

UNIVERSITE MOHAMMED V DE RABAT
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE – RABAT

ANNEE : 2015

THESE N°:70

***PLASMODIUM KNOWLESI : LA CINQUIEME
FACETTE DU PALUDISME CHEZ L'HOMME***

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement le.....

PAR

Mme latifa TALEBI

Née le 06 Octobre 1989 à Kalaa m'gouna

Pour l'Obtention du Doctorat en Pharmacie

MOTS CLES : Paludisme, *P.knowlesi*, *P.falciparum*, diagnostic, Maroc

MEMBRES DE JURY

Mr. A. BELMEKKI

Professeur d'Hématologie

Président

Mr. R. MOUTAJ

Professeur de Parasitologie

Rapporteur

Mme. S. AOUI

Professeur de Parasitologie

Mr. Y. SEKHSOKH

Professeur de Microbiologie

Mr. M. ERRAMI

Professeur de Parasitologie

Juges

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

سبحانك لا علم لنا إلا ما علمتنا

إننا أنت العليم الحكيم

سورة البقرة: الآية: 31

صَلِّ عَلَى اللَّهِ الْعَظِيمِ

Novembre et Décembre 1985

Pr. BENJELLOUN Halima
Pr. BENSALD Younes
Pr. EL ALAOUI Faris Moulay El Mostafa

Cardiologie
Pathologie Chirurgicale
Neurologie

Janvier, Février et Décembre 1987

Pr. AJANA Ali
Pr. CHAHED OUZZANI Houria
Pr. EL YAACOUBI Moradh
Pr. ESSAID EL FEYDI Abdellah
Pr. LACHKAR Hassan
Pr. YAHYAOUI Mohamed

Radiologie
Gastro-Entérologie
Traumatologie Orthopédie
Gastro-Entérologie
Médecine Interne
Neurologie

Décembre 1988

Pr. BENHAMAMOUCHE Mohamed Najib
Pr. DAFIRI Rachida
Pr. HERMAS Mohamed

Chirurgie Pédiatrique
Radiologie
Traumatologie Orthopédie

Décembre 1989

Pr. ADNAOUI Mohamed
Pr. BOUKILI MAKHOUKHI Abdelali*
Pr. CHAD Bouziane
Pr. OUZZANI Taïbi Mohamed Réda

Médecine Interne –*Doyen de la FMPR*
Cardiologie
Pathologie Chirurgicale
Neurologie

Janvier et Novembre 1990

Pr. CHKOFF Rachid
Pr. HACHIM Mohammed*
Pr. KHARBACH Aïcha
Pr. MANSOURI Fatima
Pr. TAZI Saoud Anas

Pathologie Chirurgicale
Médecine-Interne
Gynécologie -Obstétrique
Anatomie-Pathologique
Anesthésie Réanimation

Février Avril Juillet et Décembre 1991

Pr. AL HAMANY Zaïtounia
Pr. AZZOUZI Abderrahim
Pr. BAYAHIA Rabéa
Pr. BELKOUCHI Abdelkader
Pr. BENCHEKROUN Belabbes Abdellatif
Pr. BENSOUDA Yahia
Pr. BERRAHO Amina
Pr. BEZZAD Rachid
Pr. CHABRAOUI Layachi
Pr. CHERRAH Yahia
Pr. CHOKAIRI Omar
Pr. KHATTAB Mohamed
Pr. SOULAYMANI Rachida

Anatomie-Pathologique
Anesthésie Réanimation –*Doyen de la FMPO*
Néphrologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Pharmacie galénique
Ophtalmologie
Gynécologie Obstétrique
Biochimie et Chimie
Pharmacologie
Histologie Embryologie
Pédiatrie
Pharmacologie – *Dir. du Centre National PV*

Pr. TAOUFIK Jamal

Chimie thérapeutique

Décembre 1992

Pr. AHALLAT Mohamed
Pr. BENSOUDA Adil
Pr. BOUJIDA Mohamed Najib
Pr. CHAHED OUZZANI Laaziza
Pr. CHRAIBI Chafiq
Pr. DAOUDI Rajae
Pr. DEHAYNI Mohamed*
Pr. EL OUAHABI Abdessamad
Pr. FELLAT Rokaya
Pr. GHAFIR Driss*
Pr. JIDDANE Mohamed
Pr. TAGHY Ahmed
Pr. ZOUHDI Mimoun

Chirurgie Générale
Anesthésie Réanimation
Radiologie
Gastro-Entérologie
Gynécologie Obstétrique
Ophtalmologie
Gynécologie Obstétrique
Neurochirurgie
Cardiologie
Médecine Interne
Anatomie
Chirurgie Générale
Microbiologie

Mars 1994

Pr. BENJAAFAR Nouredine
Pr. BEN RAIS Nozha
Pr. CAOUI Malika
Pr. CHRAIBI Abdelmjid
Pr. EL AMRANI Sabah
Pr. EL AOUAD Rajae
Pr. EL BARDOUNI Ahmed
Pr. EL HASSANI My Rachid
Pr. ERROUGANI Abdelkader
Pr. ESSAKALI Malika
Pr. ETTAYEBI Fouad
Pr. HADRI Larbi*
Pr. HASSAM Badredine
Pr. IFRINE Lahssan
Pr. JELTHI Ahmed
Pr. MAHFOUD Mustapha
Pr. MOUDENE Ahmed*
Pr. RHRAB Brahim
Pr. SENOUCI Karima

Radiothérapie
Biophysique
Biophysique
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Gynécologie Obstétrique
Immunologie
Traumato-Orthopédie
Radiologie
Chirurgie Générale- *Directeur CHIS*
Immunologie
Chirurgie Pédiatrique
Médecine Interne
Dermatologie
Chirurgie Générale
Anatomie Pathologique
Traumatologie – Orthopédie
Traumatologie- Orthopédie *Inspecteur du SS*
Gynécologie –Obstétrique
Dermatologie

Mars 1994

Pr. ABBAR Mohamed*
Pr. ABDELHAK M'barek
Pr. BELAIDI Halima
Pr. BRAHMI Rida Slimane
Pr. BENTAHILA Abdelali
Pr. BENYAHIA Mohammed Ali

Urologie
Chirurgie Pédiatrique
Neurologie
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie
Gynécologie Obstétrique

Pr. BERRADA Mohamed Saleh
Pr. CHAMI Ilham
Pr. CHERKAOUI Lalla Ouafae
Pr. EL ABBADI Najia
Pr. HANINE Ahmed*
Pr. JALIL Abdelouahed
Pr. LAKHDAR Amina
Pr. MOUANE Nezha

Mars 1995

Pr. ABOUQUAL Redouane
Pr. AMRAOUI Mohamed
Pr. BAIDADA Abdelaziz
Pr. BARGACH Samir
Pr. CHAARI Jilali*
Pr. DIMOU M'barek*
Pr. DRISSI KAMILI Med Nordine*
Pr. EL MESNAOUI Abbes
Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila
Pr. HDA Abdelhamid*
Pr. IBEN ATTYA ANDALOUSSI Ahmed
Pr. OUAZZANI CHAHDI Bahia
Pr. SEFIANI Abdelaziz
Pr. ZEGGWAGH Amine Ali

Décembre 1996

Pr. AMIL Touriya*
Pr. BELKACEM Rachid
Pr. BOULANOUAR Abdelkrim
Pr. EL ALAMI EL FARICHA EL Hassan
Pr. GAOUZI Ahmed
Pr. MAHFOUDI M'barek*
Pr. MOHAMMADI Mohamed
Pr. OUADGHIRI Mohamed
Pr. OUZEDDOUN Naima
Pr. ZBIR EL Mehdi*

Novembre 1997

Pr. ALAMI Mohamed Hassan
Pr. BEN SLIMANE Lounis
Pr. BIROUK Nazha
Pr. CHAOUIR Souad*
Pr. ERREIMI Naima
Pr. FELLAT Nadia
Pr. HAIMEUR Charki*

Traumatologie – Orthopédie
Radiologie
Ophtalmologie
Neurochirurgie
Radiologie
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie

Réanimation Médicale
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Gynécologie Obstétrique
Médecine Interne
Anesthésie Réanimation – *Dir. HMIM*
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale
Oto-Rhino-Laryngologie
Cardiologie - *Directeur ERSM*
Urologie
Ophtalmologie
Génétique
Réanimation Médicale

Radiologie
Chirurgie Pédiatrie
Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Radiologie
Médecine Interne
Traumatologie-Orthopédie
Néphrologie
Cardiologie

Gynécologie-Obstétrique
Urologie
Neurologie
Radiologie
Pédiatrie
Cardiologie
Anesthésie Réanimation

Pr. KADDOURI Nouredine
Pr. KOUTANI Abdellatif
Pr. LAHLOU Mohamed Khalid
Pr. MAHRAOUI CHAFIQ
Pr. OUAHABI Hamid*
Pr. TAOUFIQ Jallal
Pr. YOUSFI MALKI Mounia

Chirurgie Pédiatrique
Urologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Neurologie
Psychiatrie
Gynécologie Obstétrique

Novembre 1998

Pr. AFIFI RAJAA
Pr. BENOMAR ALI
Pr. BOUGTAB Abdesslam
Pr. ER RIHANI Hassan
Pr. EZZAITOUNI Fatima
Pr. LAZRAK Khalid *
Pr. BENKIRANE Majid*
Pr. KHATOURI ALI*
Pr. LABRAIMI Ahmed*

Gastro-Entérologie
Neurologie – *Doyen Abulcassis*
Chirurgie Générale
Oncologie Médicale
Néphrologie
Traumatologie Orthopédie
Hématologie
Cardiologie
Anatomie Pathologique

Janvier 2000

Pr. ABID Ahmed*
Pr. AIT OUMAR Hassan
Pr. BENJELLOUN Dakhama Badr.Sououd
Pr. BOURKADI Jamal-Eddine
Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Al Montacer
Pr. ECHARRAB El Mahjoub
Pr. EL FTOUH Mustapha
Pr. EL MOSTARCHID Brahim*
Pr. ISMAILI Hassane*
Pr. MAHMOUDI Abdelkrim*
Pr. TACHINANTE Rajae
Pr. TAZI MEZALEK Zoubida

Pneumophtisiologie
Pédiatrie
Pédiatrie
Pneumo-ptisiologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Pneumo-ptisiologie
Neurochirurgie
Traumatologie Orthopédie
Anesthésie-Réanimation
Anesthésie-Réanimation
Médecine Interne

Novembre 2000

Pr. AIDI Saadia
Pr. AIT OURHROUI Mohamed
Pr. AJANA Fatima Zohra
Pr. BENAMR Said
Pr. CHERTI Mohammed
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Selma
Pr. EL HASSANI Amine
Pr. EL KHADER Khalid
Pr. EL MAGHRAOUI Abdellah*
Pr. GHARBI Mohamed El Hassan
Pr. HSSAIDA Rachid*

Neurologie
Dermatologie
Gastro-Entérologie
Chirurgie Générale
Cardiologie
Anesthésie-Réanimation
Pédiatrie
Urologie
Rhumatologie
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Anesthésie-Réanimation

Pr. LAHLOU Abdou
Pr. MAFTAH Mohamed*
Pr. MAHASSINI Najat
Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae
Pr. NASSIH Mohamed*
Pr. ROUIMI Abdelhadi*

Traumatologie Orthopédie
Neurochirurgie
Anatomie Pathologique
Pédiatrie
Stomatologie Et Chirurgie Maxillo-Faciale
Neurologie

Décembre 2000

Pr. ZOHAIR ABDELAH*

ORL

Décembre 2001

Pr. ABABOU Adil
Pr. BALKHI Hicham*
Pr. BENABDELJLIL Maria
Pr. BENAMAR Loubna
Pr. BENAMOR Jouda
Pr. BENELBARHDADI Imane
Pr. BENNANI Rajae
Pr. BENOUACHANE Thami
Pr. BEZZA Ahmed*
Pr. BOUCHIKHI IDRISSE Med Larbi
Pr. BOUMDIN El Hassane*
Pr. CHAT Latifa
Pr. DAALI Mustapha*
Pr. DRISSI Sidi Mourad*
Pr. EL HIJRI Ahmed
Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid
Pr. EL MADHI Tarik
Pr. EL OUNANI Mohamed
Pr. ETTAIR Said
Pr. GAZZAZ Miloudi*
Pr. HRORA Abdelmalek
Pr. KABBAJ Saad
Pr. KABIRI EL Hassane*
Pr. LAMRANI Moulay Omar
Pr. LEKEHAL Brahim
Pr. MAHASSIN Fattouma*
Pr. MEDARHRI Jalil
Pr. MIKDAME Mohammed*
Pr. MOHSINE Raouf
Pr. NOUINI Yassine
Pr. SABBAH Farid
Pr. SEFIANI Yasser
Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia

Anesthésie-Réanimation
Anesthésie-Réanimation
Neurologie
Néphrologie
Pneumo-ptisiologie
Gastro-Entérologie
Cardiologie
Pédiatrie
Rhumatologie
Anatomie
Radiologie
Radiologie
Chirurgie Générale
Radiologie
Anesthésie-Réanimation
Neuro-Chirurgie
Chirurgie-Pédiatrique
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Neuro-Chirurgie
Chirurgie Générale
Anesthésie-Réanimation
Chirurgie Thoracique
Traumatologie Orthopédie
Chirurgie Vasculaire Périphérique
Médecine Interne
Chirurgie Générale
Hématologie Clinique
Chirurgie Générale
Urologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Vasculaire Périphérique
Pédiatrie

Décembre 2002

Pr. AL BOUZIDI Abderrahmane*
Pr. AMEUR Ahmed *
Pr. AMRI Rachida
Pr. AOURARH Aziz*
Pr. BAMOU Youssef *
Pr. BELMEJDOUB Ghizlene*
Pr. BENZEKRI Laila
Pr. BENZZOUBEIR Nadia
Pr. BERNOUSSI Zakia
Pr. BICHRA Mohamed Zakariya*
Pr. CHOHO Abdelkrim *
Pr. CHKIRATE Bouchra
Pr. EL ALAMI EL FELLOUS Sidi Zouhair
Pr. EL HAOURI Mohamed *
Pr. EL MANSARI Omar*
Pr. FILALI ADIB Abdelhai
Pr. HAJJI Zakia
Pr. IKEN Ali
Pr. JAAFAR Abdeloihab*
Pr. KRIOUILE Yamina
Pr. LAGHMARI Mina
Pr. MABROUK Hfid*
Pr. MOUSSAOUI RAHALI Driss*
Pr. MOUSTAGHFIR Abdelhamid*
Pr. NAITLHO Abdelhamid*
Pr. OUJILAL Abdelilah
Pr. RACHID Khalid *
Pr. RAISS Mohamed
Pr. RGUIBI IDRISSE Sidi Mustapha*
Pr. RHOU Hakima
Pr. SIAH Samir *
Pr. THIMOU Amal
Pr. ZENTAR Aziz*

Anatomie Pathologique
Urologie
Cardiologie
Gastro-Entérologie
Biochimie-Chimie
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Dermatologie
Gastro-Entérologie
Anatomie Pathologique
Psychiatrie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Chirurgie Pédiatrique
Dermatologie
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Ophtalmologie
Urologie
Traumatologie Orthopédie
Pédiatrie
Ophtalmologie
Traumatologie Orthopédie
Gynécologie Obstétrique
Cardiologie
Médecine Interne
Oto-Rhino-Laryngologie
Traumatologie Orthopédie
Chirurgie Générale
Pneumophtisiologie
Néphrologie
Anesthésie Réanimation
Pédiatrie
Chirurgie Générale

Janvier 2004

Pr. ABDELLAH El Hassan
Pr. AMRANI Mariam
Pr. BENBOUZID Mohammed Anas
Pr. BENKIRANE Ahmed*
Pr. BOUGHALEM Mohamed*
Pr. BOULAADAS Malik
Pr. BOURAZZA Ahmed*
Pr. CHAGAR Belkacem*

Ophtalmologie
Anatomie Pathologique
Oto-Rhino-Laryngologie
Gastro-Entérologie
Anesthésie Réanimation
Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
Neurologie
Traumatologie Orthopédie

Pr. CHERRADI Nadia
Pr. EL FENNI Jamal*
Pr. EL HANCHI ZAKI
Pr. EL KHORASSANI Mohamed
Pr. EL YOUNASSI Badreddine*
Pr. HACHI Hafid
Pr. JABOURIK Fatima
Pr. KHABOUZE Samira
Pr. KHARMAZ Mohamed
Pr. LEZREK Mohammed*
Pr. MOUGHIL Said
Pr. OUBAAZ Abdelbarre*
Pr. TARIB Abdelilah*
Pr. TIJAMI Fouad
Pr. ZARZUR Jamila

Anatomie Pathologique
Radiologie
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie
Cardiologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Gynécologie Obstétrique
Traumatologie Orthopédie
Urologie
Chirurgie Cardio-Vasculaire
Ophtalmologie
Pharmacie Clinique
Chirurgie Générale
Cardiologie

Janvier 2005

Pr. ABBASSI Abdellah
Pr. AL KANDRY Sif Eddine*
Pr. ALAOUI Ahmed Essaid
Pr. ALLALI Fadoua
Pr. AMAZOUZI Abdellah
Pr. AZIZ Noureddine*
Pr. BAHIRI Rachid
Pr. BARKAT Amina
Pr. BENHALIMA Hanane
Pr. BENYASS Aatif
Pr. BERNOUSSI Abdelghani
Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Mohamed
Pr. DOUDOUH Abderrahim*
Pr. EL HAMZAOUI Sakina*
Pr. HAJJI Leila
Pr. HESSISSEN Leila
Pr. JIDAL Mohamed*
Pr. LAAROUSSI Mohamed
Pr. LYAGOUBI Mohammed
Pr. NIAMANE Radouane*
Pr. RAGALA Abdelhak
Pr. SBIHI Souad
Pr. ZERAIDI Najia

Chirurgie Réparatrice et Plastique
Chirurgie Générale
Microbiologie
Rhumatologie
Ophtalmologie
Radiologie
Rhumatologie
Pédiatrie
Stomatologie et Chirurgie Maxillo Faciale
Cardiologie
Ophtalmologie
Ophtalmologie
Biophysique
Microbiologie
Cardiologie (*mise en disponibilité*)
Pédiatrie
Radiologie
Chirurgie Cardio-vasculaire
Parasitologie
Rhumatologie
Gynécologie Obstétrique
Histo-Embryologie Cytogénétique
Gynécologie Obstétrique

Décembre 2005

Pr. CHANI Mohamed

Anesthésie Réanimation

Avril 2006

Pr. ACHEMLAL Lahsen*	Rhumatologie
Pr. AKJOUJ Saïd*	Radiologie
Pr. BELMEKKI Abdelkader*	Hématologie
Pr. BENCHEIKH Razika	O.R.L
Pr. BIYI Abdelhamid*	Biophysique
Pr. BOUHAFS Mohamed El Amine	Chirurgie - Pédiatrique
Pr. BOULAHYA Abdellatif*	Chirurgie Cardio – Vasculaire
Pr. CHENGUETI ANSARI Anas	Gynécologie Obstétrique
Pr. DOGHMI Nawal	Cardiologie
Pr. ESSAMRI Wafaa	Gastro-entérologie
Pr. FELLAT Ibtissam	Cardiologie
Pr. FAROUDY Mamoun	Anesthésie Réanimation
Pr. GHADOUANE Mohammed*	Urologie
Pr. HARMOUCHE Hicham	Médecine Interne
Pr. HANAFI Sidi Mohamed*	Anesthésie Réanimation
Pr. IDRIS LAHLOU Amine*	Microbiologie
Pr. JROUNDI Laila	Radiologie
Pr. KARMOUNI Tariq	Urologie
Pr. KILI Amina	Pédiatrie
Pr. KISRA Hassan	Psychiatrie
Pr. KISRA Mounir	Chirurgie – Pédiatrique
Pr. LAATIRIS Abdelkader*	Pharmacie Galénique
Pr. LMIMOUNI Badreddine*	Parasitologie
Pr. MANSOURI Hamid*	Radiothérapie
Pr. OUANASS Abderrazzak	Psychiatrie
Pr. SAFI Soumaya*	Endocrinologie
Pr. SEKKAT Fatima Zahra	Psychiatrie
Pr. SOUALHI Mouna	Pneumo – Phtisiologie
Pr. TELLAL Saida*	Biochimie
Pr. ZAHRAOUI Rachida	Pneumo – Phtisiologie

Octobre 2007

Pr. ABIDI Khalid	Réanimation médicale
Pr. ACHACHI Leila	Pneumo phtisiologie
Pr. ACHOUR Abdessamad*	Chirurgie générale
Pr. AIT HOUSSA Mahdi*	Chirurgie cardio vasculaire
Pr. AMHAJJI Larbi*	Traumatologie orthopédie
Pr. AMMAR Haddou*	ORL
Pr. AOUI Sarra	Parasitologie
Pr. BAITE Abdelouahed*	Anesthésie réanimation
Pr. BALOUCH Lhousaine*	Biochimie-chimie
Pr. BENZIANE Hamid*	Pharmacie clinique
Pr. BOUTIMZINE Nourdine	Ophtalmologie

Pr. CHARKAOUI Naoual*	Pharmacie galénique
Pr. EHIRCHIOU Abdelkader*	Chirurgie générale
Pr. ELABSI Mohamed	Chirurgie générale
Pr. EL MOUSSAOUI Rachid	Anesthésie réanimation
Pr. EL OMARI Fatima	Psychiatrie
Pr. GANA Rachid	Neuro chirurgie
Pr. GHARIB Noureddine	Chirurgie plastique et réparatrice
Pr. HADADI Khalid*	Radiothérapie
Pr. ICHOU Mohamed*	Oncologie médicale
Pr. ISMAILI Nadia	Dermatologie
Pr. KEBDANI Tayeb	Radiothérapie
Pr. LALAOUI SALIM Jaafar*	Anesthésie réanimation
Pr. LOUZI Lhoussain*	Microbiologie
Pr. MADANI Naoufel	Réanimation médicale
Pr. MAHI Mohamed*	Radiologie
Pr. MARC Karima	Pneumo ptisiologie
Pr. MASRAR Azlarab	Hématologie biologique
Pr. MOUTAJ Redouane *	Parasitologie
Pr. MRABET Mustapha*	Médecine préventive santé publique et hygiène
Pr. MRANI Saad*	Virologie
Pr. OUZZIF Ez zohra*	Biochimie-chimie
Pr. RABHI Monsef*	Médecine interne
Pr. RADOUANE Bouchaib*	Radiologie
Pr. SEFFAR Myriame	Microbiologie
Pr. SEKHSOKH Yessine*	Microbiologie
Pr. SIFAT Hassan*	Radiothérapie
Pr. TABERKANET Mustafa*	Chirurgie vasculaire périphérique
Pr. TACHFOUTI Samira	Ophtalmologie
Pr. TAJDINE Mohammed Tariq*	Chirurgie générale
Pr. TANANE Mansour*	Traumatologie orthopédie
Pr. TLIQUI Houssain	Parasitologie
Pr. TOUATI Zakia	Cardiologie

Décembre 2007

Pr. DOUHAL ABDERRAHMAN	Ophtalmologie
------------------------	---------------

Décembre 2008

Pr ZOUBIR Mohamed*	Anesthésie Réanimation
Pr TAHIRI My El Hassan*	Chirurgie Générale

Mars 2009

Pr. ABOUZAHIR Ali*	Médecine interne
Pr. AGDR Aomar*	Pédiatre
Pr. AIT ALI Abdelmounaim*	Chirurgie Générale

Pr. AIT BENHADDOU El hachmia
Pr. AKHADDAR Ali*
Pr. ALLALI Nazik
Pr. AMAHZOUNE Brahim*
Pr. AMINE Bouchra
Pr. ARKHA Yassir
Pr. AZENDOUR Hicham*
Pr. BELYAMANI Lahcen*
Pr. BJIJOU Younes
Pr. BOUHSAIN Sanae*
Pr. BOUI Mohammed*
Pr. BOUNAIM Ahmed*
Pr. BOUSSOUGA Mostapha*
Pr. CHAKOUR Mohammed *
Pr. CHTATA Hassan Toufik*
Pr. DOGHMI Kamal*
Pr. EL MALKI Hadj Omar
Pr. EL OUENNASS Mostapha*
Pr. ENNIBI Khalid*
Pr. FATHI Khalid
Pr. HASSIKOU Hasna *
Pr. KABBAJ Nawal
Pr. KABIRI Meryem
Pr. KARBOUBI Lamyia
Pr. L'KASSIMI Hachemi*
Pr. LAMSAOURI Jamal*
Pr. MARMADÉ Lahcen
Pr. MESKINI Toufik
Pr. MESSAOUDI Nezha *
Pr. MSSROURI Rahal
Pr. NASSAR Ittimade
Pr. OUKERRAJ Latifa
Pr. RHORFI Ismail Abderrahmani *
Pr. ZOUHAIR Said*

Neurologie
Neuro-chirurgie
Radiologie
Chirurgie Cardio-vasculaire
Rhumatologie
Neuro-chirurgie
Anesthésie Réanimation
Anesthésie Réanimation
Anatomie
Biochimie-chimie
Dermatologie
Chirurgie Générale
Traumatologie orthopédique
Hématologie biologique
Chirurgie vasculaire périphérique
Hématologie clinique
Chirurgie Générale
Microbiologie
Médecine interne
Gynécologie obstétrique
Rhumatologie
Gastro-entérologie
Pédiatrie
Pédiatrie
Microbiologie
Chimie Thérapeutique
Chirurgie Cardio-vasculaire
Pédiatrie
Hématologie biologique
Chirurgie Générale
Radiologie
Cardiologie
Pneumo-physiologie
Microbiologie

PROFESSEURS AGREGES :
Octobre 2010

Pr. ALILOU Mustapha
Pr. AMEZIANE Taoufiq*
Pr. BELAGUID Abdelaziz
Pr. BOUAITY Brahim*
Pr. CHADLI Mariama*
Pr. CHEMSI Mohamed*
Pr. DAMI Abdellah*

Anesthésie réanimation
Médecine interne
Physiologie
ORL
Microbiologie
Médecine aéronautique
Biochimie chimie

Pr. DARBI Abdellatif*
Pr. DENDANE Mohammed Anouar
Pr. EL HAFIDI Naima
Pr. EL KHARRAS Abdennasser*
Pr. EL MAZOUZ Samir
Pr. EL SAYEGH Hachem
Pr. ERRABIH Ikram
Pr. LAMALMI Najat
Pr. LEZREK Mounir
Pr. MALIH Mohamed*
Pr. MOSADIK Ahlam
Pr. MOUJAHID Mountassir*
Pr. NAZIH Mouna*
Pr. ZOUAIDIA Fouad

Radiologie
Chirurgie pédiatrique
Pédiatrie
Radiologie
Chirurgie plastique et réparatrice
Urologie
Gastro entérologie
Anatomie pathologique
Ophtalmologie
Pédiatrie
Anesthésie Réanimation
Chirurgie générale
Hématologie
Anatomie pathologique

Mai 2012

Pr. AMRANI Abdelouahed
Pr. ABOUELALAA Khalil*
Pr. BELAIZI Mohamed*
Pr. BENCHEBBA Driss*
Pr. DRISSI Mohamed*
Pr. EL ALAOUI MHAMDI Mouna
Pr. EL KHATTABI Abdessadek*
Pr. EL OUAZZANI Hanane*
Pr. ER-RAJI Mounir
Pr. JAHID Ahmed
Pr. MEHSSANI Jamal*
Pr. RAISSOUNI Maha*

Chirurgie Pédiatrique
Anesthésie Réanimation
Psychiatrie
Traumatologie Orthopédique
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale
Médecine Interne
Pneumophtisiologie
Chirurgie Pédiatrique
Anatomie pathologique
Psychiatrie
Cardiologie

Février 2013

Pr. AHID Samir
Pr. AIT EL CADI Mina
Pr. AMRANI HANCHI Laila
Pr. AMOUR Mourad
Pr. AWAB Almahdi
Pr. BELAYACHI Jihane
Pr. BELKHADIR Zakaria Houssain
Pr. BENCHEKROUN Laila
Pr. BENKIRANE Souad
Pr. BENNANA Ahmed*
Pr. BENSEFFAJ Nadia
Pr. BENSghIR Mustapha*
Pr. BENYAHIA Mohammed*

Pharmacologie – Chimie
Toxicologie
Gastro-Entérologie
Anesthésie Réanimation
Anesthésie Réanimation
Réanimation Médicale
Anesthésie Réanimation
Biochimie-Chimie
Hématologie biologique
Informatique Pharmaceutique
Immunologie
Anesthésie Réanimation
Néphrologie

Pr. BOUATIA Mustapha	Chimie Analytique
Pr. BOUABID Ahmed Salim*	Traumatologie Orthopédie
Pr. BOUTARBOUCH Mahjouba	Anatomie
Pr. CHAIB Ali*	Cardiologie
Pr. DENDANE Tarek	Réanimation Médicale
Pr. DINI Nouzha*	Pédiatrie
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Mohamed Ali	Anesthésie Réanimation
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Najwa	Radiologie
Pr. ELFATEMI Nizare	Neuro-Chirurgie
Pr. EL GUERROUJ Hasnae	Médecine Nucléaire
Pr. EL HARTI Jaouad	Chimie Thérapeutique
Pr. EL JOUDI Rachid*	Toxicologie
Pr. EL KABABRI Maria	Pédiatrie
Pr. EL KHANNOUSSI Basma	Anatomie Pathologie
Pr. EL KHLOUFI Samir	Anatomie
Pr. EL KORAICHI Alae	Anesthésie Réanimation
Pr. EN-NOUALI Hassane*	Radiologie
Pr. ERRGUIG Laila	Physiologie
Pr. FIKRI Meryim	Radiologie
Pr. GHANIMI Zineb	Pédiatrie
Pr. GHFIR Imade	Médecine Nucléaire
Pr. IMANE Zineb	Pédiatrie
Pr. IRAQI Hind	Endocrinologie et maladies métaboliques
Pr. KABBAJ Hakima	Microbiologie
Pr. KADIRI Mohamed*	Psychiatrie
Pr. LATIB Rachida	Radiologie
Pr. MAAMAR Mouna Fatima Zahra	Médecine Interne
Pr. MEDDAH Bouchra	Pharmacologie
Pr. MELHAOUI Adyl	Neuro-chirurgie
Pr. MRABTI Hind	Oncologie Médicale
Pr. NEJJARI Rachid	Pharmacognosie
Pr. OUBEJJA Houda	Chirurgie Pédiatrique
Pr. OUKABLI Mohamed*	Anatomie Pathologique
Pr. RAHALI Younes	Pharmacie Galénique
Pr. RATBI Ilham	Génétique
Pr. RAHMANI Mounia	Neurologie
Pr. REDA Karim*	Ophtalmologie
Pr. REGRAGUI Wafa	Neurologie
Pr. RKAIN Hanan	Physiologie
Pr. ROSTOM Samira	Rhumatologie
Pr. ROUAS Lamiaa	Anatomie Pathologique
Pr. ROUIBAA Fedoua*	Gastro-Entérologie
Pr. SALIHOUN Mouna	Gastro-Entérologie
Pr. SAYAH Rochde	Chirurgie Cardio-Vasculaire
Pr. SEDDIK Hassan*	Gastro-Entérologie

Pr. ZERHOUNI Hicham
Pr. ZINE Ali*

Chirurgie Pédiatrique
Traumatologie Orthopédie

Avril 2013

Pr. EL KHATIB Mohamed Karim*
Pr. GHOUNDALE Omar*
Pr. ZYANI Mohammad*

Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
Urologie
Médecine Interne

**Enseignants Militaires*

2- ENSEIGNANTS – CHERCHEURS SCIENTIFIQUES

PROFESSEURS / PRs. HABILITES

Pr. ABOUDRAR Saadia
Pr. ALAMI OUHABI Naima
Pr. ALAOUI KATIM
Pr. ALAOUI SLIMANI Lalla Naïma
Pr. ANSAR M'hammed
Pr. BOUHOUCHE Ahmed
Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz
Pr. BOURJOUANE Mohamed
Pr. BARKYOU Malika
Pr. CHAHED OUZZANI Lalla Chadia
Pr. DAKKA Taoufiq
Pr. DRAOUI Mustapha
Pr. EL GUESSABI Lahcen
Pr. ETTAIB Abdelkader
Pr. FAOUZI Moulay El Abbas
Pr. HAMZAOUI Laila
Pr. HMAMOUCHE Mohamed
Pr. IBRAHIMI Azeddine
Pr. KHANFRI Jamal Eddine
Pr. OULAD BOUYAHYA IDRISSE Med
Pr. REDHA Ahlam
Pr. TOUATI Driss
Pr. ZAHIDI Ahmed
Pr. ZELLOU Amina

Physiologie
Biochimie – chimie
Pharmacologie
Histologie-Embryologie
Chimie Organique et Pharmacie Chimique
Génétique Humaine
Applications Pharmaceutiques
Microbiologie
Histologie-Embryologie
Biochimie – chimie
Physiologie
Chimie Analytique
Pharmacognosie
Zootechnie
Pharmacologie
Biophysique
Chimie Organique
Biologie moléculaire
Biologie
Chimie Organique
Chimie
Pharmacognosie
Pharmacologie
Chimie Organique

*Mise à jour le 09/01/2015 par le
Service des Ressources Humaines*

- 9 JAN 2015





DÉDICACE

je dédie Cette thèse ... ✍

Tout d'abord à « Allah »

*Qui m'a guidé sur le droit chemin tout au long du mon
parcours et m'a inspiré les bons pas et les justes reflexes. Sans sa
miséricorde, ce travail n'aura pas abouti.*

*Merci Allah de m'avoir donné la capacité d'écrire, de réfléchir, la
force d'y croire et la patience d'aller jusqu'au bout du mon rêve.*

A mes très chers parents :

A MON ADORABLE MÈRE HAMDI FATIMA :

*Le symbole de tendresse, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite.
Maman aucune parole ne peut être dite à ta juste valeur pour exprimer mon
amour et mon attachement à toi. Tes prières ont été pour moi d'un grand soutien
au cours de ce long parcours. Chère mère tu m'as toujours donné de l'énergie, de
la confiance de la liberté, et c'est le jour de t'exprimer mes sentiments et mon
éternelle gratitude.*

*Je demande Allah de te guérir et de t'accorder une longue vie, pour que tu
demeures le flambeau illuminant mon chemin. Je t'aime beaucoup
maman...*

A MON TRÈS CHER PÈRE Ibrahim TALEBI:

*Mon père, qui peut être fier de trouver ici le résultat de longues années de
sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie ; Merci papa pour
les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi. Que dieu,
tout puissant, te garde, te procure santé, bonheur et longue vie.*

" ربي ارحمنا كما ربناي صغيرا "

A mes très chers frères

Mes grands frères : Hassan, Abdelkarim, Mustapha, vous n'avez pas cessé d'être pour moi des exemples de persévérance, de courage et de générosité. Vous avez toujours été avec moi, par vos esprits et vos cœurs et rien ne saurait traduire le fond de mes sentiments envers vous. J'espère que vous allez trouver dans ce travail, le témoignage de mes sentiments les plus sincères et les plus affectueux.

Mon petit frère Yassine ; à qui je dédie ce travail pour lui encourager vers le mieux. Qu'ALLAH t'accorde une santé solide, de brillantes études couronnées d'un emploi permettant de gagner le pain quotidien et qu'il bénisse les projets.

Qu'Allah, tout puissant, vous protège, vous procure bonne santé, vous aide à réaliser vos vœux les plus chers et consolider notre fraternité. Je vous aime tous...

A mon mari Saïd SAMLALI

Cher mari, merci pour ton soutien ta confiance et la valeur que tu m'as donné, t'étais toujours près de moi durant ces derniers mois pour m'aider et m'encourager, tu m'as donné de l'énergie et de la force pour continuer mon chemin, tu es une source de joie et de bonheur pour moi, et les mots du monde ne pourront jamais exprimer la profondeur de mon amour. Puisse Dieu t'assurer bonheur, santé et réussite pour le reste de ton parcours.

A mes chères sœurs

Fatima ; Zahra ; Saadia et Assma, Vous étiez toujours là pour moi, nous avons partagé les moments les plus difficiles, mais aussi les plus joyeux. Je vous dédie ce travail en témoignage de ma profonde affection pour vous. Des mots ne pourront jamais exprimer la profondeur de mon amour...

A mes belles sœurs

Lalla aicha, naima et houria

A mes beaux frères

Mr Ahmed IRHRAZ, Mohamed ILHAYAN, Mhamed AILALI

A mon cousin Ismail TALIBI

Merci pour ton aide et ton soutien et tes conseils, qui ne m'ont jamais fait défaut. Tu as été toujours présent dans les moments les plus décisifs.

A ma cousine et mes amis et collègues pharmaciens de la faculté de Rabat

Merci pour les agréables moments qu'on a passés ensemble. Merci pour la sympathie et l'affection que vous m'avez toujours portées, qu'elles demeurent éternelles. Puisse Dieu vous procurer bonheur, santé et réussite...

A tous le personnel des services de parasitologie de l'hôpital militaire
Avicenne-Marrakech

A mes enseignants de primaire, secondaire et de la faculté de médecine
et de pharmacie de Rabat

A tous ceux qui me sont très chers et qui j'ai omis de citer qu'ils me
pardonnent

A tous qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail



REMERCIEMENT

A notre Maître et Président de thèse

Monsieur le colonel ABDELKADER BELMEKKI

Professeur d'hématologie biologique

Chef du centre de transfusion sanguine à H.M.I Med V-

RABAT

C'est pour nous un grand honneur de vous avoir à la présidence de ce jury malgré vos multiples responsabilités.

Votre rigueur scientifique et vos qualités humaines font de vous un maître estimé de tous.

Nous sommes très sensibles à l'honneur que vous nous faites en acceptant la présidence de notre jury de thèse.

Veillez trouver ici, cher maître, l'expression de notre admiration et l'assurance de nos sentiments les plus distingués.

A notre Maître et Rapporteur de thèse,

Monsieur REDOUANE MOUTAJ

Professeur de parasitologie

*Chef de Service de parasitologie à l'Hôpital Militaire Avicenne
de Marrakech*

Votre dévouement au travail, votre modestie et votre gentillesse imposent le respect et représentent le model que nous serons toujours heureux de suivre. Je suis très touchée par votre disponibilité malgré vos multiples responsabilités Mais au-delà de tous les mots de remerciements que nous vous adressons, nous voudrions louer en vous votre amabilité, votre courtoisie et votre générosité. Ce fut très agréable de travailler avec vous pendant cette période. Vos conseils et remarques ont été d'une grande utilité à l'amélioration de ce travail, qu'il puisse être à la hauteur de la confiance que vous nous avez accordée.

*A notre Maître et juge de thèse,
Mme SARRA AOUI
Professeur de parasitologie*

Chef du laboratoire de parasitologie

Faculté de Médecine et Pharmacie de RABAT

Votre culture scientifique, votre compétence et vos qualités humaines ont suscité en nous une grande admiration, et sont pour vos élèves un exemple à suivre. Durant notre formation, nous avons eu le privilège de bénéficier de votre enseignement et d'apprécier votre sens professionnel. Nous vous remercions de la bienveillance que vous m'avez réservée en acceptant de siéger parmi le jury de notre thèse.

Veillez accepter, chère Maître, l'assurance de notre estime et notre profond respect.

*A notre Maître et juge de thèse,
Monsieur le colonel YASSINE SEKHSOKH
Professeur de microbiologie
Chef de service du laboratoire de recherche et de biosécurité-P3
de H.M.I Med V-RABAT*

*Nous sommes très sensibles à l'honneur que vous nous Faites en
acceptant de juger notre travail.*

*Votre compétence, votre sens profond de l'humanité ainsi que votre
modestie sont connus de tous.*

*Veillez agréer, Cher Maître, l'expression de notre vive
Reconnaissance et de notre respectueuse gratitude.*

A notre Maître et juge de thèse

Monsieur MOHAMED ERRAMI

Professeur de parasitologie

*Nous sommes très honorés par la spontanéité avec laquelle vous
avez accepté de juger ce travail, nous vous en remercions.*

*Votre compétence scientifique et pédagogique fait de vous l'un
des enseignants les plus remarquables qu'on puisse rencontrer au
cours de son cursus universitaire.*

*Veillez trouver, cher Maître, dans ce travail, l'expression de notre
sincère reconnaissance et de notre profond respect.*



ILLUSTRATIONS

Liste des abréviations

A	Adénine
ACT	Artemisinin combination therapy (combinaisons thérapeutiques d'artémisinine)
AMA1	Apical membrane antigen1 (l'antigène 1 de la membrane apicale)
AND	Acide Desoxyribo-Nucleique
ARN	Acide Ribo-Nucléique
ARNnc	ARN non codant
ARNr	ARN ribosomique
ARNsn	ARN small nuclear (ARN petits nucléaires)
ARNt	ARN transférase
ARV	Anti rétroviral
AQ	Amodiaquine
ASP-PCR	Allèle spécifique au PCR
BET	Bromure d'éthyldium
BLAST	Basic Local Alignment Search Tool
C	Cytosine
CAT	Combinaisons à base de dérivés d'artémisinine
CRDs	Cystéine-riche domaine (domaine riche en cystéine)
DARC	Duffy antigene recepneur for chimiokine (récepteur de l'antigène Duffy pour chimiokine)
DDT	Dichloro-Diphényle-trichloréthane
DEET	Diethyl-3-methylbenzamide
ECG	Eléctro-cardiogramme
ELISA	Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay
FP	Ferriprotoporphirine
G	Guanine
GAP	Glideosome associated protein (protéine associée au glideosome)
GRH	Globules rouges humains
HMMs	Hidden Markov models
HPX	Nitration peroxydase

HRP II	Histidin rich Protein II
ICAM-1	InterCellular Adhesion Molecule (molécules d'adhésion intercellulaire)
IFI	ImmunoFluorescence Indirecte
IFN-γ	Interféron gamma
IH	Infected humain (Homme infecté)
IL	Interleukine
IMC	Complexe de la membrane interne
IM	Infected macaque (macaque infecté)
ITS	Intrachromosomal telomeric sequence (séquences télomériques intrachromosomiques)
Kir	Knowlesi interspersed repeats
KDa	kilo dalton
Mb	Méga base
MHN	Maladie hémolytique du nouveau-né
MGG	May-Grunwald-Giemsa
MJ	Moving junction (jonction mobile)
MSP	Merozoïte surface proteine (protéines à la surface des mérozoïtes)
MTIP	Myosin tail domain interacting protein
MVE	Maladie à virus Ebola
MVI	Malaria vaccin initiative
NADPH	Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate hydrogéné
NOX	NADPH-oxydase
OMD	Objectifs du Millénaire pour le Développement
OMS	Organisation mondiale de santé
PCR	Amplification en chaine par polymérisation (polymérase chaine réaction)
PNH	Primates non humains
PV	Parasitophorous vacuole (vacuole parasitophore)
PK	<i>Plasmodium knowlesi</i>
Pb	Pair de base
PfEMP1	<i>P.falciparum</i> erythrocyte membrane protein 1 (les protéines 1 de la membrane des érythrocytes).

PEXEL	<i>Plasmodium</i> export élément
PHIST	<i>Plasmodium</i> Helical Interspersed Sub-Telomeric (<i>Plasmodium</i> hélicoïdaux subtélomérique intercalés)
Pf EMP1	Protéines parasitaires dérivées du <i>Plasmodium falciparum</i>
PHN	Piqures par Homme par nuit
QBC	Quantitative Buffy Coat
RBL	Reticulocytebinding-like
RON	Rhoptry neck proteins (protéine cou rhoptrie)
RBL	Reticulocyte binding-like
RLFP	Restriction de la longueur des fragments polymorphismes
RTA	Remèdes traditionnels antipaludiques
SICA	Schizont-infected cell agglutination (agglutination cellulaire des schizontes infectés)
SPATR	Protéine de surface de répétions de thrombospondine modifiée
SEPA	Stratégie d'Élimination du Paludisme Autochtone
SP	Sulfadoxine-pyriméthamine
T	Thymine
TDR	Tests de diagnostic rapide
TRAP	Thrombospondin related adhesive protein (La thrombospondine-liée de la protéine adhésive)
TM	transmembranaire
TPI	Traitements présomptifs intermittents
TSR	Domaine de répétions de thrombospondine type-1
TNF	Tumor necrosis factor (facteur de nécrose tumorale)
Th	Lymphocytes T helpers
Tm	Melting Temperature (température de fusion)
USA	United stat américain
UMMC	Université Malaya médicale centre
VO	Voie orale
VIV	Voie intraveineuse

VIM	Voie intramusculaire
VTS	Vacuolar transport signal (signal de transport vacuolaire)
VSG	Variant surface glycoprotein (glycoprotéine de surface variantes)
XA	Acide Xanthurénique

Liste des figures :

Figure 1: Le lieutenant-Colonel.Robert Knowles (1883-1936).	10
Figure 2: Phylogénie du <i>Plasmodium</i> des Primates non humains (PNH) et de l'Homme	12
Figure 3: Morphologie de <i>Plasmodium knowlesi</i>	14
Figure 4: Représentation schématique de la structure d'un sporozoïte.....	19
Figure 5: Le mécanisme d'invasion d'Apicomplexa	20
Figure 6: La structure de <i>P. knowlesi</i> MTIP • MyoA.....	22
Figure 7: Répartition des gènes SICAvAr, les gènes kir et les répétitions télomériques sur les chromosomes 1 à 14 de <i>P. knowlesi</i> (souche H)	26
Figure 8: La distribution des gènes SICAvAr le long des chromosomes de 1 à 14 de la souche H du <i>P.knowlesi</i>	29
Figure 9: Organisation structurale complète des gènes SICAvAr chez <i>P. knowlesi</i> (souche H)	30
Figure 10: Organisation complète du domaine des protéines SICA et KIR chez <i>P. knowlesi</i> (souche H)	31
Figure 11: Organisation des protéines du domaine KIR chez <i>P.knowlesi</i>	32
Figure 12: Matches des séquences CD99 de l'hôte chez <i>P. knowlesi</i> (souche H)	33
Figure 13: Les gènes KIRs et un gène SICAvAr-like, montrant les matchs pour accueillir les séquences.....	34
Figure 14: Carte de Sud et de Sud-Est de l'Asie montrant la distribution des moustiques du groupe <i>Leucosphyrus</i>	41
Figure 15: <i>Anopheles leucosphyrus</i> après repas sanguin	47

Figure 16: Images représentant les hôtes naturels du <i>P.knowlesi</i> ..	49
Figure 17: Schéma présentant les modalités de transmission du <i>P.knowlesi</i> en Malaisie et en Asie du Sud-est.....	51
Figure 18: Le cycle de vie de <i>P. knowlesi</i> est de 24 heures	56
Figure 19: Schéma représentant le cycle évolutif de <i>Plasmodium</i>	59
Figure 20: La répartition géographique du <i>Plasmodium knowlesi</i> dans l'Asie du sud-Est.....	60
Figure 21: La carte de la Malaisie montrant l'emplacement des zones à <i>Plasmodium knowlesi</i> positif.....	62
Figure 22: Cas exportés du <i>Plasmodium knowlesi</i> d'Asie du Sud aux autres continents.....	63
Figure 23: Stratégie utilisée pour adapter la croissance des parasites dans les GRH.	68
Figure 24: Courbe de température d'un patient infecté, parasitémie 0.2% à Singapour.....	90
Figure 25: Confection du frottis sanguin.....	104
Figure 26: Confection de la goutte épaisse	105
Figure 27: Principe de la technique QBC.....	107
Figure 28: Confection du test de diagnostic rapide.....	108
Figure 29: Synthèse des résultats obtenus lors d'immunocaptures réalisées entre les anticorps monoclonaux anti-LDHp et les LDHp de 7 espèces différentes de <i>Plasmodium</i>	110
Figure 30: Représentation schématique du cycle de développement de <i>Plasmodium</i> sp, et du type d'ARNr exprimé en fonction des différentes étapes parasitaires.	112
Figure 31: Représentation schématique d'une amplification d'ADN par PCR nichée.....	114
Figure 32: Photographie du Light Cycler ® et sa représentation schématique.....	116
Figure 33: Photos du genre <i>Artemisia</i> . A: <i>Artemisia annua</i> . B: <i>Artemisia absinthium</i>	125
Figure 34: Les phases de développement du parasite chez l'Homme et les possibilités de traitement.....	129

Liste des tableaux

Tableau I : Événements historiques et importants de <i>Plasmodium knowlesi</i>	9
Tableau II: Résumé de génomes de <i>P. knowlesi</i> , <i>P. vivax</i> et <i>P. falciparum</i>	24
Tableau III: Présentation des chromosomes de <i>P.knowlesi</i> (souche H).....	27
Tableau IV: Liste des principaux vecteurs du paludisme.....	39
Tableau V: Variation temporelle de la répartition des espèces de <i>Plasmodium</i> par région d'endémie palustre en Thaïlande, entre 2006-2009.....	82
Tableau VI: Proportion des phénotypes prédits des donneurs du sang et des patients infectés par <i>P. knowlesi</i>	84
Tableau VII: Comparaison des fréquences génotypiques entre les donneurs du sang et les patients infectés par <i>P. knowlesi</i>	85
Tableau VIII: Comparaison de la distribution allélique entre les donneurs du sang et les patients infectés par <i>P.knowlesi</i>	86
Tableau IX: Critères de définition du paludisme grave chez l'adulte	91
Tableau X: Les critères de l'OMS signalés dans les cas graves du paludisme à <i>P. knowlesi</i> en comparaison avec le paludisme importé sévère à <i>P. falciparum</i>	93
Tableau XI: Caractéristiques des patients décrits comme des cas simples (essentiellement importés) du <i>P. knowlesi</i>	95
Tableau XII: Les caractéristiques des hématozoaires de <i>P.knowlesi</i>	99
Tableau XIII: Les caractères morphologiques et cliniques du <i>P .knowlesi</i> et des quatre autres espèces du paludisme humain.....	100
Tableau XIV: Prise en charge des complications au cours des accès palustres graves	133
Tableau XV: Tableau comparatif du traitement des cinq espèces du <i>Plasmodium. sp</i>	135
Tableau XVI: Liste des produits biocides répulsifs, contenant des concentrations en substances actives jugées efficaces	140
Tableau XVII: Les cas de paludisme autochtone décelés entre 1990 et 1998.....	155
Tableau XVIII: Evolution des cas du paludisme autochtone au Maroc, 1999-2010	157
Tableau XIX: Données générales sur l'évolution du paludisme au Maroc, 2001-2014	158

Liste des graphiques :

Graphique 1: Répartition des cas du paludisme selon l'espèce plasmodiale en cause, 1960-1972.....	155
Graphique 2: Répartition annuelle relative des cas du paludisme autochtone sur l'ensemble des cas déclarés, 1990-1998.....	156



SOMMAIRE

Dédicace

Remerciements

Illustrations

I.	INTRODUCTION	1
II.	HISTORIQUE	6
III.	ETUDE DU <i>PLASMODIUM KNOWLESI</i>	11
1.	Classification	12
2.	La morphologie du parasite	13
2.1.	Aspect microscopique	13
2.2.	Ultra-structure du parasite.....	18
3.	La génétique du parasite	23
IV.	DONNEES EPIDEMIOLOGIQUES.....	37
1.	Le vecteur de <i>Plasmodium knowlesi</i>	38
1.1.	Répartition géographique du vecteur	38
1.2.	Le cycle biologique du vecteur et les conditions climatiques.....	42
1.3.	Les compétences vectorielles.....	45
1.4.	Diversité entre espèces.....	46
2.	Hôtes naturels de <i>Plasmodium knowlesi</i>	47
2.1.	Répartition géographique de l'hôte.....	48
2.2.	Comportements écologiques	49
3.	Les voies de transmission de <i>Plasmodium knowlesi</i>	51
4.	Cycle et sites de transmission aux humains	53
5.	Les conditions nécessaires pour la transmission des plasmodies	54
6.	Cycle de développement chez l'Homme.....	54

6.1.	Généralités :	54
6.2.	L'établissement de la transmission de <i>Plasmodium knowlesi</i> au laboratoire	55
6.3.	Cycle évolutif de <i>Plasmodium sp</i>	56
6.3.1.	Chez l'hôte définitif	57
6.3.2.	Chez l'hôte intermédiaire	57
6.3.2.1.	Schizogonie hépatocytaire	57
6.3.2.2.	Schizogonie érythrocytaire	58
7.	Distribution géographique	60
7.1.	Incidence et distribution du parasite	60
7.2.	<i>P. knowlesi</i> chez les voyageurs internationaux :	62
8.	Les facteurs de risque épidémiologiques	64
V.	PHYSIOPATHOLOGIE	65
1.	Généralités :	66
2.	Mécanismes de l'invasion	66
3.	Protéine de surface SPATR	70
4.	Cytoadhérence et virulence de <i>Plasmodium knowlesi</i> .	72
VI.	L'IMMUNITE ET LES MECANISMES D'ECHAPPEMENT	75
1.	Immunogénicité des protéines MSP-1 ₄₂ :	76
2.	Reconnaissance de la protéine PkSPATR par le système immunitaire	80
VII.	PARTICULARITES DE L'INFECTION HUMAINE PAR <i>PLASMODIUM KNOWLESI</i>	81
1.	Age et sexe préférentiels	82
2.	Génotypage du groupe sanguin Duffy	82

VIII. CONSEQUENCES CLINIQUES	88
1. Généralités :	89
2. Paludisme simple à <i>Plasmodium knowlesi</i>	89
3. Paludisme grave à <i>Plasmodium knowlesi</i>	90
4. Critères de gravité définis par l'OMS et l'infection à <i>Plasmodium knowlesi</i>	91
5. <i>P.knowlesi</i> chez les enfants	94
6. Comparaisons cliniques et biologiques de <i>Plasmodium knowlesi</i> avec les quatre autres espèces	94
6.1 Présentation clinique des patients infectés	94
6.2 Particularités symptomatiques, cliniques et biologiques liées à l'espèce :	99
IX. DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE	101
1. Généralités	102
2. Diagnostic direct	103
2.1. Techniques microscopiques	103
2.1.1. Le frottis mince.....	104
2.1.2. La goutte épaisse rapide :	105
2.1.3. La technique QBC®	106
2.2. Méthodes immunochromatographiques.....	108
2.3. Techniques de la biologie moléculaire	110
2.3.1 Les gènes d'intérêt pour le diagnostic moléculaire	111
2.3.2 PCR nichée	113
2.3.3. PCR en temps réel :	115
3. Diagnostic indirect	117
4. Choix de la technique à développer	118

X.	TRAITEMENT	119
1.	Généralités :	120
2.	Médicaments antipaludéens :	122
2.1.	Schizonticides érythrocytaires	122
2.1.1.	Les remèdes traditionnels antipaludiques.....	122
2.1.1.1.	Les alcaloïdes de Quinquina	123
2.1.1.2.	L'artémisinine et ses dérivés : (<i>Artemisia annua</i> , <i>Artemisia absinthium</i>)	124
2.1.2.	Les antipaludiques de synthèse.....	126
2.1.2.1.	Les amino-4-quinoléines :	126
2.1.2.2.	Les aryl-amino-alcools.....	126
2.1.2.3.	Les antimétabolites	127
2.1.3.	Les antibiotiques :	128
2.2.	Les gamétocytocides et hypnozoïtociques.....	128
3.	Traitement de l'accès palustre simple	130
3.1.	Traitement curatif des accès simples à <i>Plasmodium falciparum</i> :	130
3.2.	Traitement curatif des accès simples dus aux autres <i>Plasmodium</i> sp.	130
4.	Traitement de l'accès pernicieux.....	130
4.1.	Paludisme grave à <i>Plasmodium falciparum</i>	131
4.2.	Paludisme grave à <i>Plasmodium vivax</i>	131
4.3.	Paludisme grave à <i>Plasmodium knowlesi</i>	132
5.	Traitement du paludisme viscéral évolutif.....	132
6.	Prise en charge des complications.....	132
7.	Etude de la sensibilité du <i>Plasmodium knowlesi</i> aux antipaludiques.....	133
8.	Surveillance et évaluation du traitement	135

XI. PROPHYLAXIE.....	137
1. Conseils aux voyageurs	138
2. Prophylaxie mécanique	139
3. Chimio prophylaxie.....	142
3.1. Chimio prophylaxie des expatriés et des voyageurs	142
3.1.1. Schéma prophylactique pour l'adulte :.....	143
3.1.2. Schéma prophylactique chez la femme enceinte :.....	143
3.1.3. Schéma prophylactique à la Nivaquine chez l'enfant	143
3.2. Traitement Préventif Intermittent (TPI) des femmes enceintes et des enfants autochtones.	145
3.3. Prophylaxie antipaludique et traitement antirétroviral	146
3.4. Effets indésirables des médicaments antimalariques en chimio prophylaxie.....	146
XII. PALUDISME AU MAROC	147
1. Généralités :.....	148
2. Etat des lieux du paludisme au Maroc	149
2.1. Rappel de quelques caractéristiques de l'épidémiologie du paludisme au Maroc.....	149
2.2. Etude de la capacité vectorielle d' <i>Anopheles labranchiae</i> dans une zone rizicole au nord du Maroc.....	150
3. Paludisme autochtone à <i>P.falciparum</i> jusqu'à 1973	154
4. Paludisme autochtone à <i>P.vivax</i> jusqu'à 2004	155
5. Paludisme d'importation au Maroc	157
6. Rôle des Hôpitaux Militaires dans la prise en charge du paludisme d'importation : cas de l'Hôpital Militaire Avicenne de Marrakech.....	159
XIII. IMPORTANCE ET PERSPECTIVES DE L'AVENIR	161
XIV. CONCLUSION.....	165

RESUMES	Erreur ! Signet non défini.
BIBLIOGRAPHIE	171



I. INTRODUCTION

Le paludisme est une parasitose causée par un protozoaire du genre *Plasmodium*, et couramment appelée la malaria ; ce nom qui vient de l'italien « mala aria » signifiant littéralement « mauvais air », car il était autrefois soupçonné d'être à l'origine de la maladie [1]. C'est une maladie tropicale, et une des maladies parasitaires les plus mortelles dans le monde. Selon le Rapport mondial sur le paludisme de 2013, il ya 97 pays et territoires où la transmission perdure et 7 pays classés dans la phase de prévention de la réintroduction, soit un total de 104 pays et territoires dans lesquels le paludisme est actuellement considéré comme endémique. Globalement, on estime que 3,4 milliards de personnes sont à risque du paludisme. L'organisation mondiale de la santé estime que 207 millions de cas de paludisme sont survenus dans le monde en 2012 dont 627000 décès. La plupart des cas (80%) et de décès (90%) sont colligés en Afrique et la majorité des décès (77%) était des enfants de moins de 5 ans [2].

Il existe de très nombreuses espèces de *Plasmodium* (plus de 140) touchant diverses espèces animales. Seules quelques unes sont connues comme étant causes de malaria humaine. Ces espèces se différencient par leurs critères biologiques, cliniques, leurs répartitions géographiques et par leurs capacités de développer des résistances aux antipaludiques [3]. C'est ainsi que le paludisme humain est causé par cinq espèces de *Plasmodium* : *P.falciparum*, *P.vivax*, *P. ovale*, *P. malariae* et actuellement *P.knowlesi* [2].

Les quatre premières espèces de *Plasmodium* sont bien reconnues comme cause du paludisme humain dans le monde entier [4]. L'infection causée par *P.falciparum* est grave et peut être fatale en l'absence du diagnostic rapide de la maladie et de ses complications, alors que la maladie causée par *P.vivax*, *P. ovale* et *P.malariae* est généralement plus anodine et rarement fatale [5]. Récemment le *P.knowlesi* qui est naturellement inféodé aux singes est reconnu comme la cinquième espèce de *Plasmodium* responsable du paludisme humain et qui est largement distribuée dans les zones forestières de l'Asie du Sud-Est [6]. Cette espèce peut entraîner des complications graves et mortelles [7]. Selon une étude récente réalisée à l'hôpital Kapit, 10 patients atteints du *Plasmodium knowlesi* ont développé des complications potentiellement mortelles, comparables à celles du *P. falciparum*, qui est considéré comme le type le plus virulent chez l'Homme [8].

Ainsi de plus en plus, les personnes qui vivent dans les zones semi-urbaines en Asie de Sud-Est sont trouvés infectés par cette nouvelle espèce. Le nombre des cas signalés en Malaisie en 2014 est 2.584 cas [9]. Les autorités sanitaires de l'état de Sarawak situé sur l'île de Bornéo sont en état d'alerte après la découverte de nouveaux cas de paludisme à *Plasmodium knowlesi*. Le nombre cumulé de cas signalés était de 97 dans les 10 premières semaines de cette année 2015 [10].

D'ailleurs, vers la fin de l'année 2014, plusieurs journaux de la presse écrite, électronique et audio-visuelle avait mis en garde le monde entier contre cette nouvelle forme émergente du paludisme. Entre autres, le Monde Planète qui a publié en novembre 2014 un article intitulé : Un paludisme très dangereux émerge en Asie du sud-Est.



