

UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR



FACULTE DE MEDECINE, DE PHARMACIE ET D'ODONTOLOGIE



ANNEE 2016

N° 22

ETUDE DU POLYMORPHISME DES GENES *PFMDRN86Y*
ET *PFCRTK76T* DES ISOLATS DE *PLASMODIUM*
FALCIPARUM ISOLES A THIES EN 2011.

THESE

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN PHARMACIE
(DIPLÔME D'ETAT)

PRESENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT

Le 17 février 2016

PAR

M. Habibou SARR
(Interne des hôpitaux)

Né le 12 Novembre 1986 à Vélingara (Sénégal)

MEMBRES DU JURY

PRÉSIDENT:	M. Bara	NDIAYE	Professeur
MEMBRES:	M. Mamadou	FALL	Professeur
	M. Daouda	NDIAYE	Professeur
DIRECTEUR DE THESE:	M. Daouda	NDIAYE	Professeur
CO-DIRECTRICE DE THESE:	Mlle Aida Sadikh	BADIANE	Maitre - Assistante

UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR

**FACULTE DE MEDECINE DE PHARMACIE
ET D'ODONTOLOGIE**

DECANAT & DIRECTION

DOYEN PAR INTERIM

M. AMADOU DIOUF

PREMIER ASSESSEUR

M. ABDOULAYE SAMB

DEUXIEME ASSESSEUR

M. ABDOUL WAKHABE KANE

CHEF DES SERVICES ADMINISTRATIFS

M. SEYBATOUM MAGATTE NDAW

DAKAR, LE 22 AVRIL 2015

LISTE DU PERSONNEL ENSEIGNANT PAR GRADE

ANNEE UNIVERSITAIRE 2015-2016

I. MEDECINE

PROFESSEURS TITULAIRES

M.	Mamadou	BA	Pédiatrie
M.	Mamadou	BA	Urologie
Mme	Mariame	GUEYE BA	Gynécologie-Obstétrique
M.	Serigne Abdou	BA	Cardiologie
M.	Seydou Boubakar	BADIANE	Neurochirurgie
M.	Mamadou Diarrah	BEYE	Anesthésie-Réanimation
M.	Boubacar	CAMARA	Pédiatrie
M.	Cheikh Ahmed Tidiane	CISSE	Gynécologie-Obstétrique
M.	Moussa Fafa	CISSE	Bactériologie-Virologie
§M.	Jean Marie	DANGOU	Anatomie et Cytologie Patho.
M.	Abdarahmane	DIA	Anatomie-Chirurgie Générale
Mme.	Anta TAL	DIA	Médecine Préventive
M.	BayeAssane	DIAGNE	Urologie
+ *	M.Ibrahima	DIAGNE	Pédiatrie
M.	Bay Karim	DIALLO	O.R.L
M.	Maboury	DIAO	Cardiologie
M.	Madieng	DIENG	Chirurgie Générale
*M.	MameThierno	DIENG	Dermatologie
M.	Amadou Gallo	DIOP	Neurologie
M.	EL Hadj Malick	DIOP	O-R-L
M.	Mamadou	DIOP	Anatomie
M.	Saliou	DIOP	Hématologie Clinique
M.	Alassane	DIOUF	Gynécologie-Obstétrique
M.	Boucar	DIOUF	Néphrologie
Mme.	Elisabeth	DIOUF	Anesthésiologie-Réanimation
M.	Mamadou Lamine	DIOUF	Hépatologie / Gastro- Entérologie
M.	Raymond	DIOUF	O.R.L
M.	Souvasin	DIOUF	Orthopédie-Traumatologie
M.	Babacar	FALL	Chirurgie Générale
M.	Ibrahima	FALL	Chirurgie Pédiatrique
M.	Papa Ahmed	FALL	Urologie
Mme.	Sylvie	SECK GASSAMA	Biophysique
Mme.	Gisèle	WOTO GAYE	Anatomie Pathologique
M.	Oumar	GAYE	Parasitologie
§ M.	Lamine	GUEYE	Physiologie

