

MS130 /2022

Mémoire de Spécialité
Pour l'obtention du Diplôme de Spécialité Médicale
en **ANALYSES BILOGIQUES MEDICALES**

**LE DIAGNOSTIC DU PALUDISME D'IMPORTATION
AU MAROC :**
**EVALUATION DE LA PERFORMANCE DU TEST DE
DIAGNOSTIC RAPIDE OPTIMAL-IT®**

Présenté par : Dr D. MOURJI

Encadré par : Pr H. NAOUI

Session : Septembre 2022

SOMMAIRE

Dédicaces
Remerciements
Liens d'intérêts

Liste des abréviations
Liste des graphiques
Liste des figures
Liste des tableaux

RESUME

ABSTRACT

ملخص

INTRODUCTION

PREMIERE PARTIE : REVUE DE LA LITTÉRATURE

- I. Définition
- II. Epidémiologie
- III. Physiopathologie
- IV. Aspects cliniques et évolutifs
- V. Diagnostic biologique du paludisme
- VI. Traitement des accès palustres
- VII. Prévention

DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE

- I. Matériel et méthodes
- II. Résultats
- III. Discussion

CONCLUSION

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Liste des abréviations :

- ACT : Artemisinin-based combination therapy
- ADN : Acide désoxyribonucléique
- CIVD : Coagulation intra vasculaire disséminée
- Covid : Coronavirus Disease
- EDTA : Ethylenediamine tetraacetic acid
- ELISA : Enzyme-linked immunosorbent assay
- FM : Frottis mince
- FS : Frottis sanguin
- GE : Goutte Épaisse
- IFI : Immunofluorescence Indirecte
- IgG : Immunoglobulines G
- LDH : Lactate deshydrogénase
- MGG : May-Grünwald Giemsa
- OMS : Organisation mondiale de la santé
- *P. falciparum* (P.f) : *Plasmodium falciparum*
- *P. vivax* (P.v): *Plasmodium vivax*
- *P. ovale* (P.o) : *Plasmodium ovale*
- *P. malariae* (P.m) : *Plasmodium malariae*
- *P. knowlesi* (P.k) : *Plasmodium knowlesi*
- PCR : Polymerase Chain Reaction
- pLDH : Plasmodium lactate dehydrogenase
- PNLP : Programme national de lutte contre le paludisme
- PVE : Paludisme viscéral évolutif
- QBC : Quantitative Buffy Coat
- SE : Sensibilité
- SP : Spécificité
- TDR : Tests de diagnostic rapide
- VPP : Valeur prédictive positive
- VPN : Valeur prédictive négative
- χ^2 : Test de khi-deux

Liste des graphiques :

- Graphique n° 1 : Evolution des cas de paludisme et des décès, 2000-2019
Graphique n° 2 : Répartition des cas de paludisme 2019
Graphique n° 3 : Répartition des décès de paludisme 2019
Graphique n° 4 : Evolution annuelle des cas de paludisme autochtone et importé au Maroc (1997-2013)
Graphique n° 5 : Répartition de l'échantillon selon l'âge
Graphique n° 6 : Répartition de l'échantillon selon le pays de séjour
Graphique n° 7 : Résultats de la GE/FS selon le sexe
Graphique n° 8 : Résultats de la GE/FS selon la nationalité
Graphique n° 9 : La sensibilité (en %) du TDR Optimal-IT® aux parasitémies (nombre de parasites/ μ l de sang)

Liste des figures :

- Figure n° 1 : Distribution mondiale des cas de paludisme en 2019
Figure n° 2 : Cycle Biologique de Plasmodium spp
Figure n° 3 : Physiopathologie de l'accès simples
Figure n° 4 : Physiopathologie de l'accès pernicieux
Figure n° 5 : Schéma d'une cassette TDR Optimal-IT
Figure n° 6 : Les différentes situations de non validité des réactions du TDR
Figure n° 7 : Réalisation de la GE et du FS
Figure n° 8 : Répartition des cas inclus et des résultats de la GE/FS et du TDR

Liste des tableaux :

- Tableau n° 1 : Critères d'identification des espèces
Tableau n° 2 : Interprétation du TDR (OptiMal-IT®)
Tableau n° 3 : Calcul des paramètres d'efficacité des tests de diagnostic
Tableaux n° 4 et n° 5 : Critères d'efficacité d'un TDR selon l'OMS
Tableau n° 6 : Répartition de l'échantillon selon le sexe et la nationalité
Tableau n° 7 : Prévalence de l'infection plasmodiale selon la GE/FS et le TDR
Tableau n° 8 : Répartition des espèces plasmodiales selon les résultats de la GE/FS
Tableau n° 9 : Croisement des résultats de la GE/FS et du TDR
Tableau n° 10 : Critères de performance du TDR Optimal-IT®
Tableaux n° 11 et n° 12 : Critères d'efficacité du TDR Optimal-IT® selon l'OMS

RESUME

Le recours aux tests de diagnostic rapide (TDR) est de plus en plus présent dans les stratégies de lutte contre le paludisme. Le contrôle de la qualité et l'évaluation de la performance de ces TDR s'avèrent alors d'une importance cruciale. C'est dans ce cadre que s'inscrit cette étude qui a pour objet d'évaluer la performance du TDR Optimal-IT® et ce, par rapport à la technique de référence (goutte épaisse). Elle a été menée au sein du laboratoire de parasitologie-mycologie de l'Hôpital Militaire d'instruction Mohammed V de Rabat, et a concerné un échantillon de 165 patients suspects de paludisme. Par rapport à la méthode de référence, la sensibilité du TDR Optimal-IT® dans la détection de l'infection plasmodiale reste faible, contre une bonne spécificité. D'autre part, le taux de faux positif de notre étude est dans les normes fixées par les lignes directrices de l'OMS. Tenant compte des critères définis par l'OMS, les résultats ont montré que la performance et la praticabilité du test Optimal-IT® pour la détection de l'infection plasmodiale restent insatisfaisantes. Ainsi, nous ne recommandons pas l'utilisation du TDR Optimal-IT® seul au laboratoire en pratique quotidienne, mais toujours en association avec un examen microscopique.

ABSTRACT

The use of malaria rapid diagnostic tests (RDTs) is increasingly an essential element of the national strategy to control imported malaria. However, the quality control and performance evaluation of these RDTs is crucial. Such is the purpose of this study which aims to assess the performance of the RDT Optimal-IT®, in comparison to the reference technique (thick blood smear). It was carried out in the parasitology-mycology laboratory of the Mohammed V Military Instruction Hospital in Rabat and involved a sample of 165 patients suspected of malaria. Compared to the reference method, the sensitivity of the TDR Optimal-IT® in the detection of plasmodial infection is low, while specificity remains good. On the other hand, the false positive rate of our study is within the standards set by the WHO guidelines. Taking into account the criteria defined by WHO, the results showed that the performance and practicability of the Optimal-IT® test for the detection of plasmodium infection remains unsatisfactory. Thus, we do not recommend the use of the TDR Optimal-IT® alone in the laboratory in daily practice, but always in association with a microscopic examination.

ملخص

يتزايد استخدام اختبارات التشخيص السريع في استراتيجيات مكافحة الملاريا. ولذلك، فإن مراقبة الجودة وتقييم أداء هذه الاختبارات التشخيصية السريعة لهما أهمية قصوى. في هذا السياق، تندرج هذه الدراسة، والغرض منها هو تقييم أداء TDR Optimal-IT® مقارنة بالتقنية المرجعية (القطرة السميكة). تم إجراؤه في مختبر علم الطفيليات والفطريات في مستشفى محمد الخامس العسكري بالرباط، وشمل 165 مريضاً يشتبه في إصابتهم بالملاريا. مقارنة بالطريقة المرجعية، تظل حساسية TDR Optimal-IT® في الكشف عن

تشخيص الملاريا منخفضة ، مقابل خصوصية جيدة. من ناحية أخرى ، فإن المعدل الإيجابي الخاطئ لدراستنا يقع ضمن المعايير التي حددتها إرشادات منظمة الصحة العالمية. مع الأخذ في الاعتبار المعايير التي حددتها منظمة الصحة العالمية ، أظهرت النتائج أن أداء وإمكانية التطبيق العملي لاختبار Optimal-IT® للكشف عن الملاريا لا تزال غير مرضية. وبالتالي ، لا نوصي باستخدام TDR Optimal-IT® وحده في المختبر في الممارسة اليومية ولكن دائماً بالاقتران مع الفحص المجهرى.

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Le paludisme (malaria) est une maladie courante et potentiellement mortelle due à un protozoaire appartenant au genre *Plasmodium* transmis par des piqûres de moustiques femelles de l'espèce *Anophèles*. Cette maladie est aussi bien importante pour les populations vivant en zone d'endémie (zones intertropicales) que pour les voyageurs. Il y aurait plus de 140 espèces de *Plasmodium* touchant plusieurs espèces animales, alors que seulement cinq sont retrouvées en pathologie humaine, à savoir : *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium ovale*, *Plasmodium malariae* et *Plasmodium knowlesi*. Ces 5 espèces présentent des caractéristiques différentes selon des critères biologiques, cliniques, la répartition géographique et la capacité à résister aux antipaludiques. Cependant, *P. falciparum* reste l'espèce la plus répandue dans le monde, qui développe des résistances aux antipaludiques et qui est à l'origine des formes cliniques potentiellement mortelles.

Le dernier rapport de l'Organisation Mondiale de la Santé (2020) sur le paludisme indique une baisse du nombre de cas de paludisme de 238 millions en 2000 à 229 millions en 2019. Il souligne que le paludisme reste endémique dans 87 pays et que 29 pays ont concentré 95% du nombre total de cas de paludisme dans le monde. L'incidence du paludisme (nombre de cas/1.000 habitants exposés au risque de paludisme) a significativement régressé dans le monde, revenant de 80 en 2000 à 58 en 2015, puis à 57 en 2019. Cette évolution illustre les progrès accomplis dans la lutte contre la maladie au niveau des pays et au niveau régional. Cependant, malgré ces progrès remarquables, les avancées dans la lutte contre le paludisme devraient se stabiliser, voire même perdre du terrain, sous l'effet en particulier de la pandémie du Covid-19 et les restrictions imposées qui ont provoqué des dysfonctionnements des services de base pour la lutte contre le paludisme.

Concernant plus particulièrement le Maroc, il a souffert à un moment donné de son histoire du paludisme dans ses manifestations parfois les plus aiguës. En s'inscrivant dans le cadre de la stratégie mondiale de l'OMS « Faire reculer le paludisme », les autorités marocaines ont mis en place différents programmes de lutte antipaludique. Ces derniers ont mis l'accent, en particulier, sur :

- (1) l'élimination du paludisme autochtone ;
- (2) la prévention de la réintroduction du paludisme après son élimination ;

(3) la mise en place d'une stratégie standardisée pour lutter contre le paludisme importé.

Grâce à ces programmes, le Maroc a pu éradiquer le paludisme, tout en poursuivant de manière continue son plan de surveillance dans le temps et dans l'espace. Depuis 2005, les cas enregistrés au Maroc sont tous importés de l'étranger et proviennent principalement des pays d'Afrique subsaharienne.

Les différents symptômes du paludisme (fièvre, maux de tête, douleurs musculaires, nausées et vomissements) restent souvent non spécifiques et peuvent être aussi associés à d'autres maladies (la grippe et autres infections virales). De même, les signes cliniques ne sont pas souvent explicites (température élevée, sueurs et fatigue). Cependant, dans le cas d'un paludisme grave (principalement causé par le *P. falciparum*), les signes cliniques tels que confusion, coma, convulsions, anémie sévère, gêne respiratoire, sont plus évocateurs et font suspecter un paludisme.

Selon l'OMS, il est important de fonder la prise en charge du paludisme sur le diagnostic parasitologique. Les tests de diagnostic rapide (TDR) représentent un élément essentiel de cette stratégie et le pilier de l'extension de l'accès au diagnostic du paludisme. Ces dernières années, le nombre des TDR disponibles et l'ampleur de leur utilisation ont rapidement augmenté. Selon le dernier rapport de l'OMS sur la situation mondiale du paludisme (2020), 2,7 milliards de TDR du paludisme ont été vendus dans le monde entre 2010 à 2019, dont 80% à destination des pays d'Afrique subsaharienne. Durant la même période, 1,9 milliard de TDR ont été distribués par les programmes nationaux de lutte contre le paludisme (PNLP), dont 84% en Afrique subsaharienne. En 2019, 348 millions de TDR ont été vendus et 267 millions distribués par les PNL. De ce fait, le contrôle de qualité et l'évaluation de la performance des TDR s'avèrent d'une importance cruciale dans les pays utilisateurs. Ces évaluations de qualité et d'efficacité sont d'une grande utilité pour les programmes nationaux de lutte antipaludique, surtout pour prendre des décisions en toute connaissance de cause en matière d'achat et de mise en œuvre.

C'est dans ce cadre que s'inscrit cette étude qui a pour objet d'évaluer la performance du TDR du paludisme Optimal-IT® par rapport à la goutte épaisse (méthode de référence) pour poser le diagnostic de paludisme au Laboratoire de parasitologie-mycologie de l'hôpital militaire d'instruction Mohammed V de Rabat. Les résultats de cette étude permettront notamment d'orienter les décisions d'achat, avec le souhait qu'elle contribuera éventuellement à inciter à l'amélioration de la qualité de fabrication. Pour cela, nous allons organiser cette étude en deux grandes parties. En premier lieu, nous ferons une revue de la littérature en rapport avec l'épidémiologie, la physiopathologie, les aspects cliniques et les techniques du diagnostic du Paludisme. Dans un second temps, nous présenterons les résultats de l'évaluation portant sur le TDR du paludisme Optimal-IT®, et ce en comparaison avec la technique de référence (la goutte épaisse). Cette partie arborera le matériel, la méthodologie utilisée, les résultats obtenus et leur discussion. Une conclusion suivie de recommandations sont proposées à la fin de l'étude.

PREMIERE PARTIE :
REVUE DE LA
LITTERATURE

PREMIERE PARTIE : REVUE DE LA LITTÉRATURE

I. Définition

Le paludisme, première endémie parasitaire dans le monde, est une érythrocytopathie causée par des parasites du genre *Plasmodium*. La transmission à l'homme se fait par la piqûre d'un moustique femelle, du genre *Anopheles*.

Cette maladie est aussi bien importante pour les populations vivant en zone d'endémie (zones intertropicales) que pour les voyageurs.

On distingue :

- Le paludisme autochtone, correspondant à un paludisme confirmé en l'absence de séjour en zone d'endémie palustre dans les 12 mois précédant le début des signes.
- Le paludisme des aéroports, observé à proximité des ports et des aéroports internationaux, causé par les anophèles femelles infectés transportés depuis les pays tropicaux ;
- Le paludisme d'importation ou paludisme des voyages, rencontré chez des personnes revenant de voyage en zone endémique.

II. Epidémiologie

II.1. Agent pathogène

L'agent responsable est un protozoaire intracellulaire du genre *Plasmodium* appartenant à l'embranchement des *Apicomplexa*, et à la classe des sporozoaires.

Au niveau du genre *Plasmodium*, on retrouve plusieurs espèces qui ont la capacité d'infecter reptiles, oiseaux ou mammifères. Parmi ces espèces, seules cinq peuvent évoluer chez l'Homme et provoquer une symptomatologie clinique, dont *P. falciparum* est le plus dangereux. Elles diffèrent morphologiquement, immunologiquement, par leur répartition géographique, leur mode de rechute ainsi que par leur réponse vis-à-vis des drogues antipaludiques :

- *Plasmodium falciparum*

Plasmodium falciparum, qui est à l'origine d'une fièvre tierce maligne, est l'espèce la plus dangereuse et la plus répandue, particulièrement dans les régions tropicales, avec un cycle exo-érythrocytaire qui peut durer entre 7 et 15 jours. La schizogonie érythrocytaire dure généralement 2 jours, et même parfois moins. Elle s'effectue uniquement dans les capillaires viscéraux et surtout encéphaliques. La moyenne de sa longévité est de 2 mois, mais elle peut aller à 6 mois voire une année.

