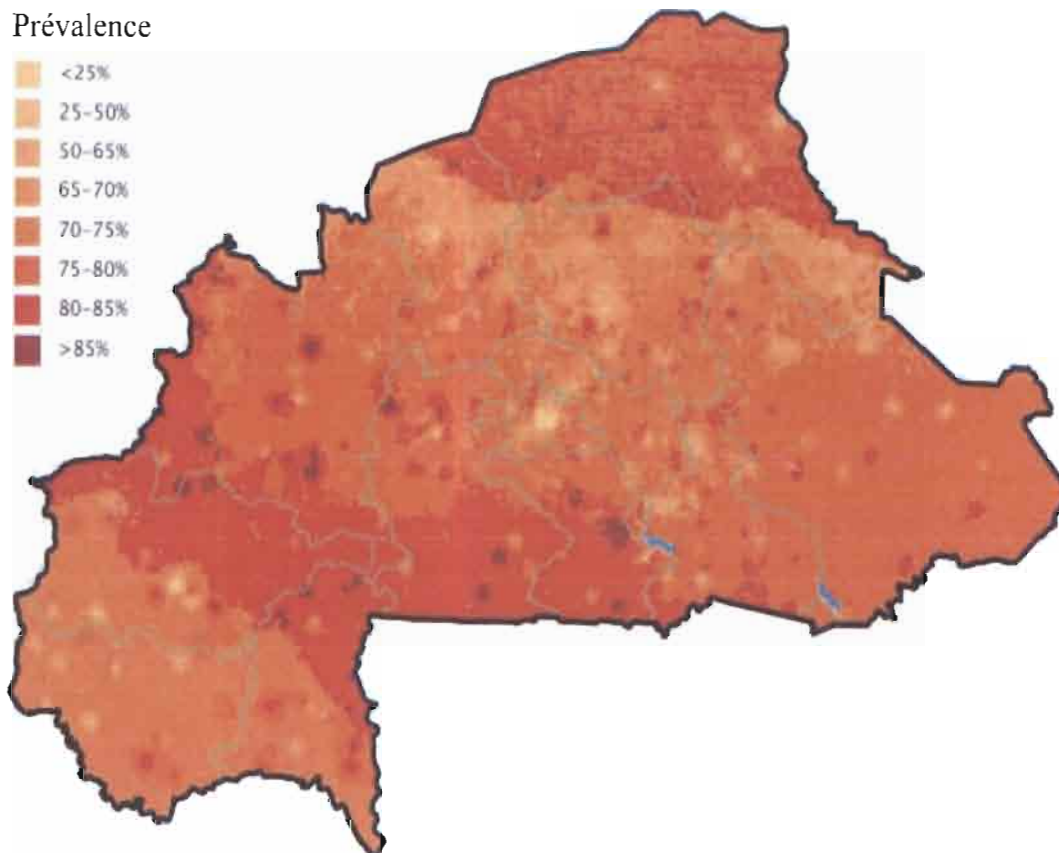
## 1.2. Généralité sur le paludisme

### 1.2.1. Epidémiologie

#### 1.2.1.1 Répartition géographique

Le paludisme est de loin la maladie parasitaire préoccupante pour la santé publique. Son aire de distribution géographique intéresse les 2/3 de la population mondiale répartie essentiellement dans toutes les régions chaudes mais aussi dans quelques pays résiduels en zone tempérée.

Le paludisme est la principale cause de morbidité et de mortalité au Burkina Faso. Il y a trois (03) niveaux de transmissions saisonnières qui augmentent du nord vers le sud du pays. La région sahélienne au nord est prédisposée aux épidémies à transmission saisonnière courte de deux ou trois mois. La région centrale soudano-sahélienne a de longues transmissions saisonnières de quatre à six mois et la région du sud-ouest soudano-sahélienne connaît une transmission permanente avec une augmentation de la transmission pendant la saison des pluies (PNLP, 2007). Le centre urbain du pays a une prévalence faible. Le nord, le sud et une partie de l'ouest ont une prévalence élevée du paludisme (figure 2) (Samadoulougou et *al.*, 2014).



**Figure 2:** La prévalence du paludisme chez les enfants de moins de cinq ans au Burkina Faso en août 2010 (Samadoulougou et *al.*, 2014).

### 1.2.1.2. Agent pathogène (parasite)

#### 1.2.1.2.1. Taxonomie du parasite

Le *Plasmodium* responsable du paludisme est un protozoaire parasite intracellulaire, colonisant les hématies et produisant du pigment. Il présente au cours du cycle évolutif, une alternance de reproduction asexuée (schizogonie) évoluant chez l'hôte vertébré et de reproduction sexuée (sporogonie) ayant lieu chez l'hôte invertébré (Molez, 1993). Cet hématozoaire fait partie du phylum des *Apicomplexa*, à la classe des *Sporozoea*, à l'ordre des *Haemosporida* et à la famille des *Plasmodiidae* (Molez, 1993). On en distingue cinq (05) espèces en pathologie humaine. Il s'agit du *Plasmodium falciparum*, *P. ovale*, *P. malariae*, *P. vivax*, et *P. knowlesi* (Aubry et Gaüzère, 2015b). Le *Plasmodium falciparum* est l'espèce la plus virulente (Aubry et Gaüzère, 2015b).

#### 1.2.1.2.2. Biologie du parasite

Deux (02) hôtes sont nécessaires pour l'accomplissement du cycle plasmodial (figure 3). On distingue deux (02) phases dans le cycle de vie des *Plasmodium* :

- Une phase chez l'hôte intermédiaire, l'homme (phase asexuée) ;
- Une phase chez l'hôte définitif, le moustique anophèle (phase sexuée).



## ❖ Cycle de développement parasitaire chez l'homme

La multiplication chez l'homme comporte successivement une phase hépatique (développement exo-ou pré-érythrocytaire) puis une phase sanguine (cycle érythrocytaire).

### ➤ La phase hépatique

Au cours de son repas sanguin, l'anophèle femelle infesté injecte avec sa salive des centaines de parasites sous forme de sporozoïtes fusiformes. Les sporozoïtes inoculés par l'anophèle femelle lors de son repas sanguin restent pendant une trentaine de minutes maximum dans la peau, la lymphe et le sang. Beaucoup sont détruits par les macrophages mais certains parviennent à gagner les hépatocytes. Ils se transforment en schizontes pré-érythrocytaires ou « corps bleus » (formes multi nucléées) qui, après quelques jours de maturation, éclatent et libèrent des milliers de mérozoïtes dans le sang (10 000 à 30 000 mérozoïtes en fonction des espèces). La schizogonie hépatique est unique dans le cycle, la cellule hépatique ne pouvant être infectée que par des sporozoïtes.

### ➤ La phase sanguine

Les mérozoïtes libérés lors de l'éclatement des schizontes hépatiques, arrivent dans le sang. Ils envahissent les érythrocytes et marque ainsi le début de la réplication érythrocytaire. Les mérozoïtes pénètrent dans les érythrocytes. Après quelques heures de maturation, ils se transforment en trophozoïtes puis en schizontes érythrocytaires (48 ou 72 heures en fonction de l'espèce). Les schizontes érythrocytaires détruisent les globules rouges (érythrocytes) de l'hôte et libèrent 8 à 32 mérozoïtes. Ces mérozoïtes pénètrent dans de nouveaux globules rouges et débutent un nouveau cycle de réplication. Cette partie du cycle correspond à la phase clinique: la parasitémie s'élève, le sujet devient fébrile, c'est l'accès palustre. En l'absence de traitement, tous les parasites évoluent progressivement au même rythme (on dit qu'ils deviennent synchrones). Tous les schizontes érythrocytaires arrivent à maturation au même moment, entraînant la destruction d'un grand nombre de globules rouges de manière périodique, toutes les 24 heures (pour *P. knowlesi*), 48 heures (fièvre tierce de *P. falciparum*, *P. vivax* ou *P. ovale*) ou toutes les 72 heures (fièvre quarte de *P. malariae*). En pratique on observe que la fièvre tierce à *P. falciparum* est rarement synchrone. Après un certain nombre de cycles érythrocytaires, certains mérozoïtes subissent une maturation d'une dizaine de jours, accompagnée d'une différenciation sexuée : ils se transforment en gamétocytes mâles et femelles.

### ❖ Cycle de développement parasite chez l'anophèle femelle (sporogonie)

En prenant son repas sanguin sur un sujet infecté, l'anophèle ingère les différents stades du parasite. Les éléments asexués (trophozoïtes et schizontes) sont digérés. Seuls les gamétocytes poursuivent leur développement. La reproduction sexuée ne se déroule qu'une fois les gamétocytes à l'intérieur de l'anophèle. Les gamétocytes mâles, après trois (03) divisions successives donnent huit (08) noyaux fils, puis par le phénomène d'exflagellation, libèrent huit (08) microgamètes haploïdes. Ceux-ci fécondent les gamétocytes femelles qui par expulsion des corpuscules chromatiniens se transforment en macrogamètes et forment un zygote mobile appelé ookinète. L'ookinète pénètre à l'intérieur des cellules du tube digestif et s'enkyste entre la lame basale et la membrane plasmique. Il se forme un oocyste dont l'hémolymph est son nutriment principal. Selon la température extérieure et les nutriments prélevés dans l'hémolymph du moustique, l'oocyste se développe neuf à quinze jours et se divise plusieurs fois pour donner des sporozoïtes (plus de 10 000 sporozoïtes) (Robert & Boudin, 2002). Ils sont libérés par rupture de l'oocyste dans la cavité générale de l'anophèle et seront ensuite injectés à l'homme lors d'une piqûre ultérieure. Il faudra alors moins de 45 minutes aux sporozoïtes pour gagner le foie et disparaître de la circulation sanguine (Rabé, 2003).

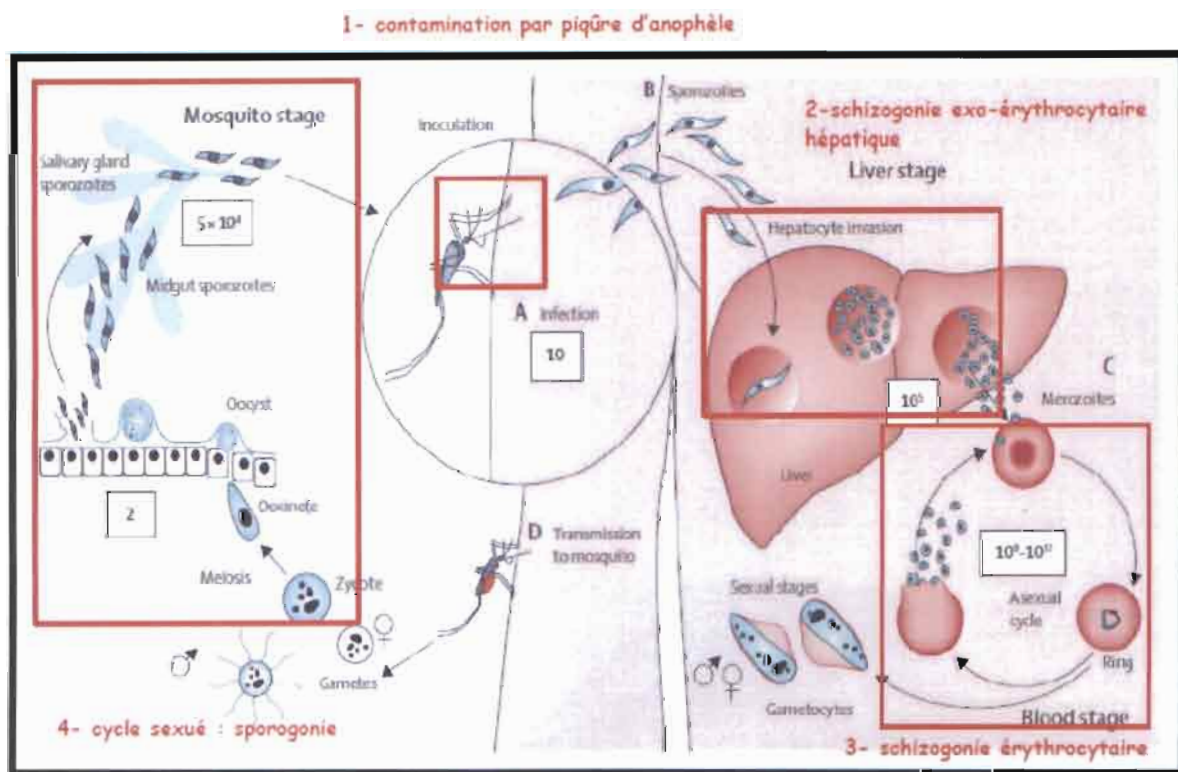


Figure 3: Cycle biologique du *Plasmodium* (White et al., 2014).