*M.	SerigneMaguèye	GUEYE	Urologie
+*M.	Mamadou Mourtalla	KA	Médecine Interne
M.	Abdoul	KANE	Cardiologie
M.	Assane	KANE	Dermatologie
M.	Oumar	KANE	Anesthésie-Réanimation
M.	Mamadou	MBODJ	Biophysique
M.	Jean Charles	MOREAU	Gynécologie-Obstétrique
*M.	Claude	MOREIRA	Pédiatrie
M.	Abdoulaye	NDIAYE	Anatomie-Orthopédie-Trauma
M.	Issa	NDIAYE	O.R.L
M.	Mouhamadou	NDIAYE	Chirurgie Thoracique&Cardio-vasculaire
M.	Mouhamadou Mansour	NDIAYE	Neurologie
M.	Ousmane	NDIAYE	Pédiatrie
M.	Papa Amadou	NDIAYE	Ophtalmologie
*M.	Cheikh Tidiane	NDOUR	Maladies Infectieuses
M.	Alain Khassim	NDOYE	Urologie
*M.	Mamadou	NDOYE	Chirurgie Infantile
M.	Oumar	NDOYE	Biophysique
M.	Gabriel	NGOM	Chirurgie Pédiatrique
*M.	Abdou	NIANG	CM / Néphrologie
M.	El Hadji	NIANG	Radiologie
Mme.	Suzanne Oumou	NIANG	Dermatologie
*M.	Youssoupha	SAKHO	Neurochirurgie
M.	MohamadouGuélaye	SALL	Pédiatrie
M.	Niama	DIOP SALL	Biochimie Médicale
M.	Abdoulaye	SAMB	Physiologie
M.	Mamadou	SARR	Pédiatrie
M.	Moustapha	SARR	Cardiologie
§Mme		Awa Marie	COLL SECK Maladies Infectieuses
M.	Moussa	SEYDI	Maladies Infectieuses
M.	Seydina Issa Laye	SEYE	Orthopédie-Traumatologie
M.	EL Hassane	SIDIBE	Endocrinologie-Métabolisme Nutrition-Diabétologie
*M.	Masserigne	SOUMARE	Maladies Infectieuses
M.	Ahmad Iyane	SOW	Bactériologie-Virologie
M.	Mamadou Lamine	SOW	Médecine Légale
+*M.	Papa Salif	SOW	Maladies Infectieuses
Mme.	Haby SIGNATE	SY	Pédiatrie
M.	Mouhamadou Habib	SY	Orthopédie-Traumatologie
§M.	Cheickna	SYLLA	Urologie
M.	Cheikh Tidiane	TOURE	Chirurgie Générale
M.	Meïssa	TOURE	Biochimie Médicale

† Disponibilité

* Associé

§ Détachement

MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

M.	Abdoulaye	BA	Physiologie
Mme.	Aïssata	LY BA	Radiologie
M.	EL Hadj Amadou	BA	Ophtalmologie
M.	Momar Codé	BA	Neurochirurgie
M.	Mamadou	CISSE	Chirurgie Générale
§M.	Mamadou Lamine	CISSE	Gynécologie-Obstétrique
M.	Ahmadou	DEM	Cancérologie
M.	Djibril	DIALLO	Gynécologie-Obstétrique
M.	Saïdou	DIALLO	Rhumatologie
* M.	Babacar	DIAO	Urologie
§M.	Alassane	DIATTA	Biochimie Médicale
M.	Charles Bertin	DIEME	Orthopédie-traumatologie
M.	Yémou	DIENG	Parasitologie
M.	El Hadj Ibrahima	DIOP	Orthopédie-Traumatologie
M.	Ibrahima Bara	DIOP	Cardiologie
M.	Papa Saloum	DIOP	Chirurgie Générale
M.	Saïd Norou	DIOP	Médecine Interne II
Mme.	Sokhna	BA DIOP	Radiologie
M.	Saliou	DIOUF	Pédiatrie
Mme	Awa Oumar	TOURE FALL	Hématologie Biologique
§ M.	Babacar	FAYE	Parasitologie
§ Mme.	Mame Awa	FAYE	Maladies Infectieuses
M.	Oumar	FAYE	Parasitologie
M.	Oumar	FAYE	Histologie-Embryologie
M.	Papa Lamine	FAYE	Psychiatrie
M.	EL Hadj Fary	KA	Clinique Médicale/Néphrologie
M.	Ousmane	KA	Chirurgie Générale
M.	Abdoulaye	LEYE	Clinique Médicale / Médecine Interne
Mme.	Fatimata	LY	Dermatologie
Mme.	Nd. Maimouna	NDOUR MBAYE	Médecine Interne
*M.	Mouhamadou	MBENGUE	Hépatologie / Gastro-Entérologie
M.	Philipe Marc	MOREIRA	Gynécologie
M.	Mor	NDIAYE	Médecine du Travail
M.	Moustapha	NDIAYE	Neurologie
+ *	M. Papa	NDIAYE	Médecine Préventive
*M.	Souhaïbou	NDONGO	Médecine Interne
M.	Jean Marc Ndiaga	NDOYE	Anatomie
Mme	Marie	DIOP NDOYE	Anesthésie-Réanimation
M.	Lamine	NIANG	Urologie
M.	Abdoulaye	POUYE	CM / Médecine Interne
Mme.	Paule Aïda	NDOYE ROTH	Ophtalmologie
M.	André Daniel	SANE	Orthopédie-Traumatologie
Mme.	Anne Aurore	SANKALE	Chirurgie plastique et reconstructive
Mme.	Anna	SARR	Médecine Interne