La complication principale du paludisme à *P. falciparum* est le neuropaludisme qui peut entraîner brusquement la mort, en particulier chez un hôte non immun. Toutefois, elle n'est pas à l'origine de rechutes à distance. Dans ces conditions, il est très urgent de chercher à confirmer ou à exclure le diagnostic pour un voyageur qui présente une fièvre à son retour d'une région impaludée. Même si d'autres symptômes peuvent apparaître chez des patients atteints de paludisme, ils ne sont ni sensibles ni spécifiques. A titre d'illustration, la fièvre demeure souvent non cyclique, et la splénomégalie est rarement présente en début du paludisme à *P. falciparum* ⁽¹⁾. De ce fait, une évaluation clinique, même accomplie par des experts, peut écarter le risque du paludisme ⁽²⁾.

▪ ***Plasmodium vivax***

Le *Plasmodium vivax*, qui est moins répandue, est responsable d'un paludisme bénin, avec la possibilité de faire des rechutes à distance. Il est responsable d'une fièvre tierce bénigne, avec un cycle exo-érythrocytaire qui peut durer de 10 à 20 jours et peut même atteindre 9 à 10 mois. Concernant sa schizogonie érythrocytaire, elle peut durer jusqu'à 48 heures, alors que sa longévité tourne autour de 3 à 4 ans et est due aux hypnozoïtes.

▪ ***Plasmodium ovale***

L'espèce *P. ovale* a longtemps été confondue avec le *P. vivax*. Elle donne lieu à un paludisme bénin, avec possibilité de rechute. Elle se trouve essentiellement en Afrique, particulièrement en Afrique Occidentale et Centrale. Avec un cycle exo-érythrocytaire qui peut durer de 15 jours à plusieurs mois, et une schizogonie érythrocytaire qui peut durer jusqu'à 48 heures, elle est à l'origine d'une fièvre tierce bénigne, et sa longévité, d'environ 5 années, est due aux hypnozoïtes.

▪ ***Plasmodium malariae***

A l'origine d'une fièvre quarte à recrudescence tardive, cette espèce se trouve essentiellement en Afrique et en Asie. Elle a un cycle exo-érythrocytaire de 18 à 40 jours, et sa schizogonie érythrocytaire peut durer 72 heures. Quant à la longévité, elle est entre 10 à 20 ans, et s'explique par la réactivation de formes érythrocytaires latentes qui s'exprimeraient suite à une intervention abdominale (ex. splénectomie). La complication principale de cette espèce reste une néphropathie quartane qui peut entraîner une insuffisance rénale grave.

▪ ***Plasmodium Knowlesi***

P. knowlesi (Pk) est un parasite des singes d'Asie, genres *Presbytis* et *Macaca*, vivant en forêt dans la canopée. Il s'agit du 5^{ème} agent du paludisme humain, et est transmis à travers un *Anopheles* de forêt, principalement *A. leucosphyrus*, et dans une moindre

mesure *A. latens* et *A. dirus*. Celui-ci pique essentiellement le singe, mais dans certains cas il peut aussi piquer l'homme. Il a été pendant longtemps confondu avec *P. malariae*, étant donné le fait que l'aspect sur frottis au microscope est quasiment semblable, alors qu'il a fallu les techniques moléculaires (PCR) pour pouvoir les différencier.

II.2. Vecteur et mode de transmission

La transmission à l'homme se fait par la piqûre d'un moustique femelle du genre *Anopheles*, infecté à partir d'un hôte impaludé. Il s'agit d'un diptère, de la famille des *Culicidae*. La femelle, hématophage, en prenant le repas de sang nécessaire à sa ponte, injecte le parasite à son hôte. La piqûre d'*Anopheles*, est nocturne et indolore, son vol est silencieux.

La transmission transplacentaire, transfusionnelle, ou par greffe d'organe restent exceptionnelles et n'influencent pas l'épidémiologie.

II.3. Répartition géographique des espèces plasmodiales

La distribution géographique des espèces de *Plasmodium* est une donnée majeure, les formes graves étant associées à *P. falciparum* :

a. *Plasmodium falciparum* :

Le plus redoutable et le plus intensément implanté, se trouve en Afrique, Asie, Amérique du sud, Océanie....

b. *Plasmodium vivax* :

Il est largement répandu, éradiqué en Europe, présent dans le Bassin Méditerranéen, peu important en Afrique tropicale, sauf Comores, Madagascar et présent dans toute l'Asie, l'Amérique Centrale et l'Amérique du sud. Sa transmission s'arrête à une température inférieure à 15°C. Le pourcentage des infections à *P. vivax* a diminué, passant de 7% en 2000 à 3% en 2019.

c. *Plasmodium ovale* :

Il sévit en Afrique intertropicale du centre et de l'Ouest (et dans certaines régions pacifiques). D'une manière générale, *P.ovale* est observé là où *P.vivax* n'existe pas.

d. *Plasmodium malariae* :

Sa distribution géographique est clairsemée, il sévit en Afrique de manière beaucoup plus sporadique, en Amérique Centrale et du Sud et en quelques foyers en Afrique du Nord et en Asie.

e. *P. knowlesi*

Présent en Asie du Sud-Est.

II.4. Cycle du paludisme

Cycle asexué chez l'homme = hôte intermédiaire

Le cycle de *Plasmodium* commence par une piqûre d'Anophèles, avec inoculation de sporozoïtes, formes infestantes.

Le cycle schizogonique exo-érythrocytaire (intra-hépatique) :

Pénétration au niveau des hépatocytes (après 30min) où ils se multiplient pendant 10-15 jours et forment des schizontes. Cette phase de schizogonie hépatique est caractérisée chez *P. vivax* et *P. ovale*, par la persistance de certains sporozoïtes qui restent quiescents (hypnozoïtes) responsables de schizogonie hépatique retardée avec libération dans le sang de mérozoïtes plusieurs mois après la piqûre expliquant les accès de reviviscences tardives. L'éclatement des hépatocytes va libérer les mérozoïtes dans la circulation sanguine. Cette schizogonie hépatique est unique dans le cycle.

Le cycle schizogonique endo-érythrocytaire

Envahissement des globules rouges par les mérozoïtes qui subissent une maturation en trophozoïtes jeunes puis en trophozoïtes âgés qui évoluent en schizontes érythrocytaires contenant des mérozoïtes disposés en rosace. L'éclatement des hématies va libérer les mérozoïtes qui vont parasiter d'autres globules rouges ou subir une différenciation sexuée en gamétocytes mâle ou femelle qui seront absorbés par l'anophèle femelle lors d'un repas sanguin.

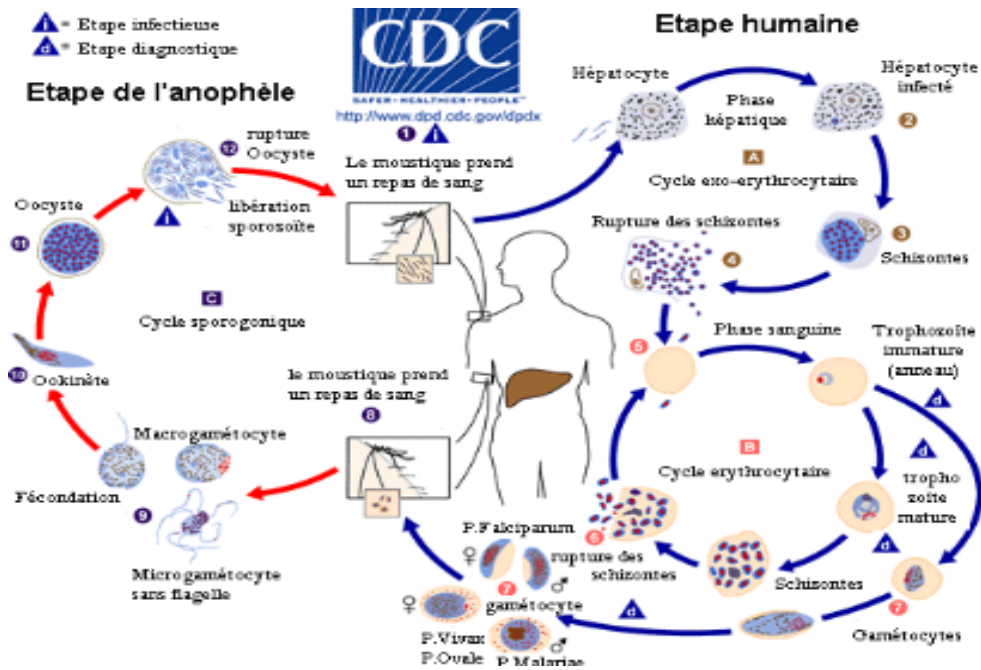
Tous les schizontes érythrocytaires arrivent à maturation de manière synchrone, entraînant la lyse d'un grand nombre de globules rouges de manière périodique.

Le cycle érythrocytaire dure 48 heures chez *P. falciparum*, *P. vivax* et *P. ovale* et 72 heures chez *P. malariae*. C'est la lyse concomitante des hématies qui est responsable de l'accès fébrile.

Cycle sexué chez l'Anophèles = hôte définitif

Lors de son repas sanguin, l'anophèle ingère les globules rouges parasités avec digestion des formes asexuées (schizonte, trophozoïte) dans l'estomac et libération des gamétocytes qui donnent des gamètes mâles mobiles et des femelles immobiles qui se conjuguent pour donner un ookinète qui se transforme en oocyste puis en sporocyste contenant des sporozoïtes. Ces derniers sont libérés après éclatement et migrent jusqu'aux glandes salivaires du moustique et seront inoculés à un nouvel hôte lors de la prochaine piqûre.

Figure n° 2 : Cycle Biologique de Plasmodium spp



Source : Centre pour le contrôle et la prévention des maladies

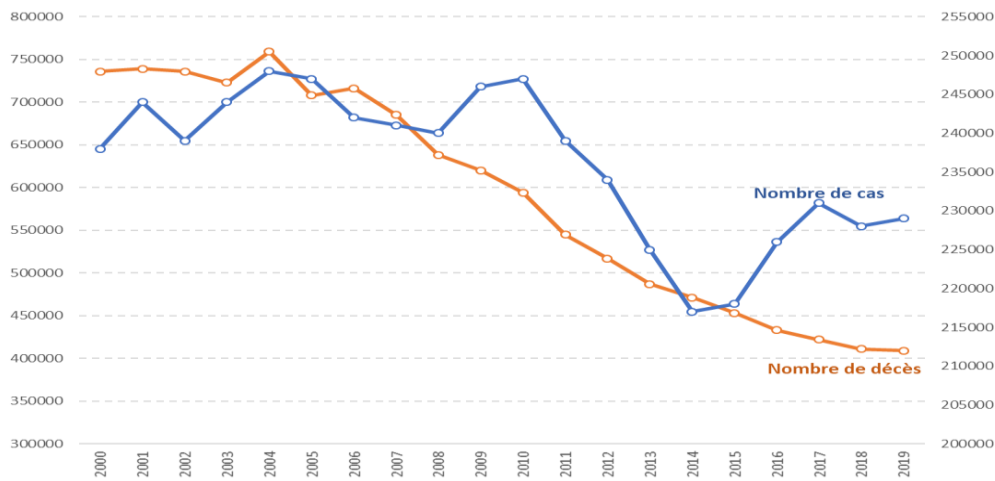
II.5. Données épidémiologiques selon l'OMS

Selon le dernier rapport de l'OMS sur la situation mondiale du paludisme (2020)¹, quelque 229 millions de personnes sont atteintes de paludisme en 2019 dans 87 pays d'endémie palustre, soit une baisse par rapport aux 238 millions de 2000. Plus de 36% de la population mondiale court le risque du paludisme, soit 2,3 milliards de personnes. La maladie sévit sur le mode endémoépidémique et son incidence dépend étroitement de l'écologie du vecteur donc de la climatologie, de l'aménagement de l'espace (déforestation, hydroagriculture), des migrations des populations et des capacités économiques à entreprendre des travaux d'assainissement.

L'incidence du paludisme a reculé au niveau mondial, passant de 80 en 2000 à 58 en 2015, puis à 57 en 2019. De 2000 à 2015, l'incidence du paludisme au niveau mondial a donc diminué de 27%, mais de 2% seulement entre 2015 et 2019, ce qui reflète un net ralentissement depuis 2015. Vingt-neuf pays ont concentré 95% du nombre total de cas de paludisme dans le monde. Le Nigeria (27%), la République démocratique du Congo (12%), l'Ouganda (5%), le Mozambique (4%) et le Niger (3%) ont enregistré, à eux seuls, près de 51% des cas. En dehors de l'Afrique, 70% des cas sont observés dans six pays : l'Inde, le Brésil, l'Afghanistan, le Viêtnam, la Colombie et les îles Salomon.

Graphique n° 1 : Evolution des cas de paludisme et des décès dans le monde, 2000-2019

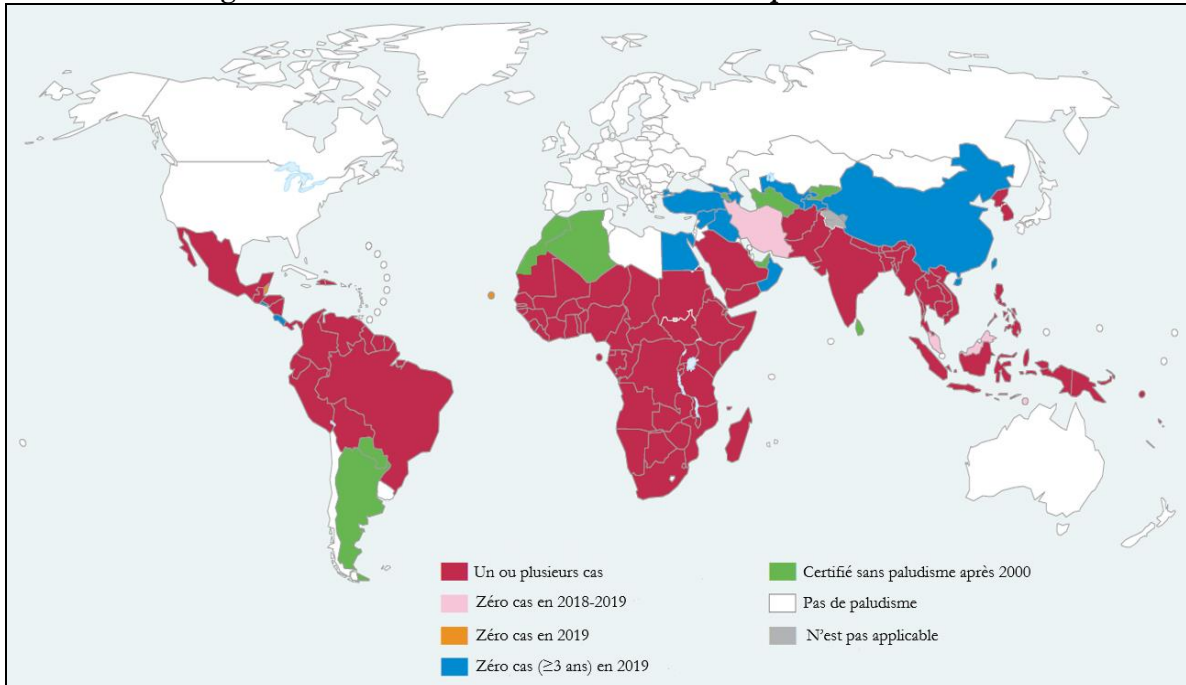
¹ World Malaria Report 2020. Décembre 2020. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240015791>



Source : L'OMS (le rapport de la situation mondiale du paludisme 2020)

La distribution actuelle du paludisme dans le monde est montrée dans la figure n°1. Certaines données géographiques modifient le risque d'infection. Il est moindre aux altitudes de plus de 1500 m, mais, dans des conditions climatiques favorables, il peut se produire à des altitudes jusqu'à environ 3000 m. Le risque d'infection peut également changer en fonction de la saison, étant le plus haut à la fin de la saison des pluies. Il est clair que le paludisme sévit dans la ceinture de la pauvreté, avec une présence significative en zone tropicale où existe *P.falciparum*, agent du paludisme grave.