MONGABAY BAIKRETS OCEANS ANIMALS & ENVIRONMENT FOR KIDS PHOTOGRAPHY BIOTECH MORE

MALAYSIA BORNEO JAPAN SINGAPORE LAOS ENVIRONMENT HYDROLOGICAL MONGABAY INDONESIA

Human infections by 'monkey malaria' increasing as forests disappear

10th November 2014 / Loren Ball

60% of malaria hospitalizations in Malaysia last year were caused by a once-rare strain of the disease traditionally limited to macaque monkeys. However, as deforestation has put humans and wild animals in closer proximity, *Plasmodium knowlesi* infections and deaths have increased rapidly. The strain is now responsible for three times the severe malaria infections in Malaysian Borneo than *P. falciparum*—the world's deadliest form of the parasite.

"This is a form of malaria that was once rarely seen in people, but today, in some remote areas of the country, all of the indigenous malaria cases we are seeing are caused by the *P. knowlesi* parasite," said Loren Ball, director of the Malaria Research Center at the



Infant macaque in Malaysian Borneo. Photo by Rhett A. Butler

141 SHARES

FACEBOOK LINKEDIN TWITTER STUMBLEUP EMAIL

Published Under Creative Commons

MOST READ

1. Malaria to hit 18,000 threatened native bats in 'dangerous' east
2. A village in Borneo fears away from palm oil
3. Carbon emissions from Indonesia's peat fires exceed emissions from entire U.S. economy
4. Plantation companies challenged by increasing fires in Indonesia
5. Environmentalists win 'landmark' case against logging permit in Borneo
6. Indonesian SeaTigers in force as marine reserves
7. Scientists say Borneo methane deposits off the coast of the US Pacific Northwest might be melting
8. New research shows just how much better recycled paper is for forests
9. Google's engine: A new guide for troubled amphibians
10. A wildlife refuge in Borneo may have the world's largest collection of orangutans

edp biologie La référence professionnelle de la Biologie Médicale

Biologiste Biocos Aujourd'hui m.s. essentiel

ACTUALITÉS CLINIQUE ENTREPRISE PRODUITS PUBLIREPORTAGES PARUTIONS VIDÉOS ANNONCES ABONNEZ-VOUS LIBRAIRIE

Partager Partager Partager Partager Partager

Paludisme à *Plasmodium knowlesi* : un nouveau danger pour l'homme

Publié le jeudi 9 octobre 2014 07:58

INFECTIOLOGIE [Biologiste](#)



Crédit photo : © CDC

La Lettre de l'Infectiologue d'août 2014 signale la présence de paludisme, en Asie du Sud-Est, avec la présence de *Plasmodium knowlesi*, un parasite jusqu'alors peu connu.

C'est plus particulièrement en forêt, que l'homme risque d'être infecté par *Plasmodium knowlesi*.

PETITES ANNONCES

EN CONTINU

- Le Pr Félix Rey récompensé par le Prix Pasteur-Wiechmann/Sarvier 2015
- Une piste prometteuse pour traiter les formes les plus agressives du cancer de l'ovaire
- Séance spéciale Vix à l'Académie de pharmacie
- Création automatique du DMP dans quatre territoires de santé en avril 2016
- Contact part à la conquête de la médecine personnalisée de demain

2014

Inscrivez-vous à notre newsletter et tenez-vous au courant de l'actualité de la biologie médicale!

Biologiste Biocos

Actualités Entertainment Economie Sport Locales T'as vu ?

Santé

Paludisme: Une forme plus mortelle se propage en Asie

MALADIE Une forme émergente de paludisme, mortelle et dangereuse, touche la Malaisie et sa propagation est jugée «préoccupante» par les auteurs d'une étude...

21 TWITTER 67 STUMBLEUP 1 LINKEDIN



Le moustique est le principal vecteur de cette nouvelle forme de paludisme qui se transmet à l'homme par le sang. - Olivier Crevin AFP

20 Minutes avec agence

Publié le 07/11/2014 à 16:01

100 articles Santé paludisme

«*Plasmodium knowlesi*». Tel est le nom du parasite qui serait responsable d'une forme très mortelle de paludisme chez l'humain, révèle une étude préliminaire, cette semaine, en Louisiane (Etats-Unis). Jusqu'ici, le vecteur du paludisme chez les humains, *Plasmodium falciparum* se propage rapidement en Asie du Sud-Est, et tout particulièrement en Malaisie. Et le virus représente désormais 60% des cas de paludisme diagnostiqués dans la région de Borneo, contre seulement 2% il y a quatorze ans.

A LIRE AUSSI

- Malme (Vieux) Congo: Les élections communales en 2015
- 2014 | EPIDEMIE: Ebola en République centrafricaine et en République démocratique du Congo
- Book Now on TripAdvisor

BOOK NOW

Gagnez l'argent grâce à votre bien, louez en saisonnier

Le diagnostic de l'infection à *P. knowlesi* peut être difficile pour un microscopiste inexpérimenté, vu les trophozoïtes jeunes de ce parasite qui sont morphologiquement semblables à ceux de *P. falciparum* [11, 12], tandis que les stades érythrocytaires ultérieures (trophozoïtes âgés, schizontes et gamétocytes) de *P. knowlesi* sont indiscernables de *P. malariae* [11]. En raison de ces similitudes morphologiques entre *P. knowlesi* et *P. malariae*, les infections à *P. knowlesi* naturellement acquises sont souvent mal diagnostiquées en microscopie [11, 12]. C'est la raison pour laquelle l'utilisation des techniques moléculaires dans le diagnostic et la recherche en épidémiologie est devenue plus justifiée [13]. Aussi il est important de comprendre les interactions hôte-parasite, d'étudier le cycle de vie de ce parasite chez l'hôte naturel et chez l'Homme et d'enquêter sur sa physiopathologie [14].

Le Maroc qui a connu le paludisme à *P. falciparum* au début du 20^{ème} siècle et qui a été éradiqué, a continué à connaître le paludisme à *P. vivax* jusqu'en 2005. C'est l'année pour laquelle il a décroché le certificat de l'élimination du paludisme. Le Maroc réunit tous les facteurs favorisant pouvant être à l'origine de la réémergence de cette parasitose mortelle.

L'objectif de ce travail est de réaliser une mise au point sur *P. knowlesi* l'agent causal d'un cinquième type de paludisme menaçant la vie humaine, depuis sa récente découverte jusqu'aux dernières actualités. Surtout que l'importation et l'introduction au Maroc de *P. knowlesi* au même titre que les autres espèces est un risque réel qui doit bénéficier d'une attention toute particulière vu l'importance de déplacement des populations depuis et vers les régions impaludées.



II. HISTORIQUE

Le chercheur qui a observé pour la première fois *P. knowlesi* était probablement, en 1927, Giuseppe Franchini. C'était un paludologue italien, qui a décrit un parasite du sang de *Macaca fascicularis* qui semblait différent de *Plasmodium cynomolgi* et de *Plasmodium inui* [15-19].

En 1931, Napier et Campbell ont inoculé ces plasmodies à trois singes ; ils étaient capables de produire une infection fulminante chez des macaques rhésus (*Macaca mulatta*). En outre, ils ont étudié la capacité du parasite à induire une hémoglobinurie chez *M. fascicularis* [16, 20].

En 1932, Robert Knowles et son assistant Das Gupta, grâce à l'entretien du parasite par un passage successif chez les singes, ont décrit les formes sanguines du parasite et ont démontré que l'inoculation du sang de singe infecté était capable de produire une infection humaine [16, 21]. Dans la même année, le directeur de l'Enquête sur le paludisme de l'Inde, le Colonel John Alexander Sinton et son collègue Dr Mulligan, ont publié deux articles dans lesquels ils décrivaient les caractéristiques du parasite intra-érythrocytaire et son cycle unique schizogonique de 24 heures, soutenant la notion d'une nouvelle espèce qu'ils ont nommé *P. knowlesi* en l'honneur du Dr Robert Knowles [16, 22, 23].

Trois ans plus tard, Van Rooyen et Pile (1935) ont trouvé que la période d'incubation de cette infection est de 3 à 14 jours (avec une moyenne de 8 jours) et ils ont noté que les patients précédemment inoculés par *P. vivax* étaient moins susceptibles de développer l'infection à *P. knowlesi*. L'utilisation de *P. knowlesi* dans le traitement de la neurosyphilis acquise a gagné un succès particulier en Roumanie où il a été utilisé jusqu'à l'année 1955, avant d'être finalement abandonné, car après 170 transferts, la souche était devenue beaucoup plus virulente ce qui a nécessité un traitement médicamenteux [16, 24].

La transmission naturelle possible de *P. knowlesi* des moustiques aux êtres humains a finalement été révélée en 1965 par hasard, comme indiqué par Coatney et ses collaborateurs dans leur monographie et plus récemment par Baird [16, 17, 25, 26]. Il s'agit d'un adulte de 37 ans de l'armée américaine déployé dans la brousse de la Malaisie péninsulaire pendant 5 jours et qui a développé des frissons et de la fièvre sur le chemin du retour au pays.

La reconnaissance définitive que *P. knowlesi* était le véritable agent du cas de paludisme observé chez l'arpenteur de l'armée américaine a été effectuée à la suite des expériences de passage de sang chez six volontaires humains supplémentaires et trois singes rhésus [16, 27]. Trois de ces volontaires humains ont dû être traités par un antipaludique pour mettre fin à l'infection alors que tous les singes sont morts de l'infection palustre. Le rôle possible de *Plasmodium* simien, l'agent important de zoonose, de constituer un risque pour la santé publique humaine était une préoccupation après l'observation de l'infection humaine accidentelle par *P.cynomolgi bastianellii* de *Macaca irus* par les moustiques infectés [16, 17, 26]. Cela a incité le début d'une importante étude par une équipe de scientifiques des Etats-Unis travaillant à l'Institut de recherche médicale dans la Malaisie péninsulaire au début des années 1960. Une enquête menée sur les personnes vivantes à proximité des singes n'a pas réussi à démontrer une transmission naturelle du paludisme simien à l'Homme, bien qu'elle ait permis d'élargir les connaissances sur le paludisme simien et le considéré comme une menace pour l'Homme [16, 28].

Durant les années 1970, *P.knowlesi* a eu un rôle remarquable dans la connaissance et la compréhension du phénomène génétique responsable de la découverte que l'absence du facteur Duffy est la cause de la résistance des peuples africains de l'Ouest à l'infection à *P. vivax* [16, 18, 29].

En 1975, Miller et ses collègues ont montré que les mérozoïtes de *P. knowlesi* ne peuvent envahir que les érythrocytes humains à Duffy positif, et un an plus tard, ils ont prouvé, chez les volontaires de prisonniers noirs du pénitencier d'Atlanta, que les patients Duffy négatif sont réfractaires au *P. vivax* [16, 30, 31]. En outre, le *P. knowlesi* a été le premier parasite du paludisme pour lequel la variation antigénique a été démontrée et qu'elle peut avoir lieu, ce qui suggère que ce processus est d'une importance capitale pour la survie du parasite dans les hôtes vaccinés et c'est le mécanisme qui est responsable de l'infection chronique [16, 32, 33].

En 2004, Balbir Singh et ses collègues, en utilisant une amplification en chaîne par polymérisation (PCR : polymerase chain reaction) spécifique pour le gène ribosomique 18S de *P. knowlesi* ont trouvé que 58% parmi 208 patients atteints de paludisme, ont été infectés

par *P. knowlesi*. Ils ont montré que 116 parmi les 141 patients (82%) qui étaient diagnostiqués comme étant infectés par *P. malariae* en utilisant le microscope dans la division Kapit de Sarawak (Bornéo, en Malaisie) sont réellement infectés par *P. knowlesi* après l'utilisation de la PCR [16, 34].

Signalons également une étude, menée sur des frottis de sang archivés prélevés en 1996 à partir de sept districts de Sarawak et qui sont diagnostiqués par la microscopie en tant que *P. malariae*, qui a montré après utilisation de PCR spécifique que 97% des 36 frottis de sang étaient positifs pour *P.knowlesi* [12, 16]. Cette étude a élégamment démontré que le *P.knowlesi* était responsable de la crise du paludisme qui a attaqué les populations humaines de Bornéo malaisien depuis longtemps avant d'être reconnu comme un agent pathogène important pour l'Homme. Une circulation humaine non reconnue, avec une prévalence faible, mais stable a également été récemment décrite dans des échantillons de sang archivés de la province Tak en Thaïlande [16, 35]. Ainsi, ces études semblent suggérer que, au moins dans certaines zones de l'est de l'Asie du Sud, le *P. knowlesi* n'est pas responsable d'un paludisme zoonotique nouvellement émergent chez l'Homme, mais qu'il a été récemment reconnu grâce aux observations exceptionnelles des chercheurs [16, 34].

Enfin, en 2008, le génome complet de *P. knowlesi* (soucheH, Pk1 clone (A +)) a été séquencé et ensuite publié [16, 36].

Tableau I : Événements historiques et importants de *Plasmodium knowlesi* [16].

Année	Événement
1927	D'abord l'observation probable de <i>P. knowlesi</i> par Giuseppe Franchini.
1931-1932	Campbell et Napier ont inoculé <i>P. knowlesi</i> à un singe rhésus avec la description d'une maladie foudroyante.
1932	Robert Knowles et Biraj Das Gupta, à Calcutta, ont décrit les formes sanguines du parasite. Ils ont expérimentalement démontré la transmission aux humains.
1932	Sinton et Mulligan ont nommé l'espèce comme <i>Plasmodium knowlesi</i> en l'honneur de Knowles.
1935	Van Rooyen et Pile ont utilisé pour la première fois <i>P. knowlesi</i> pour traiter la

	neurosyphilis.
1961	Wharton et Eyles ont montré que l' <i>Anopheles hackeri</i> est un vecteur naturel en Malaisie.
1965	Première description par Chin et ses collaborateurs d'une infection naturellement acquise chez un soldat américain, déployé en Malaisie péninsulaire.
1965	l'Observation de la variation antigénique de <i>P. knowlesi</i>
1975	Protéines Duffy identifiées comme des récepteurs qui assurent l'invasion des érythrocytes par <i>P. knowlesi</i> .
2004	Balbir Singh et ses collaborateurs rapportent un grand foyer de la malaria humaine causée par <i>P. knowlesi</i> dans la partie Malaisienne de Bornéo.
2008	Séquençage et publication du génome entier de <i>P. knowlesi</i>
2008	Cox-Singh et ses collègues ont montré que <i>P. knowlesi</i> peut causer un paludisme grave et mortel



Figure 1: Le lieutenant-Colonel Robert Knowles (1883-1936), le malariologiste qui a décrit les formes sanguines de *P. knowlesi* et qui a démontré qu'il peut produire une infection humaine. Il a été nommé professeur de Protozoologie (1921) et directeur de l'école Calcutta de la médecine tropicale (1933-1935), il a été également rédacteur en chef de la Gazette médicale indienne où la recherche initiale sur *P. knowlesi* a été publiée. Photo gracieuse du Prof Krishnangshu Roy, le directeur réel de l'école Calcutta de la médecine tropicale [16].



III. ETUDE DU
PLASMODIUM KNOWLESII

1. Classification :

Le paludisme est une infection parasitaire due à un protozoaire (être unicellulaire) nommé *Plasmodium* ; c'est un parasite intracellulaire de quelques micromètres, amiboïde, colonisant les hématies et les hépatocytes. Les *Plasmodium* appartiennent à la Classe des Sporozoaires, Ordre des Hémococcidies. Ils font partie du même embranchement que les coccidies, l'embranchement des Apicomplexa, mais à un groupe différent, celui des hémospories. Ce sont surtout des caractères morphologiques et des particularités du cycle biologique qui ont été utilisés comme critères taxonomiques dans la classification classique de Garnham.

Le genre *Plasmodium* est subdivisé en 10 sous-genres. Les parasites des humains et des primates sont tous soit du sous-genre *Plasmodium* soit du sous-genre *P. Laverania* (Figure 2), alors que toutes les autres espèces infectant les mammifères sont du sous-genre hétérogène *P. Vinckeia* [37].

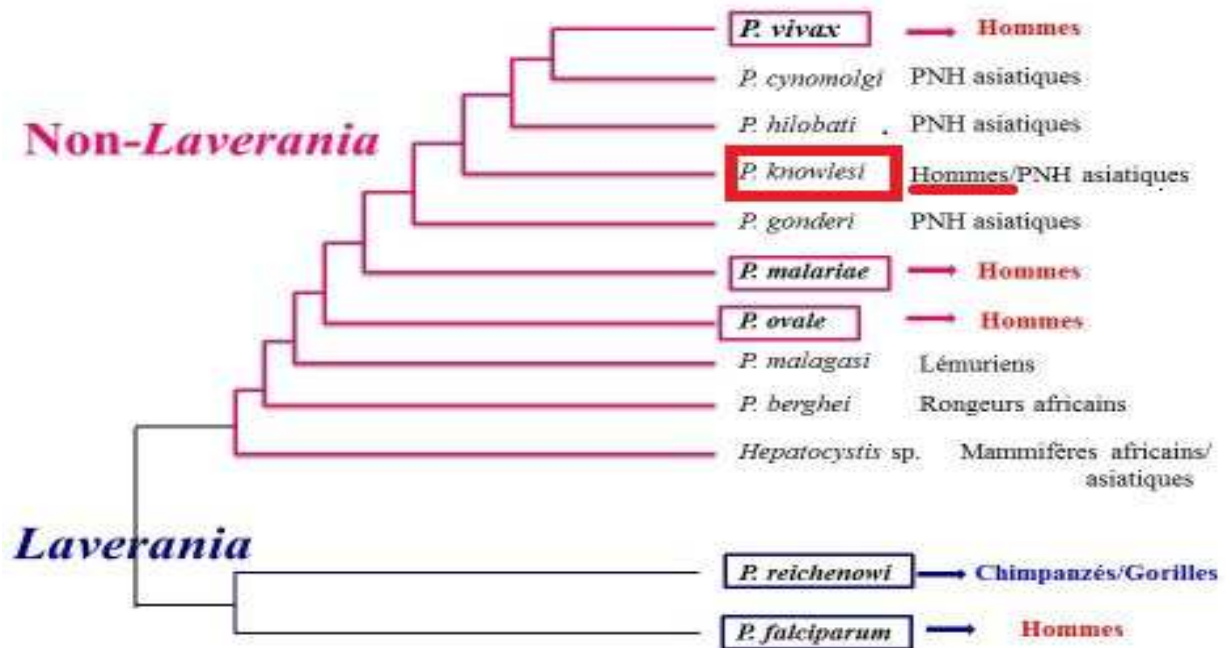


Figure 2: Phylogénie du *Plasmodium* des Primates non humains (PNH) et de l'Homme [37].

2. La morphologie du parasite :

2.1. Aspect microscopique :

Les *Plasmodium* ont des formes amiboïdes. Leurs dimensions varient entre 1 et 60 μm selon le stade évolutif. Les grandes formes sont multinuclées et constituent de véritables plasmodies, d'où le nom *Plasmodium* [37]. Morphologiquement le *P.knowlesi* peut simuler au *P.falciparum* lorsqu'on n'observe que des trophozoïtes, et il peut être confondu avec *P. malariae* lorsque les schizontes et les rosaces sont observés [38].

La morphologie de *P. knowlesi* en frottis minces de sang a été capturée en image et comparée à toutes les étapes des deux espèces de *Plasmodium* : *P. falciparum* et *P. malariae*. Toutes les étapes du cycle érythrocytaire du parasite ont été observées dans les frottis minces de sang des macaques colorés au Giemsa. Les premiers trophozoïtes sont apparus sous formes annulaires, ces formes sont identiques aux premiers trophozoïtes de *P. falciparum* (Fig. 3a). Le noyau est sphérique, moins dense et parfois irrégulier, il est plus grand que ceux du *P.falciparum* et rarement vu, situé à l'intérieur de l'anneau (Fig. 3b). Le cytoplasme est moins dense au début des trophozoïtes et non finement structurés comme dans le stade des formes annulaires du *P. falciparum*. Parfois, plus qu'une forme d'anneau est observée dans chaque érythrocyte, et une double pointe de chromatine peut être également observée (Fig. 3c). Les Trophozoïtes tardifs n'occupent pas plus de deux-tiers d'érythrocyte, le cytoplasme est compact et non amiboïde, comme on le voit dans *P. malariae* (Fig. 3d). Dans certains frottis sanguins on observe des trophozoïtes tardifs sous forme de bande (Fig. 3e) et des formes qui ressemblent à l'œil d'oiseau (Fig. 3f) sont des formes typiques de *P.malariae*.

Les Schizontes ont un groupe de huit à seize mérozoïtes et les schizontes murs ne remplissent pas l'ensemble des érythrocytes (Fig. 3g). Les trophozoïtes et les schizontes tardifs sont densément pigmentés d'un brun foncé. Les Gamétocytes sont ronds et similaires à ceux de *P. malariae*, ils remplissent la plupart de l'érythrocyte et les pigments sont dispersés (Fig. 3h). Les Trophozoïtes tardifs et les érythrocytes infectés par des schizontes, fréquemment vus dans les frottis de sang, ne sont pas agrandis [14].

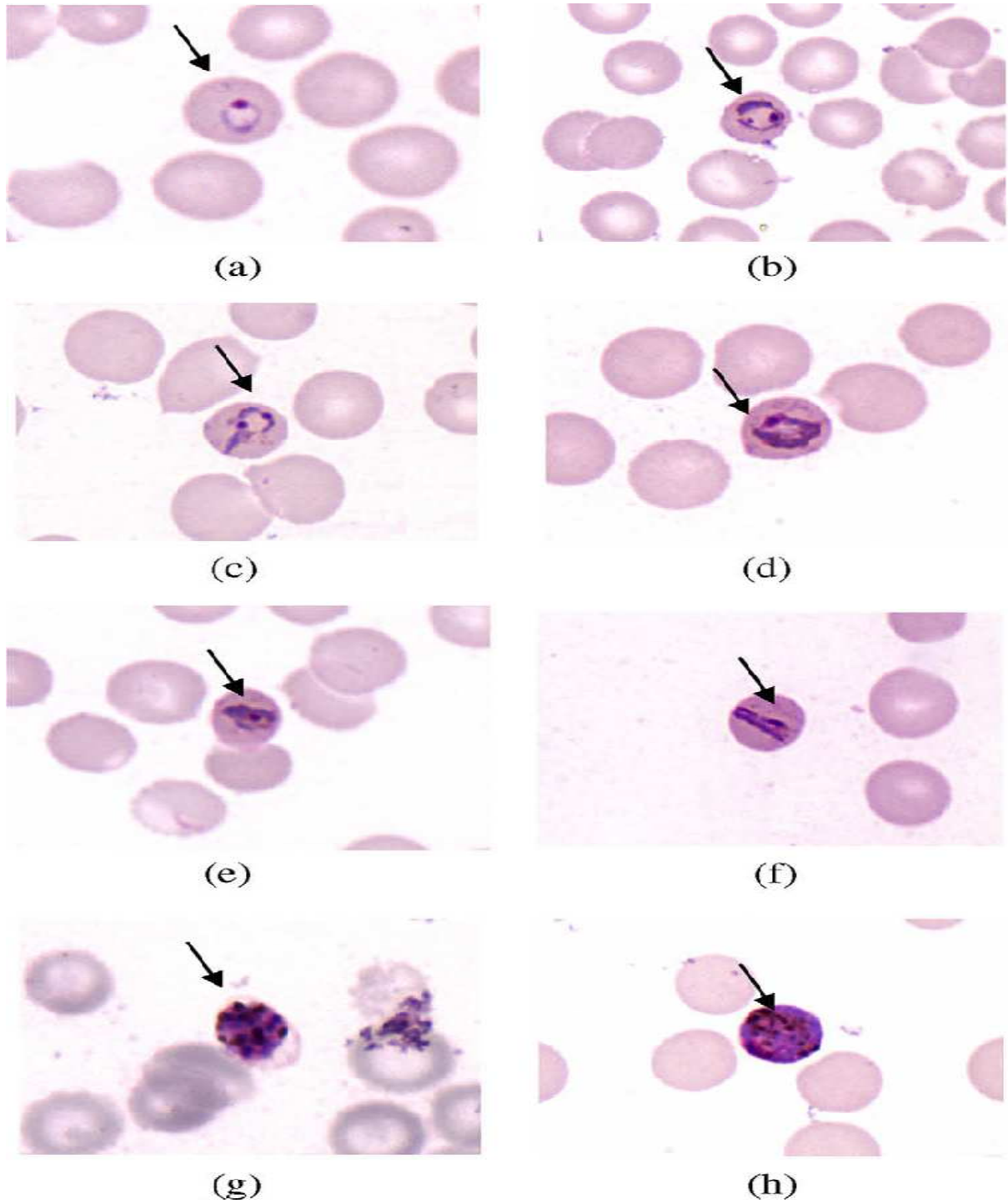
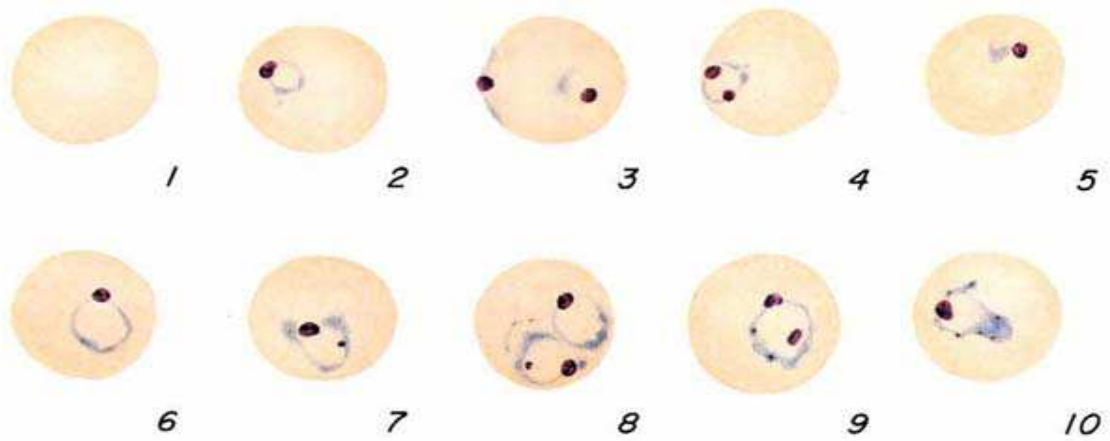


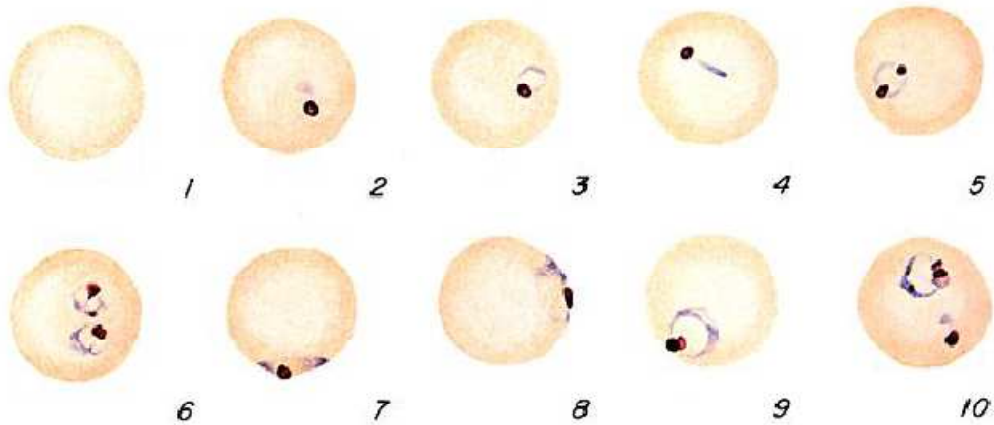
Figure 3: Morphologie de *Plasmodium knowlesi* : (a) *P. knowlesi* sous forme d'anneau ressemblant au *P. falciparum* dans les premiers trophozoïtes. (b) la chromatine rarement située à l'intérieur de l'anneau.(c) Double chromatine vue au début du trophozoïte. (d) les trophozoïtes tardifs n'occupent pas plus de deux tiers d'érythrocyte. (e) un trophozoïte sous forme de "l'œil d'oiseau ".(f) forme de bande à la fin du stade trophozoïte.(g) schizonte qui se compose de 16 mérozoïtes.(h) macrogamètocytes de *P. knowlesi* [14]

Les formes jeunes ressemblent au *P. falciparum* [39].

➤ Trophozoïtes jeunes de *P. knowlesi*



➤ Trophozoïtes jeunes de *P. falciparum*

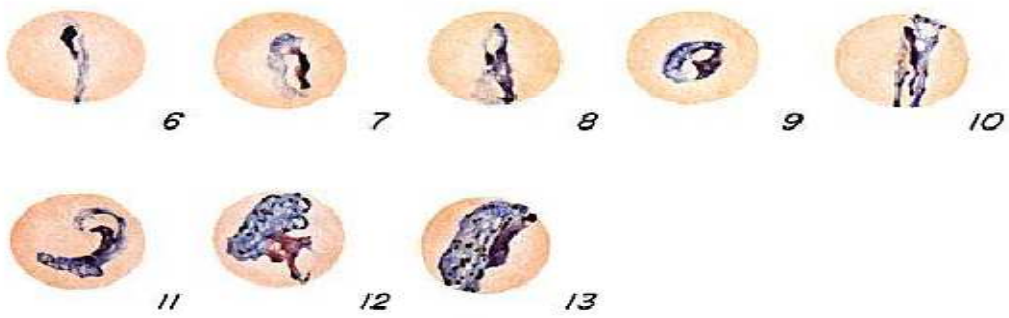


Les formes âgées ressemblent au *P. malariae* [39].

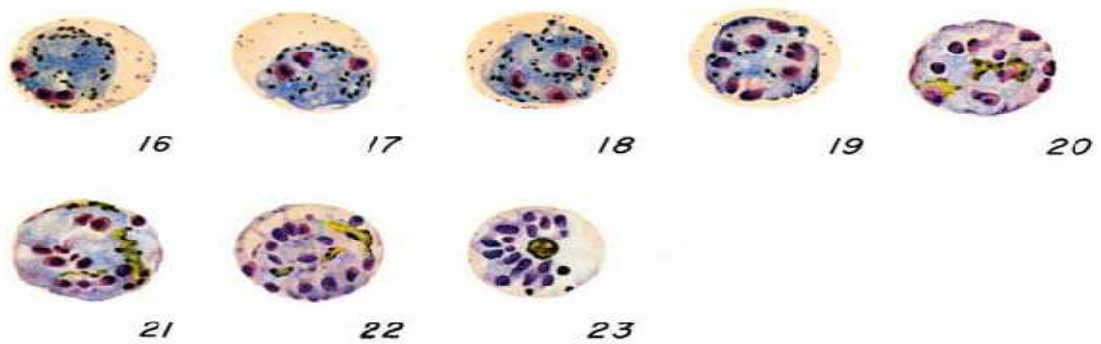
➤ Trophozoïtes âgés de *P. knowlesi*



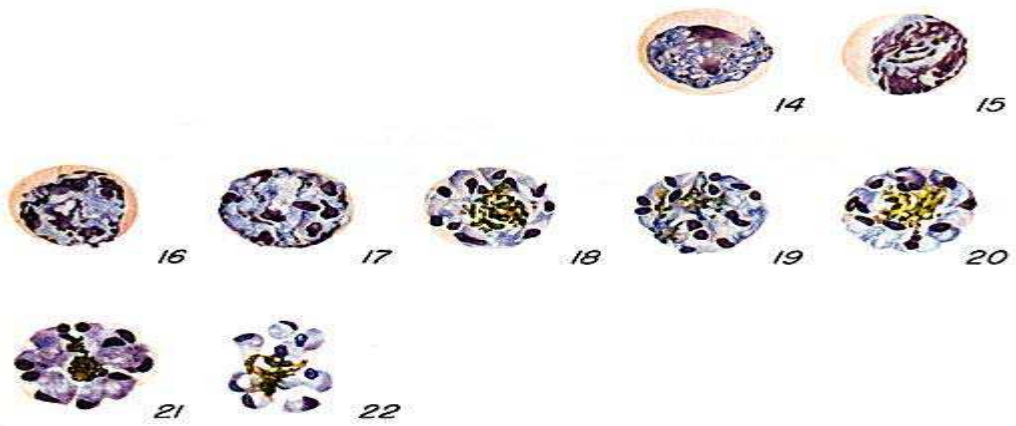
➤ Trophozoïtes âgés de *P. malariae*



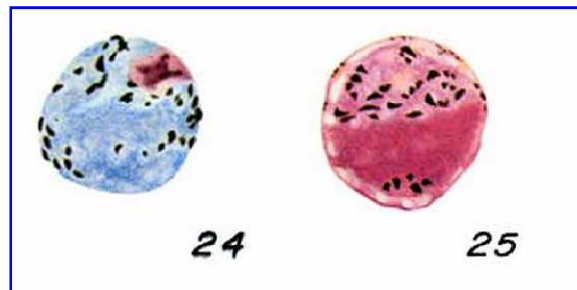
➤ Schizontes de *P. knowlesi*



➤ Schizontes de *P.malariae*



➤ Gamétocytes de *P. knowlesi*



➤ Gamétocytes de *P. malariae*



2.2. Ultra-structure du parasite :

L'étude de l'ultra-structure du parasite a pour but de comprendre le mécanisme utilisé par les parasites de *Plasmodium* pour l'invasion des cellules hôtes. Elle est actuellement l'objet d'enquêtes intenses, et elle reflète l'importance cruciale de ce mécanisme dans la compréhension de la biologie du parasite. Ces études peuvent en même temps être les points de départ pour la conception des molécules qui interfèrent avec le processus de l'invasion et qui pourraient être développées dans les nouveaux antipaludiques [40].

Le *Plasmodium* emploie son propre moteur sur la base de la myosine-actine pour la locomotion vers l'avant, la pénétration des barrières cellulaires et moléculaires, et pour l'invasion des cellules cibles. Le sporozoïte est unique parmi les formes de développement extracellulaires du *Plasmodium*, par le fait qu'il doit traverser des distances considérables et différents tissus à l'intérieur des hôtes de moustiques et de vertébrés pour atteindre finalement une cellule parenchymateuse du foie, c'est la cellule cible où il se transforme et se réplique. Tout au long de ce voyage, le parasite alterne entre son transport passif par les fluides corporels, et sa propre motilité cellulaire active lui permettant de se glisser de façon transparente à travers les matrices extracellulaires et les barrières cellulaires. Mais quelle que soit la voie choisie, les sporozoïtes sont obligés de continuer à avancer à un rythme assez rapide pour échapper à la destruction par les mécanismes de défense de l'hôte. Ici, on va mettre en évidence et on discutera les découvertes récentes recueillies au sujet des sporozoïtes de *Plasmodium* et les parasites liés qui répandent à un nouvel éclairage sur la signification biologique de la motilité de l'apicomplexe, et sur la structure et la régulation des machines à moteur sous-jacent [41].

Plasmodium knowlesi appartient à l'embranchement des Apicomplexa. C'est un grand embranchement des protozoaires et des organismes intracellulaires obligatoires qui envahissent activement les cellules hôtes par le développement en étapes spécialisées. Ce sont des cellules très polarisées et généralement allongées. La caractéristique de ces agents pathogènes est la présence des organites sécrétoires à l'extrémité apicale, nommés les micronèmes et les rhoptries. Le contenu de ces deux organites (et celui des granules denses, bien que ne sont pas encore identifiés dans le *Plasmodium*) est essentiel pour la

reconnaissance et l'attachement de la cellule hôte, la génération de vacuole non-phagosome parasitophore (PV) qui constitue une niche cellulaire dans laquelle le parasite va résider et se répliquer, et pour le remodelage de la cellule hôte suite à l'invasion [41].

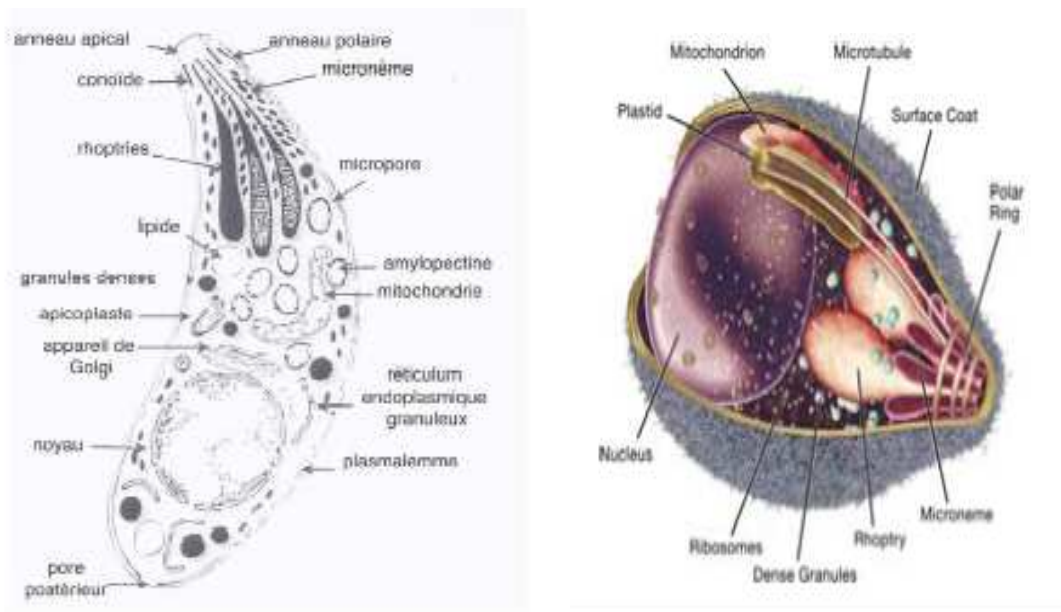


Figure 4: Représentation schématique de la structure d'un sporozoïte [42]

Les Organites apicaux déchargent une variété de molécules de surface trans-membranaires de type I, dites protéines de la famille TRAP (Thrombospondin related adhesive protein) ; c'est la protéine anonyme apparentée à la thrombospondine. Ces protéines portent un court domaine cytoplasmique, qui médie la liaison au cytosquelette du parasite, et un seul ou multiples copies des domaines extracellulaires adhésifs de différentes spécificités. Une fois ces ligands de surface du parasite s'engagent aux récepteurs cellulaires appropriés, une jonction mobile (MJ) est formée entre la membrane de la cellule hôte et le parasite. Cette jonction mobile forme initialement un capuchon épaissi de la membrane de la cellule hôte couvrant la pointe du parasite, et à des moments plus tard lorsque l'invasion s'étend dans un anneau serré encerclant le parasite et formant une constriction distincte. Plusieurs protéines parasitaires, par exemple l'antigène de la membrane apicale1 (AMA1) et les protéines du cou

des rhoptries (RON) ont un rôle clé dans l'établissement de cet attachement particulière (figure 5) [41].

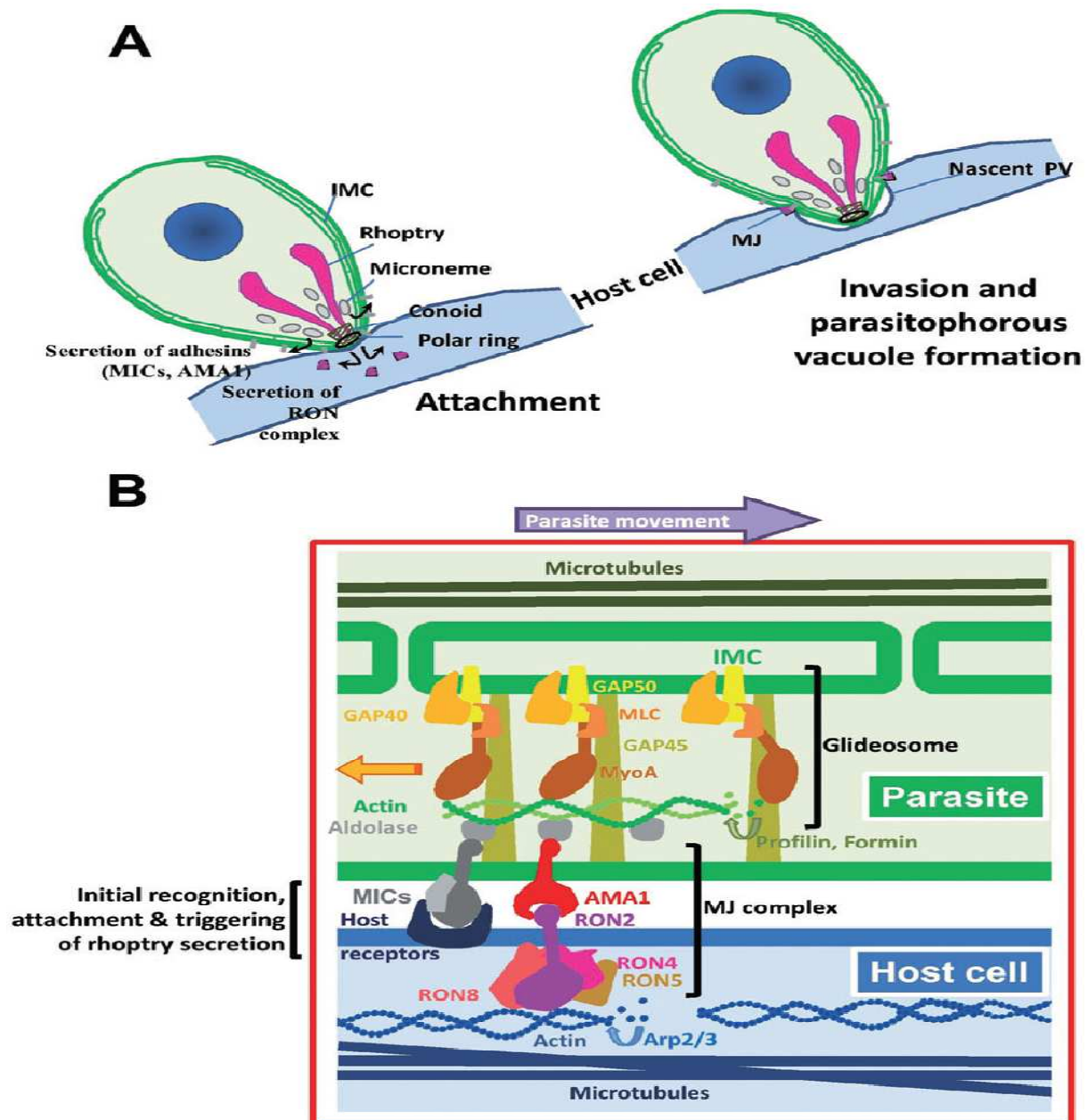


Figure 5: Le mécanisme d'invasion d'Apicomplexa. A : les étapes initiales de l'attachement et de l'invasion d'un étage de zoïte d'apicomplexe typique. Le zoïte se lie à sa première cellule hôte en utilisant les protéines de micronème et les matériaux des rhoptries sécrétées, y compris les composants de la jonction mobile MJ (à gauche). Pénétration active du parasite à l'intérieur de la cellule hôte après la formation de la jonction mobile, ainsi la formation de la vacuole parasitophore PV (à droite). B. Détail de la MJ annotée en A. modèle actuel de machines de la motilité d'apicomplexe, le complexe de MJ et leurs liens respectifs avec l'hôte et le cytosquelette du parasite [42].

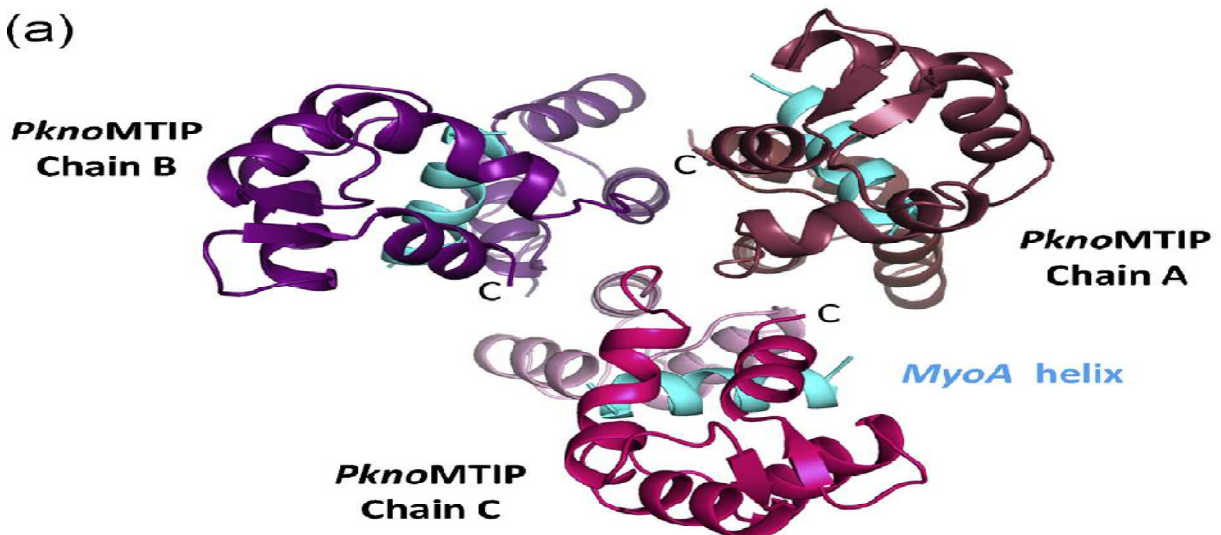
Les protéines clés telles que TRAP, aldolase, l'actine, la myosine A, MTIP (myosin tail domain interacting protein) GAP40, GAP45, GAP50 (glideosome associated protein) et d'autres ont été identifiées comme des éléments essentiels participant à la machine de l'invasion. Des études ont précédemment réussi à déterminer les structures cristallines de plusieurs protéines de ce système. Il s'agit notamment de l'aldolase de *Plasmodium falciparum* dans un complexe avec la queue de TRAP; le domaine de GAP50 soluble de *P.falciparum*, ligand-libre de *Plasmodium knowlesi* MTIP (PknoMTIP) et le complexe PknoMTIP avec la queue peptide MyoA (PknoMTIP • MyoA); MTIP *P. falciparum* dans un complexe avec la queue peptide MyoA (PfalMTIP • MyoA) et la structure de l'extrémité C-terminale du domaine de PfalMTIP dans un complexe avec un nanocorps.

MTIP de *P. knowlesi* interagit avec l'hélice C-terminale de la myosine A et avec GAP45. De ce fait, MTIP joue un rôle crucial dans la chaîne des protéines TRAP menant l'interaction d'une protéine de surface des cellules humaines au complexe de la membrane interne (IMC) du parasite paludéen.

MTIP est une protéine à trois domaines dont le premier domaine (D1) est impliqué dans les interactions avec GAP45 étroitement liées, comme observé dans le parasite Apicomplexe de *Toxoplasma gondii*. Le second domaine (D2) interagit avec la queue de l'hélice MyoA dans le complexe PfalMTIP • MyoA compact mais pas dans le complexe prolongé PknoMTIP • MyoA. Le troisième domaine (D3) interagit avec la queue MyoA à la fois signalé dans les deux complexes PfalMTIP • MyoA et PknoMTIP • MyoA. Le domaine D3 subit des changements conformationnels importants lors de la liaison à la queue de l'hélice MyoA [9,10]. La position relative et l'orientation de D2 et D3 dans le complexe PknoMTIP • MyoA semblaient être considérablement différente de celle dans le complexe PfalMTIP • MyoA. Dans le complexe PknoMTIP • MyoA, MTIP est étendue à des domaines D2 et D3 qui sont éloignés, relié par une hélice centrale essentiellement rectiligne tandis que seulement D3 interagit avec la queue de l'hélice MyoA. Par contre, la conformation de MTIP dans PfalMTIP • MyoA est compact avec les domaines D2 et D3 qui sont beaucoup plus rapprochés, reliés par une hélice centrale pliée tandis que les deux domaines interagissent avec la queue de l'hélice MyoA. Il a été déjà suggéré qu'à la fois le pH et la longueur de la construction utilisée pourrait être un facteur crucial dans la détermination de la conformation

des MTIP dans un complexe avec la queue de l'hélice MyoA. Ici, la preuve est apportée que PknoMTIP peut adopter une étendue ainsi qu'une conformation compacte lors de la liaison à la queue de l'hélice MyoA avec un pH plus élevé, et c'est le facteur crucial pour la rendre compacte du complexe Pfa1MTIP • MyoA possible.

(a)



(b)

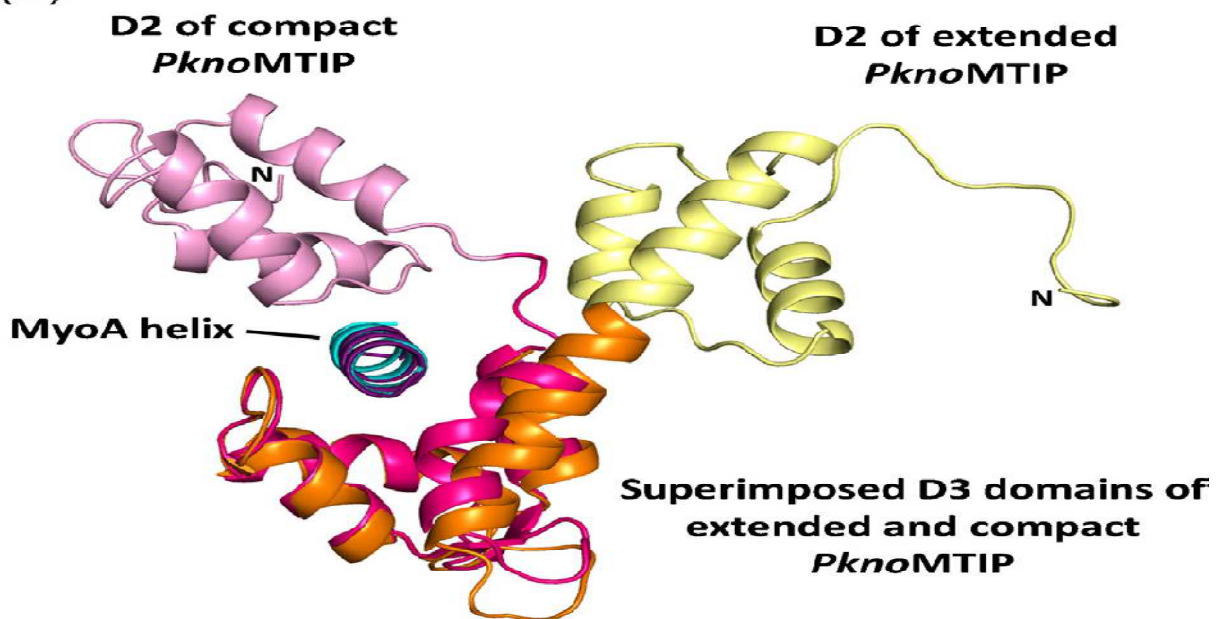


Figure 6: La structure de *P. knowlesi* MTIP • MyoA. : (A) Les trois compacts du complexe PknoMTIP • MyoA dans l'unité asymétrique. Les hélices MyoA apparaissent en bleu ciel. Le domaine D2 pour chaque sous-unité est dans une nuance plus légère par rapport au correspondant au D3. (B) Superposition de la D3 de la nouvelle compacte du complexe PknoMTIP • MyoA (chaîne C, PknoMTIP-D2 est en rose, PknoMTIP-D3 en magenta et l'hélice MyoA en bleu ciel) sur la conformation étendue dans le complexe PknoMTIP • MyoA (D2 est en jaune, D3 est en orange et hélice MyoA en violet profond) [40, 43].

La conformation de MTIP dans le nouveau complexe PknoMTIP • MyoA diffère considérablement de celle observée dans la structure cristalline PknoMTIP • MyoA précédente (Fig. 6B). Bien que les deux structures contiennent trois chaînes par unité asymétrique, précédemment les trois sous-unités adoptent trois conformations distinctes, toutes avec une hélice étendue reliant, malgré le fait que les sous-unités A et B ne contenaient aucune MyoA [40, 43]. En revanche, dans la structure actuelle, les trois molécules MTIP sont toutes essentielles, avec l'hélice de la liaison coudée, qui en résulte, dans chaque cas, dans la conformation compacte PknoMTIP. Clairement PknoMTIP est capable d'adopter deux conformations très différentes, même lorsqu'il entre en complexe avec la queue de l'hélice MyoA.

La nouvelle structure cristalline du complexe PknoMTIP • MyoA montre, en trois exemplaires (Fig. 6A), que le PknoMTIP est capable d'adopter une conformation compacte où PknoMTIP-D2 et PknoMTIP-D3 entourent la queue de l'hélice MyoA, et qu'ils se différencient des conformations prolongées de PknoMTIP observées auparavant. Maintenant les quatre conformations disponibles de PknoMTIP indiquent que PknoMTIP est une protéine hautement flexible, capable d'adopter des différentes conformations étendues en absence de la queue MyoA, une conformation étendue en complexe avec la queue MyoA et une conformation compacte dans un complexe avec la queue MyoA (Fig. 5). En outre, le troisième domaine peut adopter différentes conformations en l'absence et en présence de la queue de l'hélice MyoA. Ce spectre de conformations indique une grande mobilité de MTIP ligandé et sans ligand en solution. L'importance de cette flexibilité dans les conditions physiologiques doit encore être établie avec d'autres enquêtes [40].

3. La génétique du parasite :

➤ Le génome de *Plasmodium knowlesi* :

Plasmodium knowlesi était la première espèce parasitaire de *Plasmodium* dans laquelle la variation antigénique était démontrée. Elle a une relation phylogénétique proche du *Plasmodium vivax*, qui est la seconde espèce la plus importante du parasite paludéen humain. En dépit de leur parenté, il existe des différences importantes entre leurs caractères phénotypiques, tels que les préférences cellulaires sanguines, absence de stade hépatique

dormant ou "hypnozoïte" dans *P. knowlesi* et la longueur du cycle asexué. On présente ici une analyse de la séquence du génome nucléaire du *P. knowlesi* (souche H, Pk1 (A +) clone 5). C'est le premier parasite du paludisme simien dont le génome a été décrit, ce qui fournit une occasion pour la comparaison avec le génome de *P. vivax* récemment achevé et autres génomes de *Plasmodium* séquencés. Contrairement aux autres génomes de *Plasmodium*, les familles d'antigène variant putatif sont dispersées dans le génome et sont associés à des séquences télomériques intrachromosomiques (ITS). L'une de ces familles, le KIRs9, contient des séquences qui correspondent collectivement à plus de la moitié du domaine CD99 extracellulaire de l'hôte, ce qui peut représenter une forme inhabituelle de mimétisme moléculaire.

Le génome nucléaire de 23,5 méga bases (Mb) est composé de 14 chromosomes et contient le complément attendu de l'ARN non codant (ARNnc), des gènes ayant une fonction connue (Tableau 2) et un grand nombre des nouveaux structurés ARNnc des gènes candidats. Les centromères présumés sont semblables à ceux trouvés dans d'autres espèces de *Plasmodium* et sont en position conservée dans des régions partageant la synténie avec *P. vivax*. La composition globale de base G + C est de 37,5%. Un total de 5188 gènes codant pour des protéines ont été identifiés, ce qui est légèrement inférieur à la taille prédite du protéome de *P. falciparum* et *P. vivax* [36].

Tableau II: Résumé de génomes de *P. knowlesi*, *P. vivax* et *P. falciparum* [36]

	<i>P. knowlesi</i>	<i>P. vivax</i>	<i>P.falciparum</i>
La taille du génome (Mb)	23.5	26.8	23.3
Teneur en G + C (%)	37.5	42.3	19.4
Nombre de gènes	5188*	5433*	5403*
Nombre de gènes d'ARNt	44	44	43
Nombre de gènes ARNr	6**	10	10
Nombre de gènesARNsn	6	Nd	Nd

* Y compris les pseudos gènes et les gènes partiels, à l'exclusion des gènes de l'ARN non-codants

** Présente dans l'assemblage courant (PK)

Nd : non déterminé

Exceptionnellement, pour les espèces du *Plasmodium*, les régions répétées riches en (G + C) associées à des séquences télomériques intrachromosomiques (ITSs) et contenant la séquence heptade (GGGTT [T / C] A) sont disponibles sur plusieurs sites internes au niveau des chromosomes de *P. knowlesi*, présentées en tandem ou comme des composants de grandes unités de répétition (Fig. 7). Ces séquences apparaissent rarement chez le *P. vivax* et *P. falciparum* au niveau des sites chromosomiques internes. Chez les protozoaires du *Trypanosoma brucei*, ITSs peuvent être des modèles pour les événements de recombinaison qui résultent de la conversion des gènes entre l'antigène variant du gène VSG . Dans les génomes des mammifères, ITSs sont fréquentes et peuvent représenter des «marqueurs» qui repèrent les cassures au niveau de l'ADN double brin. Alternativement, ITSs peuvent avoir un rôle dans le contrôle transcriptionnel [36].

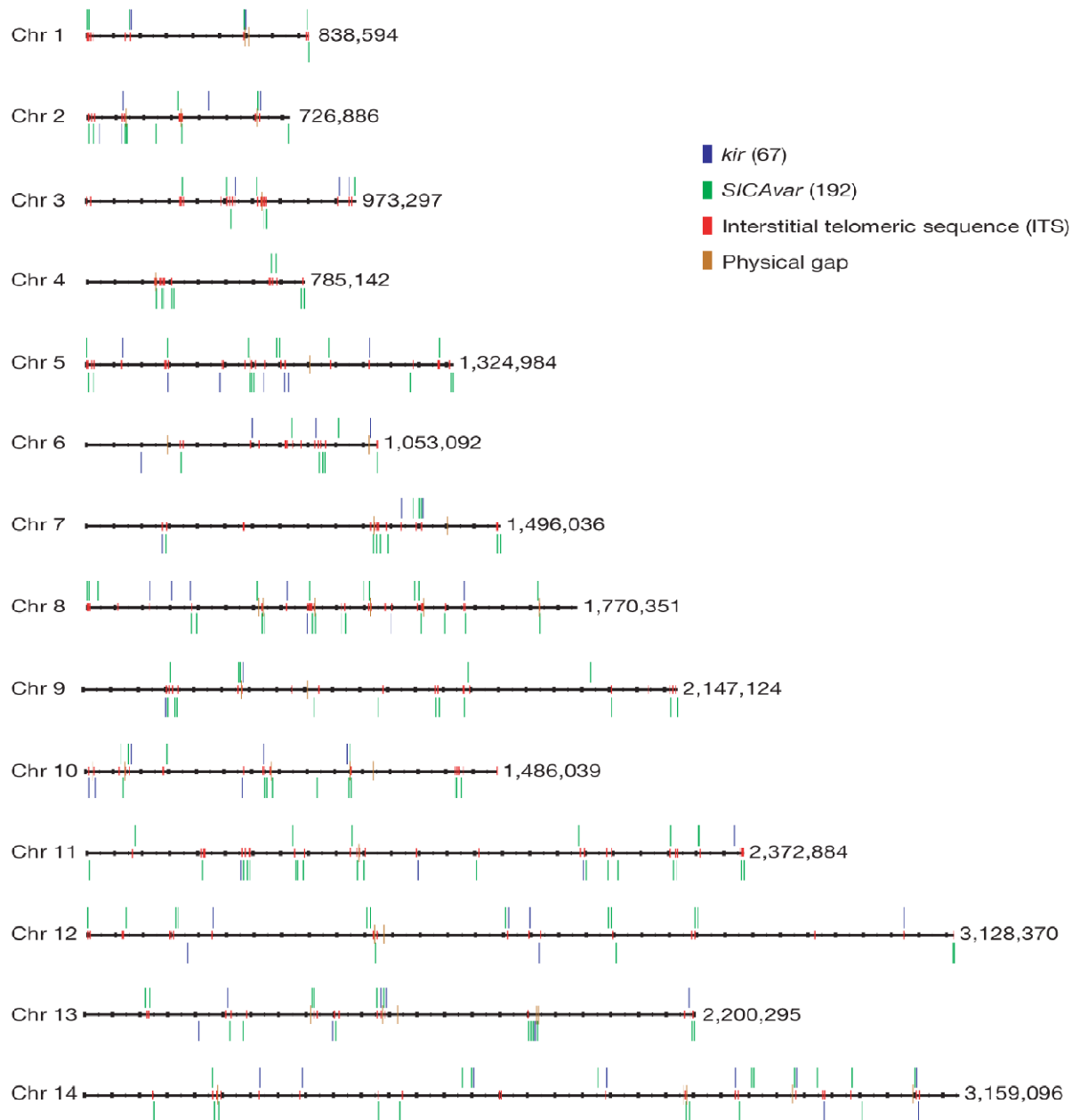


Figure 7: Répartition des gènes *SICAVar*, les gènes *kir* et les répétitions télomériques sur les chromosomes 1 à 14 de *P. knowlesi* (souche H). Les positions de *kir* en bleu, et *SICAVar* en vert. Les gènes et les fragments des gènes sont affichés sur les 14 chromosomes. Les Séquences télomériques interstitielles (GGGTT [T / C] A) se trouvent autour des gènes *kir* et *SICAVar* (indiqués en rouge). Les valeurs le long de la droite de chaque chromosome indiquent la longueur de la séquence totale en paires de bases (pb) [36].