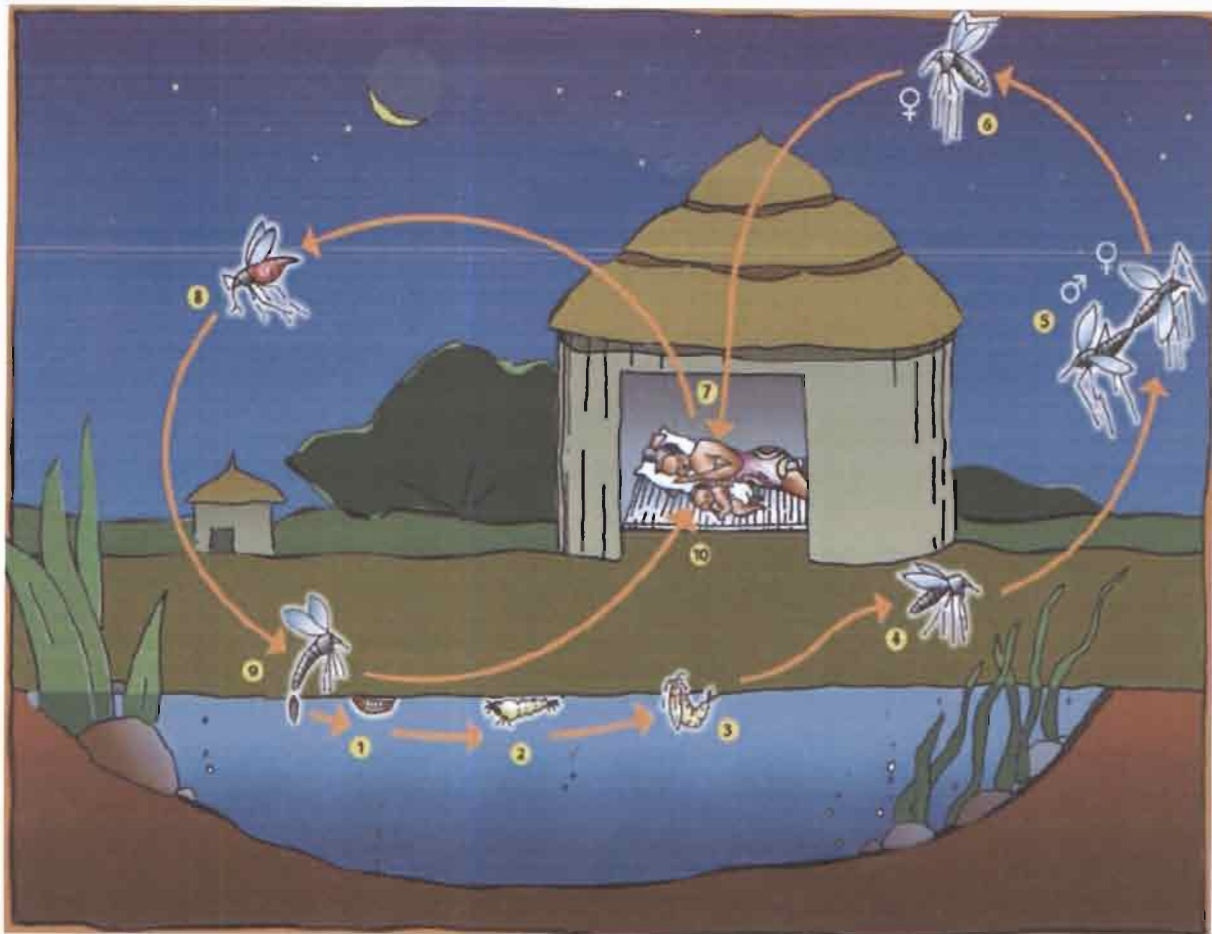
### **1.2.1.3. Le vecteur**

#### **1.2.1.3.1. Taxonomie systématique du vecteur**

Le *Plasmodium* est transmis par les moustiques femelles du genre *Anopheles*. Ces derniers font partie de l'embranchement des arthropodes, de la classe des insectes, de l'ordre des diptères, du sous-ordre des nématocères, de la famille des *Culicidae* et de la sous-famille des *Anophelinae*. La répartition des espèces se fait selon la région et l'environnement. Il y a approximativement 500 espèces d'anophèles dont vingt (20) assurent l'essentiel de la transmission du paludisme dans le monde. L'espèce *An. gambiae* est l'espèce majoritaire en Afrique (Pages et al., 2007). Toutes les espèces importantes vectrices du paludisme piquent entre le crépuscule et l'aube. Les anophèles prennent des repas sanguins pour la maturation de leurs œufs. C'est ce repas sanguin qui lie l'homme au moustique dans le cycle de vie du parasite. Les anophèles survivent assez longtemps pour permettre aux parasites de compléter leur cycle chez le moustique.

#### **1.2.1.3.2. Cycle de développement des anophèles**

Les *Anopheles* pondent leurs œufs dans l'eau. Ces œufs éclosent deux (02) à trois (03) jours en larves après la ponte. Les larves évoluent en nymphes. Les nymphes deviennent des moustiques adultes. Après l'émergence, les femelles sont fécondées puis partent à la recherche d'un repas de sang. Les mâles restent à proximité des gîtes larvaires attendant l'émergence de nouvelles générations de femelles pour les féconder (Pages et al., 2007). Ils se nourrissent de nectar et autres jus sucrés. Les femelles s'alimentent de jus sucrés (qui procurent l'énergie nécessaire pour le vol) et de sang humain et/ou animal pour la maturation des œufs. Elles sont hématoiphages. C'est au cours d'un repas de sang qu'elles ingèrent et/ou transmettent le parasite. Le cycle de maturation des ovocytes débute avec le repas de sang et se termine par la ponte. C'est le cycle gonotrophique (figure 4). Le processus dépend de la température et prend habituellement deux (02) ou trois (03) jours dans les conditions tropicales. Une fois que les œufs sont entièrement produits, la femelle les pond dans les gîtes larvaires et reprend la recherche d'autre hôte pour un autre repas sanguin. Le cycle se répète jusqu'à ce que la femelle meure. La durée de vie des femelles est d'environ un mois (Pages et al., 2007). Leurs chances de survie dépendent de la température et de l'humidité, mais également de leur capacité de se procurer un repas sanguin tout en évitant les défenses de l'hôte. Certaines espèces préfèrent l'eau douce et les empreintes laissées par les sabots d'animaux, que l'on trouve en abondance pendant la saison des pluies dans les pays tropicaux.



**Figure 4:** Cycle biologique de l'anophèle.

(Sources : [www.ird.fr/content/download/9312/96905/version/5/file](http://www.ird.fr/content/download/9312/96905/version/5/file).)

1 : Œuf. 2 : Larve. 3 : Nymphe. 4 : Devenu adulte, l'anophèle s'envole. 5 : Accouplement. 6 : La femelle anophèle cherche un repas de sang pour assurer le développement de ses œufs. 7 : Elle pique un individu qui peut être infecté par le paludisme. 8 : Elle a ingéré le sang contenant le parasite du paludisme. 9 : Elle pond ses œufs dans l'eau. 10 : La femelle anophèle, parasitée, va prendre un autre repas de sang et, lors de la piqûre, peut transmettre des parasites à une personne.

#### 1.2.1.4. Biologie de la transmission

La transmission du *Plasmodium* est un processus complexe qui nécessite la présence de trois (03) organismes à savoir, l'hôte vertébré, le parasite et le moustique vecteur. Ce processus se déroule en quatre (04) phases : i) le développement parasitaire chez l'homme, ii) la transmission homme-moustique, iii) le développement sporogonique chez le moustique, iv) la transmission moustique-homme.

##### 1.2.1.4.1. Développement parasitaire et mode d'action des antipaludiques chez l'homme

Le développement parasitaire est un processus qui commence depuis la migration des sporozoïtes vers le foie jusqu'aux gamétocytes, en passant par le cycle érythrocytaire asexué.

Les antipaludiques agissent à chaque étape de développement. Ainsi, les schizonticides hépatiques et les hypnozoïticides (primaquine, tafénoquine, atovaquone) inhibent le développement et la libération des mérozoïtes dans la circulation sanguine. Une fois les mérozoïtes arrivées dans le sang, les schizonticides érythrocytaires (sauf la tafénoquine) agissent en réduisant la parasitémie et en limitant le phénomène de production des gamétocytes (gamétocytogénèse). Certains trophozoïtes immatures peuvent amorcer directement la gamétocytogénèse. Ce processus peut être dû à un traitement à doses sub-curatives, à l'effet d'un traitement antipaludique à action lente (sulfadoxine-pyriméthamine), ou aussi à un retard au traitement de l'accès palustre. La primaquine est le seul antipaludique ayant un effet sur les gamétocytes matures, limitant ainsi la transmission « homme-moustique ». Quant aux gamétocytes jeunes, ils sont sensibles aux combinaisons à base d'artémisinine (CAT).

#### **1.2.1.4.2. Transmission**

Seuls les porteurs des gamétocytes matures peuvent infecter les anophèles. Cependant, tout porteur de gamétocytes n'est pas nécessairement infectant. Cela dépend des facteurs liés au parasite, à l'homme et au moustique. Ils peuvent être dûs à :

- L'absence d'infectivité des gamétocytes encore trop jeunes ;
- L'impact d'un traitement préalable du porteur de gamétocytes par un antipaludique. La sulfadoxine-pyriméthamine augmente la gamétocytémie chez les patients traités mais, elle est diminuée chez l'anophèle (Beavogui *et al.*, 2010);
- La nature des hémoglobines du porteur de gamètes influence le développement des gamétocytes chez le vecteur. Les travaux de Gouagna *et al.* (2010) ont montré que le pourcentage de moustiques infestés par les gamétocytes était deux fois supérieur avec le sang à hémoglobine AS par rapport au sang à hémoglobine AA (Gouagna *et al.*, 2010).
- Des anticorps expérimentaux anti-tube digestif du moustique peuvent empêcher, ou inhiber l'infectivité du moustique, en bloquant les récepteurs tissulaires de l'ookinète (Robert et Boudin, 2002).

#### **1.2.1.4.3. Développement sporogonique**

La phase sporogonique débute avec l'ingestion des gamétocytes au cours d'un repas de sang et se termine par l'éjection de sporozoïtes à l'extrémité du canal salivaire, lors d'une autre piqûre. Le cycle sporogonique ou extrinsèque varie de dix (10) à dix-huit (18) jours.

#### **1.2.1.4.4. Infection de l'homme**

L'infection est l'inoculation des sporozoïtes à l'homme après piqûre par l'anophèle infecté. Elle est asymptomatique et correspond au stade pré-érythrocytaire.

### **1.2.2. Diagnostic biologique du paludisme**

#### **1.2.2.1. Diagnostic direct**

Le diagnostic direct du paludisme repose essentiellement sur la réaction de polymérisation en chaîne (PCR) et l'examen microscopique d'une goutte épaisse et frottis mince colorée au giemsa à 10% pour la plupart. Il permet de rechercher le parasite en cause ou un de ses composants (antigène, génome) (Aubry et Gaüzère, 2015a).

##### **1.2.2.1.1. Réaction de Polymérisation en Chaîne (PCR)**

L'amplification génique par PCR est actuellement la technique la plus sensible. Néanmoins, c'est une technique longue et onéreuse. Son indication se justifie principalement en cas de difficulté du diagnostic microscopique. Elle est utilisée en cas de faibles parasitémies ou pour l'identification de l'espèce plasmodiale en cause. Elle est également d'un apport appréciable dans l'étude des gènes de résistance aux antipaludiques (Siala et *al.*, 2010).

##### **1.2.2.1.2. Examen microscopique**

Cet examen est une technique basée sur la réalisation de goutte épaisse et frottis mince sur une lame porte-objet. La lame est colorée selon la méthode de May-Grunwald-Giemsa ou par du giemsa après fixation à l'alcool (méthanol) du frottis sanguin mince. Les parasites sont reconnus lors de la lecture à l'objectif 100X à l'huile à immersion, à travers les couleurs rouges de leur noyau et bleues de leur cytoplasme. C'est la technique standard. L'examen microscopique permet d'identifier l'espèce plasmodiale en cause et d'évaluer la parasitémie. Il permet également de poser le diagnostic et la conduite thérapeutique. Cependant, la fiabilité de cet examen exige une expérience du biologiste. Il est opérateur dépendant.

##### **1.2.2.2. Diagnostic indirect**

Le diagnostic indirect met en évidence la réponse de l'hôte à l'infection par la détection d'anticorps spécifiques ou diagnostic sérologique (Aubry et Gaüzère, 2015a). Le diagnostic indirect comprend essentiellement la détection d'antigènes palustres par test de diagnostic rapide (TDR) et le test de d'immunofluorescence indirect. Le TDR repose sur l'utilisation des bandelettes sensibilisées par des anticorps monoclonaux détectant des antigènes plasmodiaux (Siala et *al.*, 2010). Quant au test d'immunofluorescence indirecte, il permet de déterminer les

niveaux d'anticorps après l'infection palustre (Duo-Quan et *al.*, 2009). Ce test repose sur l'utilisation de fluorochrome (acridine orange) capable de se fixer sur le noyau du parasite (Siala et *al.*, 2010).

### **1.2.3. Lutte contre la maladie**

#### **1.2.3.1. Lutte antivectorielle**

La lutte antivectorielle est le principal moyen pour prévenir et réduire la transmission du paludisme. Si la couverture par les interventions de lutte antivectorielle est suffisamment élevée dans une région donnée, l'ensemble de la communauté sera protégé. Cette lutte repose sur :

- L'utilisation des moustiquaires imprégnées à longue durée d'action (MILDA) ;
- La pulvérisation intra domiciliaire (PID) ;
- L'assainissement du milieu de vie de l'homme.