*M.	Ibrahima	SECK	Médecine Préventive
Mme.	Fatou Samba D.	NDIAYE	Hématologie Clinique
Mme.	Aïda	SYLLA	Psychiatrie
M.	Assane	SYLLA	Pédiatrie
M.	Abdourahmane	TALL	O.R.L
M.	Mamadou Habib	THIAM	Psychiatrie
Mme.	Nafissatou Oumar	TOURE	Pneumologie

+ Disponibilité

* Associé

§ Détachement

MAITRES-ASSISTANTS

Mme.	Fatou Diallo	AGNE	Biochimie Médicale
M.	El Hadj Souleymane	CAMARA	Orthopédie-Traumatologie
M.	Amadou Gabriel	CISS	Chirurgie Thoracique & Cardio. Vasc.
Mme.	MariamaSafiétou	KA CISSE	Médecine Interne
Mme.	NdèyeFatou	COULIBALY	Orthopédie-Traumatologie
M.	Mamadou	COUME	Médecine Interne
M.	André Vauvert	DANSOKHO	Orthopédie-Traumatologie
M.	Daouda	DIA	Hépatologie / Gastro-Entérologie
M.	Abdoulaye Séga	DIALLO	Histologie-Embryologie
*M.	Moussa	DIALLO	Dermatologie
*Mme.	Marie Edouard Faye	DIEME	Gynécologie Obstétrique
M.	Pape Adama	DIENG	Chirurgie Thoracique & Cardio-Vasculaire
Mme.	Seynabou	FALL DIENG	Médecine Interne I
Mme.	Evelyne Siga	DIOM	O.R.L.
M.	Ansoumana	DIATTA	Pneumophtisiologie
M.	Amadou Lamine	FALL	Pédiatrie
M.	Boubacar	FALL	Urologie
M.	Lamine	FALL	Pédopschyatrie
Mme.	MameCoumba	GAYE FALL	Médecine du Travail
M.	Mohamed Lamine	FALL	Anesthésie-réanimation
Mme.	Louise	FORTES	Maladies Infectieuses
M.	Pape Macoumba	GAYE	Cancéro-radiothérapie
*M.	SerigneModou Kane	GUEYE	Gynécologie-Obstétrique
Mme.	Roughyatou	KA	Bactériologie – Virologie
Mme.	Yacine Dia	KANE	Pneumophtisiologie
*M.	Abdoul Aziz	KASSE	Cancérologie
M.	Alassane	MBAYE	Cardiologie
Mme.	Aminata	DIACK MBAYE	Pédiatrie
M.	Magatte	MBAYE	Gynécologie-Obstétrique
M.	Amadou Koura	NDAO	Neurologie
M.	Mouhamadou Bamba	NDIAYE	Cardiologie
M.	Papa Ibrahima	NDIAYE	Anesthésie Réanimation

M.	Boucar	NDONG	Biophysique
Mme.	NdèyeDialéNdiaye	NDONGO	Psychiatrie
M.	Oumar	NDOUR	Chirurgie Pédiatrique
M.	Ndaraw	NDOYE	Neurochirurgie
Mme.	Marguerite Edith D.	QUENUM	Ophtalmologie
M.	Jean Claude François	SANE	Orthopédie-Traumatologie
M.	Ndéné Gaston	SARR	Biochimie Médicale
Mme.	Lala Bouna	SECK	Neurologie
M.	Mohamed Maniboliot	SOUMAH	Médecine légale
M.	Roger Clément Kouly	TINE	Parasitologie Médicale
M.	Kamadore	TOURE	Santé Publique
M.	Silly	TOURE	Stomatologie
M.	Issa	WONE	Médecine Préventive