Tableau III: Présentation des chromosomes de *P.knowlesi* (souche H) [36]

Chromosome	Taille en bp	Gènes	Centromère	Contigs	lacunes physiques	lacunes Séquence
1	838594	178	non	6	2	3
2	726886	160	oui	12	6	5
3	973297	201	putatif	8	1	6
4	785142	179	non	8	1	6
5	1324984	288	non	20	3	16
6	1053092	235	non	8	3	4
7	1496036	343	non	10	2	7
8	1770351	387	partiel	18	7	10
9	2147124	460	partiel	17	2	14
10	1486039	326	non	14	5	8
11	2372884	491	non	22	1	20
12	3128370	708	partiel	16	3	12
13	2200295	464	non	19	6	12
14	3159096	692	non	26	6	19
Non attribué	636470	77	non	511		
Total	24098660	5188		715	48	142

Pour environ 80% (4156 sur 5185) des gènes prédits dans *P. knowlesi*, les orthologues peuvent être identifiés à la fois dans *P. falciparum* et *P. vivax*. Les familles des gènes de l'antigène variant spécifique au *P. knowlesi*, gènes SICAvax et gènes kir, forment les plus grands groupes des extensions spécifiques du *P. knowlesi*. Cinq familles des gènes distincts de fonction inconnue, avec 4-15 membres paralogues, sont propres au *P.knowlesi*, dénommé de Pk-fam-a à Pk-fam-e. Pk-fam-a et Pk-fam-b ont chacun plus de neuf membres paralogues, ayant une structure de gène de deux exons avec un peptide signal, et une région carboxy-terminale transmembranaire, mais n'ont pas des motifs typiques d'exportation. Les membres

de la famille des protéines Pk-fam-c et Pk-fam-e représentent deux nouvelles familles avec des protéines signales d'exportation putatifs.

Une comparaison des domaines Pfam entre les protéomes prédits de *P.knowlesi*, *P.vivax* et *P.falciparum*, a révélé des différences importantes dans les domaines qui distinguent les familles des protéines spécifiques aux espèces impliquées dans la variation antigénique. Le reste du protéome a été relativement conservé malgré quelques variations intéressantes du nombre des copies de quelques enzymes clés de ménage. Dans les autres génomes de *Plasmodium* séquencés à ce jour, les familles des gènes variantes impliquées dans la variation antigénique sont généralement disposées dans les subtélomères, et seulement quelques membres de ces familles ont été trouvés jusqu'ici sur les sites intrachromosomiques. Notamment, la séquence du génome de *P.knowlesi* a révélé que les grandes familles des gènes variants (SICAvar13 et kir9) sont réparties au hasard dans l'ensemble des 14 chromosomes (Fig. 7) et souvent co-localisées avec le contenant de répétition ITS.

Bien que tous les télomères n'aient pas été entièrement assemblés, nous savons que dans le cas du chromosome 7, le *P. knowlesi* et *P. vivax* ont un gène atypique contenant le code du subtélomère pour des protéines associées à l'invasion des mérozoïtes (par exemple, MAEBL et le membre de la famille reticulocytebinding-like (RBL)).

Les variantes SICA (agglutination cellulaire des schizontes infectés), sont des antigènes à la surface des cellules rouges du sang infecté. Ils sont associés à la virulence du parasite et codés par la famille des gènes SICAvar, c'est la plus grande famille de gène d'antigène variant dans le *P. knowlesi*. Le changement du type de variante participe à la mise en place d'une infection chronique chez l'hôte vertébré, un processus qui est essentiel dans toutes les espèces, afin d'assurer la transmission par les moustiques et l'achèvement du cycle de vie. Les gènes SICAvar ont 3-14 exons en pleine longueur (Fig8), résultant d'une gamme de taille pour les protéines prédites de 53 à 247 kDa. Bien que des nombreux gènes SICAvar ne se présentent que sous forme de fragments, les chercheurs estiment qu'il ya jusqu'à 107 membres dans la souche H de *P. knowlesi* en fonction du nombre d'exons finaux conservés [36].

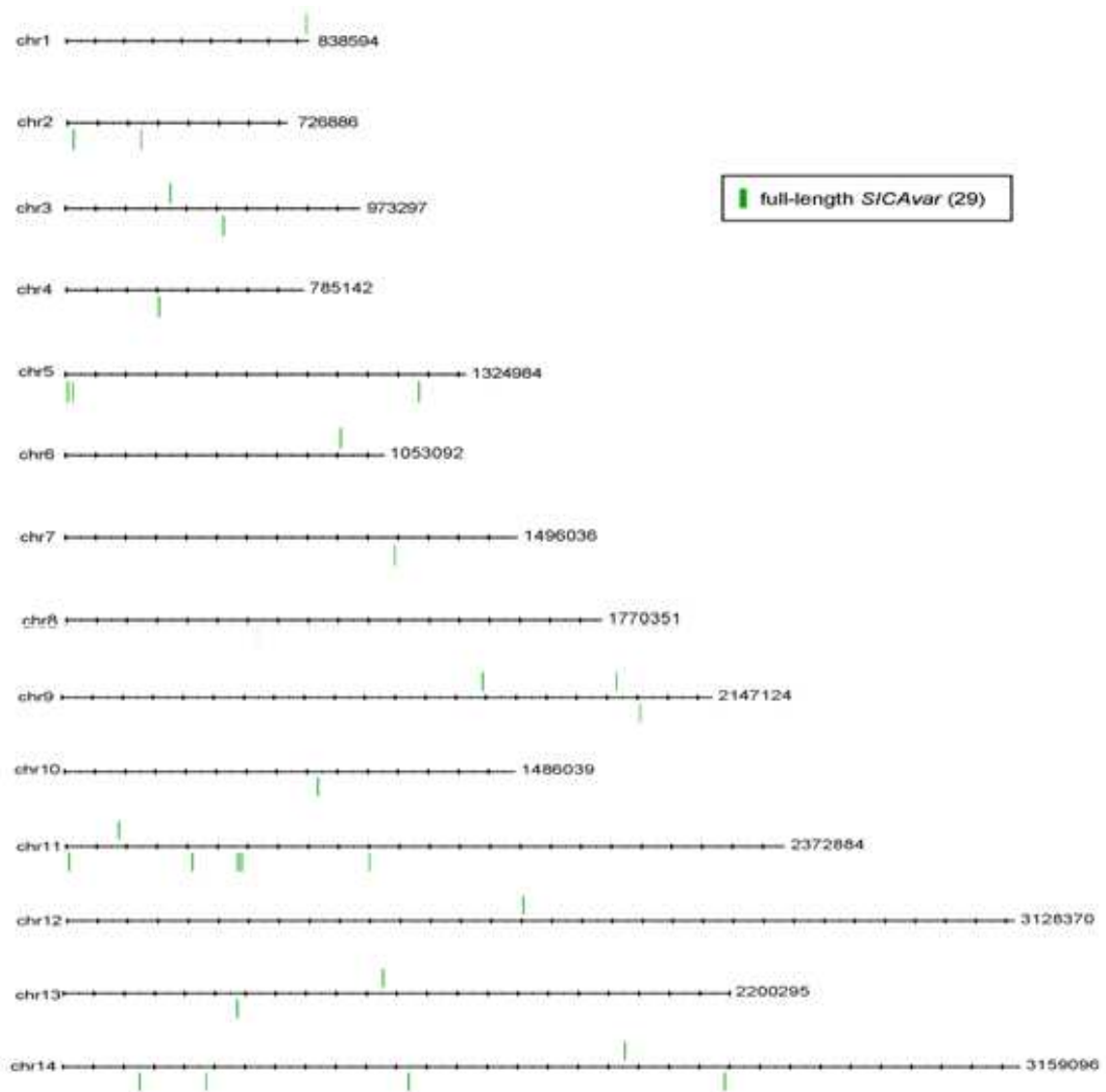


Figure 8: La distribution des gènes SICAvAr le long des chromosomes de 1 à 14 de la souche H du *P.knowlesi* [36]

Vingt-neuf gènes prédits des gènes SICAvAr ayant des structures complètes de gène ont été divisés en deux sous-types (Fig 9).

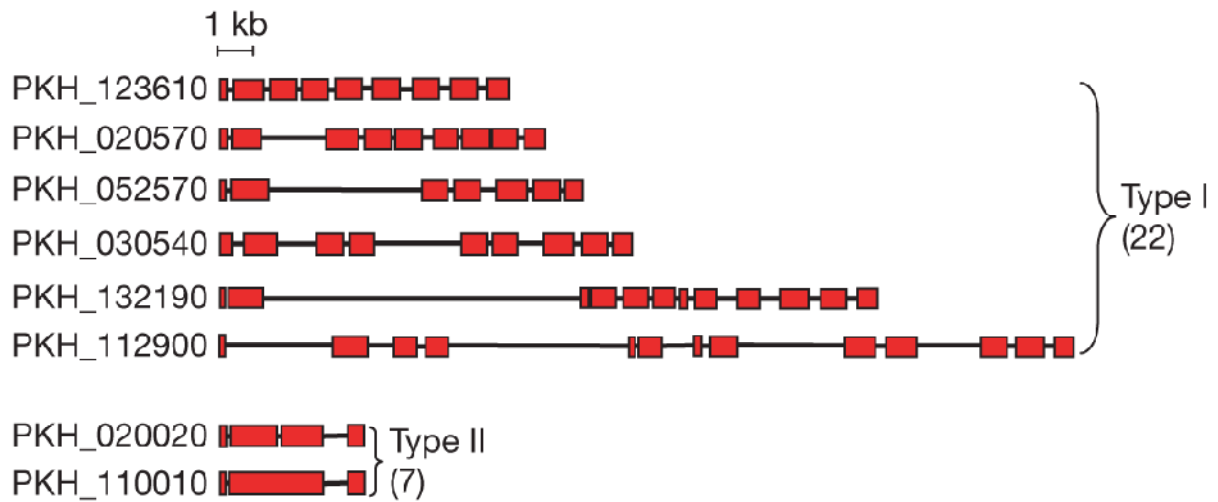


Figure 9: Organisation structurale complète des gènes SICAvAr chez *P. knowlesi* (souche H), vue schématique de la structure de l'exon des gènes SICAvAr de type I et de type II. Les exons sont représentés par des cases rouges et les introns comme des lignes d'assemblage [36].

Le type I de gènes SICAvAr avec 7-14 exons prédominants, avec quelques uns contenant inhabituellement des introns longs. Le type II représente des petits gènes SICAvAr avec une structure de 3-4 exons et des grands introns inhabituels (5,8 à 13,6 ko) qui sont une caractéristique unique des gènes SICAvAr, et qui n'ont pas été déjà vus dans un autre gène séquencé d'apicomplexa (Fig 9).

Les antigènes SICA ont une structure modulaire (Fig 10), comprenant un nombre variable de domaines très riches en cystéine (CRDs : cystéine-riche domaine) codés par plusieurs exons, un domaine transmembranaire et un domaine cytoplasmique. Un niveau élevé d'une diversité de la séquence a été observé, à l'exception de 3' terminale d'exon13. L'organisation du domaine CRDs a été étudiée en utilisant un profil caché du modèle de Markov (Fig 10). Les protéines SICA en toute longueur contiennent cinq cystéine CRD distinctes (appelé SICA- α) dans l'amine terminale, qui se produit une ou deux fois, et peut avoir un rôle stabilisateur analogue au cystéine-riche en N-terminal, le motif de coiffage extracellulaire riche en leucine, la protéine de répétition. Il ya 1-8 CRD (dénommé SICA- β) avec 7-10 résidus de cystéine conservés. Le domaine transmembranaire et le domaine suivi conservée à l'extrémité C-terminale (appelés SICA_C).

Bien que *P. knowlesi* et *P. falciparum* soient phylogénétiquement éloignés, le SICA et les protéines 1 de la membrane érythrocytaire du *P. falciparum* (PfEMP1) ont des antigènes variants partageant de nombreuses caractéristiques biologiques. Les mécanismes réglementaires communs impliquant les gènes silencieux post-transcriptionnels ont été proposés entre la famille des gènes var de *P. falciparum* et la famille SICAvan de *P. knowlesi*. Les motifs de la séquence conservée ont été identifiés entre l'intron var seule et introns SICAvan, dans la région pensée être à l'origine d'une transcription d'ARNnc impliquée dans les gènes var silencieux, indiquant les mécanismes réglementaires possibles d'être communs.

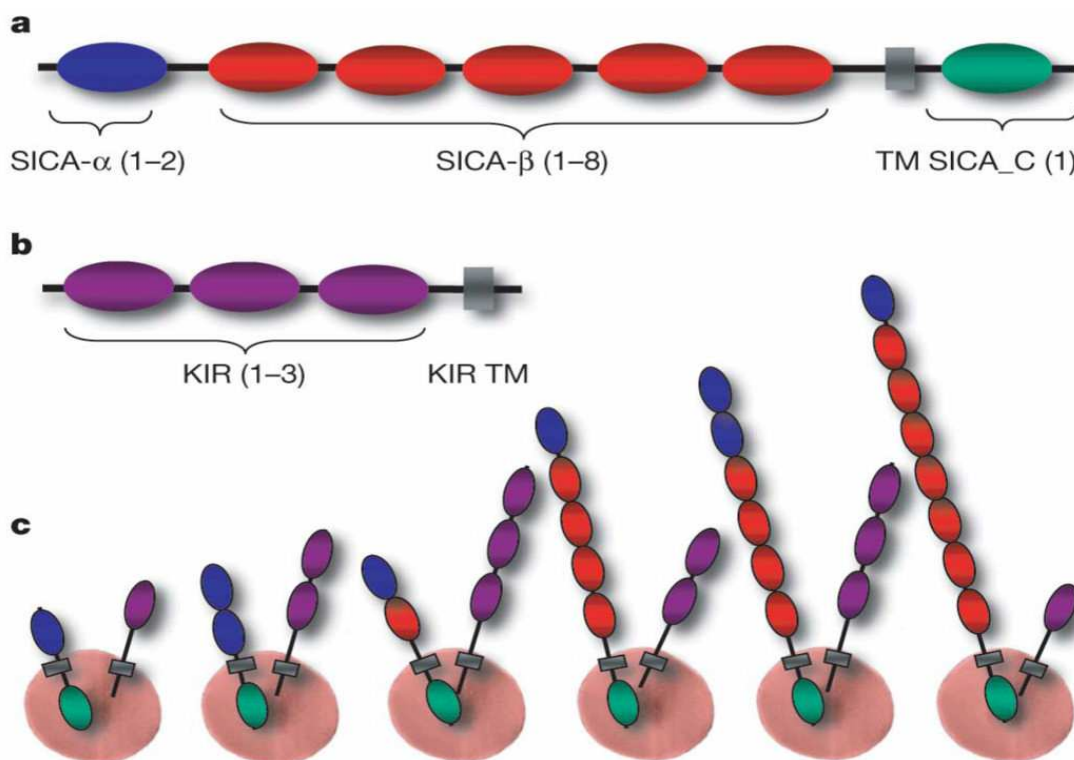


Figure 10: Organisation complète du domaine des protéines SICA et KIR chez *P. knowlesi* (souche H). A : Domaine d'organisation des protéines SICA (SICA-α, SICA-β et SICA_C) est indiqué entre parenthèses. TM: transmembranaire. B : Domaine d'organisation complet des protéines KIR. C : les exemples d'un érythrocyte infecté montrant les protéines SICA et KIR ancrées à la surface des combinaisons différentes [36].

Les scientifiques ont cherché des épreuves de conversion génique au sein de la famille SICAvAr, en utilisant 20 séquences prévues de Type I en toute longueur des gènes SICAvAr. Il est clair que l'exon brassage a un rôle important dans l'évolution SICAvAr. Les régions répétées d'une faible complexité trouvées dans les introns peuvent faciliter la recombinaison par désalignement lors de la mitose ; ce qui pourrait expliquer la présence de fragments SICAvAr trouvés dans tout le génome et / ou les modèles de gènes avec des structures partielles SICAvAr intron / exon. Celles-ci comprennent l'ensemble, et apparemment intacte, des exons qui pourraient fournir un réservoir de diversification analogue à celle observée avec des gènes VSG dans *Trypanosoma brucei*.

Kirs représentent la deuxième plus grande famille variante du gène. Ils codent pour des protéines de 36-97 kDa qui sont supposées être exprimées à la surface des érythrocytes infectés et subissent une variation antigénique prédite. Il ya 68 gènes Kir prédits, dont 4 ont des structures incomplètes. Ils ont été divisés en quatre types, selon le nombre d'exons. La plupart (58 sur 64) des gènes kir appartiennent aux types I et II. L'organisation du domaine de toutes les protéines prédites KIR a également été déterminée en utilisant un profil HMMs (Fig 10 et Fig 11). Ils contiennent de 1 à 3 domaines, suivis d'un domaine transmembranaire à l'extrémité C-terminale, appelés KIR TM (Fig 11).

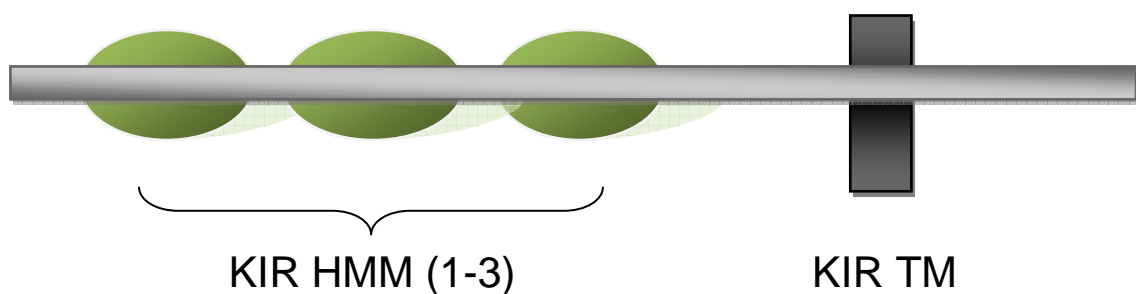


Figure 11: Organisation des protéines du domaine KIR chez *P.knowlesi* [36].

Les protéines KIR sont étendues jusqu'à 36 acides aminés dans le domaine extracellulaire. Il est prédit qu'ils ont 100% d'identité pour les protéines de l'hôte, les plus

frappants sont les CD99. Ces matchs étaient évidents dans plusieurs protéines KIR. Fait intéressant, les différents membres de la famille contiennent des matchs pour les différentes régions du CD99, tels que, l'ensemble représente plus de la moitié du domaine extracellulaire CD99 (Fig 11).

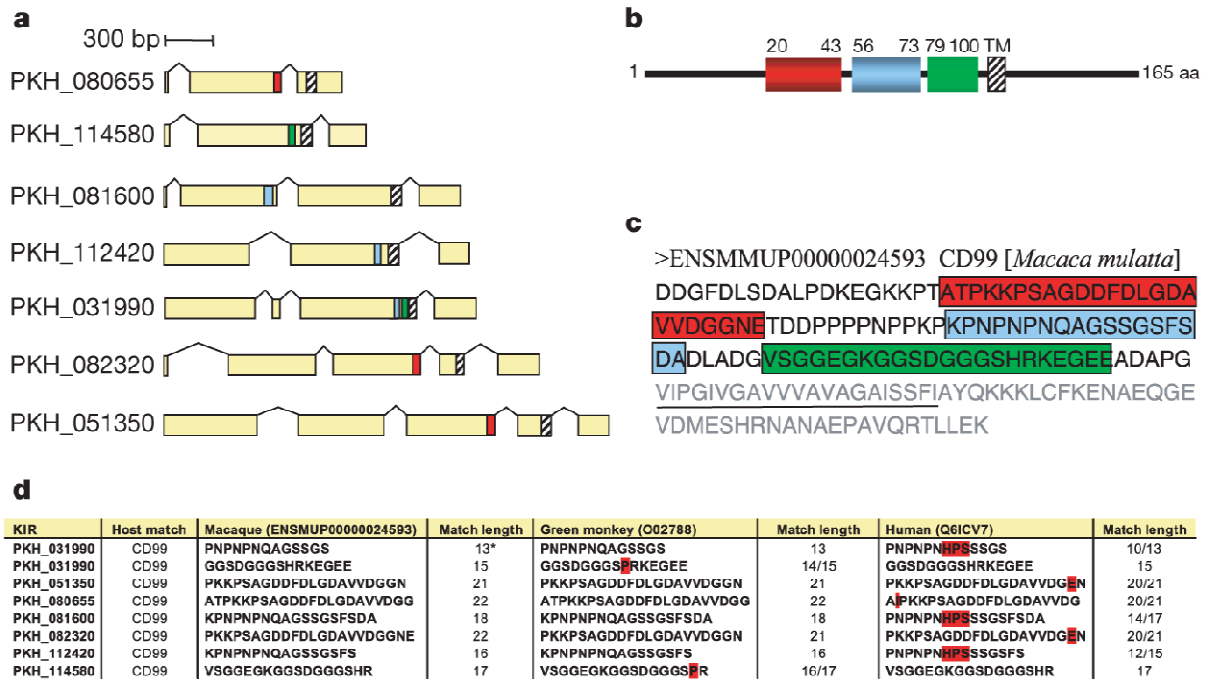


Figure 12: Matchs des séquences CD99 de l'hôte chez *P. knowlesi* (souche H). A: Sept KIR montrent les trois régions différentes du CD99 (en rouge, bleu et vert). B : Vue schématique de CD99 de *Macaca mulatta*, montrant les matchs à différents KIRs. Les chiffres représentent la position d'acide aminé. TM : Domaine transmembranaire. Les régions soulignées représentent la synthèse des étirements parfaitement appariés d'acides aminés du domaine extracellulaire de CD99 à un sous-groupe de sept protéines KIR. C : Séquence d'acides aminés de *Macaca mulatta* pour CD99, soulignant le résumé des matchs pour KIR. Les acides aminés correspondant au domaine transmembranaire sont soulignés. Les acides aminés de gris clair représentent le domaine transmembranaire et la partie intracellulaire de CD99. D : Comparaison des matchs à *Macaca fascicularis*, singe vert africain et humain. Les inadéquations sont surlignées en rouge [36].

Des tests ont été effectués pour évaluer la possibilité que ces matchs pourraient se reproduire par hasard. Les séquences du *Macaca mulatta*, des singes verts africains et des humains ont été comparés.

Les matchs excluent les régions conservées de cystéine et le degré d'identité de séquence diminue d'une façon marquée comme étant la distance évolutive aux augmentations

de l'hôte naturelle. CD99 a un rôle essentiel en tant que molécule immuno régulatrice dans la fonction des cellules T. Ces correspondances exactes peuvent interférer avec la reconnaissance des hématies parasitées par le système immunitaire de l'hôte ou agir comme analogue CD99 qui interfère en compétition avec les molécules partenaires CD99 des cellules T.

Les chercheurs ont entrepris une recherche plus systématique pour les autres cas des protéines parasitaires contenant des vastes segments des séquences identiques d'accueil, en utilisant l'algorithme de PMATCH. Un grand nombre de matchs à gène de ménage hautement conservés ont été observés, mais dans les régions d'addition d'identité parfaite à une autre protéine de l'hôte (AHNAK) étaient détectées dans deux KIR et une protéine SICA-like [36].

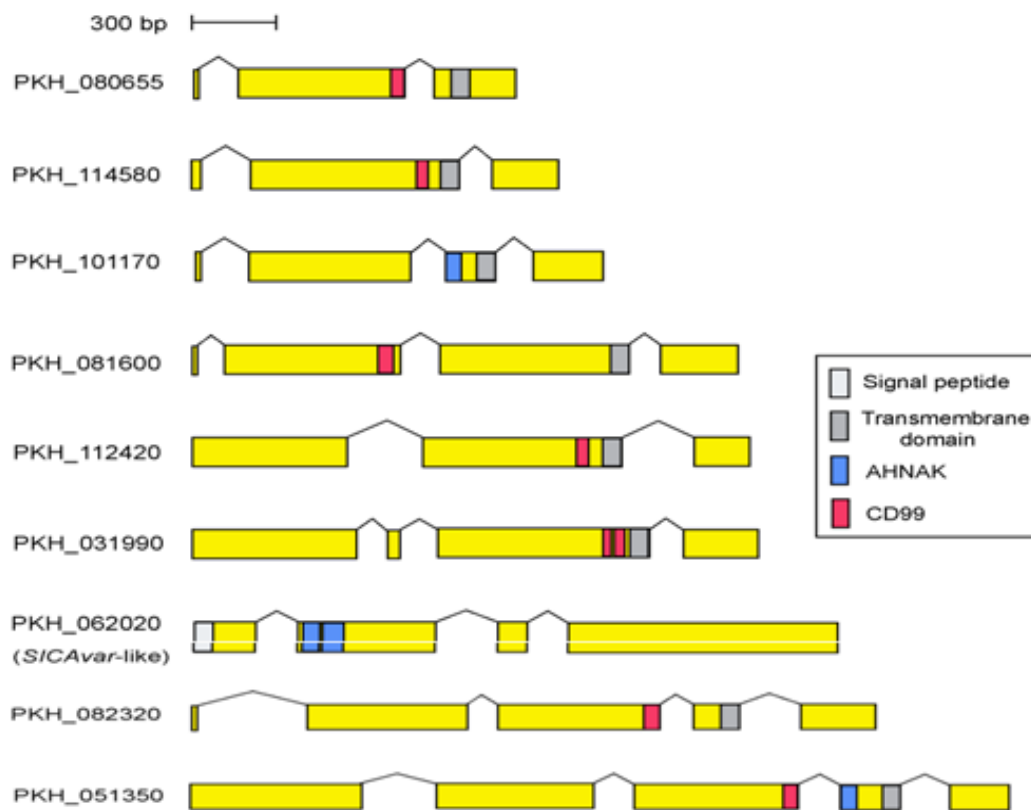


Figure 13: Les gènes KIRs et un gène SICAvar-like, montrant les matchs pour accueillir les séquences. Les exons sont indiqués dans les cases colorées et les introns comme des lignes reliant. Les peptides signaux sont indiqués dans les cases en gris clair, et les domaines transmembranaires en gris foncé. Les matchs pour CD99 (rouge) et AHNAK (bleu) sont indiqués dans les cases à l'intérieur des exons [36].

La recherche des analogues en utilisant les répertoires prévus des protéines exportées (exportome) de *P. vivax* et *P. falciparum* n'a trouvé aucun de ces matchs pour accueillir les protéines. L'identité des protéines de l'hôte est maintenue à la séquence d'acides aminés plutôt qu'au niveau de la séquence d'ADN. L'acquisition des protéines de l'hôte, et donc la capacité de mimer leur fonction, ce qui a été observée dans de nombreux pathogènes bactériens et viraux. Dans les parasites protozoaires, il ya des cas connus où s'étendent les acides aminés présents sur un match des protéines de surface de la cellule parasite et qui code parfaitement aux régions des protéines de l'hôte. Cependant, dans tous ces cas, les matchs correspondent à une répétition des acides aminés communs partagés entre eux.

Les parasites du paludisme sont connus par leur capacité d'avoir un rôle potentiel immunomodulateur soit en sécrétant des homologues fonctionnels à des molécules de l'hôte ou par liaison à des cellules hôtes présentant des antigènes. C'est la première observation de ce type de protéine de la malaria qui montre que l'acquisition des séquences peptidiques de l'hôte susceptibles d'être à la surface des cellules infectées et par conséquent qui peut interagir avec l'hôte. Le mécanisme par lequel ces séquences d'accueil ont surgi reste à clarifier.

Les explications possibles comprennent l'évolution convergente ou transfert horizontal suivi par des événements de dégénérescence génétique. Pendant le cycle de vie intra-érythrocytaire, les parasites du paludisme changent l'érythrocyte de façon significative par l'exportation de nombreuses protéines. Cela dépend d'un court motif, appelé *Plasmodium* élément d'exportation (PEXEL) ou le signal de transport vacuolaire (VTS), qui est présent dans plus de 300 protéines de *P. falciparum* et qui est commun à toutes les espèces de *Plasmodium* séquencés pour far. En plus des membres de la famille PHIST, 100 protéines supplémentaires dans *P. knowlesi* ont un motif PEXEL typique.

Comme la protéine PfEMP1 chez *P. falciparum*, SICA et KIRs manquent de peptide signal et d'un motif typique PEXEL. Les études ont identifié un nouveau motif dans la région N-terminale de domaines SICA- α avec un résidu de tryptophane en position conservée entourée par des résidus hydrophiles, qui peut être le signal d'exportation. De même, 75% des protéines KIR possèdent un motif conservé Z-L-P-S (où Z désigne un résidu hydrophile) au début du domaine KIR qui peut également faciliter l'exportation.

En résumé, environ 280 protéines prédites de *P. knowlesi* peuvent être exportées vers la surface des érythrocytes infectés par les voies PEXEL dépendants ou PEXEL indépendants. Par comparaison, l'exportome de *P. vivax* est considérablement plus grande que celle de *P. knowlesi* et semble être beaucoup plus grande que précédemment pensé. Environ 145 protéines de *P. vivax* contiennent des motifs PEXEL typiques y compris les membres de la famille PHIST et un petit sous-groupe de VIRs. Le séquençage du génome de *P. knowlesi* et sa comparaison avec d'autres génomes de *Plasmodium* a mis en évidence plusieurs nouvelles caractéristiques de ce parasite émergent du paludisme humain qui est potentiellement mortel, et souligne l'importance du séquençage du génome complet des nouvelles espèces de *Plasmodium*. Des différences importantes dans le contenu et l'organisation de son génome ont révélé qu'il implique l'interface hôte-parasite, permettant aux espèces plasmodiales de développer des mécanismes spécifiques pour améliorer leur survie au sein de leurs hôtes respectifs. Le génome de *P. knowlesi* permettra également d'améliorer grandement l'utilité de cette espèce humaine infectieuse en tant que modèle pour aborder les questions pertinentes à toutes les espèces de *Plasmodium* [36].



IV. DONNÉES ÉPIDÉMIOLOGIQUES

1. Le vecteur de *Plasmodium knowlesi* :

Les premières études effectuées en Malaisie ont identifié l'*Anopheles hackeri* comme vecteur de *P. knowlesi*, mais puisque ce moustique n'est pas attiré par l'Homme, il se nourrit principalement sur les singes et se trouve uniquement dans la jungle profonde. Il a été déclaré que *Plasmodium knowlesi* ne serait pas un problème sérieux pour les humains [16, 44, 45]. Après la reconnaissance de l'importance de *P. knowlesi* dans Sarawak (Bornéo Malaisienne), des études vectorielles menées dans trois niches écologiques différentes (c'est-à-dire, la forêt, la ferme et les villages) dans le quartier de Kapit ont identifié *A. latens*, qui appartient au groupe de moustique *Leucosphyrus*, en tant que principal vecteur naturel de *P. knowlesi* pour les singes et les humains [16, 46-48]. Des études expérimentales au laboratoire effectuées pour vérifier la sensibilité de *P. knowlesi* à l'*Anopheles freeborni*, *Anopheles quadrimaculatus*, *Anopheles maculatus* et *Anopheles balabacensis* ont montré que l'*A. quadrimaculatus* était naturellement résistant au parasite alors que l'*A. balabacensis* a émergé comme le vecteur le plus efficace produisant plus de 1000 sporozoïtes et induit l'infection chez le singe après une période prépatente de 7-8 jours [16, 49].

1.1. Répartition géographique du vecteur :

La distribution géographique de l'*Anopheles leucosphyrus* a été étudiée. Elle s'étend de l'Inde du Sud-ouest, vers le Sud-est de la Chine, Taïwan, l'Asie du Sud-est continentale, l'Indonésie et les Philippines [16, 50]. Une autre étude menée par le même groupe dans l'état de Pahang a révélé l'*Anopheles cracens*, un membre plus anthropophile du groupe *leucosphyrus*, comme vecteur du *P. knowlesi* (ainsi que de *P. cynomolgi*) dans cette zone [16, 49]. Dans la région de Sabah, *A. balabacensis* a été incriminé comme un vecteur possible de *P. knowlesi* [16, 48]. Enfin, au Vietnam, *Anopheles dirus*, un membre du groupe d'Anophèle a été impliqué en tant que vecteur de l'infection à *P. knowlesi* [16, 51].

Une enquête menée dans les forêts et les franges forestières de Khanh Phu (Viêtnam du Sud) entre 2008 et 2010 a montré que les moustiques d'*A. dirus* sont les seuls vecteurs de la malaria dans cette zone et près de 1.6 % sont infectés de sporozoïtes. En utilisant l'analyse par PCR dans le but de distinguer l'espèce de malaria, il a été montré que 43% des glandes

salivaires testées étaient positifs pour *P. knowlesi* avec les co-infections fréquentes (71% des glandes examinées) et avec une combinaison plus commune de *P. knowlesi* / *P. vivax* [16, 52]. Il est à noter qu'à Singapour, où plusieurs cas autochtones du *P. knowlesi* ont été enregistrés, les moustiques appartenant au groupe de l'*A.leucosphyrus* n'ont pas été trouvés. Il a été suggéré qu'à Singapour, *Anopheles kochi* pourrait être le vecteur potentiel de *P. knowlesi* et le fait que le moustique est fortement zoophagique pourrait expliquer le petit nombre des cas de *plasmodium knowlesi* malgré la haute fréquence de personnel militaire déployé dans les zones forestières [16, 53].

Une autre étude effectuée en 2008-2009 sur le *Plasmodium knowlesi* chez les humains et les macaques en Thaïlande a montré que les vecteurs naturels pour *P. knowlesi* dans la péninsule Malaisienne sont : l'*Anophèles cracens* et les moustiques d'*A.latens*, qui sont membres du groupe *leucosphyrus*. Les principaux vecteurs de paludisme humain en Thaïlande sont *A.minimus*, *A.maculates*, et *A.dirus*. Bien que les moustiques d'*A. dirus* appartiennent également au groupe *leucosphyrus*, ils ont été identifiés comme des vecteurs potentiels pour *P.knowlesi* au Vietnam, cette espèce a considérablement diminué en abondance dans tous les domaines d'endémie palustre principaux en Thaïlande au cours de la dernière décennie, même si les modèles d'alimentation de ces moustiques sont zoonotiques plutôt que anthropophile dans certaines zones. Par conséquent, la transmission de *P. knowlesi* à l'Homme pourrait être limitée et distincte de la transmission par les autres espèces qui causent le paludisme chez l'Homme en Thaïlande[35].

Tableau IV: Liste des principaux vecteurs du paludisme [54].

<i>A.labranchiae</i>	Afrique du nord, Corse, Italie
<i>A.sacharovi</i>	Europe de sud-est, Turquie
<i>A.sergenti</i>	Sahara, Moyen-Orient
<i>A.stephensi</i>	Moyen-Orient, Inde
<i>A.culicifacies</i>	Moyen-Orient, Inde, Népal
<i>A.sinensis</i>	Chine
<i>A.minimus</i>	Péninsule indochinoise, Chine de sud
<i>A.dirus</i>	Péninsule indochinoise, Chine de sud

<i>A.balabacencis</i>	Péninsule indochinoise, Chine de sud
<i>A.farauti</i>	Australie, Nouvelle-Guinée
<i>A.punctulatus</i>	Australie, Nouvelle-Guinée
<i>A.aconitus</i>	Indonésie
<i>A.leucosphyrus</i>	Malaisie, Bornéo, Célèbes
<i>A.maculatus</i>	Malaisie
<i>A.flavirostris</i>	Philippines
<i>A.darlingi</i>	Amérique de sud
<i>A.albimanus</i>	Amérique centrale, Haïti, Saint-Domingue
<i>A.gambiae s. str</i>	Afrique au sud du Sahara, Madagascar
<i>A.arabiensis</i>	Afrique, Péninsule arabe, Madagascar, ile de la Réunion, ile Maurice
<i>A.funestus</i>	Afrique au sud du Sahara
<i>A.moucheti</i>	Afrique centrale
<i>A.nili</i>	Afrique au sud du Sahara

- Les espèces écrites en gras sont les vecteurs qui transmettent le *Plasmodium knowlesi* à l'Homme

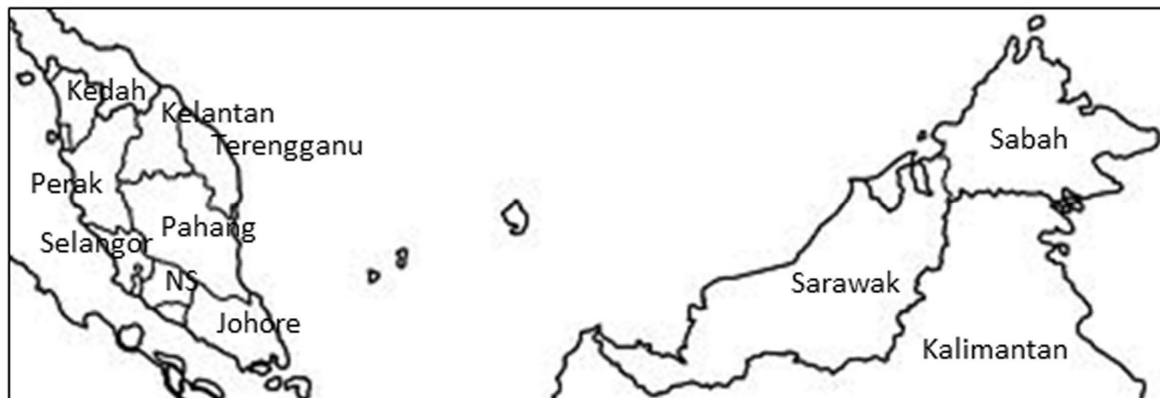
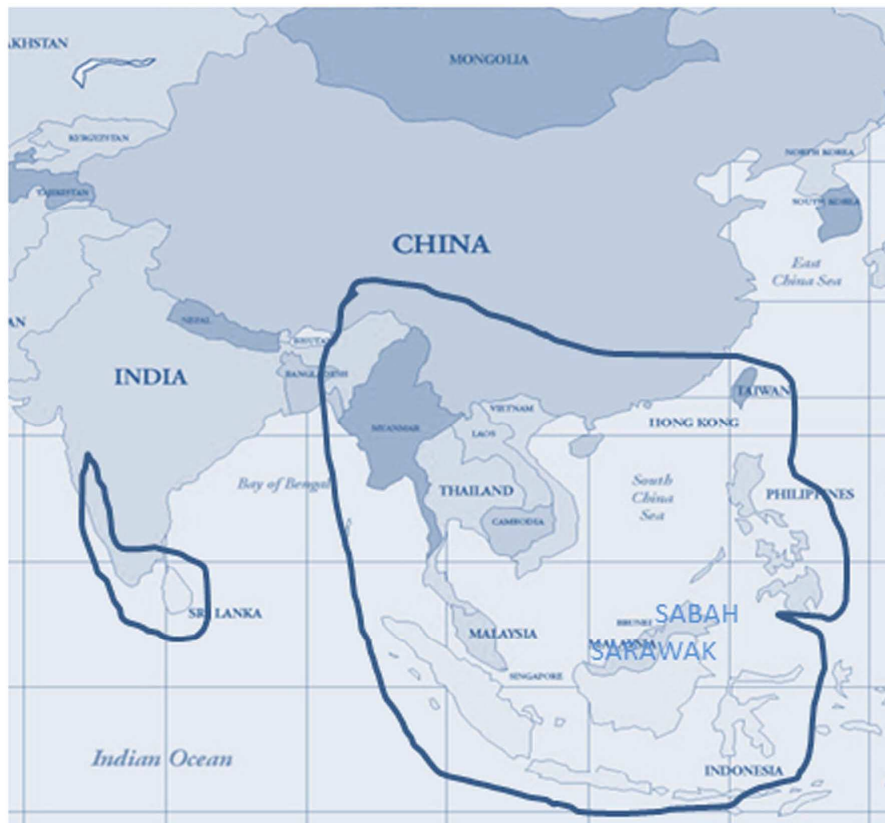


Figure 14: Carte de Sud et de Sud-Est de l'Asie montrant la distribution des moustiques du groupe *Leucosphyrus* [55, 56].

1.2. Le cycle biologique du vecteur et les conditions climatiques :

Le cycle du genre Anophèle passe par 4 stades successifs : Œuf, larve, nymphe et adulte ; les trois premiers sont des formes aquatiques, qui vivent dans les eaux douces, calmes, non polluées et oxygénées à une température supérieure à 18°C. Les formes adultes sont aériennes, et seules les femelles hématophages peuvent transmettre la maladie. Elles ont une activité nocturne (max 23 h et 6 h), un vol silencieux et une piqûre indolore. Le déplacement actif se passe en quelques centaines de mètres autour du gîte de repos, tandis que le déplacement passif se passe à des longues distances par les vents, les bateaux ou les avions (paludisme d'aéroports). Leur durée de vie est de quelques semaines à un mois [57].

Les moustiques femelles ne s'accouplent généralement qu'une seule fois et conservent le sperme dans des spermathèques tout au long de leur vie pour féconder tous les lots des œufs successifs. Elles ont besoin d'un repas sanguin pour porter leurs œufs à maturité. Le premier repas sanguin est pris entre le troisième et le sixième jour. Suivant la disponibilité d'un hôte, une femelle peut parcourir jusqu'à 3 km pour trouver un repas lui convenant. Si les hôtes sont abondants, les déplacements n'excèdent pas quelques centaines de mètres à un kilomètre. La recherche de l'hôte se fait à distance en remontant les émissions de gaz carbonique puis à proximité en fonction des odeurs corporelles. Cela explique les différences d'attractivité existantes entre sujets. Selon une étude récente, les porteurs des gamétocytes (formes infectantes pour le moustique) seraient plus attractifs pour *An. gambiae*. Après chaque repas sanguin, la femelle se réfugie dans un abri, appelé gîte de repos, jusqu'au développement complet des œufs (cycle gonotrophique), cela se fait généralement en 48 heures. Quand les œufs sont prêts, elle se met à la recherche d'une collection d'eau (gîte larvaire). Le type de collection d'eau varie selon l'espèce d'anophèles (taille, exposition solaire, collection artificielle ou naturelle, temporaire ou permanente, avec ou sans végétation) mais il s'agit la plupart du temps d'eau douce, non polluée et peu agitée. Ces caractéristiques font que les anophèles sont principalement des moustiques ruraux ou des périphéries urbaines et que le risque de transmission du paludisme est plus élevé en milieu rural qu'urbain. Les œufs sont pondus un par un sur la surface de l'eau. Ils sont reconnaissables à leurs minuscules

flotteurs sur les côtés. La femelle alterne ponte et repas sanguin tout au long de sa vie (deux mois en moyenne en élevage, un mois en moyenne dans la nature). Quand les conditions extérieures ne permettent plus le développement des œufs ou la survie des adultes (absence de gîte, hygrométrie trop basse, température trop fraîche en zone tempérée etc.), certaines femelles vont attendre jusqu'à six mois (estivation ou hivernage) la venue de conditions plus favorables et dès leur survenue, iront à nouveau pondre assurant le maintien de l'espèce dans une zone pourtant défavorable à sa survie une grande partie de l'année.

Une fois le gîte larvaire choisi, de chaque œuf sortira une larve qui a un mode de vie exclusivement aquatique. Après quatre stades larvaires, la larve donnera une nymphe d'où émergera un individu adulte (imago). De l'œuf à l'adulte, il s'écoule entre huit jours (à 31 °C) et 20 jours (à 20 °C). Après l'émergence, les femelles sont fécondées puis partent à la recherche d'un repas de sang. Les mâles restent à proximité des gîtes larvaires attendant l'émergence de nouvelles générations de femelles pour les féconder. Parmi les femelles, on distingue schématiquement celles qui préfèrent se nourrir à l'intérieur (endophagie), celles qui se nourrissent à l'extérieur (exophagie) et des femelles qui se reposent soit à l'intérieur (endophiles) soit à l'extérieur (exophiles). Ces caractéristiques varient d'une espèce à l'autre mais varient aussi au sein d'une même espèce selon la localisation géographique. Ce paramètre est d'ailleurs déterminant dans la mise en place des stratégies de lutte contre les anophèles.

Les femelles piquent dès la tombée de la nuit jusqu'au lever du jour mais les pics d'agressivité varient selon l'espèce, selon l'endroit. Seules les espèces du sous-genre *Kerteszia* en Amérique du sud ont une activité diurne (*An. cruzii*, *An. bellator*, etc.). Le vol des anophèles est silencieux et la piqûre est décrite comme indolore par opposition aux piqûres beaucoup plus prurigineuses des autres genres de moustiques. Si une femelle prend son repas sur un porteur de gamétocytes et si les conditions extérieures le permettent, les *Plasmodiums* vont se développer et se multiplier chez le moustique (cycle sporogonique ou extrinsèque). Une fois infectée (présence de sporozoïtes dans les glandes salivaires), la femelle le reste toute sa vie et infecte ses hôtes à chacun de ses repas sanguins jusqu'à sa mort. La capacité vectorielle est un index qui définit la capacité d'un vecteur à transmettre le

paludisme, soit le nombre d'inoculations secondaires à partir d'une personne infectante, par jour. La formule de la capacité vectorielle (CV) est la suivante: $CV = ma^2 p^n / -\ln p$ [58].

m : densité d'anophèles piquant un Homme en un temps donné. **a** : nombre de repas pris sur un Homme pour un anophèle en un temps donné. **p** : taux de survie d'une population d'anophèle. **n** : durée de cycle sporogonique pour l'espèce plasmodiale considéré. **1 / -ln p** : espérance de vie [59].

Cette formule permet de prendre en compte tous les paramètres impliqués dans l'aptitude des anophèles à être infectés et à transmettre le paludisme :

- La densité du vecteur dépend des conditions climatiques (température, hygrométrie) et géographiques (variations saisonnières) ;
- Le degré d'anthropophilie (goût pour le sang humain) varie selon les espèces : certaines se nourrissent préférentiellement sur chien, sur bœuf ou sur Homme tandis que d'autres n'ont pas de préférences trophiques marquées. L'anthropophilie varie selon les espèces mais aussi au sein d'une même espèce. Ces comportements peuvent évoluer et des anophèles compétents peuvent transmettre les *Plasmodiums* mais ne jouant aucun rôle car principalement zoophile pouvant modifier leur comportement et entrer dans le cycle de la transmission si leur source habituelle de sang disparaît ;
- La durée du cycle gonotrophique (intervalle entre deux pontes) chez les anophèles est supposée être de deux jours ;
- Le taux quotidien de survie prend en compte la parité des moustiques. Un moustique nullipare (qui n'a pas encore pris de repas sanguin ni pondu) ne peut pas transmettre le paludisme parce qu'il n'a pas encore pu acquérir l'infection par *Plasmodium*. Le développement des sporozoïtes prend en moyenne 12 jours. Il faut au moins six cycles gonotrophiques avant d'être en mesure de transmettre le paludisme. Donc plus une femelle est âgée et plus elle a de risque d'être infectée : on parle d'âge épidémiologiquement dangereux ;
- La durée de la phase sporogonique varie en fonction du type de *Plasmodium* et de la température extérieure.

- Pour qu'une femelle devienne infectante et puisse transmettre, il faut donc qu'elle ait une durée de vie supérieure au cycle sporogonique [58].

Exemple : En Thaïlande, l'*Anophèle minimus* est anthropozoophile, exophage et exophile. Pendant la saison des pluies sa densité augmente (capacité vectorielle augmente) mais longévité diminue 11,5 à 2,7 jours (capacité vectorielle diminue) [59].

1.3. Les compétences vectorielles :

La répartition du paludisme dans le monde dépend en partie des caractéristiques intrinsèques du vecteur (compétence vectorielle) et de sa capacité vectorielle. La compétence vectorielle se définit par l'aptitude intrinsèque d'une espèce d'anophèle à assurer le développement complet du parasite (du stade ookinète dans l'estomac moyen au stade oocyste dans l'épithélium et éventuellement jusqu'au stade de sporozoïte infectant dans les glandes salivaires). L'incapacité du *Plasmodium* à se développer chez certaines espèces de moustiques peut être causée par l'absence chez ce moustique de facteurs métaboliques indispensables au développement parasitaire, mais elle peut également résulter de la présence des toxines qui inhibent activement la croissance du parasite. Les mécanismes immunitaires chez le moustique jouent un rôle important dans la compétence vectorielle (en perturbant par exemple la formation ou le développement du parasite). La présence des vecteurs dépend des conditions locales qui expliquent une part importante de l'hétérogénéité de la distribution du paludisme. Parmi ces facteurs sont de préférence l'hôte, le taux d'alimentation et le comportement, la densité de la population de moustiques, la longévité et sa sensibilité pour transmettre l'agent pathogène, également connus sous compétence vectorielle. Plusieurs paramètres environnementaux et physiologiques peuvent déterminer la compétence vectorielle du *Plasmodium*, y compris :

- Les composants du système du complément hôte des mammifères sont ingérés pendant un repas de sang par le moustique vecteur et peuvent être nocifs pour le *Plasmodium* dans l'intestin moyen des moustiques. En réponse à cela, les gamètes de *Plasmodium* ont développé la capacité d'inactiver protéine du complément C3b, c'est une protéine plasmatique provenant du facteur C3 qui se lie à des antigènes sur les

agents pathogènes, de les étiqueter pour la destruction en cooptant le complément facteur de régulation H du sang.

- Gamétogenèse mâle de *Plasmodium* est déclenchée par la libération de l'acide xanthurénique (XA) par le moustique, c'est un sous-produit de la synthèse du pigment de l'œil chez les insectes.
- L'intestin de moustique héberge les microbes qui augmentent sensiblement lors de la digestion du sang et peuvent bloquer le développement de *Plasmodium* en déclenchant une réponse immunitaire contre les moustiques ou en inhibant directement le parasite grâce à la production d'espèces réactives de l'oxygène.
- Les formes chitineuses péritrophiques de la matrice lors de la digestion et les lignes secondaires luminales de l'épithélium de l'intestin moyen, représentent une barrière physique que le parasite doit franchir. Certains parasites *Plasmodium* sécrètent chitinases pour perturber la matrice péritrophique.
- Le système immunitaire inné de moustique peut développer une réponse immunitaire qui dans certains cas, élimine le *Plasmodium*. L'épithélium de l'intestin moyen est le premier tissu de moustique que le parasite traverse. A l'intérieur de la cellule épithéliale, la production des espèces réactives de l'oxygène et la protéine à médiation par une nitration peroxydase (HPX2) et un système NADPH-oxydase (NOX5) peut conduire à l'élimination de *Plasmodium*. Ces protéines semblent être une condition préalable à la reconnaissance et à l'élimination des parasites par le système immunitaire comme le complément moustique. Il s'agit de la liaison de TEP1 (protéine qui se trouve dans l'hémolymphe des moustiques, qui possède une similitude structurelle pour compléter le facteur C3. Lors du clivage, il se lie à la surface de *Plasmodium* et le marque pour l'élimination), qui se lie au parasite l'étiqueter pour le détruire[58].

1.4. Diversité entre espèces :

La nature des sols, leur pente, le régime des pluies, le courant, la température et donc l'altitude, la salinité de l'eau, la présence de prédateurs et la végétation naturelle ou l'agriculture rendent les gîtes larvaires plus ou moins propices aux espèces vectrices et

conditionnent leur reproduction dans un écosystème donné. Certaines espèces sont adaptées à des eaux courantes plus ou moins rapides telles *An. minimus* en Asie du Sud-est. De même, des populations d'*An. minimus*, moustique classiquement rural et d'eau vive, sont retrouvés dans des citernes d'eau stagnantes à Hanoi. La présence des gîtes favorables détermine la présence des espèces et la répartition du paludisme. En Asie du Sud-est, le paludisme est rare ou absent dans les zones rizicoles qui présentent peu de gîtes favorables aux deux vecteurs principaux (*An. minimus* et *An. dirus*), et sévit essentiellement dans les zones boisées et les collines forestières où ruisseaux et collections d'eaux ombragées abondent [58, 59]

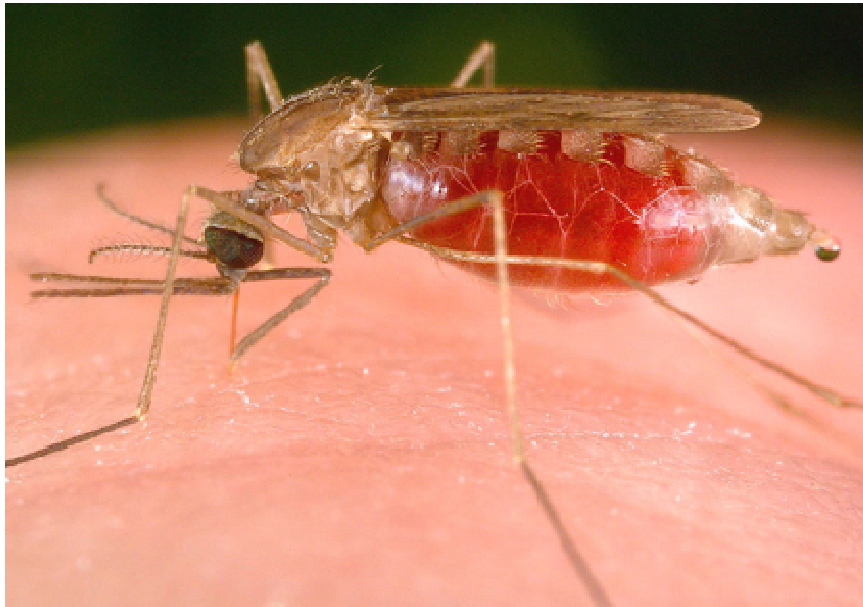


Figure 15: *Anopheles leucosphyrus* après repas sanguin[60]

:

2. Hôtes naturels de *P.knowlesi*

Le macaque à longue queue (*M. fascicularis*) ainsi que le macaque à queue de cochon (*M. nemestrina*) trouvés dans les pays d'Asie du Sud-est sont les deux principaux hôtes naturels du *P. knowlesi*. Cependant, le parasite peut être détecté aussi naturellement chez le singe « réuni des feuilles » (*Presbytis melalophos*). Chez ces hôtes naturels, l'infection au

P.knowlesi induit généralement une maladie anodine et passagère avec une parasitémie chronique d'un degré inférieur [16].

2.1.Répartition géographique de l'hôte

M. fascicularis se trouve dans un large éventail d'habitats de Brunei, Cambodge, Indonésie, Thaïlande du Sud et la Malaisie péninsulaire à Sumatra, Java, Bornéo, Philippines, Singapour et le sud du Vietnam. Il a été estimé que les macaques à longue queue ont la troisième répartition géographique la plus répandue chez les primates après les humains et les macaques rhésus [16, 61].

La distribution de *M. nemestrina* s'étend de l'Inde orientale, le Bangladesh en plus de la partie continentale d'Asie du Sud, à Sumatra et Bornéo. Il est absent à Singapour. Une enquête récente menée sur 108 macaques sauvages (Macaque à longue queue et Macaque à la queue de cochon) dans la Division Kapit de Sarawak (Malaisie Bornéo) a montré une très forte prévalence des parasites paludéens (94%) détectés par PCR nichée. Parmi les cinq espèces de *Plasmodium* détectées, *P. inui* (82%) et *P. knowlesi* (78%) étaient les plus intéressants. 84% des macaques ont été infectés par deux ou plusieurs espèces de *Plasmodium* [4, 16]. La circulation de *P. knowlesi* entre les macaques en Thaïlande semble être plus faible, avec une prévalence de 5,6% observée chez les Macaques à longue queue et de 2,3% chez les Macaque à queue de cochon [16, 35].

Une étude plus intéressante réalisée à Singapour sur les séquences de gène circum sporozoite de *P. knowlesi*, protéine de gène à partir des cas humains, a démontré un lien avec les séquences de *P. knowlesi* isolé de trois macaques à longue queue pris dans les zones boisées. En outre, 10 macaques à longue queue péri-domestiques enfermés dans un parc de réserve où les vecteurs compétents sont absents, ont été trouvés exempts de parasites du *plasmodium* [16, 53]. Les résultats mentionnés ci-dessus sont identiques à ceux obtenus en Malaisie péninsulaire où *P. knowlesi* a été hébergé par 97% des macaques à longue queue capturés dans les zones boisées, tandis que les macaques capturés dans les zones urbaines étaient exempts de parasites [16, 49].



A

B

Figure 16: Images représentant les hôtes naturels du *P.knowlesi*. A : Macaque à queue de cochon (*Macaca nemestrina*), B : Macaque à longue queue (*Macaca fascicularis*) [62, 63].

2.2. Comportements écologiques :

Les Macaques à queue de cochon sont principalement terrestres mais ils sont aussi des grimpeurs qualifiés. Contrairement à presque tous les primates, ils aiment l'eau. Ils vivent en grands groupes divisés en petites associations pendant la journée quand ils recherchent la nourriture. Ils sont omnivores, se nourrissant principalement des fruits, graines, baies, des céréales, des champignons et des invertébrés. Il existe une hiérarchie chez les mâles, sur la base de la force et chez les femelles, sur la base de l'hérédité. Ainsi, la femelle dominante sera immédiatement placée au-dessus de toutes les autres femelles du groupe. La femelle dominante dirige le groupe, tandis que le rôle du mâle est de gérer les conflits au sein du groupe et de le défendre. La maturité sexuelle est atteinte à l'âge de 3-5 ans. La gestation chez la femelle dure environ six mois. Elle donnera naissance à un bébé tous les deux ans. Le sevrage se produit à 4 ou 5 mois [64].

Le macaque crabier (*Macaca fascicularis*), également connu sous le nom de macaque à longue queue se distingue des autres macaques par la longueur de sa queue, comparable à celle de son corps. On rencontre encore les noms macaque de Buffon, macaque de Java et macaque d'Indonésie. Le mot latin *fascicularis* signifie « petite rayure ». Sir Thomas Stamford Bingley Raffles, qui a donné à l'animal son nom scientifique en 1821, ne précise pas ce qu'il entend par l'utilisation de ce mot mais il est présumé qu'il y avait un lien avec

l'observation de l'animal. C'est un cercopithèque natif de primates à l'Asie du Sud-Est . Il est considéré comme un singe cynomolgue dans les laboratoires. Ils vivent dans des groupes qui contiennent trois à 20 femelles, de leur progéniture, et un ou plusieurs mâles. Les groupes ont généralement moins de mâles que de femelles. Dans les groupes des macaques, une hiérarchie claire de dominance est perçue chez les femelles. Ces rangs restent stables durant toute la vie de la femelle et peuvent également être soutenus par les générations des lignées maternelles .

Pour sa reproduction, La durée de gestation est d'environ 165 jours. Le poids du bébé à la naissance est d'environ 350 grammes. Les bébés naissent avec une fourrure noire qui, à partir de 3 mois, tourne à une teinte jaune-vert, gris-vert ou brun-rouge selon la sous-espèce. Cette teinte est supposée être un indicateur du statut de l'enfant. Des mâles récemment immigrés commettent parfois des infanticides sur des nourrissons qui ne sont pas les leurs, et les femelles de haut rang kidnappent parfois les enfants des femelles de rang inférieur. Ces enlèvements font généralement suite aux décès des nourrissons. Les plus jeunes restent surtout avec la famille de leur mère. En grandissant, les jeunes mâles tentent à se tourner vers la périphérie du groupe. Ils y forment des liens qui peuvent être cruciaux lors de leur migration hors de leur groupe natal. Les mâles qui émigrent avec un partenaire semblent avoir plus de succès que les solitaires. Les résultats d'une étude montrent que les mâles soignent le pelage des femelles pour obtenir leurs faveurs sexuelles [64].

Les macaques crabiers ne consomment pas généralement de crabes ; ils sont plutôt opportunistes omnivores , mangeant une variété d'animaux et de plantes. Bien que les fruits et les graines représentent 60 - 90% de leur alimentation, ils mangent également des feuilles, des fleurs, des racines et l'écorce. Ils ont parfois des proies sur les vertébrés (y compris les poussins d'oiseaux, les oiseaux nicheurs des femelles, des lézards, des grenouilles, et des poissons), les invertébrés et les œufs d'oiseaux. En Indonésie, l'espèce est devenue un nageur et plongeur compétent pour les crabes et autres crustacés dans les mangroves [64].

3. Les voies de transmission de *P.knowlesi*.

Une étude a prolongé un modèle multi-hôte pour la transmission de *P.knowlesi*, qui a incorporé la transmission entre les macaques, les moustiques et les humains, en tenant compte trois sites géographiques caractéristiques (forêt(J), ferme (F) et village (V)) dans les quels l'exposition à l'infection et la transmission peut se produire. Ici, ils ont défini la forêt comme forêt tropicale dense où les macaques se trouvent essentiellement, la zone agricole comme une zone de la forêt-frange qui a été autorisée pour l'usage agricole où les travailleurs sont présents pendant la journée, et le village en tant qu'une communauté rurale très petite où les humains vivent.

Un schéma du modèle est illustré à la figure 17. Les humains et les macaques ont été supposés se déplaçant entre les emplacements (village agro-forestier et agro-forestier, respectivement), tandis que la population de vecteurs est stratifiée par chaque emplacement. Chaque hôte (humain, macaque et le vecteur) peut être dans l'un des deux Etats - sensibles ou infectés - et donc ils ont suivi la proportion des personnes infectées (IH), des macaques infectés (IM), et des vecteurs infectés dans la forêt, la ferme et le village. Ce modèle examine comment la transmission de *P.knowlesi* peut dépendre d'un mélange des différents motifs entre l'Homme et l'hôte principal, qui est le macaque à longue queue, dans divers arrangements écologiques [65].