Figure n° 1 : Distribution mondiale des cas de paludisme en 2019



Source : L'OMS (le rapport de la situation mondiale du paludisme 2020)

Il est à noter que depuis 2015, la région Europe est exempte de paludisme. Du fait de l'augmentation des déplacements fréquents entre les pays tropicaux et ceux de l'Europe, et de la négligence de la chimioprophylaxie, ce continent doit faire de plus en plus face au paludisme des aéroports et au paludisme d'importation

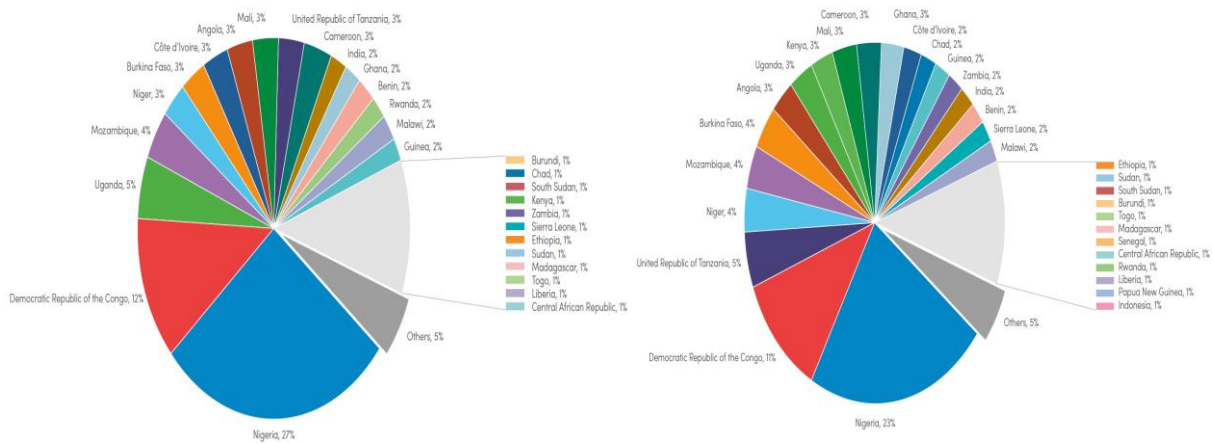
C'est en Afrique où la situation est à la fois la plus préoccupante et la plus difficile à gérer. Ce continent représente à lui seul 94% (215 millions) des cas estimés en 2019. Dans ce continent, même si le nombre de cas de paludisme était moins élevé (204 millions) en 2000 qu'en 2019, l'incidence du paludisme a baissé de 363 à 225 cas pour 1.000 habitants exposés au risque de paludisme sur cette période, ce qui traduit la complexité d'interpréter l'évolution de la transmission de la maladie au sein d'une population qui ne cesse de croître. Le paludisme est relativement rare en Afrique du nord, alors qu'il représente la première cause de consultation en Afrique subsaharienne, notamment en ce qui concerne les enfants. Dans les dispensaires périphériques, son diagnostic reste essentiellement clinique. Le diagnostic parasitologique n'est en général pas réalisé en routine en raison de l'investissement et de la compétence nécessaires.

Il est à signaler que plusieurs cas de paludisme sont enregistrés dans les pays considérés par l'OMS comme exemptes de paludisme et qui sont exclusivement des cas importés. Le développement du tourisme vers les zones endémiques, l'absence de prophylaxie systématique pendant le séjour et après le retour, et la rapidité des transports aériens pour une maladie à courte période d'incubation, expliquent en grande partie l'importance du paludisme d'importation et la majoration du nombre de cas d'importation notée au cours des dernières années.

Pour ce qui est du nombre de décès dus au paludisme, et plus particulièrement au *P. falciparum*, il a baissé de façon régulière sur la période 2000-2019, passant de 736.000 en 2000 à 409.000 en 2019. Les enfants de moins de 5 ans représentaient 84% des décès associés au paludisme en 2000, contre 67% en 2019. La mortalité associée au paludisme (à savoir le nombre de décès pour 100.000 habitants exposés au risque de paludisme) a baissé au niveau mondial, passant de 25 en 2000 à 12 en 2015, puis à 10 en 2019, ce qui traduit un ralentissement de la tendance ces dernières années. Près de 95% des décès dus au paludisme ont été enregistrés dans 31 pays. Le Nigeria (23%), la République démocratique du Congo (11%), la République-Unie de Tanzanie (5%), le Mozambique (4%), le Niger (4%) et le Burkina Faso (4%) ont concentré près de 51% de tous les décès dus au paludisme dans le monde en 2019. Les formes graves et le décès sont exceptionnels avec *P. vivax*, *P. ovale* ou *P. malariae*, alors que les cas liés à *P. falciparum* ont une mortalité comprise entre 1 et 5% pour les formes hospitalisées en zone d'endémie et probablement jusqu'à 30% pour les formes graves admises en réanimation dans les pays développés.

Graphique n° 2 : Répartition des cas de paludisme 2019

Graphique n° 3 : Répartition des décès de paludisme 2019



Source : L'OMS (le rapport de la situation mondiale du paludisme 2020)

Selon les estimations de l'OMS, 1,5 milliard de cas de paludisme et 7,6 millions de décès associés ont été évités dans le monde entre 2000 et 2019. La plupart des cas (82%) et des décès (94%) évités l'auraient été dans la région Afrique, suivie par la région Asie du Sud-Est (10% des cas et 3% des décès). Ceci suscite beaucoup d'espoir et résulte notamment, selon l'OMS, des stratégies adoptées pour la lutte contre le paludisme, de l'introduction des moustiquaires imprégnées d'insecticides de longue durée et du développement des TDR. En 2019, 3 milliards de dollars ont été investis au total pour le contrôle et l'élimination du paludisme, contre 2,7 milliards en 2018 et 3,2 milliards en 2017. Toutefois, les experts de l'OMS estiment que les investissements de 2019 sont bien inférieurs aux 5,6 milliards de dollars nécessaires au niveau mondial pour rester sur la voie des objectifs de la Stratégie mondiale de lutte contre le paludisme. Ce dernier a des conséquences économiques graves. En effet, il consomme 40% des dépenses de santé publique en Afrique, et entrave la scolarité des enfants et, ainsi, le développement social.

II. 6. Le paludisme au Maroc

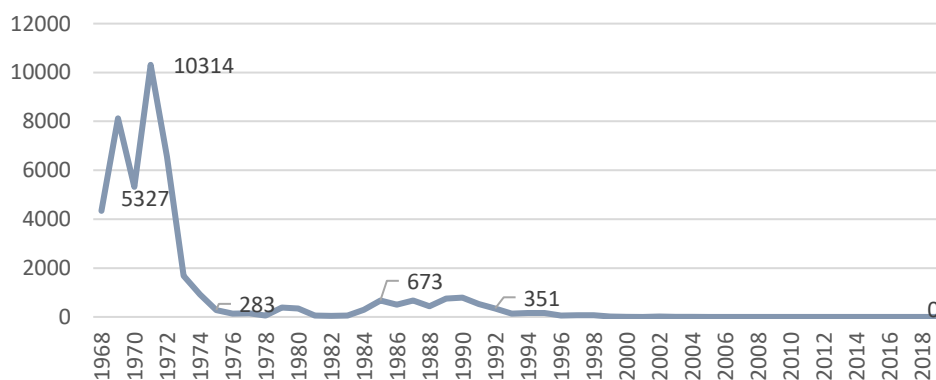
Le Royaume du Maroc a fait face à un moment donné de son histoire au paludisme, même parfois dans ses formes les plus aiguës. Il s'agissait au début d'une maladie endémoépidémique caractérisée par des poussées épidémiques estivo-automnales fréquentes. En 1939, le Royaume a connu un pic du nombre des cas, avec plus de 350.000 cas. Les statistiques ont demeuré à des niveaux élevés tout au long des années 1940, avec 303.000 cas et 548 décès enregistrés en 1947. Il est à noter que jusqu'à l'année 1959, la détection des cas reposait uniquement sur les signes cliniques déclarés, et la prise en compte uniquement des cas confirmés parasitologiquement n'a commencé qu'à partir de 1960. Elle a concerné surtout les villes et les régions les plus peuplées et les plus pourvues en eau. Depuis 1967, cette maladie est devenue à déclaration obligatoire et la charge de morbidité s'est inscrite dans une tendance baissière à la faveur des interventions de lutte, à l'amélioration de la couverture des services sanitaires et au développement économique.

Le *P. falciparum* est la première forme du paludisme à disparaître du Maroc, avec un dernier cas autochtone détecté en 1974. Parallèlement, la transmission locale du paludisme à *P. vivax* s'est poursuivie. Depuis 1999, le Ministère de la santé a décidé, avec le soutien de l'OMS, de concentrer ses programmes sur l'élimination, le nombre de cas autochtone n'ayant pas

cessé de baisser, avec seulement 17 cas détectés dans la province de Khouribga. Par la suite, la transmission locale du *P. vivax* a pu être également arrêtée, à la faveur des efforts bien ciblés de la lutte antipaludique et de l'augmentation de la surveillance.

En 2000, trois cas autochtones ont été détectés (2 à Khouribga et 1 à Taounate), alors qu'il n'y en a eu aucun cas en 2001. Le nombre de cas de paludisme importé dépisté au cours de la même période était de 42 en 1999, avant de passer à 56 en 2000 et à 59 en 2001. Toutefois, une nette augmentation des cas a été enregistrée en 2002, avec 19 cas autochtones déclarés au niveau de la province de Chefchaouen, un ancien foyer de transmission. Dans ce contexte, et afin en vue d'accélérer l'élimination du paludisme, les autorités marocaines ont engagé un programme antipaludique s'inscrivant dans le cadre de la stratégie mondiale de l'OMS « Faire reculer le paludisme ». Ce programme a mis l'accent, en particulier, sur l'élimination du paludisme autochtone au Maroc, la prévention de la réintroduction du paludisme après son élimination, et la mise en place d'une stratégie pour lutter contre le paludisme importé. Cette stratégie fût sans conteste un outil performant et efficace, tant les résultats réalisés aujourd'hui sont probants.

Graphique n° 4 : Evolution annuelle des cas de paludisme autochtone au Maroc (1997-2019)



Source : Ministère de la santé

La tendance baissière du nombre des cas s'est poursuivie à partir de 2002, pour s'établir à un seul cas autochtone de *P. vivax* en 2004 et puis à 0 cas depuis 2005 jusqu'à aujourd'hui. Après près de 4 années sans transmission locale, les procédures permettant d'obtenir la certification de l'élimination du paludisme ont démarré en 2008. Consécutivement à la mise en application des modes opératoires normalisés de l'OMS, incluant notamment une appréciation externe intensive, la certification a été accordée en mai 2010. Après la certification des Émirats arabes unis en 2007, le Maroc est le second pays arabe à être ajouté en 2010 au Registre des zones exemptes de paludisme. Parallèlement, le Royaume continue à être soumis à un plan de surveillance continue dans le temps et dans l'espace. Les cas importés de l'étranger sont dépistés chaque année et proviennent notamment de pays d'Afrique subsaharienne où l'espèce *P. falciparum* chloroquinorésistant prédomine.

II.7. L'impact de la pandémie du Covid-19

Après le déclenchement de la pandémie du Covid-19, le secteur de la santé dans le monde a été confronté à un triple défi : minimiser l'impact sanitaire immédiat, réduire les perturbations des autres services essentiels et gérer la santé tout en réorientant leurs

économies vers la reprise. La baisse des marges budgétaires dans de nombreuses régions d'Afrique subsaharienne a compromis les dépenses pour faire face au Covid-19 et continue à menacer les autres priorités en matière de santé.

Les restrictions imposées par la riposte et les confinements mis en place dans de nombreux pays d'endémie palustre peuvent avoir protégé les gens contre Covid-19, mais ils ont provoqué des dysfonctionnements des services de base pour la lutte contre le paludisme. En effet, ils ont limité l'accès des personnes affectées aux soins de santé et à d'autres prestations de service. Les premiers messages visant à réduire la transmission du coronavirus conseillaient au public de rester à la maison en cas de fièvre, ce qui a pu nuire à la sollicitation des soins en cas de survenue de fièvre, telle que celle liée au paludisme. Moins de patients se sont présentés aux soins ambulatoires, craignant le risque d'être infecté par le Covid-19 et entravé par les confinements et le manque de transports. De plus, les chaînes d'approvisionnement des produits de base à l'intérieur et à l'extérieur des pays d'endémie palustre ont été perturbés. La crise du Covid-19 a mis en évidence les graves pénuries dans le domaine de la santé, compromettant les services de soins et de santé publique.

Concernant plus particulièrement l'Afrique subsaharienne, une région qui compte la part la plus importante des infections paludiques, la propagation de la maladie était beaucoup plus lente et les taux de létalité étaient plus faibles qu'anticipé. Les facteurs qui ont vraisemblablement contribué au ralentissement de la propagation dans cette région comprennent l'adoption précoce de stratégies de contrôle agressives, expérience préalable dans le contrôle des épidémies, une population jeune, une proportion relativement élevée de la population rurale avec mobilité limitée et températures ambiantes plus élevées.

En mars 2020, comme la pandémie de Covid-19 se propageait rapidement dans le monde entier, l'OMS a appelé à un effort conjoint des partenaires en vue d'atténuer l'impact négatif du coronavirus dans les pays touchés par le paludisme et de contribuer à la riposte contre la Covid-19. Dans son dernier rapport mondial sur le paludisme, l'OMS estime que même si les campagnes de prévention du paludisme sont terminées en 2020 comme prévu, des perturbations de l'accès au traitement antipaludique pourrait entraîner des pertes considérables de vie.