Malgré l'efficacité de cette lutte, une résistance des moustiques aux pyréthrinoïdes, principaux insecticides utilisés, a fait son apparition dans de nombreux pays. Heureusement, cette résistance n'a que rarement été associée à une baisse de l'efficacité des moustiquaires (OMS, 2015b). Pour la PID, il est recommandé d'utiliser différentes classes d'insecticides en alternance afin d'éviter la résistance (OMS, 2015b).

#### **1.2.3.2. Lutte antiparasitaire**

La lutte antiparasitaire est une stratégie chimiothérapeutique qui permet de prévenir ou de guérir les personnes exposées à l'infection au *Plasmodium*. Cette lutte repose sur l'utilisation des antipaludiques spécifiques aux différents stades évolutifs du parasite (figure 5). Un antipaludique est un médicament de synthèse administré par voie orale ou parentérale ou encore rectale, à dose unique ou à dose répétée, permet de détruire le parasite ou de bloquer sa croissance dans le but de prévenir ou de guérir la maladie. Il existe différentes classes d'antipaludiques. Ce sont les endoperoxydes, les 4-aminoquinoléines, les 8-aminoquinoléines, les antifolates, les sulfamides, les antibiotiques, les amino-alcools, etc.

Selon la cible des antipaludiques dans les étapes du cycle, on distingue : les schizonticides, les gamétocytocides et les sporonticides.

##### **1.2.3.2.1. Les schizonticides**

Ils sont classés en fonction de leurs rapidités à atteindre leurs cibles. Ce sont :

- **Les 4-aminoquinoléines :** Ce sont la chloroquine, l'amodiaquine, la debaquine et la sentonine. Ils ont une action rapide sur les schizontes. Ainsi l'amodiaquine, commercialisée sous le nom de Flavoquine® ou le Camoquin® sont rapidement absorbées dans le tractus-gastro-intestinal. L'amodiaquine interfère avec le parasite en perturbant la détoxification de l'hème et est efficace contre les parasites chloroquines-résistants tel que le *P. falciparum*. Ses effets secondaires sont des troubles hépatiques et d'agranulocytose. Sa demi-vie plasmatique est de 9 à 18 jours.
- **Les amino-alcools :** Ce sont la Quinine, Mefloquine (Lariam®), Halofantrine Luméfantrine (Halfan®).
- **Les antimétabolites :** Ce sont les antifoliques et les antifoliniques.

La sulfadoxine et la pyriméthamine font partie respectivement des antifoliques et antifoliniques. Elles sont absorbées dans le tractus gastro-intestinal et ont une action schizonticide lente. La sulfadoxine et la pyriméthamine sont commercialisées sous le nom de Fansile et Daparim®/Malocid®. La sulfadoxine, faisant partie des antifoliques inhibe la dihydroptéroate synthase (DHPS). Cette enzyme est responsable de l'incorporation de l'acide p-aminobenzoïque dans la synthèse de l'acide folique. La demi-vie d'élimination de la sulfadoxine est de 4-9 jours. Elle traverse le placenta et est faiblement éliminée dans les urines. Quant à la pyriméthamine, faisant partie des antifoliniques, inhibe la dihydrofolate réductase (DHFR). Cette dernière est responsable de la transformation de l'acide folique en acide folinique chez le parasite. Sa demi-vie plasmatique est de quatre (04) jours. Elle est efficace contre chacune des espèces plasmodiales humaines.

- **Les associations schizonticides :**

Il existe plusieurs combinaisons antipaludiques telles que :

Sulfadoxine + Pyriméthamine commercialisées sous le nom de Fansidar®. Il a des propriétés schizonticides à dose unique en inhibant le métabolisme de l'acide folique dont l'hématozoaire a besoin pour sa croissance. Sa demi-vie plasmatique est d'environ 4 jours pour la pyriméthamine et 8 jours pour la sulfadoxine. Son usage est contre-indiqué durant le premier trimestre et le neuvième mois de la grossesse.

Il existe d'autres associations schizonticides tel que le Fansimef® (Méfloquine + Sulfadoxine-pyriméthamine), le Savarine® (Chloroquine + Proguanil), le Coartem® (Artémether + luméfantrine), l'Artéquin® (Artésunate + Méfloquine), le Co-arsucam™ (Artésunate + Amodiaquine), l'Asunate® Denk (Artésunate + Sulfaméthoxypyrazine-pyriméthamine)



- **Artémisinine et dérivés** : Artémisine, Artésunate, Artémether.

Ces produits appartiennent à une nouvelle classe d'antipaludique dont la structure diffère des autres antipaludiques connus ce jour. Ils possèdent peu d'effets secondaires et ont une action schizonticide rapide.

#### **1.2.3.2.2. Les gamétocytocides**

Les 8-aminoquinoléines (exemple, la Primaquine, Tafenoquine) sont les seuls capables de rompre le cycle de la transmission du paludisme en inhibant la transformation des gamétocytes du sang humain en gamètes chez l'anophèle. Ils ont une activité significative sur les formes exo-érythrocytaires de *Plasmodium vivax* et *ovale*. Leur toxicité (hémolyse chez les déficients en G6PD) limite leur prescription. L'artémisinine et ses dérivés agissent sur les jeunes gamétocytes en réduisant les gamétocytes matures.

#### **1.2.3.2.3. Les sporonticides**

Ils inhibent le développement des sporozoïtes chez le moustique vecteur. Les sporonticides les plus utilisés sont : la Pyriméthamine, le Proguanil et le Triméthoprime.

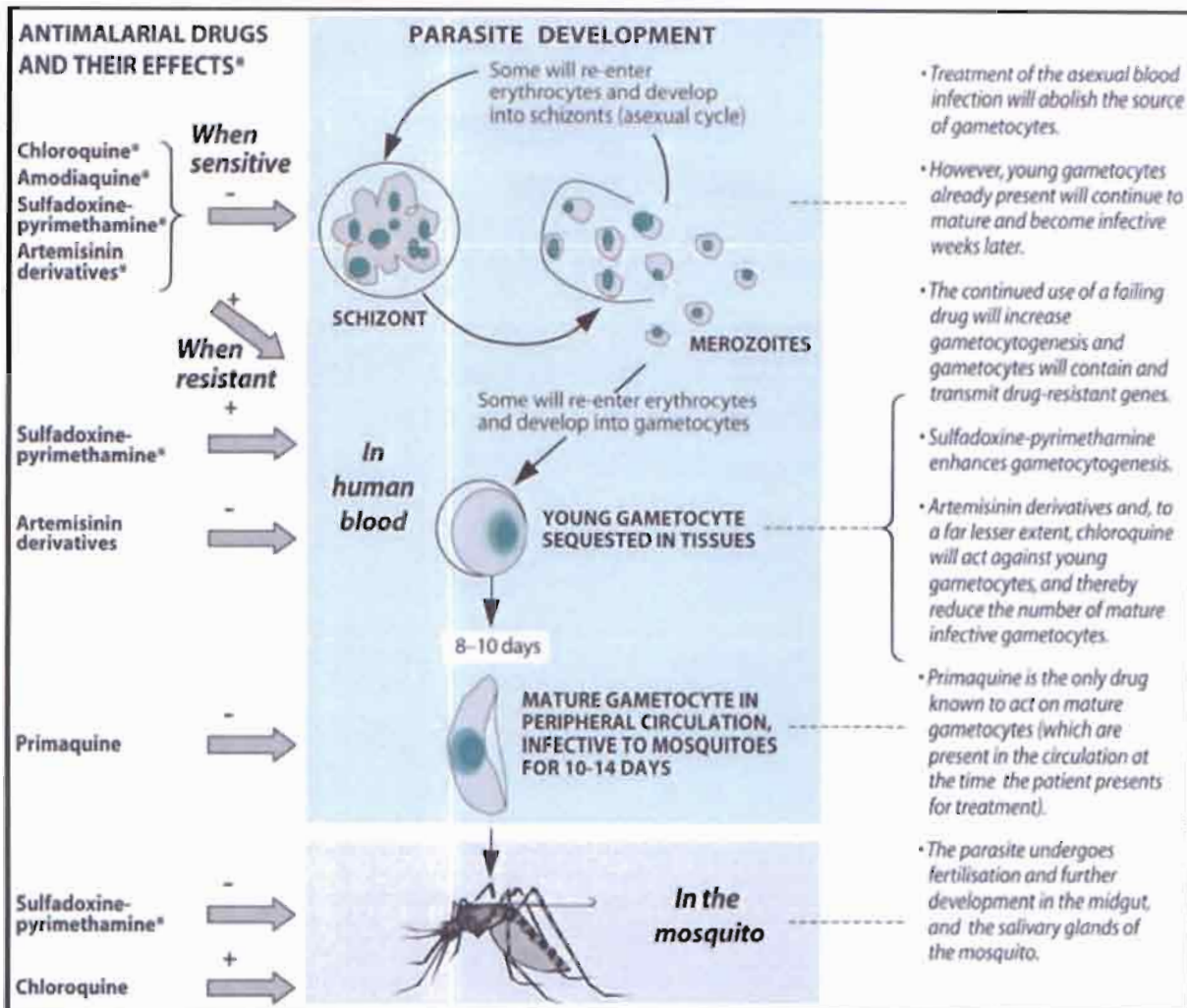


Figure 5: Les antipaludiques et leurs effets sur *Plasmodium falciparum* (OMS, 2010)

#### 1.2.4. Chimio-prévention du paludisme saisonnier (CPS)

##### 1.2.4.1. Définition

La CPS, autrefois appelée « traitement préventif intermittent du paludisme chez les enfants », est définie comme « l'administration intermittente d'un traitement complet par un médicament antipaludique pendant la saison de haute transmission du paludisme pour éviter la maladie (CPS, 2013).

##### 1.2.4.2. Période d'administration

La CPS est appliquée pendant la période de forte transmission du paludisme, lorsque l'incidence de la maladie est importante. Elle est administrée à des enfants âgés de 3 à 59 mois à un (01) mois d'intervalle (cycle de CPS) jusqu'à un maximum de quatre cycles par an (campagne de CPS). La CPS avec SP + AQ procure un degré élevé de protection jusqu'à un mois, ensuite la protection diminue rapidement. Il est par conséquent important de respecter un intervalle d'un mois entre les cycles de CPS afin d'obtenir un niveau de protection élevé et de minimiser l'apparition d'une résistance à SP + AQ. La période d'administration de la CPS est définie de

manière à cibler la période durant laquelle le risque de contracter le paludisme est le plus élevé pour les enfants. Au Burkina Faso, elle est administrée en août, septembre, octobre et novembre. Le calendrier d'administration se répartit comme suit :

#### Premier cycle (août)

Jour 0 : dose unique de SP + première dose d'amodiaquine (par un agent de santé)

Jour 1 : deuxième dose d'amodiaquine (parent ou tuteur)

Jour 2 : troisième dose d'amodiaquine (parent ou tuteur)

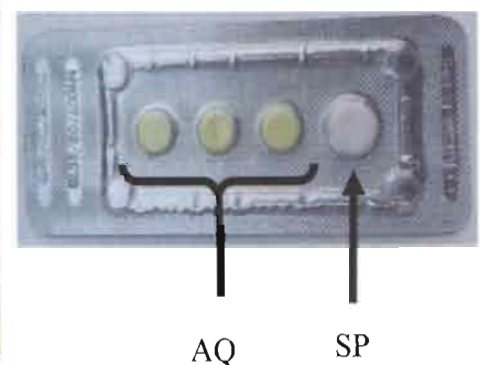
L'administration dans les autres cycles est similaire au premier.

L'objectif est d'administrer un traitement complet de 3 jours par cycle de SP +AQ (figure 7) à chaque enfant éligible (figure 6) au moins trois fois durant la période de forte transmission du paludisme. La protection contre le paludisme clinique est associée à l'administration des deuxième et troisième doses d'amodiaquine. Par conséquent, il importe qu'un enfant reçoive les doses complètes de SP + AQ pendant chaque cycle de traitement de CPS.

On peut administrer quatre cycles de traitement au maximum, selon le profil de transmission du paludisme. Si un enfant manque un cycle de traitement de CPS parce qu'il est malade ou absent, il devrait recevoir les médicaments du cycle suivant s'il est présent et bien portant.



**Figure 6:** Présentation de SPAQ



**Figure 7:** Identification de AQ et SP

#### **1.2.4.3. Régions appropriées pour la mise en œuvre**

La CPS est recommandée dans les zones de forte transmission saisonnière du paludisme où la morbidité palustre est la plus élevée chez les enfants. Les régions appropriées pour une mise en œuvre de la CPS avec SP + AQ sont celles dans lesquelles l'efficacité de l'association reste supérieure à 90 %. La CPS est déployée dans les zones où la morbidité palustre est supérieure

à dix cas sur 100 (10/100) au cours de la saison palustre. En 2014, les pays de la région subsaharienne de l'Afrique à avoir mis en place cette stratégie sont la Gambie, la Guinée, le Mali, le Niger, le Sénégal et le Tchad (OMS, 2015a).