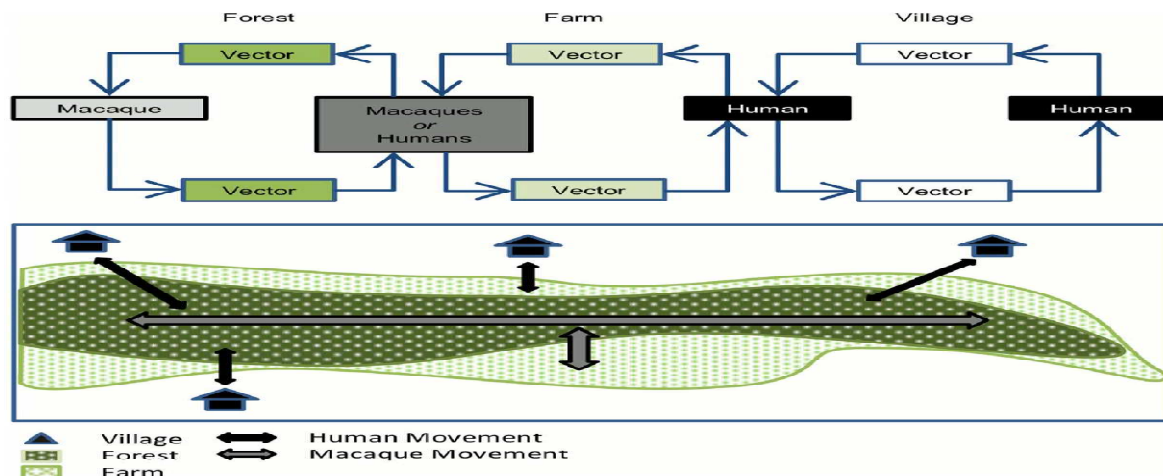


Figure 17: Schéma présentant les modalités de transmission du *P.knowlesi* et montrant la répartition de la forêt, ferme, villages, les mouvements des macaques et les humains entre ces trois zones, et le cycle de transmission de *Plasmodium knowlesi* en Malaisie et en Asie du Sud-est [65].

Le modèle suggère que les macaques maintiennent la transmission de *P.knowlesi* avec peu ou pas de transmission auto-entretenu entre les humains et les vecteurs en l'absence de macaques. Cependant, il est possible que cela change si les tendances de macaque changent dans la ferme (à la forêt frange) avec la plus forte prévalence de l'infection chez les humains qui se produise lorsque les macaques se nourrissent dans les fermes, mais revenant d'une manière suffisante et fréquente à la forêt où ils éprouvent un contact plus élevé avec des vecteurs et donc maintenir la transmission.

Le modèle suggère aussi que la majorité de transmission est soutenue et entraînée par la population de macaque. Ce résultat est confirmé par les données qui montrent que les patients infectés par *P. knowlesi* présentant aux hôpitaux, étaient surtout des agriculteurs dont le travail les a pris dans la forêt ou les plantations associées à la forêt sur une base régulière, ou des personnes qui ont voyagé à travers les zones à risque. Du même, parmi la population à risque, la majorité des infections se produisent chez les Hommes âgés de 20 à 29 ans. Cependant, le *P. knowlesi* est maintenant la cause la plus fréquente du paludisme dans Sabah, en Malaisie et un nombre important des infections humaines peut être évité par la détection passive des cas dans les installations. Des études récentes ont montré que tous les âges des deux sexes sont sensibles à l'infection, quelques cas également sont signalés chez les enfants de Malaisie, et les enfants vietnamiens [65].

La Piqûre d'anophèle constitue le principal mode de transmission de *P.knowlesi*. Aussi, la phase sanguine rend possible d'autres modes de transmission :

- voie congénitale
- transfusionnelle
- par seringue (drogues, accident de laboratoire)
- par greffe
- accidentelle chez des personnes de santé manipulant du sang contaminé
- paludisme de port et d'aéroport [57].

4. Cycle et sites de transmission aux humains

L'identification des infections au *P. knowlesi* chez les humains en Malaisie et des anophèles vecteurs qui sont attirés à la fois par les singes et les humains dans le même écosystème forestier, et leur incrimination par Vythallingam et al. (2008) a établi l'existence d'un cycle de transmission de macaque à l'Homme dans la transmission de *P. knowlesi*. Les personnes vivant dans les villages qui sont proches de forêts et les zones en bordure de forêt entrent en contact avec la forêt, les abris des singes, qui sont des hôtes réservoirs pour *P. knowlesi* et les vecteurs qui ont la préférence de piquer à la fois les singes et les humains. Ainsi, dans cet écosystème un autre mode de transmission pour *P. knowlesi*, à savoir de l'Homme au singe macaque, peut se voir. Aussi, dans ces villages, en raison de la présence d'un grand nombre de cas humains infectés et la population de vecteur étant à proximité, le cycle de transmission humain à humain peut se voir. Au laboratoire, tous les quatre cycles de transmission possibles mentionnés ci-dessus ont été démontrés. Mais jusqu'à présent, il n'y a aucune preuve qui confirme la présence des deux derniers types de cycles de transmission mentionnés ci-dessus dans la nature. Les zones d'endémie palustre sont à proximité de forêts et les zones en bordure de forêt, mais jusqu'ici il n'y a aucun rapport indiquant que les parasites du paludisme humain ont été trouvés dans la forêt, les habitats des singes, comme on le voit au Vietnam. Dans ce pays, *An. dirus* a été trouvé positif pour l'infection des sporozoïtes de *P. vivax* et *P. falciparum*, ainsi que celle de *P. knowlesi*, mais aucun des singes macaques dépistés n'a été trouvé positif pour des parasites humains de *P. vivax* et *P. falciparum*. Ces singes étaient positifs avec mono-infection de *P. knowlesi* [66].

Toutes ces études indiquent et appuient la conclusion que les humains acquièrent l'infection dans la forêt ou dans les zones en bordure de forêt qui sont les habitats naturels des singes macaques et le groupe *Leucosphyrus* de moustiques. Et qu'aucun regroupement des cas n'a été trouvé dans les communautés en Malaisie, ce qui suggère également que la transmission interhumaine par les moustiques ne peut pas être en cours. L'absence de la transmission Homme-singe et la transmission d'Homme à Homme pourrait être due à la spécificité du parasite ou à la spécificité du vecteur à des hôtes particuliers. Cependant, Lee et al. (2011) supposent qu'en raison des changements écologiques en cours, résultant de la

déforestation et l'augmentation de la population, le *P. knowlesi* peut passer à l'Homme comme hôte préféré [66].

5. Les conditions nécessaires pour la transmission des plasmodies :

Différentes conditions doivent être concurrentes pour soutenir la transmission des plasmodies simiennes aux humains :

- ✓ Les érythrocytes humains doivent être sensibles à l'invasion par *Plasmodium* simien ;
- ✓ La proximité de l'environnement des forêts tropicales où les singes infectés sont présents ;
- ✓ Les moustiques appartenant au genre Anophèles, capables de piquer les humains et les singes, doivent être présents, et effectuer activement leur fonction de vecteur [67].

6. Cycle de développement chez l'Homme

6.1. Généralités :

Il a fallu plusieurs années, en plus des moyens de diagnostic et des matériels évolués, pour bien comprendre le cycle du *Plasmodium knowlesi*. La bonne interprétation du mode de reproduction du parasite chez l'Homme est la clé pour contrer son développement. Le détail des mécanismes peut permettre par la suite de palier aux phénomènes de résistance rencontrés[1].

Le *P.knowlesi* se caractérise par un cycle asexué de 24 heures dans le sang. Il produit donc une fièvre quotidienne qui peut être potentiellement différenciée de la fièvre quarte de *P. malariae* chez les humains qui a un cycle de 72h [68]. Il diffère de *P. vivax* en raison de l'absence d'un stade hépatique latent (pas d'hypnozoïte dans le foie[39]) et par la longueur de son cycle asexué. De ce fait le *P.knowlesi* est la seule espèce de *Plasmodium* des primates qui se caractérise par un développement du stade sanguin asexué quotidien de 24 heures [16] et par l'absence des hypnozoïtes et des schizogonies tissulaires secondaires [54].

Les Parasites *Plasmodium* ont un cycle de vie complexe impliquant à la fois des moustiques et des hôtes vertébrés spécifiques. Pour la plupart de son développement chez les vertébrés, c'est un parasite intracellulaire obligatoire, dont le cycle commence d'abord par une

invasion puis une multiplication asexuée dans les hépatocytes et ensuite plusieurs cycles de réplication dans les globules rouges (hématies). Pendant la croissance dans les globules rouges infectés, le parasite se reproduit pour former un schizonte, qui subit la segmentation pour produire des formes envahissantes connues comme les mérozoïtes. Ces cellules sont très polarisées avec un ensemble complexe d'organites pour l'invasion des globules rouges et ils sont aussi parmi les plus petits de tous les organismes eucaryotes.

Contrairement au *P. falciparum*, qui produit 20 à 30 mérozoïtes, chacun d'environ un micron de diamètre, *P. knowlesi* produit moins de mérozoïtes (moyenne de 10 jusqu'à 16), mais plus grands. L'étude au laboratoire du paludisme est soutenue par de nombreux développements, y compris l'établissement des modèles in vivo chez des animaux, colonisation des moustiques et des vecteurs et la culture in vitro de l'adaptation des stades érythrocytaires. Les progrès du développement de *P. knowlesi* comme modèle aide à la compréhension de ces différents aspects de la biologie de *Plasmodium*. Des études ont mis en évidence les dernières évolutions techniques du *P. knowlesi* dans le système in vitro et fournis des perspectives pour l'exploitation des possibilités uniques et excitantes qu'offre ce système modèle pour la future recherche [69].

6.2. L'établissement de la transmission de *P. knowlesi* au laboratoire :

Les stades sexués des parasites appelés gamétocytes, se forment quand la réplication des stades sanguins asexués passe à la voie de développement sexuel. Une fois formés, les gamétocytes de *P. falciparum* nécessitent environ dix jours pour arriver à la maturité, tandis que la formation des gamétocytes de *P. knowlesi* nécessitent environ 48 heures, ce qui peut s'avérer un avantage expérimental significatif [69, 70]. Les premiers travaux ont démontré que *P. knowlesi* peut être facilement transmis dans le laboratoire par les moustiques, de macaque à macaque et même d'Homme à Homme [45, 69]. Malheureusement, aucune lignée des formes gamétocytiques de *P. knowlesi* n'est adaptée à la croissance in vitro [69, 71, 72], les essais d'inciter la gamétocytogénèse ont été jusqu'à présent infructueux. Il est bien établi que les lignées parasitaires maintenues par un passage prolongé dans le sang ou dans une culture, peuvent perdre leur capacité à former les gamétocytes [69, 73]. Par conséquent, il

pourrait être nécessaire d'adapter la culture des lignées qui ont été récemment transmises par les moustiques et de conserver la capacité de produire des gamétocytes [69].

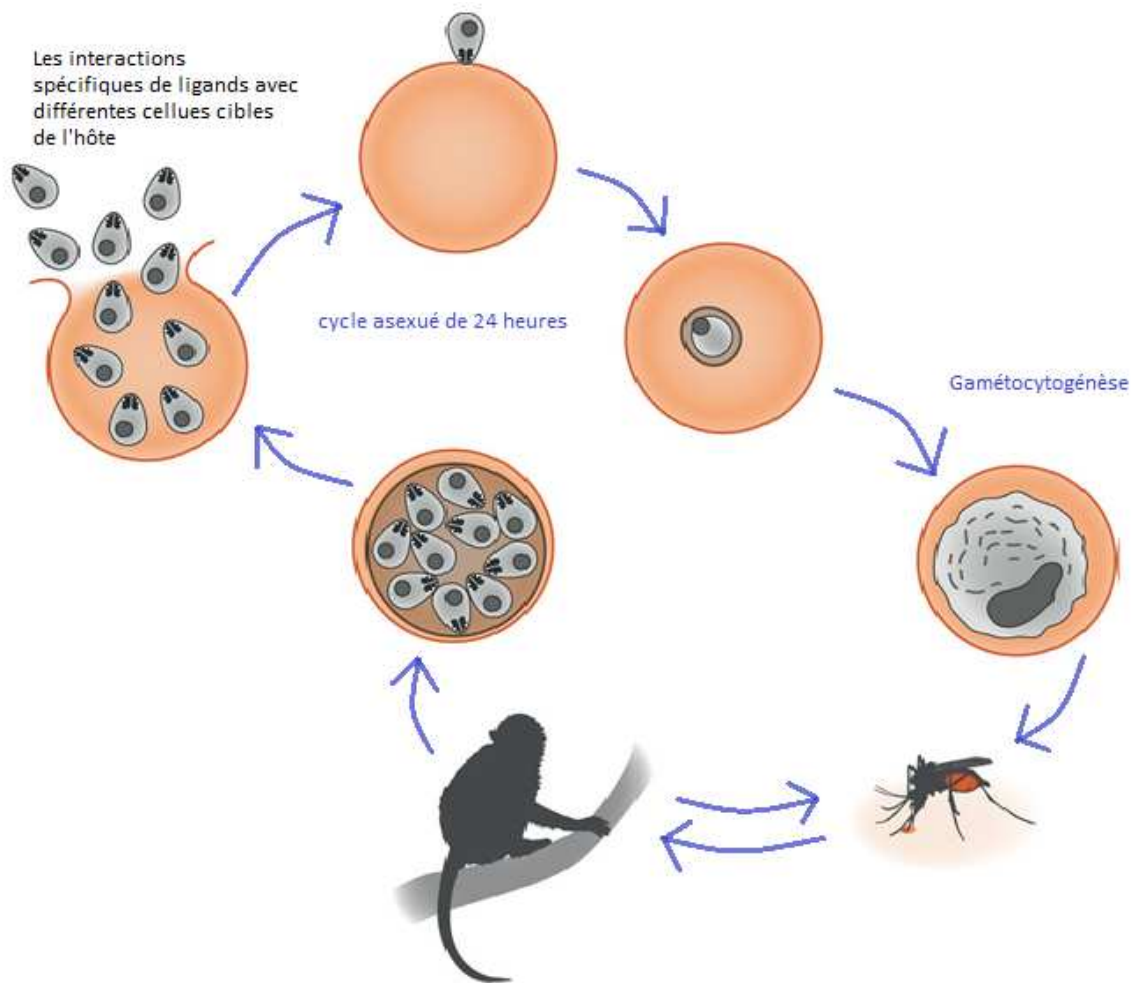


Figure 18: Le cycle de vie de *P. knowlesi* est de 24 heures, il commence par l'invasion d'un mérozoïte et le développement ultérieur d'anneau en schizonte. La génération d'une lignée productrice de gamétocytes et la transmission par les moustiques compétents permettraient à la recherche d'élargir d'autres étapes du cycle de vie [69].

6.3. Cycle évolutif de *Plasmodium sp*

La reproduction sexuée du parasite a lieu chez l'anophèle, alors que la reproduction asexuée se déroule chez le vertébré.

6.3.1. Chez l'hôte définitif

Les hôtes définitifs des *Plasmodium* sp. sont exclusivement représentés par les moustiques femelles du genre *Anophèles*. Lors de la pique, le moustique ingère les formes parasitaires circulant dans le sang de l'hôte intermédiaire. Parmi celles-ci, les formes asexuées sont digérées tandis que les gamétocytes poursuivent leur développement. Dans l'estomac de l'anophèle, les gamètes octoploïdes mâles (microgamétocytes) et diploïdes femelles (macrogamétocytes) subissent plusieurs divisions avant de devenir haploïdes. La fécondation a alors lieu entre ces deux gamètes dans l'intestin moyen pour donner naissance à un œuf diploïde, l'ookinète. Cet œuf s'implante dans la paroi intestinale et s'entoure d'une paroi épaisse et donne l'oocyste.

Une étape de méiose a ensuite lieu au sein de l'oocyste, suivie d'une multiplication par sporogonie conduisant à la formation de nombreux sporozoïtes (>10.000). Une fois arrivés à maturité, ceux-ci sont libérés dans la cavité générale de l'anophèle et gagnent les glandes salivaires. Ces sporozoïtes constituent les formes infectantes et seront injectées à l'hôte intermédiaire lors du prochain repas sanguin. En fonction de la température, de l'anophèle et de l'espèce plasmodiale, ce cycle varie de 10 à 17 jours [74-76].

6.3.2. Chez l'hôte intermédiaire

Dans le cas de *P. knowlesi* l'hôte habituel est un singe, le macaque à longue ou *Macaca fascicularis*, macaque à queue-de-cochon ou *Presbytis malalophos*. L'Homme reste un hôte accidentel. Chez l'hôte intermédiaire le cycle de *Plasmodium* sp comprend deux étapes, une première phase hépatocytaire, puis une seconde érythrocytaire.

6.3.2.1. Schizogonie hépatocytaire :

Au cours de son repas sanguin l'anophèle contaminé injecte les formes infectantes de *Plasmodium*, les sporozoïtes, dans les micro-capillaires de l'hôte intermédiaire. Rapidement, ces sporozoïtes migrent vers le foie, où ils pénètrent dans les hépatocytes grâce au complexe apical et à la protéine majeure de surface. Après 8 à 15 jours correspondant au temps nécessaire à plusieurs divisions nucléaires, l'hépatocyte grossit et se charge de formes

mérozoïtes dont l'ensemble constitue un schizonte ou corps bleu. A maturité celui-ci éclate et libère les mérozoïtes dans la circulation sanguine [75-77].

Des expériences menées sur les singes rhésus ont montré que pour l'espèce *P.knowlesi*, ces schizontes hépatiques arrivent à maturité plus rapidement que pour tous les autres *Plasmodium* simiens, en seulement 5 jours et un demi-jour [74, 76, 77].

Lors de la contamination, certaines formes parasitaires appelées hypnozoïtes n'évoluent pas mais persistent au sein de l'hépatocyte, en dormance, ceux-ci sont uninucléés et mesurent 4 à 5 µm. Chez l'Homme sont décrits uniquement pour *P.ovale* et *P. vivax*, et sont responsables de latences et rechutes [74, 76, 78]. Des coupes de foie provenant de singes infectés par *P.knowlesi* n'ont jamais pu montrer la présence d'hypnozoïtes. Ceci explique l'absence des rechutes décrites à ce jour concernant cette espèce. Toutefois, ces études semblent insuffisantes pour prédire son comportement dans le foie de l'être humain. D'autres données clinico-biologiques sont nécessaires pour vérifier ou invalider la capacité de *P.knowlesi* à produire les formes latentes [76, 77, 79, 80].

6.3.2.2. Schizogonie érythrocytaire

Lors de l'éclatement du schizonte, les mérozoïtes sont libérés et pénètrent dans les hématies grâce à leurs organes apicaux : rhoptries, anneaux polaires, micronèmes, apicoplaste. De même que *P.vivax* l'invasion érythrocytaire de *P.knowlesi* est dépendante de la présence sur l'hématie de l'antigène de groupe sanguin Duffy. Les patients exempts de cet antigène ne développent pas cette infection, par impossibilité de formation de la jonction serrée [76, 81, 82].

Les mérozoïtes pénètrent dans les hématies par endocytose se transforment en trophozoïtes. Le parasite évolue au sein des hématies. D'abord : trophozoïte en Bague à chaton. Ensuite: **schizonte mature**.

Le parasite évolue: il augmente de taille et se divise pour donner des schizontes matures (corps en rosace). Puis les hématies parasitées éclatent en libérant les parasites infectieux (mérozoïtes). Les mérozoïtes libérés dans le sang vont infecter d'autres hématies. Ce cycle de

24, 48 à 72 heures détermine l'accès fébrile. La durée du cycle asexué et le nombre de mérozoïtes obtenus sont caractéristiques de chaque espèce. Certains schizontes se différencient en éléments sexués: **les gamétocytes**. Certains schizontes vont devenir des gamétocytes mâles, d'autres des gamétocytes femelles. Suite à la pique, un nouveau moustique aspire le sang parasité dont les formes gamétocytiques, et un nouveau cycle commence [57].

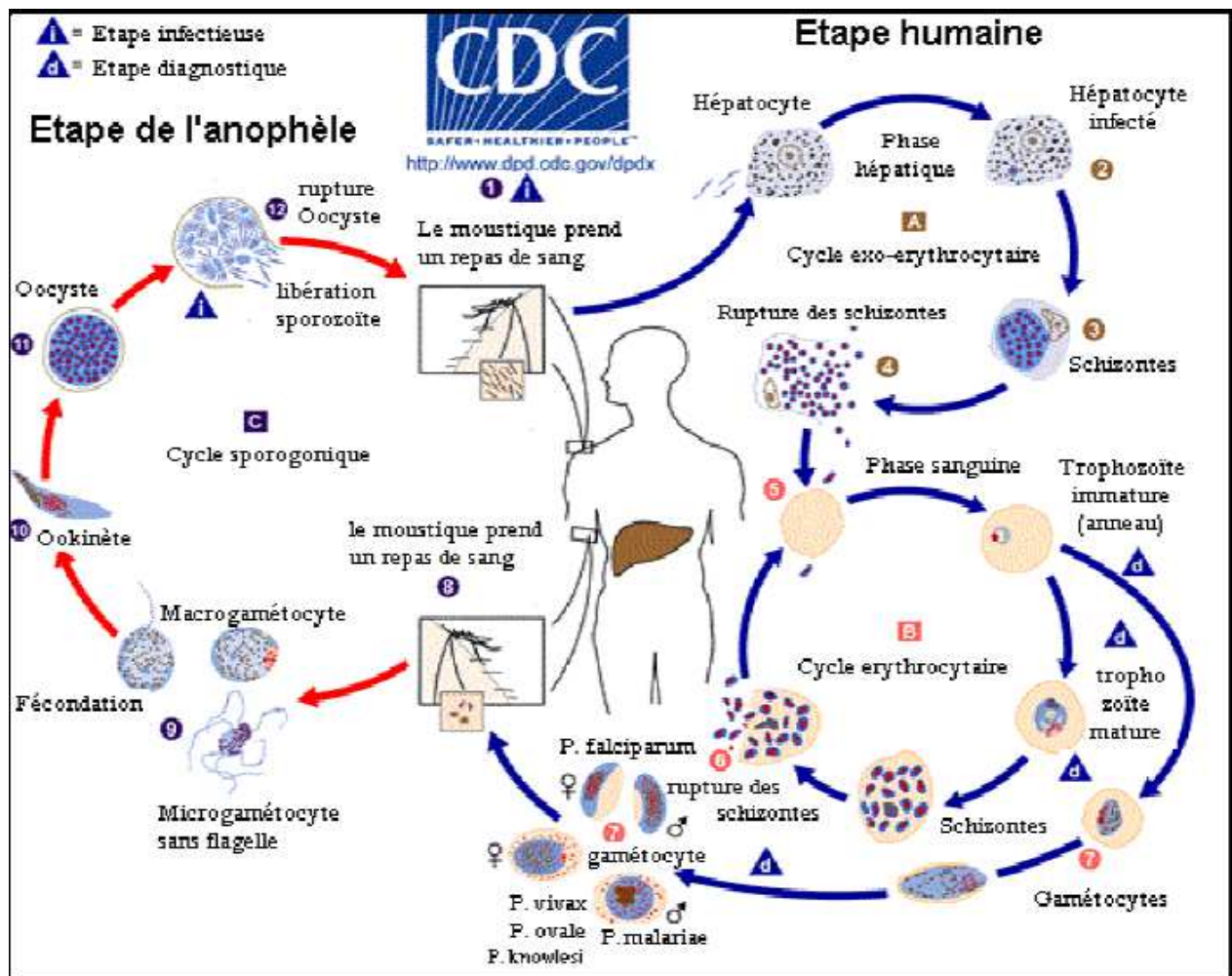


Figure 19: Schéma représentant le cycle évolutif de *Plasmodium* [76, 83]

7. Distribution géographique

7.1. Incidence et distribution du parasite

La répartition géographique de *P. knowlesi*, est initialement identifiée dans la division Kapit de Sarawak et Sabah districts de la partie Malaisienne, elle est maintenant élargie pour inclure également la Malaisie péninsulaire (Pahang), la partie indonésienne de Bornéo, l'île de Palawan aux Philippines, la zone frontalière entre la République populaire de Chine et le Myanmar, la province de Ninh Thuan du centre du Vietnam et de la région de Khan Phu du sud-centre du Vietnam, Thaïlande, y compris une zone boisée près de la frontière au sud du Myanmar et l'île de Ko Payam, la zone boisée de Lim Chu Kang à Singapour, et la province de Pailin au Cambodia [16].

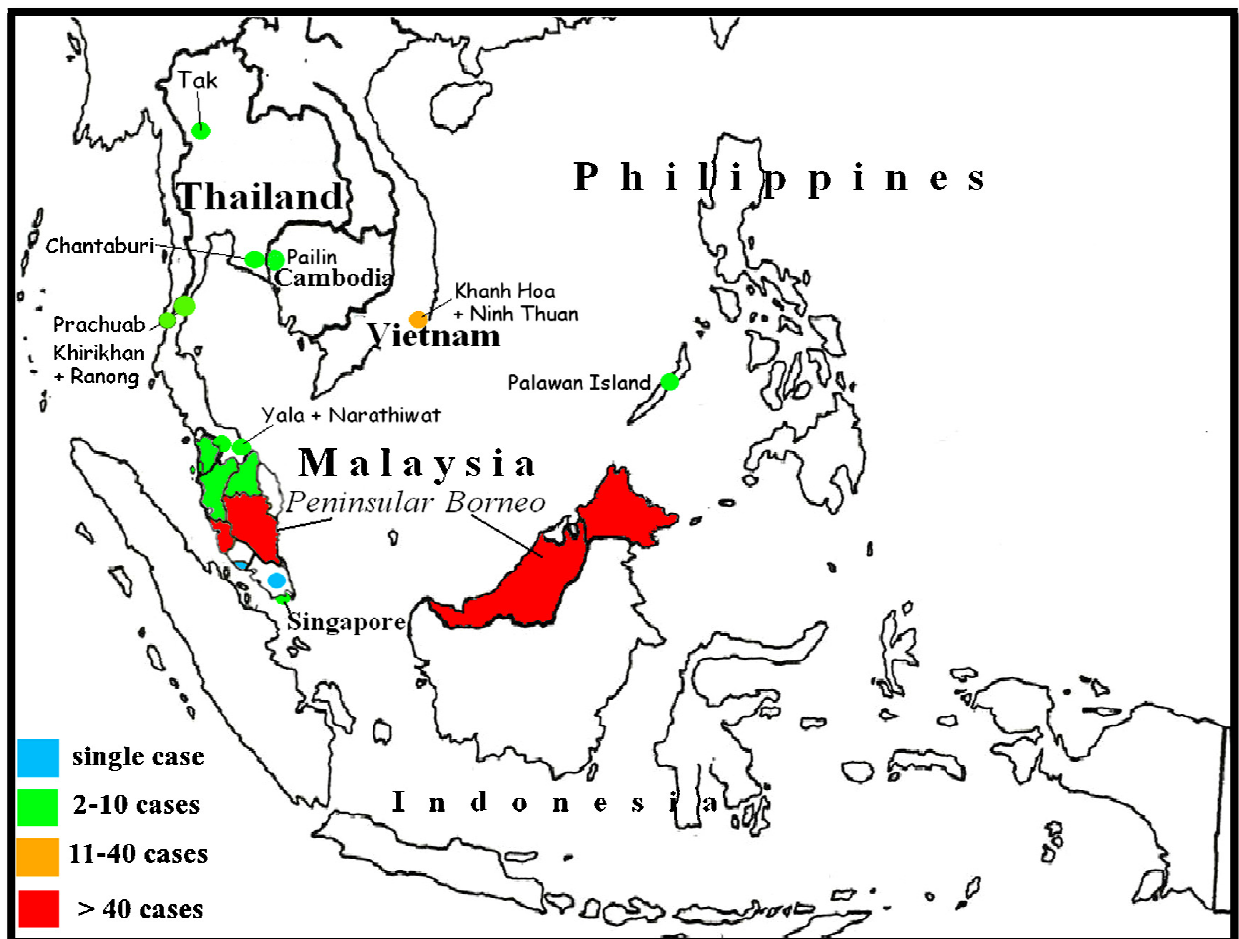


Figure 20: La répartition géographique du *Plasmodium knowlesi* dans l'Asie du sud-Est [84]

Une enquête épidémiologique a étudié une forte proportion de cas récents du paludisme dûs à *P.knowlesi* en Malaisie. Son but était de déterminer l'incidence et la distribution des infections humaines à *P. knowlesi* en Malaisie. Un total de 457 cas est confirmé par l'examen microscopique. Ces échantillons de sang à paludisme positif ont été prélevés dans 22 états dans les principaux hôpitaux de district en Malaisie entre Septembre 2012 et Décembre 2013. La PCR Nichée ciblant le gène ARNr 18S a été utilisée pour déterminer les espèces plasmodiales infectantes [85].

Les résultats de cette étude ont montré qu'un total de 453 échantillons était positif pour les espèces de *Plasmodium* en utilisant la PCR nichée. *Plasmodium knowlesi* a été identifié dans 256 échantillons (56,5%), suivi par 133 cas (29,4%) de *Plasmodium vivax*, 49 cas (10,8%) de *Plasmodium falciparum*, deux cas (0,4%) de *Plasmodium ovale* et un seul cas (0,2%) de *Plasmodium malariae*. Douze infections mixtes ont été détectées, dont *P. knowlesi* / *P. vivax* (n = 10), *P. knowlesi* / *P. falciparum* (n = 1), et *P. falciparum* / *P. vivax* (n = 1). *P. knowlesi* détient la plus forte proportion à Sabah (84/115 cas, prévalence de 73,0%), Sarawak (83/120, 69,2%), Kelantan (42/56, 75,0%), Pahang (24/25, 96,0%), Johor (7/9, 77,8%), et de Terengganu (4/5, 80,0%,). En revanche, les taux de l'infection à *P. knowlesi* à Selangor et Negeri Sembilan ont été jugés respectivement de 16,2% (18/111 cas) et 50,0% (5/10 cas). L'échantillon de *P. knowlesi* n'a pas été obtenu à partir de Kuala Lumpur, Melaka, Perak, Pulau Pinang et Perlis au cours de la période d'étude, tandis qu'un échantillon microscopique positif de Kedah était négatif par PCR [85].

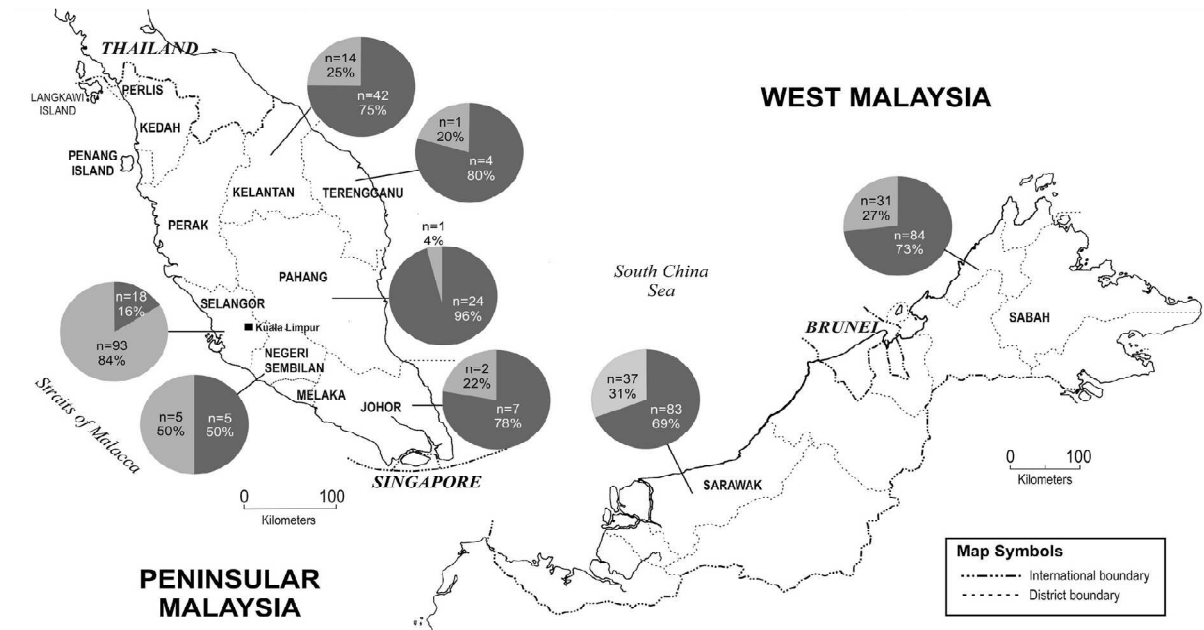


Figure 21: La carte de la Malaisie montrant l'emplacement des zones à *Plasmodium knowlesi* positif. Les diagrammes circulaires représentent le nombre de cas et les pourcentages de *P. knowlesi* (indiqué en noir) et les autres espèces de *Plasmodium* (en gris) déterminées par PCR nichée [85].

7.2. *P. knowlesi* chez les voyageurs internationaux :

Comme cause de paludisme importé, le *P. knowlesi* a été identifié occasionnellement. Le premier cas de *P. knowlesi* importé vers l'Europe était un voyageur suédois à Bornéo, à la Malaisie en 2006, le second était un voyageur finlandais à la Malaisie péninsulaire en 2007, le troisième était un voyageur espagnol en 2009 qui avait passé six mois dans plusieurs pays d'Asie du Sud-est, dont l'Indonésie, la Malaisie, la Thaïlande et le Vietnam. Le quatrième était un touriste français qui a vraisemblablement contracté l'infection sur l'île de KhoPhayam (en Thaïlande) en 2010, et un malaisien (Sarawak) immigrant à Netherland [84]. Le cas le plus récent a été signalé en Août 2013 et s'est produit chez un voyageur allemand, qui avait une co-infection par le virus de l'immunodéficience humaine. L'infection est vraisemblablement contractée dans la province de Ranong en Thaïlande [86].

Dans l'hémisphère sud, deux cas importés sont connus, un en Australie, l'autre en New-Zélande. Un patient avait travaillé à plusieurs reprises dans le Kalimantan, partie indonésienne de Bornéo et l'autre à Sabah et Sarawak (Bornéo). Une autre infection à *P. knowlesi*, au début de 1965, a été trouvée aux Etats-Unis, chez une patiente qui avait visité

ses parents sur l'île de Palawan aux Philippines. Parmi ces cas signalés chez les voyageurs intercontinentaux, seuls trois cas étaient de sexe féminin. La période de Voyage dans la zone de risque variait d'une semaine à plusieurs mois. Chez presque tous les cas, une histoire de voyage à une zone boisée avec nuitées a été rapportée. Deux cas ont été seulement signalés sans séjour dans une forêt, une patiente qui a visité ses parents sur l'île de Palawan aux Philippines et un touriste français qui a passé ses vacances sur une plage touristique sur l'île de Ko Pyang en Thaïlande. Dans les deux cas, cependant, les voyageurs étaient sur le bord d'une zone boisée, sans jamais y entrer [84].

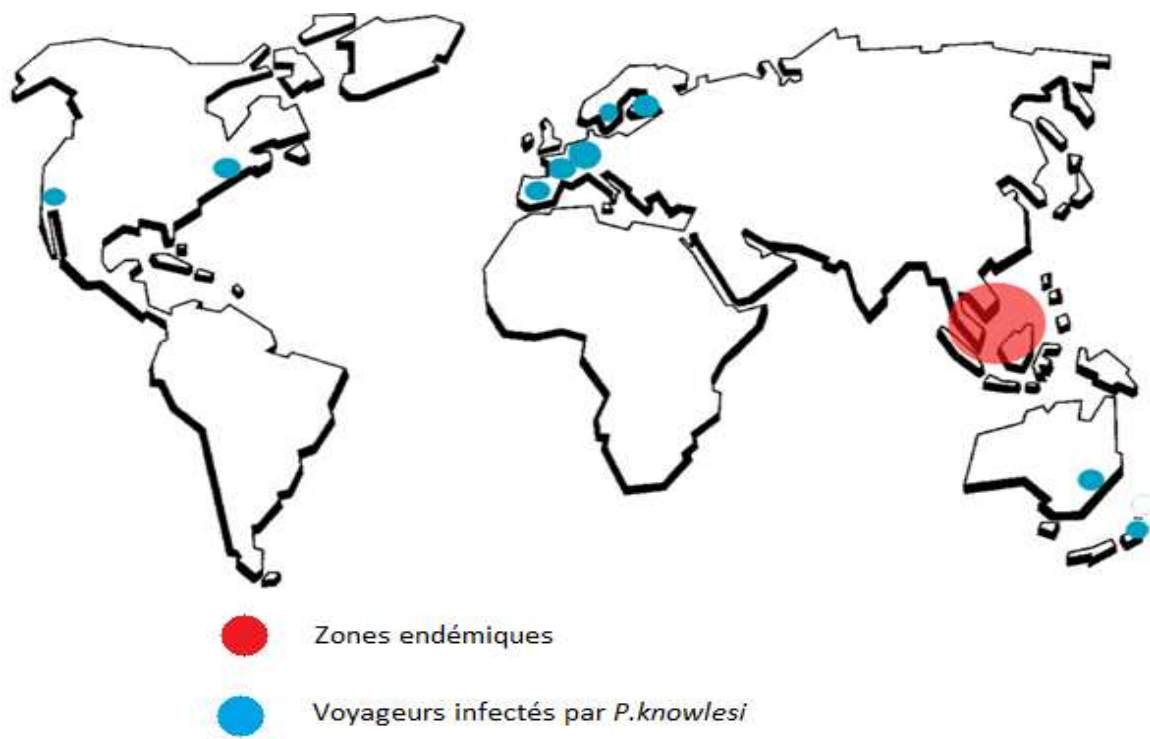


Figure 22: Cas exportés du *Plasmodium knowlesi* d'Asie du Sud aux autres continents [84].

L'analyse rétrospective des échantillons de sang en Thaïlande suggère que la prévalence des infections à *P. knowlesi* n'a pas beaucoup changé au fil du temps au cours de la période 1996-2008. Par conséquent, il est très probable que l'augmentation du nombre des cas reconnus est dûs à la sensibilisation de la possibilité d'avoir des cas humains dûs au

P.knowlesi et à l'application de techniques de la biologie moléculaire et au diagnostic pour différencier cette espèce des autres espèces plasmodiales. La prévalence des infections à *P. knowlesi* en Thaïlande (1%) est très faible par rapport à la division fortement endémique de Kapit (50%) à Bornéo, en Malaisie Thaïlande [35]. Par conséquent, un grand nombre de cas importés de Thaïlande ne sont pas à prévoir dans un avenir proche. Cependant, l'évolution des modes de tourisme comme la tendance vers l'éco-tourisme pourrait augmenter le risque de l'infection par *P. knowlesi* même dans les pays à faible prévalence[87].

8. Les facteurs de risque épidémiologiques

L'expansion des activités humaines dans les zones géographiques qui sont restées mal anthropisées dans le passé (processus par lequel les populations humaines modifient ou transforment l'environnement naturel, par exemple la déforestation, l'élevage, l'urbanisation et l'activité industrielle sont parmi les principaux facteurs d'anthropisation) et les régions sauvages, qui sont de plus en plus visitées par les voyageurs qui pratiquent des activités de randonnée, représentent des éléments objectifs qui conduisent à une prévision d'augmentation de risque pour acquérir le *Plasmodium* d'origine simienne. En outre, l'expansion démographique actuelle des populations locales dans les différentes régions de l'Asie du Sud et l'Amérique du Sud, qui a également impliqué les zones sauvages à proximité de forêts tropicales, en particulier lorsque les villages vivant sur les activités des produits agricoles ou d'élevage, constitue un des facteurs de risque épidémiologique. Dans ces contextes environnementaux, un chevauchement de l'habitat humain et simien devient évident, en présence d'une infestation commune par des moustiques du genre *Anopheles*, qui sont le véhicule nécessaire à la transmission du paludisme à l'Homme [67].



V. PHYSIOPATHOLOGIE

1. Généralités :

En ce qui concerne la virulence du *P. knowlesi* et son expansion possible, nous devons souligner que les études réalisées en Roumanie ont montré que les transmissions humaines accrues augmentent la pathogénicité de ces protozoaires. Selon cette dernière observation, une augmentation significative de la gravité de la maladie a pu être observée en parallèle avec son extension géographique progressive. Des informations générales pertinentes, résultats de recherches effectuées en Malaisie, montrent que l'habitat humain chevauche de plus en plus à celui de certains primates, principalement en raison de deux aspects : le premier est représenté par l'expansion des activités humaines (l'agriculture, la déforestation, la compensation du bois et l'élevage) dans les zones également habitées par des singes. La deuxième raison est liée à l'augmentation des activités touristiques par les visiteurs internationaux, qui passent un temps proportionnellement limité dans cet environnement, et retournent ensuite dans leur pays d'origine. Dans ce dernier cas, la connaissance limitée du paludisme simien et de ses problèmes de diagnostic et d'identification peuvent entraîner de faux résultats de la part des fournisseurs des soins de santé occidentaux, en particulier quand l'examen parasitologique par microscopie de base est effectué pour la recherche et l'identification de *Plasmodium*, ce qui ne permet pas de distinguer *P. malariae* de *P. knowlesi*, [67].

2. Mécanismes de l'invasion

Une grande partie des travaux initiaux sur les mécanismes de l'invasion des GRH par le parasite paludéen a utilisé le parasite simien : *Plasmodium knowlesi*. Cette espèce a un cycle de vie érythrocytaire de 24 heures et de grands mérozoïtes envahissants à long terme, facilitant l'utilisation de la microscopie électronique et de la vidéo pour disséquer la dynamique de l'invasion des érythrocytes [88-90]. Le *P. knowlesi* peut être cultivé in vitro chez le singe rhésus (*Macaca mulata*), GRH avec rhésus ou sérum humain [90-92]. Particulièrement, le *P. knowlesi* se prête à la manipulation génétique, avec une efficacité rapportée de la transfection similaire à celle obtenue avec le modèle de paludisme à *Plasmodium berghei* des rongeurs, dépassant de loin les résultats obtenus chez *P. falciparum* [90, 92, 93]. *P. knowlesi* est phylogénétiquement et étroitement lié au *Plasmodium vivax*, la

cause la plus importante du paludisme en dehors de l'Afrique [36, 90], de sorte que son étude peut fournir les aspects uniques de la biologie pour le *P. vivax*.

P. knowlesi pourrait fournir un modèle idéal in vitro pour le parasite du *Plasmodium* ; cependant, les tentatives précédentes pour adapter le *P. knowlesi* à la culture dans GRH ont échoué [90, 94], l'exigence d'une fourniture des GR des macaques et de sérum a restreint le travail sur ce parasite à de très peu laboratoires à travers le monde ayant l'accès aux installations des primates.

Une étude décrit l'adaptation d'une lignée de *P. knowlesi* à la culture en continu dans les GRH sans exigence des cellules ou de sérum de macaque. Fait important, la lignée conserve sa capacité d'infecter des cellules de macaque. Les clones dérivés de la lignée de *P.knowlesi* adaptée aux humains ont été utilisés dans un essai à base de FACS-format à 96 puits adapté à étudier l'importance des polymorphismes de la surface des GRH pour l'invasion parasitaire efficace et pour sa croissance. L'utilisation Spécifique de *P.knowlesi* nous démontre que le clone de *P. knowlesi* adapté à l'Homme est très bien prêt à la manipulation génétique, avec une meilleure efficacité de transfection 100.000 fois mieux par rapport à celui réalisé pour *P. falciparum*, et dépassant celui atteint par le *P. berghei*. Ceci fournit une occasion unique pour toutes les espèces de *Plasmodium* d'interroger les conséquences phénotypiques des modifications génétiques dans la première génération de parasite au stade sanguin asexué transgénique [71]. Cette étude est réalisée afin d'adapter les parasites du *P.knowlesi* à la culture continue dans les érythrocytes humains. Cette réalisation fournit aux chercheurs l'accès à certaines des caractéristiques uniques traitables du stade sanguin asexué de *P. knowlesi*, aussi à la biologie cellulaire appropriée pour étudier l'invasion des GRH et les interactions récepteur-ligand impliquées. L'analyse du processus d'adaptation lui-même permet de savoir plus sur les déterminants de la spécificité de l'hôte dans le paludisme [71].

Cette adaptation a été initiée par la culture in vitro d'une souche congelée A1, dérivée de la souche H du *P.knowlesi*. Les parasites ont été ajoutés par la suite aux GR des *M.fascicularis* fraîchement prélevées, la lignée culturelle résultante a été nommée A1-O qui a été divisée à son rôle en deux cultures distinctes, une maintenue uniquement dans les GR

100% cynomolgues (appelé A1-C), l'autre a été maintenue dans un mélange 4: 1 des GR humains et cynomolgue appelé A1-H (E), les cellules cynomologues ont été entièrement éliminées avec les taux de croissance à 100% dans les GR humains. Puis la lignée A1-H résultante a été clonée, et en parallèle avec la lignée A1-C des clones parasites A1-H.1 à A1-H.5, et A1-C.1 à A1-C.2 ont été produits par la suite. Les clones A1-H.1 et A1-C.1 ont été sélectionnés pour une caractérisation détaillée (figure 23) [71].

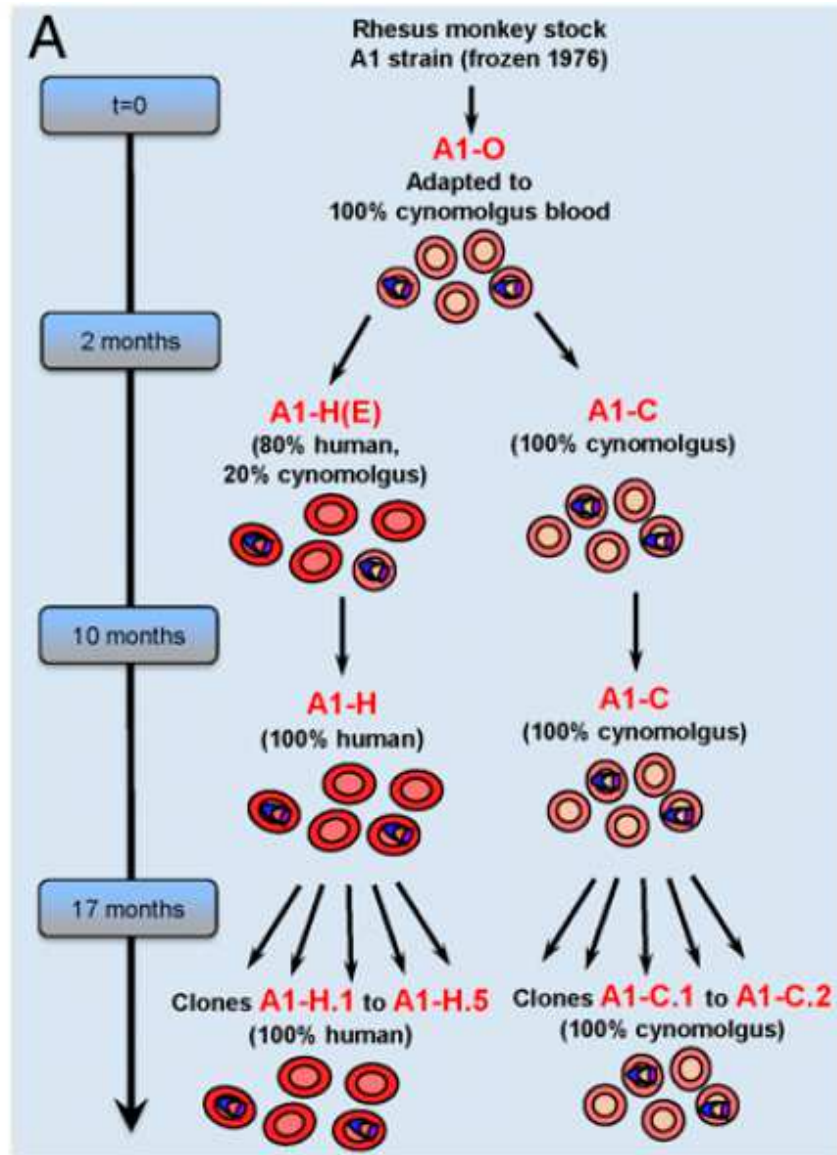


Figure 23: Stratégie utilisée pour adapter la croissance des parasites dans les GRH [71].

Les comparaisons détaillées du génome des clones A1-H.1 et A1-C.1 sont déjà en cours (à la fois au niveau génomique et RNAseq). On prévoit qu'ils permettront d'identifier les déterminants génétiques ou épigénétiques nécessaires à la croissance dans GRH, représentant potentiellement le facteur de virulence important de *P. knowlesi* pour l'Homme. Un maintien étendu du *Plasmodium* en forme stade sanguin asexué est bien documenté qu'il perd la capacité d'établir les formes gamétocytes sexuées essentielles pour la transmission à travers les moustiques. En effet aucune lignée de culture adaptée ne semble capable de produire des gamétocytes. Les informations sur la séquence du génome peuvent aider à identifier les changements génétiques responsables de ceci, facilitant potentiellement la culture des gamétocytes produisant des lignées du *P. knowlesi* dans l'avenir [71].

Les chercheurs étaient en mesure de démontrer la nécessité de l'antigène Duffy dans le clone A1-H.1, les essais précédents d'un seul cycle de l'invasion dans GRH en utilisant les parasites de *P. knowlesi* des macaques infectés n'ont pas réussi à identifier un meilleur taux de l'invasion dans les cellules à Duffy positif Fy^{b+}, malgré la démonstration que le récepteur des GRH pour le parasite, Duffy binding protéine (DBP), se lie plus fortement au phénotype Duffy+ Fy^{b+} que Fy^{a+} des GRH. Ces expériences, menées avec un clone entièrement adapté à la culture, ont permis d'améliorer la sensibilité en raison des taux élevés et de multiples cycles de l'invasion, mais n'ont réussi à démontrer aucune différence Fy-dépendante du taux de croissance. Avec la mise en garde que les données provenant de l'utilisation d'un seul être humain adapté au clone de *P. knowlesi*, on suggère qu'il existe des différences fondamentales entre *P. vivax* et *P. knowlesi*, ou que l'effet récemment observé des polymorphismes Duffy sur l'incidence clinique de *P. vivax* peut être dû à une sensibilité accrue des GRH Fy^{a+} à des anticorps bloquant l'invasion et dans certains cas allèle dosage, plutôt qu'un effet direct sur l'efficacité de l'invasion

Bien que le clone A1-H.1 a affiché une grande amélioration de l'invasion et des taux de croissance dans GRH par contre au stock A1 à partir du quel il est dérivé, il a maintenu la capacité de se développer bien dans les globules rouges de macaque, présentant souvent des taux de réplication légèrement plus élevés que dans GRH. Le fait que cette caractéristique a été conservée même après plusieurs mois de culture exclusivement dans les globules rouges

humains, offre la possibilité passionnante de concevoir des expériences qui impliquent la navette entre les deux, macaques et cellules humaines in vitro. Des travaux antérieurs ont démontré qu'il est possible d'établir les infections in vivo chez les macaques rhésus à partir des parasites cultivés à long terme dans les globules rouges rhésus, les chercheurs visent à explorer si les clones A1-H (et mutants transgéniques de ceux-ci) peuvent être appropriés pour des expériences similaires. La capacité de combiner les expériences in vitro avec les études in vivo dans des modèles primates sera inestimable pour les enquêtes « pathogènes » des parasites et pour le développement des vaccins, en particulier les vaccins pour le *P. vivax*, qui partage les voies d'invasion avec le *P. knowlesi*, mais manque d'un système de culture in vitro à long terme. Une vaste caractérisation in vitro des parasites utilisés pour des expériences in vivo des macaques permettra d'améliorer la valeur du travail in vivo [71].

3. Protéine de surface SPATR

Le phylum Apicomplexa comprend un grand groupe de protistes, y compris *Babesia*, *Plasmodium*, *Cryptosporidium* et *Toxoplasma*, qui sont caractérisés par des organites sécrétoires spécialisés se trouvant à leur extrémité apicale. Ces structures apicales, composées des rhoptries des micronèmes, et des granules denses [95, 96], contiennent de nombreuses protéines impliquées dans la motilité et l'invasion parasitaire de la cellule hôte.

De nombreux stades invasifs de *Plasmodium* ont été trouvés qu'ils contiennent un ou plusieurs domaines de répétition de thrombospondine type 1 (TSR) [96, 97], suggérant le rôle possible de ce domaine dans la motilité et l'invasion des sporozoïtes au niveau des hépatocytes. Une version modifiée du domaine de répétition de thrombospondine a été découverte chez *Plasmodium yoelii* [96, 98, 99], appelée la protéine de surface de répétition de thrombospondine modifiée (SPATR). L'orthologue de cette protéine a également été identifiée dans *P. knowlesi* et nommé le PkSPATR. La protéine SPATR est exprimée pendant de nombreuses étapes du cycle de vie du *P. knowlesi*, y compris les stades sporozoïtes, mérozoïtes et gamétocytes [96, 98]. Elle est exprimée surtout à la surface cellulaire pendant le stade sporozoïte, où elle est impliquée dans l'invasion des cellules hépatiques. En fait, il a été précédemment démontré que SPATR recombinante de *Plasmodium falciparum* et son

orthologue chez le *P. knowlesi* étaient capables de se lier à des cellules HepG2 avec une spécificité élevée. Les anticorps générés contre SPATR pourraient inhiber l'invasion des sporozoïtes de *P. falciparum* au niveau des cellules hépatiques [96, 98, 99]. La protéine SPATR de *P. falciparum* a été reconnue par le sérum des Africains infectés naturellement, mais non reconnue par les sérums de contrôle provenant des donneurs non immunisés, ce qui indique que cette protéine peut être reconnue par le système immunitaire de l'hôte [96, 98]. Dans cette étude, la séquence du gène SPATR du *P. knowlesi* a été optimisée en codons et clonée (pkhspatr). En outre, la protéine de PkHSPATR recombinant a été exprimée, purifiée et évaluée pour sa sensibilité et sa spécificité en immunoblot et des dosages à base d'ELISA pour la détection de l'infection à *P. knowlesi* dans les échantillons de sérum humain.

Le cycle de vie complexe du *Plasmodium*, qui est accompagné par des altérations et de l'expression génique à chacune de ses étapes, se traduit par des changements antigéniques importants au cours de l'infection paludéenne [96, 100]. Logiquement, les antigènes les plus fiables et efficaces pour le diagnostic de l'infection à *P. knowlesi* seraient ceux qui sont exprimés à plusieurs étapes de développement du parasite et de préférence associés à l'invasion, la séquestration, et la progression de la pathogenèse chez l'hôte [96, 98]. À cet égard, plusieurs étapes expriment le gène spatr de *Plasmodium* qui joue un rôle dans la mobilité des parasites, l'attachement et l'invasion de la cellule hôte [96-98]. Dans cette étude, le clonage et l'expression du gène spatr de *P. knowlesi* ont été signalés. En outre, la protéine recombinante PkHSPATR a été purifiée et testée. Elle peut être utilisée pour détecter la sensibilité et la spécificité de l'infection à *P. knowlesi* dans le sérum des individus infectés par le paludisme. En outre, le fragment de gène natif spatr a été optimisé pour augmenter son niveau d'expression dans *E. coli* et la protéine recombinante PkHSPATR a été récupérée. En effet, la protéine SPATR a été rapportée qu'elle fixe les cellules du foie humain et qu'elle joue un rôle dans l'invasion des hépatocytes par les sporozoïtes. En résumé, la protéine recombinante PkHSPATR semble permettre une détection sensible de l'infection humaine par *P. knowlesi* dans des échantillons de sérum par ELISA et immunoblot. Avec d'autres recherches, la protéine PkHSPATR pourrait être exploitée comme un marqueur sensible pour la détection de l'infection à *P. knowlesi* chez l'Homme. Cependant, cette protéine a une

caractéristique d'être pleinement immune. En outre, les résultats de cette étude fournissent la justification pour la production d'un antigène recombinant spécifique pour l'utilisation dans des essais de diagnostic immunologique et le développement de vaccin pour *P. knowlesi* [96].

4. Cytoadhérence et virulence de *Plasmodium knowlesi*.

Le coma est une des manifestations du paludisme à *Plasmodium falciparum* chez les enfants et les adultes [101-103], qui ont un mauvais pronostic. L'accumulation des érythrocytes parasités cytoadhérents dans les veinules post-capillaires du cerveau est fortement impliquée dans la précipitation du coma paludéen [103-105]. L'adhésion au cerveau et aux autres surfaces endothéliales est induite par l'expression des protéines parasitaires dérivées (famille PfEMP1 var) du *P. falciparum* à la surface des érythrocytes infectés [103, 106]. Les protéines PfEMP1 se lient principalement au CD36, mais également à la molécule d'adhésion intercellulaire 1 (ICAM-1) [103, 107, 108]. La liaison hautement régulée à l'ICAM-1 est particulièrement importante dans la cytoadhérence à l'endothélium cérébral car CD36 n'est pas exprimé dans ce compartiment endothélial [103, 109, 110]. Le coma paludéen est rare dans les infections par les autres espèces du paludisme adaptés aux hôtes humains. Le coma n'a pas été une caractéristique du paludisme zoonotique grave et mortel à *Plasmodium knowlesi* [13, 103, 111]. Cependant, l'autopsie d'un cas atteint de paludisme grave et mortel dû à *P.knowlesi* sans coma montre des capillaires cérébraux et veinules encombrées par les érythrocytes infectés [103, 112]. L'expression des antigènes variants de surface du parasite avait été décrite dans les infections expérimentales à *P. knowlesi* chez les singes rhésus avant l'identification de PfEMP1 de *P. falciparum* [103, 113]. Les protéines de surface de *Plasmodium knowlesi* ont été nommées les antigènes d'agglutination cellulaire des schizontes infectée (SICA). Elles sont codées par la famille de gènes SICAvan [103, 114]. Bien qu'elles soient faiblement apparentées, les protéines SICAvan partagent un motif de signature liant avec des protéines PfEMP1 [103, 115]. Une similitude histologique remarquable entre les coupes de cerveau du paludisme fatale à *P. knowlesi* et les cas mortels de paludisme grave à *P.falciparum* avec coma [103, 112, 116], en particulier l'accumulation des érythrocytes infectés dans la microvascularisation de cerveau, conduit à la conception de cette étude pour

tester les caractéristiques de liaison de *P. knowlesi* isolé à partir des patients infectés [103, 109].

Les érythrocytes infectés par *Plasmodium knowlesi* se lient d'une manière spécifique, mais variable aux récepteurs des cellules endothéliales humaines ICAM-1 et VCAM, mais pas au CD36. La liaison spécifique des érythrocytes infectés aux récepteurs cellulaires endothéliaux est responsable de la cytoadhérence, et par conséquent, la séquestration des trophozoïtes et des schizontes au niveau des érythrocytes infectés est retrouvée dans la circulation du sang périphérique dans le cas du paludisme à *P. falciparum* [103, 106]. À quelques exceptions seulement, les érythrocytes infectés au stade trophozoïtique immature de *P. falciparum* se trouvent dans la circulation des patients atteints de *Plasmodium falciparum* en cas d'accès aigu non compliqué. Les protéines PfEMP1 de *Plasmodium falciparum* se lient principalement au CD36, les fixateurs expriment la forme de reconnaissance protéique, et d'une manière variable à ICAM-1 et aux autres récepteurs des cellules endothéliales hautement régulées. CD36 n'est pas exprimé sur les zones d'endothélium cérébral où la cytoadhérence se produit [103, 117] et la liaison à ICAM-1 sur l'endothélium cérébral est impliquée dans la physiopathologie du paludisme sévère avec coma. L'expression particulière des variants PfEMP1, avec la capacité de se lier différenciellement à ICAM-1 a été démontrée chez les patients atteints du paludisme avec coma [103, 117, 118]. La séquestration parasitaire par cytoadhérence dans les infections à *P. falciparum* peut être spécifique à certains organes, mais il n'est pas encore clair si cela est équivalent à la virulence plutôt qu'aux sites de liaison disponibles et l'affinité de liaison du parasite. Il ya quelques données suggérant la stratification du type var au début de l'infection et il a été suggéré que la cytoadhérence aux récepteurs disponibles est responsable de celle ci [103, 119]. Les parasites au stade mature sont observés dans la circulation dans tous les autres types de paludisme humain, y compris *P. knowlesi*. Tandis que cela n'exclut pas la possibilité d'un degré de séquestration parasitaire par la fixation aux récepteurs des cellules endothéliales spécifiques ou par d'autres moyens. ICAM-1 est faiblement exprimé dans l'endothélium et hautement régulé dans l'inflammation et l'infection, y compris le paludisme sévère avec coma [103, 108]. Pour *P. falciparum*, TNF a été impliqué dans la régulation de ICAM-1, bien que les globules rouges infectés seuls soient suffisants pour produire cet effet [103, 120]. *Plasmodium falciparum* infecte des patients avec

différents degrés de gravité de la maladie et montre une diversité de liaison aux récepteurs endothéliaux [103, 121] avec une liaison plus élevée et plus robuste à ICAM-1, chez les patients atteints de paludisme sévère avec coma [103, 117, 121]. Cette étude n'a pas montré que les protéines de *Plasmodium knowlesi* exprimées à la surface des érythrocytes infectés peuvent se lier au CD36. Ce manque d'adhérence d'une manière robuste pour exprimer les récepteurs endothéliaux abondants, comme CD36, pourrait expliquer la présence des parasites au stade mature dans la circulation, lorsque les récepteurs cibles inductibles ne sont pas régulés. La liaison significative mais variable des érythrocytes infectés par *P. knowlesi* aux récepteurs endothéliaux inductibles ICAM-1 et VCAM a été démontrée. Ce résultat suggère que, si une haute régulation sur l'endothélium du cerveau existe, les érythrocytes infectés par *P. knowlesi* pourraient potentiellement cytoadhérer à ICAM-1 dans ce compartiment. En dépit de cette possibilité, l'immunohistochimie a échoué à détecter l'ICAM-1 sur les surfaces endothéliales des coupes de cerveau des parasites encombrés d'un cas mortel de paludisme grave à *P. knowlesi* sans coma [103, 112]. Il peut y avoir des explications techniques de cet échec comprenant des sections disponibles limitées, retard post-mortem d'échantillonnage et la perte de l'intégrité des tissus. Il est également possible qu'ICAM-1 ne soit pas induit sur l'endothélium cérébral dans les infections à *P. knowlesi* et que la liaison spécifique in vivo ne soit pas associée à la virulence du parasite chez cette espèce. L'accumulation intense des érythrocytes infectés observés dans les sections du cerveau dans la malaria fatale à *P. knowlesi* peut se produire suite aux autres processus autres que la cytoadhérence spécifique, par exemple l'agglutination des cellules infectées [103, 113]. Cette étude et avec les descriptions cliniques de malaria grave et mortelle suggère que la régulation observée de l'ICAM-1 dans les infections à *P. falciparum* est moins évidente pour *P. knowlesi*, et que l'induction directe ou indirecte de ICAM-1 peut-être la définition spécifique d'un facteur de virulence de l'espèce *Plasmodium* dans le paludisme sévère avec coma.