ASSISTANTS

Mme.	NafissatouNdiaye	BA	Anatomie Pathologique
M.	El Hadji Amadou Lamine	BATHILY	Biophysique
Mme.	Fatou	CISSE	Biochimie Médicale
M.	Boubacar Samba	DANKOKO	Médecine Préventive
M.	Mouhamadou Lamine	DIA	Bactériologie-Virologie
M	SidyAkhmed	DIA	Médecine du Travail
M.	Chérif Mouhamed M.	DIAL	Anatomie Pathologique
Mme.	Mama SY	DIALLO	Histologie-embryologie
M.	Mor	DIAW	Physiologie
Mme.	Marie Joseph	DIEME	Anatomie Pathologique
M.	Abdoulaye Dione	DIOP	Radiologie
Mme.	AïssatouSeck	DIOP	Physiologie
M.	Dialo	DIOP	Bactériologie-Virologie
M.	Ousseynou	DIOP	Biophysique
Mme.	Abibatou	SALL FALL	Hématologie
M.	Blaise Félix	FAYE	Hématologie
M..	Magaye	GAYE	Anatomie
M.	Mamadou MakhtarMbacké	LEYE	Médecine Préventive
M.	Aïnina	NDIAYE	Anatomie
M.	Magatte	NDIAYE	Parasitologie Médicale
M.	El Hadji Oumar	NDOYE	Médecine Légale
M.	Khadim	NIANG	Médecine Préventive
M.	Moussa	SECK	Hématologie
M.	Abdou	Khadir	SOW Physiologie
M.	Doudou	SOW	Parasitologie Médicale
M.	Khadime	SYLLA	Parasitologie Médicale
M.	Ibou	THIAM	Anatomie Pathologique

CHEFS DE CLINIQUE-ASSISTANTS DES SERVICES UNIVERSITAIRES DES HOPITAUX

M.	Abou	BA	Pédiatrie
Mme.	Aïssatou	BA	Pédiatrie
*M.	El Hadji Makhtar	BA	Psychiatrie
M.	Idrissa	BA	Pédopsychiatrie
M.	Idrissa Demba	BA	Pédiatrie
Mme.	MameSanou Diouf	BA	O.R.L.
M.	Papa Salmane	BA	Chirurgie Thoracique & Cardio –vasc.
M.	Nfally	BADJI	Radiologie
M.	Mamadou Diawo	BAH	Anesthésie-Réanimation
Mme.	Marie Louise	BASSENE	Hépto-gastroentérologie
M.	Malick	BODIAN	Cardiologie
M.	Momar	CAMARA	Psychiatrie
Mme.	MaïmounaFafa	CISSE	Pneumologie
M	Mouhamadou Moustapha	CISSE	Néphrologie
M.	Abdoulaye	DANFA	Psychiatrie
M.	Richard Edouard Alain	DEGUENONVO	O-R-L
M.	Mohamed Tété Etienne	DIADHIOU	Gynécologie-Obstétrique
Mme.	Nafissatou	DIAGNE	Médecine Interne
M.	NgorSide	DIAGNE	Neurologie
M.	Jean Pierre	DIAGNE	Ophtalmologie
Mme.	Viviane Marie Pierre	CISSE DIALLO	Maladies Infectieuses
M.	Souleymane	DIATTA	Chirurgie Thoracique
M.	Demba	DIEDHIOU	Médecine Interne II
Mme	MameSalimata	DIENE	Neurochirurgie
*M.	Mamadou Moustapha	DIENG	Cancérologie
M.	Rudolph	DIOP	Stomatologie
M	Assane	DIOP	Dermatologie
M.	Abdoul Aziz	DIOUF	Gynécologie-Obstétrique
M.	Assane	DIOUF	Maladies Infectieuses
M.	Doudou	DIOUF	Cancérologie
Mme.	Aimée Lakh	FAYE FALL	Chirurgie Pédiatrique
Mme.	Anna Modji Basse	FAYE	Neurologie
M.	Atoumane	FAYE	Médecine Interne
Mme.	Fatou Ly	FAYE	Pédiatrie
*M.	Papa Moctar	FAYE	Pédiatrie
M.	Mamour	GUEYE	Gynécologie-Obstétrique
M.	Modou	GUEYE	Pédiatrie
M.	Aly Mbara	KA	Ophtalmologie
M.	Daye	KA	Maladies Infectieuses
M.	Ibrahima	KA	Chirurgie Générale
M.	Sidy	KA	Cancérologie
M.	Younoussa	KEITA	Pédiatrie