#### **1.2.4.4. Résistance**

Dans les pays du Sud et de l'Est de l'Afrique, une CPS avec SP + AQ n'est pas recommandée en raison du niveau élevé de résistance de *P. falciparum* à l'amodiaquine et/ou à la SP. Le suivi du développement de cette résistance à la fois *in vivo* et *in vitro* est donc essentiel dans les pays où elle est recommandée (CPS, 2013).

## **Chapitre 2 : Matériel et méthodes**

### **2.1. Site de l'étude**

L'étude a été conduite dans les villages de la province du Tuy (Chef-lieu, Houndé), dans la région des Hauts-Bassins. Le chef-lieu de cette province, Houndé, est située à 105 km de Bobo-Dioulasso et est localisée entre la latitude 11° 30' nord et la longitude 3° 30' ouest. Deux zones ont été sélectionnées. Une zone CPS ayant 4 sites d'intervention et une zone contrôle. Ces zones sont à une distance de 58 à 130 Km de Bobo-Dioulasso.

### **2.2. Population d'étude**

La population cible sont des enfants de 24 à 59 mois repartis en trois (03) groupes d'enfants. Le premier était sous CPS. Le second, un contrôle de la zone CPS pris uniquement au premier cycle (cycle 1) et le troisième groupe était un contrôle externe (hors de la zone de couverture de la CPS). La composante des populations est multiethnique. Les habitants sont des Bwaba, des Peuls et des Mossés. Les langues les plus parlées sont le Bwamu et le Mooré. Les religions pratiquées sont l'islam, le christianisme et l'animisme. Les activités menées sont : le commerce, l'agriculture, l'élevage et l'orpaillage.

### **2.3. Durée de l'étude**

L'étude a été d'une durée de quatre (04) mois repartis en quatre (04) cycles. Ces cycles correspondent aux périodes de hautes transmissions du paludisme.

- Cycle 1 : août 2015
- Cycle 2 : septembre 2015
- Cycle 3 : octobre 2015
- Cycle 4 : novembre 2015

### **2.4. Matériel**

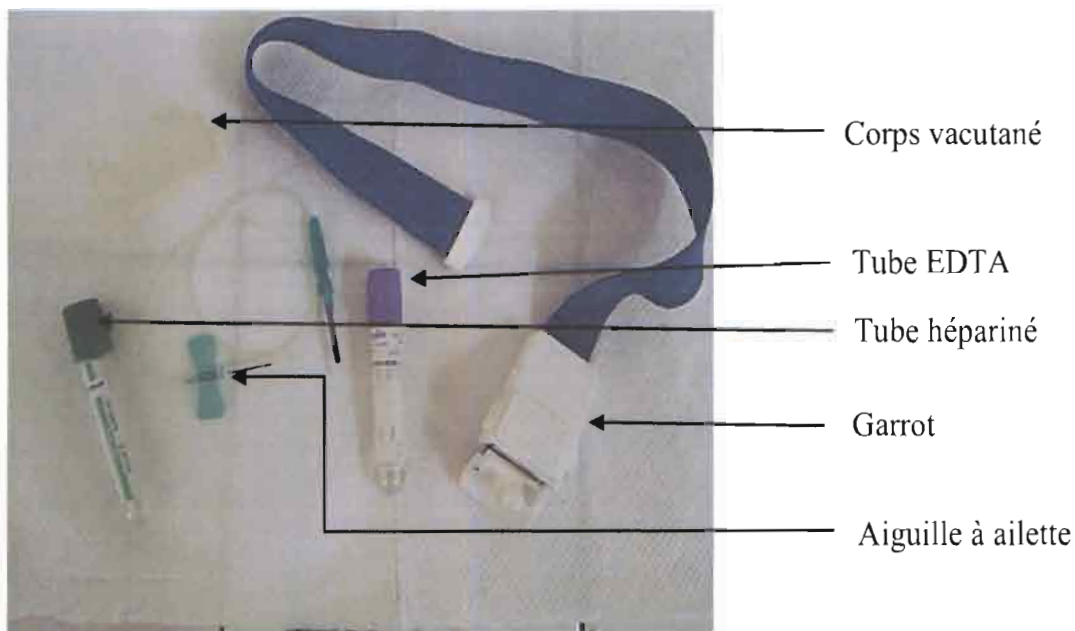
La réalisation de nos travaux a nécessité l'utilisation des matériels suivants (figure 8) :

- a. aiguilles à ailettes
- b. un garrot ;
- c. un corps vacutané;
- d. des tubes héparinés de 4ml pour les analyses parasitologiques ;
- e. des tubes éthylènes diamine tétra acétique (EDTA) de 4ml pour les analyses hématologiques ;
- f. des lames de verre pour la réalisation de la goutte épaisse et frottis mince ;

- g. le méthanol pour fixer le frottis ;
- h. Le giemsa, pour la coloration des lames ;
- i. de l'huile à immersion pour augmenter la résolution du microscope ;
- j. des compteurs manuels pour la réalisation des densités parasitaires ;

Les appareils suivants ont été utilisés :

- a. un automate ABX PENTRA 60 pour la mesure des paramètres hématologiques ;
- b. une imprimante pour l'impression des résultats hématologiques ;
- c. des microscopes optiques de marque LEICA pour l'identification et la détermination de l'espèce et stade parasite ;



**Figure 8:** Les différentes composantes du matériel de prélèvement

## 2.5. Méthodologie

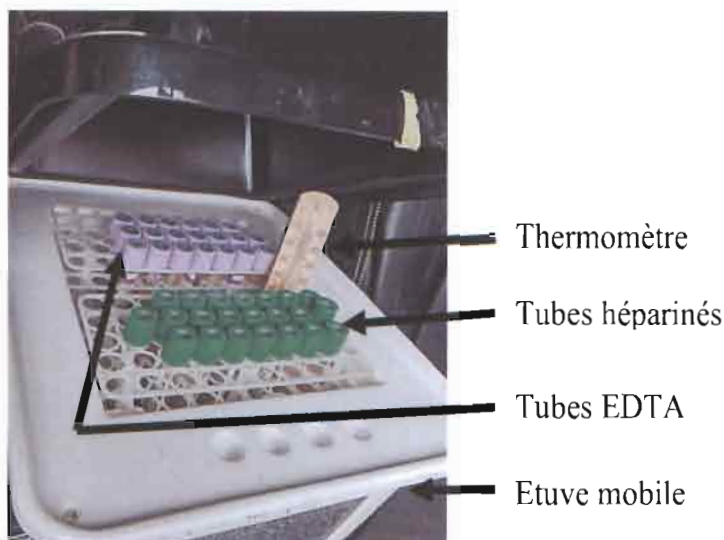
### 2.5.1. Collecte d'échantillon

Les enfants ont été sélectionnés après signature d'un consentement du parent ou du tuteur. Ils ont été réunis au centre de santé et de promotion du site concerné. Les infirmiers des sites effectuaient les administrations conformément aux directives de la CPS. Entre le 14<sup>ème</sup> jour et 21<sup>ème</sup> jour après traitement, des prélèvements de sang veineux ont été effectués sur les enfants recrutés et inclus dans l'étude (figure 9). La réalisation de ces prélèvements a nécessité des sorties sur les sites concernés où les enfants étaient réunis dans les centres de santé et de promotion des sites. A cette période, les médicaments utilisés atteignent leurs plateaux thérapeutiques. Le sang a été collecté dans deux (02) tubes différents. Un tube hépariné de 4ml pour les analyses parasitologiques et un tube éthylène diamine tétra acétique (EDTA) de même

volume pour les analyses hématologiques. Les prélèvements ont été ensuite transportés au laboratoire de l'Institut de Recherche en Sciences de la Santé-Direction Régionale de l'Ouest (IRSS-DRO) dans une étuve mobile qui maintenait la température à 37°C. Un thermomètre y était et permettait la mesure de la température (figure 10).



**Figure 9:** Echantillonnage



**Figure 10:** Echantillons dans l'étuve mobile

## 2.5.2. Mesure des paramètres

### 2.5.2.1. Mesure des paramètres hématologiques

L'automate ABX PENTRA 60 a servi pour la numération des érythrocytes, des leucocytes, des plaquettes et la détermination du taux d'hémoglobine.

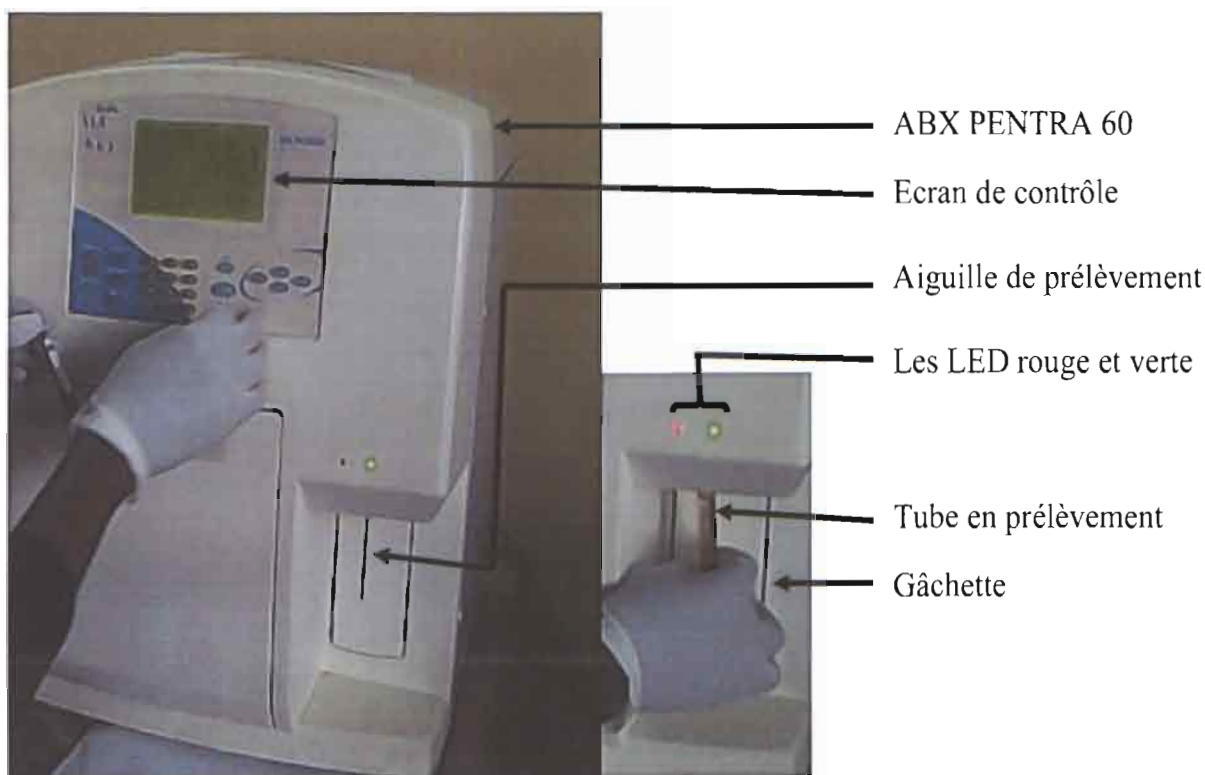
- **Principe de ABX PENTRA 60**

L'analyseur utilise un principe multidistribution. Ce principe est basé sur la détection par variation de résistance. Les cellules en suspension dans un liquide conducteur passent l'une après l'autre à travers un micro-orifice séparant deux (02) chambres munies d'électrode. Ce passage entraîne une brève variation de la résistance proportionnelle au volume de la cellule. Le dénombrement et la mesure des volumes cellulaires sont alors déterminés.

- **Mode de fonctionnement de ABX PENTRA 60**

L'automate ABX PENTRA 60 est entièrement automatisé. Il permet l'analyse diagnostique *in vitro* d'échantillon de sang total humain. L'analyseur fonctionne en mode numération et formule. Les échantillons sont acheminés à l'IRSS. Les prélèvements des tubes EDTA sont transportés au laboratoire d'hématologie-biochimie et sont rapidement homogénéisés.

Une fois la mise en marche de l'appareil enclenchée, un nettoyage automatique s'effectue d'abord. Lorsque la LED (Light Emitting Diode) verte s'allume, l'analyseur est prêt à effectuer le prélèvement. Sur l'écran de contrôle s'affiche la date, l'heure, les paramètres d'analyse, les différents cycles et la partie identité. Après avoir identifié l'échantillon à analyser (figure 11), le mode « diff » est choisi. Ce mode permet de faire la numération et la formule et nécessite 53 µl de sang total. Une aiguille incorporée dans l'automate permet de faire le prélèvement. Lorsque la LED rouge et verte clignotent l'une après l'autre, l'analyseur effectue le prélèvement. Lorsque la LED rouge s'allume, l'analyseur effectue l'analyse. Quand la LED verte s'allume de nouveau, l'analyseur est prêt pour effectuer un nouveau prélèvement. A la fin de chaque analyse les résultats sont affichés sur l'écran de contrôle. L'automate étant connecté à une imprimante, les résultats sont imprimés au fur et à mesure.