En résumé, les érythrocytes infectés par *P. knowlesi* provenant des sujets humains peuvent se lier aux récepteurs endothéliaux inductibles ICAM-1 et VCAM. D'autres travaux seront nécessaires pour définir l'implication pathologique de ces interactions [103]



**VI. L'IMMUNITÉ ET LES
MECANISMES
D'ÉCHAPPEMENT**

1. Immunogénicité des protéines MSP-1₄₂ :

Les protéines exprimées à la surface des mérozoïtes du *Plasmodium* sont des cibles prometteuses pour le développement des vaccins contre le paludisme. La protéine 1 à la surface de mérozoïte (MSP-1) est une protéine de masse moléculaire élevée, qui est soumise à deux étapes protéolytiques afin de produire plusieurs fragments. La première transformation se produit pendant la maturation des mérozoïtes et le traitement secondaire se produit lors de l'invasion des érythrocytes par les mérozoïtes. Le traitement protéolytique de MSP-1 a été étudié d'une manière intensive pour *Plasmodium falciparum*. Au cours du premier traitement, le polypeptide précurseur de *P. falciparum* MSP-1 est clivé en quatre grands fragments de ~ 83 kDa (MSP-1₈₃), 30 kDa (MSP-1₃₀), 38 kDa (MSP-1₃₈) et 42 kDa (MSP-1₄₂). L'autre traitement secondaire clive le MSP-1₄₂ en deux fragments, MSP-1₃₃ et MSP-1₁₉. MSP-1₃₃ est soluble, il se sépare de la surface des mérozoïtes, alors que MSP-1₁₉ reste associé aux mérozoïtes et transporté dans les nouveaux érythrocytes durant l'invasion. MSP-1₄₂ est capable d'induire des réponses immunitaires protectrices. Les anticorps dirigés contre MSP-1₄₂ et MSP-1₁₉ peuvent interrompre l'invasion des mérozoïtes in vitro. Les enfants ayant eu une réponse immunitaire naturellement acquise contre le *Plasmodium* MSP-1₁₉ sont dotés significativement d'une résistance à l'infection paludéenne et à des manifestations cliniques, tandis que les femmes enceintes ayant des anticorps anti MSP-1₁₉ sont protégées contre l'infection placentaire et protègent leurs nourrissons contre l'infection. Les études de vaccination utilisant MSP-1₄₂ et MSP-1₁₉ dans des modèles animaux comme les rongeurs, les souris et les primates ont trouvé que la réponse immunitaire protectrice est provoquée lors des défis de vie contre les parasites paludéens. Les réponses protectrices à médiation MSP-1₁₉ sont principalement responsables de l'immunité humorale. MSP-1₃₃ régule les réponses à médiation cellulaire induisant les cellules T effectrices qui aident à la réponse des cellules B protectrices, la production des cytokines et la régulation des activités antiparasitaires contre *Plasmodium* d'une manière anticorps-indépendante. Il est donc plus approprié d'inclure les fragments à la fois MSP-1₁₉ et MSP-1₃₃ dans la conception d'un vaccin contre le paludisme dans le but d'obtenir deux réponses ; humorale et à médiation cellulaire. Par conséquent, MSP-1₄₂ est considérée comme un candidat vaccinal important et potentiel [122].

Des études considérables sur MSP-1₄₂ ont été effectuées sur plusieurs *Plasmodium* sp, mais pas trop sur *P. knowlesi* MSP-1₄₂, en particulier à propos de son immunogénicité. Dans cette étude, un recombinant MSP-1₄₂ de *P. knowlesi* (PkMSP-1₄₂) a été produit et évalué par ELISA et les dosages Western blot. L'immunogénicité a été évaluée en utilisant le modèle de souris. Les niveaux de cytokine dans des souris PkMSP-1₄₂-immunisées ont été déterminés et les réponses d'anticorps ont été caractérisées.

Il a été démontré que MSP-1₄₂ de plusieurs *Plasmodium* sp peut être immunogène et capable de susciter une immunité protectrice [122-124]. MSP-1₄₂ est non glycosylée et c'est crucial pour son immunogénicité. Les chercheurs ont montré une sensibilité élevée (> 90%) des PkMSP-1₄₂ pour détecter l'infection paludéenne par les deux techniques Western blot et ELISA. Par conséquent, cela suggère que PkMSP-1₄₂ convient comme antigène dans les deux dosages pour la serodétection de l'infection paludéenne. Quelques sérums provenant des patients infectés ne réagissent pas avec PkMSP-1₄₂ en Western blot et / ou ELISA, ce qui pourrait s'expliquer par une diversité génétique des MSP-1. La présence de la diversité de séquence dans ces épitopes peut modifier leur reconnaissance immunologique et donc bénéficier de la survie du parasite par l'évasion devant la réponse immunitaire de l'hôte. Par exemple, Bergmann-Leitner et al [122, 125] ont démontré que les anticorps anti-MSP-1₁₉ de *P.falciparum* étaient des allèles spécifiques pendant l'inhibition de l'invasion des mérozoïtes et la croissance du parasite. Par conséquent, les anticorps de certains sérums provenant des patients infectés par le paludisme pourraient être incapables de détecter les épitopes variants sur PkMSP-1₄₂, ce qui a conduit à une réactivité négative.

PkMSP-1₄₂ est composée de deux régions MSP-1₃₃ et MSP-1₁₉. Des études antérieures ont montré que les sérums humains dans les zones d'endémie palustre ont démontré une forte réactivité pour MSP-1₁₉ et que ce fragment se compose de plusieurs épitopes des cellules B immunodominantes qui sont importants pour induire une protection anti-MSP-1₁₉. Par conséquent, ces épitopes peuvent être reconnus par des anticorps spécifiques anti-MSP-1₁₉ dans le sérum des patients infectés par le paludisme, lorsque PkMSP-1₄₂ a été utilisé comme antigène, mais ne reconnaît pas PkMSP-1₃₃. PkMSP-1₄₂ mis en réaction avec la plupart des sérums de *Plasmodium* non *knowlesi* et cela pourrait être dû à la réactivité croisée

sérologique. Des études antérieures ont montré que le sérum à réactivité croisée pourrait se produire chez les patients atteints du paludisme. En outre, le niveau de protection quasi similaire pourrait être induit chez les animaux immunisés par les antigènes hétérologues des parasites de *Plasmodium* en raison de leur forte homologie. Les sérums des patients infectés par *P. falciparum* et *Plasmodium malariae* sont en réactivité croisée avec la protéine recombinante de *Plasmodium vivax* MSP-1, qui a 42% de similitude de séquence avec *P.falciparum* MSP-1. *Plasmodium knowlesi* MSP-1₄₂ partage une haute similarité des acides aminés avec MSP-1₄₂ de *P. vivax* (84%), *P. falciparum* (59%) et *Plasmodium ovale* (70%). Ainsi, *P. knowlesi* MSP-1₄₂ peut partager certains épitopes communs des cellules B avec les autres espèces de *Plasmodium* humains, conduisant à une réactivité croisée. PkMSP-1₄₂ a réagi avec certain *Plasmodium* humains non-*knowlesi* et avec les sérums à infection parasitaire non *Plasmodium*. Cela pourrait probablement dû à une exposition antérieure des patients au *P. knowlesi*. Il est connu que les anticorps générés contre l'infection *knowlesi* peuvent persister jusqu'à cinq ans ou plus. Les niveaux élevés d'interféron gamma (IFN- γ) et l'interleukine 2 (IL-2) dans le groupe de souris immunisées contre PkMSP-1₄₂ ont indiqué que Th1 (lymphocytes T helpers) conduisant à une réponse immunitaire, ont été stimulés. IFN- γ est une molécule clé pour la défense de l'hôte contre le paludisme humain. Elle active les macrophages pour tuer les parasites du paludisme au stade sanguin par les intermédiaires réactifs d'oxygène et d'azote, de plus elle induit les macrophages à sécréter des monokines telles que l'IL-1, IL-6 et TNF (les facteurs de nécrose des tumeurs). IFN- γ , qui régule les réponses pro-inflammatoires et Th1, a été détecté lors de l'infection primaire au *P. knowlesi* chez les macaques rhésus. IL-2 fonctionne comme le facteur de croissance des cellules T et favorise les propriétés fonctionnelles des cellules tueuses naturelles, des cellules B et des macrophages [122].

Les chercheurs ont observé un niveau élevé d'IL-4, IL-10 et la production des IgG1 prédominant dans le groupe de souris immunisées contre PkMSP-1₄₂, ce qui montre que la réponse Th2 a été également stimulée. IL-10 est une cytokine anti-inflammatoire qui est sécrétée par les cellules Th2 activées. Elle régule la production d'IFN- γ pro-inflammatoire et limite les réactions inflammatoires potentiellement dangereuses lors de l'étape parasitaire

sanguine chez les souris infectées. Une étude sur l'inoculation du *P. knowlesi* chez les Babouins olive a signalé l'association entre l'augmentation des niveaux d'IL-4, IL-10, des IgM et des IgG avec une protection accrue contre l'infection knowlesi. En cas d'infection humaine naturelle, Cox-Singh et al [122, 126] ont déclaré qu'une augmentation dans le niveau d'IL-10 apparaît chez les patients atteints de *P.knowlesi* avec une parasitémie considérable. Par conséquent, ils ont émis l'hypothèse que cette cytokine anti-inflammatoire joue un rôle dans la modulation de la poussée immunitaire attendue au cours de la réinvasion des mérozoïtes. Les cytokines produites par chaque sous-ensemble favorisent le processus de la polarisation, dans lequel les cellules Th1 produisent des cytokines qui vont réguler négativement la réponse Th2 et vice-versa. Les concentrations d'IFN- γ et IL-10 ont été notées en augmentation chez les individus infectés par *P. vivax* au cours de l'infection naturelle. Par conséquent, la stimulation des sous-ensembles Th1 et Th2 lors de l'immunisation contre PkMSP-1₄₂ est aussi importante que l'homéostasie entre les cellules Th1 / Th2 pourrait réaliser une régulation équilibrée entre les actions pro-inflammatoires et anti-inflammatoires dans la réponse immunitaire. Le titre élevé des anticorps anti-pkMSP-1₄₂ suggère que pkMSP-1₄₂ est hautement immunogène. Quatre isotypes d'IgG ont été détectés chez les souris à PkMSP-1₄₂-immunisées. Ces isotypes IgG aident à activer les réponses effectrices de différentes manières. IgG1 se lie aux mastocytes, les sous-types IgG2a et IgG2b jouent un rôle dans la fixation du complément et dans l'opsonisation, tandis que IgG3 est responsable de la reconnaissance de l'épitope carbohydre. IgG2a est l'isotype IgG dominante pour moduler la parasitémie. À la fois la réponse à médiation cellulaire et l'immunité humorale ont été provoquées par pkMSP-1₄₂. Ces résultats confirment que *P. knowlesi* MSP-1₄₂ est un candidat potentiel pour le vaccin au stade sanguin. Des résultats similaires ont été rapportés dans les études impliquant des souris immunisées avec la protéine recombinante *P. falciparum* et *P. vivax* MSP-1₄₂ [122].

Les résultats de cette étude suggèrent que pkMSP-1₄₂ est hautement immunogène et que les deux réponses des cellules T et B ont été suscitées chez la souris. Par conséquent, pkMSP-1₄₂ peut servir comme un candidat pour la conception d'un vaccin contre le paludisme, bien que d'autres évaluations ont besoin d'être effectuées pour valider son potentiel et ces limites [122].

2. Reconnaissance de la protéine PkSPATR par le système immunitaire

Des études précédentes ont montré que SPATR de *P.falciparum* a été reconnue par le sérum des africains infectés naturellement, mais non reconnus par le sérum contrôle des donneurs non immunisés, ce qui indique que cette protéine peut être reconnue par le système immunitaire de l'hôte. La protéine PkSPATR a 12 résidus de cystéine, dont la majorité est localisé à l'extrémité amino-terminale et carboxy et moins abondante dans la partie centrale de la protéine. L'abondance des résidus cystéine et la capacité de se lier à des cellules hépatiques indiquent fortement que PkSPATR est un nouveau ligand parasite qui joue un rôle important dans la fixation et / ou l'invasion des cellules hôtes. Des données présentées par une étude [96], suggèrent que SPATR est exprimée pendant plusieurs stades de développement du parasite et appartient à une famille d'antigènes du *Plasmodium* qui participe au processus de l'invasion et l'adhésion cellulaire. En outre, l'observation que l'infection à *P. knowlesi* induit des anticorps anti-SPATR chez le singe rhésus soutient l'argument que SPATR est une cible des réponses immunitaires protectrices [96, 98].



**VII. PARTICULARITES DE
L'INFECTION HUMAINE
PAR *PLASMODIUM*
*KNOWLESII***

1. Age et sexe préférentiels

D'après une étude effectuée sur 5254 échantillons à PCR-positif obtenus durant les années 1996, 2006-2007 et 2008-2009 en Thaïlande, le *P. knowlesi* a été détecté chez 34 patients (0,65%) (Tab 5). Tous les patients infectés par *P. knowlesi*, dont le premier cas a été identifié en 2000 (n = 35), avaient des symptômes de paludisme sans complication. La tranche d'âge des patients infectés par *P. knowlesi* était de 4 à 59 ans (moyenne : 30 ans, mode : 19 ans, médiane : 33,5 années), la plupart (73,50%) des cas sont survenus chez les personnes de 16 à 45 ans. *P. knowlesi* a été diagnostiqué chez les patients masculins environ 2 fois plus souvent que chez les femmes (rapport M: F 2.18: 1), ce qui était similaire à la répartition par sexe du total des cas de paludisme (rapport M: F 2,16: 1). Ainsi, la préférence sexuelle n'a pas été observée pour *P. knowlesi* (p = 0,97) [35].

Tableau V: Variation temporelle de la répartition des espèces de *Plasmodium* par région d'endémie palustre en Thaïlande, entre 2006-2009 [35].

	% distribution							
	Nord-ouest (Tak)		Est (Chantaburi)		Sud (Yala)		Sud (Narathiwat)	
Espèces	2006-2007 n=681	2008-2009 n=1,216	2006-2007 n=261	2008-2009 n=401	2006-2007 n=286	2008-2009 n=1,408	2006-2007 n=370	2008-2009 n=421
<i>P.falciparum</i>	44.54	50.55	8.42	16.74	57.14	60.50	23.31	56.82
<i>P.vivax</i>	52.63	48.68	91.03	81.50	41.86	38.97	76.17	41.34
<i>P.malariae</i>	1.16	0.21	0	0.22	0	0.13	0	0.41
<i>P.ovale</i>	1.41	0.21	0.27	0	0	0.07	0	0.20
<i>P.knowlesi</i>	0.26	0.35	0.27	1.54	1.00	0.33	0.52	1.22

2. Génotypage du groupe sanguin Duffy

Le récepteur d'antigène Duffy pour chimiokine (DARC), aussi connu comme Fy glycoprotéine, appartient à une famille des récepteurs chimiokines silencieux heptahéliques. *Plasmodium vivax* et *Plasmodium knowlesi* nécessitent cette protéine pour infecter les globules rouges au cours de leur stade sanguin asexué, tandis que *P. falciparum* utilise un

ensemble différent des récepteurs pour avoir accès à la cellule [127]. C'est un groupe de molécules polymorphes, situé sur la partie extérieure de la membrane des globules rouges. Le groupe sanguin Duffy est d'une importance particulière en raison de la nature de l'antigène Duffy, c'est un récepteur obligatoire pour l'invasion du parasite plasmodial dans les érythrocytes, notamment *P. vivax* et *P. knowlesi* [31, 128]. En plus d'être un récepteur pour diverses chimiokines facilitant les voies des chimiokines induites dans le corps, le groupe sanguin Duffy joue également un rôle dans la médecine transfusionnelle. En effet, il a été démontré que l'antigène Duffy peut être responsable de plusieurs cas d'incompatibilité transfusionnelle hémolytique et de la maladie hémolytique du nouveau-né (MHN) [128]. Le groupe sanguin Duffy a été d'abord rapporté par Cutbush en 1950, quand il a décrit la réactivité d'un anticorps trouvé chez un homme hémophile polytransfusé qui possédait un allo-anticorps contre un antigène, alors notée Fy^a. Une forme allélique de l'antigène Fy^b, a été décrite un an plus tard [128, 129]. Le FY est un gène à copie unique composé de deux exons codant pour une protéine de 336 acides aminés [128, 130]. Le locus FY est situé sur le chromosome 1 et se caractérise par trois allèles principaux, FY* A, FY* B, et FY* B^{ES}.

FY * A et FY * B sont des allèles codominants se distinguant par une mutation (125G>A) qui donne lieu à des antigènes Fya et Fyb[128, 131]. Les antigènes se différencient entre eux par une substitution d'acides aminés, le remplacement de la glycine par l'acide aspartique au niveau du résidu 42 du domaine extracellulaire de l'antigène (Gly42Asp)[128, 132]. Ces deux allèles confèrent les phénotypes Duffy communs Fy (a + b +), Fy (a + b -) et Fy (a- b +). L'allèle FY * B^{ES} se distingue de l'allèle FY * B par une substitution de T à C à la boîte motif GATA du promoteur FY* B (-33 T>C). Cette mutation entraîne une perturbation au site de liaison du GATA-1 érythroïde, facteur de transcription qui entraîne à son tour la perte d'expression de FY dans la lignée érythroïde mais n'affecte pas les autres tissus [128, 133].

Il a été montré que le phénotype Fy (a-b-) résultant de l'allèle homozygote FY*B^{ES} rend les globules rouges résistants à l'infection paludéenne de *P. vivax*. Ce phénotype est plus répandu dans les populations humaines de la lignée africaine, mais il est assez rare dans les populations caucasiennes ou asiatiques. La caractérisation moléculaire des allèles FY a permis

le développement du génotypage Duffy par des approches basées sur la PCR comme la restriction de la longueur des fragments polymorphiques (RLFP) [128, 130] et l'allèle PCR spécifique (ASP-PCR) [128, 134].

Une étude récente effectuée sur 51 échantillons sanguins infectés par le *P. knowlesi* obtenus à partir des patients admis au Centre Médical de l'Université de Malaya (UMMC) à Kuala Lumpur en Malaisie à partir de Juillet 2008 à Juillet 2012. Ces échantillons ont été confirmés par plusieurs tests pour l'infection paludéenne due au *P. knowlesi*, y compris l'examen microscopique, le test de diagnostic rapide du paludisme BinaxNOW et la PCR basée sur les gènes de la petite sous-unité ribosomale de l'ARN Plasmodial [34, 128]. Un groupe de contrôle des échantillons sanguins (n = 60) obtenus à partir des donneurs sains a été inclus dans l'étude. Les donneurs se composent des échantillons de l'établissement « Orang Asli » ainsi que les échantillons des patients de l'hôpital UMMC qui ont été diagnostiqués comme ayant le paludisme négatif. Les échantillons «Orang Asli » ont été prélevés au hasard sur différentes colonies autour de la Malaisie. Tous les échantillons n'avaient pas d'infection paludéenne précédente et ils sont tous dépistés par PCR.

Le génotypage Duffy a été effectué avec succès par ASP-PCR sur 60 échantillons de sang des donneurs et 51 échantillons de sang des patients infectés par *P. knowlesi*. La proportion de phénotypes prédits du groupe sanguin Duffy pour chaque échantillon de sang est résumée dans le tableau 6. Les données montrent une haute fréquence de phénotype Fy (a + b-), c'est à dire, chez 99 individus (89,2%) des échantillons totaux.

Tableau VI: Proportion des phénotypes prédits des donneurs du sang et des patients infectés par *P. knowlesi* [128]

phénotype prédit	Nombre de personnes
Fy (a+b+)	10 (9.0%)
Fy (a+b-)	99 (89.2%)
Fy (a-b+)	2 (1.8%)
Fy (a-b-)	0

La répartition de correspondant génotypique FY* A / FY * A chez les donneurs de sang et les patients infectés était le génotype le plus dominant, à 85,0% et 94,1% respectivement. Aucune différence significative (P = 0,140) observée pour ce phénotype entre les donneurs et les patients infectés par le paludisme. Les fréquences génotypiques du groupe sanguin Duffy pour chaque échantillon de sang sont résumées dans le tableau 7.

Tableau VII: Comparaison des fréquences génotypiques entre les donneurs du sang et les patients infectés par *P.knowlesi* [128].

Génotypes	Donneurs (60)	Patients infectés (51)	P-valeur
FY*A/FY*B	7 (11.7%)	3 (5.9%)	0.338
FY*A/FY*A	51 (85.0%)	48 (94.1%)	0.140
FY*A/FY*B ^{ES}	0	0	
FY*B/FY*B	2(3.3%)	0	0.499
FY*B/FY*B ^{ES}	0	0	
FY*B ^{ES} /FY*B ^{ES}	0	0	

La fréquence des génotypes hétérozygotes FY*A / FY * B dans les deux groupes était faible, 7 chez les donneurs du sang et 3 chez le groupe des patients infectés. Encore une fois, il n'y avait pas de différence significative entre les groupes (P = 0,338). La fréquence du génotype, s'élève à 9% du total prévu de phénotype des deux groupes. Les génotypes homozygotes FY * B ont été seulement observés chez le groupe des donneurs du sang avec une distribution de 3,3%. Les génotypes FY * A / FY * B^{ES}, FY * B / FY * B^{ES}, et FY * B^{ES} / FY * B^{ES} étaient absents chez les donneurs du sang et les patients infectés. Le phénotype Fy (a-b-) était donc absent. En ce qui concerne la distribution allélique, FY *A qui s'est révélée être prédominante dans les deux cas, 90,8% pour les donneurs du sang et 97,1% pour les patients infectés par *P. knowlesi*. D'autre part, les fréquences alléliques de l'allèle FY * B, ont été trouvées faibles, 9,2% chez les donneurs du sang et de 2,9% chez les patients infectés. L'allèle FY * B^{ES} n'a pas été détecté dans les deux groupes de sang. Les distributions des

allèles FY *A et FY * B n'étaient pas significativement différentes (P = 0,094) entre les deux groupes (Tableau 7). Cette absence de différence entre la génotypique et la distribution allélique entre le groupe des donneurs et les patients infectés par le *P. knowlesi* indique qu'aucun facteur n'affecte la sensibilité à l'infection paludéenne.

Tableau VIII: Comparaison de la distribution allélique entre les donneurs du sang et les patients infectés par *P.knowlesi* [128].

Allèles	Donneurs (60)	Patients infectés (51)	P-valeur
FY*A	109 (90.8%)	99 (97.1%)	0.0094
FY*B	11 (9.2%)	3 (2.9%)	0.0094
FY*B ^{ES}	0	0	


Pour la plupart, la résistance naturelle à l'infection par à *P. vivax* et *P. knowlesi* chez l'Homme a été largement attribuée au groupe sanguin Duffy particulièrement dans le cas des personnes avec Fy (a- b-) ou Duffy phénotype silencieux. Récemment, des exceptions à cette résistance ont été signalées pour les infections à *P. vivax* en Amérique du Sud en particulier en Amazonie brésilienne ainsi qu'au Kenya et Madagascar.

Les polymorphismes Duffy des groupes sanguins sont importants dans les zones endémiques de *P. vivax* et *P. knowlesi*, car ils fournissent une voie pour l'entrée érythrocytaire du parasite. Les données fournies dans cette étude soulignent l'importance du génotype Duffy dans les zones endémiques de l'infection à *P. knowlesi*. Les résultats montrent que l'allèle FY * A a la plus haute fréquence, à la fois chez les donneurs du sang et les groupes des patients infectés. Les populations asiatiques orientales ont une propension à avoir des fréquences élevées de cet allèle. En effet, l'antigène Fy^a est fréquent chez les Chinois, les Japonais et les Mélanésiens, mais pas chez les Africains noirs [128, 135, 136]. D'autre part, l'antigène Fy^b se trouve plus fréquemment dans les populations caucasiennes [128, 137, 138]. Aucun des échantillons n'avait l'allèle FY * B^{ES} ni le génotype FY * B^{ES}/ FY * B^{ES} et le phénotype Fy (a-b-). C'est probablement en raison de la faible occurrence de l'allèle dans cette région, que l'allèle FY * B^{ES} est généralement trouvé chez les personnes d'ascendance africaine noire. Ainsi, sans aucuns échantillons Duffy négatifs les chercheurs étaient incapables de comparer la sensibilité des individus à Duffy positifs et Duffy négatifs à l'infection au *P. knowlesi* dans

cette population d'étude. Cependant, il a été rapporté que les autres génotypes Duffy négatifs sont capables d'influencer la sensibilité de *P. vivax* et éventuellement l'infection à *P. Knowlesi* [128, 139, 140]. Ceci n'a pas été observé dans cette étude, aussi les fréquences des génotypes n'étaient pas significativement différentes entre les donneurs de sang et les patients infectés, en particulier dans le génotype FY * A / FY * A. La haute fréquence du dit génotype FY * A / FY * A (96,86%) est cependant en conformité avec une étude sur le total du groupe sanguin Duffy où la distribution des génotypes dans le continent asiatique a été jugée dominante [128, 141].

En outre, les fréquences d'allèle FY * A trouvées dans cette étude sont rapportées où les fréquences médianes sont prévues d'être supérieures à 80% sur de vastes régions de l'Asie du Sud, en Australie, dans les populations de la Mongolie et de la Chine orientale et la Russie. Cette étude confirme également une étude préalable sur la répartition du groupe sanguin Duffy en Malaisie, où 99,68% « Orang Asli » aborigènes possédaient l'allèle FY * A et aucun individu Duffy-négatif n'a été détecté. Ces résultats indiquent que la distribution des génotypes n'a pas beaucoup changé dans le pays depuis la dernière étude qui a été menée en 1988 [128, 142].

En résumé, les données obtenues à partir de cette étude révèlent la distribution génotypique du groupe sanguin Duffy, chez les patients infectés par *P. knowlesi* en Malaisie péninsulaire. Aucune différence significative n'a été observée entre les fréquences de génotype prépondérantes FY * A / FY * A, entre le témoin et le groupe infecté du paludisme. Néanmoins, ces résultats doivent être confirmés par une évaluation plus poussée avec des échantillons plus larges, incorporant le sérotypage des mêmes échantillons couplés avec ASP-PCR, qui va permettre une meilleure analyse de la distribution génotypique ainsi que la sensibilité de *P. knowlesi* à certains génotypes Duffy [128].



VIII. CONSEQUENCES CLINIQUES

1. Généralités :

La première étude prospective d'évaluation des manifestations clinico-biologiques de *P. knowlesi* date de 2009 et porte sur 107 patients admis à l'hôpital de Kapit, Sarawak, Malaisie [143].

La nature de la maladie clinique dépend beaucoup de l'intensité de la transmission palustre dans la région où réside le malade, qui elle-même détermine le niveau d'immunité protectrice acquis. Les résidents des zones d'endémie connaissent souvent bien cette association de symptômes et en font eux-mêmes le diagnostic [76, 112, 143-148]. Dans les régions non endémiques, les patients atteints sont majoritairement naïfs du point de vue de leur immunité anti-paludique. Le risque de développer un paludisme grave à la suite d'un séjour en zone d'endémie, est donc très important, et le diagnostic se doit d'être le plus précoce possible.

Cependant, les symptômes cliniques de l'infection à *P.knowlesi* naturellement acquise chez l'Homme ne sont pas souvent très spécifiques, mais l'infection à *P. knowlesi* varie d'une infection asymptomatique à une maladie grave / fatale avec une parasitémie élevée [68].

2. Paludisme simple à *P.knowlesi*

Après une incubation hépatique d'une dizaine de jours, les premiers symptômes liés à la schizogonie érythrocytaire apparaissent. La durée moyenne de ces symptômes avant l'hospitalisation est de 3 à 5 jours. Comme tous les paludismes, ces premiers symptômes ne sont pas spécifiques et ressemblent aux symptômes d'une maladie virale systémique mineure : céphalées (94,4 %), malaise (89,7 %), myalgies (87,9 %), toux (56,1 %), douleurs abdominales (52,3 %), hépatomégalie (24,3 %), hypersplénisme (15,0 %), suivis de fièvre (100 %), de frissons (100 %), d'anorexie (83,2 %) et de vomissements (33,6 %). Le tableau biologique montre une thrombopénie à l'admission quasi-constante (98 %) pouvant être sévère, une augmentation de la Protéine C-Réactive, et une perturbation du bilan hépatique avec hyper-bilirubinémie et augmentation des transaminases [143]. Il s'agit là du tableau typique d'un paludisme simple, la parasitémie et l'anémie restant limitées [76, 112, 143, 145].

A ce stade, lorsque rien n'indique un dysfonctionnement des organes vitaux, le taux de létalité est faible [144].

3. Paludisme grave à *P.knowlesi*

Le cycle rapide de multiplication asexuée de *P. knowlesi* (24 heures) explique la rythmicité journalière des pics fébriles (figure 24), et le haut risque d'évolution en paludisme grave [76, 112, 143]. Provoquant une augmentation rapide de la densité parasitaire, une forme grave de la maladie et la mort chez certains sujets. Les manifestations graves sont semblables à celles que l'on observe pour le paludisme à *P. falciparum*, à l'exception du coma. Le diagnostic et le traitement précoces sont donc essentiels. En Asie, les patients atteints d'une infection à *P. malariae* et présentant une densité parasitaire inhabituellement élevée (parasitémie > 0,5 % au microscope) doivent être pris en charge de la même manière que pour une infection à *P. knowlesi* [149].

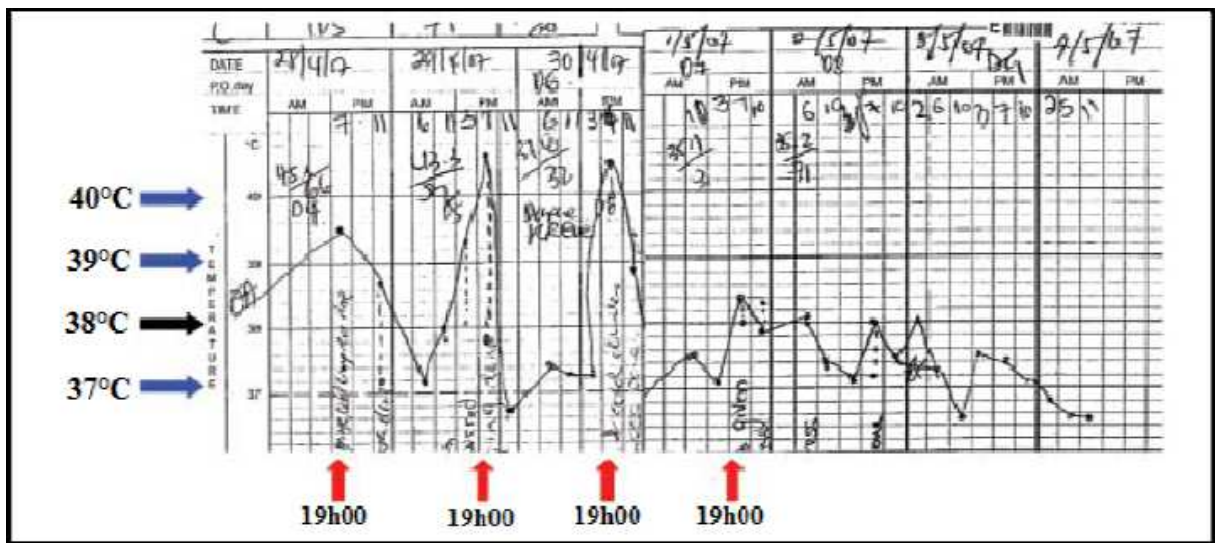


Figure 24: Courbe de température d'un patient infecté, parasitémie 0.2% Singapour [76, 147].

4. Critères de gravité définis par l’OMS et l’infection à *P.knowlesi*

L’OMS a défini des critères de gravité du paludisme. La présence d’un seul de ces critères, clinique ou biologique, associé à la présence de *P. knowlesi* dans le sang, fait porter le diagnostic d’accès palustre grave.

Les critères de gravités définis par l’OMS et la SPILF sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau IX: Critères de définition du paludisme grave chez l’adulte [150].

Pronostic	Critères cliniques ou biologiques	Fréquence
+++	Toute défaillance neurologique incluant : - obtubilation, confusion, somnolence, prostration - coma avec score de Glasgow < 11	+++
+++	Toute défaillance respiratoire incluant : - si VM ou VNI : PaO ₂ /FiO ₂ < 300 mmHg - si non ventilé PaO ₂ < 60 mmHg et/ou SpO ₂ < 90 % en air ambiant et/ou FR > 32/mn - signes radiologiques : images interstitielles et/ou alvéolaires	+
+++	Toute défaillance cardio-circulatoire incluant : - pression artérielle systolique < 80 mmHg en présence de signes périphériques d’insuffisance circulatoire - patient recevant des drogues vasoactives quel que soit le chiffre de pression artérielle - signes périphériques d’insuffisance circulatoire sans hypotension	++
++	Convulsions répétées : au moins 2 par 24 h	+
++	Hémorragie : définition clinique	+
+	Ictère : clinique ou bilirubine totale > 50 µmol/l	+++
+	Hémoglobinurie macroscopique	+
+	Anémie profonde : hémoglobine < 7 g/dl, hématoците < 20 %	+
+	Hypoglycémie : glycémie < 2,2 mmol/l	+
+++	Acidose : - bicarbonates plasmatiques < 15 mmol/l - ou acidémie avec pH < 7,35 (surveillance rapprochée dès que bicarbonates < 18 mmol/l)	++
+++	Toute hyperlactatémie : - dès que la limite supérieure de la normale est dépassée - <i>a fortiori</i> si lactate plasmatique > 5 mmol/l	++
+	Hyperparasitémie : dès que parasitémie > 4 %, notamment chez le non immun (selon les contextes les seuils de gravité varient de 4 à 20 %)	+++
++	Insuffisance rénale : - créatininémie > 265 µmol/l ou urée sanguine > 17 mmol/l - et diurèse < 400 ml/24 h malgré rehydratation	+++

VM : ventilation mécanique ; VNI : ventilation non invasive ; FR : fréquence respiratoire.

En comparaison avec les complications du paludisme grave à *P. falciparum* conclues à partir des études de paludisme importé [16, 151, 152], les patients souffrant du paludisme grave à *P. knowlesi* n'avaient pas de la malaria cérébrale ni de l'anémie sévère. Cependant, dans une étude unique de l'autopsie réalisée sur un homme de 40 ans mort du *Plasmodium knowlesi*, les hématies parasitées séquestrées ont été observées dans les petits vaisseaux du cerveau, du cœur et des reins, mais la section du cerveau était notamment négative pour les marqueurs immuno-histochimiques de la molécule d'adhésion intracellulaire-1 (ICAM-1), suggérant sans preuve qu'il existe un mécanisme du paludisme cérébral différent de celui du *P.falciparum* [16, 112]. Il est aussi remarquable que près des deux tiers des patients atteints du paludisme grave à *P. knowlesi* avait plus d'un critère de l'OMS (tableau 10). Jusqu'à présent 19 patients atteints du *P. knowlesi* ont été rapportés avec une issue fatale et le taux de létalité retrouvé par les trois grandes études est de 3,4% [16].

Tableau X: Les critères de l’OMS signalés dans les cas graves du paludisme à *P. knowlesi* en comparaison avec le paludisme importé sévère à *P. falciparum* [16]

	<i>P.knowlesi</i> ^a n=46 (%)	<i>P.faciparum</i> ^b n=310(%)
Male/femelle	28/18	207/103
Age, année médiane	56 (36-84)	38 ^c
Le paludisme grave (en%)	46/1341 ^d (3,4)	127/310 (40,9)
Les plaquettes / μ L, la médiane (plage)	34,000(3000-130.000)	18,000 à 34,000
Le paludisme cérébral (coma profond)	0	37/310 (11,9)
Convulsions	0	2/310 (0,6)
Ictère / hyperbilirubinémie	21/43 (48,8)	68/310 (21,9)
Insuffisance rénale aiguë	24/46 (52,2)	52/310 (16,8)
Hypoglycémie	6/40 (15)	6/310 (1,9)
CID / saignements	0	26/310 (8,4)
choc / hypotension	22/46 (47,8)	25/310 (8.1)
L'acidose lactique	12/43 (27,9)	23/310 (7,4)
Détresse respiratoire	30/46 (65,2)	14/310 (4,5)
L'anémie sévère	0	8/310 (2,6)
Hyperparasitémie	21/46 (45,6)	52/210 (24,8)
Plus d'un critère de l’OMS chez le même patient	36/46 (78,3)	44/210 (20,9)
Mort	19 ^e / 1341 (1,4)	10/310 (3.2)

CID : coagulation intravasculaire disséminée

a : Ces cas ont été basés sur les rapports suivants: Cox-Singh et al. (2008), Daneshwar et al., 2009, Lee et al. (2010), Cox-Singh et al. (2010), William et al. (2011), et Rajahram et al. (2012).

b : Ces cas ont été basés sur les rapports suivants : Bruneel et al. (2003) et Schwake et al. (2008).

c : L'âge moyen dans les deux études était de 38 ans.

d : Dénominateur a été utilisé le nombre total des cas signalés

e : Un patient est décédé d'un choc septique à Gram négatif concomitante.

5. *P.knowlesi* chez les enfants

Après avoir étudié l'infection à *P. knowlesi* chez les enfants, les chercheurs ont montré que cette espèce entraîne habituellement le paludisme non compliqué. Les enfants répondent bien au traitement à la chloroquine et à la primaquine. Ils avaient souvent l'anémie. Cette infection peut être associée à l'anémie modérément sévère, en plus de la thrombocytopénie [153].

6. Comparaisons cliniques et biologiques de *P.knowlesi* avec les quatre autres espèces

6.1 Présentation clinique des patients infectés :

Les patients infectés expérimentalement par *P.knowlesi* soit par injection intraveineuse ou intramusculaire du sang infecté, ont développé des manifestations cliniques généralement après huit jours, la période la plus courte étant de trois jours et la plus longue est de quatorze jours. La température élevée a présenté un comportement quotidien avec le plus haut sommet à 40 °C, la croissance parasitaire varie d'un à trois parasites par champ après quatre jours et soixante-huit par champ pour le sixième jour de l'infection [16, 154].

Une autre étude importante réalisée par Chin et al. (1968) a montré que chez les humains volontaires infectés expérimentalement, le *Plasmodium knowlesi* a affiché un cours similaire, avec un cycle asexué quotidien et un nombre maximal des parasites qui ont dépassé 20 000 par microlitre au huitième jour. Fait intéressant, dans les deux études, les enquêteurs ont affirmé que les parasites ont perdu leur virulence après le passage continu chez l'Homme avec l'auto-guérison spontanée généralement après 2 semaines. Au contraire, les enquêteurs de la Roumanie ont utilisé largement l'infection au *P.knowlesi* pour le traitement de la paralysie générale, mais il était nécessaire d'abandonner cette pratique, puisqu'après le transfert multiple, l'infection est devenue plus virulente nécessitant un traitement médicamenteux pour mettre fin à l'infection [16, 155]. Selon les principales études et après l'analyse des rapports des cas uniques (tableau 11), il n'y avait pas des symptômes ou des signes distinctifs qui peuvent aider le clinicien à distinguer le *Plasmodium knowlesi* des autres espèces humaines [16].

Auteur/année	Age et sex	Pays de séjour	Pays d'acquisition de l'infection	Durée du voyage	Symptômes	Résultats du laboratoire	Diagnostic initial	Diagnostic final	Traitement	Résultat
Chin, 1965	37/M	USA	Malaysia	4 sem /soldat	Fièvre, frisson, sueur, mal au gorge	NR	Infection respiratoire supérieure, <i>P.malariae</i>	<i>P.knowlesi</i>	C+P	Rétablissement
Jongwutives, 2004	38/M	Thailand	Thailand- Myanmar border	Un mois /travailleur	Fièvre, mal de tête, froid, sueur, douleurs reviennent en 4 jours	Thrombocytopenie (90,000/μL)	<i>P.malariae</i> (0,03%)	<i>P. knowlesi</i> (PCR)	C	Rétablissement
Luchavez, 2008	>40/M	Philippines (Palawan)	Philippines (Palawan Island)	NR/ fermier	Fièvre à basse degré, maux de tête,	NR	<i>P. malariae</i>	<i>P. knowlesi</i> (PCR)	C + P	Rétablissement
Kantele, 2008	53/M	Finland	Malaysia (North western coast)	4 sem/ tourism	Fièvre pendant 3 jours	Thrombocytopenie (143,000/μL); Leucopenie (2600/μL)	<i>P.falciparum</i> (<1%) puis <i>P. ovale</i>	<i>P. knowlesi</i> (PCR)	Q + D	Rétablissement
Ng, 2008	20/M	Singapore	Lim Chu Kang (NW Singapore)	1 an/ soldat	Fièvre, myalgie, anorexie, nausée, vomissement,	Thrombocytopenie (66,000/μL)	Fièvre de dengue, <i>P. malariae</i> (0,2%)	<i>P. knowlesi</i> (PCR)	C	Rétablissement
Kuo, 2009	60/M	Taiwan	Philippines (Palawan Island)	2 sem/ tourisme	Fièvre, maux de tête, frisson, sueur (4 jours)	NR	<i>P. malariae</i>	<i>P. knowlesi</i> (PCR)	C	Rétablissement
CDC, 2009	50/F	USA	Philippines (Palawan Island)	13 jours	Fièvre, frisson, maux de tête,	Thrombocytopenie	Babesiosis	<i>P. knowlesi</i> (PCR)	AP+P	Rétablissement
Van Hellemond, 2009	38/M	Netherlands	Malaisie Borneo (Kapit)	3 mois / travailleur émigré	Fièvre, maux de tête, myalgie, douleurs au bas du dos	anémie (Hb 7,8 g/dl); Thrombocytopenie (22,000/μL); Augmentation des transaminases et hyperbilirubinémie	<i>Plasmodium non falciparum</i>	<i>P. knowlesi</i> (PCR)	C	Rétablissement
Ong, 2009	33/M	Singapore	(NW Singapore)	1sem/ soldat	Fièvre, jaunisse,	Thrombocytopenie (44,000/μL); augmentation des transaminases et hyperbilirubinémie	Infection mixte (<i>P. malariae</i> / <i>P. falciparum</i>)	<i>P. knowlesi</i> (PCR)	C+P	Rétablissement
Figtree, 2010	39/M	Australie	Indonesie Borneo (province de Kalimantan)	10 jours à 1 mois/ travailleur	Fièvre, maux de tête (2 sem)	Thrombocytopenie (106,000/μL); Leucopenie (3700/μL)	<i>P. malariae</i>	<i>P. knowlesi</i> (PCR)	AP	Rétablissement
Ta, 2010	39/M	Espagne	Thailand-Indonesia	6 mois/ tourisme	Fièvre, frisson, myalgie, mal au dos (2 sem)	Thrombocytopenie (86,000/μL); leucopenie (3820/μL); Augmentation des transaminases	Fièvre d'origine inconnu	<i>P. knowlesi</i> (PCR)	C	Rétablissement
Cox-Singh, 2010	40/M	NR	La jungle de Bornéo du nord	10 jours	Fièvre, courbatures, myalgies, une éruption cutanée	Thrombocytopenie (42800 / μL); leucocytose (10100 / μL); éosinophilie (33%)	Dengue hémorragique choc	<i>P. knowlesi</i> (autopsie PCR)	Pas de traitement	Mort
Berry, 2011	45/M	France	Thailand (Ranong Island)	3mois/ tourisme	Fièvre, frisson, nausée, anorexie	Thrombocytopenie (73,000/μL); Augmentation des transaminases	Infection mixte à <i>P.falciparum</i> / <i>P.malariae</i> . <i>P.vivax</i>	<i>P.knowlesi</i> (PCR)	C	Rétablissement
Hoosen, 2011	40/M	New Zealand	Malaisie Borneo (Sabah & Sarawak)	6sem/ travailleur	Fièvre, myalgie	Thrombocytopenie (71,000/μL)	<i>P. malariae</i>	<i>P. knowlesi</i> (PCR)	AL	Rétablissement
Link, 2012	32/F	Netherlands	Malaisie Borneo	2 jours de randonnée dans la jungle/ tourisme	Fièvre, frisson, maux de tête, vomissement, maux au dos	Thrombocytopenie (72,000/μL); leucopenie (3500/μL), transaminases augmentés	<i>P.malariae</i> / <i>P. Knowlesi</i> (0.0005%)	<i>P. knowlesi</i> (PCR)	AP	Rétablissement

Tableau XI: Caractéristiques des patients décrits comme des cas simples (essentiellement importés) du *P. knowlesi* [16].

NR: non reporté; C: chloroquine; P: primaquine; Q: quinine; D: doxycycline; M: mefloquine; AP: atovaquone-proguanil; AL: Artemether/lumefantrine; PCR: polymerase chain reaction

Cependant, l'infection humaine au *P. knowlesi* a été décrite qu'elle peut s'étendre d'une asymptomatique à une maladie rapidement mortelle avec un dysfonctionnement hépatorénal sévère et un syndrome de détresse respiratoire aigu (SDRA). Dans une étude prospective menée à l'hôpital Kapit dans lequel le critère de l'OMS pour le paludisme grave à *P. falciparum* a été utilisé, au moins 6,5% des patients admis avec le *P. knowlesi* ont eu une infection grave. La détresse respiratoire, l'insuffisance rénale, l'ictère et l'hyperparasitémie étaient des manifestations les plus fréquemment observées du paludisme grave [16, 143].

En particulier, la détresse respiratoire a été observée chez un sur tous les 15 patients atteints du *P. knowlesi*, elle a été à l'origine des effets spécifiques du parasite qui augmentent la perméabilité capillaire. Une étude rétrospective menée dans un hôpital de soins tertiaires à Sabah identifie 56 patients mono-infectés par le *P. knowlesi* dont 22 (39%) avaient une maladie grave et six morts. Fait intéressant, également dans cette étude la détresse respiratoire aiguë, l'insuffisance rénale aiguë, le choc et l'hyperbilirubinémie sont les complications les plus fréquemment observées du paludisme grave [16, 111].

Selon une autre étude réalisée sur un cas de *P. knowlesi*, il s'agit d'un pilote d'hélicoptère de New-Zélande, qui est tombé malade après son retour des visites récurrentes de la partie malaisienne de Bornéo en Juin 2010, la fièvre Quotidienne, qui est le trait distinctif de la malaria à *P. knowlesi*, est un signe alarmant, mais dans la plupart des cas passe un cours non compliqué pour répondre à la chloroquine et à la primaquine [156].

Un autre cas grave de l'infection importée de *P. knowlesi* chez un Allemand âgé de 73 ans qui était au Myanmar et la Thaïlande pendant trois semaines. Le patient est probablement contracté l'infection dans le sud de Thaïlande, selon les résultats de cette étude le *Plasmodium knowlesi* peut prendre un même cours fatal sévère, telle que décrite pour les infections à *P. falciparum*, ainsi le *P. knowlesi* peut conduire à une hyperparasitémie à environ 7 % des cas. Comme le *P. falciparum*, le *P. knowlesi* peut aussi envahir tous les érythrocytes, non seulement les très jeunes comme dans le *Plasmodium vivax* et *ovale*, ou très matures comme dans *P. malariae*. En outre, le cycle intra-érythrocytaire ne dure que 24 heures, ce qui est beaucoup plus court que chez les autres espèces du paludisme humain et cela peut conduire à une progression rapide de l'infection. Par conséquent, l'initiation immédiate du traitement et

l'observation clinique vigilante sont essentielles. Le *P. knowlesi* ne passe pas par l'étape hypnozoïte au niveau du foie de ce fait l'infection ne rechute pas. Néanmoins, il ya des cas compliqués de paludisme à *P. knowlesi* ayant une insuffisance rénale et une détresse respiratoire, chez les patients à faible parasitémie. D'autre part, les données indiquent que l'infection peut être asymptomatique. Un autre patient s'est présenté face à une évolution sévère, et une maladie potentiellement mortelle avec 3% de parasitémie, il a développé une insuffisance rénale complète anurique, avec les troubles de la conscience, une détresse respiratoire et un déficits circulatoire, et donc nécessite d' avoir une ventilation mécanique avec des catécholamines peu après son admission à l'hôpital [157].

En Malaisie, les patients atteints de l'infection au *P. knowlesi* généralement présentés avec une maladie fébrile non spécifique avec de la fièvre et des frissons quotidiennes. D'autres symptômes fréquents étaient céphalées, frissons, malaise, myalgie, douleurs abdominales, l'essoufflement et la toux productive. Tachypnée, pyrexie, et tachycardie étaient des signes cliniques communs. Tous les patients avaient une thrombopénie à l'admission à l'hôpital ou dans le jour suivant, mais aucun des patients avaient coagulopathie clinique, lors de son admission à l'hôpital, quelques-uns seulement des patients avaient une anémie, alors que la dysfonction hépatique légère était relativement commune. La grande majorité des patients (94%) n'ont connu aucune complication, et l'infection a bien réagi à la chloroquine et à la primaquine [158].

En appliquant les critères de l'Organisation mondiale de la santé pour une infection au *P. falciparum*, l'infection au *P. knowlesi* a été évaluée comme grave dans 7% des cas, avec la complication la plus fréquente étant détresse respiratoire avec étiologie pulmonaire plutôt que métabolique. Une forte corrélation a été observée entre la densité des parasites et le développement de la détresse respiratoire. Egalement la densité parasitaire était fortement et indépendamment associée au dysfonctionnement rénal. Deux des patients sont décédés, soit un taux de létalité de 1,8%. Phylogéniquement, *P. knowlesi* est étroitement et relativement lié au *P. vivax*; par conséquent, il n'est pas surprenant que les infections de ces deux espèces partagent certaines caractéristiques communes, telles que la gravité occasionnelle et la thrombocytopénie marquée. Cependant, la maladie causée par *P. knowlesi* est un peu plus

grave que la maladie causée par *P. vivax*, mais aussi le paludisme au *Plasmodium vivax* peut être grave dans un nombre significatif de cas, au moins dans certaines régions (paludisme grave en 3%, comparativement à 7% chez les personnes ayant *Plasmodium knowlesi*). Cette étude a aussi montré que dans les infections à *P. knowlesi*, les symptômes neurologiques sont rares, et aucun cas de paludisme cérébral n'a été trouvé. De plus le développement du parasite dans les globules rouges est asynchrone. Le seuil de l'hyperparasitémie dans les infections à *P. knowlesi* est inférieur à celui de *P. falciparum*, donc l'hyperparasitémie, avec un temps plus court de cyclisme asexué, peut même rendre le *P. knowlesi* plus virulent dans sa forme sévère. Trois parmi les cinq cas signalés létales, une parasitémie élevée a été observée (15%, >10%, et >10 parasites par un champ microscopique à haute puissance) [158].

6.2 Particularités symptomatiques, cliniques et biologiques liées à l'espèce :

Tableau XII: Les caractéristiques des hématozoaires de *P.knowlesi* [159].

Hématie parasitée	Taille	Normale ou diminuée
	Forme	Normale
	granulation	0
	Age	Tous les âges
Hématozoaires	Nombre des trophozoïtes	1 ou 2 parfois binucléé
	Schizonte	En bande équatoriale ; pigment
	Rosace (Schizonte mur)	En marguerite
	Gamétocyte	Sphérique
	Durée de la schizogonie érythrocytaire	24h
Parasitémie	Parasitémie moyenne	0,1%
	Parasitémie maximale	10%
Clinique	Incubation	10j-15j
	Périodicité des accès	24h (fièvre quotidienne)
	Complications	Détresse respiratoire Insuffisance rénale
	reviviscences schizogoniques ou recrudescences tardives	0

Parasitémie: nombre des hématies parasités pour 100 (numération sur 1000 hématies)

Caractères	<i>P.knowlesi</i>	<i>P.falciparum</i>	<i>P.malariae</i>	<i>P.ovale</i>	<i>P.vivax</i>
Fièvre motif / la phase érythrocytaire	Quotidienne avec un cycle de 24h	Tierce, sous-tierce avec un cycle de 48 h	Quarte avec un cycle de 72h	Tierce avec un cycle de 48 h	Tierce avec un cycle de 48 h
Rechute des stades tissulaires persistants	Non	Non	Non, mais des formes sanguines peuvent persister jusqu'à 30 ans	Oui	Oui
Les formes sévères	6-10 % des cas	Jusqu'à 24% des cas	Très rare	Très rare	Jusqu'à 22%
Les érythrocytes humains	Non élargis, arrondis, non déformés	Non élargis, arrondis	Non élargis, arrondis, généralement non déformés	Non élargis, arrondis, généralement non déformés	Agrandissement du stade trophozoïte en avant, arrondis, non faussés
Étapes dans le sang périphérique	Tous	Anneaux et gamétocytes	Tous	Tous	Tous
Nombre des parasites dans les globules rouges	Unique ou multiple (2 ou 3)	Unique ou multiple	Unique	Unique	Unique
Les trophozoïtes tardifs (forme d'anneaux)	Cytoplasme dense avec simple ou double chromatine, parfois trois chromatines. La Chromatine se trouve à l'intérieur de l'anneau	Cytoplasme fine, 1-2 petits points de chromatine	Cytoplasme dense avec une large chromatine	Cytoplasme robuste avec une grande chromatine	Grand cytoplasme avec grande chromatine unique
Trophozoïte fin	Cytoplasme dense, légèrement amiboïde et irrégulier, forme de bande, une pigmentation brun foncé	Rarement vu dans le sang périphérique. Cytoplasme Compact, pigments foncés	Cytoplasme Compact, grande chromatine arrondie, formes de bande occasionnelle, pigments bruns foncés	Cytoplasme compact avec une grande chromatine, pigments bruns foncés	Grand cytoplasme amiboïde, grande Chromatine, pigment fin, brun et jaunâtre
Schizontes et mérozoïtes	Occupent l'ensemble d'érythrocyte. 10-16 mérozoïtes dispersés ou comme un groupe de raisin, pigments dispersés ou recueillis en une seule masse	Rarement vu dans le sang périphérique. 8-24 petits mérozoïtes, pigments foncés agglutinés en masse	Occupent l'ensemble d'érythrocyte. 6-12 mérozoïtes, habituellement 8-10 regroupés autour des pigments bruns foncés formant les rosaces	Légèrement plus petites que les GR, rondes à ovales. 6-12 mérozoïtes, habituellement 8 dans une boucle simple, avec des grands noyaux, regroupés autour d'une masse de pigment brun foncé	Grands peuvent occuper toutes les GR. 12-24 mérozoïtes, pigment brun jaunâtre coalescée
Gamétocytes	Occupent L'ensemble d'érythrocyte, rondes, compactes, pigments dispersés ou réunis en une seule masse	GR déformée par le parasite, parasite est en forme croissant ou sous forme saucisse, masse de pigments bruns	occupent ensemble d'érythrocyte, arrondis ovales, pigments bruns dispersés	Rondes à ovales, compactes, peuvent remplir GR, pigments bruns dispersés	Rondes à ovales, compactes, peuvent remplir GR, pigments bruns dispersés

Tableau XIII: Les caractères morphologiques et cliniques du *P.knowlesi* et des quatre autres espèces du paludisme humain [66].



IX. DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE

1. Généralités :

Identifier à tort le *P. knowlesi* soit comme *P. falciparum* ou *P. malariae* ou infection mixte de *P.falciparum* et *P. malaria*, est causé par la ressemblance entre les trophozoïtes et les schizontes matures du *P.knowlesi* et ceux du *P. malariae* existant au niveau de leurs caractères morphologiques, tandis que les premiers trophozoïtes sont indiscernables des anneaux de *P. falciparum*. Les erreurs de diagnostic dépendent des stades du parasite présents au moment de l'examen microscopique. Dans tous les rapports des cas et des études où les gros foyers de ce parasite ont été identifiés, la majorité des infections à *P. knowlesi* a été confondue avec *P. malariae*. Avec le développement de la PCR nichée basée sur le dosage spécifique du *Plasmodium*, suivie par l'utilisation des amorces spécifiques aux espèces à partir du gène 18s de l'ARN ribosomal (Pmkr8 et Pmk9) dans un test de PCR identifiant le *P. knowlesi* avec 100% de précision. Les amorces spécifiques utilisées dans ce dosage identifient les quatre espèces du paludisme humain, *falciparum*, *malariae*, *ovale* et *vivax*, et cinq parasites du paludisme simien à savoir, *cynomolgi*, *fragile*, *fieldi*, *inui* et *knowlesi*. Le développement de la PCR nichée en 2004, a aidé pour la détection des infections de *P.knowlesi* chez l'Homme dans plusieurs pays de l'Asie du Sud-Est mais aussi chez les voyageurs. Un test de diagnostic rapide en utilisant un ensemble des anticorps développés contre le *Plasmodium* humain en combinaison avec la microscopie, pourrait identifier les infections à *P.knowlesi*. Une autre PCR nichée utilise les amorces spécifiques au *P. knowlesi* (Pkf 1140 et Pkr 1550) dans le second test et une PCR en temps réel, sont maintenant disponibles pour la détection des infections à *P. knowlesi*. L'utilisation de PCR en temps réel ou nichée et la caractérisation moléculaire des gènes mitochondriaux, sont des méthodes de diagnostic qui peuvent être utilisés pour l'identification exacte des infections à *P. knowlesi* [66].

La survenue d'un accès palustre d'importation chez un sujet non immun peut être grave en cas de diagnostic et de traitement retardés. Il est évoqué devant des éléments d'anamnèse et devant la survenue d'une fièvre chez un patient au retour de zone tropicale. L'interrogatoire est orienté en vue d'identification des éléments suivants : notion de séjour en

zone d'endémie palustre, lieu et durée du séjour, date de début de signes d'appel par rapport au retour, présentation clinique, prise récente d'antimalariques souvent en auto-traitement.

La présentation inaugurale, souvent aspécifique, est un syndrome grippal sévère avec fièvre désarticulée, frissons, céphalées et myalgie. Le tableau est régulièrement complété par la présence de troubles digestifs hauts (nausées, vomissements) et de diarrhée (en particulier chez l'enfant), réalisant le tableau d'une gastroentérite fébrile, pouvant égarer le diagnostic. **Toute fièvre au retour d'une zone d'endémie est suspecte d'abord d'être d'origine paludéenne et un diagnostic parasitologique microscopique direct doit être réalisé en urgence, associant une double lecture du frottis sanguin et de la goutte épaisse et dont les résultats doivent être rendus au moins de 2 heures [160].**

2. Diagnostic direct :

2.1. Techniques microscopiques

Le diagnostic du paludisme est traditionnellement basé sur la microscopie optique des frottis sanguins minces et épais. Dans les laboratoires expérimentés, la microscopie est fiable, mais même dans ces laboratoires, sa sensibilité n'est pas toujours optimale. Dans les infections à *P. knowlesi*, l'examen microscopique a été utilisé pour identifier les plasmodies dans les échantillons et pour déterminer le niveau de la parasitémie. Cependant l'examen microscopique ne parvient pas à identifier correctement l'espèce de *P. knowlesi*, parce qu'il est facilement confondu avec *P. malariae* et *P. falciparum*. *P. knowlesi* peut mettre la vie en danger, de ce fait ce parasite doit toujours être suspecté dans les cas où l'examen microscopique suggère le *P. malariae* et dans les cas où le patient a une maladie grave, une parasitémie considérable (un nombre de parasites > 5000 parasites/ μL), ou une histoire récente de visite de l'Asie du Sud ou de leur voisinage [158].