M.	Amadou Ndiassé	KASSE	Orthopédie-Traumatologie
M.	Charles Valérie Alain	KINKPE	Orthopédie-Traumatologie
Melle	NdèyeAïssatou	LAKHE	Maladies Infectieuses
M.	Ahmed Tall	LEMRA BOTT	Néphrologie
M.	Papa Alassane	LEYE	Anesthésie-réanimation
M.	Yakham Mohamed	LEYE	Médecine Interne
Mme.	Indou DEME	LY	Pédiatrie
Mme.	Khardiata Diallo	MBAYE	Maladies Infectieuses
Mme.	Awa Cheikh Ndao	MBENGUE	Médecine Interne
M.	Ciré	NDIAYE	O-R-L
M.	Lamine	NDIAYE	Chirurgie Plastique et Reconstructive
M.	Maodo	NDIAYE	Dermatologie
M.	Babacar	NIANG	Pédiatrie
* M.	Mouhamadou Mansour	NIANG	Gynécologie-Obstétrique
M	Moustapha	NIASSE	Rhumatologie
M.	Aloïse	SAGNA	Chirurgie Pédiatrique
Mme.	Magatte Gaye	SAKHO	Neurochirurgie
Mme.	NafyNdiaye	SARR	Médecine Interne
M.	Simon Antoine	SARR	Cardiologie
M.	Mamadou	SECK	Chirurgie Générale
M.	Sokhna	SECK	Psychiatrie
Mme.	Marième Soda	DIOP SENE	Neurologie
M.	AboubacrySadikh	SOW	Ophtalmologie
Melle	AdjaratouDieynabou	SOW	Neurologie
M.	Yaya	SOW	Urologie
M.	Abou	SY	Psychiatrie
M.	Alioune Badara	THIAM	Neurochirurgie
Mme.	Khady	THIAM	Pneumologie
M.	Mbaye	THIOUB	Neurochirurgie
M.	Alpha Oumar	TOURE	Chirurgie Générale

+ Disponibilité

* Associé

§ Détachement

II. PHARMACIE

PROFESSEURS TITULAIRES

M.	Emmanuel	BASSENE	Pharmacognosie et Botanique
M.	Cheikh Saad Bouh	BOYE	Bactériologie-Virologie
M.	Aynina	CISSE	Biochimie Pharmaceutique
Mme.	Aïssatou Gaye	DIALLO	Bactériologie-Virologie
Mme.	Aminata SALL	DIALLO	Physiologie Pharmaceutique
M.	Mounibé	DIARRA	Physique Pharmaceutique
M.	Alioune	DIEYE	Immunologie
* M.	Amadou Moctar	DIEYE	Pharmacologie et Pharmacodynamie
M.	TandakhaNdiaye	DIEYE	Immunologie
M.	Pape Amadou	DIOP	Biochimie Pharmaceutique
M.	YérimMbagnick	DIOP	Chimie Analytique
M.	Amadou	DIOUF	Toxicologie
M.	Mamadou	FALL	Toxicologie
M.	Souleymane	MBOUP	Bactériologie-Virologie
M.	Bara	NDIAYE	Chimie Analytique
* M.	Omar	NDIR	Parasitologie
Mme.	Philomène LOPEZ	SALL	Biochimie Pharmaceutique
M.	Guatayoro	SY	Pharmacologie et Pharmacodynamie
M.	Alassane	WELE	Chimie Thérapeutique

MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Melle.	Thérèse	DIENG	Parasitologie
M.	Djibril	FALL	Pharmacie Chimique & Chimie Orga.
M.	Pape Madièye	GUEYE	Biochimie Pharmaceutique
M.	ModouOumy	KANE	Physiologie Pharmaceutique
M.	Gora	MBAYE	Physique Pharmaceutique
*M.	Augustin	NDIAYE	Physique Pharmaceutique
M.	Daouda	NDIAYE	Parasitologie
Mme.	Maguette D.	SYLLA NIANG	Immunologie
M.	Mamadou	SARR	Physiologie Pharmaceutique
M.	Oumar	THIOUNE	Pharmacie Galénique

MAITRES DE CONFERENCES

M. MatarSECK	Pharmacie Chimique et Chimie Organique
--------------	--

MAITRES-ASSISTANTS

M.	Makhtar	CAMARA	Bactériologie-virologie
Mme.	RokhayaNdiaye	DIALLO	Biochimie Pharmaceutique
M.	Amadou	DIOP	Chimie Analytique
M.	Ahmédou Bamba K.	FALL	Pharmacie Galénique
M.	Babacar	MBENGUE	Immunologie
*Mme	HalimatouDiop	NDIAYE	Bactériologie – Virologie
*M.	Mamadou	NDIAYE	Pharmacologie et Pharmacodynamie
M.	Serigne Omar	SARR	Chimie Analytique & Bromatologie
Mme.	Awa Ndiaye	SY	Pharmacologie