**Figure 11:** Description du fonctionnement de ABX PENTRA 60

#### **2.5.2.1.1. Détermination des globules rouges, globules blancs et plaquettes**

L'échantillon est dilué dans un diluant électrolytique (conducteur de courant) et entraîné dans le micro orifice calibré. Lorsque la cellule passe dans l'orifice, le système électronique analyse et élimine le bruit de fond (débits érythrocytaires, d'agrégats plaquettaires, d'érythroblastes, d'artefacts). Les plaquettes qui ont un volume moyen approximativement dix (10) fois inférieur au volume érythrocytaire moyen sont séparées des globules rouges.



### 2.5.2.1.2. Détermination du taux d'hémoglobine

La détermination du taux d'hémoglobine s'effectue avec deux (02) réactifs :

- Le premier est l'alphalyse. Ce réactif décompose la membrane cellulaire des érythrocytes et libère l'hémoglobine contenue dans la cellule. L'hémoglobine ainsi libérée se combine au cyanure de potassium du réactif de lyse pour former un composé cyanméthémoglobine chromogène. Ce composé est ensuite mesuré par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 550 nm.
- Le second est le lysebio. Il permet la lyse érythrocytaire et la détermination sans cyanure de l'hémoglobine. Tout le fer héminique est oxydé et stabilisé, produisant des types chromogènes pour la quantification par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 550 nm.

Les valeurs de références sont contenues dans le tableau I.

**Tableau I:** Les valeurs de références des paramètres hématologiques avec ABX PENTRA 60

Paramètres	Homme	Femme
Globules blancs	4 – 10. 10 <sup>3</sup> /μl	4 – 10. 10 <sup>3</sup> /μl
Globules rouges	4,5 – 6,5.10 <sup>6</sup> /μl	3,80 – 5,80.10 <sup>6</sup> /μl
Taux d'hémoglobine	13,0 – 17,0 g/dl	11,5 – 16 g/dl
Plaquettes	150 – 500.10 <sup>3</sup> /μl	150 – 500.10 <sup>3</sup> /μl

### 2.5.2.2. Mesure des paramètres parasitologiques.

Des gouttes épaisses et frottis minces ont été effectuées pour la mesure des paramètres parasitologiques. Les restes des échantillons ont été utilisés pour des infections expérimentales.

- **Définition et principe**

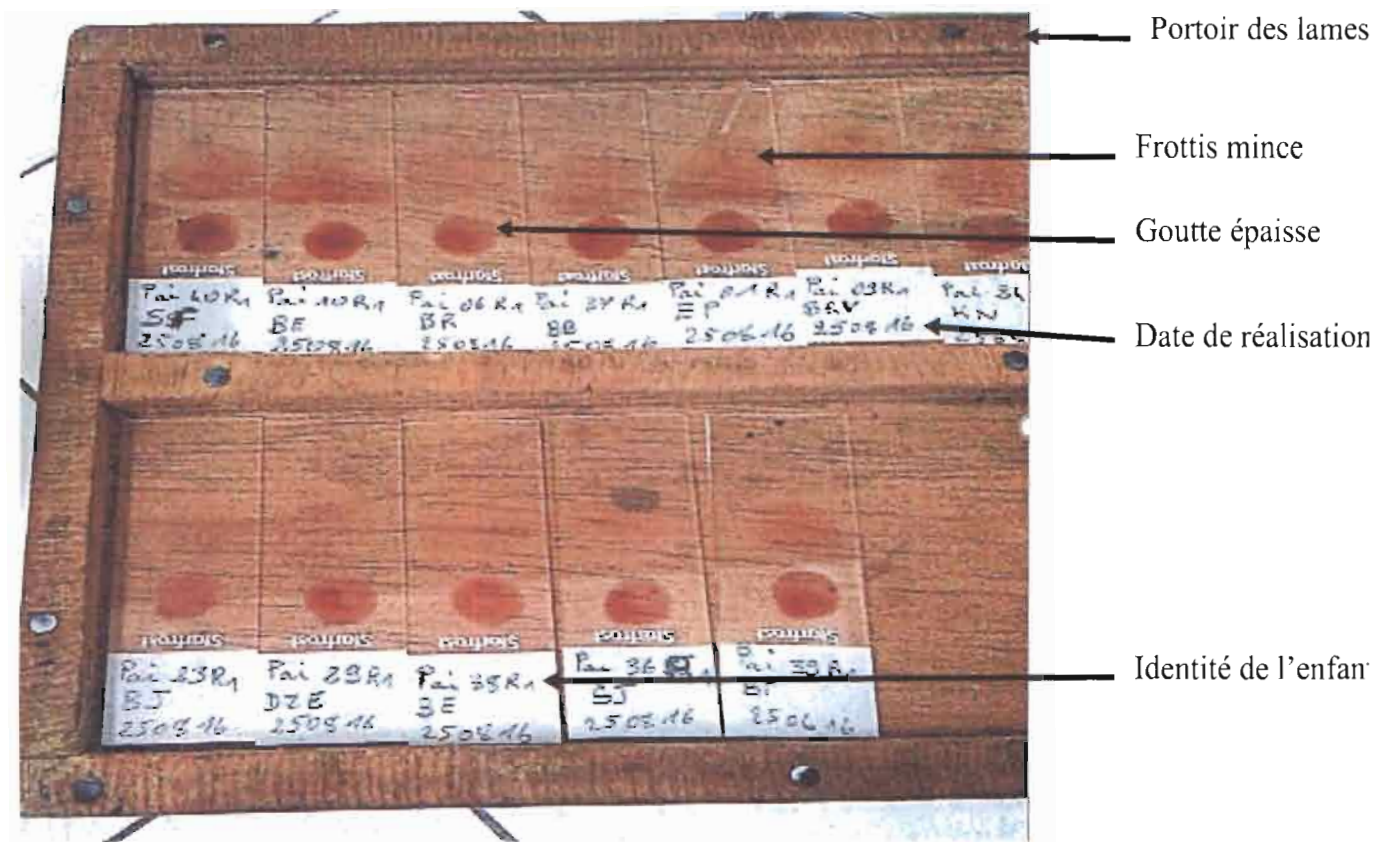
La goutte épaisse (GE) est une technique de recherche des parasites dans une goutte de sang défibriné sur une lame porte-objet. Elle doit avoir un centimètre de diamètre. Cette goutte est ensuite colorée sans fixation à l'aide d'une solution de giemsa dilué à 10% pendant dix minutes puis séché. Elle permet une altération de la morphologie cellulaire des hématies et une libération de leurs contenus.

Le frottis mince (FM) est une technique d'étalement mince d'une goutte de sang uniformément sur une lame de verre, fixée au méthanol puis colorée au giemsa 10% pendant dix minutes. Le frottis n'altère pas la morphologie de la cellule. Il sert à identifier l'espèce du *Plasmodium*.

- **Confection de la goutte épaisse et frottis mince (figure 12)**

Les prélèvements de sang collectés dans les tubes héparinés ont été d'abord utilisés pour des infections expérimentales (1ml) puis le reste a été utilisé pour la réalisation des confettis et des gouttes épaisses et frottis minces dans le but de rechercher les parasites du *Plasmodium*. La réalisation des GE et FM a nécessité les étapes suivantes :

1. étiquetage des lames par numéro d'identification unique de l'enfant avec la date.
2. dépôt de 2 à 3  $\mu$ l de sang pour la GE à 1cm du bord de la lame et 2  $\mu$ l de sang au milieu de la lame pour le FM ;
3. GE : avec le coin d'une autre lame, nous avons étalé régulièrement la surface de sang de 1 cm de diamètre en tournant ;
4. FM : avec une autre lame, nous avons appliqué sur le sang un angle de 45° ensuite le sang est étalé à l'aide d'une autre lame ;
5. séchage des lames en position horizontale pendant 2 heures à température ambiante ;
6. fixation du frottis. Nous avons tenu la lame légèrement inclinée de sorte que la GE soit vers le haut puis à l'aide d'une pipette, nous avons versé du méthanol sur le FM ;
7. coloration des lames au giemsa 10% pendant 10 minutes puis lavage et séchage à l'air libre ou au séchoir ;
8. lecture des lames à l'objectif 100X à l'immersion.



**Figure 12:** Gouttes épaisses et frottis minces avant coloration au giemsa 10%

- **Propriété du giemsa**

Le giemsa est un colorant violet composé d'éosine-bleu de méthylène (7.0g/l), de méthanol (50%) et de glycérine (50%). En raison de la présence de méthanol, le colorant est toxique et inflammable. Il est dilué à 10% pour la coloration de parasites sur une goutte épaisse /frottis mince. L'étalement de sang est séché à l'air libre (ou au sèche-cheveux). Pour obtenir une meilleure fixation sans excès de coloration, l'étalement doit être en couche mince et homogène. Pour obtenir de bons résultats, la coloration est réalisée dans les deux (02) heures suivant la préparation.

### 2.5.2.2.1. Identification de l'espèce en cause

Le frottis mince a permis de mettre en évidence tous les détails morphologiques du parasite et de l'hématie parasitée. Il a permis d'identifier l'espèce en cause. La goutte épaisse quant à elle, a permis un enrichissement important en parasites et une quantification plus facile des parasites.

### 2.5.2.2.2. Détermination de la parasitémie

La parasitémie se définit comme le nombre de parasites comptés par microlitre de sang des enfants infectés. Sur la GE, elle a été calculée en multipliant le nombre de parasites comptés

par huit-mille (8000) et en divisant par le nombre de leucocytes comptés sur la goutte épaisse. La parasitémie asexuée (principalement trophozoïtes) a été estimée sur 500 leucocytes, en considérant un nombre moyen de 8000 leucocytes par microlitre de sang chez un sujet. La parasitémie sexuée (gamétocytémie) a été estimée par le comptage du nombre de gamétocytes pour 1000 leucocytes en considérant un nombre de 8000 leucocytes par microlitre de sang. Les lames ont été déclarées négatives après lecture sur 100 champs.

La parasitémie asexuée sur la goutte épaisse (PGE) et la gamétocytémie (GGE) a été calculée selon les formules ci-dessous :

$$PGE = \frac{(\text{Nombre de parasites comptés} \times 8000)}{500}$$

$$GGE = \frac{(\text{Nombre de parasites comptés} \times 8000)}{1000}$$

8000 : nombre moyen de leucocytes par microlitre ( $\mu$ l) de sang ;

500 : nombre de leucocytes comptés (seuil de détection des stades asexués) ;

1000 : nombre de leucocytes comptés (seuil de détection du stade sexué).

Le résultat s'obtient en nombre de parasite par microlitre ( $\mu$ l) de sang.

La densité parasitaire sur frottis mince (DPfm) a été calculée comme suit :

$$DPfm = \frac{(\text{Nombre de globules rouges parasités} \times 4\,000\,000)}{\text{Nombre de champs examinés} \times 400}$$

4 000 000 : nombre moyen d'hématies par microlitre de sang

400 : nombre moyen d'hématies par champ examiné.

Trois lecteurs ont fait la lecture des lames. Si la différence entre deux lecteurs était supérieure à 30%, les résultats du troisième étaient considérés. Des lettres A, B et C ont été attribuées aux lecteurs. Les résultats ont été validés en tenant compte des formules suivantes :

$$X = \frac{2|A-B|}{A+B} \times 100$$

A : Premier lecteur

B : Deuxième lecteur

C : Troisième lecteur

X : Pourcentage de la parasitémie

Si  $X < 30\%$ , la lecture est validée.

Si  $X > 30\%$ , une troisième lecture est nécessaire. La 3<sup>ème</sup> lecture est utilisée pour faire le même calcul avec A et B c'est-à-dire A+C et B+C, là où la valeur est inférieure à 30%, la lecture est validée à ce niveau.

### **2.5.2.3. Traitement des données**

Les données ont été saisies avec le logiciel Excel 2007 et les analyses faites avec les logiciels R (version 2.15.3) et Excel 2016. Un modèle linéaire généralisé (glm) avec une distribution binomiale a été utilisée pour tester la prévalence des stades parasitaires (stades sexué et stade asexué). Le modèle linéaire généralisé avec une distribution binomiale négative a été utilisée pour la parasitémie (densité parasitaire) des paramètres parasitologiques. L'importance des variables a été établie à l'aide d'un test du rapport de vraisemblance (LRT), qui est distribué approximativement comme une distribution  $\chi^2$ . Les paramètres parasitologiques ainsi que les moyennes arithmétiques des paramètres hématologiques ont été déterminés au seuil de significativité de 5%.

- La prévalence est définie comme la proportion ou le nombre d'enfants ayant au moins un parasite dans leurs sangs par rapport au nombre total d'enfants.
- La parasitémie représente le nombre de parasites comptés par microlitre de sang des enfants infectés du *Plasmodium*.
- La moyenne parasitaire se définit comme le nombre moyen de parasites comptés par microlitre de sang sur le nombre d'enfants infectés.

## Chapitre 3 : Résultats

### 3.1. Résultats des paramètres parasitologiques

Au total, 301 enfants âgés de 24 à 59 mois des cinq (05) sites ont été recrutés. Le nombre d'enfants du Ctrl 1, Ctrl 2 et de la CPS (SMC) étaient respectivement de 25, 72 et 204. Les paramètres ont été mesurés sur la base des prévalences et les densités parasitaires asexuées (trophozoïtes et schizontes) et sexuées (gamétocytes) du *Plasmodium*.