III. Physiopathologie

La présentation clinique secondaire à l'infection par *Plasmodium* dépend de plusieurs facteurs liés :

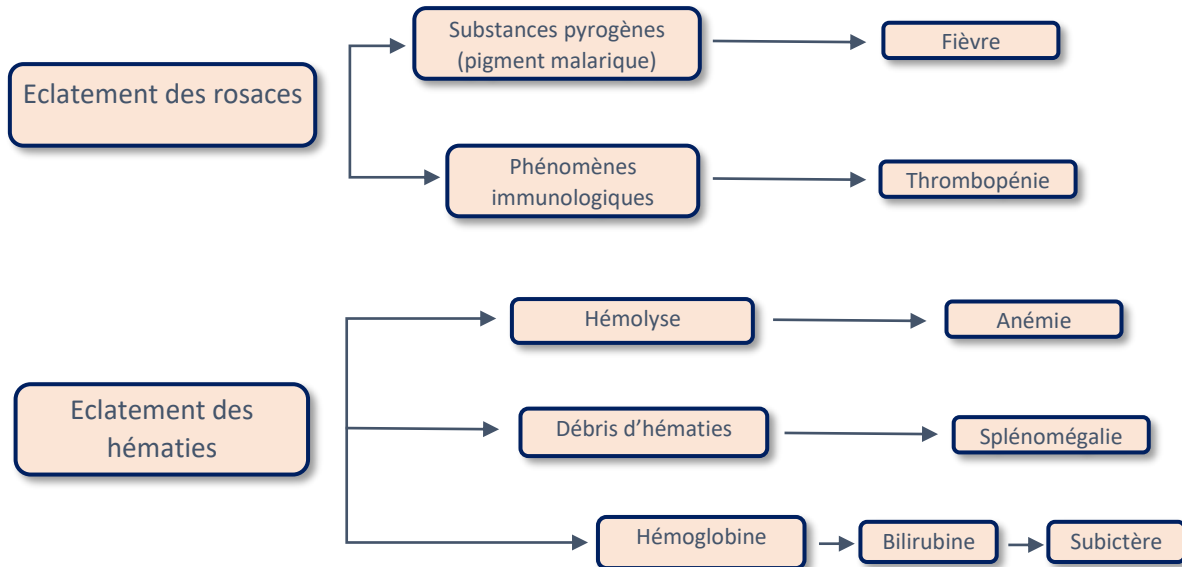
- soit au patient (état immunitaire) ;
- soit au parasite (espèce, intensité de l'infestation, stade de développement).

III.1. Accès palustre simple

La fièvre, principal symptôme, est due à l'éclatement des schizontes qui libèrent dans la circulation le pigment malarique (hémozoïne) ; celui-ci a une action pyrogène. La lyse des globules rouges par éclatement donne l'anémie. L'hémoglobine est catabolisée en bilirubine

dont l'excès est responsable d'ictère. Des antigènes solubles entraînent la production d'IgG antiplaquettaires à l'origine de la thrombopénie. L'hyperactivation du système des phagocytes mononucléés est responsable de la splénomégalie et dans un moindre degré de l'hépatomégalie.

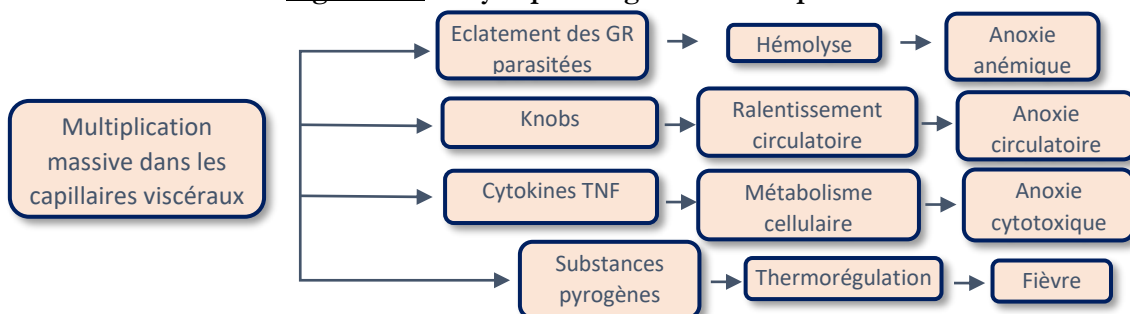
Figure n° 3 : Physiopathologie de l'accès simple



III.2. Accès palustre grave

Lié aux infections par *P.falciparum*, il est secondaire à la séquestration des globules rouges parasités dans les capillaires de différents organes (cerveau, rate, rein, , poumons, cœur..). Également, la présence de tubérosités (knobs) à leur surface est responsable de phénomènes d'auto-agglutination (regroupement des globules rouges infectés), de phénomène de Rosetting (adhésion des globules rouges sains à ceux parasités) et d'adhérence aux endothéliums vasculaires avec activation de la coagulation (CIVD). Ceci est à l'origine d'hypoxie d'organes et d'acidose métabolique. D'autres facteurs, liés à la réponse inflammatoire de l'hôte peuvent intervenir comme la production de cytokines, comme le TNF (*tumor necrosis factor*), constituant un marqueur de gravité.

Figure n° 4 : Physiopathologie de l'accès pernicieux



III.3. Paludisme et immunité

Il existe un état d'immunité relative appelé prémunition, entretenue par une exposition continue aux parasites, (au prix d'une mortalité infantile élevée). Elle est non définitive et peut disparaître en 1 à 2 ans si départ de la zone impaludée, après une splénectomie et pendant la grossesse.

Il y a également une immunité naturelle chez les patients drépanocytaires, thalassémiques (durée de vie courte du globule rouge), de groupe sanguin Duffy négatif (contre *Pv*) et groupe O (contre *Pf*).

IV- Aspects cliniques et évolutifs

Les manifestations cliniques sont très variables selon le parasite et selon le terrain du patient. Les accès simples sont communs à toutes les espèces avec des différences de leur intensité. De même, le paludisme viscéral évolutif peut être causé par tous les *Plasmodium*. Par contre, d'autres tableaux cliniques sont dus à certaines espèces : l'accès pernicieux et la fièvre bilieuse hémoglobinurique pour *P.falciparum*, et la néphropathie quartane pour *P. malariae*.

IV.1. Incubation

Silencieuse, dure généralement de 7 à 21 jours, voire plusieurs mois.

Pour *P. falciparum*, la majorité des accès se manifestent dans les 4 semaines après le retour, avec possibilité de survenir jusqu'à 1 an.

Pour *P. ovale* et *P. vivax*, des reviviscences peuvent survenir 2 et 5 ans plus tard.

Pour *P. malariae*, il y a possibilité de rechutes jusqu'à 10 ans, voire 30 ans plus tard.

IV.2. Primo invasion

Manifestations surtout chez un sujet non immun :

- Enfant de 4 mois à 4 ans en zone d'endémie ;
- Adulte, provenant d'une zone indemne de paludisme ;
- Adulte ou enfant, ayant perdu leur prémunition.

Fièvre, en plateau ou oscillante et il n'y a pas de périodicité à ce stade. Céphalées, douleurs abdominales, musculaires, malaise, nausées, vomissements, parfois diarrhées.

Evolution favorable en quelques jours si instauration du traitement. Sinon, persistance de la fièvre qui peut devenir intermittente, et apparition de la splénomégalie. Pour *P.falciparum*, il y a risque de passage à l'accès grave. Pour les autres espèces, il y a possibilité de guérison spontanée, mais risque de reviviscences des mois plus tard.

IV.3. Phase d'état

a. Accès palustre

L'accès se déroule d'une manière stéréotypée, avec succession de trois stades selon un rythme régulier. Début généralement en fin de journée ou la nuit :

- Stade de frissons : caractérisé par une sensation intense de froid avec des tremblements importants et une fièvre à 39 °C, hypotension artérielle et hypertrophie de la rate. Il dure 1 heure environ
- Stade de chaleur : arrêt des frissons, peau sèche et brûlante, fièvre à 40-41°C. La rate diminue de volume. Ce stade dure 3 à 4 heures.
- Stades de sueurs : sueurs abondantes, chute brutale de la température. Ce stade dure 2 à 4 heures. Il est succédé d'une sensation d'euphorie.

Pour *P. vivax*, *P. ovale* et *P. falciparum*, ces accès surviennent tous les 2 jours : fièvre tierce (schizogonie de 48 heures). Pour *P. malariae*, le rythme des accès est de trois jours : fièvre quarte (schizogonie de 72 heures).

b. Complications :

Secondaires aux infections par *P. falciparum*. Rencontrées principalement chez les sujets à immunité faible ou nulle (jeunes enfants, femme enceinte, voyageurs ..).

En pratique, tout patient se présentant pour des troubles de la conscience ou autre signe d'appel neurologique après un voyage en zone d'endémie doit être traité en urgence comme un neuropaludisme.

L'accès grave est dû à *P. falciparum*, avec au moins un des signes suivants :

- Troubles de la conscience (sommolence, agitation, délire, coma, confusion, obnubilation)
- Convulsions
- Prostration (incapacité de manger, boire et de s'asseoir)
- Détresse respiratoire
- Etat de choc (collapsus cardiovasculaire : pouls faible, temps de recoloration cutanée allongé, froideur des extrémités)
- Ictère
- Hémorragies spontanées cutanéomuqueuses
- Anémie sévère (hémoglobine < 5g/dl)
- Hypoglycémie (< 0,4 g/l) : fréquente chez l'enfant et pendant la grossesse, à rechercher systématiquement
- Oligurie, en l'absence de signes de déshydratation, hémoglobinurie.

En l'absence de traitement, évolution fatale en 2 à 3 jours. La guérison est possible si le traitement est instauré rapidement, avec risque de séquelles neurologiques.

V. Diagnostic biologique du paludisme

V.1. Le diagnostic de présomption

La forme clinique la plus fréquente est la « fièvre au retour de zone tropicale ». La notion de séjour en zone tropicale doit donc être recherchée systématiquement. Cependant, il est parfois difficile de différencier une fièvre d'origine palustre des autres étiologies de fièvre dans les zones endémiques. Le délai entre le retour et le début des signes cliniques doit aussi être noté.

Sur le plan biologique : une anémie hémolytique avec généralement une hyperleucocytose ou une leucopénie et une thrombopénie sont très évocateurs de paludisme dans ce contexte épidémio-clinique. Une perturbation du bilan hépatique avec augmentation des LDH sont également en faveur.

V.2. Le diagnostic de certitude

Le paludisme est une urgence diagnostique.

C'est la mise en évidence du parasite dans le sang qui apporte le diagnostic de certitude du paludisme. Le résultat d'un diagnostic parasitologique du paludisme doit notifier trois points :

- La présence ou l'absence de parasites ; l'accès palustre étant défini par la présence de formes asexuées dans le sang.
- L'espèce incriminée (*P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale* ou *P. malariae*) ;
- La parasitémie qui correspond au pourcentage d'hématies infestées.

Le diagnostic repose sur l'analyse d'un échantillon sanguin du patient.

Le sang est recueilli par prélèvement veineux sur tube EDTA ou capillaire au bout du doigt. Plusieurs méthodes sont disponibles afin d'apporter une certitude biologique.

Le test standard consiste en un examen microscopique sur goutte épaisse et sur frottis sanguin mince :

a. La Goutte Épaisse (GE), constitue la méthode de référence de l'OMS, c'est une technique d'enrichissement qui permet de concentrer une grande quantité de parasites sur une petite surface. La lecture est réalisée après lyse des hématies et coloration au May-Grünwald-Giemsa (MGG). C'est une technique très sensible pouvant détecter des parasitémies de l'ordre de 10 à 20 hématies parasitées par microlitre de sang.

La lecture de la GE est un peu délicate et nécessite un observateur expérimenté. A noter qu'il est possible de réaliser une Goutte Épaisse rapide permettant un gain de temps au niveau des différentes étapes de sa réalisation (séchage, hémolyse et coloration).

b. Le frottis sanguin mince (FM), réalisé par étalement d'une goutte de sang en couche mince puis coloration au May-Grünwald-Giemsa (MGG).

L'examen du frottis permet la mise en évidence du parasite, précise l'espèce et le stade de développement ainsi que la parasitémie (%de globules rouges parasités = nombre de globules rouges parasités/ nombre de globules rouges comptés).

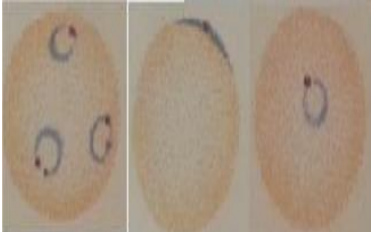




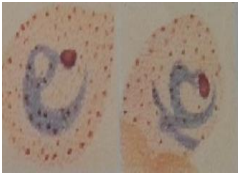
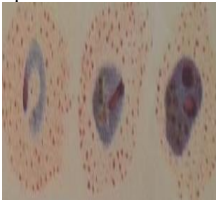

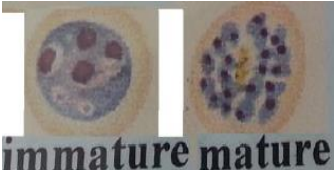
Les parasites apparaissent à l'intérieur des globules rouges constitués d'un noyau coloré en rouge et d'un cytoplasme bleu qui peut contenir un pigment noirâtre (pigment malarique), le cytoplasme de l'hématie parasitée peut également être le siège de granulations de Schüffner et de tâches de Maurer (évaginations de la membrane parasitophore, rouge sombre en coup d'ongle) selon l'espèce plasmodiale.

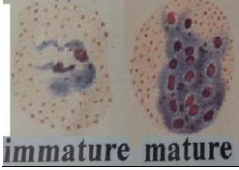
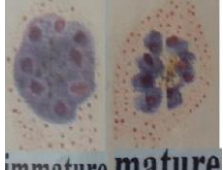
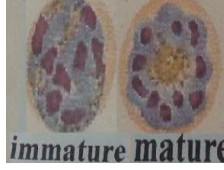
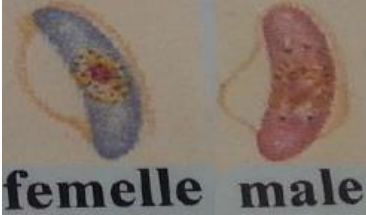
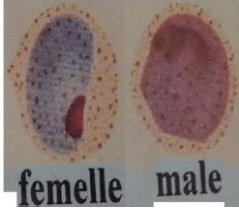
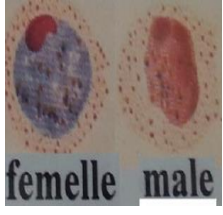

Les critères d'identification de l'espèce en cause sont principalement :

- L'aspect du frottis : monomorphe ou panaché
- La taille et la forme de l'hématie parasitée

- La présence des grains de Schüffner ou de tâches de Maurer
- Certains aspects spécifiques d'espèce.