Différentes techniques microscopiques simples à mettre en œuvre sont utilisées dans les laboratoires, à savoir le frottis mince, la goutte épaisse et la QBC.

2.1.1. Le frottis mince

Systématiquement réalisée, c'est la technique de référence pour le diagnostic du paludisme. Cinq microlitres de sang sont étalés en couche mince (frottis) sur une lame de verre (figure 25). Après coloration au May-Grunwald-Giemsa (MGG), le frottis est lu au microscope optique (grossissement x 1000) et les différents stades parasitaires sont recherchés dans les hématies du patient. Cette technique a l'avantage de permettre l'identification d'espèce selon les critères morphologiques définis par Garnham (1966) et la quantification de la parasitémie (nombre d'hématies parasitées / nombre d'hématies totales x 100). Elle est peu coûteuse, rapide et obligatoire pour le diagnostic de paludisme. Le seuil de sensibilité est évalué à 100 hématies parasitées / μL du sang (parasitémie de 0,01 %) [76, 161].

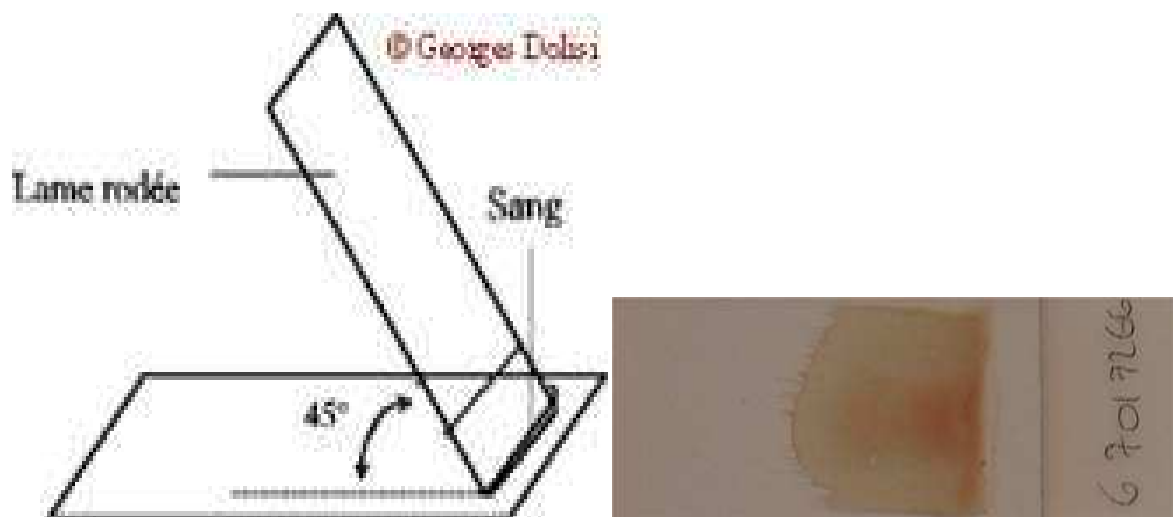


Figure 25: Confection du frottis sanguin [76]

2.1.2. La goutte épaisse rapide :

Cette technique permet de concentrer les *Plasmodium* éventuellement présents dans l'échantillon, en analysant un volume de sang (5 μL) sur une petite surface (1 cm^2). Après défibrination, lyse des érythrocytes et coloration de la lame au MGG, les éléments parasitaires sont recherchés au microscope (grossissement x 1000). Du fait de l'hémolyse, les parasites ne s'observent pas dans les hématies, modifiant ainsi certains caractères morphologiques d'identification spécifique. Le lecteur doit ici être expérimenté car l'identification d'espèce est beaucoup plus difficile que sur le frottis. En revanche, le seuil de sensibilité est bas, évalué à 10 hématies parasitées / μL de sang. La parasitémie est évaluée par rapport au nombre de globules blancs [76, 162].

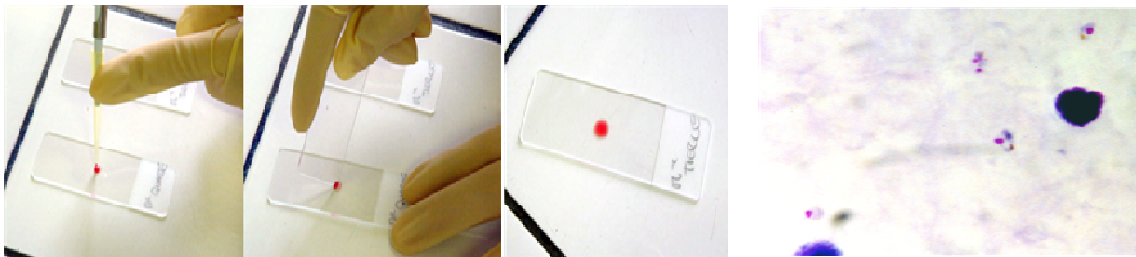


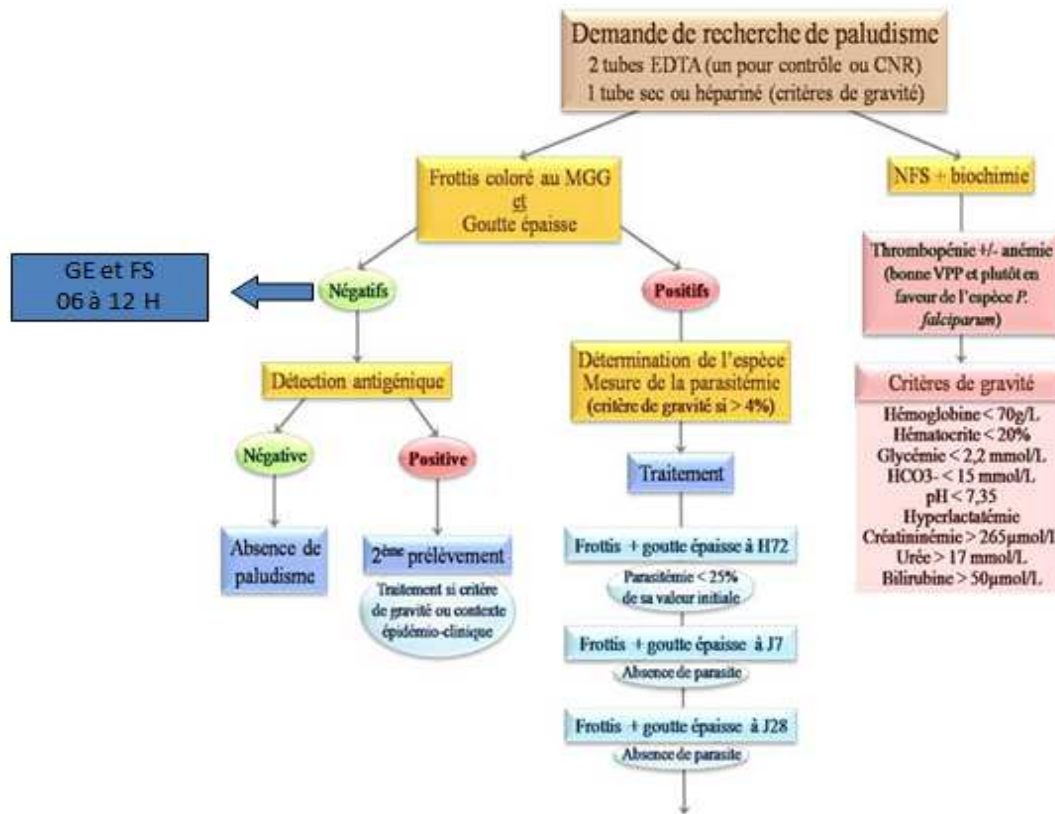
Figure 26: Confection de la goutte épaisse [76]

Démarche diagnostique devant une suspicion d'accès palustre

Malgré sa sensibilité, le diagnostic microscopique qui est la technique de référence, peut être pris à défaut dans les formes pauciparasitaires : notamment chez les voyageurs sous chimioprophylaxie, et lorsque les parasites sont séquestrés dans les capillaires des organes profonds. La recommandation en cas de forte suspicion clinique avec des examens microscopiques négatifs est de :

- 1- Répéter le prélèvement sanguin 6 à 12 heures plus tard
- 2- La mise en route d'un traitement spécifique

Selon la société de pathologie infectieuse de langue française (SPILF). Prise en charge et prévention du paludisme d'importation à *Plasmodium falciparum*, recommandations pour la pratique clinique (Révision 2007 of the 1999 Consensus conférence). Réanimation 2008 ; 17 : 1-54.



La Conférence de Consensus d'Octobre 2007 : Prise en charge et prévention du paludisme d'importation à *Plasmodium falciparum*. Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française

2.1.3. La technique QBC®

La technique QBC® (Quantitative Buffy Coat) utilise un fluorochrome, l'acridine orange, intercalant des acides nucléiques. Un volume de 40 à 60 µL de sang est injecté dans un capillaire de verre contenant un flotteur en polystyrène occupant 90 % du diamètre du tube. Suite à une centrifugation, le flotteur se place par gravité au niveau de la zone de

séparation érythrocytes-leucocytes et permet une répartition des éléments du sang en une couche monocellulaire. Le noyau des *Plasmodium* apparaît fluorescent, colore en vert (figure 27). La lecture du microtube en verre se fait directement au microscope à fluorescence. Cette technique plus coûteuse que les premières citées présente un seuil de sensibilité remarquable, permettant de détecter d'une à cinq hématies parasitées / μL de sang. Cependant, elle nécessite du matériel spécifique (microscopie à fluorescence, filtres de longueur d'onde spécifique de l'acridine orange, centrifugeuse et capillaires) et les réactifs sont difficilement disponibles (uniquement dans les hôpitaux militaires). De plus, elle ne permet pas d'identifier l'espèce plasmodiale ni de déterminer la parasitémie [76, 163].

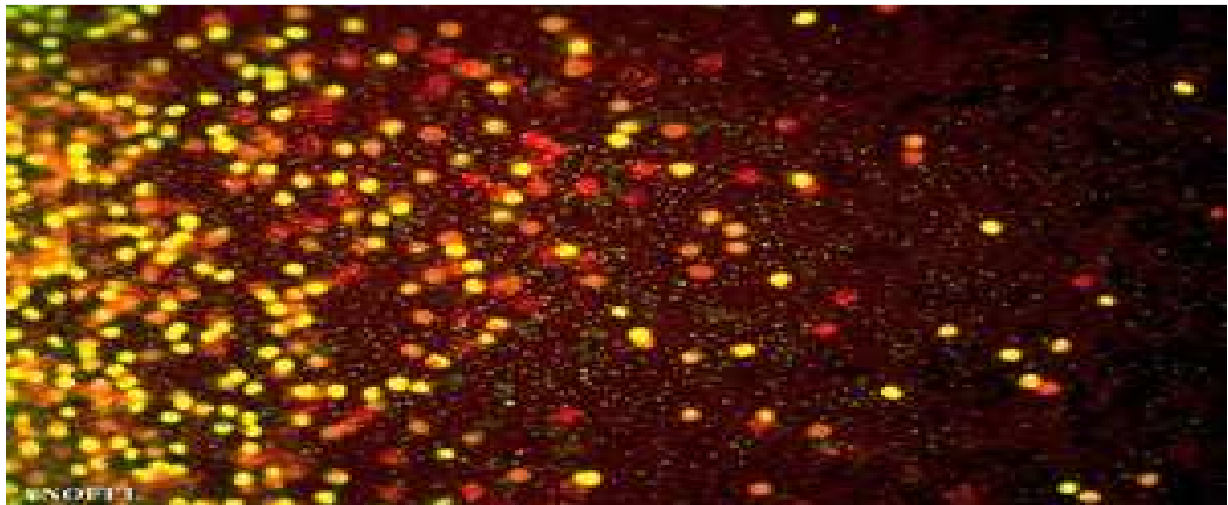
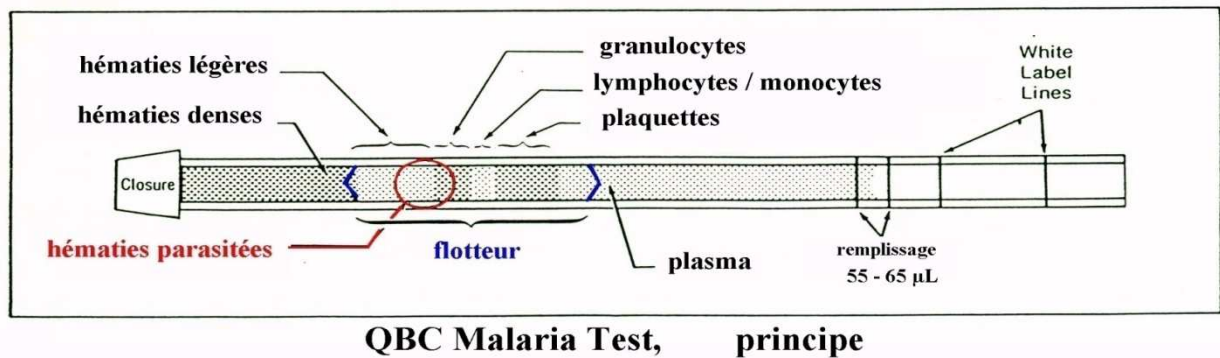


Figure 27: Principe de la technique QBC [76]

Afin de surmonter les limitations de la microscopie pour la détection du paludisme, des techniques moléculaires sont nécessaires pour une identification précise de *P. knowlesi* ainsi que d'autres parasites du genre *Plasmodium*, afin d'éviter la mortalité liée à cette

maladie. Cette méthode s'est révélée être plus spécifique et plus sensible que la microscopie conventionnelle. Reconnaisant cet avantage, l'utilisation des techniques moléculaires dans le diagnostic et la recherche épidémiologique est devenue plus commune[5].

2.2. Méthodes immunochromatographiques

Grâce au développement des anticorps monoclonaux spécifiques, la détection d'antigène par test rapide est proposée par plusieurs sociétés. Leur simplicité et leur rapidité d'exécution leurs donnent le nom de Tests de Diagnostic Rapide (TDR). En pratique, une goutte de sang est déposée sur une bandelette sensibilisée par des anticorps monoclonaux anti-*Plasmodium*. Après migration et révélation par un second anticorps marqué, une bande de précipitation visible à l'œil nu apparaît, signant la présence du genre *Plasmodium*, ou des différentes espèces, suivant le test (figure 28). En comparaison des techniques précédentes, cet outil d'utilisation simple, ne nécessite pas un personnel spécialisé pour sa réalisation. Cependant, sa sensibilité et sa spécificité, en particulier pour l'espèce *P. ovale* et quelque soit le fournisseur, ne sont jamais de 100 %. Ainsi, ce test rapide ne doit jamais être utilisé isolement mais en complément avec le frottis et la goutte épaisse.

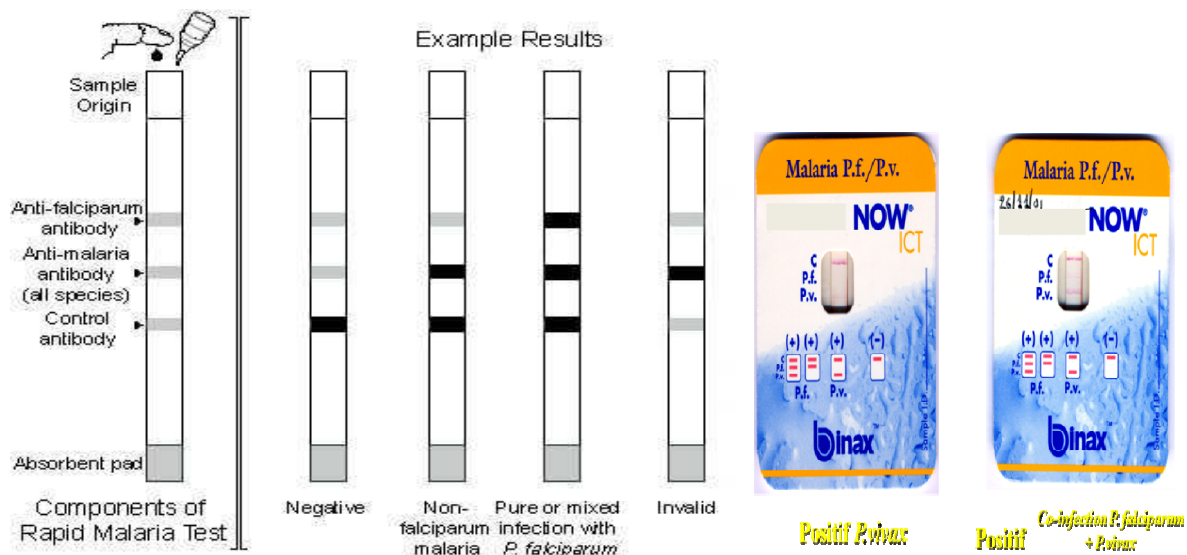


Figure 28: Confection du test de diagnostic rapide

Trois types d'antigènes peuvent être recherchés suivant les tests :

- **HRP II**: Histidin rich Protein II. Cette protéine est exprimée à la surface des hématies parasitées uniquement durant le cycle intra-érythrocytaire non-sexué de *P. falciparum*.
- **Le lactate déshydrogénase des Plasmodium (LDHp)** : cette enzyme possède de nombreux sites antigéniques, conduisant à la fabrication de plusieurs anticorps monoclonaux anti-LDHp [76, 164]. Ceux-ci peuvent se fixer sur des épitopes communs à toutes les LDHp (géo-spécifiques) ou spécifiques d'une espèce plasmodiale.
- **L'aldolase** : antigène « pan-palu » présente chez tous les *Plasmodium* sp.

Afin d'évaluer la capacité de *P. knowlesi* à positiver ces tests rapides, McCutchan et coll [165] ont étudié en 2008 la capacité de ces Anticorps anti-LDHp à se fixer sur la LDHp de *P. knowlesi*. Comme le montre la figure 29, la LDHp de *P. knowlesi* est capturée par l'Ac monoclonal 6C9, issu d'un épitope commun à tous les *Plasmodium* sp. Elle se fixe également à des panels d'Ac considérés spécifiques de *P. falciparum* (17E4/7G9) et de *P. vivax* (11D12/13H11). En fonction des Ac anti-LDHp utilisés dans les kits commerciaux, *P.knowlesi* révélera donc une bande Pan-Palu (6C9), *P. falciparum* et *P. vivax*, mais aucune bande *P. ovale* ou *P. malariae*.

<i>Plasmodium</i>	Anticorps monoclonal							
	17E4	7G9	11D12	13H11	10D12	7E7	9C1	6C9
<i>knowlesi</i>	Fixation	Fixation	Fixation	Fixation	Pas de fixation	Pas de fixation	Pas de fixation	Fixation
<i>falciparum</i>	Fixation	Fixation	Pas de fixation	Pas de fixation	Pas de fixation	Non déterminée	Pas de fixation	Fixation
<i>vivax</i>	Pas de fixation	Pas de fixation	Fixation	Fixation	Pas de fixation	Pas de fixation	Pas de fixation	Fixation
<i>ovale</i>	Pas de fixation	Pas de fixation	Pas de fixation	Pas de fixation	Fixation	Pas de fixation	Fixation	Fixation
<i>malariae</i>	Pas de fixation	Pas de fixation	Pas de fixation	Pas de fixation	Pas de fixation	Fixation	Fixation	Fixation
<i>berghei</i>	Non déterminée	Non déterminée	Pas de fixation	Pas de fixation	Non déterminée	Non déterminée	Pas de fixation	Fixation
<i>yoelli</i>	Pas de fixation	Pas de fixation	Pas de fixation	Pas de fixation	Pas de fixation	Pas de fixation	Pas de fixation	Fixation

Figure 29: Synthèse des résultats obtenus lors d'immunocaptures réalisées entre les anticorps monoclonaux anti-LDHP et les LDHP de 7 espèces différentes de *Plasmodium* [165].

En 2009, Bronner et coll. testent sur un patient infecté par *P.knowlesi* à faible parasitémie (0,01 %) le Binax Now Malaria, recherchant les antigènes HRP II et l'aldolase [148]. Le test reste négatif, ce qui est logique en ce qui concerne l'antigène HRP II, mais étonnant pour l'aldolase. D'autres études sont nécessaires afin d'évaluer la capacité de *P.knowlesi* à positiver les tests utilisant l'antigène aldolase.

Le seuil de sensibilité de ces techniques antigéniques est inférieur aux méthodes de référence et permet de détecter 200 hématies parasitées / μl de sang (parasitémie de 0,004 %). Lorsque le traitement est instauré, les antigènes libérés dans la circulation positivent ces tests, expliquant des cas de tests rapides positifs associés à des parasitémies négatives par méthodes microscopiques, malgré un seuil de sensibilité inférieur [76, 164].

2.3. Techniques de la biologie moléculaire

Les techniques de la biologie moléculaire ont pour but de mettre en évidence le matériel génétique du parasite dans le sang du patient. De nombreuses techniques

d'amplification par PCR ou d'hybridation de sondes marquées ont été décrites. Sans remplacer les méthodes de référence (microscopie), la biologie moléculaire offre un bénéfice certain dans le diagnostic du paludisme. La microscopie optique, en plus d'être opératoire dépendante, est souvent insuffisante pour les cas de diagnostics difficiles.

Comme nous l'avons exposé dans les parties précédentes, *P. knowlesi* possède des caractères morphologiques communs avec les espèces *falciparum* et *malariae*, rendant son identification complexe et incertaine avec les outils conventionnels tels que frottis, goutte épaisse et tests rapides. Disposer d'une technique rapide, fiable et utilisable en routine est donc actuellement indispensable pour les centres régionaux impliqués dans les maladies infectieuses des patients au retour des zones d'endémie, qu'ils soient touristes ou professionnels (militaires). Les techniques de la biologie moléculaire, en expansion dans le domaine de la microbiologie, semblent aujourd'hui répondre le mieux à ces exigences [76].

2.3.1 Les gènes d'intérêt pour le diagnostic moléculaire :

Les travaux réalisés en biologie moléculaire sur les *Plasmodium* sp utilisent majoritairement les gènes codant pour l'ARN ribosomique. Ceux-ci étant indispensables à chaque espèce et essentiels à leur survie, ils sont génétiquement très stables au cours du temps et ne présentent qu'un polymorphisme limité. De plus, la répétition de ces gènes en plusieurs copies assure une sensibilité intéressante pour le développement des techniques de la biologie moléculaire. Enfin, de nombreuses séquences correspondant à ce gène sont disponibles dans les banques de données nucléotidiques, ce qui enrichit la pertinence de l'étude bioinformatique [76].

L'organisation des gènes codant pour l'ARN de la petite sous-unité ribosomique 18S (Gènes 18S ARNr) des *Plasmodium* sp suit un modèle différent de celui des eucaryotes. Plusieurs types d'ARNr ont été décrits, suivant le stade parasitaire considéré: le type A (= asexuel blood stage), S (= sporozoite stage) et O (= oocyste stage) (figure 30) [76, 166]. Le type O n'est à l'heure actuelle décrit que pour *P. vivax* et le nombre de copies des gènes varie de 4 (*P. berghei*) à 7 (*P. falciparum*) [76, 167]. Pour *P. knowlesi*, 3 copies du gène de type A

et 2 copies du gène de type S sont dénombrées. Un grand nombre de séquences de chaque type est archivé dans la bibliothèque nucléotidique du Centre National d'Informations Biotechnologiques (NCBI).

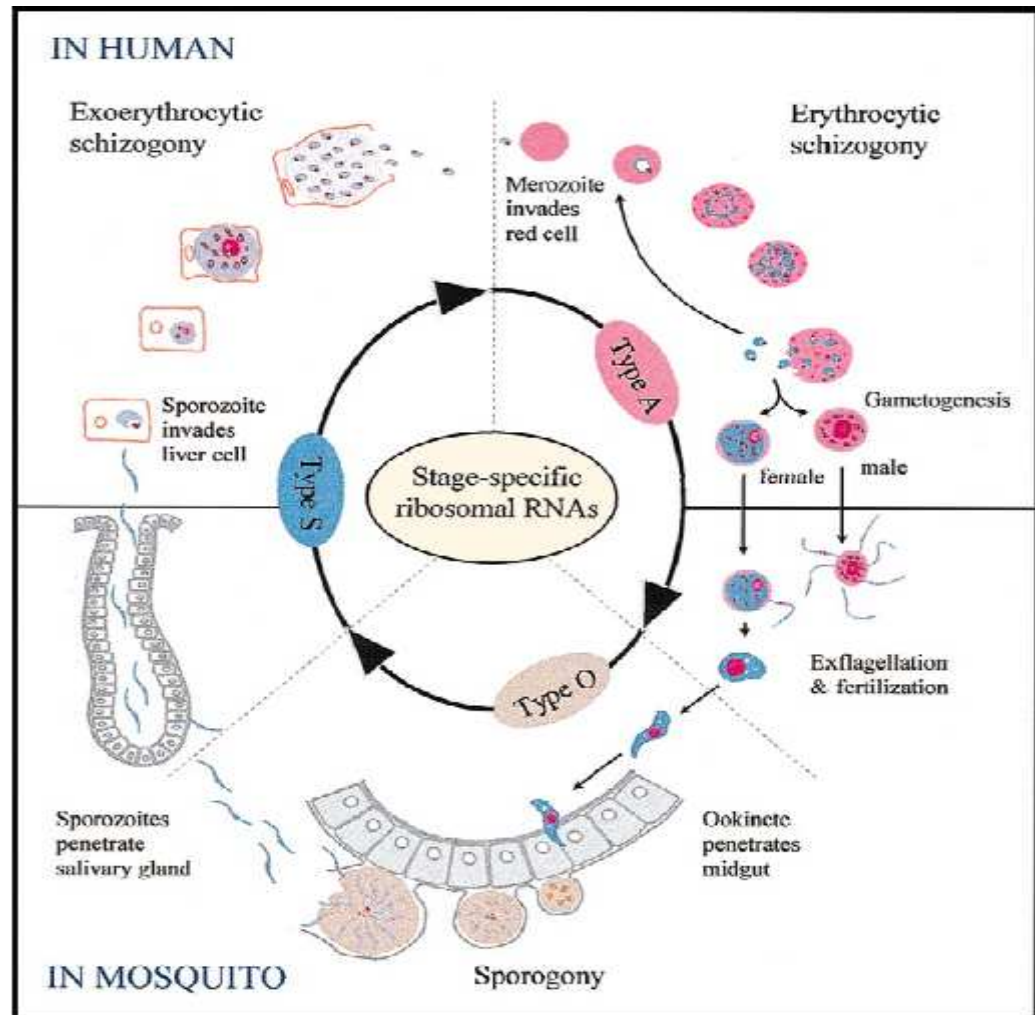


Figure 30: Représentation schématique du cycle de développement de *Plasmodium* sp, et du type d'ARNr exprimé en fonction des différentes étapes parasitaires [76, 166].

Les techniques de PCR qui sont utilisées pour le diagnostic de la malaria ne sont pas spécifiquement conçues pour la détection de *P. knowlesi*, elles ne parviennent pas à le

détecter. Ce parasite a été détecté seulement par les tests de PCR spécifiques au *P. knowlesi* utilisant PCR nichée, PCR en temps réel, ou PCR combinée avec séquençage [158].

2.3.2 PCR nichée

La première PCR nichée appliquée pour le diagnostic du *P. knowlesi* a été décrite par Singh et al en 2004. C'est une technique permettant l'identification des espèces du parasite paludéen dans les échantillons du sang infecté. Ce test peut utiliser le gène codant pour l'ARN de la petite sous-unité ribosomique 18S (SSU ARNr). À cet égard, les amorces spécifiques de *P. knowlesi* peuvent être utilisées pour identifier avec précision les infections au *P. knowlesi*, d'une façon plus sensible et plus spécifique que la microscopie. Cependant, la PCR nichée n'est pas encore appropriée pour une utilisation clinique de routine car elle est coûteuse, non quantitative et nécessite plus du temps. En outre, il nécessite un équipement spécialisé. Néanmoins, des études ont utilisé avec succès la technique de PCR nichée pour déterminer l'incidence des infections à *P. knowlesi* en Malaisie. Récemment, une réduction significative des cas de paludisme a été observée en Malaisie qui s'efforce maintenant d'être exempt de paludisme dans la péninsule en 2015 et en partie malaisienne de Bornéo en 2020. Cependant une augmentation significative des cas de *P. knowlesi* a été observée dans Sabah entre 2004 et 2011 et cette tendance menace l'élimination du paludisme [158].

La PCR (ou Polymérase chaîne réaction) « classique » permet d'amplifier une séquence d'ADN d'une manière exponentielle grâce à une enzyme polymérase. Brièvement après extraction et dénaturation de l'ADN, un couple d'amorce s'hybride à chaque extrémité de la matrice cible. La séquence est ensuite recopiée en présence d'une enzyme (l'ADN polymérase), de 4 nucléotides (Adénosine, Guanine, Thymine et Cytosine) et de MgCl₂. Cette réaction est répétée n fois aboutissant à la synthèse de 2ⁿ copies de la séquence initiale [76, 168]. Les produits d'amplification issus de la PCR classique sont analysés par migration électrophorétique des amplicons dans un gel d'agarose contenant un produit s'intercalant dans l'ADN double brin, tel que le Bromure d'Ethydium (BET), et fluorescent en lumière UV (longueur d'onde de 200 nm).

La PCR nichée consiste à amplifier une seconde fois le produit d'amplification issu de la première PCR, soit avec des amorces différentes ciblant une zone interne dans le premier fragment amplifié, soit avec les mêmes amorces que dans la première réaction (PCR semi-nichée) figure 31. L'intérêt majeur de cette deuxième amplification est d'augmenter fortement la sensibilité de la technique [76, 169].

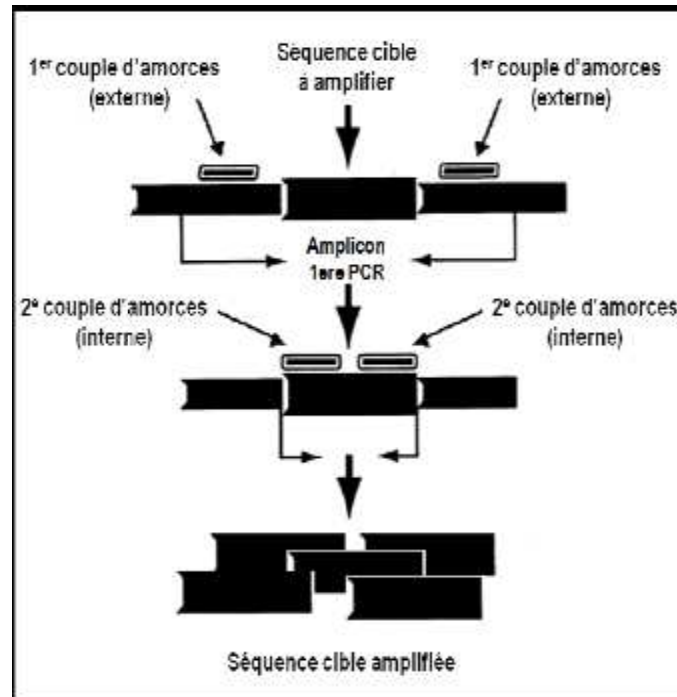


Figure 31: Représentation schématique d'une amplification d'ADN par PCR nichée [76, 170].

En 2004, Singh et al ont publié une PCR nichée spécifique de *P. knowlesi* ciblant le gène 18S ARNr de type S : la première PCR, utilisant le couple d'amorce rPLU1 / rPLU5 permet une amplification spécifique du genre *Plasmodium*. La deuxième réaction intègre le couple d'amorces Pmk8 / Pmkr9. Une des deux amorces est spécifique de *P. knowlesi* alors que la seconde est commune à l'ensemble des espèces ; un fragment d'environ 160 pb est amplifié [34, 76].

En 2010, Imwong et coll constatent l'existence d'amplifications aspécifiques en utilisant la technique développée par Singh et al. En effet, 8 souches de *P. vivax* (sur 30 souches testées) sont amplifiées et révèlent un fragment de même taille que celui attendu lors

de l'amplification spécifique de *P. knowlesi*. Cette réaction croisée s'explique par une proximité phylogénique étroite entre *P. vivax* et *P. knowlesi*. Trois nouvelles amorces spécifiques de *P. knowlesi* sont dessinées à partir du gène 18S ARNr de type A dans le but d'amplifier spécifiquement l'espèce en PCR semi-nichée. Une première PCR utilise les amorces PkF1060 et PkR1550 (figure 31). Pour la deuxième réaction, l'amorce interne PkF1140 est associée à l'amorce anti-sens PkR1550, employée lors de l'amplification précédente [76, 169].

Les amorces (Pmk8 et Pmk9) utilisées dans les techniques de PCR pour la détection du *P. knowlesi* dans certaines études ne sont pas les plus récemment développées des amorces. Les questions concernant la liaison non spécifique de ces amorces au *P. vivax* ont été signalées précédemment. Toutefois, la spécificité de liaison des amorces de PCR est influencée par de nombreux facteurs de confusion et peut varier d'un laboratoire à l'autre, ainsi que d'une machine PCR à l'autre [85]. Ce qui donne l'occasion à des résultats faussement positifs, chez des individus non infectés ou infectés par *P. vivax*, cela indique qu'une méthode moléculaire pour tester toutes les cinq espèces de paludisme humain ou pour vérifier l'identification par séquençage des produits de PCR est nécessaire. Un ensemble plus spécifique d'amorce a été également suggéré [158]. D'autre part les tests PCR ne sont pas des méthodes rapides de détection et ne sont pas une option viable pour le diagnostic de routine [6].

2.3.3. PCR en temps réel :

A la différence de la PCR classique, la PCR en temps réel permet un suivi de l'amplification tout au long de l'analyse, par une révélation directe des produits amplifiés dans le milieu réactionnel. Différentes techniques de révélation existent : SYBR Green, FRET (ou Transfert d'énergie par résonance de type Forster), TaqMan,...

En 2010, deux publications utilisent la PCR en temps réel pour l'amplification de *P.knowlesi* [171, 172]. L'article de Ta et coll. décrit une PCR en temps réel spécifique du genre *Plasmodium*, suivie d'un séquençage des produits d'amplification contraignant en

routine. Seule l'équipe de Babady et coll a publié une technique de PCR en temps réel spécifique de *P. knowlesi*. L'amplification et la révélation sont réalisées sur un automate Light Cycler® (Roche) grâce à la technologie FRET [171].

Le LightCycler® est l'association d'un thermocycleur à chaleur tournante, et d'un microspectrofluorimètre (figure 32). La fluorescence émise peut donc être lue tout au long de l'amplification réalisée dans des capillaires en verre (figure 32 : flèche noir)

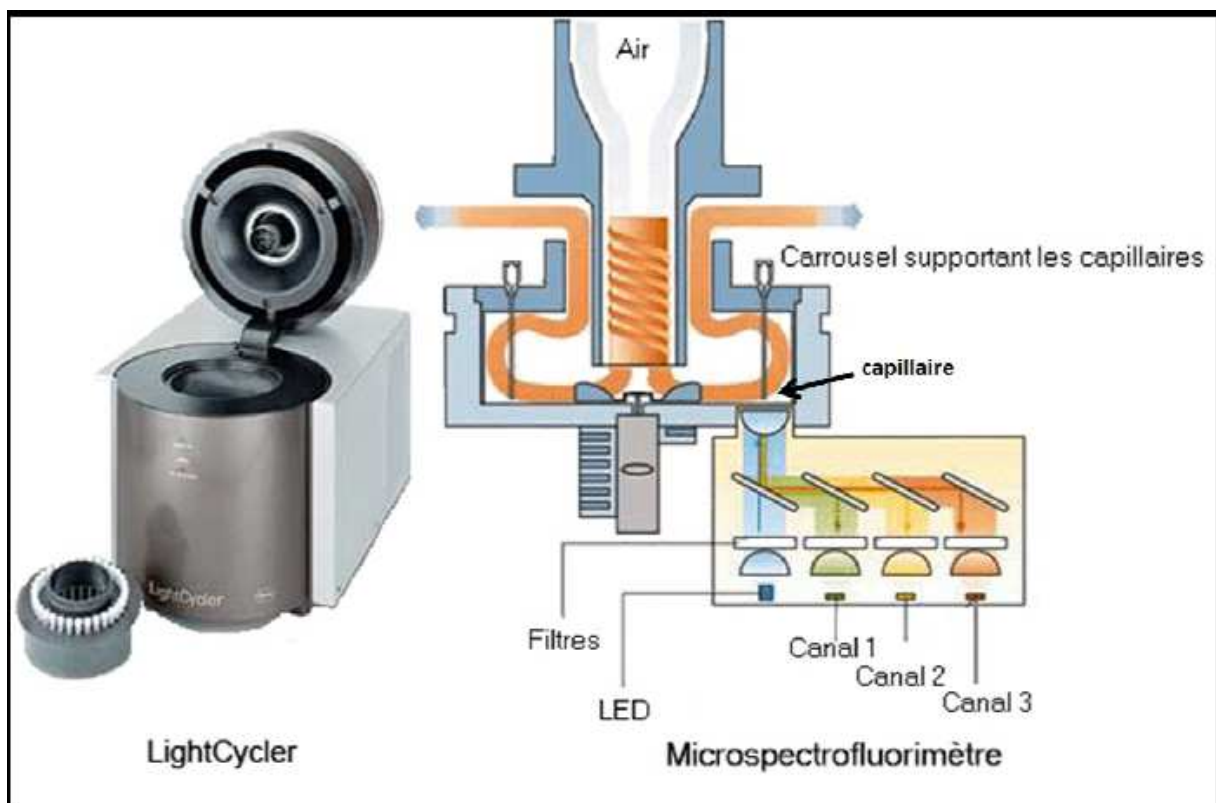


Figure 32: Photographie du Light Cycler ® et sa représentation schématique [76]

La technologie FRET permet une révélation des produits amplifiés en temps réel grâce à l'utilisation de 2 sondes ajoutées au mélange réactionnel. Une des deux sondes est marquée à son extrémité 3' par un fluorophore « donneur » et l'autre en 5' par un « accepteur ». Elles sont choisies pour s'hybrider à une zone de la séquence cible en étant séparées de 1 à 5 bases.

Lorsqu'elles sont séparées dans le mélange réactionnel, seule la fluorescence du donneur (directement excitable par la lampe de l'automate) est émise et détectable par le microspectrofluorimètre. En revanche, lorsque la température d'hybridation des sondes est atteinte, elles se fixent l'une à la suite de l'autre sur la séquence amplifiée cible. L'énergie du fluorophore est alors transférée à l'« accepteur » provoquant l'émission fluorescente de celui-ci [76, 173].

L'acquisition de la fluorescence est alors mesurée au début de chaque nouveau cycle d'amplification. Elle est proportionnelle à la quantité d'ADN synthétisée au moment de l'hybridation. En fin de réaction, la température de fusion des sondes (ou Melting Température = T_m) est calculée. Elle correspond à la température à laquelle 50 % des sondes sont hybridées aux brins d'ADN et est donc spécifique de la séquence amplifiée. Une augmentation progressive de la température associée à une mesure continue de la fluorescence permet de la calculer. A l'extinction de la fluorescence, la T_m est atteinte.

La spécificité de la technique est donc directement dépendante de 3 facteurs : des séquences du couple d'amorces, des sondes choisies et de la cible amplifiée. Cette technologie, utilisée par l'équipe de Babady et coll [171] permet l'identification des 5 *Plasmodium* humains en suivant la stratégie suivante :

- Utilisation d'un couple d'amorces spécifiques du genre *Plasmodium* sp.
- Utilisation d'un couple de sondes non spécifiques d'espèce dont l'accepteur émet une longueur d'onde de 640 nm. L'espèce plasmodiale est déduite de la T_m obtenue. Cependant, ce couple de sondes ne permet pas de différencier *P. knowlesi* de *P. vivax*, les T_m étant les mêmes.
- Utilisation d'un second couple de sondes spécifiques de *P. knowlesi* dont l'accepteur émet une longueur d'onde de 705 nm.

3. Diagnostic indirect

Des méthodes indirectes mettant en évidence les anticorps circulants sont utilisées pour connaître le statut sérologique des patients dans des études épidémiologiques mais

également lors des dépistages chez les donneurs de sang. En revanche ces techniques ne présentent aucun intérêt en diagnostic de l'accès palustre. La recherche d'anticorps circulants se fait par technique ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay) ou d'IFI (ImmunoFluorescence Indirecte), technique de référence, à l'aide des lames sensibilisées par *P. falciparum* (*falciparum*-Spot IF®, Biomerieux). La lame est incubée avec le sérum du patient, puis révélée par l'ajout d'une anti-globuline humaine marquée à la fluorescéine. La lecture se fait au microscope à fluorescence, où les trophozoïtes intra-érythrocytaires prennent une coloration verte [76, 171].

4. Choix de la technique à développer

La PCR nichée présente de nombreux inconvénients. Les manipulations sont longues, nombreuses et nécessitent l'utilisation de gels contenant du BET (cancérigène). De plus, la ré-amplification d'un premier produit PCR exposé a un très haut risque de contamination. Cette technique ne doit pas être utilisée en méthode diagnostique [76, 174].

La PCR en temps réel est un outil de diagnostic présentant l'avantage d'être plus rapide (révélation *in situ*), de ne pas utiliser de BET et de se réaliser en système clos, d'où le faible risque de contaminations. De plus, le rendement d'amplification est supérieur à la PCR classique, offrant ainsi une meilleure sensibilité [76, 174, 175]. Toutefois, la technique FRET décrite par l'équipe de Babady et coll., imposée, par l'homologie entre *P. vivax* et *P. knowlesi*, l'utilisation de 2 couples de sondes (4 sondes) pour chaque identification d'espèce de *Plasmodium*. Ces sondes, très coûteuses, limitent l'utilisation de cette technique en routine. Pour chacune des 4 espèces plasmodiales humaines, un couple d'amorces spécifiques ciblant le gène 18S ARNr de type A est utilisé. La révélation de l'amplification est réalisée grâce à un agent fluorescent s'intercalant dans l'ADN double brin, le SYBR Green. Cette technique possède l'avantage d'être sensible (seuil de sensibilité = 0,3 parasite / μ L), rapide (3 heures), peu coûteuse et spécifique d'espèce. Il est donc intéressant de faire évoluer cette méthode en développant sur ce même modèle un cinquième couple d'amorces spécifiques de *P. knowlesi* [76].



X. TRAITEMENT

1. Généralités :

En 2001, les dirigeants du monde entier ont adopté les Objectifs du Millénaire pour le Développement (OMD), pour améliorer l'état du monde en 2015. Un des objectifs est une réduction du nombre de cas de paludisme de 50% en 2015 (OMD 6). Ce but est en voie d'être atteint. Le paludisme a, en effet, régressé au cours des dernières années dans toutes les régions du monde sous l'effet de l'amélioration conjointe de la lutte anti-vectorielle (distribution massive de moustiquaires imprégnées d'insecticides à longue durée d'action [MILDA] et plus localement aspersion intra-domiciliaire d'insecticides), du diagnostic rapide des infections plasmodiales (tests de diagnostic rapide [TDR]), des traitements efficaces (combinaisons à base de dérivés d'artémisinine [CATs], des traitements présomptifs intermittents [TPI] des femmes enceintes et des enfants) et des changements sociaux (urbanisation, développement économique et climatiques) [176].

En 5 octobre 2015, la chinoise Youyou Tu a été récompensée par le prix Nobel 2015 pour ses travaux sur le paludisme, ainsi que deux autres scientifiques, tous travaillant sur la lutte contre des maladies parasitaires.

À LA UNE

EGYPTE. La mission "ScanPyramids" va-t-elle résoudre le mystère ?

Sciences > Santé > Prix Nobel de médecine 2015 - les traitements contre les maladies parasitaires à l'honneur

Prix Nobel de médecine 2015 : les traitements contre les maladies parasitaires à l'honneur

Par Line Lourel
Voir tous ses articles

Publié le 05-10-2015 à 10h50
Mis à jour le 06-10-2015 à 09h47

A+ A-

Le Nobel de médecine et physiologie a été décerné à l'Irlandais William C. Campbell, au Japonais Satoshi Omura et à la Chinoise Youyou Tu.



De gauche à droite : William C. Campbell, Satoshi Omura et Youyou Tu. © Nobel Prize

MEDECINE. La saison des prix Nobel a débuté lundi 5 octobre. Le prix Nobel de physique a été décerné mardi 6 octobre et le prix Nobel de chimie le mercredi 7 octobre... Le prix Nobel 2015 de médecine et physiologie a été remis à l'Irlandais William C. Campbell et le Japonais Satoshi Omura pour leur mise au point d'un traitement contre les infections dues à des vers nématodes, et à la Chinoise Youyou Tu pour son nouveau traitement contre le paludisme. "Les deux découvertes ont fourni à l'humanité de nouveaux moyens puissants pour lutter contre ces maladies qui touchent des centaines de millions de personnes chaque année", a

PARFAIT ALGER

f 325 t 81 g+ 17 in 53

REAGIR

RECEVOIR LES ALERTES

Votre adresse e-mail

OK



Tu Youyou, 84 ans, qui était depuis longtemps pressentie pour recevoir le prix, a découvert un traitement particulièrement efficace contre le paludisme grâce à un extrait de la plante armoise annuelle (*Artemisia annua*). L'Artémisinine est le traitement le plus efficace et sûr contre le paludisme, maladie qui touche près de 200 millions de personnes par an, et en tue plus de 500 000, principalement des enfants africains. Elle est la douzième femme et la première Chinoise à être récompensée par le Nobel de médecine depuis la création du prix, en 1901. Youyou Tu est une belle histoire et le symbole d'un mélange réussi entre médecine ancestrale et médecine moderne. Si on parle du paludisme, il y a eu des avancées : plusieurs molécules ont été testées sur le terrain et se sont montrées efficaces. Simplement, leur principal problème c'est le développement de résistances rapides chez le parasite, qui font que leur molécule finit par ne plus soigner. La petite révolution de l'artémisinine, c'est qu'elle apporte une nouvelle molécule particulièrement efficace et qui pendant longtemps n'a pas vu de résistances pour deux raisons : elle tue très vite les parasites et elle est utilisée en combinaison avec d'autres drogues antiparasitaires, ce qui fait qu'il n'y a pas de risque que le parasite développe en même temps une résistance contre toutes les molécules. La molécule a pu être employée seule au Cambodge, on y voit le développement de résistances, mais ailleurs elle continue de fonctionner très efficacement [177, 178].

P. knowlesi peut progresser rapidement à une maladie grave, de ce fait, il doit être traité comme le *P. falciparum* si l'identification des espèces est basée sur l'examen microscopique seul ou en cas d'une co-infection avec *P. falciparum*. *P. knowlesi* est sensible aux nombreux autres traitements.

En général, les médicaments antipaludiques doivent être introduits une fois les résultats du frottis sanguin sont positifs et l'espèce peut être identifiée ou confirmée plus tard. Dans les infections à *P. knowlesi*, les médicaments doivent être commencés immédiatement et aussi important que dans l'infection à *P. falciparum* en raison de la nature potentiellement grave des deux infections et à cause de la difficulté de distinguer entre ces deux espèces ou de déterminer s'il y a une infection mixte sur la base de l'examen microscopique seul.

Deux espèces de *Plasmodium*, *vivax* et *ovale*, peuvent devenir dormantes et donnent les hypnozoïtes du foie qui peuvent provoquer une ou plusieurs rechutes de la maladie,

pouvant aller jusqu'à des années après l'infection initiale si la Primaquine n'est pas donnée pour éradiquer cette forme du parasite. Après le traitement primaire, les patients Malaisiens ont été traités par la Primaquine pour éliminer les hypnozoïtes possibles, cependant, il n'existe aucune preuve soit chez les macaques ou dans les cas des infections humaines sur l'existence des rechutes ou de ces hypnozoïtes dans l'infection à *P. knowlesi*. Par conséquent, il semble peu probable que l'administration de la primaquine est bénéfique ou nécessaire dans l'infection au *P. knowlesi* [158].

2. Médicaments antipaludéens :

La lutte contre le paludisme se complique du fait que l'on enregistre une résistance accrue des vecteurs et des parasites envers les molécules actuellement utilisées.

2.1. Schizonticides érythrocytaires

Ce sont les plus utilisés, agissent sur la forme endoérythrocytaire [179]. On distingue :

2.1.1. Les remèdes traditionnels antipaludiques

Depuis longtemps, dans le cadre du traitement du paludisme et de la recherche de nouvelles molécules antipaludiques, les chercheurs se tournent vers les remèdes traditionnels utilisés par les populations qui vivent en zone d'endémie.

Deux antipaludéens majeurs (quinine, artémisinine et dérivés) prescrits à l'heure actuelle sont issus de plantes médicinales, traditionnellement employées dans leur pays d'origine contre les fièvres et le paludisme; il s'agit de l'écorce d'un arbre originaire des flancs de la cordillère andine (*Cinchona calisaya* et autres espèces de *Cinchona*) et d'une herbacée originaire de Chine, *Artemisia annua*. La recherche de nouvelles molécules antipaludiques se fait donc encore en partie au sein de la biodiversité végétale, en se servant de l'ethnopharmacologie comme outil de travail. Cette approche permet de sélectionner les espèces les plus intéressantes pour leur activité antiplasmodiale potentielle. De plus, étant donné que le paludisme est un fléau qui touche les pays du sud, dans lesquels la population a des difficultés d'accès aux soins de santé, l'étude des remèdes traditionnels antipaludiques

(RTA) employés par la population est primordiale. En effet, une validation d'usage traditionnel peut déboucher sur une recommandation d'usage pour un traitement alternatif ou complémentaire [180].

2.1.1.1. Les alcaloïdes de Quinquina :

De nombreux traitements ont été mis sur le marché s'inspirant bien souvent des traitements connus depuis bien longtemps dans la médecine traditionnelle. Certaines de ces connaissances ancestrales ont donné lieu à des médicaments très connus tels que la quinine, un alcaloïde extrait de l'écorce d'un petit arbre tropical, originaire d'Equateur, le Quinquina ou *Chincona officinalis* L., appartenant à la famille des Rubiaceae [181].

Lors de son cycle de développement, le *Plasmodium* dégrade l'hémoglobine en ferriprotoporphirine membranaire (FP). Une fois liée aux protéines de la liaison parasitaire, cette FP forme l'hémozoïne. La quinine entre en compétition avec les protéines de liaison, conduisant à la formation d'un complexe lytique membranaire, puis à une perméabilité de la membrane parasitophore et à la mort du parasite. La quinine possède une activité schizonticide très importante, sur tous les *Plasmodium* sp. En revanche, son action sur les gamétocytes est faible et nulle sur les formes intra-hépatiques [76, 182].

- **Pharmacocinétique :**

- rapidement absorbée,

- demi-vie = 5h

- élimination rénale en 24h sous forme hydroxylée en position 2

- Administré par VO sous forme de chlorhydrate ou sulfate (0,5 à 1g/j), aussi par VIV et VIM [179].

- **Effets indésirables :**

- Allergie ;

- Troubles digestifs ;

- Anémie hémolytique surtout chez les sujets déficitaires en glucose 6 phosphates déshydrogénase [179].

Malheureusement, de nombreuses formes de résistances sont apparues et la quinine a été presque totalement abandonnée aujourd'hui au profit de l'artémisinine.

2.1.1.2. L'artémisinine et ses dérivés : (*Artemisia annua*, *Artemisia absinthium*)

Le genre *Artemisia* regroupe un grand nombre d'espèces dont la culture a permis notamment la production d'épices (*A. dracunculus*), de liqueurs comme l'absinthe (*A. absinthium*), de répulsifs (*A. vulgaris*), et d'un antipaludéen à l'importance contemporaine considérable, *Artemisia annua* ou armoise annuelle. C'est une plante originaire des régions tempérées de Chine d'où elle s'est propagée au sud de la Sibérie, au Vietnam et au nord de l'Inde. Hors d'Asie, cette plante a été introduite et pousse à l'état sauvage dans de nombreux pays d'Europe (Hongrie, Bulgarie, Roumanie), aux USA et en Argentine. En France, elle pousse d'août à octobre dans le sud de la France (Var, Hérault, Gard, Isère) et en région parisienne dans les terrains vagues, les chemins et les bords de route [58]. Sa culture expérimentale fait qu'elle s'étend aujourd'hui à l'Australie, au Brésil, au Kenya, à l'Ouganda et à la Tanzanie, à Madagascar, et même en Finlande pour ce qui est de son extension plus au nord. C'est une plante annuelle herbacée de la famille des Asteraceae (Compositae), de 30 à 150 centimètres de hauteur, pouvant cependant parfois atteindre 250 centimètres dans des conditions optimales de culture, glabre et très odorante, qui fleurit en Chine d'août à octobre [183].

Un des extraits provenant de la plante absinthe (*Artemisia absinthium*) s'est montré prometteur chez des souris. S'inspirant d'un document ancien, le Docteur Tu qui est primée pour "ses découvertes concernant une nouvelle thérapie contre le paludisme" a modifié le processus d'extraction de cette substance pour la rendre plus efficace avant d'isoler, au début des années 70, l'ingrédient actif de l'absinthe à savoir l'artémisinine le traitement le plus efficace et sûr contre le paludisme [184].



A



B

Figure 33: Photos du genre *Artemisia*. A: *Artemisia annua*. B: *Artemisia absinthium*

Sa découverte se fait en 1967, quand les chercheurs militaires chinois ont tourné vers la solution qui leur semble la plus simple : chercher dans les remèdes de la médecine traditionnelle, un composé pouvant être scientifiquement attesté efficace contre la variété endémique de la malaria. Ils se sont naturellement tournés vers les régions les moins touchées par le paludisme, et ont découvert l'armoise annuelle : en effet, il apparaît que dès les premiers symptômes du paludisme, les locaux en faisaient une décoction efficace, et surtout sans effets secondaires notoires. C'est en 1972 qu'un chercheur chinois, essayant d'extraire la substance active de l'armoise, réussit à isoler l'artémisinine [185].

Plusieurs composés sont commercialisés dans le monde : artémisine, artéméther et artésunate. Ce sont certainement les composés les plus actifs, ils agissent par alkylation des produits de dégradation de l'hémoglobine synthétisés par le parasite, conduisant in situ à la formation des radicaux libres toxiques. Seules les associations sont recommandées par l'OMS, afin de limiter les acquisitions de résistance.

En France, une autorisation de mise sur le marché existe depuis 2007 pour l'association artéméther + luméfantrine (Riamet®) [76, 186].

2.1.2. Les antipaludiques de synthèse

2.1.2.1. Les amino-4-quinoléines :

Cette classe correspond aux premiers antipaludéens de synthèse. Deux molécules sont utilisées : la chloroquine (Nivaquine®) et l'amodiaquine (Flavoquine®) [76, 182].

- **Pharmacocinétique:**

- Absorption digestive rapide mais < à celle de la quinine, T max = 3h.
- Temps d'apparition dans le sang : 3 h,
- Demi-vie $t_{1/2}$ = 3 jours
- Se concentrent dans les hématies infectées.
- 10% de la dose éliminée au bout de 2 jours, 70% en 7 jours.

Agissent en entravant la réplication de l'ADN parasitaire par inhibition de l'ADN polymérase. La résistance apparaît quand le médicament n'arrive plus à pénétrer dans le protozoaire, et donc ne s'intercalent pas entre les deux brins d'ADN. Ils sont inactifs sur les formes tissulaires et sur les gamétocytes. Ils constituent les médicaments de choix pour la chimioprophylaxie et le ttt de l'accès simple, lorsqu'il n'y a pas de résistance à la chloroquine [179].

- **Effets indésirables:**

- Majorés à forte dose et au début du traitement pour des doses de charge :
- Troubles cutanées : pigmentation et prurit.
- Troubles oculaires : rétinites pigmentaires car il y a une affinité des 4-quinoléines au tissu contenant la mélanine (surveillance ophtalmologique).
- Intoxication aigue en cas d'utilisation de forte dose (>3g) et la mort survient par arrêt cardiaque [179].

2.1.2.2. Les aryl-amino-alcools

Ces antipaludéens sont des composés plus actifs, et utilisés dans les zones de chloroquinorésistance. On compte parmi ces molécules :

- La méfloquine (Lariam®) : le mécanisme d'action est le même que la quinine. Elle est active sur les schizontes de tous les *Plasmodium* sp, mais n'a aucune activité sur les formes hépatiques ou sexuées. Sa demi-vie de 3 semaines permet la prise d'une dose hebdomadaire en chimioprophylaxie.
- L'halofantrine (Halfan®) : même mécanisme d'action que la méfloquine. Elle n'est plus recommandée en première intention en raison de ses effets indésirables cardiaques.

2.1.2.3. Les antimétabolites

- **Antifoliniques** : Entravent la synthèse de l'acide folique à partir de l'acide folinique [179]. proguanil (Paludrine®), pyriméthamine (Malocide®).

Ils inhibent la déhydrofolate réductase plasmodiale, empêchant ainsi la synthèse des bases puriques et pyrimidiques, nécessaires à la réplication de l'ADN.

- Pyriméthamine est actif sur les stades pré-érythrocytaires. Pour limiter l'apparition de résistance et potentialiser l'action, la pyriméthamine n'est plus utilisée qu'en association [76]. Caractérisé par une toxicité de la moelle osseuse ce qui nécessite une surveillance hématologique. contre-indiquée chez la femme enceinte à cause de ces effets abortif et tératogène [179].
 - Proguanil est actif sur les stades pré-érythrocytaires, le cycle asexué et les sporozoïtes (anophèle). Il est surtout utilisé en association synergique avec la chloroquine (Savarine®), ou l'atovaquone (Malarone®) [76]. caractérisée par une faible toxicité et forte résistance [179].
- **Inhibiteur de la synthèse pyrimidique** : Atovaquone

Elle est active sur tous les stades parasitaires, et reste souvent sensible lors d'acquisition de résistance aux autres antipaludéens (mécanisme d'action indépendant). Cette molécule n'est utilisée qu'en association synergique avec le proguanil (Malarone®). Très bien tolérée et très efficace, son principal inconvénient est son coût élevé [76].

2.1.3. Les antibiotiques :

- **La doxycycline** (Doxypalu®) : possède une action schizonticide utilisée en chimioprophylaxie, notamment dans les zones de chloroquino-résistance. Son effet indésirable majeur est la photosensibilisation, souvent handicapant en milieu impaludé (soleil).
- **La clindamycine** : possède un haut pouvoir schizonticide, elle est utilisée en association lors de traitement curatif [76].
- **Les sulfamides** : Utilisé pour les souches résistantes aux amino-4-quinoléines, en association avec les antifoliques sulfadoxine+ pyriméthamine ; Fansidar® [179].

2.2. Les gamétocytocides et hypnozoïtociques

Agissent sur les formes sexuées, atteignent les formes cellulaires exoérythrocytaires. Ils ont beaucoup d'effets indésirables ce qui limite leur utilisation. Il s'agit de dérivés de la quinacrine : Pamaquine, Pentaquine, Primaquine [179].

La primaquine appartient à la classe des amino-8-quinoléines. Elle est efficace sur les gamétocytes et les formes exoérythrocytaires, tels que les hypnozoïtes de *P. vivax* et *P. ovale*. L'effet indésirable majeur est son potentiel hémolytique développé chez les patients déficients en Glucose-6-Phospho-Déshydrogénase ou G6PD. Tout traitement par primaquine doit être précédé d'une recherche de cette déficience. Elle est contre-indiquée en cas de déficit majeur [76, 186, 187].

contre le paludisme. L'OMS a recommandé en décembre 2014 d'administrer un traitement à base d'ACT à tous les malades fébriles dans les zones touchées par la MVE [176].

3. Traitement de l'accès palustre simple

3.1. Traitement curatif des accès simples à *P. falciparum* :

Les schémas présents correspondent aux recommandations de la Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française (SPILF) et sont adaptés aux recommandations de l'OMS pour les régions non-endémiques. La chloroquine n'est plus utilisée, compte-tenu de la fréquence des résistances de *P. falciparum*.

En première intention, la SPILF recommande l'utilisation de l'association Atovaquone+proguanil (Malarone®) ou l'arthéméter+luméfantrine par voie orale, ou en deuxième intention la quinine par voie parentérale associée à la clindamycine [76, 186, 187]

3.2. Traitement curatif des accès simples dus aux autres *Plasmodium* sp.

La très faible fréquence de résistances décrites permettent l'utilisation en première intention de la chloroquine par voie orale, associée à la primaquine pour la prévention des rechutes (*P. vivax* et *P. ovale*) [76, 186, 187].