ASSISTANTS

Melle	Aïda Sadikh	BADIANE	Parasitologie
Mme	Kady Diatta	BADJI	Botanique
M.	Mamadou	BALDE	Chimie Thérapeutique
Mme.	Awa Ba	DIALLO	Bactériologie-Virologie
M.	William	DIATTA	Botanique
M.	Adama	DIEDHIOU	Chimie Thérapeutique & Organique
M.	Cheikh	DIOP	Toxicologie
M.	Moussa	DIOP	Pharmacie Galénique
M.	Louis Augustin D.	DIOUF	Physique Pharmaceutique
M.	Alphonse Rodrigue	DJIBOUNE	Physique Pharmaceutique
M.	Alioune Dior	FALL	Pharmacognosie
*M.	Babacar	FAYE	Biologie Moléculaire et cellulaire
M.	Djiby	FAYE	Pharmacie Galénique
M.	Macoura	GADJI	Hématologie
Melle	Rokhaya	GUEYE	Chimie Analytique & Bromatologie
Mme.	Rokhaya Sylla	GUEYE	Pharmacie Chimique et Chimie Organique
Mme	Arame	NDIAYE	Biochimie Médicale
M.	Mouhamadou	NDIAYE	Parasitologie
M.	Idrissa	NDOYE	Pharmacie Chimique et Chimie Organique
Mme.	Mathilde M. P. Cabral	NDIOR	Toxicologie
M.	Abdoulaye	SECK	Bactériologie –Virologie
* M.	Mame Cheikh	SECK	Parasitologie
M.	Mbaye	SENE	Physiologie Pharmaceutique
M.	Madièye	SENE	Pharmacologie
M.	Papa Mady	SY	Physique Pharmaceutique
Mme.	FatouGuèye	TALL	Biochimie Pharmaceutique
M.	Yoro	TINE	Chimie Générale
Mme	Aminata	TOURE	Toxicologie

* Associé

III. CHIRURGIE DENTAIRE

PROFESSEURS TITULAIRES

M	Henri Michel	BENOIST	Parodontologie
*M.	Falou	DIAGNE	Orthopédie Dento-Faciale
M.	Papa Demba	DIALLO	Parodontologie
M.	Abdoul Wakhabe	KANE	Odontologie Cons. Endodontie
* M.	Papa Ibrahima	NGOM	Orthopédie Dento-Faciale
M.	Malick	SEMBENE	Parodontologie

MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mme	Khady	DIOP BA	OrthopédieDento-Faciale
M.	Daouda	CISSE	Odontologie Prév. et Sociale
Mme	Adam Marie	SECK	DIALLO Parodontologie
M.	Babacar	FAYE	Odontologie Cons. Endodontie
M.	Daouda	FAYE	Odontologie Préventive et Sociale
M.	Malick	FAYE	Pédodontie
M.	Cheikh Mouhamadou M.	LO	Odontologie Prév. Sociale
M.	El Hadj Babacar	MBODJ	Prothèse Dentaire
§ Mme	Charlotte	FATY NDIAYE	Chirurgie Buccale
Mme	Fatou gaye	NDIAYE	Odontologie Conservatrice Endodontie
M.	Mouhamed	SARR	Odontologie Cons. Endodontie
Mme	Soukèye	DIA TINE	Chirurgie Buccale
M.	Babacar	TOURE	Odontologie Conservatrice Endodontie

MAITRES ASSISTANTS

Mme	Aïssatou	TAMBA BA	Pédodontie-Prévention
M.	Khaly	BANE	O.C.E.
Mme	Fatou	DIOP	Pédodontie-Prévention
M.	Abdoulaye	DIOUF	Parodontologie
M.	Joseph Samba	DIOUF	Orthopédie Dento-Faciale
Mme	Fatou	LEYE	O.C.E.
M.	Malick	MBAYE	Odontologie Cons. Endodontie
M.	Cheikh	NDIAYE	Prothèse Dentaire
M.	Paul Débé Amadou	NIANG	Chirurgie Buccale
Mme	Farimatayouga DIENG	SARR	Matières Fondamentales
M.	Mohamed Talla	SECK	Prothèse Dentaire