Tableau n° 1 : Critères d'identification des espèces

Espèce	P. falciparum	P. vivax	P. ovale	P. malariae	P. knowlesi (PCR)
Frottis	Monomorphe (1 seul stade) Trophozoïtes jeunes Pluri-parasitisme fréquent +/- gamétocytes Panaché si accès pernicieux	Panaché (3 stades)	Panaché	Panaché	Panaché
Hématie	Taille et forme normales. +/-Tâches de Maurer assez épaisses Parasitémie ≥ 10%	Très augmentées de volume Polygonales. Nombreuses granulations de Schüffner fines et tardives Parasitémie dépasse rarement 2%	Volume un peu augmenté Ovalisée ou frangée. Granulations de Schüffner grosses et précoces Parasitémie dépasse rarement 2%	Taille normale ou diminuée Granulations de Ziemann peu colorables Parasitémie <2%	Taille et forme normale Parasitémie élevée
Trophozoïte jeune	En anneau : bague à chaton++, bracelet +/- aspect marginé Cytoplasme fin, Petit noyau. 	Aspect en bague Cytoplasme épais, Gros noyau 	Semblable à celui de P. vivax -Cytoplasme fin 	Aspect en bague Cytoplasme épais, Gros noyau Pigment malarique précoce 	Semblable à celui de P. falciparum Pluri-parasitisme possible
Trophozoïte âgé	Bague élargie Peu ou pas de pigment noir en petits grains disséminés Rares tâches de Maurer 	Corps amœbidé avec pseudopodes : cytoplasme digité ou fragmenté Nombreuses granulations de Schüffner 	Ovale, peu amœbidé Granulations de Schüffner abondantes et épaisses 	Soit annulaire à cytoplasme très épais, soit en bande équatoriale (drapeau). Gros amas de pigment noir sur fond jaunâtre. 	
Schizonte	Rarement dans le sang périphérique Si visible = signe de gravité Pigment noir central sur fond jaune  immature mature	16 à 24 mérozoïtes disposés en rosace. Pigment noir en petits grains dispersés Granulations de Schüffner	12 à 16 mérozoïtes Aspect mûriforme Pigment noir en grains épais au centre ou dispersés	6 à 12 mérozoïtes disposés en périphérie (aspect en marguerite) Pigment noir épais au centre sur fond jaunâtre	Similaire à celui de P. malariae, mais contenant jusqu'à 16 mérozoïtes

		 immature mature	 immature mature	 immature mature	
Gamétocyte	Falciformes en croissant, banane ou cigare déformant le GR. Mâle (rose) et femelle (bleu). Hémozoïne en amas central pour le gamétocyte (femelle) ; plus diffus (mâle).	Arrondi, volumineux Mâle et femelle. Cytoplasme bleu pâle ou mauve Parsemé de fin pigment noir	Arrondi, moyen Mâle et femelle. Cytoplasme bleu pâle ou mauve Grains de pigment noir disséminés	Arrondi, petit mâle et femelle. Cytoplasme bleu pâle ou mauve Pigment noir volumineux disséminé	Similaires à celui de <i>P. malariae</i>
	 femelle male	 femelle male	 femelle male	 femelle male	

Le frottis a l'avantage de mieux quantifier l'importance de la parasitémie. Mais il présente le risque de faux négatif en cas de faible parasitémie en raison de sa faible sensibilité.

c. Les tests de diagnostic rapide

c.1. Principe : Méthodes immunochromatographiques qui utilisent des anticorps monoclonaux reconnaissant les antigènes des plasmodies présents dans le sang du patient, avec différents modes de révélation (latex, or colloïdal, rhodamine) et différentes présentations (bandelettes, cassettes, cartes). Les TDR nécessitent de petites quantités de sang (de 2 à 50 μ L) et peuvent être réalisés sur prélèvement capillaire, sur sang total ou sur plasma.

c.2. Antigènes détectés :

- pLDH / aldolase : communes aux 5 espèces (pan-plasmodiales)
- PfHRP2 / Pf LDH : spécifiques de *P. falciparum*
- PvLDH : spécifiques de *P. vivax*

L'aldolase : enzyme clé du cycle du glucose est présente chez commune à toutes les espèces de Plasmodium.

Le pLDH : La Plasmodium lactate déshydrogénase, est une enzyme commune à tous les Plasmodies. Impliquée dans le cycle du glucose, cette enzyme est synthétisée par les stades asexués et par les gamétocytes.

La PfHRP2 : Histidine-rich protéine 2 de *P. falciparum*. Les globules rouges parasités synthétisent plusieurs protéines riches en histidine. 3 protéines connues : PfHRP1, PfHRP2 et PfHRP3 selon l'ordre de découverte, c'est la PfHRP2 qui est utilisée dans les TDR.

Certains TDR détectent les infections à une seule espèce (soit *P. falciparum* soit *P. vivax*), d'autres peuvent diagnostiquer des infections mixtes (*P. falciparum*, *P. malariae*, *P. vivax*, et *P. ovale*), alors que d'autres distinguent les infections par *P.*

falciparum de celles à non *P. falciparum*. Il existe quelques 200 produits de TDR sur le marché, mais leurs principes restent similaires.

c.3. Limites :

Faux positifs

- Présence de Facteur rhumatoïde (variable selon l'anticorps testé)
- Les anticorps hétérophiles
- Infections bactériennes, virales ou parasitaires (la dengue, la trypanosomiase africaine et la tuberculose)

Faux négatifs

- Faible charge parasitaire
- Phénomène de « zone » chez les patients qui présentent une forte parasitémie, l'excès de l'antigène masque l'anticorps testé.
- Une déficience du gène HRP-2, observée dans certaines régions géographiques pour *P.falciparum*.
- Problème de conservation du TDR : Les TDR sont particulièrement vulnérables aux températures élevées et à l'humidité.

c.4. Lecture et Interprétation

La lecture doit se faire dans les délais précisés par le fabricant, et l'interprétation doit tenir compte pour chacun de ces tests de la sensibilité, la spécificité, la valeur prédictive positive et négative.

c.5. Qualité du TDR : Il a été démontré que la qualité des TDR peut varier d'un fabricant à un autre et même d'un lot à l'autre ⁽³⁾. Il est de ce fait nécessaire de réaliser des évaluations de la qualité et de la performance de ces tests. Ceci est l'objet même de cette étude qui sera détaillé dans la deuxième partie.

d. Autres moyens de diagnostic direct

d.1. La technique du Quantitative Buffy Coat (QBC), qui consiste à concentrer les hématies parasitées par centrifugation en tube capillaire à haute vitesse avec marquage non spécifique par un fluorochrome (acridine orange) en présence d'un anticoagulant (EDTA). Technique très sensible mais nécessite un matériel spécifique. L'arrêt de sa commercialisation est annoncé.

d.2. La biologie moléculaire : PCR (Polymerase Chain Reaction), caractérisée par une excellente sensibilité, elle permet un diagnostic d'espèce et constitue une aide au diagnostic dans certains cas difficiles. Mais elle est non envisageable en routine en raison de son coût et son temps de réalisation. Elle est réservée aux laboratoires de recherche, surtout, pour la recherche sur la mutation des gènes impliqués dans l'apparition des résistances aux antipaludiques.

e. Diagnostic indirect :

Les tests sérologiques par technique d'immunofluorescence Indirecte (IFI) ou immunoenzymatique (ELISA) permettent la mise en évidence des anticorps antiplasmodiaux fabriqués par l'organisme. La présence d'anticorps ne signifie pas l'immunisation contre le paludisme. La sérologie n'a pas d'intérêt pour le diagnostic en urgence, elle est indiquée dans la sécurité transfusionnelle et dans le cadre d'études épidémiologiques.

VI. Traitement des accès palustres

Le choix du traitement antiparasitaire repose sur les critères suivants :

- **Évaluation de la gravité :** La présence de signes de gravité, une parasitémie élevée, en général supérieure à 2%, est une indication à l'hospitalisation. En revanche, une parasitémie supérieure à 4% est une indication à un traitement par voie intraveineuse.
- **Évaluation du risque de résistance aux antipaludéens :** Des résistances à la chloroquine de nombreuses souches de *P. falciparum* ont été rapportées en Afrique subsaharienne, en Amérique du Sud et en Asie du Sud-Est. Ainsi que des résistances aux autres antipaludéens comme la méfloquine et l'halofantrine.
- **Le terrain :** Les traitements antipaludéens sont contre-indiqués ou déconseillés chez la femme enceinte, sauf la quinine et l'association atovaquone-proguanil. Antécédents des troubles du rythme ou autres antécédents cardiaques sont une contre-indication formelle à l'halofantrine.
- **Voie d'administration :** L'intolérance digestive totale est une indication à un traitement par voie intraveineuse.

VI.1. Prise en charge d'un accès simple

Accès palustre à *P. falciparum* :

Adulte :

- Atovaquone-proguanil ou une association comportant un dérivé de l'artémisinine : l'artéméter-luméfantrine ou la dihydroartémisinine-pipéraquline, en première intention.
- La quinine ou la méfloquine en deuxième intention.

Femme enceinte :

- Seule la quinine est préconisée sans réserve, l'atovaquone-proguanil est utilisable si nécessaire.
- L'artéméter-luméfantrine, est déconseillé au premier trimestre, mais peut être utilisée aux deuxième et troisième trimestres.

Enfant :

- La méfloquine, l'atovaquone-proguanil ou l'artéméter-luméfantrine ou la dihydroartémisinine-pipéraquline, en première intention.
- La quinine ou l'halofantrine sont utilisables en deuxième intention.

Accès palustre à *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae* ou *P. knowlesi* :

La chloroquine garde sa place si le diagnostic d'espèce est certain. Sinon, il faut considérer le patient comme étant infecté par *P. falciparum*. Les seules chimiorésistances connues à la chloroquine concernent *P. vivax*, en Asie du Sud-Est essentiellement. Il est maintenant recommandé de prescrire la primaquine dès le premier accès, pour prévenir les accès de reviviscence à *P. vivax* ou *P. ovale*.

VI.2. Prise en charge d'un accès grave

- Hospitalisation en urgence dans une unité de soins intensifs ou de réanimation ;
- Artésunate par voie intraveineuse. La supériorité de ce traitement sur la quinine en termes de mortalité a été démontrée.
Après 48 heures du traitement IV, un relais par atovaquone-proguanil ou artéméter-luméfantrine ou dihydroartémisinine-pipéraquline par voie orale est possible avec 3 jours de traitement.
- Quinine intraveineuse si contre-indication ou indisponibilité de l'artésunate.

VII. Prévention

VII. 1. Prévention individuelle

Lutte contre les piqûres de moustiques. À partir du coucher du soleil, c'est la première ligne de défense vis-à-vis du paludisme :

- Port de vêtements longs le soir, si possible imprégnés d'insecticides ;
- Répulsifs sur les parties découvertes
- Moustiquaires aux portes et aux fenêtres, moustiquaire de lit
- Climatisation
- Chimio prophylaxie médicamenteuse pour les voyageurs, systématique pour tout sujet se rendant en zone impaludée.

Le choix dépend de la zone visitée (importance de transmission et niveau de résistance aux antipaludiques), du sujet concerné (âge, grossesse, mode de vie, antécédents ...), de la saison etc.

VII.2. Prévention collective

- Utilisation généralisée de moustiquaires imprégnées dans la population.
- Développement de nouvelles molécules thérapeutiques.
- Lutte antivectorielle : contrôle des gîtes à moustiques, pulvérisation d'insecticides.

On constate que les pays qui ont pu élever leur niveau de vie ont fait reculer la maladie. La lutte contre le paludisme passe donc également par une lutte contre la pauvreté à l'échelle mondiale.

DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE

DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE

Le recours accru aux TDR lors de la démarche diagnostique du paludisme montre l'importance cruciale du contrôle de qualité et de l'évaluation de la performance de ces tests. En plus de l'amélioration de la qualité de fabrication, ces évaluations sont également d'une grande utilité pour les programmes nationaux de lutte antipaludique, surtout en matière d'achat et de mise en œuvre. C'est dans ce cadre que s'inscrit cette deuxième partie, dont l'objet est d'apprécier la performance des TDR du paludisme, et plus particulièrement le test Optimal-IT® et ce, par rapport aux techniques de référence : Goutte épaisse et Frottis mince. Cette partie arborera le matériel, la méthodologie utilisée, les résultats obtenus et leurs discussions.

I. Matériel et méthodes

▪ Lieu de l'étude

Cette étude a été menée au sein du laboratoire de parasitologie-mycologie de l'Hôpital Militaire d'instruction Mohammed V de Rabat. Il s'agit d'une étude de type transversale, portant sur l'évaluation du TDR du paludisme Optimal-IT®.

▪ Population étudiée : critères d'inclusion

Elle a concerné 165 personnes, sans distinction de genre et d'âge, vues en consultation suite à des symptômes évoquant le diagnostic de paludisme. Nous avons inclus les patients ayant bénéficié d'une goutte épaisse et d'un frottis mince et chez qui on a pu réaliser un TDR. Les personnes qui ont participé à cette étude sont toutes originaires ou ayant séjourné dans des zones endémiques en Afrique subsaharienne.

▪ Méthodes utilisées

Dans notre étude, nous avons évalué les résultats du TDR, par rapport à la goutte épaisse, méthode de référence de l'OMS. Ainsi, chaque prélèvement inclus dans l'étude a fait l'objet d'une goutte épaisse (GE), d'un frottis mince et d'un TDR OptiMal-IT®.

✓ *GE et FS*

Les prélèvements veineux réalisés sur tube EDTA ont été acheminés en urgence au laboratoire.

Pour la goutte épaisse calibrée : Une goutte de 2 µL de sang total bien homogénéisé est déposée sur une lame d'examen microscopique puis étalée de façon circulaire à l'aide d'un coin d'une 2^e-ème lame sur une surface d'environ 1 cm de diamètre. La lame est séchée à l'étuve pendant quelques minutes à 37 °C. Dès que la goutte est sèche, la lame est plongée dans le réactif de lyse à base de saponine/formol pour déshémoglobination. Il faut surveiller attentivement la lyse. Elle doit être complète (disparition de toute trace d'hémoglobine avec obtention d'une pellicule blanche sur la lame) mais non excessive (risque d'altération des parasites et des globules blancs). On s'assure de la qualité de l'hémolyse au-dessus d'une surface blanche. Dès que l'hémolyse est complète, la lame est rincée délicatement à l'eau du robinet puis colorée au RAL 555 puis séchée.

Lecture : à l'objectif x100 à l'immersion. La recherche des parasites doit se faire sur la totalité de la surface de la goutte épaisse. La GE est considérée positive si au moins un élément asexué est détecté lors de la lecture. La GE est considérée négative si aucune forme parasitaire n'est observée au bout 20 minutes de lecture.

Calcul de la parasitémie : selon la méthode conseillée par l'OMS, il faut compter le nombre de parasites asexués (PA) (trophozoïtes et schizontes) par rapport à un nombre fixe de globules blancs puis calculer le nombre de PA/µl sur la base du nombre exacte de GB.

(Nombre PA/Nombre GB comptés) x nombre GB/µl du patient = Nombre PA/µl

Pour le frottis sanguin : une petite goutte de sang est déposée sur une lame porte-objet bien dégraissée ; une seconde lame est placée à 45° par rapport à la première lame et permet l'étalement du sang par capillarité. D'un mouvement rapide, le sang est étalé sur la première moitié de la lame¹. Séchage puis coloration au RAL. Le frottis sanguin a servi à l'identification de l'espèce plasmodiale selon les critères précédemment décrits (tableau n°1).

✓ **Le TDR**

Principe : Le TDR OptiMal-IT® utilisé est un test immunochromatographique utilisant des anticorps monoclonaux dirigés contre l'enzyme pLDH (lactate déhydrogénase) de *Plasmodium sp.* 2 types d'anticorps monoclonaux :

- 1) un anticorps spécifique pour *P. falciparum*, et
- 2) un anticorps monoclonal pan-plasmodial réagissant avec les quatre espèces de *Plasmodium* responsables du Paludisme chez l'homme : *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae*.

La pLDH est produite par les formes sexuées et asexuées du parasite. Le test n'est positif que s'il y a des parasites vivants dans le sang. Il n'y a pas de réaction croisée avec la LDH humaine ou le facteur rhumatoïde. Le tampon « de lyse et de dilution » évite les réactions non spécifiques dues à des anticorps hétérophiles. Selon le fabricant, Optimal-IT® permet de détecter des niveaux de parasitémie périphériques de 0,001–0,002% (50-100 parasites/μL de sang).

Protocole : Le test a été réalisé selon les recommandations décrites par le fabricant : une goutte de sang est mélangée dans une coupelle avec 2 gouttes d'une solution tampon qui permet la lyse des hématies et la libération des pLDH. Des anticorps marqués se fixent alors sur les pLDH libérées. La bandelette réactive est ensuite mise à tremper dans la coupelle afin de permettre la migration de l'échantillon. Après 10 à 15 min, la bandelette est lavée par capillarité à l'aide de 4 gouttes de tampon.

Validité : Les résultats sont valides si la bande de contrôle est bien visible et s'il n'y a plus de sang dans la zone de réaction. Par contre, ils ne sont pas valides si :

- La bandelette est insuffisamment lavée (la zone de réaction reste rouge) [1].
- La bande de contrôle n'apparaît pas [2].
- La bande de contrôle n'est pas visible, même si une bande de diagnostic ou les deux apparaissent [3][4].
- La bande de contrôle et la bande « Pf » (*P. falciparum*) sont présentes, mais la bande « P » n'apparaît pas [5]. (Figure n° 6)

Dans ces cas, il faut refaire le test en se conformant exactement à la méthode.