#### 3.1.1. Prévalence et parasitémie des formes asexuées du *Plasmodium*

##### 3.1.1.1. Prévalence en *Plasmodium* en fonction du traitement et des cycles.

Le tableau II nous donne les différentes prévalences des formes asexuées par espèce plasmodiale.

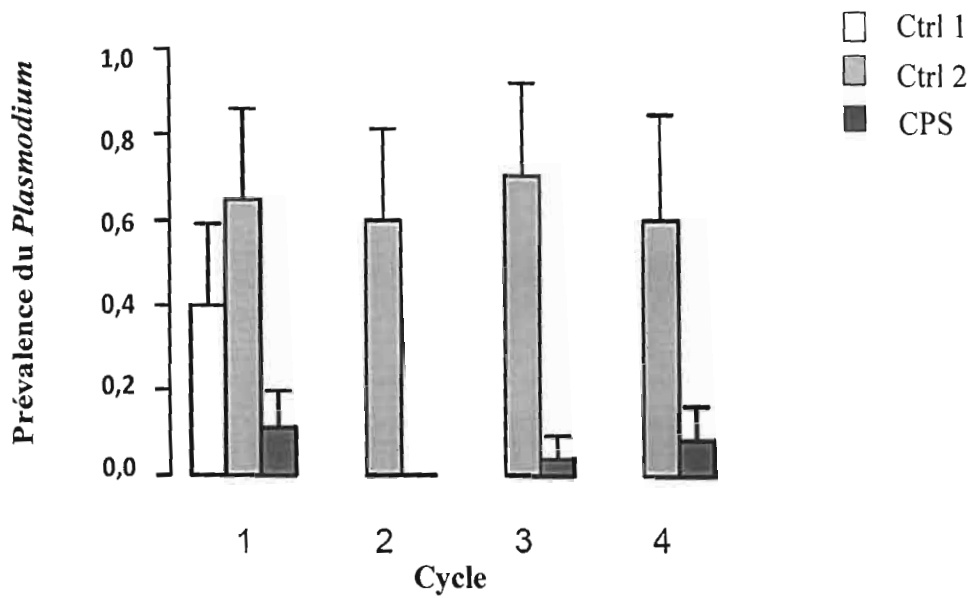
**Tableau II:** Prévalences des formes asexuées des espèces du *Plasmodium*

Traitement (n)	Prévalence n(%)						Total
	Tf	Sf	Tm	Sm	To	So	
CPS (204)	6(2.94)	0	0	0	0	0	6
Ctrl 2 (72)	40(55.55)	0	5(6.94)	4(5.55)	6(8.33)	2(2.77)	57
Ctrl 1 (25)	9(36)	0	1(4)	1(4)	0	0	11

Tf: Trophozoïtes du *Plasmodium falciparum*. Sf: Schizontes du *P. falciparum*. Tm: Trophozoïtes du *P. malariae*. Sm: Schizontes du *P. malariae*. To: Trophozoïtes du *P. ovale*. So: Schizontes du *P. ovale*. n( ): effectif. %: pourcentage.

De façon générale, il est ressorti que la prévalence du *Plasmodium* chez les enfants sous CPS a été nettement inférieure quelque soit l'espèce. De plus, nous avons remarqué une baisse de la prévalence en *Plasmodium* des enfants du Ctrl 1 par rapport à ceux du Ctrl 2.

La figure 13 illustre l'effet de la CPS sur la prévalence du *Plasmodium* en fonction des cycles.



**Figure 13:** Prévalence du *Plasmodium* en fonction du traitement et des cycles

L'analyse statistique montre un effet du traitement sur la prévalence en *Plasmodium* ( $P < 0,0001$ ) avec une baisse significative chez les enfants sous CPS quelque soit le cycle par rapport à ceux du Ctrl 2. Elle a également montré une baisse de la prévalence du *Plasmodium* des enfants du Ctrl 1 par rapport à ceux du Ctrl 2. La CPS a eu pour effet de baisser la prévalence des formes asexuées.

### 3.1.1.2. Parasitémie en fonction du traitement et des cycles

Le tableau III donne les moyennes parasitaires de la parasitémie asexuée de chaque espèce du *Plasmodium*.

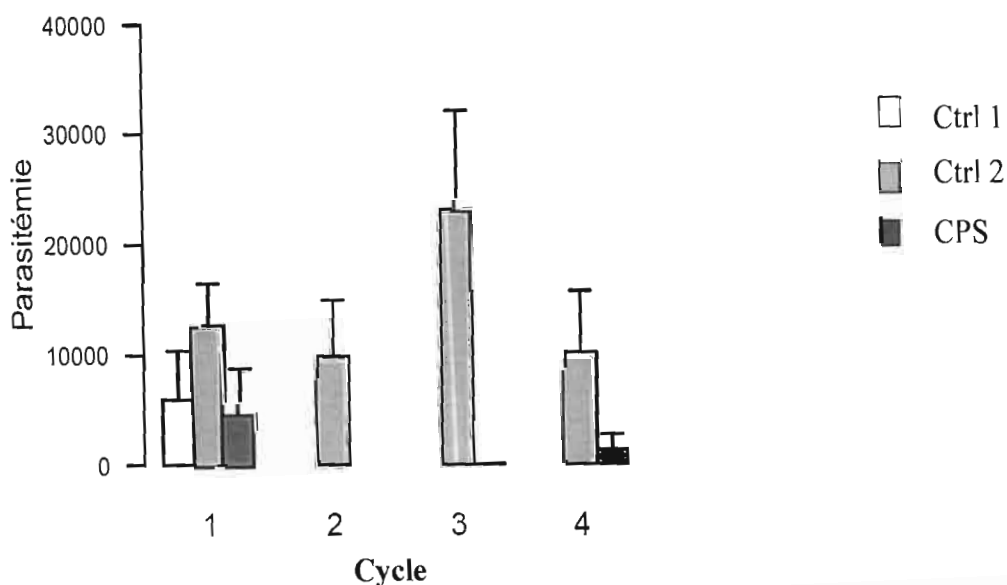
**Tableau III:** Parasitémie asexuée en fonction des espèces

Traitement (n)	Densité moyenne parasitaire/ $\mu$ l						Total
	Tf	Sf	Tm	Sm	To	So	
CPS (6)	33296 (5549.33)	0	0	0	0	0	33296
Ctrl 2 (57)	627970 (11017.017)	0	5136 (90.105)	288 (5.05)	8201 (143.87)	360 (6.31)	641955
Ctrl 1 (11)	58476 (5316)	0	272 (244.72)	56 (5.09)	0	0	58804

Tf : Trophozoïtes du *Plasmodium falciparum*. Sf : Schizontes du *P. falciparum*. Tm : Trophozoïtes du *P. malariae*. Sm : Schizontes du *P. malariae*. To : Trophozoïtes du *P. ovale*. So : Schizontes du *P. ovale*. (n) : effectif des enfants. N : nombre de parasites comptés/ $\mu$ l. ( ) : densité moyenne parasitaire

Tout comme la prévalence, quelque soit l'espèce du *Plasmodium* les enfants sous CPS ont eu une baisse de la parasitémie par rapport aux enfants du Ctrl 2. La parasitémie du Ctrl 1 a été aussi plus faible que celle du Ctrl 2.

La figure 14 illustre la moyenne de la parasitémie en fonction des cycles



**Figure 14:** Parasitémie en fonction du traitement et des cycles

La CPS a eu un effet significatif sur la parasitémie ( $P < 0.0001$ ). Les enfants sous CPS ont eu une baisse significative de leur parasitémie (5549,33 parasites/ $\mu$ L), par rapport aux enfants du



Ctrl 2 (11017,017parasites/ $\mu$ L). Une baisse de la parasitémie a été aussi notée chez les enfants du Ctrl 1 comparativement à ceux du Ctrl 2. Des variations de la parasitémie ont été observées dans chaque cycle mais, elles n'ont pas été statistiquement significatives. Tout comme la prévalence, le cycle n'a pas eu un effet significatif ( $P=0,25$ ) sur la parasitémie des enfants infectés.

### 3.1.2. Prévalence de la forme sexuée (gamétocytes) et gamétocytémie en fonction des cycles

Sur un effectif de 301 enfants recrutés, la prévalence en gamétocytes et la gamétocytémie pour chaque espèce en fonction du traitement sont résumées respectivement dans les tableaux IV et V.

**Tableau IV:** Prévalence en gamétocytes en fonction de l'espèce du *Plasmodium*.

Traitement (n)	Prévalence en gamétocyte N(%)			Total
	Gf	Gm	Go	
CPS (204)	7(3.43)	0	0	7 (3,43)
Ctrl 2 (72)	28 (38.88)	5 (6.94)	2(2.77)	35 (48 ,61)
Ctrl 1 (25)	5 (20)	1 (4)	0	6 (24)

Gf: Gamétocytes du *Plasmodium falciparum*. Gm : Gamétocyte du *Plasmodium malariae*. Go : Gamétocytes du *Plasmodium ovale*. (n) : effectif des enfants, N : nombre de gamétocytes, (%) : pourcentage

Il ressort que la CPS a eu un effet sur la prévalence en gamétocytes quelque soit l'espèce du *Plasmodium*.

**Tableau V:** Gamétocytémie en fonction de l'espèce du *Plasmodium*

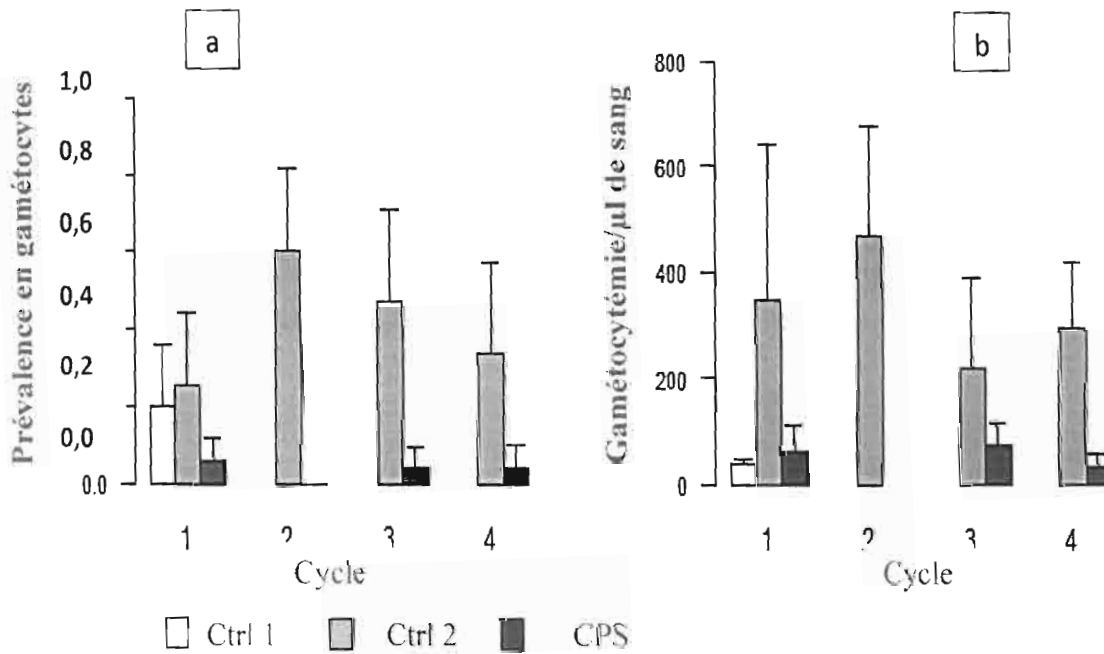
Traitement (n)	Moyenne des densités gamétocytaires/ $\mu$ l N( )			Total
	Gf	Gm	Go	
CPS (7)	392 (56)	0	0	392
Ctrl 2 (35)	8024 (229.25)	2372 (67.77)	160 (4.57)	10536
Ctrl 1 (6)	148 (24.66)	36 (6)	0	184

Gf: Gamétocytes du *P. falciparum*. Gm : Gamétocytes du *P. malariae*. Go : Gamétocytes du *P.ovale*, (n) : effectif, N : nombre de gamétocytes comptés, ( ) : densité moyenne gamétocytaire

Les enfants sous CPS ont eu de faible gamétocytémie quelque soit l'espèce du *Plasmodium* par rapport à ceux du Ctrl 2. Les enfants du Ctrl 1 ont aussi eu une faible gamétocytémie par rapport

au Ctrl 2. Quelque soit l'espèce du *Plasmodium* on a eu une baisse de la gamétocytémie chez les enfants sous CPS.

La figure 15 illustre la prévalence en gamétocytes et la gamétocytémie des enfants en fonction des cycles.



**Figure 15:** Prévalence en gamétocytes (a) et gamétocytémie (b) en fonction des cycles.

L'analyse de la figure 15 montre que la CPS a eu un effet significatif sur la prévalence en gamétocytes ( $P < 0.0001$ ). Les enfants sous CPS ont eu une baisse significative de la prévalence en gamétocyte (inférieure à 10%) par rapport à ceux du Ctrl 2 (supérieure à 20%) quelque soit le cycle.