ASSISTANTS

Mme.	AdjaratouWakha	AIDARA	O.C.E.
M.	Abdou	BA	Chirurgie Buccale
M.	Alpha	BADIANE	Orthopédie Dento-Faciale
Mme.	Binetou C. GASSAMA	BARRY	Chirurgie Buccale
*M.	Khalifa	DIENG	Odontologie Légale
*M.	Lambane	DIENG	Prothèse Dentaire
M.	Abdoulaye	DIOUF	Parodontologie
M.	Massamba	DIOUF	Odontologie Prév. et Sociale
Mme.	NdèyeNguiniane Diouf	GAYE	Odontologie Pédiatrique
*M.	Moctar	GUEYE	Prothèse Dentaire
*M.	Mouhamadou Lamine	GUIRASSY	Parodontologie
Melle.	Aïda	KANOUTE	Santé Publique Dentaire
M.	Alpha	KOUNTA	Chirurgie Buccale
M.	Papa Abdou	LECOR	Anatomo- Physiologie
M.	Edmond	NABHANE	Prothèse Dentaire
Mme.	Diouma	NDIAYE	Odontologie Conservatrice-Endodontie
M.	Mamadou Lamine	NDIAYE	Odontologie Conservatrice-Endodontie
M.	Seydina Ousmane	NIANG	Odontologie Conservatrice-Endodontie
M.	Oumar Harouna	SALL	Matières Fondamentales
M.	Babacar	TAMBA	Chirurgie Buccale
Mme.	SoukèyeNdoye	THIAM	Odontologie Pédiatrique
Mme.	Néné	THIOUNE	Prothèse Dentaire
M.	Amadou	TOURE	Prothèse Dentaire
M.	Saïd Nour	TOURE	Prothèse Dentaire

* Associé

§ Détachement

*Au nom d'Allah Le Tout
Puissant.*

*Paix et Salut sur Son Prophète
Mohamed.*



DEDICACES

Je dédie ce travail...

A ma chère maman, *Aïssatou Ndiaye* dit « *Mbéne Ndiaye* »,

Adorable maman tu m'as inspiré et m'as donné la force et le courage de terminer ce travail.

L'amour, la tendresse, la générosité et le soutien à tous les membres de la famille font de toi la meilleure maman.

Tu m'as boosté quand j'avais plus d'énergie, m'encourager quand j'étais découragé et me reconforter dans les moments les plus difficiles de ma vie à la fac.

Mon attachement et mon amour envers toi ne peuvent être exprimés ou traduits par ces quelques mots.

Merci de m'avoir toujours donné le souffle de m'être battu et de continuer à me battre pour aller de l'avant.

Merci pour tous...

Enfin...Merci tout simplement d'être ma Maman.

Je prie Allah le Tout Puissant de t'accorder santé et longue vie afin que tu puisses célébrer avec toute la famille l'aboutissement de tant de sacrifices et de privation, le fruit de l'arbre que tu as si bien entretenu. Amin !!!

A mon cher père, *Malick Sarr*,

Aucune expression ne saurait démontrer l'amour, la reconnaissance, le respect et l'estime que je porte envers toi.

Ta présence et ta protection m'ont toujours reconfortée.

Tu as consenti tant de sacrifices, de patience, de bienveillance, d'investigation et d'encouragement à mon éducation et ma formation.

J'espère en ce jour être ta fierté.

Qu'Allah le Tout Puissant te procure santé et longue vie.

A mon épouse Ndeye Bator Ndiaye

Chérie ce travail t'est particulièrement dédié, trouves y tous mon amour et ma reconnaissance envers toi. Puisse notre union résister à l'épreuve du temps et Qu'Allah le Tout Puissant veille sur cette union. Je t'aime...

A mes frères Moustapha, Kabirou, Lamine, Cheikh Tidiane, Modou, Ahmadou, Ibrahima....

A mes sœurs Anta, Awa, Mariama, Seynabou, Astou Mbéne...

Pour tout l'amour, le soutien et le bonheur que vous réveillez en moi,
J'ai toujours apprécié l'affection que vous portez à mon égard,
Que ce travail soit le témoignage de mon amour et ma gratitude envers vous
Ce travail vous est dédié

A ma grand-mère Codou Salla Dieng

Pour tes conseils si précieux

Pour tout le soutien que tu m'as apporté

L'occasion m'est enfin donnée de t'exprimer mon attachement. Que DIEU te garde d'avantage.

A mes oncles et tantes, pour tous les principes que vous m'avez transmis.

A mes cousins et cousines, pour votre présence constante à mes côtés.

A tous mes amis avec qui j'ai partagé des moments de peine et de joie à la fac :
Dame Dia, Abdou Diouck, Khadim Ndiaye, Alexis Papis Sambou, Amath Sakho ... Que nos liens d'amitié perdurent pour toujours.

A mes professeur du lycée Cherif Samesidine Aidara de Vélingara ***Adama Séne et Moussa Sy...***

Pour vos précieux conseils, votre disponibilité, votre modestie et votre soutien de tous les jours. Puisse le Tout puissant vous garde.

A mes camarades et collègues de l'Internat : Abdoulaye Diop, Dame Gambe, Bambo Diakhaby, Malick Ndao, Abib Diop, Michel A. Ndour, Fabi Sall, Aminata Sow, Babacar Diallo...