Interprétation :

Pour les tests valides :

- Le test est positif avec présence de *P. falciparum* lorsque la bande pLDH avec la bande pLDH ;
- Le test est positif avec la présence d'espèces plasmodiales non *P. falciparum* lorsque la bande de détection de pLDH est visible sans la bande de détection de pLDH,

- Le test est négatif lorsque seule la bande de contrôle est visible. Le TDR invalide (sans bande de contrôle) est systématiquement refait avec un autre TDR. (Tableau n°2)

Figure n° 5 : Schéma d'une cassette TDR Optimal-IT®

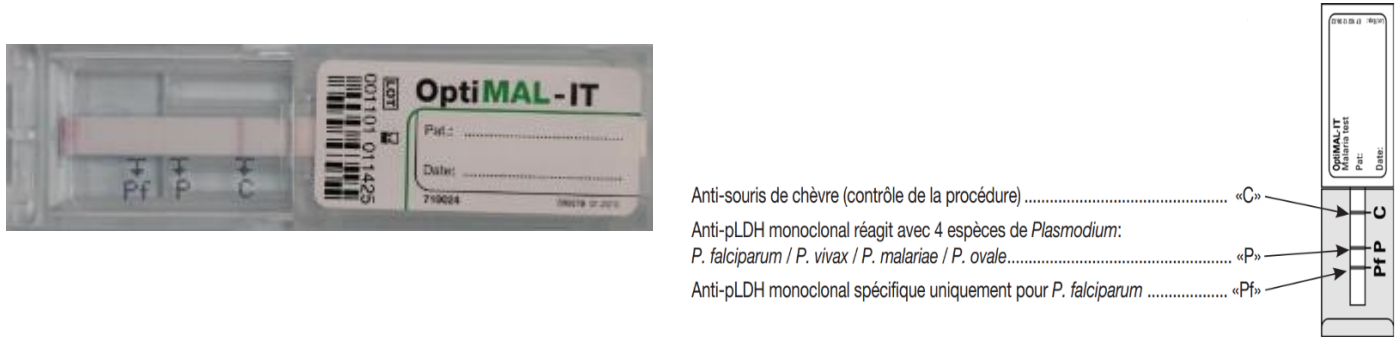


Figure n° 6 : Les différentes situations de non validité des réactions du TDR Optimal-IT®

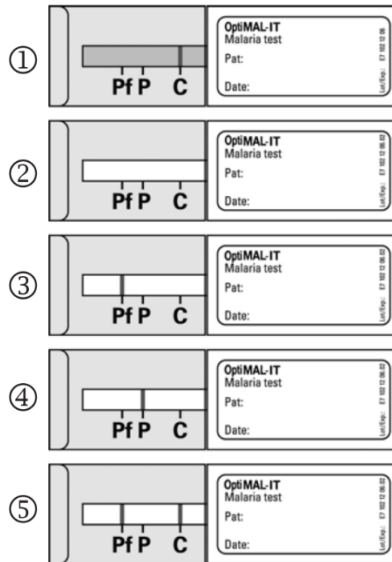
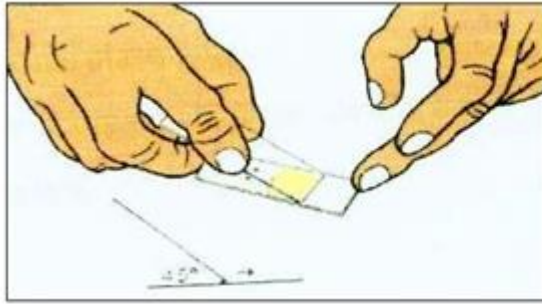
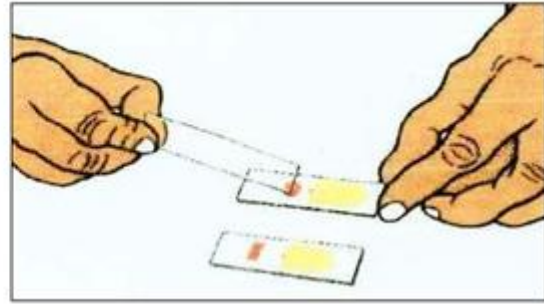


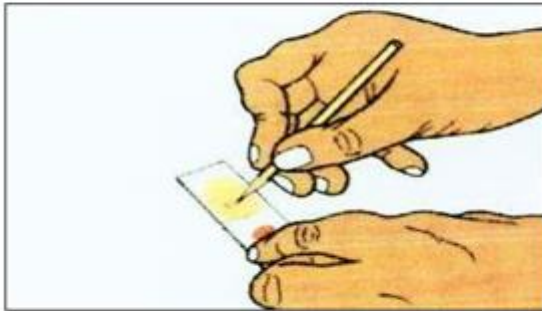
Figure n° 7 : Réalisation de la GE et du FS⁽⁵⁾



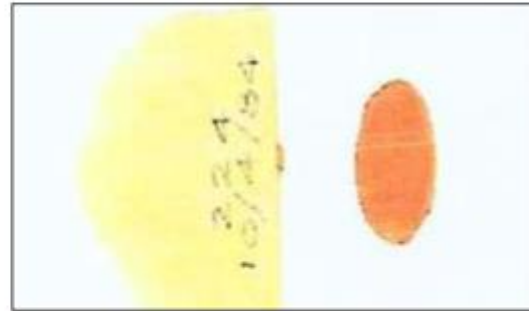
a) Etalement de la goutte de sang pour le FS



b) Etalement de la goutte de sang pour la GE

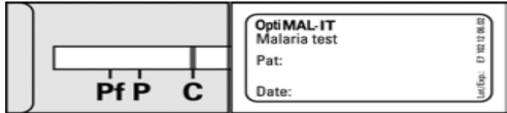
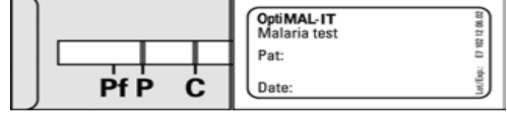
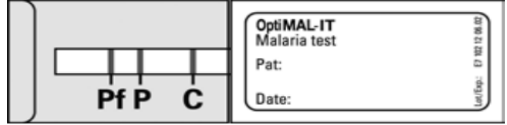


c) Identification de la lame



d) Aspect de la lame après les deux étalements

Tableau n°2 : Interprétation du TDR (OptiMal-IT®)

<p>Réaction négative : Pas de pLDH détectable dans l'échantillon.</p>	
<p>Positif pour <i>P. vivax</i>, <i>P. malariae</i> ou <i>P. ovale</i>. Cet échantillon est négatif pour <i>P. falciparum</i>.</p>	
<p>Positif pour <i>P. falciparum</i> <i>N.B. : En cas de réaction positive pour Plasmodium falciparum, la possibilité d'une infection mixte par P. vivax, P. ovale ou P. malariae ne peut pas être exclue.</i></p>	

✓ **Indicateurs de sensibilité et de spécificité**

Pour apprécier l'efficacité des tests effectués, il est nécessaire de calculer les indicateurs de sensibilité, de spécificité ainsi que les valeurs prédictives positives (VPP) et négatives (VPN) :

Tableau n° 3 : Calcul des indicateurs d'efficacité des tests de diagnostic

	Malades	Sains	Total
Test positif	VP	FP	VP+FP
Test négatif	FN	VN	VN+FN
Total	VP+FN	VN+FP	VP+FP+VN+FN

VP = Vrais positifs, VN = Vrais négatifs, FP = Faux positifs, FN = Faux négatifs

- **Sensibilité (SE)** = $VP / (VP + FN)$
C'est la capacité du test de détecter comme malades les personnes qui le sont vraiment.
- **Spécificité (SP)** = $VN / (VN + FP)$
C'est la capacité du test de détecter comme sains les personnes qui le sont vraiment.
- **Valeur prédictive positive (VPP)** = $VP / (VP + FP)$
C'est la probabilité pour une personnes classifiée comme malade, de l'être vraiment. Elle représente le niveau de confiance que l'on peut attribuer à un résultat positif.
- **Valeur prédictive négative (VPN)** = $VN / (VN + FN)$
C'est la probabilité pour une personnes classifiée comme saine, de l'être vraiment. Elle représente le niveau de confiance que l'on peut attribuer à un résultat négatif.

Les tableaux ci-dessous présente les critères d'efficacité d'un TDR du paludisme selon l'OMS :

Tableaux n° 4 et n° 5 : Critères d'efficacité d'un TDR selon l'OMS

Critères de performance		Point obtenu	
		Oui	Non
Sensibilité	>95%	1	0
Spécificité	>90%	1	0

Critères de praticabilité	
Simplicité d'emploi	Nombre d'étapes <4 Pas de reconstitution
Présentation	<26/boîte
Stockage	>6° C (Hors réfrigérateur)
Rapidité d'exécution	<16mn
Facilité de lecture	Agglutination ou colorimétrie

Le test est considéré fiable pour un score de 2/2 pour les critères de performance et supérieur à 4/6 pour les critères de praticabilité.

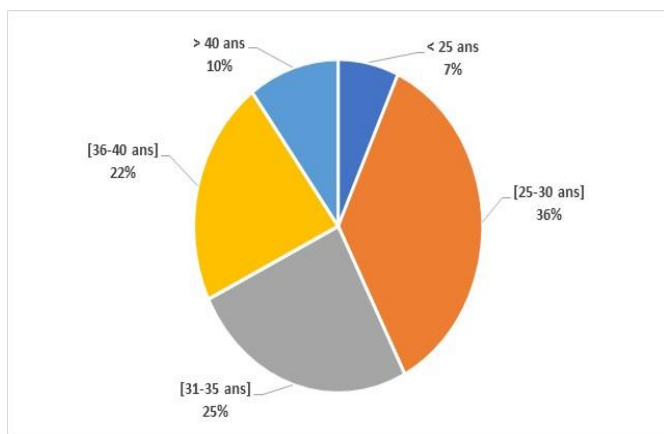
Les données collectées ont fait l'objet d'une codification et d'une saisie grâce aux logiciels informatiques SPSS 16.0, Excel 2007 et Word 2007. L'analyse a consisté à présenter les données sous forme de pourcentage, effectif et moyenne à l'aide de tableaux et des graphiques (histogramme, diagramme circulaire). Les indicateurs de performance du TDR par rapport à la GE/FS (sensibilité, spécificité, valeurs prédictives positive et négative) ont été calculés en excluant les cas douteux des GE/FS et des TDR.

II. Résultats

- **Répartition de la population étudiée selon l'âge, le sexe et le pays d'origine**

Les 165 personnes qui constituent l'échantillon de cette étude sont réparties en 79% (130) de sujets hommes, contre 21% (35) de sujets femmes. La répartition par nationalité montre que 85% des cas (140 personnes) sont des marocains ayant séjournés dans des zones endémiques, contre 15% (25 personnes) d'étrangers vivant ou de passage au Maroc. Les données selon l'âge indiquent que notre échantillon est constitué majoritairement de jeunes, la proportion des sujets âgés de moins de 35 ans avoisinant les 70%, tandis que ceux âgés de plus de 40 ans ne représentent que 10% de l'échantillon. L'âge moyen et le sex-ratio H/F étaient respectivement de 33 ans [22 – 60 ans] et 3,7. Le graphique n°6 montre que 3 pays (la République du Congo (50%), la République centrafricaine (21%) et le Gabon (14%)) sont eux seuls, responsables de 85% des cas de paludisme d'importation au Maroc. Les autres cas proviennent de la Côte d'Ivoire (7%), du Sénégal (4%) et du Nigéria (4%).

Graphique n° 5 : Répartition de l'échantillon selon l'âge



Graphique n° 6 : Répartition de l'échantillon selon le pays de séjour

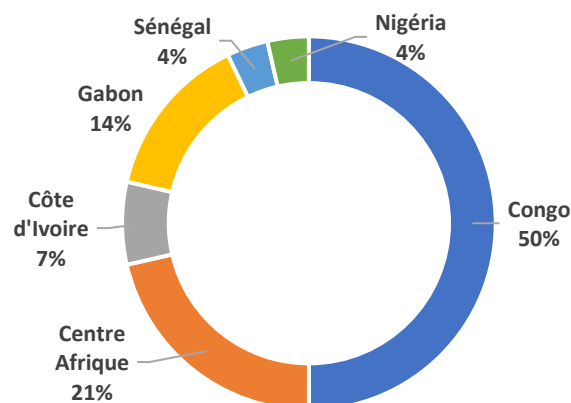


Tableau n° 6 : Répartition de l'échantillon selon le sexe et la nationalité

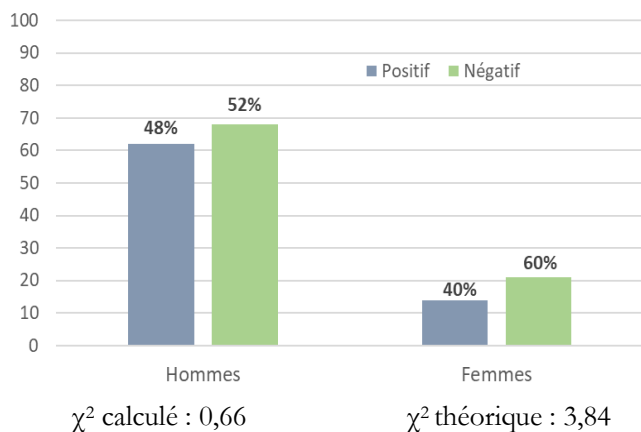
	Genre		Nationalité	
	Hommes	Femmes	Marocains	Etrangers
Nombre	130	35	140	25
%	79%	21%	85%	15%

- **Répartition en fonction des résultats de la GE/FS et du TDR**

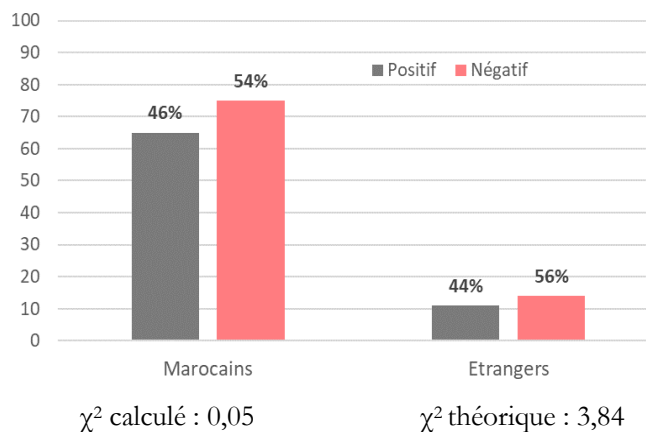
Au total, 165 patients suspectés de paludisme ont été inclus dans l'étude, leurs lames ont été correctement confectionnées et lues et leurs TDR étaient valides. On observe que la positivité de la GE/FS ressort relativement plus élevée chez les hommes et aussi chez les marocains en comparaison avec les étrangers. En effet, la répartition des cas positifs (GE/FS) selon le genre montre que 62 sujets de sexe masculin sont positifs (48%) contre 14 sujets de sexe féminin testés positifs (40%). Selon l'origine des patients, les résultats indiquent que 46% des marocains sont positifs contre 54% des cas négatifs, alors que 44% des étrangers ont été testés positifs contre 56% qui ont révélés négatifs.