4. Traitement de l'accès pernicieux

Le paludisme grave est principalement dû à une infestation par *Plasmodium falciparum*, bien que *P. vivax* et *P. knowlesi*, peuvent aussi provoquer des accès sévères. Le risque est accru en cas de traitement tardif d'un épisode palustre simple dû à ces espèces. Le diagnostic et le traitement rapides du paludisme simple ont donc une importance cruciale. Il arrive cependant, notamment chez les enfants, que le paludisme *P. falciparum* évolue si rapidement qu'il est impossible de le traiter précocement, au stade simple [149].

4.1. Paludisme grave à *P.falciparum*

Les infections palustres peuvent entraîner un dysfonctionnement des organes vitaux et la mort. Le paludisme grave se définit par la mise en évidence clinique ou au laboratoire du dysfonctionnement d'un organe vital. Presque tous les décès dus au paludisme grave sont imputables à des infections à *P. falciparum*. Des définitions rigoureuses du paludisme grave ont été publiées à des fins épidémiologiques et de recherche mais, en pratique, le seuil pour démarrer un traitement parentéral doit être fixe à un niveau bas pour tout patient dont l'état inquiète le personnel soignant. Même si certaines analyses de laboratoire ne sont pas disponibles dans l'immédiat, il ne faut pas différer le début des soins intensifs (voir les critères de l'OMS signalés dans les cas graves du paludisme, Tableau 9).

En zones de forte transmission, le risque de paludisme à *P. falciparum* grave est maximum pour les jeunes enfants et les voyageurs (quel que soit leur âge) provenant de régions non endémiques. Dans les autres zones, le paludisme grave se répartit de manière plus régulière entre toutes les tranches d'âge. Le risque augmente au deuxième et troisième trimestres de grossesse, chez les porteurs du VIH/sida et chez les personnes ayant subi une splénectomie [149].

4.2. Paludisme grave à *P.vivax*

Le risque d'évolution vers un paludisme grave est beaucoup moins important avec *P. vivax* qu'avec *P. falciparum*. La maladie peut alors présenter certains des symptômes que l'on observe avec le paludisme grave à *P. falciparum* et être fatale. Une anémie sévère et une détresse respiratoire peuvent survenir à tout âge, bien que l'anémie sévère soit particulièrement fréquente chez le jeune enfant. Le risque de paludisme grave à *P. vivax* est maximal chez le jeune enfant et chez les sujets présentant des morbidités concomitantes. La maladie grave est rare dans les zones tempérées et chez les personnes de retour d'un voyage.

Elle se manifeste dans les zones de transmission relativement élevée ou il existe une résistance à la chloroquine, comme en Indonésie et en Papouasie-Nouvelle-Guinée, ainsi que dans des zones de faible transmission, comme en Inde ou en Amérique du Sud [149].

4.3. Paludisme grave à *P.knowlesi*

Les patients atteints du paludisme grave à *P.knowlesi* doivent être pris en charge de la même manière que pour une infection à *P. falciparum*. Le diagnostic définitif est posé par amplification génique (PCR) [149].

Quelque soit l'espèce, la quinine par voie parentérale reste le traitement de première intention des accès graves à *Plasmodium sp.* Même si l'OMS recommande l'utilisation des associations contenant un dérivé de l'artémisine qui montrent de meilleurs résultats, elles sont peu accessibles dans certaines régions. La prise en charge doit se faire dans un service de réanimation, et associer les traitements symptomatiques nécessaires (transfusions, antipyrétiques, glucose, oxygénothérapie, hémofiltration) [76, 186, 187].

5. Traitement du paludisme viscéral évolutif

Cette forme de paludisme apparaît en zone d'endémie, chez les sujets (enfants le plus souvent) soumis à des infestations répétées, sans chimioprophylaxie. Ces enfants présentent une anémie, une asthénie, une anorexie, une splénomégalie et parfois un retard staturo-pondéral. Le traitement est identique à celui d'une forme simple, suivi d'une administration de chloroquine pendant 1 à 3 mois, associée au proguanil [188].

6. Prise en charge des complications

Complications	Conduite à tenir
Hyperpyrexie	Réfrigération, paracétamol, anticonvulsivants
Convulsions	Injection IM de phénobarbital ou de diazépam
Anémie	Transfusion sanguine
Hypoglycémie	Transfusion glucosée à 30% puis à 10% ou 5%
Déshydratation	Perfusion de solutés isotoniques
Collapsus	Remplissage : sang, plasma ; dopamine
Insuffisance rénale	Compensation de l'hypovolémie, épuration extra-

	rénale
Troubles métaboliques	Perfusion de solutés isotoniques, oxygène, ventilation
Œdème aigu du poumon	Réduire perfusions, transfusion lente, furosémide, ventilation
Hémorragies / CIVD	Transfusion de sang frais, facteurs de coagulation, plaquettes; vitamine K

Tableau XIV: Prise en charge des complications au cours des accès palustres graves [189, 190]

7. Etude de la sensibilité du *Plasmodium knowlesi* aux antipaludiques

Les infections humaines à *P. knowlesi* entraînent des maladies fébriles qui peuvent rapidement évoluer vers des complications graves et parfois mortelles. L'incidence de paludisme à *P. knowlesi* est en augmentation dans les zones géographiques où le *Plasmodium falciparum* et le *Plasmodium vivax* deviennent sous contrôle, menaçant ainsi le but d'éliminer le paludisme. La détermination de l'efficacité des antipaludiques classiques contre *P. knowlesi* est une priorité, d'autant plus il n'y a pas des rapports anti-paludéens évalués contre les isolats humains de *P.knowlesi* in vivo [191]. Les expériences sont limitées à un nombre faible de cas, de plus il n'y a pas des études cliniques de haute qualité avec un nombre suffisant de patients pour des raisons compréhensibles, les directives de traitement de l'OMS contre le paludisme (2010) ne fournissent pas encore des recommandations officielles pour le traitement du *P. knowlesi* non compliqué. Pour le paludisme grave à *P.knowlesi*, l'OMS recommande l'artésunate par voie intraveineuse dans leur manuel pratique « prise en charge du paludisme grave (2013) » [192].

La culture in vitro de *P. knowlesi* a été récemment réalisée dans les érythrocytes humains. Cependant, les tests de sensibilité des infections humaines naturelles aux médicaments peuvent être uniquement évalués dans les cultures à court terme. Ceux-ci ont permis une application réussie de la sensibilité aux médicaments dans les micro-tests après l'adaptation du cycle de vie quotidienne du parasite et sa fréquence, suivi du développement pour permettre une évaluation au moment où la plupart des parasites arrivent au stade de schizontes matures dans les échantillons témoins.

L'excellente efficacité *in vitro* d'artémisinines à la fois contre *P. knowlesi* humaine et la souche (H) du laboratoire est cohérente avec les observations récentes faites sur les patients traités par l'artésunate, où aucune mortalité n'a été observée après ce traitement. Ces résultats concordent également avec les données des études réalisées sur les modèles animaux, qui démontrent l'efficacité de combinaison d'artémisinine avec naphthoquine pour les singes rhésus infectés par *P.knowlesi*. En outre, William et al dans une analyse rétrospective des cas cliniques de *P.knowlesi* à Sabah, ont rapporté le traitement efficace des patients par une thérapie de combinaison artéméther-luméfántrine. Cette étude a également noté que l'artésunate est efficace par voie intraveineuse chez les singes infectés avec gravité.

Pour la chloroquine il n'y a aucune preuve clinique annonçant la résistance du *P. knowlesi* à la chloroquine, cette molécule est efficace à la fois en monothérapie et lorsqu'elle est utilisée en combinaison avec la primaquine. Néanmoins, une surveillance continue de la sensibilité à la chloroquine chez *P. knowlesi* peut être réalisée, prenant en considération l'histoire du développement de la résistance à la chloroquine chez les autres espèces du *Plasmodium*. Les résultats avec la méfloquine ont montré une faible sensibilité au niveau du champ isolé de *P. knowlesi*, par rapport à ceux de *P. falciparum*, les résultats indiquent une tolérance innée de *P. knowlesi* à la méfloquine. Ces résultats suggèrent également la forte possibilité d'un échec de traitement si la méfloquine est utilisée en monothérapie ou en combinaison pour le traitement de *P. knowlesi*, cela soutenu par les rapports de l'échec du traitement à la méfloquine pour les singes rhésus infectés par *Pknowlesi*, ainsi par des cas récents de l'échec du traitement à la méfloquine chez les patients atteints de ce parasite, de ce fait la méfloquine doit être utilisée avec prudence pour le traitement de *P.knowlesi*, aussi dans la prophylaxie contre le paludisme dans les zones où l'acquisition de cette espèce est possible [191].

Tableau XV: Tableau comparatif du traitement des cinq espèces du *Plasmodium*. sp [158]

Le variable	<i>P.knowlesi</i>	<i>P.falciparum</i>	<i>P.vivax</i>	<i>P.ovale</i>	<i>P.malariae</i>
Traitement	Probablement tous les médicaments indiqués pour autre <i>Plasmodium</i>	Combinaisons avec les dérivés d'artémisinine atovaquone proguanil méfloquine La quinine +/- doxycycline	La chloroquine, suivie par la primaquine	La chloroquine, suivie par la primaquine	chloroquine
Prévention Médicale	Non connu, probablement atovaquone proguanil chloroquine doxycycline méfloquine	Atovaquone plus proguanil Doxycycline Mefloquine	atovaquone proguanil La chloroquine (résistance rare) doxycycline méfloquine Aucun médicament ne peut empêcher la prévention des hypnozoïtes hépatiques	atovaquone proguanil La chloroquine doxycycline méfloquine Aucun médicament ne peut empêcher la prévention des hypnozoïtes hépatiques	atovaquone proguanil chloroquine doxycycline méfloquine

8. Surveillance et évaluation du traitement

Un bilan clinique et biologique inclus le frottis sanguin doit être réalisé au troisième et septième jour. Une augmentation initiale de la parasitémie sous traitement allant jusqu'à une valeur multipliée par deux est possible et n'a pas de signification en terme d'échec thérapeutique. La parasitémie doit être négative au 7^{ème} jour. Il est recommandé de réaliser un frottis sanguin à j28 afin de repérer une rechute tardive. Ces rechutes sont rares et plus volontiers en rapport avec une mauvaise adhésion à un traitement adéquat qu'à une résistance de la souche. A l'issue du traitement d'un accès palustre importé il n'y a pas d'indication à reprendre une chimioprophylaxie, en cas d'échec d'un premier traitement et en l'absence de signe de gravité, un nouveau traitement doit être entrepris par un antipaludique

éventuellement administré per os, différent de ceux utilisés pour la chimioprophylaxie (si elle a été réalisée) et pour la première ligne de traitement [160].

Les paramètres surveillés sont :

- **Quininémie :**
Quotidiennement pendant au moins 72 heures. Seuil 10-12 mg/L (toxicité si > 15 mg/L)
- **Surveillance ECG :**
QRS, QTc quotidiennement durant toute la durée du traitement
- **Glycémie**
Toutes les heures pendant la dose de charge, puis toutes 4 heures
- **Parasitémie : J3, J7, J28 [193]**



XI. PROPHYLAXIE

1. Conseils aux voyageurs

Les voyageurs internationaux peuvent être exposés au risque d'infection palustre dans 97 pays du monde, principalement en Afrique, en Asie et dans les Amériques. Généralement, la maladie se manifeste tout d'abord par de la fièvre, des frissons et d'un syndrome de type grippal. En l'absence de traitement, des complications graves peuvent survenir et dans certains cas, conduire à la mort. Les symptômes du paludisme apparaissent après une période d'au moins sept jours. Une fièvre survenant chez un voyageur dans les trois mois suivant une exposition possible constitue une urgence médicale qui doit immédiatement faire l'objet d'une investigation. Selon les recommandations de l'OMS, la protection contre les piqûres de moustique entre le coucher et le lever du soleil est la première ligne de défense contre le paludisme. Les mesures de protection consistent notamment à dormir sous une moustiquaire à imprégnation durable et à utiliser des vêtements protecteurs et des répulsifs antimoustiques. En fonction du risque de paludisme dans la zone où ils se rendent, les voyageurs internationaux devront peut-être aussi prendre un traitement préventif (chimio prophylaxie) avant, pendant et après leur voyage.

Certains groupes de voyageurs, en particulier les jeunes enfants, les femmes enceintes et les personnes au système immunitaire affaibli, sont plus exposés au risque de la maladie grave s'ils contractent le paludisme. Chez la femme enceinte, le paludisme accroît le risque de décès maternel, de fausse couche et de faible poids de naissance, ainsi que le risque associé de décès néonatal.

Les femmes enceintes devraient éviter de se rendre dans des zones de transmission du paludisme et il est déconseillé aux parents d'emmener des nourrissons ou des jeunes enfants dans des zones où il y a un risque de paludisme à *P. falciparum*. Si le voyage ne peut être évité, il est très important de prendre des mesures de prévention efficaces, même dans les zones où seul le paludisme à *P. vivax* se transmet.

Avant de se rendre dans des pays ou des régions d'endémie palustre, les voyageurs doivent consulter le centre national de lutte contre la maladie de leur pays, ou d'autres

institutions qui conseillent les voyageurs, pour obtenir des informations sur les mesures préventives qu'il convient de prendre [194].

2. Prophylaxie mécanique

Comme pour les autres types de paludisme humain, la prévention de l'infection à *P. knowlesi* est basée sur la lutte antivectorielle en évitant les piqûres des moustiques, et de prendre des médicaments préventifs au moment indiqué. L'efficacité de ces mesures contre *P. knowlesi* n'a pas été démontrée, mais on peut supposer que son vecteur agit comme les vecteurs des autres espèces d'anophèle, et les précautions générales pour éviter les piqûres des moustiques anophèles s'appliquent probablement [158]. Plusieurs mesures sont recommandées :

- Aménagements de l'environnement destiné à diminuer le nombre de gîtes anophéliens,
- Technique de l'insecte stérile : elle permet l'éradication ou la diminution d'une population d'insectes, les mâles irradiés par un rayonnement gamma (bombe au Cobalt 60) deviennent sexuellement stériles à cause de mutations dominantes au niveau du sperme.
- aspersion intra-domiciliaires d'insecticides à effet rémanent
- moustiquaires imprégnées d'insecticides : outil majeur de prévention du paludisme au niveau communautaire, stratégie de lutte recommandée par l'OMS. Mais la résistance des vecteurs est préoccupante. Il est nécessaire de ré-imprégner régulièrement les moustiquaires pour maintenir leur efficacité. Actuellement, il y a un développement de moustiquaires imprégnées d'insecticides de longue durée d'action (MILDA) [OLYSET®, PERMANET®] avec une efficacité de 5 ans. Les mères sont au cœur de la prévention du paludisme de l'enfant : ce sont les mères les mieux informées qui utilisent plus les moustiquaires imprégnées d'insecticides.
- ports de vêtements imprégnés d'insecticides (utilisés par les armées)

- répulsifs (insecticides ou repellents). Beaucoup de répulsifs sont disponibles sur le marché. Deux produits sont recommandables en pratique : le DEET et le KBR 3023. Les données de toxicologie, au moins sur le DEET, qui a été très étudié, sont rassurantes. Le CDC d'Atlanta ne restreint son utilisation que chez les nourrissons de moins de 2 mois. La durée d'action des répulsifs est, comme leur efficacité, très variable en fonction de la concentration du produit. La durée d'action du DEET est, par exemple, pour le DEET 30% de 6 heures. Pas plus de 3 applications par jour.

Le tableau 16 traite des concentrations des substances actives entrant dans la composition de répulsifs corporels en fonction des tranches d'âge et de la population (d'après les recommandations de bonne pratique clinique sur la « Protection personnelle antivectorielle » publiées par la Société de Médecine des voyages et la Société française de parasitologie, label HAS) [176] .

Tableau XVI: Liste des produits biocides répulsifs, contenant des concentrations en substances actives jugées efficaces [176].

Substance active	Concentration	Nom commercial	Présentation
DEET1	20%	Ultrathon® lotion	Spray
	25%	Insect écran® famille	Spray
	30%	Moustidose® lotion répulsive zones infestées	Lotion
	30%	Moustifluid® zones à hauts risques	Spray
	30%	Prébutix® lotion répulsive zone tropicale	Lotion
	34%	Ultrathon® crème	Crème
	50%	Insect écran® zones infestées adultes	Spray
IR3535	20%	Biovectrol® familleif	Lotion
	20%	Moustifluid® zones tempérées	Spray
	20%	Mpistifluid® jeunes enfants	Lotion
	20%	Moustokologne® haute tolérance	Lotion
	20%	Piccol® antimoustiques	Spray
	20%	Les botaniques insectes®	Spray
	20%	Vendome® adultes	Spray
	20%	Apaisyl® répulsif moustique	
	25%	Cinq sur Cinq® tropic enfants	Lotion
	25%	Prébutix® lotion répulsive zone Europe	Spray / roll-on
	25%	Moustifluid® zones tropicales et à risque	Spray
	30%	Bouclier insect®	Spray

	35%	Cinq sur Cinq® Tropic	Lotion
KBR3023	20%	Centaurea®	Spray
	20%	Insect Ecran® peau enfant	Spray
	20%	Moskito guard®	Spray
	20%	Répuls Total®	
	20%	Apaisyl® répulsif moustique haute protection	Emulsion
	25%	Insect Ecran® spécial tropiques	Spray
	25%	Multidose® lait répulsif famille	Lait
	25%	Moustikologue® protection extrême	Lotion
PMDRBO	19 à 20%	Mousticare® peau pray famille, lingettes	Spray, lingettes
	19 à 20%	répulsives	
	25%	Puressentiel spray antipique®	Spray
	25%	Mousticare zones infectées	Spray
	25%	Biovectrol naturel®	Spray
		Mosi-guard	Spray et stick

Les précautions en vue d'une protection efficace contre les anophèles doivent être prises dès la tombée de la nuit. Mais, certains moustiques, comme *Anopheles darlingi* de la Région amazonienne, piquent entre 8 et 10 heures du soir, avant l'heure du coucher. Il faut alors combiner moustiquaires imprégnées et répulsifs. Il ne faut pas les utiliser en cas d'antécédents d'allergie cutanée, ne pas les appliquer sur les endroits où la peau est très fine, sur des blessures ou abrasions de la peau, sur le pourtour des yeux et des lèvres. Il convient de se laver les mains après application des répulsifs, pour ne pas risquer de se frotter les yeux, car les produits sont irritants. Enfin, il ne faut pas faire plus de trois applications par jour.

Devant le risque de contracter un paludisme, aucun moyen de protection contre les piqûres de moustiques ne doit être négligé chez le jeune enfant. L'utilisation de répulsifs ne doit donc pas être absolument exclue. En France, leur utilisation n'est restreinte que chez les nourrissons de moins de 6 mois. Les moustiquaires de berceau et de poussette imprégnées ou non d'insecticides restent alors le moyen le plus efficace. Les effets secondaires des répulsifs, telles les irritations de la peau, sont assez fréquents mais disparaissent généralement en quelques heures après l'arrêt de l'application. Les personnes allergiques ou à la peau sensible doivent appliquer un peu de produit sur une petite zone pour tester leur réaction. Les effets secondaires plus graves sont très rares et principalement liés à une mauvaise utilisation du répulsif : surdosage du à une quantité appliquée trop importante ou à des applications trop

rapprochées, application autour de la bouche, dans les plis du coude ou sur les paumes de mains, ingestion accidentelle par l'enfant.

Aucun répulsif n'a été étudié lors d'un usage prolongé supérieur à trois mois. Le DEET est le produit avec lequel le recul est le plus grand. Les études effectuées avec ce produit chez les enfants et les femmes enceintes n'ont pas confirmé la suspicion de toxicité sur le système nerveux central, ni montré le risque de malformation du fœtus. Enfin, différents répulsifs ne doivent pas être utilisés en même temps [176].

3. Chimio prophylaxie

La lutte contre le paludisme ne peut être couronnée de succès durable que s'elle s'inscrit dans une perspective multidimensionnelle utilisant tous moyens disponibles dans le cadre d'un partenariat à tous les acteurs concernés.

3.1. Chimio prophylaxie des expatriés et des voyageurs

La prophylaxie médicamenteuse est indispensable pour les zones à *P. falciparum*. Elle n'est pas efficace à 100%. Elle doit être prise pendant tout le séjour et après le retour pendant une durée variante avec l'antipaludique [176].

Les zones paludéennes sont divisées en quatre groupes en fonction du degré de résistance du parasite aux médicaments :

- **Pays du groupe 0** : Risque nul exemple la Tunisie,
- **Pays du groupe 1** : Pas de chloroquinorésistance (Maroc)
- **Pays du groupe 2** : Existence de chloroquinorésistance (Ghana)
- **Pays du groupe 3** : Fréquence de chloroquinorésistance et risque de multi résistance (Congo) [195].

3.1.1. Schéma prophylactique pour l'adulte :

- **pays du groupe 1** : chloroquine (Nivaquine®) 100 mg/j, séjour + 4 semaines après,
- **pays du groupe 2** : association chloroquine (100 mg/j) + proguanil (200 mg/j) (Savarine®) 1 comprimé par jour, séjour + 4 semaines après; ou association atovaquone + proguanil (Malarone®) : dose chez les sujets de plus de 40 kg : 1 comprimé adulte (250 mg/100 mg) par jour, séjour + une semaine après.
- **pays du groupe 3** : trois choix sont possibles :
 - **choix n°1** : Lariam® , comprimés à 250 mg, 1 comprimé par semaine, 10 jours avant + séjour + 3 semaines après,
 - **choix n°2** : Malarone® : même dose que pour les pays du groupe 2, séjour + une semaine après,
 - **choix n°3** : doxycycline (Doxypalu®, Granulodoxyl®Gé), comprimés à 100 et 50 mg: 100 mg chez l'adulte et chez l'enfant de plus de 8 ans ou pesant plus de 40 kg, 50 mg chez l'enfant de plus de 8 ans pesant moins de 40 kg, séjour+ 4 semaines après [176].

3.1.2. Schéma prophylactique chez la femme enceinte :

- **pays du groupe 1** : Nivaquine®
- **pays du groupe 2** : Savarine® ou Malarone®,
- **pays du groupe 3** : séjour déconseillé, si séjour indispensable : Lariam® ou Malarone® [176].

3.1.3. Schéma prophylactique à la Nivaquine chez l'enfant

- **pays du groupe 1** : Nivaquine®
- **pays du groupe 2** : association chloroquine (Nivaquine®) 1,5 mg/kg/j + proguanil (Paludrine®) 3 mg/kg/j (la Savarine® n'étant prescrite qu'à partir de 15 ans) ou Malarone ®, comprimé enfant (62,5 mg/25 mg) suivant poids : 1 cp/j de 11 à 20 kg, 2 cp/j de 21 à 30 kg, 3 cp/j de 31 à 40 kg à heure fixe et en prise unique.
- **pays du groupe 3** : si poids > 15 kg ou âge > 3 ans : Lariam®; alternative : doxycycline si > 8 ans ou Malarone® si poids entre 11 kg et 40 kg : de 11 à 20 kg

1cp/j, de 21 à 30 kg : 2cp.j, de 31 à 40 kg : 3 cp/j. Si enfant < 11 kg, ½ cp/j de 5 < 7 kg (hors AMM), ¾ cp/j de 7 < 11kg (hors AMM) [176].

La chimioprophylaxie doit être poursuivie pendant 4 semaines après le retour, sauf pour le Lariam® pendant 3 semaines et pour la Malarone® pendant une semaine seulement, ce court délai s'expliquant par l'activité schizonticide de la Malarone® dans les formes tissulaires de *P. falciparum* en développement transitoire dans le foie. La durée de la chimioprophylaxie, classiquement de trois mois, a été prolongée à six mois en 2010.

Extrait du Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire n° 21/22/2010 «Lors du premier séjour, la chimioprophylaxie, adaptée au niveau de résistance, devrait être impérativement poursuivie au moins pendant les six premiers mois. Au-delà de cette durée et sachant que la poursuite d'une prise continue pendant plusieurs années pose des problèmes d'observance et paraît irréaliste, la chimioprophylaxie peut être modulée avec l'aide des médecins référents locaux. Une prise intermittente durant la saison des pluies ou lors de certains déplacements peut par exemple être envisagée. Dans tous les cas, il est indispensable que la prise en charge rapide d'une fièvre par le médecin référent puisse être assurée. Il convient de prévenir les intéressés de la persistance du risque d'accès grave lors des retours de zone d'endémie, surtout pendant les deux premiers mois» [176]

Il y a deux candidats à la prophylaxie des formes tardives de la maladie : la primaquine et l'association atovaquone-proguanil, agissant sur le cycle hépatique, pour les voyages dans les régions infestées par *P. vivax* (Corne de l'Afrique, Asie, Amérique du sud [Guyane]). Chez les voyageurs, la primaquine peut être prescrite :

- en cure radicale ou éradicatrice après un premier accès à *P. vivax* ou à *P. ovale*, en combinaison avec un schizonticide, à la posologie de 30 mg/j pendant 14 jours,
- en prophylaxie terminale à la posologie de 30 mg/j pendant 14 jours à débiter le jour du retour de la zone d'endémie,
- en prophylaxie antipaludique, à la posologie de 30 mg/j à débiter la veille du départ, à poursuivre pendant tout le séjour et 7 jours après le retour. Pour les enfants, la dose est de 0,5 mg/kg/j. Le déficit en G6PD est une contre-indication[176].

3.2. Traitement Préventif Intermittent (TPI) des femmes enceintes et des enfants autochtones.

Le traitement préventif intermittent (TPIp) consiste dans l'administration intermittente et systématique d'antipaludiques : amodiaquine ou sulfadoxine-pyriméthamine (SP) chez les femmes enceintes à titre prophylactique. La chimioprophylaxie est recommandée par l'OMS pendant la grossesse, associée aux moustiquaires imprégnées, dans les zones de haute transmission d'endémie palustre. SP est utilisé préférentiellement lors des visites prénatales (femmes enceintes ayant plus de 16 semaines d'aménorrhée). Il faut prescrire deux doses de TPIp séparées d'au moins un mois, 3ème dose si la femme enceinte est séropositive, trois comprimés de SP en prise unique. Efficacité largement prouvée, mais des résistances apparaissent.

Le TPIp a été adopté par 37 pays en 2013. 57% des femmes enceintes dans ces pays ont reçu au moins une dose de TPI, 17% ont reçu 3 doses. Quinze millions de femmes enceintes sur 35 millions n'ont reçu aucune dose de TPIp. Le traitement préventif intermittent chez les enfants (TPIe) réduit la prévalence de l'infection palustre. La chimiothérapie du paludisme saisonnier (CPS) est recommandée chez les nourrissons de 3-11 mois et les enfants de 12-69 mois. Elle associe amodiaquine et sulfadoxine-pyriméthamine.

Chez les nourrissons : un demi-comprimé de 153 mg d'AQ une fois par jour pendant 3 jours et une dose unique d'un demi-comprimé de 500/25 mg de SP.

Chez l'enfant, un comprimé entier de 153 mg d'AQ une fois par jour pendant 3 jours et une dose unique d'un comprimé entier de 500/25 mg de SP. La CPS est prescrite pendant la période durant laquelle le risque de contracter le paludisme est le plus élevé pour les enfants : par exemple au Mali en août, septembre et octobre, donc en trois occasions à un mois d'intervalle. La CPS doit être couplée à l'utilisation des moustiquaires imprégnées, ce qui permet de réduire de façon substantielle le paludisme maladie, le paludisme infection et l'anémie.

La mise en œuvre du traitement préventif intermittent du paludisme chez les enfants de moins de 5 ans (TPIe) est très lente : sur les 16 pays aux quels l'OMS a recommandé

d'adopter le TPIe, 6 seulement l'ont fait. Un seul pays a adopté le TPI pour les nourrissons [176].

3.3. Prophylaxie antipaludique et traitement antirétroviral

La prophylaxie antipaludique recommandée chez les patients infectés par le VIH est l'atovaquone-proguanil. Il y a un risque potentiel d'échec de la prophylaxie par atovaquone-proguanil chez les patients recevant des combinaisons d'ARV couramment prescrites en Europe (efavirenz, lopinavir, atazanavir) [176].

3.4. Effets indésirables des médicaments antimalariques en chimioprophylaxie

Tous les médicaments antimalariques utilisés en chimioprophylaxie : chloroquine, méfloquine, doxycycline, chloroquine + proguanil, atovaquone + proguanil ont des effets indésirables, neuropsychiques, digestifs, cutanés, en règle non graves. La méfloquine a la plus haute proportion de manifestations neuropsychiques surtout chez les femmes (céphalées, vertiges, troubles psychiques : tendance dépressive, confusion, obnubilation, anxiété, hallucinations). L'association chloroquine + proguanil a la plus haute proportion de troubles cutanés (prurit, éruptions). Tous entraînent des troubles digestifs. La photosensibilité à la doxycycline est dose dépendante non significative à 50 mg, peu significative à 100 mg, fréquente à 200 mg. Une des complications potentielles de la doxycycline est la diarrhée à *Clostridium difficile*, elle est très rare et ne doit pas faire éliminer ce médicament dans cette indication [176].



**XII. PALUDISME AU
MAROC**

1. Généralités :

Le paludisme autochtone a disparu du Maroc, mais le risque de sa réintroduction n'est pas écarté avec l'augmentation des flux migratoires et des changements climatiques. Le combat contre la malaria a démarré au Maroc, il y a déjà un siècle, avec la création d'un service de lutte antipaludique en 1919. Depuis le lancement du Programme de lutte contre le paludisme, en 1965, les cas du paludisme autochtones n'ont cessé de diminuer, passant de 30.893 en 1963, à un millier vers la fin des années 1980, puis à 4 seulement en 2003 et à un cas seul en 2004. C'est ainsi que l'OMS a certifié, en 2009, le Maroc comme pays indemne de paludisme autochtone. [196].

L'Organisation mondiale de la santé (OMS) a publié en décembre 2014 une étude intitulée «Rapport sur le paludisme dans le monde 2014» où le Maroc figure parmi les pays «exempts de paludisme en Afrique où surviennent près de 90% des décès liés à la maladie». Par ailleurs, l'OMS cite le Maroc comme un des onze pays dans le monde à avoir réussi à maintenir l'absence de toute contamination à côté de l'Égypte, l'Argentine, l'Arménie, la Géorgie, l'Irak, le Kirghizistan, Oman, Ouzbékistan, le Paraguay et le Turkménistan [197].

Si le paludisme a aujourd'hui disparu au Maroc, le risque de sa réintroduction n'est pas écarté. On constate, en effet, une augmentation permanente des cas du paludisme importé du fait, d'une part, de l'accroissement des voyages internationaux et des flux migratoires à partir des pays où cette maladie sévit de façon endémique et massive. D'autre part, la persistance des facteurs de risque et de vulnérabilité, particulièrement en relation avec les conditions écologiques favorables à la pullulation du moustique vecteur, en l'occurrence les fortes pluviométries et les sécheresses qui occasionnent la stagnation des eaux et donc des foyers pour la transmission de la maladie. D'où le rôle capital et concerté entre les départements ministériels de la Santé, de l'Agriculture et de l'Intérieur pour intensifier les activités de surveillance pour maintenir l'élimination du paludisme autochtone au Maroc. Surtout que cette pandémie est en nette progression dans le monde, plus particulièrement en Afrique subsaharienne où elle fait des ravages parmi les vies humaines. La vigilance est donc de mise [196].

2. Etat des lieux du paludisme au Maroc

2.1. Rappel de quelques caractéristiques de l'épidémiologie du paludisme au Maroc

Le paludisme se présentait comme une maladie endémique avec des poussées épidémiques estivo-automnales fréquentes. Ces dernières étaient fonction de l'importance du réservoir des parasites et de la densité anophélienne, elle même en rapport direct avec l'étendue des gîtes, la pluviométrie et la température. Le paludisme était présent dans tout le territoire, y compris les régions montagneuses jusqu'à l'altitude de 2000 m. L'intensité de l'infection était variable d'une année à l'autre suivant les conditions climatologiques et l'importance des mouvements des populations. Les régions les plus peuplées et les plus riches, sont les mieux pourvues en eau, c'est pour quoi elles étaient les gravement touchées par l'épidémie, qui pouvait s'étendre à toute une région lorsque les pluies tardives du printemps étaient abondantes. Les différentes publications sur le parasite font tous état de l'existence de trois espèces de *Plasmodium* : *P.vivax*, *P.falciparum*, et *P.malariae*, mais les plus connues sont le *P.vivax* au printemps et au début de l'été et le *P.falciparum* en été et en automne [198].

L'anophèle *A. maculipennis labbranchiae* est le principal vecteur incriminé dans la transmission du paludisme au Maroc. C'est un moustique très ubiquiste qu'on retrouve sur les plaines maritimes méditerranéennes et atlantiques, jusqu'au sud d'Agadir. Son aire de distribution continentale recouvre pratiquement tout le territoire englobant les chaînes de montagne du Rif et du moyen Atlas. Sa limite sud pourrait être représentée par le versant nord du Haut Atlas. Il constitue l'espèce dominante dans le nord-ouest du pays et représente le seul peuplement anophélien dans la plaine du Rharb [198].

L'*Anophèles sergenti* est considéré comme vecteur secondaire du paludisme, responsable de la transmission dans le Sud du pays. Il constitue l'essentiel du peuplement anophélien de la zone présaharienne du Maroc et remonte jusqu'aux pentes méridionales du Rif. Il existe d'autres espèces d'anophèles de moindre importance dont le rôle dans la

transmission du paludisme n'a jamais été prouvé. En outre l'épidémiologie du paludisme au Maroc a évolué depuis le début du siècle sous l'influence de certains facteurs, parmi lesquels:

- **La pluviométrie** : lorsque les pluies sont abondantes et tardives, notamment les pluies du printemps (mars, avril, mai), elles engendrent davantage de gîtes qui restent en eau souvent de façon permanente favorisant ainsi le maintien d'une forte densité des vecteurs responsable des poussées épidémiques de la maladie. L'irrégularité de la pluviométrie (années sèches et années pluvieuses) est donc un des facteurs qui ont largement contribué aux variations épidémiologiques de la maladie.
- **Les mouvements de population** : de par leur importance, font propager chaque année dans tout le pays, un réservoir considérable du parasite. Le changement des modes de vie de la population, son attitude en face de la maladie et les mesures de prophylaxie préconisées, ont eu une influence notable sur la régression du paludisme.
- **L'économie** : la mise en valeur du sol par les grands travaux d'assainissement et par l'irrigation a eu également une incidence importante sur la réduction de l'incidence du paludisme.

Le paludisme peut s'observer à n'importe quel moment de l'année, mais les conditions climatiques marocaines limitent la période pendant laquelle l'anophèle peut transmettre la maladie. Cette transmission s'observe, schématiquement sur la côte atlantique, de mai à décembre ; dans la partie continentale nord, de juin à septembre ; dans la partie continentale sud, de mai à septembre et dans la montagne, de juillet à octobre. En règle générale, elle est estivo-automnale [198].

2.2. Etude de la capacité vectorielle d'*Anopheles labranchiae* dans une zone rizicole au nord du Maroc

Dans le but d'estimer le risque de réintroduction du paludisme au Maroc, une étude a été réalisée pour mettre en évidence le risque de la réémergence du paludisme au Maroc, et qui a analysé le potentiel paludogène d'une zone rizicole au nord du pays. *Anopheles labranchiae*, a toujours été considéré comme le vecteur principal du paludisme au Maroc. Cette espèce qui colonise une très grande partie du pays trouvait sa zone de prédilection dans les plaines atlantiques au nord-ouest où elle constituait plus de 95 % du peuplement

anophélien. Les épidémies les plus meurtrières dans l'histoire du paludisme au Maroc étaient enregistrées dans cette région où *An. labranchiae* était impliqué dans la transmission aussi bien de *P. vivax* que de *P. falciparum* et de *P. malariae*. Il proliférait dans les zones marécageuses et les rizières qui constituaient les principaux gîtes de la région. Dès le lancement du programme de lutte antipaludique, la majorité des zones marécageuses a disparu suite aux grands travaux d'assainissement entrepris. Les campagnes de lutte par utilisation du DDT poursuivies pendant plusieurs années ont limité la prolifération d'*An. labranchiae* dans les rizières. En parallèle, le dépistage actif et le traitement des cas ont permis de neutraliser le réservoir du parasite. En 1995, le paludisme autochtone avait déjà disparu de ces zones. Toutefois, l'extension progressive des rizières dans cette zone extrêmement réceptive et le déclin de la vigilance vis-à-vis de ces biotopes très favorables aux pullulations d'*An. labranchiae* se sont traduits par un retour offensif de celui-ci ; les densités ont atteint des niveaux inquiétants laissant planer le risque d'une résurgence de la maladie [199].

L'étude s'est déroulée dans le nord-ouest du Maroc, dans la localité de Boucharen implantée dans une zone rizicole faisant partie de la commune de Louamra située dans le bassin du Loukkos à 17 km au sud de la ville de Larache. L'élevage des bovins et ovins est développé dans ce village. Les animaux sont parqués dans des abris se trouvant à l'intérieur d'une même enceinte que les habitations humaines. Le climat régnant dans la région est de type méditerranéen semi continental. Les précipitations se répartissent généralement d'octobre à avril avec des pointes en décembre, janvier et février. La pluviométrie moyenne annuelle varie de 600 à 800 mm. Les températures minima extrêmes sont de l'ordre de 1 à 3° C en hiver et de 10 à 14° C en été. Les températures maxima extrêmes sont de 22 à 26° C en hiver et de 34 à 43° C en été. Les températures moyennes annuelles se situent autour de 17° C. Les rizières sont situées à moins de 300 m des habitations. Leur submersion est continue, depuis la mise en eau (mai-juin) jusqu'à la récolte (octobre-novembre), engendrant de fortes pullulations d'anophèles dans le village en l'absence de mesure de lutte. Comme méthodes de protection individuelle, les habitants de la localité utilisent des bombes insecticides à usage domestique. Les riziculteurs luttent contre les ravageurs du riz par traitement aérien au malathion (composé organophosphoré) trois fois durant la période de la culture [199].

Les résultats obtenus montrent que dans une zone anciennement impaludée, la densité du vecteur principal et sa capacité vectorielle ont atteint des niveaux préoccupants. Cette dernière était supérieure, pendant la période allant d'avril à octobre. Il est clair que l'écosystème de Boucharen offre aux populations d'*An. labranchiae* des conditions écologiques favorables à leur vie larvaire et imaginaire. L'implication des rizières dans la prolifération d'*An. labranchiae*, aussi bien au Maroc qu'ailleurs, est connue et leur implication dans la transmission du paludisme au Maroc a été bien démontrée. Les densités des femelles agressives observées à Boucharen présentent des variations liées aux phases de la riziculture. Elles varient de 2 piqures par Homme par nuit (PHN) en avril (avant la mise en eau des rizières) à plus de 350 PHN en août (phase de montaison du riz). Les densités moyennes de femelles agressives sont supérieures à 100 PHN indiquant une prolifération très importante de ce vecteur dans la région. À côté d'*An. labranchiae*, de nombreuses espèces de Culicidae se développent dans ces zones rizicoles. *An. labranchiae*, considérée autrefois comme une espèce anthropophile serait essentiellement zoophile. Cette zoophilie a déjà été mentionnée au Maroc et notamment dans la province de Larache. Malgré les taux élevés d'agressivité pour l'Homme notés au cours de cette étude, les repas sanguins pris sur Homme étaient très peu fréquents (3 %). Cette déviation zoophile serait favorisée par la proximité entre le cheptel bovin et les habitations, ainsi que par les mesures de protection individuelle prises par les habitants du village. Bien que Boucharen offre un biotope favorable au développement d'*An. labranchiae* en matière de disponibilité de gîtes et d'hôtes vertébrés pour les repas de sang, la durée du cycle gonotrophique mesurée en insectarium ne peut pas donner d'indication sur la durée réelle des phases actives de recherche d'un gîte de ponte et d'un hôte convenable pour le repas de sang [199].

De façon générale le risque paludogène dans la région de Boucharen est élevé. Il est remarquable pendant les mois de juillet, août et septembre pendant lesquels on note des capacités vectorielles supérieures à 17. En d'autres termes, à partir d'un seul réservoir infectant, ayant passé une nuit du mois d'août à Boucharen on pourrait théoriquement s'attendre à obtenir 34 cas secondaires d'infections palustres. Des estimations analogues de la capacité vectorielle d'*An. labranchiae* ont été réalisées dans une zone rizicole en Italie. Elles ont donné des résultats comparables. La réceptivité de la zone est donc très élevée et

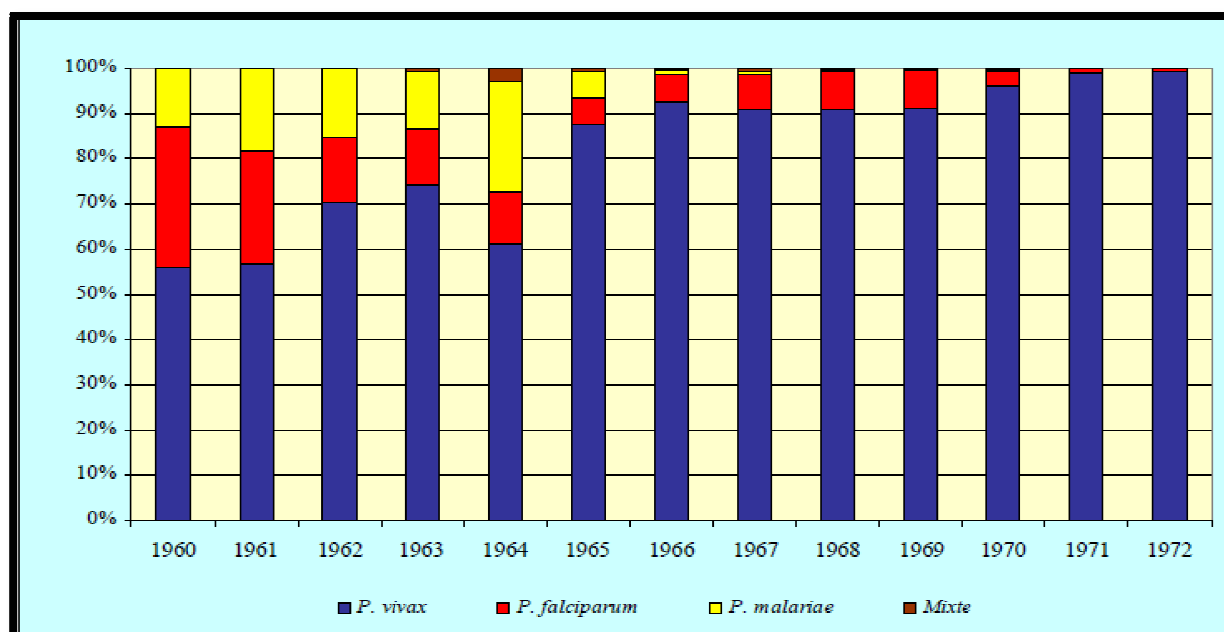
l'introduction d'un éventuel réservoir de parasite risque de déclencher une épidémie. En effet, la province de Larache est limitrophe de la province de Chefchaouen, dernier foyer du paludisme autochtone au Maroc, où la présence de porteurs de parasite est toujours plausible. La contiguïté des deux zones et les déplacements de leurs populations contribuent à un risque important d'une reprise de la transmission du paludisme autochtone à *P. vivax*. Par ailleurs, le risque d'introduction de souches plasmodiales africaines est faible, mais n'est pas à écarter. Le Maroc enregistre chaque année une centaine de cas allochtones à *P. falciparum* dont cinq ont été notifiés dans la province de Larache depuis 1996 (Service des Maladies Parasitaires, Ministère de la santé). En outre, cette région se trouve sur le grand axe routier reliant le Maroc à l'Europe, emprunté par les immigrants originaires des pays au sud du Maroc où le paludisme est endémique. Ces derniers constituent un réservoir de parasite qui échappe à tout contrôle. Bien qu'il ne soit pas certain, qu'*An. labranchiae* du Maroc est réfractaire aux souches tropicales de *P. falciparum*, comme cela a été démontré pour *An. labranchiae* d'Italie, le risque d'une réintroduction du paludisme sud-saharien est une éventualité à redouter [199].

En conclusion et à travers cette étude, la capacité vectrice d'*An. labranchiae* a été étudiée. Les résultats ont montré que cette dernière est élevée pendant les mois de juillet, août et septembre. En matière d'évaluation du risque de réémergence du paludisme autochtone, cette observation est à relier, d'une part, avec la proximité de la zone d'étude par rapport à la province de Chefchaouen (dernier foyer du paludisme au Maroc) et, d'autre part, avec la possible circulation de réservoirs de parasites entre ces deux provinces. L'augmentation continue du nombre de cas à *P. falciparum* importés au Maroc ainsi que la présence d'immigrants en provenance des pays d'endémies échappant à tout contrôle sanitaire constituent également une inquiétude quant à l'introduction du paludisme sud-saharien. Une éventuelle reprise de la transmission du paludisme au Maroc doit être considérée avec une grande attention. De ce fait, il est absolument nécessaire et urgent de veiller à l'application de la réglementation en vigueur concernant l'exploitation des rizières [199].

3. Paludisme autochtone à *P.falciparum* jusqu'à 1973

Le Maroc connaît depuis 1975, un arrêt de la transmission active de l'espèce plasmodiale la plus redoutable, *Plasmodium falciparum* [200]. Grâce aux efforts consentis par le ministère de la Santé et ses partenaires, le Maroc est parvenu à éradiquer le paludisme autochtone et a obtenu la certification d'élimination de cette maladie de la part de l'organisation mondiale de la santé (OMS) en 2010, relève un communiqué du ministère de la santé. En vue de préserver cet acquis, ajoute la même source, le ministère de tutelle a mis en place depuis 2011, une stratégie préventive visant à parer au retour du paludisme autochtone au Maroc, basée sur la vigilance épidémiologique et la gestion intégrée de la lutte contre les vecteurs de transmission de la Malaria et d'autres maladies [201].

La structure de la répartition des cas par espèce de *Plasmodium* en cause était passée pour le *Plasmodium vivax* de 56% en 1960 à 99,2% en 1972. Par contre le *Plasmodium falciparum* 30,9% en 1960 à moins de 1% (0,8%) en 1972 (Graphique 1). Cette réduction était la résultante incontestable des opérations d'aspersions réalisées particulièrement dans le Rharb qui constituait le foyer d'endémie le plus important au cours des années cinquante et soixante. Les derniers cas à *P. falciparum* d'origine autochtone dépistés avaient été en 1973. Depuis, tous les cas à *P. falciparum* diagnostiqués étaient chez des personnes ayant contracté la maladie à l'étranger [198].



Graphique 1: Répartition des cas du paludisme selon l'espèce plasmodiale en cause, 1960-1972 [198].

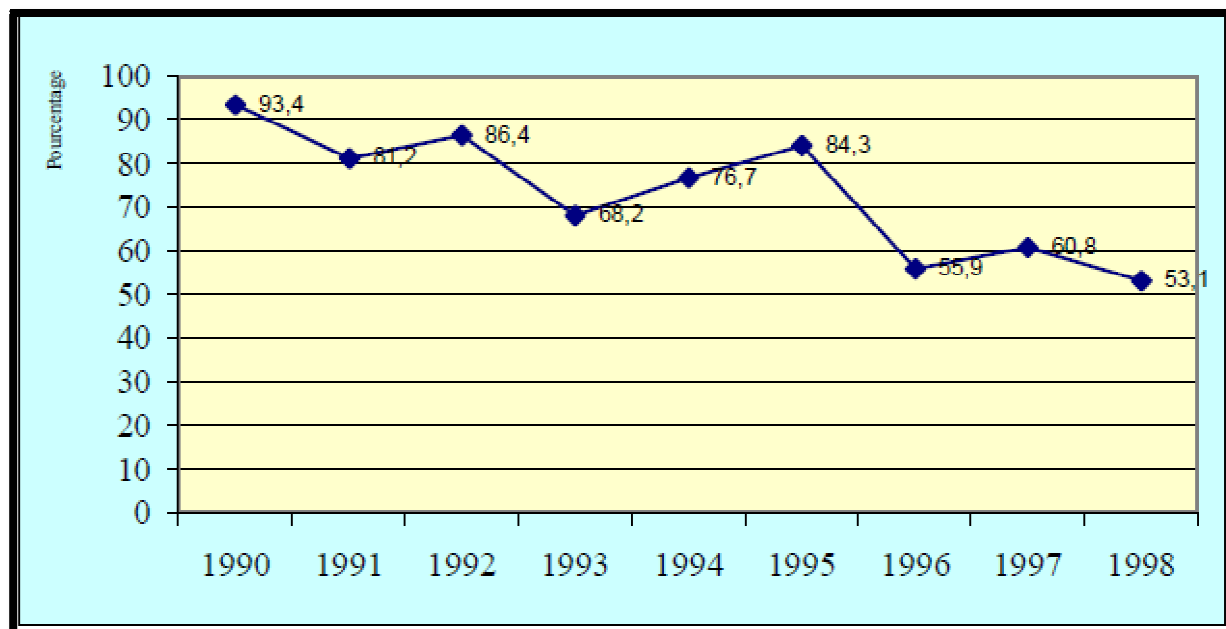
4. Paludisme autochtone à *P.vivax* jusqu'à 2004

Il est à noter que durant la période entre 1964 et 1990, la recherche de l'espèce plasmodiale n'était pas systématisée au Maroc, et durant les années suivantes tous les cas autochtones dépistés sont à *P.vivax*, notamment dans la période entre 1990-1998, le nombre des cas du paludisme autochtone décelés s'élevait à 2207. Six régions (Taza-Alhoceima-Taounate, Marrakech-Tensift-Al Haouz, Chaouia-Ouardigha, Tanger-Tetouan, Tadla-Azilal et Rabat salé Zemmours Zaers) totalisaient 89,1%. La majorité des cas, soit 76,2% avait été détectée entre 1990 et 1994. En 1998, seules trois régions continuaient encore à déclarer des cas autochtones avec un total de 68 cas alors qu'en 1990, 8 régions étaient atteintes avec un total de 788 cas. En 1998, le paludisme autochtone qui constituait 93,9% des cas en 1990 ne représentait plus que 53,1% (graphique 2) [198].

Tableau XVII: Les cas de paludisme autochtone décelés entre 1990 et 1998 [198]

Année	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998
Nombre des cas décelés	788	408	351	135	158	166	57	76	68
Total	2207								

Le dernier foyer actif détecté en 2002 dans notre pays se situait à la province de Chefchaouen. En 2003, seuls des cas résiduels ont été enregistrés dans cette même province [202].



Graphique 2: Répartition annuelle relative des cas du paludisme autochtone sur l'ensemble des cas déclarés, 1990-1998

La situation épidémiologique du paludisme autochtone à *Plasmodium vivax* n'a été maîtrisée que vers la fin des années quatre vingt dix. Afin d'appuyer cette tendance, une stratégie visant son élimination (SEPA) a été adoptée en 1999. Cette stratégie a permis de neutraliser le dernier foyer de transmission en 2002 et le dernier cas de paludisme autochtone a été dépisté en 2004. Depuis cette date, aucun foyer actif ni cas autochtone n'ont été enregistrés au Maroc [203], jusqu'en décembre 2010 quand un cas de malaria a été enregistré à Casablanca. Il s'agit d'une femme de 46 ans qui après avoir subi des analyses approfondies, s'est avérée atteinte de cette maladie infectieuse due à un parasite propagé par la piqûre de certaines espèces de moustique. Elle est, aujourd'hui, hors de danger. Seulement, c'est le troisième cas observé par le ministère de la Santé sur une période de trois mois. Deux jeunes gens âgés entre 18 et 20 ans avaient été signalés, également à Casablanca, en septembre 2010. On avait parlé, alors, du retour de la malaria. Les médias avaient évoqué un foyer de malaria dans les deux marécages de la forêt

de Sindibad en face du Mausolée de Moulay Abderrahmane et celui du quartier El Oulfa situé au cœur des résidences d'habitations [196].

Tableau XVIII: Evolution des cas du paludisme autochtone au Maroc, 1999-2010 [198, 204].

Années	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012
Nombre des cas autochtones	18	3	0	20	4	1	0	0	0	0	0	3	0	0

5. Paludisme d'importation au Maroc

La problématique de cas importés de l'étranger avait commencé à se poser à partir de la fin des années soixante dix, suite à l'accroissement des mouvements de ressortissants marocains vers les pays d'Afrique Sub-saharienne ainsi que de la progression des effectifs d'étudiants africains admis dans les écoles et universités marocaines dans le cadre du développement de la coopération Sud-Sud. Généralement la majorité des personnes atteintes sont des marocains, adultes, habitants le milieu urbain, et qui ont souvent négligé d'appliquer pendant leur déplacement en zone endémique, les mesures de prophylaxie préconisées. Entre 1975 et 1989, le nombre de cas importés s'était élevé à 1076 dont 987, soit 92% étaient importés de la seule Guinée Equatoriale et dont la presque totalité étaient des marocains. Entre 1990 et 1998, le nombre total de cas de paludisme importé a été de 492 (dont 54,5% dans les deux seules régions de Souss-Massa-Draa : 32,9% et Rabat-Salé-Zemmours-Zaers : 21,5%) et a oscillé annuellement entre 31 et 91. Entre 1999 et 2004, le paludisme d'importation de l'étranger a représenté 88,9% de l'ensemble des cas dépistés et pour la seule année 2004 ce pourcentage atteint pratiquement 98,2%. La répartition des cas par région montre que celles de Rabat Salé-Zemmours-Zaire a enregistré à elle seule 38,3% des cas, suivi par celle du grand Casablanca avec 14,7%, de Fès-Boulmane par 9,2% et de Meknès-Tafilalet avec 7,1%. Ces quatre régions totalisent 69,3% des cas de paludisme d'importation. Quant à la répartition par province et préfecture, cinq préfectures ont enregistré à elles seules 56,5% des cas. La préfecture de Rabat se positionne en premier avec plus de la moitié des cas (53,4%). Tous les cas de paludisme importé diagnostiqués font l'objet d'une prise en charge

thérapeutique. Du fait de la présence de forme de *P. falciparum* chloroquino-résistant, jusqu'en 2001, la plupart des cas avaient reçu un traitement spécifique à base de Chlorhydrate d'Halofantrine 250 mg. Ce produit a été remplacé à partir de 2002 par l'artemether/lumefantrine. Quelques cas de décès sont signalés dont un cas en 2000 et deux en 2004 [198].

Lors de la célébration de la journée mondiale du paludisme, le samedi 25 avril 2015 sous le thème "renforcer la vigilance dans le cadre de la gestion intégrée de la lutte contre les vecteurs de transmission", le ministère de la santé a révélé que le Maroc enregistre chaque année des cas de paludisme importés des pays endémiques. En 2014, 322 cas ont été détectés, soit une augmentation de 61% par rapport aux 200 cas enregistrés en 2003 [205]. Alors qu'aucun cas de *P. knowlesi* n'a pas été enregistré jusqu'à aujourd'hui au Maroc.

Tableau XIX: Données générales sur l'évolution du paludisme au Maroc, 2001-2014 [204]

Espèce plasmodiale	<i>Vivax</i>	<i>falciparum</i>	<i>ovale</i>	<i>malariae</i>	<i>Falciparum/ovale</i>	<i>Falciparum/vivax</i>	<i>Falciparum/malariae</i>
2001	2	50	5		1		
2002	20	84	3				
2003	5	62	5				
2004	3	47	6				
2005	1	93	5	1			
2006	6	69	6	1	1		
2007	4	65	4	1	1		
2008	13	113	10	1	5		
2009	3	136	4	2			
2010	6	195	14	1	2		
2011	21	262	23	4	2		
2012	26	277	48	10	2		
2013	22	234	52	2	2	2	
2014	20	265	120	16	9	1	1

6. Rôle des Hôpitaux Militaires dans la prise en charge du paludisme d'importation : cas de l'Hôpital Militaire Avicenne de Marrakech

Actuellement, les hôpitaux militaires marocains prennent en charge annuellement une centaine de cas d'infection plasmodiale. A l'hôpital militaire Avicenne de Marrakech, on reçoit en moyenne 150 suspicions de paludisme, avec une trentaine de cas confirmés par an. Cette prise en charge diffère selon le tableau clinique du patient impaludé allant de l'accès simple vers l'accès grave. La population touchée par cette infection importée est constituée essentiellement de militaires marocains opérants en zone d'endémie palustre dans le cadre des opérations de maintien de la paix. De ce fait, la République Démocratiques du Congo depuis 2001 et la Côte d'Ivoire depuis avril 2014, sont les pays les plus visités par nos militaires, et par conséquent les plus incriminés dans l'atteinte plasmodiale de nos troupes, surtout qu'ils sont classés par l'OMS parmi les 19 pays recensant 90% des cas de paludisme enregistré en Afrique. D'autres pays sont souvent incriminés dans l'infection plasmodiale. Il s'agit des pays avec de forts liens de coopération avec le Maroc, et pour lesquels les stagiaires viennent achever leur formation au Maroc (Guinée Equatoriale, Sénégal, Mauritanie, Gabon). Ils présentent un tableau d'accès palustre une fois avoir quitté la zone d'endémie palustre (rupture de l'équilibre de prémunition).

En matière de prise en charge au niveau des hôpitaux militaires, la plupart des patients militaires impaludés consultent en premier lieu un médecin de troupe de l'unité ou de la garnison de la place d'arme avant d'être adressés à l'hôpital militaire le plus proche de la région. D'où la nécessité de renforcer la sensibilisation de nos médecins et des infirmeries de garnisons en matière de pathologies d'importation, notamment le paludisme constituant une urgence diagnostique et thérapeutique, devant toute symptomatologie suspecte (fièvre essentiellement) au retour d'une zone d'endémie palustre. Pour les patients civils impaludés, la consultation en pratique libérale préalable à l'admission dans les hôpitaux militaires n'est pas fréquente, contrairement à ce qui se passe en France par exemple, où les médecins du privé sont confrontés aux sujets impaludés dans 25 à 50% des cas avant leur admission dans une structure spécialisée.

La participation passive de nos Forces Armées Royales dans de nouvelles missions en Afrique tel que le cas dans la république de centre Afrique, impose l'instauration dans le futur proche d'une structure au sein de chaque hôpital militaire dédiée essentiellement à la médecine tropicale. La formation continue du personnel médicale et paramédicale doit rester à jour pour mieux prendre en charge les patients impaludés et particulièrement les formes cliniques graves.



**XIII. IMPORTANCE ET
PERSPECTIVES DE
L'AVENIR**

Le nombre des cas humains à *P. knowlesi* est en augmentation. De ce fait les cliniciens et les biologistes doivent être alertés à cette cause émergente et potentiellement mortelle du paludisme. Les personnels de laboratoire ont été seulement formés pour identifier les quatre espèces habituelles de *Plasmodium*. De nombreux cas dans plusieurs pays peuvent être confondus avec les autres infections causées par *P. malariae*. En outre, certains tests de diagnostic rapide du paludisme n'ont pas réussi à détecter *P. knowlesi*. Par conséquent, si les méthodes de diagnostic moléculaire rapides et fiables ne sont pas disponibles pour établir le diagnostic de l'infection à *P. knowlesi*, ou autre espèce ordinaire, l'examen microscopique associé au TDR apparaît nécessaire pour diagnostiquer le paludisme en général chez les patients infectés par le *P. knowlesi*.

Jusqu'à présent, les infections humaines à *P. knowlesi* ont été décrites en grand nombre seulement en Malaisie. La majorité est de Bornéo malaisien, mais de nombreux cas ont été également décrits dans la Malaisie péninsulaire. En raison des rapports de *Plasmodium knowlesi* obtenus dans les pays voisins, Thaïlande, Singapour, Brunei, l'Indonésie, Myanmar, Vietnam et Philippines, il semble que *P. knowlesi* est un parasite naturel des macaques dans toute la région de l'Asie du Sud-Est, qui peut également infecter les être humains. Le fait que *P. knowlesi* est identifié dans un nombre croissant maintenant peut être attribuable dans certaines régions à la réduction des cas de *P. falciparum* et l'infection à *P. vivax*, alors que le nombre de cas d'infection à *P. knowlesi* reste constant. La disponibilité et l'utilisation des méthodes de PCR spécifiques pour détecter *P. knowlesi* peuvent générer plusieurs rapports de l'infection à *P. knowlesi*, et par conséquent, l'augmentation du nombre de rapports n'est pas nécessairement liée à la propagation réelle du parasite, mais à l'utilisation des méthodes de diagnostic plus précises. Le nombre élevé des cas humains suggère que *P. knowlesi* peut être plus capable d'infecter les humains que ne le sont les autres espèces qui causent le paludisme primate non humain. À ce jour, seulement expérimentalement, et non naturellement, la transmission Homme-moustique-Homme a été rapportée. Si la transmission naturelle Homme-moustique-Homme s'est produite, *P. knowlesi* pourrait se propager plus largement en Asie. Ceci est rendu possible par la grande distribution d'au moins une espèce vectrice, *Anopheles latens*, en Asie du Sud et dans les régions de sud du sous-continent indien, y

compris les zones touristiques populaires de l'ouest de l'Inde. Il reste à voir si ce genre de propagation s'est produit dans le passé ou va se produire à l'avenir, mais à ce jour, ni la transmission Homme-moustique-Homme, ni la propagation de *P. knowlesi* n'a été documentée [158].