Une faible gamétocytémie a également été observée chez les enfants sous CPS comparativement à la gamétocytémie des enfants du Ctrl 2 pour le cycle 1.

Au cycle 1, une faible prévalence en gamétocytes ainsi qu'une baisse significative de la gamétocytémie ( $P = 0.046$ ) ont été observées chez les enfants du Ctrl 1 par rapport à ceux du Ctrl 2. Donc quelque soit le contrôle, nous avons observé une baisse de la prévalence en gamétocytes et de la gamétocytémie chez les enfants de la zone CPS. Le cycle n'a pas eu un effet significatif ( $P = 0,64$ ) tant sur la prévalence en gamétocyte que sur la gamétocytémie.

### 3.2. Résultats des paramètres hématologiques

287 échantillons ont été analysés et les résultats hématologiques ont été obtenus. L'analyse statistique a été effectuée sur les moyennes du taux d'hémoglobine, de la numération des

globules rouges, des globules blancs et des plaquettes. Le tableau VI nous présente les moyennes obtenues.

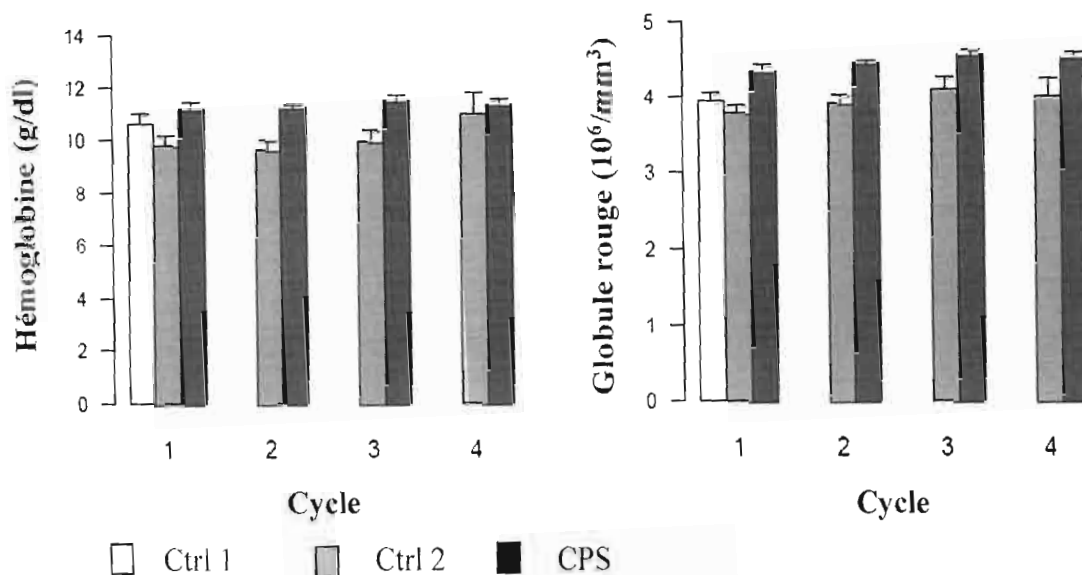
**Tableau VI:** Résultats des paramètres hématologiques

Traitement	Paramètres hématologiques			
	HB (g/dl)	GR ( $10^6/\text{mm}^3$ )	GB ( $10^3/\text{mm}^3$ )	Pla ( $10^3/\text{mm}^3$ )
CPS	11,308	4,465	7,329	219,377
Ctrl 1	10,595	3,95	7,727	207,727
Ctrl 2	10,023	3,9375	7,716	256,361

HB : taux d'hémoglobine ; GR : globule rouge ; GB : globule blanc ; Pla : Plaquette

Il a été observé un HB supérieur chez les enfants sous CPS (11.308g/dl) par rapport à ceux du Ctrl 2 (10.023g/dl). Il en est de même avec le nombre moyen de GR des enfants sous CPS (4.465  $10^6/\text{mm}^3$ ) et ceux du Ctrl 2 (3.9375  $10^6/\text{mm}^3$ ). Par contre, la tendance a été inversée au niveau des plaquettes (CPS : 219.377  $10^3/\text{mm}^3$  ; Ctrl 2 : 256,361  $10^3/\text{mm}^3$ ). Aucune différence n'a été observée au niveau du nombre moyen de GB dans tous les groupes de traitement. Le traitement n'a pas eu un effet significatif sur le nombre moyen de GB.

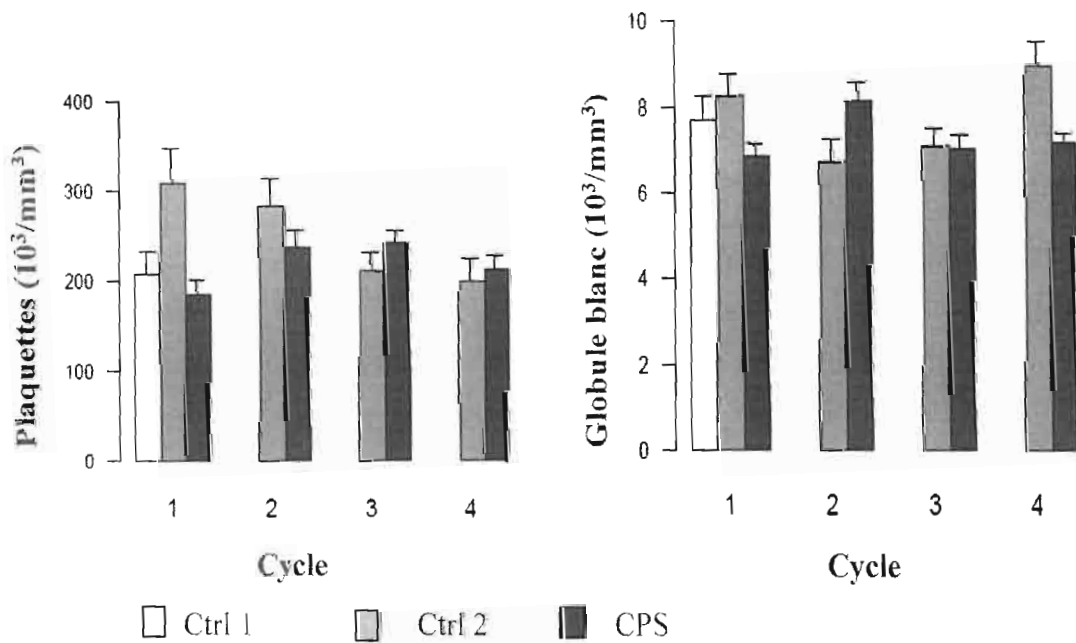
La figure 16 est une transcription des moyennes du HB et de GR en fonction du traitement et du cycle.



**Figure 16:** Moyennes du taux d'hémoglobine et des globules rouges en fonction du traitement et des cycles.

Les HB et de GR des enfants sous CPS ont été supérieurs à ceux du Ctrl 2 quelque soit le cycle avec une différence significative de  $P < 0,05$ . Il en est de même avec les enfants du Ctrl 1 et ceux du Ctrl 2. Aucun effet cycle n'a été observé tant sur le nombre moyen des HB que sur celui des GR.

La figure 17 illustre respectivement les moyennes des globules blancs et des plaquettes en fonction du traitement et du cycle.



**Figure 17:** Nombre moyen des plaquettes et globules blancs en fonction du traitement et des cycles.

Les enfants sous CPS ont eu une baisse significative du nombre moyen de plaquettes ( $P = 0,0128$ ) par rapport à ceux du Ctrl 1 et Ctrl 2. Aucune différence significative n'a été observée au niveau des globules blancs ( $P = 0,249$ ). Aucun effet cycle n'a été observé tant sur la moyenne des plaquettes que sur celle des globules blancs. La CPS n'a pas eu d'effet sur les globules blancs (GB) quelque soit le cycle.

## Chapitre 4 : Discussion

### 4.1. Discussion des paramètres parasitologiques

Le but de notre travail a été de comparer les paramètres parasitologiques d'une population sous CPS avec ceux d'une population contrôle (sans CPS). Cette comparaison a nécessité l'évaluation de la prévalence et la parasitémie des formes asexuées (trophozoïtes, schizontes) et celles sexuées (gamétocytes) du *Plasmodium*.

#### 4.1.1. Prévalence du *Plasmodium* et parasitémie des formes asexuées

Une baisse significative de la prévalence et la parasitémie du *Plasmodium* chez les enfants de la zone d'intervention par rapport aux enfants de la zone contrôle a été montrée. Ce qui montre l'efficacité de l'association SP+AQ. Nos résultats sont similaires à ceux de plusieurs auteurs qui ont démontré également que la CPS pouvait réduire de quarante à quatre-vingt-six pourcent l'incidence du paludisme chez les enfants (Cisse et al., 2006; Dicko et al., 2008; Kweku et al., 2008). La CPS avec la SP+AQ élimine les infections existantes dues au *Plasmodium* et a un effet prophylactique préventif sur les nouvelles infections (Konate et al., 2011).

Une faible parasitémie du *Plasmodium* a été observée dans nos travaux chez les enfants sous CPS. Ce qui montre l'efficacité de la combinaison SP+AQ dans la réduction de la parasitémie chez les enfants. Ces résultats se rapprochent de ceux de Basco et al., (2002) qui ont montré une faible parasitémie les J14 et J28 chez les enfants sous surveillance clinique après une administration à SP+AQ. De plus, Konaté et al., (2011) avaient montré une faible parasitémie de la forme asexuée du *Plasmodium* chez les enfants sous SP+AQ confirmant ainsi nos résultats.

Le cycle n'a pas eu un effet significatif tant sur la prévalence que sur la parasitémie en *Plasmodium* pendant toute la durée de notre étude. Ainsi, l'efficacité de la CPS reste la même quelque soit la période d'administration durant toute la période de haute transmission. Elle corrobore ainsi les résultats de Cissé et al. (2006) et Dicko et al. (2008) respectivement pour 13 et 16 semaines et 12 mois de suivi.

Une baisse de la prévalence en *Plasmodium* et de la parasitémie chez les enfants du Ctrl 1 a été observée dans nos travaux comparativement à ceux du Ctrl 2. Les enfants du Ctrl 1 avaient de faibles prévalences et parasitémies comparativement à ceux du Ctrl 2. C'est dire que même sans être sous CPS on peut bénéficier de son effet. Cela pourrait s'expliquer par le fait que la CPS a réduit le niveau de transmission du *Plasmodium*.

#### **4.1.2. Prévalence en gamétoocytes et gamétocytémie**

La prévalence et la densité en gamétoocytes chez les enfants recrutés et inclus étaient fonction du traitement. Ces deux paramètres ont baissé significativement chez les enfants ayant reçu la CPS. Ainsi, la CPS pourrait contribuer à limiter le phénomène de production des gamétoocytes (gamétocytogénèse). En effet, parmi les facteurs de risques de la gamétocytogénèse on peut retenir entre autre les fortes charges parasitaires asexuées (Robert et Boudin, 2002). Or dans notre étude nous avons montré que la parasitémie chez les enfants sous CPS a baissé par rapport au contrôle. Ce qui pourrait donc expliquer la baisse de la prévalence en gamétoocyte et de la gamétocytémie chez les enfants. Konaté et *al.*, (2011) puis Maïga et *al.*, (2015) montrèrent que la proportion d'enfants porteurs de gamétoocytes après traitement à la SP+AQ était faible, corroborant ainsi nos résultats.

Plusieurs études ont montré que la prise de la sulfadoxine-pyriméthamine induisait la gamétocytogénèse spécifiquement au niveau des souches résistantes (Maïga et *al.*, 2015; Tchuinkam et *al.*, 1997). Les gamétoocytes sont considérés comme un facteur de dissémination de la résistance (Price et *al.*, 1999). Pourtant, la prise de sulfadoxine-pyriméthamine n'a pas entraîné une hausse de la prévalence et de la gamétocytémie dans nos travaux. Il est possible que la combinaison de SP+AQ a permis de réduire la sélection de souches résistantes chez les enfants sous CPS. Ce qui renforcerait d'avantage le choix de ces deux molécules dans cette stratégie.

#### **4.2. Discussion des paramètres hématologiques**

Les enfants de la zone d'intervention ont eu un taux d'hémoglobine et de globules rouges supérieurs à ceux des contrôles. Le *Plasmodium* détruit les globules rouges, en absence de parasitémie, le taux d'hémoglobine se trouve alors amélioré. La destruction de l'hémoglobine chez l'enfant est l'une des principales causes d'une anémie par carence en fer en période de haute transmission. L'augmentation concomitante de ces deux paramètres confirme l'efficacité de la CPS à provoquer une baisse de l'anémie chez les enfants ; corroborant ainsi les résultats d'études menées au Mali et au Ghana (Kweku et *al.*, 2008; Maïga et *al.*, 2015). Nos résultats sont similaires à ceux de Kayentao qui a montré une augmentation du HB respectivement les quatorzième et vingt-huitième jour après un traitement à SP/AQ (Kayentao et *al.*, 2009).