Pour analyser la dépendance entre d'une part la positivité de la GE/FS et d'autre part le sexe et l'origine des patients, nous avons procédé au calcul du test de χ^2 . Pour ce qui est du sexe, les résultats montrent que le χ^2 calculé (0,66) reste inférieur au χ^2 théorique (3,84), ce qui nous incite à accepter l'hypothèse 0 (avec un seuil de significativité de 5%) et donc d'admettre que le taux de positivité de la GE/FS n'est pas significativement dépendant du sexe des patients. De même, le test de χ^2 (χ^2 calculé 0,05 inférieur au χ^2 théorique 3,84) a confirmé l'absence de dépendance significative entre la positivité de la GE/FS et l'origine des patients (marocains versus étrangers).

Graphique n° 7 : Résultats de la GE/FS selon le sexe



Graphique n° 8 : Résultats de la GE/FS selon la nationalité



Sur un total de 165 patients inclus ayant bénéficié des GE/FS et du TDR, l'infection plasmodiale a été détectée via la GE/FS chez 76 patients, contre 35 cas positifs via le TDR Optimal-IT®, ce qui donne lieu à des taux de prévalence de 46% et 21% respectivement. Il est à noter que seulement 33 patients étaient à la fois positifs au TDR et à la GE/FS, tandis que 87 cas étaient négatifs aux deux tests (Tableau n°7).

Les résultats des 165 lames lues par la GE/FS montrent que presque la majorité des cas de paludisme (84%) était due à *P. falciparum* et à *P. ovale* avec des proportions de 42% chacun (32 cas chacun). Celle à *P. malariae* a été présente chez un seul cas (1%). La co-infection *falciparum-ovale* était de 5% (4 cas) et celle de *falciparum-malariae* était de 1% (1 cas). L'espèce n'a pas été identifiée chez 8% en raison d'une faible parasitémie. Par contre, aucune infection à *P. Vivax* n'a été retrouvée dans notre échantillon (Tableau n°8).

Tableaux n° 7 : Prévalence de l'infection plasmodiale selon la GE/FS et le TDR

	Effectif	Nombre de cas positifs	Prévalence
Goutte épaisse	165	76	46%
TDR (Optimal-IT)	165	35	21%

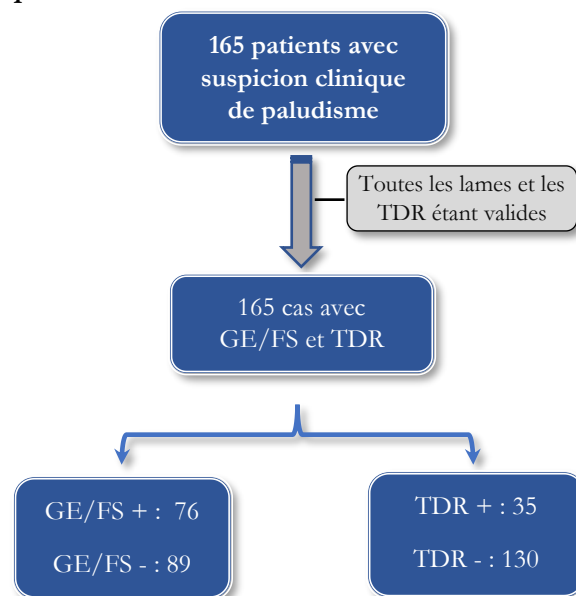
Tableaux n° 8 : Répartition des espèces plasmodiales selon les résultats de la GE/FS

	Effectif	%
% <i>Plasmodium falciparum</i>	32	42%

% <i>Plasmodium ovale</i>	32	42%	
% <i>Plasmodium vivax</i>	0	0%	
% <i>Plasmodium malariae</i>	1	1%	
% <i>Plasmodium sp</i>	6	8%	
% Co-infection	Pf/Po	4	5%
	Pf/Pm	1	1%

Les lames des 165 patients ont toutes été exploitées dans notre étude puisqu'elles ont été correctement préparées et lues et leurs TDR étant valides. Les chiffres révèlent 76 cas positifs et 89 cas négatifs selon la GE/FS, tandis que le TDR fait ressortir seulement 35 tests positifs contre 130 négatifs (figure n°8). Les résultats et les performances du TDR Optimal-IT® en comparaison avec la GE/FS sont résumés dans les tableaux n°9 et n°10.

Figure n° 8 : Répartition des cas inclus et des résultats de la GE/FS et du TDR



Parmi les 165 tests Optimal-IT® effectués, l'infection plasmodiale a été détectée chez 35 patients, ce qui donne lieu à une prévalence de seulement 21%. Au total 45 résultats discordants répartis en 43 tests faux négatifs et 2 tests faux positifs ont été observés sur les 165 tests valides. Il ressort ainsi un faible taux de faux positif de 5,7% (2/35). Les 43 tests faux négatifs correspondaient à 24 infections à *P. ovale*, 12 à *P. falciparum*, une infection à *P. malariae*, une co-infection *P. falciparum* / *P. ovale* et 5 à *Plasmodium sp*.

Par rapport à la méthode de référence, à savoir la GE/FS, partant des 165 tests valides, la sensibilité du TDR Optimal-IT® dans la détection de l'infection plasmodiale a été de 43% et sa spécificité de 98%. Pour leur part, les valeurs prédictives positives et négatives ont été respectivement de 94% et de 67%.

Quant à la détection de l'infection à *P. falciparum* par le TDR Optimal-IT®, en comparaison avec la microscopie, les résultats montrent une moindre performance. Elles se sont établies à 28% et 49% pour respectivement la sensibilité et la spécificité. Les valeurs prédictives positives et négatives étaient de 66% et 30% respectivement. Il est à noter que plusieurs infections à *P. ovale* (GE/FS) ont été considérées par le TDR Optimal-IT® comme des infections à *P. falciparum*.

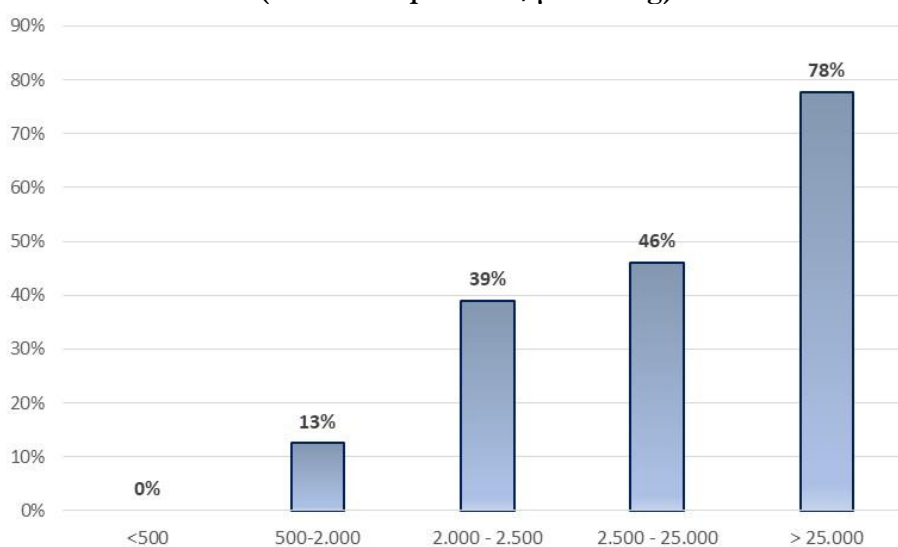
Tableau n° 9 : Croisement des résultats de la GE/FS et du TDR

		Goutte épaisse		Total
		Positif	Négatif	
TDR (Optimal-IT)	Positif	33	2	35
	Négatif	43	87	130
Total		76	89	165

Tableau n° 10 : Critères de performance du TDR Optimal-IT

	TDR	TDR- <i>P. falciparum</i>
Sensibilité	43%	28%
Spécificité	98%	49%
Valeur Prédictive Positive (VPP)	94%	66%
Valeur Prédictive Négative (VPN)	67%	30%

Parmi les lames positives, les parasitémies variaient considérablement entre les patients, les valeurs extrêmes étant de 22 à 492.000 parasites/ μ l de sang. Cependant, la performance du TDR Optimal-IT® paraît moyenne quand il s'agit de faibles parasitémies. En effet, le TDR ne permet de détecter significativement l'infection paludique qu'à partir de 25.000 parasites/ μ l de sang. La sensibilité aux faibles parasitémies (inférieures à 500 parasites/ μ l de sang) est de 0%. Elle passe à 13% pour une parasitémie entre 500-2000 parasites/ μ l, puis à environ 40% pour 2.000-2.500 parasites/ μ l, et à 46% pour 2.500-25.000 parasites/ μ l. La sensibilité du test aux parasitémie supérieures à 25.000/ μ l de sang est de 78%. Il ressort des résultats que le seuil de détection de l'infection paludique à travers le TDR Optimal-IT® est de 500 parasites/ μ l (Graphique n°9).

Graphique n° 9 : La sensibilité (en %) du TDR Optimal-IT aux parasitémies (nombre de parasites/ μ l de sang)

Afin d'analyser la performance du TDR Optimal-IT®, nous appliquons les critères de l'OMS. Le TDR est dit efficace lorsqu'il obtient un score de 2/2 pour les performances diagnostiques et supérieur à 4/6 pour les critères de praticabilité (tableaux n°11 et n°12).

Ainsi, le test Optimal-IT® n'est pas efficace selon l'approche de l'OMS, puisqu'il a obtenu un score de 1/2 pour les critères de performance. Concernant sa praticabilité, le nombre de test par boîte est de 24, la réalisation du test est faite en plus de 4 étapes et présente un délai d'attente un peu long (20 minutes) selon les instructions du fabricant, ce qui ne respecte pas les normes de l'OMS. Avec un score de 3/6 pour les critères de praticabilité, le test Optimal-IT® satisfait moyennement les recommandations de l'OMS.

Tableaux n° 11 et n° 12 : Critères d'efficacité du TDR Optimal-IT selon l'OMS

		Point obtenu
Critères de performance		
Sensibilité	>95%	0
Spécificité	>90%	1
Score		1

		Point obtenu
Critères de praticabilité		
Simplicité d'emploi	Nombre d'étapes <4	0
	Pas de reconstitution	1
Présentation	<26/boîte	1
Stockage	>6° C (Hors réfrigérateur)	1
Rapidité d'exécution	<16mn	0
Facilité de lecture	Agglutination ou colorimétrie	0

III. Discussion

Les résultats de cette étude ont révélé 76 patients infectés par *Plasmodium* à la goutte épaisse sur les 165 personnes constituant notre échantillon, contre 89 sujets négatifs, soit une prévalence de 46%. Avec le recours au TDR Optimal-IT®, les cas positifs détectés passent à 35 cas, contre 130 sujets négatifs, ce qui donne lieu à une prévalence de seulement 21%. L'écart entre les résultats de prévalence, montre l'intérêt de procéder régulièrement à une évaluation des TDR du paludisme.

La répartition des cas positifs à la GE/FS montre que 40% des personnes de sexe masculin sont positives contre 40% pour le sexe féminin. Selon l'origine, les données font ressortir que 46% des marocains sont positifs, au lieu de 44% pour les étrangers.

L'identification de l'espèce infectante est le point de départ d'une prise en charge adéquate, du fait que le traitement de l'accès à *P. falciparum*, qui est responsable de la forme mortelle du paludisme, est différent de celui des autres espèces. Notre étude fait ressortir une prédominance de *P. falciparum* (42%) et *P. ovale* (42%). Les autres espèces retrouvées étaient le *P. malariae* (1%), avec une coïnfection *falciparum-ovale* (5%) et *falciparum-malariae* (1%), et pas d'identification d'espèce dans 8% des cas.

Dans cette étude, la GE a été choisie comme méthode de référence pour apprécier la performance du TDR Optimal-IT®. La comparaison reste valide si on considère la spécificité de la GE comme absolue par définition. Ceci dit, il est admis que les résultats de la GE dans le diagnostic du paludisme dépendent du lecteur et de la parasitémie. Toutefois, nous avons émis l'hypothèse que ce biais reste relativement faible et ne peut changer significativement les résultats des tests.

L'analyse de la performance du TDR Optimal-IT® par rapport à la GE/FS fait ressortir, d'une part, une sensibilité de seulement 43%, contre une meilleure spécificité de 98%. D'autre part, la valeur prédictive négative du TDR par rapport à la GE/FS paraît relativement faible (67%), avec 43 cas de faux négatifs. De ce fait, il est important d'examiner les raisons d'apparition de plusieurs cas de faux négatifs et ce, afin de les limiter pour garantir à ce TDR d'être un outil performant.

Cependant, seulement 2 faux positifs ont été enregistrés dans notre étude, ce qui correspond à une valeur prédictive positive de 94%. Le taux de faux positif se situe ainsi dans les normes fixées par l'OMS qui préconise dans le cas des TDR du paludisme d'avoir un taux de faux positif inférieure à 10% (5,7% dans notre cas) ⁽⁴⁾. De ce fait, le TDR Optimal-IT® permet de limiter au maximum les faux positifs, qui peuvent avoir à long terme des conséquences négatifs sur l'avenir des ACT (Artemisinin-based combination therapy). Comme ce fut le cas avec la pression médicamenteuse à l'origine de la résistance à la chloroquine durant les années 80.

Le problème des faux positifs observé avec certains TDR pourrait être dû dans certaines situations à la persistance d'HRP2 dans le sang après la disparition des parasites, jusqu'à plusieurs semaines après la fin du traitement. Ceci montre l'inconvénient pour le TDR, de ne pas pouvoir distinguer entre les personnes ayant été traitées - et guéries - de ceux encore malades. Quant aux résultats négatifs avec le TDR Optimal-IT® par rapport à la goutte épaisse, ils peuvent être en rapport avec l'instauration du traitement puisque ce TDR ne détecte que les parasites vivants.

Les résultats de notre évaluation de la performance du TDR Optimal-IT® font apparaître d'un côté, une probabilité assez importante pour un test positif de conclure en l'existence du paludisme et, de l'autre, une probabilité relativement faible pour qu'un test négatif de conclure en l'absence du paludisme. Ces résultats sont comparables à celles rapportées par Biallaten A. ⁽⁵⁾ qui a obtenu pour le test Optimal-IT® une sensibilité de seulement 42%, une spécificité de 100%, une valeur prédictive positive de 100% et une valeur prédictive négative de 64,2%. Les valeurs diagnostic du TDR trouvées dans notre étude sont relativement conformes à celle rapportés dans la littérature ⁽⁶⁾⁽⁷⁾⁽⁸⁾⁽⁹⁾.

Une étude rétrospective ⁽¹⁰⁾ regroupant 17 évaluations du test Optimal-IT® (dont 8 réalisées en Afrique, 8 en Asie et 1 en Amérique du Sud), montre que la sensibilité et la spécificité de ce TDR est respectivement de [84,7% - 95,3%] et [96,9% - 99,5%]. La spécificité de 98% trouvée dans notre étude est incluse dans cet intervalle, mais la sensibilité de 43% de notre TDR semble très faible. De plus, les résultats corroborent plus ou moins avec celles retrouvées dans la littérature relative à d'autres TDR de détection des infections paludiques, bien que la sensibilité (43%) et la valeur prédictive négative (67%) semblent

plus faibles, reflétant un nombre élevé de faux négatifs dans notre étude. Dans le même sens, Grobusch *et al.* ⁽¹¹⁾ ont trouvé une sensibilité du TDR Optimal-IT® (76,2%) largement inférieure à la spécificité (99,7%). Toutefois, leurs résultats montrent que la sensibilité et la spécificité de deux tests ParaSight-F® et ICT Malaria® demeurent élevées, à savoir respectivement 95,1% et 97,1% pour le premier, et à 95,7% et 99,2% pour le deuxième. Ceci confirme la moindre performance du TDR Optimal IT® en comparaison avec plusieurs autres TDR de détection du paludisme.