Le développement d'un **vaccin antipaludique** pour la décennie 2010-2020 est un des buts de la *Malaria Vaccine Initiative* (MVI), sponsorisée par la Fondation Bill-et-Malinda Gates. Un vaccin contre le stade pré-érythrocytaire de *P. falciparum*, le candidat vaccin RTS,S/AS01, est actuellement évalué dans le cadre d'un vaste essai clinique en Afrique subsaharienne. Il réduit de 55,8% le risque de développer un accès palustre et de 47,3% le risque de développer une forme sévère de paludisme chez les enfants de 5 à 17 mois, seulement de 31,3% (accès palustre) et de 26,0% (forme sévère) chez les nourrissons de 6 à 12 semaines, ce qui est une différence substantielle. Les résultats définitifs ont été attendus en 2014. Les vaccins contre les stades sanguins asexués dont la principale cible est le mérozoïte sont moins avancés. Plusieurs protéines parasitaires sont impliquées dans ce processus complexe, dont la protéine MSP-3 et AMA. Actuellement, aucun candidat vaccin n'a montré une efficacité suffisante et durable pour être utilisé en santé publique. Cependant, le laboratoire GSK serait sur le point de commercialiser le vaccin RTS,S [176].

Au Maroc l'arrêt de la transmission du paludisme autochtone depuis l'année 2003 constitue un acquis important dans le processus d'élimination enclenché depuis 1999. La phase de consolidation s'est poursuivie avec succès et a été couronnée par l'obtention par notre pays du certificat d'élimination du paludisme autochtone.

Ce certificat est une reconnaissance de la communauté internationale des efforts consentis par notre pays durant quatre décennies. Cependant, c'est pour le Maroc un engagement de poursuivre les efforts pour maintenir cet exploit voire le consolider en raison du risque de la réintroduction du paludisme vu la présence des facteurs de risque en particulier en milieu rural et autour des aéroports. De plus les journées mondiales de paludisme organisées chaque année ont permis de rappeler les responsables à renforcer de vigilance, notamment en raison des pluies excédentaires et des inondations qu'a connues notre

pays au cours des dernières années et qui ont été à l'origine de la multiplication du nombre de stagnations favorables à la prolifération du moustique vecteur du paludisme [204]. Aussi la prise en charge efficace et une surveillance des patients ayant contracté le paludisme au Maroc, en rapport avec leur séjour en zone impaludée est une mesure incontournable dans l'éviction de la transmission plasmodiale.



XIV. CONCLUSION

L'existence d'un grand nombre de cas de *P. knowlesi* à Bornéo malaisien et la région de la Malaisie péninsulaire et sa présence dans de nombreux autres pays d'Asie du Sud-Est indique son importance pour la santé publique. Les complications graves observées chez les patients soulignent la nécessité d'identifier ce parasite d'une façon précoce et plus précise, afin d'assurer une prise en charge rapide et efficace préservant les vies humaines. Alors les biologistes doivent penser à diagnostiquer le *P.knowlesi* chez les patients qui avaient séjourné dans des zones forestières du Sud-Est Asiatique en particulier lorsque l'examen sanguin révèle le *P.malariae* avec un taux de parasitémie élevé, avec la nécessité d'utilisation d'outils moléculaires plus spécifiques.

La chloroquine et les dérivés d'artémisinine ont été trouvés efficaces dans le traitement des patients infectés. Les autres anti-paludéens qui sont nouvellement développés doivent être testés pour leur efficacité contre cette espèce. Le manque de preuve pour la transmission Homme-moustique-Homme du *P.knowlesi* indique que c'est une espèce zoonotique qui peut être acquise par les humains dans les zones impaludées, en présence des macaques et des anophèles vecteurs infectés.

Jusqu'à présent, le Maroc n'a pas encore enregistré de cas dû au *P.knowlesi*, mais il reste un pays qui regroupe l'ensemble des facteurs de risque pour l'introduction de cette espèce meurtrière, surtout avec l'augmentation des déplacements de la population marocaine vers tous les pays du monde, impliquant les régions impaludées et avec la tendance à l'éco-tourisme.

En l'absence d'outils de diagnostic spécifiques et appropriés et des personnels formés pour identifier et différencier *P.knowlesi* des autres espèces connues, la réponse du biologiste doit être rendue en moins de 2 heures devant toute suspicion d'accès palustre. Le Maroc doit rester vigilant en prenant toutes les mesures visant à empêcher son introduction. Ainsi les voyageurs, les infectiologues, les biologistes et les centres de la médecine de voyage doivent être conscients de ce risque.



RESUME

Titre : *Plasmodium knowlesi* : la cinquième facette du paludisme chez l'Homme

Auteur : TALEBI latifa

Mots clés : Paludisme, *P.knowlesi*, *P.falciparum*, diagnostic, Maroc

P. knowlesi est la cinquième espèce plasmodiale pathogène pour l'Homme. Elle peut exposer le patient à un risque mortel. De ce fait elle doit bénéficier d'une attention toute particulière pour identifier l'agent causal et pour sensibiliser de son danger menaçant la vie humaine. Le *P.knowlesi* était considéré spécifique aux macaques, alors qu'aujourd'hui il est bien établi qu'il est capable d'infecter à la fois les macaques et les Hommes. Le groupe des moustiques *Leucosphyrus* est le principal vecteur de cette espèce et les deux principaux hôtes naturels sont : le macaque à longue queue (*Macaca fascicularis*) et le macaque à queue de cochon (*Macaca nemestrina*). Cette cinquième espèce plasmodiale est largement distribuée dans les zones forestières du Sud-Est Asiatique

P.knowlesi se caractérise par l'absence des formes hypnozoïtes et par un cycle de vie asexué de 24 heures seulement, ce qui provoque une augmentation rapide de la parasitémi. La détresse respiratoire, l'insuffisance rénale aiguë et le choc sont des complications graves les plus fréquemment observées. Les techniques du diagnostic couramment utilisées dans les laboratoires de la biologie médicale ne permettent pas l'identification de cette espèce. En effet, ses caractères morphologiques se confondant avec ceux de *P. falciparum* et *P. malariae*, rendent inadéquates les techniques de frottis mince et de goutte épaisse, alors que la biologie moléculaire et les techniques immunochromatographiques sont les plus sensibles et les plus spécifiques. Le traitement par la chloroquine est encore efficace et la quinine est indiquée en cas d'accès graves. Le Maroc enregistre chaque année une centaine de cas de paludisme importé, mais jusqu'à présent aucun cas qui serait dû à *P.knowlesi* n'a été signalé. Cependant notre pays réunit tous les facteurs favorisant pour la réémergence de cette parasitose mortelle, de ce fait la vigilance est de mise.

SUMMARY

Title : *Plasmodium knowlesi*: the fifth facet of malaria in humans

Author : TALEBI latifa

Key words : Malaria, *P.knowlesi*, *P.falciparum*, diagnosis, Morocco

P. knowlesi is the fifth human's malaria parasite. It may expose the patient to a mortal risk. Therefore it must expect to benefit from special attention to identify the causal agent and to raise awareness of the danger to human life. The *P.knowlesi* was considered specific to macaques, while today it is well established that it infects both macaques and humans. The Anopheles *Leucosphyrus* group mosquitoes are the principal vector of this case and the two principal natural hosts are : Long-tailed macaque (*Macaca fascicularis*) and the pig-tailed macaque (*Macaca nemestrina*). This fifth species of *Plasmodium* is widely distributed in forested areas of South East Asia.

P. knowlesi is characterized by the absence of forms hypnozoites and a short asexual life cycle of 24 hours, which causes a fast augmentation parasitaemia. The respiratory distress, acute renal failure and shock are the most serious complications frequently observed. Diagnostic techniques commonly used in laboratories of medical biology do not allow the identification of this species. Indeed, his morphological characteristics merging with those of *P. falciparum* and *P. malariae*; render inadequate the techniques of thin and thick blood smear, whereas the molecular biology and techniques of immunochromatographic are the most sensitive and specific. Treatment with chloroquine is still effective and quinine is indicated for patients with severe malaria. The Morocco records every year hundred cases of imported malaria, but so far no cases that would be due to *P. knowlesi* have been reported. But our country has all the favorable factors for the re-emergence of the deadly parasitic disease, therefore vigilance is required.

ملخص

العنوان: المتصورة النولسية: الوجه الخامس من الملاريا عند الانسان

الكاتبة: طلبي لطيفة

الكلمات الرئيسية: ملاريا، المتصورة النولسية، المتصورة المنجلية، تشخيص، المغرب

المتصورة النولسية هي النوع الخامس من الطفيليات المسببة للملاريا عند الإنسان، والتي قد تعرض المريض لخطر مميت. لذلك يجب الاهتمام بدراستها وذلك لتحديد العامل المسبب والتحسيس بخطورته على حياة الإنسان. سابقا كان هذا النوع يعتبر خاصا بقرود المكاك، بينما اليوم أصبح يعتبر قادرا على إصابة كل من قرود المكاك و الإنسان . البعوضة من مجموعة لكوسفيغوس هي الناقل الرئيسية للمتصورة النولسية والمضيفان الطبيعيان الرئيسيان هما: المكاك طويلة الذيل و المكاك بذيل/الخنزير. يوزع هذا النوع الخامس من الملاريا على نطاق واسع في المناطق الغابوية لجنوب شرق آسيا. تتميز المتصورة النولسية بعدم وجود أشكال الهاجعات وبدورة حياة لاجنسية قصيرة من 24 ساعة فقط، مما يسبب ارتفاعا سريعا في نسبة الطفيليات الدموية. تعتبر الضائقة التنفسية، الفشل الكلوي الحاد و الصدمات من المضاعفات الخطيرة الأكثر شيوعا.

تقنيات التشخيص المعتمد عليها في المختبرات البيولوجية الطبية لا تسمح بتحديد هذا النوع، نظرا لخصائصه المورفولوجية المتشابهة مع الخصائص المورفولوجية للمتصورة المنجلية و الوبالية، مما جعل من تقنيات الطبقة الرقيقة و القطرة السمكية غير كافية لتحديد هذا النوع، بينما البيولوجيا الجزيئية و التقنيات المناعية هي الأكثر حساسية ونوعية. يبقى العلاج بالكلوروكين فعالا، أما الكينين فيستعمل عند المرضى الذين يعانون من الملاريا الحادة. يسجل المغرب سنويا المئات من حالات الملاريا المستوردة لكن حتى الآن لم يتم الإبلاغ عن أي حالة يمكن أن تكون راجعة إلى المتصورة النولسية ، ولكن بلدنا لديه كافة العوامل المساهمة في عودة ظهور هذا المرض الطفيلي المميت، وبالتالي فاليقظة مطلوبة.



BIBLIOGRAPHIE

1. DELARUE, A., Paludisme : physiopathologie, Mécanismes de résistances à la Chloroquine et Nouvelles Molécules d'intérêt pharmaceutique. 2009 université de Picardie Jules Verne faculté de pharmacie p. 103.
2. WHO, World Malaria Report ed. W.L.C.-i.-P. Data. 2013. 255.
3. Bouchaud, P.-H.C., Michel Cot, Sophie Odermatt-Biays, Médecine des voyages Médecine tropicale 2 émé édition ABREGES. 2009, france. 303.
4. Kim-Sung Lee¹, P.C.S.D., Siti Khatijah Zakaria¹, Asmad Matusop², Roynston A. Julin¹, David J. and J.C.-S. Conway^{3, 4}, Balbir Singh, *Plasmodium knowlesi* : Reservoir Hosts and Tracking the Emergence in Humans and Macaques. PLoS Pathogens, 2011. 7(4): p. 11.
5. Xiang Ting Goh¹, Y.A.L., Indra Vythilingam¹, Ching Hoong Chew², Ping Chin Lee³, Romano Ngui¹, and N.J.Y. Tian Chye Tan¹, Veeranoot Nissapatorn¹ and Kek Heng Chua², Increased detection of *Plasmodium knowlesi* in Sandakan division, Sabah as revealed by PlasmoNex™. Malaria journal, 2013: p. 14.
6. Satoru Kawai, M.H., Kosuke Haruki , Kazuyuki Tanabe , Yuichi Chigusa Cross-reactivity in rapid diagnostic tests between human malaria and zoonotic simian malaria parasite *Plasmodium knowlesi* infections. Parasitology International, 2009.
7. PILLY, E., supplément des Maladies Infectieuses et Tropicales 2014 3ème édition. 2014. 287.
8. E.PILLY, Maladies infectieuses et tropicales (23ème édition), ed. C.A. PLUS. 2013. 948.
9. Wikipedia, *Plasmodium knowlesi*.
https://en.wikipedia.org/wiki/Plasmodium_knowlesi#Epidemiology, in Wikipedia. 2015.
10. JACQUES, M., Nouveaux cas de paludisme à *Plasmodium knowlesi* en Malaisie (Sarawak), in Vidal. 2015.
11. C.Buffaz, E.H., Y.Jourdy, C.Louvrier,A. Marijon Parasitologie et Mycologie Medicale en Pratique 2014. 249.

12. Lee, K.-S., *Plasmodium knowlesi* from archival blood films: Further evidence that human infections are widely distributed and not newly emergent in Malaysian Borneo. *International journal for Parasitology*, 2009: p. 1125–1128.
13. Cox-Singh J, D.T., Lee KS, Shamsul SSG, Matusop A, et al, *Plasmodium knowlesi* malaria in humans is widely distributed and potentially life threatening. *Clin Infect* 2008: p. 165-171
14. F. Anderios , A.N., I. Vythilingam, In vivo study of human *Plasmodium knowlesi* in *Macaca fascicularis*. *Experimental Parasitology*, 2010: p. 181-189.
15. Franchini, G., Su di un plasmodio pigmentato di una scimmia. *Archivio Italiano di Scienze Mediche Coloniali* 1927: p. 187-190.
16. Spinello Antinori, L.G., Laura Milazzo, Mario Corbellino, *Plasmodium knowlesi*: The emerging zoonotic malaria parasite. *Acta Tropica*, 2013: p. 191-201.
17. Coatney, G.R., Collins, W.E., Warren, M., Contacos, P.G *Plasmodium knowlesi*: The Primate Malaria. US Government Printing Office, Washington, DC, 1971b: p. 317–331.
18. Aikawa, M., Miller, L.H., Johnson, J., Rabbege, J, Erythrocyte entry by malaria parasites. *Journal of Cell Biology* 1978: p. 72–82.
19. Antinori, S., Milazzo, L., Corbellino, M , *Plasmodium knowlesi*: an overlooked Italian discovery. *Clinical Infectious Diseases*, 2011(849): p. 53.
20. Napier, I.E., Campbell, H.G.M., Observations on a *Plasmodium* infection which causes haemoglobinuria in certain species of monkey. *Indian Medical Gazette* 1932: p. 151–160.
21. Knowles, R., Das Gupta, B.M, A study of monkey-malaria and its experimental transmission to man. *Indian Medical Gazette* 1932: p. 301-320.
22. Sinton, J.A., Mulligan, H.W, A critical review of the literature relating to the identification of the malaria parasites recorded from monkeys of the families Cercopithecidae and Colobidae. *Records of Malaria Survey of India III*, 1932: p. 357-380.
23. Sinton, J.A., Mulligan, H.W, A critical review of the literature relating to the identification of the malaria parasites recorded from monkeys of the families

- Cercopithecidae and Colobidae. Records of Malaria Survey of India III, 1933: p. 381–443.
24. Ciuca, M., Tomescu, P., Badenski, G., Badenski, A., Ionescu, P., Terentianu, M., Contribution à l'étude de la virulence du *Pl. knowlesi* chez l'homme. Caractères de la maladie et biologie du parasite. Archives Roumaines de Pathologie Experimentale et de Microbiologie, 1937: p. 5–28.
 25. Baird, J.K., Malaria zoonoses. Travel Medicine and Infectious Diseases, 2009: p. 269–277.
 26. Coatney, G.R., Collins, W.E., Warren, M., Contacos, P.G., *Plasmodium cynomolgi*: The Primate Malaria. US Government Printing Office, Washington, 1971a: p. 69–95.
 27. Chin, W., Contacos, P.G., Coatney, G.R., Kimball, H.R., A naturally acquired quotidian-type malaria in man transferable to monkeys. Science, 1965: p. 149-865.
 28. Warren, M., Cheong, W.H., Fredericks, H.K., Coatney, G.R., Cycles of jungle malaria in West Malaysia. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 1970: p. 383–393.
 29. Singh, A.P., Ozwara, H., Kocken, C.H.M., Puri, S.K., Thomas, A.W., Chitnis, C.E, Targeted deletion of *Plasmodium knowlesi* Duffy binding protein confirms its role in junction formation during invasion. Molecular Microbiology, 2005.
 30. Miller, R.H., Mason, S.J., Dvorak, J.A., McGinnis, M.H., Rothman, I.K Erythrocyte receptors for *Plasmodium knowlesi* malaria: the Duffy blood group determinants. Science I, 1975 p. 55–63.
 31. Miller, R.H., Mason, S.J., Clyde, D.F., McGinnis, M.H, The resistance factor to *Plasmodium vivax* in blacks: Duffy blood group genotype, FyFy New England Journal of Medicine 1976 p. 302–304.
 32. Butcher, G.A., Cohen, S., Antigenic variation and protective immunity in *Plasmodium knowlesi* malaria. Immunology 23, 1972 p. 503–521.
 33. Brown, K.N., Brown, I.N, Immunity to malaria antigenic variation in chronic infections of *Plasmodium knowlesi*. Nature 208, 1965: p. 1286–1288.

34. Singh, B., Sung, L.K., Matusop, A., Radhakrishnan, A., Shamsul, S.S., Cox-Singh, J., et al., A large focus of naturally acquired *Plasmodium knowlesi* infections in human beings. *Lancet* 363, 2004: p. 1017–1024.
35. Jongwutiwes, S., Buppan, P., Kosuvin, R., Seethmachai, S., Pattanawong, U., and J. Sirichaisinthop, et al., *Plasmodium knowlesi* malaria in humans and macaques, Thailand. *Emerging Infectious Diseases* 17, 2011: p. 1799–1806.
36. Pain A., B.U., Berry A.E., Mungall K., Finn R.D., Jackson A.P., et al., , The genome of the simian and human malaria parasite *Plasmodium knowlesi*. *Nature*, 2008: p. 799–803.
37. OTORO, B.V., Etude de la prévalence de *Plasmodium sp* et *Trypanosoma sp* au sein des communautés d'hotes de trois sites de conservation de primates non humains au Gabon 2014, Université Cheikh Anta Diop de Dakar. p. 69.
38. Picard, C., Maladies infectieuses maladies tropicales. Guide de survie de l'externe, ed. V. GREGO. 2011. 189.
39. Berry, A., *Plasmodium knowlesi*. La 5ème espèce de *Plasmodium* humain? Service de Parasitologie-Mycologie CHU Toulouse
40. Stewart Turleya, S.K., Lawrence W. Bergmanb, Wim G.J. Hol, The compact conformation of the *Plasmodium knowlesi* myosin tail interacting protein MTIP in complex with the C-terminal helix of myosin A. *ELSEVIER*, 2013: p. 56-59.
41. Georgina N. Montagna, K.M., Carlos A. Buscaglia. *Plasmodium* sporozoite motility: an update. 2012 January 1, 2012].
42. Sébastien Besteiro, J.-F.D.a.M.L., The moving junction of apicomplexan parasites: a key structure for invasion. *Cellular Microbiology*, 2011: p. 797–805.
43. Bosch J, T.S., Daly TM, Bogh SM, Villasmil ML, Roach C, et al., Structure of the MTIP–MyoA complex, a key component of the malaria parasite invasion motor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2006.

44. Wharton, R.H., Eyles, D.E., Anopheles hackeri, a vector of *Plasmodium knowlesi* in Malaysia. *Science* 134, 1961: p. 279–280.
45. Chin, W., Contacos, P.G., Collins, W.E., Jeter, M.H., Alpert, E., Experimental mosquito-transmission of *Plasmodium knowlesi* to man and monkey. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 17, 1968: p. 355–358.
46. Vythilingam, I., Tan, C.H., Asmad, M., Chan, S.T., Lee, K.S., Singh, B., Natural transmission of *Plasmodium knowlesi* to humans by *Anopheles latens* in Sarawak, Malaysia. *Transactions of Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 100, 2006: p. 1087–1088.
47. Tan, C.H., Vythilingam, I., Matusop, A., Chan, S.T., Singh, B., Bionomics of *Anopheles latens* in Kapit, Sarawak, Malaysian Borneo in relation to the transmission of zoonotic simian malaria parasite *Plasmodium knowlesi*. *Malaria Journal*, 2008: p. 7, 52.
48. Vythilingam, I., *Plasmodium knowlesi* in humans: a review on the role of its vectors in Malaysia. *Tropical Biomedicine* 27, 2010: p. 1–12.
49. Vythilingam, I., Noorazian, Y.M., Huat, T.C., Jiram, A.I., Yusri, Y.M., Azahari, A.H., et al., *Plasmodium knowlesi* in humans, macaques and mosquitoes in Peninsular Malaysia. *Parasites and Vectors* 1, 2008: p. 26.
50. Sallum, M.A.M., Peyton, E.L., Harrison, B.A., Wilkerson, R.C., Revision of the *Leucosphyrus* group of *Anopheles* (Cellia) (Diptera, Culicidae). *Revista Brasileira de Entomologia* 49 (Suppl. 1), 2005: p. 1–152.
51. Nakazawa, S., Marchand, R.M., Quang, N.T., Culleton, R., Manh, N.D., Maeno Y., *Anopheles dirus* co-infection with human and monkey malaria parasites in Vietnam. *International Journal of Parasitology* 39, 2009: p. 1533–1537.
52. Marchand, R.P., Culleton, R., Maeno, Y., Quang, N.T., Nakazawa, S., Coinfections of *Plasmodium knowlesi*, *P. falciparum*, and *P. vivax* among humans and *Anopheles dirus* mosquitoes, Southern Vietnam. *Emerging Infectious Diseases* 17, 2011: p. 1232–1239.

53. Jeslyn, W.P., Huat, T.C., Vernon, L., Irene, L.M., Sung, L.K., Jarrod, L.P., et al., Molecular epidemiological investigation of *Plasmodium knowlesi* in humans and macaques in Singapore. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* 11, 2011: p. 131–135.
54. médicales-ANOPHEL., A.f.d.e.d.p.e.m., Connaissances et pratique: Parasitoses et mycoses des régions tempérées et tropicales 2 éme edition. Les référentiels des Collèges ed. E. MASSON. 2014.
55. Sallum, M.A.M., Peyton, E.L., Harrison, B.A., and Wilkerson, R.C., Revision of the *Leucosphyrus* group of Anopheles (cellia)(diptera, culicidae). *Rev. Bras Entomol.* 49, 2005: p. 1–152.
56. Vythilingam, I., *Plasmodium knowlesi* and *Wuchereria bancrofti*: their vectors and challenges for the future. *frontiers in physiology*, 2012. **3**: p. 9.
57. SONDOSS, D.G.M., Paludisme, C.D.C.D.M.I.M.-P. 1QA, Editor. 2012, Laboratoire de Parasitologie, CHU Farhat Hached. Faculté de Médecine, Sousse.
58. F. Pages, E.O.-P., V. Corbel, Vecteurs du paludisme : biologie, diversité, contrôle et protection individuelle. *Médecine et maladies infectieuses* 37, 2007: p. 153–161.
59. vololonia, D.A. Bioécologie des anophèles et capacité vectorielle. Présentation de la 4e édition du Cours international « Atelier Paludisme ». 2013.
60. 2011, I.M.P., Infectin humaine à *Plasmodium knowlesi*. 2011.
61. Fooden, J., Comparative review of fascicularis-group species of macaques (Primates: Macaca). *Fieldiana Zoology* 107, 2006: p. 1–43.
62. https://www.google.com/search?q=Macaque+crabier&es_sm=93&tbm=isch&tbo=u&source=univ&sa=X&ved=0CHYQiR5qFQoTCOmuyKaMI8gCFcbYGgodWlQHYg&biw=1366&bih=667.
63. <https://www.google.com/search?q=macaque+%C3%A0+queue+de+cochon&spv=2&biw=1366&bih=667&tbm=isch&tbo=u&source=univ&sa=X&ved=0CBsQsARqFQoTCKjamPiPl8gCFYnVGgodc1cMLw>.
64. Wikipédia, http://fr.wikipedia.org/wiki/Macaque_crabier#.C3.89cologie_et_comportement

http://fr.wikipedia.org/wiki/Macaca_nemestrina, in Wikipédia, Wikipédia, Editor. 2014-2015.

65. Natsuko Imai¹, M.T.W., Azra C. Ghani, Chris J. Drakeley, Transmission and Control of *Plasmodium knowlesi*: A Mathematical Modelling Study. PLOS Neglected Tropical Diseases, 2014. **8**(7): p. 9.
66. Subbarao, S.K., *Plasmodium knowlesi*: from macaque monkeys to humans in South-east Asia and the risk of its spread in India. J Parasit Dis, 2011. **35**(2): p. 87–93.
67. Sergio Sabbatani, S.F., Roberto Manfredi, , The emerging of the fifth malaria parasite (*Plasmodium knowlesi*). A public health concern? J Infect Dis, 2010. **14**(3): p. 299-309.
68. Ramasamy, R., Zoonotic malaria – global overview and research and policy needs. frontiers in public health, 2014. **2**: p. 7.
69. Christof Grüring, R.W.M., Caeul Lim, Anthony A. Holder, Michael J. Blackman and Manoj T. Duraisingh Human red blood cell-adapted *Plasmodium knowlesi* parasites: a new model system for malaria research. cellular microbiology, 2014. **16**(5).
70. Coatney, G.R., Collins, W.E., McWilson, W., and Contacos, P.G. , The Primate Malaria. Bethesda, MD: US Department of Health, Education and Welfare., 1971.
71. Moon, R.W., Hall, J., Rangkuti, F., Ho, Y.S., Almond, N., Mitchell, G.H., et al. Proc Natl Acad Sci, Adaptation of the genetically tractable malaria pathogen *Plasmodium knowlesi* to continuous culture in human erythrocytes. PNAS, 2013: p. 531–536.
72. Zeeman, A.-M., Voorberg-van der Wel, A., and Kocken, C.H.M. , Ex vivo culture of *Plasmodium vivax* and *Plasmodium cynomolgi* and in vitro culture of *Plasmodium knowlesi* blood stages. Methods Mol Biol 923, 2013: p. 35–49.
73. Janse, C.J., Ramesar, J., van den Berg, F.M., and Mons, B., *Plasmodium berghei* in vivo generation and selection of karyotype mutants and non-gametocyte producer mutants. Exp Parasitol 74, 1992: p. 1–10.
74. P. Ambroise-Thomas, P.C., H. Felix, J. Mouchet., Le paludisme. Elsevier Masson Consulte - Pédiatrie - Maladies infectieuses, 1984. **4**: p. 320-420.
75. F. Gambier, Mise au point et évaluation de techniques de Biologie Moléculaire dans le diagnostic des *Plasmodium* humains. Henri Poincare - Nancy I, 2003.

76. Olivier, O., Developpement d'une technique de PCR en temps réel pour le diagnostic d'espèce de *Plasmodium knowlesi* 2010, UNIVERSITÉ Henri Poincaré, NANCY 1 FACULTÉ DE PHARMACIE. Année universitaire 2009-2010. p. 119.
77. P.C. Garnham, R.L., W. Cooper., The tissue stages and sporogony of *Plasmodium knowlesi*. Trans R Soc Trop Med Hyg, 1957. **51**: p. 384-396.
78. W.A. Krotoski, W.E.C., R.S. Bray, P.C. Garnham, F.B. Cogswell, R.W. Gwadz, R. Killick-Kendrick, R. Wolf, R. Sinden, L.C. Koontz, P.S. Stanfill., Demonstration of hypnozoites in sporozoite-transmitted *Plasmodium vivax* infection. Am J Trop Med Hyg 1982. **31**: p. 1291-1293.
79. W.A. Krotoski, W.E.C., Failure to detect hypnozoites in hepatic tissue containing exoerythrocytic schizonts of *Plasmodium knowlesi*. Am J Trop Med Hyg, 1982. **31**: p. 854-856.
80. F.B. Cogswell, The hypnozoite and relapse in primate malaria. Clin Microbiol Rev, 1992. **5**: p. 26-35.
81. L.H. Miller, S.J.M., J.A. Dvorak, M.H. McGinniss, I.K. Rothman., Erythrocyte receptors for (*Plasmodium knowlesi*) malaria: Duffy blood group determinants. Science, 1975. **189**: p. 561-563.
82. C.E. Chitnis, A.C., R. Horuk, A.O. Pogo, L.H. Miller., The domain on the Duffy blood group antigen for binding *Plasmodium vivax* and *P. knowlesi* malarial parasites to erythrocytes. J Exp Med 1996. **184**: p. 1531-1536.
83. <http://www.cdc.gov/malaria/about/biology/>. Malaria LifeCycle. February 8, 2010.
84. Mattia Muller , P.S., *Plasmodium knowlesi* in travellers, update 2014. International Journal of Infectious Diseases 22, 2014: p. 55–64.
85. Ruhani Yusof, Y.L.L., Rohela Mahmud, Mun Yik Fong, Jenarun Jelip, Hie Ung Ngian, Sahlawati Mustakim, Hani Mat Hussin, Noradilah Marzuki and Marlindawati Mohd Ali, High proportion of knowlesi malaria in recent malaria cases in Malaysia. Malaria Journal, 2014.
86. Jonas Ehrhardt, A.T., Peter Gottfried Kremsner and Matthias Frank, *Plasmodium knowlesi* and HIV co-infection in a German traveller to Thailand. Malaria Journal, 2013.

87. Orth H, J.B., Holtfreter MC, Kocheril SJ, Mallach S, MacKenzie C, Müller-Stöver I, Henrich B, Imwong M, White NJ, Häussinger D, Richter J., *Plasmodium knowlesi* infection imported to Germany, January 2013. Euro Surveill, 2013.
88. Dennis ED, M.G., Butcher GA, Cohen S, In vitro isolation of *Plasmodium knowlesi* merozoites using polycarbonate sieves. . Parasitology, 1975: p. 475–481.
89. Dvorak JA, M.L., Whitehouse WC, Shiroishi T. , Invasion of erythrocytes by malaria merozoites. Science, 1975: p. 748–750.
90. Robert W. Moona, J.H., Farania Rangkutip, Yung Shwen Hoc, Neil Almond, Graham H. Mitchell, Arnab Painc, Anthony A. Holdera, and Michael J. Blackmana,, Adaptation of the genetically tractable malaria pathogen *Plasmodium knowlesi* to continuous culture in human erythrocytes. PNAS, 2013. **110**: p. 531–536.
91. GA, B., Factors affecting the in vitro culture of *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium knowlesi*. Bull World Health Organ 57(Suppl 1), 1979: p. 17–26.
92. Kocken CHM, e.a., *Plasmodium knowlesi* provides a rapid in vitro and in vivo transfection system that enables double-crossover gene knockout studies. Infect Immun, 2002: p. 655–660.
93. van der Wel AM, e.a., Transfection of the primate malaria parasite *Plasmodium knowlesi* using entirely heterologous constructs. J Exp Med, 1997: p. 1499–1503.
94. Kocken CHM, Z.A.-M., Voorberg-van der Wel A, Thomas AW., Transgenic *Plasmodium knowlesi*: Relieving a bottleneck in malaria research? . Trends Parasitol, 2009. **25**(8): p. 370–374.
95. Kawase O, N.Y., Bannai H, Igarashi M, Matsuo T, Xuan X:, Characterization of a novel thrombospondin-related protein in *Toxoplasma gondii*. Parasitol Int 2010: p. 211–216.
96. Vanitha Palaeya, Y.L.L., Rohela Mahmud, Yeng Chen and Mun Yik Fong, Cloning, expression, and immunocharacterization of surface protein containing an altered thrombospondin repeat domain (SPATR) from *Plasmodium knowlesi*. Malaria journal, 2013: p. 7.

97. Morahan BJ, W.L., Coppel RL: , No TRAP, no invasion. Trends Parasitol, 2009: p. 77–84.
98. Mahajan B, J.D., Chattopadhyay R, Nagarkatti R, Zheng H, Majam V, Weiss W, Kumar S, Rathore D., Identification, cloning, expression, and characterization of the gene for *Plasmodium knowlesi* surface protein containing an altered thrombospondin repeat domain. Infect Immun, 2005: p. 5402–5409.
99. Chattopadhyay R, R.D., Fujioka H, Kumar S, de la Vega P, Haynes D, Moch K, Fryauff D, Wang R, Carucci DJ, Hoffman SL., PfSPATR, a *Plasmodium falciparum* protein containing an altered thrombospondin type I repeat domain is expressed at several stages of the parasite life cycle and is the target of inhibitory antibodies. J Biol Chem 2003: p. 25977–25981.
100. Kappe SH, G.M., Brown SM, Ross J, Matuschewski K, Ribeiro JM, Adams JH, Quackenbush J, Cho J, Carucci DJ, Hoffman SL, Nussenzweig V., Exploring the transcriptome of the malaria sporozoite stage. Proc Natl Acad Sci USA, 2001: p. 9895–9900.
101. Brewster DR, K.D., White NJ, Neurological sequelae of cerebral malaria in children. Lancet 363, 1990: p. 1039-1043.
102. Mishra SK, W.L., Advances in the management of cerebral malaria in adults. Curr Opin Neurol, 2009: p. 302-307.
103. Farrah A Fatih, A.S., Atique Ahmed, Lu Chan Woon, Alister G Craig, Balbir Singh, Sanjeev Krishna and Janet Cox-Singh, Cytoadherence and virulence - the case of *Plasmodium knowlesi* malaria Malaria journal, 2012: p. 6.
104. Aikawa M, I.M., Barnwell JW, Taylor D, Oo MM, Howard RJ: 1990, 43:30-37., The pathology of human cerebral malaria. Am J Trop Med Hyg, 1990.
105. Udomsangpetch R, P.B., Krishna S, Angus B, Pukrittayakamee S, Bates I, Suputtamongkol Y, Kyle DE, White NJ Antimalarial drugs reduce cytoadherence and rosetting *Plasmodium falciparum*. J Infect Dis 1996: p. 691-698.
106. Su XZ, H.V., Wertheimer SP, Guinet F, Herrfeldt JA, Peterson DS, Ravetch JA, Wellems TE: , The large diverse gene family var encodes proteins involved in

- cytoadherence and antigenic variation of *Plasmodium falciparum*-infected erythrocytes. . Cellular Microbiology, 1995: p. 89-100.
107. Berendt AR, S.D., Tansey J, Newbold CI, Marsh K, Intercellular adhesion molecule-1 is an endothelial cell adhesion receptor for *Plasmodium falciparum*. Nature, 1989: p. 57-59.
 108. Turner GD, M.H., Jones M, Davis TME, Looareesuwan S, Buley ID, Gatter KC, Newbold CI, Pukritayakamee S, Nagachinta B, White NJ, Berendt AR: . , An immunohistochemical study of the pathology of fatal malaria. Evidence for widespread endothelial activation and a potential role for intercellular adhesion molecule-1 in cerebral sequestration. Am J Pathol, 1994: p. 1057-1069.
 109. McCormick CJ, C.A., Roberts D, Newbold CI, Berendt AR:. Intercellular adhesion molecule-1 and CD36 synergize to mediate adherence of *Plasmodium falciparum*-infected erythrocytes to cultured human microvascular endothelial cells. J Clin Invest 1997: p. 2521-2529.
 110. Udomsangpetch R, T.B., Looareesuwan S, White NJ, Elliott JF, Ho M, Receptor specificity of clinical *Plasmodium falciparum* is olates: non adherence to cell-bound E-selectin and vascular cell adhesion molecule-1. Blood, 1996: p. 2754-2760.
 111. William T, M.J., Rajahram G, Chan L, Ma G, Donaldson S, Khoo S, Frederick C, Jelip J, Anstey NM, Yeo TW., Severe *Plasmodium knowlesi* Malaria in a Tertiary Care Hospital, Sabah, Malaysia. Emerg Infect Dis, 2011: p. 1248-1255.
 112. Cox-Singh J, H.J., Lucas SB, Divis PC, Zulkarnaen M, Chandran P, Wong KT, Adem P, Zaki SR, Singh B, Krishna S., Severe malaria - a case of fatal *Plasmodium knowlesi* infection with post-mortem findings: a case report. Malaria journal, 2010. **9**(10).
 113. Howard RJ, B.J., Kao V., Antigenic variation of *Plasmodium knowlesi* malaria: identification of the variant antigen on infected erythrocytes. . Proc Natl Acad Sci USA 1983: p. 4129-4133.
 114. al-Khedery B, B.J., Galinski MR, Antigenic variation in malaria: a 3' genomic alteration associated with the expression of a P. knowlesi variant antigen. Mol Cell, 1999: p. 131-141.

115. Korir CC, G.M., Proteomic studies of *Plasmodium knowlesi* SICA variant antigens demonstrate their relationship with *P. falciparum* EMP1. *Infect Genet Evol*, 2006: p. 75-79.
116. Jr, M.D., Rethinking cerebral malaria pathology. *Curr Opin Infect Dis*, 2010: p. 456-463.
117. Ochola LB, S.B., Ocholla H, Nkya S, Kimani EN, Williams TN, Makale JO, Liljander A, Urban BC, Bull PC, Szeszak T, Marsh K, Craig AG, Specific receptor usage in *Plasmodium falciparum* cytoadherence is associated with disease outcome. *PLoS One*, 2011.
118. Janes JH, W.C., Levin-Edens E, Vigan-Womas I, Guillotte M, Melcher M, Mercereau-Puijalon O, Smith JD, Investigating the host binding signature on the *Plasmodium falciparum* PfEMP1 protein family. *PLoS Pathog*, 2011.
119. Lavstsen T, M.P., Hermsen CC, Salanti A, Jensen AT, Sauerwein R, Hviid L, Theander TG, Staalsoe T, Expression of *Plasmodium falciparum* erythrocyte membrane protein 1 in experimentally infected humans. *Malar Journal*, 2005. **4**(21).
120. Wu Y, S.T., Stins M, Craig AG, Amplification of *P. falciparum* cytoadherence through induction of a pro-adhesive state in host endothelium. *PLoS One*, 2011.
121. Newbold C, W.P., Black G, Berendt A, Craig A, Snow B, Msobo M, Peshu N, Marsh K, Receptor-specific adhesion and clinical disease in *Plasmodium falciparum*. *Am J Trop Med Hyg*, 1997: p. 389-398.
122. Fei Wen Cheong, M.Y.F., Yee Ling Lau and Rohela Mahmud, Immunogenicity of bacterial-expressed recombinant *Plasmodium knowlesi* merozoite surface protein-142 (MSP-142). *Malaria journal*, 2013: p. 9.
123. Quin SJ, L.J., Different regions of the malaria merozoite surface protein 1 of *Plasmodium chabaudi* elicit distinct T-cell and antibody isotype responses. *Infect Immun*, 2001. **69**: p. 2245–2251.
124. Tian JH, K.S., Kaslow DC, Miller LH, Comparison of protection induced by immunization with recombinant proteins from different regions of merozoite surface protein 1 of *Plasmodium yoelii*. *Infect Immun*, 1997. **65**: p. 3032–3036.

125. Bergmann-Leitner ES, D.E., Angov E, MSP-1p42-specific antibodies affect growth and development of intra-erythrocytic parasites of *Plasmodium falciparum*. *Malar J* 2009. **8**: p. 183.
126. Cox-Singh J, S.B., Daneshvar C, Planche T, Parker-Williams J, Krishna S, Anti-inflammatory cytokines predominate in acute human *Plasmodium knowlesi* infections. *PLoS One*, 2011. **6**.
127. Eugenia Lo, D.Y., Daibin Zhong, Endalew Zemene, Teshome Degefa, Kora Tushune, Margaret Ha, Ming-Chieh Lee, Anthony A James and Guiyun Yan, Molecular epidemiology of *Plasmodium vivax* and *Plasmodium falciparum* malaria among Duffy-positive and Duffy-negative populations in Ethiopia. *Malaria journal*, 2015: p. 10.
128. Jeremy Ryan De Silva, Y.L.L., Mun Yik Fong, Genotyping of the Duffy Blood Group among *Plasmodium knowlesi*-Infected Patients in Malaysia. *PLoS ONE*, 2014. **9(9)**: p. 4.
129. Ikin EW, M.A., Pettenkofer HJ, Blumenthal G, Discovery of the expected haemagglutinin, anti-Fyb. *Nature*, 1951: p. 1077–1078.
130. Chaudhuri A, P.J., Zbrzezna V, Pogo AO The coding sequence of Duffy blood group gene in humans and simians: restriction fragment length polymorphism, antibody and malarial parasite specificities, and expression in nonerythroid tissues in Duffy-negative individuals. *Blood*, 1995: p. 615–621.
131. Mathew S, C.A., Murty VV, Pogo AO Confirmation of Duffy blood group antigen locus (FY) at 1q22–.q23 by fluorescence in situ hybridization. *Cytogenet Cell Genet*, 1994: p. 68.
132. Iwamoto S, O.T., Kajii E, Ikemoto S 85 and 626., Genomic organization of the glycoprotein D gene: Duffy blood group Fya/Fyb alloantigen system is associated with a polymorphism at the 44-amino acid residue. *Blood*, 1995: p. 622-626.
133. Yazdanbakhsh KRM, S.J., Kosower N, Parasol N, Chaudhuri A, et al., Molecular mechanisms that lead to reduced expression of Duffy antigens. *Transfusion*, 2000: p. 310–320.

134. Olsson ML, H.C., Avent ND, Akesson IE, Green CA, et al. , A clinically applicable method for determining the three major alleles at the Duffy (FY) blood group locus using polymerase chain reaction with allele-specific primers. *Transfusion*, 1998: p. 168–173.
135. Shimizu YKM, S.-I.W., Duangchang P, Ishida T, Serotyping of Duffy blood group in several Thai ethnic groups Southeast Asian. *J Trop Med Public Health* 1997: p. 32–35.
136. Shimizu YAH, S.A., Tiwawech D, Settheetham-Ishida W, Kayame OW, et al, Sero- and molecular typing of Duffy blood group in Southeast Asians and Oceanians. *Human Biology*, 2000: p. 511–518.
137. Miller LH, M.S., Dvorak JA, McGinniss MH, Rothman IK, Erythrocyte receptors for (*Plasmodium knowlesi*) malaria: Duffy blood group determinants. *Science*, 1975: p. 561–563.
138. Moulds JM, H.S., Wells TD, DNA analysis of Duffy genes in American blacks. *Vox Sang* 1998: p. 248–252.
139. Cavasini CE, d.M.L., Couto AA, Couto VS, Gollino Y, et al., Duffy blood group gene polymorphisms among malaria vivax patients in four areas of the Brazilian Amazon region. *Malar J*, 2007: p. 167.
140. King CL, A.J., Xianli J, Grimberg BT, McHenry AM, et al., Fy(a)/Fy(b) antigen polymorphism in human erythrocyte Duffy antigen affects susceptibility to *Plasmodium vivax* malaria. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011: p. 20113–20118.
141. Howes RE, P.A., Piel FB, Nyangiri OA, Kabaria CW, et al., The global distribution of the Duffy blood group. *Nat Commun*, 2011: p. 266.
142. Lewis GE Jr, M.L., Ibrahim L, Wong PW, McGinniss M, et al., Duffy phenotypes in Malaysian populations: correction of previous unusual findings. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 1988: p. 509–510.
143. Daneshwar, C., Davis, T.M.E., Cox-Singh, J., Rafa'ee, M., Zakaria, S., Divis, P., et al., Clinical and laboratory features of human *Plasmodium knowlesi* infection. *Clinical Infectious Diseases* 2009: p. 852–860.
144. (OMS), O.M.d.I.S., Directives pour le traitement du paludisme. 2006.

145. A. Kantele, H.M., I. Felger, D. Muller, T.S. Jokiranta,, Monkey malaria in a European traveler returning from Malaysia. *Malar J*, 2008. **14**: p. 1434-1436.
146. J. Luchavez, F.E., P. Curameng, R. Espina, D. Bell, P. Chiodini, D. Nolder, C. Sutherland, K.S. Lee, B. Singh,, Human Infections with *Plasmodium knowlesi*, the Philippines. *Emerg Infect Dis*, 2008. **14**: p. 811-813.
147. O.T. Ng, E.E.O., C.C. Lee, P.J. Lee, L.C. Ng, S.W. Pei, T.M. Tu, J.P. Loh, Y.S. Leo, Naturally acquired human *Plasmodium knowlesi* infection, Singapore. *Emerg Infect Dis*, 2008. **14**: p. 814-816.
148. Ulf Bronner, P.C.D., Anna Färnert and Balbir Singh, Swedish traveller with *Plasmodium knowlesi* malaria after visiting Malaysian Borneo. *malaria journal*, 2009: p. 1-5.
149. OMS, *Prise en charge de paludisme grave* G.p.é. édition, Editor.
150. Danis, M., *Prise en charge et prévention du paludisme d'importation : recommandations pour la pratique clinique*, S.d.P.I.d.L.F. (SPILF), Editor. 2008.
151. Bruneel, F., Hocqueloux, L., Alberti, C., Wolff, M., Chevret, S., Bédos, J.P., et al, The clinical spectrum of severe imported falciparum malaria in the intensive care unit. Report of 188 cases in adults. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 167, 2003: p. 684–689.
152. Schwake, L., Steit, J.P., Edler, L., Encke, J., Stremmel, W., Junghans, T., Early treatment of imported falciparum malaria in the intensive care unit setting: an 8-year single-center retrospective study. *Critical Care* 12, R22, 2008.
153. Timothy William, F., Jayaram Menon, FRCP, A Review of Malaria Research in Malaysia. *Med J Malaysia*, 2014. **69**: p. 83-87.
154. Van Rooyen, C.E., Pile, G.R., Observations on infection by *Plasmodium knowlesi* (ape malaria) in the treatment of general paralysis of the insane. *British Medical Journal* 2, 1935: p. 662–666.
155. Ciuca, M., Chelarescu, M., Sofletea, A., Costantineascu, P., Teriteanu, E., Contribution expérimentale a l'étude de l'immunité dans le paludisme. Edition de l'Academie de la Republique Populaire. Roumaine,, 1955: p. 1–108.

156. Anwar Hoosen, M.T.M.S., *Plasmodium knowlesi* in a traveller returning to New Zealand. *Travel Medicine and Infectious Diseases*, 2011. **9**: p. 144e148.
157. Michael Seilmaier, W.H., Marcus Beissner, Thomas Fenzl, Cathrine Haller, Wolfgang Guggemos, Jan Hesse, Adinda Harle, Gisela Bretzel, Stefan Sack, Clemens Wendtner, Thomas Löscher and Nicole Berens-Riha, Severe *Plasmodium knowlesi* infection with multi-organ failure imported to Germany from Thailand/Myanmar. *Malaria journal*, 2014: p. 5.
158. Anu Kantele, a.T.S.J., Review of Cases With the Emerging Fifth Human Malaria Parasite, *Plasmodium knowlesi*. *EMERGING INFECTIONS*, 2014: p. 2014.
159. Eric caumes, M.D., Dominique Richard-Lenoble, Pierre Bégué, Jean-Etienne Touze, Dominique Kerouédan and P.l.m. février, *Médecine tropicale* 6ème édition, ed. medecine-sciences-publications. 2012. 1334.
160. G. Le loup, D.M., *Paludisme* Elsevier Masson SAS, 2010: p. 14.
161. D. Chabasse, L.d.G., Individual prevention of malaria caused by *Plasmodium falciparum*. *Allerg Immunol (Paris)*, 1999. **31**: p. 320-325.
162. M. Thellier, A.D., O. Alfa Cisse, C. San, S. Biligui, O. Silvie, M. Danis,, Diagnosis of malaria using thick bloodsmears: definition and evaluation of a faster protocol with improved readability. *Ann Trop Med Parasitol*, 2002. **96**: p. 115-124.
163. <http://www.qbcdiagnostics.com/products/fm/malaria/fab.asp>. QBC Malaria Test: Features and Benefits. 2010.
164. R. Piper, J.L., L. Wentworth, A. Hunt-Cooke, S. Houze, P. Chiodini, M. Makler,, Immunocapture diagnostic assays for malaria using *Plasmodium* lactate dehydrogenase (pLDH). *Am J Trop Med Hyg*, 1999. **60**: p. 109-118.
165. Thomas F. McCutchan, R.C.P., and Michael T. Makler, Use of malaria rapid diagnostic test to identify *Plasmodium knowlesi* infection. *Emerg Infect Dis*, 2008. **14**: p. 1750-1752.
166. J. Li, R.R.G., S.H. Damberger, R.A. Wirtz, J.C. Kissinger, M.J. Rogers, J. Sattabongkot, T.F. McCutchan, Regulation and trafficking of three distinct 18 S ribosomal RNAs during development of the malaria parasite. *J Mol Biol*, 1997. **269**: p. 203-213.

167. J. Thompson, R.M.v.S., R. Choudhuri, R.E. Sinden, C.J. Janse, A.P. Waters,, Heterogeneous ribosome populations are present in *Plasmodium berghei* during development in its vector. *Mol Microbiol*, 1999. **31**: p. 253-260.
168. L.Bigois, Identification simultanée des quatre espèces de *Plasmodium* humains sur microplaque par hybridation de produits PCR avec des sondes spécifiques. 2003, Université Henri Poincaré - Faculté de Pharmacie de Nancy
169. M. Imwong, N.T., S. Pukrittayakamee, N.P. Day, N.J. White, G. Snounou, Spurious Amplification of a *Plasmodium vivax* Small-Subunit RNA Gene by Use of Primers Currently Used To Detect *P. knowlesi*. *J Clin Microbiol*, 2009. **47**: p. 4173–4175.
170. K. Knox, D.C. Detection of HHV-6, EBV and HTLV-2 Genomic DNAs by Nested PCR. http://www.ivpresearch.org/nested_pcr.htm. 2005.
171. N. Esther Babady , L.M.S., Jon E. Rosenblatt , and Bobbi S. Pritt, Short Report: Detection of *Plasmodium knowlesi* by Real-Time Polymerase Chain Reaction. *Am. J. Trop. Med. Hyg*, 2009: p. 516–518.
172. Thuy-Huong Ta Tang, A.S., Marwa Ali-Tammam, María del Carmen Martínez, Marta Lanza, Eduardo Arroyo, Jose Miguel Rubio, First case of detection of *Plasmodium knowlesi* in Spain by Real Time PCR in a traveller from Southeast Asia. *Malaria journal*, 2010. **9**: p. 6.
173. O. Landt, Selection of Hybridization Probe Sequences for Use with the LightCycler® LightCycler® Technical Notes - Roche Molecular Biochemicals. Berlin: TIB MOLBIOL.
174. V. Veron, S.S., B. Carme,, Multiplex real-time PCR detection of *P. falciparum*, *P. vivax* and *P. malariae* in human blood samples. *Exp Parasitol*, 2009. **121**: p. 346-351.
175. F. de Monbrison, C.A., A. Staal, K. Kaiser, S. Picot,, Simultaneous identification of the four human *Plasmodium* species and quantification of *Plasmodium* DNA load in human blood by real-time polymerase chain reaction. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2003. **97**: p. 387-390.
176. Aubry, P., Paludisme Actualités 2015. *Médecine tropicale*, 2015: p. 11-24.
177. Bégasse, N., Prix Nobel de médecine 2015: «Ils sont à l’origine d’une petite révolution, qui a sauvé des millions de personnes», in 20 minutes 2015.

178. Favereau, E., PRIX Nobel : Youyou Tu, la chercheuse qui a mélangé les médecines ancestrale et moderne
- http://www.liberation.fr/sciences/2015/10/05/paludisme-youyou-tu-la-chercheuse-qui-a-melange-les-medecines-ancestrale-et-moderne_1397494, in Libération 2015.
179. CHERAHH, P.Y., Les antimalariques. faculté de médecin et de pharmacie de RABAT. 2012-2013.
180. Bourdy, G., Les remèdes traditionnels antipaludiques : des traitements alternatifs.
181. Pirat, C., A la découverte de quelques plantes antipaludiques, gare aux moustiques, F.d.l.M.d.l. Chimie, Editor. 2015.
182. D. Malvy, F.D., Plasmodies : traitement, prévention. 2000. p. 507-520.
183. SANNER, A., L'artémisinine et ses dérivés: Apports de la médecine traditionnelle chinoise dans la lutte contre le paludisme chimiorésistant et perspectives contemporaines 2008, UNIVERSITE HENRI POINCARÉ, NANCY p. 180.
184. Paludisme : le Nobel de médecine pour la Chinoise Youyou Tu à l'origine d'une nouvelle thérapie, in outre-mer 1ère. 2015.
185. Mathias Baum, F.I., Alexandre Sib. Paludisme et ses différents traitements; <http://antipaludiques.e-monsite.com/pages/plan/traitements-du-paludisme/l-artemisine-un-composant-naturel-puissant.html>.
186. M. Danis, Prise en charge et prévention du paludisme d'importation : recommandations pour la pratique clinique. Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française (SPILF), 2008.
187. Santé, O.M.d.l., Directives pour le traitement du paludisme. , e.E. ed, Editor. 2010.
188. Bouree, P., Aspects actuels du paludisme. Elsevier Masson SAS, 2006.
189. WARTITI, M.A.E., Paludisme d'importation à l'Hôpital Militaire D'Instruction Mohammed V de Rabat : Données épidémiologiques (2000 – 2009), FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE -RABAT. 2010, UNIVERSITE MOHAMMED V. p. 134.
190. E, P. Prise en charge du paludisme grave et compliqué. 2006.

191. Farrah A Fatih, H.M.S., Angela Siner, Mohammed Atique Ahmed, Lu Chan Woon, Erica M Pasini, Clemens HM Kocken, Balbir Singh, Janet Cox-Singh, and Sanjeev Krishna, Susceptibility of human *Plasmodium knowlesi* infections to anti-malarials. *Malaria journal*, 2013. **12**: p. 7.
192. Benjamin J Visser, R.W.W., Daniëlle Kroon, Ingeborg M Nagel, Sabine B elard, Michèle van Vugt and Martin P Grobusch., Efficacy and safety of artemisinin combination therapy (ACT) for non-*falciparum* malaria: a systematic review. *Malaria journal*, 2014. **12**(463): p. 18.
193. Rapp, P.C., Actualités du paludisme. 2012, Service des maladies infectieuses et tropicales Hôpital Bégin, Saint-Mandé.
194. OMS. Paludisme: informations aux voyageurs.
<http://www.who.int/malaria/travellers/fr/>. 2011.
195. AHID, P.S., Les antiparasitaires cours de 2 ème année pharmacie 2011-2012: Université Mohammed V Faculté de médecine et de pharmacie – Rabat Laboratoire de Pharmacologie - Toxicologie.
196. Bernichi, L., Paludisme : Faut-il craindre son retour?, in *MarocHebdo*. 2011: Maroc.
197. OMS, Rapport sur le paludisme dans le monde. 2014.
198. Laaziri, M., Le paludisme au Maroc - une lutte sans relâche, une perspective d'élimination, O.M.d.l.S.B.R.p.l.M. Orientale, Editor. 2007. p. 107.
199. R., F.C.O.S.A.E.B.D.R.R.e.E.A., Risque de r emergence du paludisme au Maroc étude de la capacité vectorielle d'Anophèles labranchaie dans une zone rizicole au nord du pays *Parasite journal*, 2008. **5**: p. 605-610.
200. Widad, D.O., Paludisme d'importation au Maroc :  tude de 54 cas Imported Malaria in Morocco: study for 54 cases. Hôpital Militaire Moulay Ismail de Meknès.
201. Agences, M.T.e., Le Maroc célèbre la Journée mondiale du paludisme, in *Le site de l'information de Medi1TV*. 2015.
202. BABA, D.A.F., Le paludisme ou malaria, M. santé, Editor. 2005.
203. national, R., Objectifs du millenaire pour le developpement. Objectif 6: Combattre le VIH/SIDA, le paludisme et d'autres maladies. 2009.

204. santé, M.d.l., Bilan des activités des programme de lutte contre les maladies parasitaires, années 2011-2012. 2011-2012.
205. hali, M.E., Le paludisme "d'importation " inquiète le Maroc. En savoir plus sur <http://www.pharmapresse.net/pages/infos-sciences/le-paludisme-d-importation-inquiete-le-maroc.html#StGSbuzeDIRfSSOw.99>, in pharmapresse. 2015: Maroc.

Serment de Galien

Je jure en présence des maîtres de cette faculté :

- *D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.*
- *D'exercer ma profession avec conscience, dans l'intérêt de la santé publique, sans jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.*
- *D'être fidèle dans l'exercice de la pharmacie à législation en vigueur aux règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.*
- *De ne pas dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession, de ne jamais consentir à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.*
- *Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses, que je sois méprisé de mes Confrères si je manquais à mes engagements.*



جامعة محمد السادس
كلية الطب والصيدلة
الرياضة

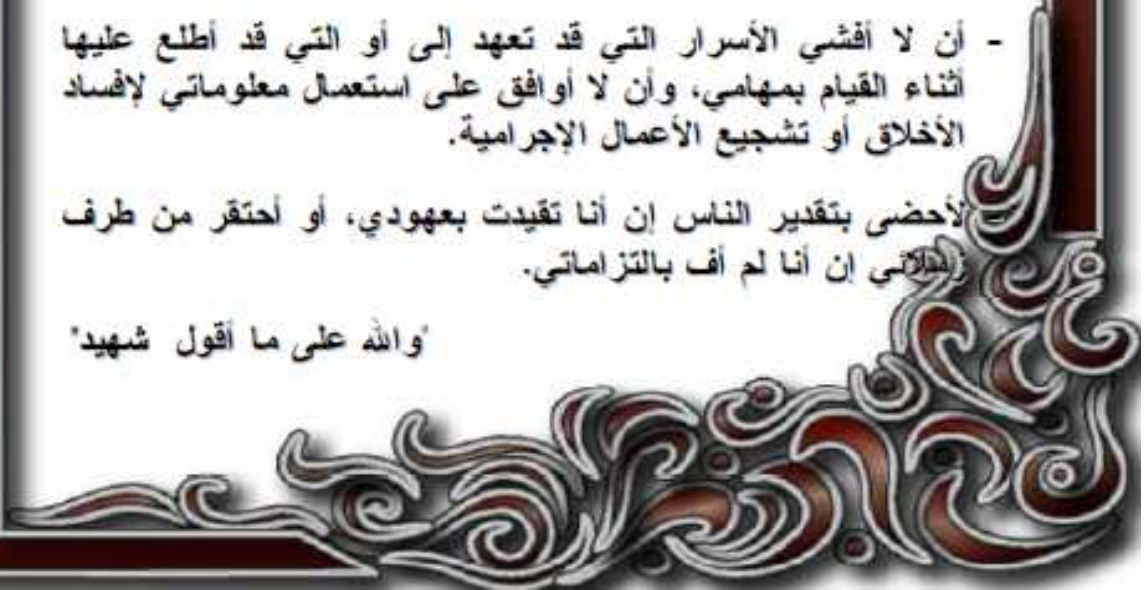
قسم الصيدلي

بسم الله الرحمن الرحيم

واقصم بالله والى واعطى

- أن أراقب الله في مهنتي
- أن أبجل أساتذتي الذين تعلمت على أيديهم مبادئ مهنتي وأعترف لهم بالجميل وأبقى دوما وفيا لتعاليمهم.
- أن أزاول مهنتي بوازع من ضميري لما فيه صالح الصحة العمومية، وأن لا أقصر أبدا في مسؤوليتي وواجباتي تجاه المريض وكرامته الإنسانية.
- أن ألتزم أثناء ممارستي للصيدلة بالقوانين المعمول بها وبأداب السلوك والشرف، وكذا بالاستقامة والترفع.
- أن لا أفشي الأسرار التي قد تعهد إلى أو التي قد أطلع عليها أثناء القيام بمهامي، وأن لا أوافق على استعمال معلوماتي لإفساد الأخلاق أو تشجيع الأعمال الإجرامية.
- لأحضى بتقدير الناس إن أنا تقيدت بعهودي، أو أحتقر من طرف زملائي إن أنا لم أف بالتزاماتي.

'والله على ما أقول شهيد'



المتصورة النولسية:

الوجه الخامس من الملاريا عند الانسان اطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم:

من طرف

السيدة : هلي لحيقة

المزداة في 06 أكتوبر 1989 بقلعة مونة

لنيل شهادة الدكتوراه في الصيدلة

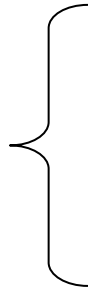
الكلمات المفتاح: ملاريا، المتصورة النولسية، المتصورة المنجلية، تشخيص، المغرب

تحت اشراف اللجنة المكونة من الاساتذة:

رئيس

مشرف

أعضاء



السيد عبد القادر بلمي
استاذ في علم الدم
السيد رضوان مواتج
استاذ في علم الطفيليات
السيدة سارة عوفي
استاذة في علم الطفيليات
السيد ياسين سخوخ
استاذ في علم الأحياء الدقيقة
السيد محمد الرامي
استاذ في علم الطفيليات