Une baisse du nombre de plaquettes chez les enfants sous CPS par rapport au contrôle a été observée dans nos travaux. Malgré cette baisse nos valeurs ont été comprises dans le seuil de l'automate ABX PENTRA 60 et des résultats de la numération plaquettaire de Schaison et *al.*

des enfants qui ont au plus dix ans (Armari, 2004). De plus, nos valeurs sont dans les normes internationales des paramètres biologiques (version du 22 juin 2004).

Une baisse du nombre moyenne de globule blanc chez les enfants sous CPS comparativement à ceux du Ctrl 1 et Ctrl 2 qui ont eu des hausses similaires a été observée. Malgré cette baisse nos valeurs sont dans les normes de l'automate et de celles internationales. Le paludisme étant une maladie parasitaire infectieuse, la hausse des valeurs observées chez les enfants du Ctrl 1 et Ctrl 2 s'explique d'une part par l'intensité élevée de l'infection et d'autre part, par l'espèce du *Plasmodium* en cause. Une augmentation de la prévalence asexuée du *P. falciparum* a été montrée au niveau des paramètres parasitologiques. Cette espèce étant la plus virulente, il serait possible que l'augmentation des GB au niveau des contrôles soit due à l'intensité de l'infection et à l'espèce du *Plasmodium* comme l'avait relevé l'étude de Tobón-Castaño et al. (Tobon-Castano, Mesa-Echeverry, et Miranda-Arboleda, 2015). Des cas d'agranulocytoses et de leucopénies ont été décrits respectivement suite à l'administration prolongée de AQ et associés aux effets indésirables de la SP (Michel, 2013). Jusqu'à présent ces cas n'ont pas encore été remarqués sous CPS.

## Conclusion et perspectives

Dans le cadre de la lutte contre le paludisme dans le monde principalement chez les personnes vulnérables, l'OMS, en mars 2012 a adopté une nouvelle stratégie de lutte dénommée chimioprévention du paludisme saisonnier (CPS). Elle cible les enfants de moins de cinq ans dans les zones de forte transmission de paludisme où la morbidité palustre est supérieure à dix (10) cas sur cent (100) enfants au cours de la saison de transmission. Elle a montré son efficacité dans plusieurs pays de l'Afrique de l'Ouest notamment le Mali, le Ghana et le Sénégal. Nos travaux ont permis de déterminer l'influence de la CPS sur la variabilité des paramètres parasitologiques ainsi que sur les paramètres hématologiques. Les analyses parasitologiques révèlent une faible prévalence du *Plasmodium* avec une baisse de la densité parasitaire chez les enfants sous CPS tant sur les formes asexuées que celles sexuées. En outre, les analyses hématologiques montrent une hausse du nombre de globules rouges et du taux d'hémoglobine chez les enfants sous CPS.

En se basant sur l'ensemble de ces paramètres, nous pouvons affirmer que pour le moment la CPS est la meilleure stratégie de lutte antiparasitaire préventive chez les enfants de moins de cinq ans en période de haute transmission du paludisme.

Cependant, pour une meilleure lutte antiparasitaire préventive du paludisme au Burkina Faso, nous souhaitons qu'un approfondissement de l'étude soit effectuée, notamment sur :

- les enfants de plus de cinq ans afin d'évaluer l'effet de la CPS sur cette tranche d'âge ,
- l'étude de la transmission homme-moustique dans le but de fournir des informations sur l'effet de la CPS sur la transmission du paludisme ;
- l'étude des résistances du *Plasmodium* à la combinaison de sulfadoxine-pyriméthamine et amodiaquine (SP+AQ).



## Bibliographie

- Armari, C. (2004). [Hémogramme normal et pathologique chez l'enfant (297d)].
- Aubry, P., et Gaüzère, B. A. (2015a). Le diagnostic biologique des maladies infectieuses en zones tropicales. *Medecine Tropical*.
- Aubry, P., et Gaüzère, B. A. (2015b). Paludisme. *Medecine Tropical*.
- Basco, Same-Ekobo A, Ngane F V, Ndounga M, Metoh T, Ringwald P, Soula G (2002). Therapeutic efficacy of sulfadoxine–pyrimethamine, amodiaquine and the sulfadoxine–pyrimethamine–amodiaquine combination against uncomplicated *Plasmodium falciparum* malaria in young children in Cameroon. Research; No. 01-1334. Bulletin of the World Health Organization 2002;80:538-545.
- Beavogui, A. H., Djimde, A. A., Gregson, A., Toure, A. M., Dao, A., Coulibaly, B., . . . Doumbo, O. K. (2010). Low infectivity of *Plasmodium falciparum* gametocytes to *Anopheles gambiae* following treatment with sulfadoxine-pyrimethamine in Mali. [Research Support, N.I.H., Extramural Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Int J Parasitol*, 40(10), 1213-1220. doi: 10.1016/j.ijpara.2010.04.010
- Cisse, B., Sokhna, C., Boulanger, D., Milet, J., Ba el, H., Richardson, K., . . . Trape, J. F. (2006). Seasonal intermittent preventive treatment with artesunate and sulfadoxine-pyrimethamine for prevention of malaria in Senegalese children: a randomised, placebo-controlled, double-blind trial. [Randomized Controlled Trial Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Lancet*, 367(9511), 659-667. doi: 10.1016/S0140-6736(06)68264-0
- CPS. (2013). chimioprévention du paludisme saisonnier par administration de sulfadoxine pyriméthamine et d'amodiaquine aux enfants. Guide de terrain O. M. d. I. Santé (Ed.)
- Dicko, A., Sagara, I., Sissoko, M. S., Guindo, O., Diallo, A. I., Kone, M., . . . Doumbo, O. K. (2008). Impact of intermittent preventive treatment with sulphadoxine-pyrimethamine targeting the transmission season on the incidence of clinical malaria in children in Mali. [Randomized Controlled Trial]. *Malar J*, 7, 123. doi: 10.1186/1475-2875-7-123
- Duo-Quan, W., Lin-Hua, T., Zhen-Cheng, G., Xiang, Z., & Man-Ni, Y. (2009). Application of the indirect fluorescent antibody assay in the study of malaria infection in the Yangtze River Three Gorges Reservoir, China. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Malar J*, 8, 199. doi: 10.1186/1475-2875-8-199

- Figtree, M., Lee, R., Bain, L., Kennedy, T., Mackertich, S., Urban, M., . . . Hudson, B. J. (2010).** *Plasmodium knowlesi* in human, Indonesian Borneo. [Case Reports]. *Emerg Infect Dis*, 16(4), 672-674. doi: 10.3201/eid1604.091624
- Gouagna, L. C., Bancone, G., Yao, F. Y., B., Dabire, K. R., Costantini, C., Simpore, J., . . . Modiano, D. (2010).** Genetic variation in human HBB is associated with *Plasmodium falciparum* transmission. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Nat Genet*, 42(4), 328-331. doi: 10.1038/ng.554
- Kayentao, K., Maiga, H., Newman, R. D., McMorrow, M. L., Hoppe, A., Yattara, O., . . . Doumbo, O. K. (2009).** Artemisinin-based combinations versus amodiaquine plus sulphadoxine-pyrimethamine for the treatment of uncomplicated malaria in Faladje, Mali. [Randomized Controlled Trial Research Support, Non-U.S. Gov't Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. *Malar J*, 8, 5. doi: 10.1186/1475-2875-8-5
- Konate, A. T., Yaro, J. B., Ouedraogo, A. Z., Diarra, A., Gansane, A., Soulama, I., . . . Diallo, D. A. (2011).** Intermittent preventive treatment of malaria provides substantial protection against malaria in children already protected by an insecticide-treated bednet in Burkina Faso: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. [Randomized Controlled Trial Research Support, Non-U.S. Gov't]. *PLoS Med*, 8(2), e1000408. doi: 10.1371/journal.pmed.1000408
- Kweku, M., Liu, D., Adjuik, M., Binka, F., Seidu, M., Greenwood, B., et Chandramohan, D. (2008).** Seasonal intermittent preventive treatment for the prevention of anaemia and malaria in Ghanaian children: a randomized, placebo controlled trial. [Randomized Controlled Trial Research Support, Non-U.S. Gov't]. *PLoS One*, 3(12), e4000. doi: 10.1371/journal.pone.0004000
- Maiga, H., Djimde, A. A., Beavogui, A. H., Toure, O., Tekete, M., Sangare, C. P., . . . Doumbo, O. K. (2015).** Efficacy of sulphadoxine-pyrimethamine + artesunate, sulphadoxine-pyrimethamine + amodiaquine, and sulphadoxine-pyrimethamine alone in uncomplicated *falciparum* malaria in Mali. [Clinical Trial Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Malar J*, 14, 64. doi: 10.1186/s12936-015-0557-y
- McGibney, D. (2016).** Expert Consultation on Seasonal Malaria Chemoprevention (SMC) and next-generation chemoprevention medicines.

- Michel, E. F. (2013).** Revue de la littérature sur la toxicité et les effets indésirables médicamenteux des antipaludiques. Doctorat en Pharmacie (Diplôme d'Etat), Université des sciences, des techniques et des technologies de Bamako, Mali.
- Ministère de la santé. (2014).** Directives nationales pour la prise en charge du paludisme dans les formations sanitaires du Burkina Faso (Ouagadougou).
- Molez, J. F. (1993).** *Plasmodium falciparum*: taxonomie et génétique, aperçu des questions actuelles. (Bull. liais. doc ed. Vol. Vol.26): OCEAC.
- OMS. (2010).** Guidelines for the treatment of malaria, second edition.
- OMS. (2011).** Rapport d'une consultation technique sur la chimioprévention du paludisme saisonnier (CPS).
- OMS. (2015a).** Global malaria programme. World malaria report.
- OMS. (2015b).** Rapport sur le paludisme dans le monde.
- Pages, F., Orlandi-Pradines, E., et Corbel, V. (2007).** [Vectors of malaria: biology, diversity, prevention, and individual protection]. [Review]. *Med Mal Infect*, 37(3), 153-161. doi: 10.1016/j.medmal.2006.10.009
- PNLP. (2007).** Plan stratégique de lutte contre le paludisme 2006-2010.
- Price, R., Nosten, F., Simpson, J. A., Luxemburger, C., Phaipun, L., ter Kuile, F., . . . White, N. J. (1999).** Risk factors for gametocyte carriage in uncomplicated falciparum malaria. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Am J Trop Med Hyg*, 60(6), 1019-1023.
- Rabé, T. A. (2003).** Etude de facteurs bio-écologiques modulant la prémunition contre le paludisme sur les Hautes Terres de Madagascar. Interactions hôtes-parasites, Paris XII Val de Marne, France.
- Robert, V., et Boudin, C. (2002).** Biologie de la transmission homme-moustique du *Plasmodium*. (n°2454a.). Parasitologie".
- Robert, V., Gazin, P., Boudin, C., Molez, J. F., Ouedraogo, V., et Carnevale, P. (1985).** [The transmission of malaria in a wooded savannah area and a rice-growing area around Bobo Dioulasso (Burkina Faso)]. *Ann Soc Belg Med Trop*, 65 Suppl 2, 201-214.
- Samadoulougou, S., Maheu-Giroux, M., Kirakoya-Samadoulougou, F., De Keukeleire, M., Castro, M. C., et Robert, A. (2014).** Multilevel and geo-statistical modeling of malaria risk in children of Burkina Faso. [Research Support, Non-U.S. Gov't Research Support, U.S. Gov't, Non-P.H.S.]. *Parasit Vectors*, 7, 350. doi: 10.1186/1756-3305-7-350

- Siala, E., Ben Abdallah, R., Bouratbine, A., et Aoun, K. (2010).** Actualités du diagnostic biologique du paludisme. *Revue Tunisienne d'Infectiologie, Vol.4: 5 - 9*. Retrieved from
- Tchuinkam, T., Gouagna, L., Gounoué, R., Safeljkw, I., Bonnet, S., Verhave, J., et Boudin, C. (1997).** Effets de l'amodiaquine et de la sulfadoxine-pyriméthamine sur la gamétocytogénèse de *Plasmodium falciparum*. *Bull Iiais doc, P3.7*.
- Tobon-Castano, A., Mesa-Echeverry, E., et Miranda-Arboleda, A. F. (2015).** Leukogram Profile and Clinical Status in *vivax* and *falciparum* Malaria Patients from Colombia. *J Trop Med, 2015, 796182*. doi: 10.1155/2015/796182
- White, N. J., Pukrittayakamee, S., Hien, T. T., Faiz, M. A., Mokuolu, O. A., et Dondorp, A. M. (2014).** Malaria. [Research Support, Non-U.S. Gov't Review]. *Lancet, 383(9918), 723-735*. doi: 10.1016/S0140-6736(13)60024-0
- Zongo, I., Milligan, P., Compaore, Y. D., Some, A. F., Greenwood, B., Tarning, J., . . . Ouedraogo, J. B. (2015).** Randomized Noninferiority Trial of Dihydroartemisinin-Piperaquine Compared with Sulfadoxine-Pyrimethamine plus Amodiaquine for Seasonal Malaria Chemoprevention in Burkina Faso. [Clinical Trial Randomized Controlled Trial Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Antimicrob Agents Chemother, 59(8), 4387-4396*. doi: 10.1128/AAC.04923-14