Pour *P. falciparum*, nos résultats démontrent largement une moindre performance du TDR Optimal-IT® dans la détection des infections chez les patients symptomatiques par rapport à la microscopie. Sa sensibilité pour les infections à *P. falciparum* revient à 28% (contre 43% pour l'ensemble des espèces), sa spécificité est à 49% (contre 98%), la valeur prédictive positive est à 66% (contre 94%) et celle négative est à seulement 30% (contre 67%).

Par ailleurs, la performance d'un TDR est fonction de la densité parasitaire dans la population ciblée. Plusieurs études ont démontré que les densités faibles ou fortes peuvent être responsables de l'apparition des faux positifs ou faux négatifs du TDR ⁽¹²⁾⁽¹³⁾⁽¹⁴⁾⁽¹⁵⁾ et aussi la persistance de la pLDH dans le sang même après un traitement anti-paludisme réussi peut donner lieu à de faux positifs⁽¹⁶⁾. Dans notre échantillon, les parasitémies variaient considérablement entre les patients, allant de 22 à 492.000 parasites/ μ l de sang. Les résultats montrent que la performance du TDR Optimal-IT® demeure moyenne dans le cas de faibles parasitémies. Le seuil de détection de l'infection paludique via le TDR Optimal-IT® est de 500 parasites/ μ l. D'après de nombreuses études, le seuil de détection de la goutte épaisse est largement supérieur à celui des TDR (10-50/ μ l, contre 100-300/ μ l respectivement) ⁽¹⁷⁾⁽¹⁸⁾.

En outre, la faiblesse de la valeur prédictive négative (les faux négatifs) du TDR retrouvée dans notre étude pourrait être expliquée également par les faibles parasitémies relevées détectées par la goutte épaisse. La capacité de détection du TDR peut vraisemblablement être meilleure quand la parasitémie est plus élevée, et diminuer avec des parasitémies faibles, plus proches du seuil de détection.

De nombreuses études ont évoqué l'existence d'un seuil pathogène de parasitémie, en dessous duquel les patients ne souffriraient pas de paludisme « maladie » ⁽¹⁹⁾⁽²⁰⁾⁽²¹⁾⁽²²⁾. Ce seuil n'est pas déterminé de façon universelle et varie selon plusieurs paramètres, à savoir les sites, l'âge des patients, les saisons et les niveaux de transmission palustre. Il peut ainsi aller de 100 à 20.000 parasites par microlitre. Si l'on considère la présence de ce seuil, le recul de la sensibilité du TDR face aux faibles parasitémies n'a qu'une importance relative étant donné que la parasitémie se placera fréquemment sous le seuil pathogène. Par conséquent, ceci devrait avoir peu d'impact sur le diagnostic et le traitement.

Toutefois, à mesure que les autorités sanitaires des pays font reculer la prévalence du paludisme, et tendent vers son élimination, la détection des faibles densités prend de plus en plus d'importance dans la prise en charge. Il est à noter que dans toute population, il est possible d'avoir un groupe constitué de personnes vulnérables susceptibles de développer la maladie avec de faibles densités parasitaires (enfants, femmes enceintes, personnes bien

protégées par des moustiquaires par exemple), qu'il faut toujours prendre en considération lors de l'interprétation des résultats des TDR.

Notre étude a montré également que le TDR Optimal-IT® est de qualité moyenne, tenant compte des critères définis par l'OMS (tableaux n°11 et n°12). Il a obtenu un score de 1/2 pour les critères de performance et de 3/6 pour les critères de praticabilité. Le test est relativement facile à manipuler et peu d'erreurs ont été commises lors de son utilisation.

Aussi, ce test demeure stable jusqu'à des températures assez élevées (environ 40°C), et le mode de conservation, vérifié sur le terrain, reste peu susceptible d'avoir altéré sa qualité. Toutefois, la dégradation de la qualité intrinsèque du TDR consécutivement à une mauvaise conservation n'est pas à exclure. Elle pourrait vraisemblablement expliquer certains faux négatifs ⁽²³⁾⁽²⁴⁾⁽²⁵⁾. En effet, la chaleur peut détériorer la stabilité du TDR et rendre son résultat inacceptable. Certains auteurs ont démontré la fluctuation des performances des TDR en fonction des saisons ⁽²⁶⁾ et selon aussi les différents lots d'une même zone ⁽²⁷⁾.

Ainsi, avec une valeur de sensibilité de 43% et de spécificité de 98% par rapport à la GE/FS, le TDR Optimal-IT® a une performance moyenne selon le guide de l'OMS pour diagnostiquer le paludisme au quotidien dans les centres de santé.

CONCLUSION

CONCLUSION

En dépit des progrès accomplis ces dernières années, le paludisme demeure un problème majeur de santé publique et une maladie potentiellement mortelle à la fois pour les personnes vivant en zone d'endémie et pour les voyageurs. Les efforts déployés face à cette maladie ont été ralentis depuis le déclenchement de la pandémie du Covid-19 et ce, en lien avec les restrictions imposées qui ont provoqué des dysfonctionnements des services de santé de base. Pour le cas du Maroc, les différents programmes antipaludiques mis en place ces dernières années ont contribué considérablement à l'éradication du paludisme. Depuis 2005, les cas enregistrés au Maroc sont tous importés de l'étranger, essentiellement de pays d'Afrique subsaharienne.

La difficulté de la détection du paludisme réside dans la différenciation entre les cas positifs des autres causes de fièvre en se basant uniquement sur les arguments cliniques. L'OMS préconise de fonder la prise en charge des patients seulement sur le diagnostic parasitologique. Le recours aux TDR est de plus en plus un point essentiel de cette stratégie et le pilier de l'extension de l'accès au diagnostic du paludisme, en raison de la rapidité du diagnostic. Le nombre des tests rapides disponibles et l'ampleur de leur utilisation ont rapidement augmenté ces dernières années, y compris au Maroc. Leur simple utilisation et interprétation leur permet, non pas de remplacer le diagnostic clinique, mais de représenter une aide substantielle pour la prise en charge rapide des malades.

En revanche, l'exactitude des résultats du TDR est décisive pour une bonne prise en charge du paludisme. C'est pourquoi le contrôle de la qualité et l'évaluation de la performance de ces TDR s'avèrent d'une importance cruciale dans le cadre des programmes nationaux de lutte antipaludique, notamment pour prendre des décisions en toute connaissance de cause en matière d'achat et d'utilisation.

C'est dans ce cadre qu'il a été entrepris d'évaluer la performance du TDR Optimal-IT® et ce, par rapport aux techniques de référence (GE/FS). Les résultats ont montré que la sensibilité du TDR Optimal-IT® dans la détection de l'infection plasmodiale reste faible, contre un bon niveau de spécificité. D'autre part, le taux de faux positif de notre étude est dans les normes fixées par les lignes directrices de l'OMS.

Toutefois, la valeur prédictive négative du TDR par rapport à la GE/FS ressort relativement faible, avec plusieurs cas de faux négatifs. Les résultats de notre évaluation de la performance du TDR Optimal-IT® font apparaître d'une part, une probabilité assez importante pour un test positif de conclure en la présence du paludisme et, d'autre part, une probabilité relativement faible pour qu'un test négatif de ce même test de conclure en l'absence de la maladie. Ces résultats corroborent plus ou moins avec celles retrouvées dans la littérature relative au TDR Optimal-IT®, alors que plusieurs autres TDR montrent des indicateurs plus performants. Ceci confirme la moindre performance du TDR Optimal-IT® en comparaison avec plusieurs autres TDR de détection du paludisme.

Par ailleurs, le degré de détection du TDR peut vraisemblablement être meilleure quand la parasitémie est élevée, et reculer avec des parasitémies faibles.

Le contrôle de qualité du test Optimal-IT® effectué dans cette étude montre que ce TDR est de qualité moyenne, tenant compte des critères définis par l’OMS. Concernant sa praticabilité, il est stable jusqu’à des températures assez élevées, avec un nombre de tests par boîte conforme, et le mode de conservation est peu susceptible de dégrader sa qualité. Cependant, le nombre d’étapes de réalisation du test et le délai d’attente ne respectent pas les normes prescrites par l’OMS.

Globalement, notre étude montre bien que la performance et la praticabilité du test Optimal-IT® pour la détection de l’infection plasmodiale restent insatisfaisantes. Nos résultats indiquent l’importance et la nécessité de faire régulièrement et systématiquement le contrôle de qualité des TDR et l’appréciation de leur performance. La concordance entre nos résultats et ceux d’autres études sur le même TDR, laisse présager que la faible performance s’expliquerait par des raisons intrinsèques. Elle peut également être en lien avec d’autres facteurs exogènes, notamment les conditions de conservation et la manipulation par les opérateurs.

De ce fait, des recherches plus poussées sur ce TDR demeurent indispensables afin d’identifier ces raisons. Pour le producteur, il est important de rechercher les raisons d’apparition de plusieurs faux négatifs et ce, afin de les limiter pour garantir à ce TDR d’être un outil performant. Aussi, les conditions de praticabilité devraient être revues pour respecter les normes de l’OMS. Au final, nous ne recommandons pas l’utilisation du TDR Optimal-IT® à l’hôpital en pratique quotidienne. La GE associée au FS mince reste la méthode de choix pour diagnostiquer un accès palustre.

**REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES**

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- (1) Svenson JE, MacLean JD, Gyorkos TW, Keystone J. Imported malaria: Clinical presentation and examination of symptomatic travelers. *Arch Intern Med* 1995;155(8):861-868.
- (2) Svenson JE, Gyorkos TW, MacLean JD. Diagnosis of malaria in the febrile traveler. *Am J Trop Med Hyg* 1995;53(5):518-521.
- (3) Murray CK, Gasser RA Jr, Magill AJ, Miller RS (2008) Update on rapid diagnostic testing for malaria. *Clin Microbiol Rev* 21:97–110. doi: 10.1128/CMR.00035-07
- (4) Mappin B, Cameron E, Dalrymple U et al (2015) Standardizing *Plasmodium falciparum* infection prevalence measured via microscopy versus rapid diagnostic test. *Malaria Journal* 14:460.
- (5) Biallaten B. Evaluation d'un test de diagnostic rapide (TDR) dans le diagnostic des accès palustres d'importation au sein de l'HMIMV. Thèse de Doctorat à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat, 2020
- (6) Diarra A, Nébié I, Tiono A et al (2012) Seasonal performance of a malaria rapid diagnosis test at community health clinics in a malaria-hyperendemic region of Burkina Faso. *Parasites & Vectors* 5:103
- (7) Hernandez E, De Pina JJ, Fabre R et al (2001) Evaluation du test optimal® dans le diagnostic des accès palustres d'importation. *Med. Trop* 61: 153-157.
- (8) Kahama-Maró J, D'Acromont V, Mtasiwa D et al (2011) Low quality of routine microscopy for malaria at different levels of the health system in Dar es Salaam. *Malaria Journal* 10:332.
- (9) Ashley AE, Touabi M, Ahrer M et al (2009) Evaluation of three parasite lactate dehydrogenase-based rapid diagnostic tests for the diagnosis of *falciparum* and *vivax* malaria. *Malaria Journal* 8:241.
- (10) Abba K, Deeks J, Olliaro P et al (2012) Rapid diagnostic tests for diagnosing uncomplicated *P. falciparum* malaria in endemic countries (review). The Cochrane Library, Issue 1. <http://www.thecochranelibrary.com>.
- (11) Grobusch MP, Hänscheid T, Göbels K, Slevogt H, Zoller T, Rögler G et al. Comparison of three antigen detection tests for diagnosis and follow-up of *falciparum* malaria in travellers returning to Berlin, Germany. *Parasitol Res* 2003 ; 89 : 354-7.
- (12) Munier A, Diallo A, Sokhna C et Chippaux Jp (2009) Evaluation d'un test de diagnostic rapide du paludisme dans les postes de santé ruraux au Sénégal. *Med Trop* 69 : 496-500.

- (13) Heutmekers M, Gillet P, Maltha J et al (2012) Evaluation of the rapid diagnostic test Care Start pLDH malaria (pf-pldh/pan-pldh) for the diagnosis of malaria in a reference setting. *Malaria Journal* 11:204.
- (14) Kakkilaya BS (2003) Rapid diagnosis of malaria. *Laboratory Medicine* Aug;34(8):602–608. <http://www.malariasite.com/rdt/>
- (15) Maltha J, Gillet P, Cnops L et al (2010) Malaria rapid diagnostic tests: *plasmodium falciparum* infections with high parasite densities may generate false positive *plasmodium vivax* pLDH lines. *Malaria Journal* 9:198.
- (16) Swarthout TD, Counihan H, Senga RKK and Van den Broek I (2007) Paracheck-Pf accuracy and recently treated *Plasmodium falciparum* infections: is there a risk of over-diagnosis? *Malaria Journal* 6:58.
- (17) De Pina JJ, Garnotel E, Hance P, Vedy S, Rogier C, Morillon M. Diagnostic du paludisme d'importation en France. *Med Mal Infect* 2007; 37: 710-5.
- (18) Moody A. Rapid diagnostic tests for malaria parasites. *Clin Microbiol Rev* 2002; 15: 66-78.
- (19) Velema JP, Alihonou EM, Chippaux JP, van Boxel Y, Gbedji E, Adegbin R. Malaria morbidity and mortality in children under three years of age on the coast of Benin, West Africa. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1991 ; 85 : 430-5.
- (20) Rogier C, Commenges D, Trape JF. Evidence for an age-dependent pyrogenic threshold of *Plasmodium falciparum* parasitemia in highly endemic populations. *Am J Trop Med Hyg* 1996 ; 54 : 613-9.
- (21) McGuinness D, Koram K, Bennett S, Wagner G, Nkrumah F, Riley E. Clinical case definitions for malaria: clinical malaria associated with very low parasite densities in African infants. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1998 ; 92 : 527-31.
- (22) Dicko A, Mantel C, Kouriba B, Sagara I, Thera MA, Doumbia S *et al.* Season, fever prevalence and pyrogenic threshold for malaria disease definition in an endemic area of Mali. *Trop Med Int Health* 2005 ; 10 : 550-6.
- (23) Pieroni P, Mills CD, Ohrt C, Harrington MA, Kain KC. Comparison of the ParaSight-F test and the ICT Malaria Pf test with the polymerase chain reaction for the diagnosis of *Plasmodium falciparum* malaria in travellers. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1998 ; 92 :166-9.
- (24) Wongsrichanalai C, Chuanak N, Tulyayon S, Thanosingha N, Laoboonchai A, Thimasarn K *et al.* Comparison of a rapid field immunochromatographic test to expert microscopy for the detection of *Plasmodium falciparum* asexual parasitemia in Thailand. *Acta Trop* 1999 ; 73 : 263-73.

(25) Singh N, Mishra AK, Shukla MM, Chand SK, Bharti PK. Diagnostic and prognostic utility of an inexpensive rapid on site malaria diagnostic test (ParaHIT f) among ethnic tribal population in areas of high, low and no transmission in central India. *BMC Infect Dis* 2005 ; 5 : 50.

(26) Salem MSA, Mohamed Lemine Y, Deida J et al (2015). Efficacy of chloroquine for the treatment of *Plasmodium vivax* in the Saharan zone in Mauritania. *Malaria Journal* 14:39.

(27) Organisation Mondiale de la Santé (2012) Performance des tests de diagnostic rapide du paludisme. Bilan des résultats d'évaluation des produits par l'OMS : séries 1-4 (2008-2012). http://www.wpro.who.int/sites/rdt/who_rdt_evaluation/lot_testing.htm.