A toute la Promotion Sortante de Pharmacie 2012.

On a passé cinq merveilleuses années. Je vous souhaite une carrière professionnelle bien remplie.

A tout le personnel du laboratoire de Parasitologie-Mycologie de l'Hôpital Aristide Le Dantec,

A tout le personnel du laboratoire de Biologie moléculaire, de la section Malaria,

A **Mami**, Pour m'avoir fait l'honneur de partager vos expériences et vos connaissances

A tout le personnel des projets ICEMR et Havard Malaria Initiative

A tout le personnel de la Section de lutte antiparasitaire de Thiès pour la disponibilité et la spontanéité avec laquelle vous avez voulu répondre à mes attentes

A toutes les personnes qui ont contribué à ce travail de près ou de loin...

A tous ceux j'ai dû oublier...



REMERCIEMENTS

Tout d'abord, je tiens à remercier le **Pr Daouda NDIAYE** Chef de service du laboratoire de Parasitologie-Mycologie de Hôpital Aristide Le Dantec pour avoir accepté de diriger ce travail. C'est un honneur pour moi d'avoir été guidé par vos connaissances dans le domaine de la Parasitologie. Je vous remercie sincèrement du fond du cœur.

Je tiens également à remercier le **Docteur Aida Sadikh BADIANE** pour avoir accepté de co-diriger ce travail malgré vos multiples obligations professionnelles. Merci pour votre aide et vos encouragements. J'ai pu découvrir en vous, au-delà de vos qualités scientifiques et pédagogiques, des qualités que je respecte et apprécie profondément. J'en suis reconnaissant.

Je remercie de tout cœur **Madame Mamy NDIAYE**. Merci pour votre disponibilité et pour tous les services que vous m'avez rendu. Soyez assuré de ma profonde reconnaissance.

L'occasion m'est également donnée de pouvoir remercier tout le personnel du laboratoire de parasitologie de l'Hôpital Aristide le Dantec: **Major DJIAMANKA, Mme NDIAYE Guète DIALLO, tonton Lamine NDIAYE, tonton Diédhiou, Tola NDIAYE, Amina GUEYE**. Leur bonne humeur de tous les jours et la joie de les retrouver au laboratoire m'a permis de réaliser cette thèse dans une atmosphère que je n'oublierais pas.

Merci à tous....

A NOS MAITRES ET
JUGES

À NOTRE MAÎTRE, PRESIDENT DE JURY,

LE PROFESSEUR BARA NDIAYÉ,

Nous vous sommes infiniment reconnaissants pour le grand honneur et le privilège que vous nous faites en acceptant de présider la soutenance de notre thèse.

Votre disponibilité, vos compétences et vos éminentes qualités intellectuelles font de vous un maître estimé et respecté par tous.

Qu'il nous soit permis, cher maître, de vous exprimer notre plus haute considération et nos sincères remerciements.

À NOTRE MAÎTRE ET JUGE,

LE PROFESSEUR MAMADOU FALL

Nous sommes très sensibles à l'honneur que vous nous faites, en siégeant dans ce jury. Votre disponibilité, vos qualités scientifiques et humaines font de vous un maître admiré et respecté par tous. Les mots nous manquent pour vous exprimer notre gratitude.

Soyez rassuré, Cher Maître de notre parfaite reconnaissance.

A NOTRE MAÎTRE, DIRECTEUR DE THÈSE,

LE PROFESSEUR DAOUA NDIAYÉ

Cher Maître vous avez accepté dès le premier contact de diriger ce travail malgré vos multiples occupations.

Nous avons bénéficié d'un encadrement sans faille et d'une disponibilité constante pour l'élaboration de ce travail.

Votre amour du travail cumulé de rigueur scientifique et de votre modestie n'ont d'égal que votre mérite et sont pour nous un exemple à suivre.

Soyez rassurés de notre parfaite reconnaissance Cher Maître.

A NOTRE MAÎTRE, CO-DIRECTRICE DE THÈSE,

LE DOCTEUR AIDA SADIKH BADIANE

Vous avez accepté avec spontanéité la co-direction de ce travail de thèse malgré vos multiples obligations professionnelles.

Grâce à votre soutien sans faille, vos directives rigoureuses, vos conseils judicieux, votre disponibilité permanente que nous avons pu aboutir à l'élaboration de ce document. Votre souci constant du travail méthodique restera pour nous un modèle à suivre.

Soyez assurée de notre sincère et profonde reconnaissance.

«Par délibération, la faculté a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation, ni improbation»



LISTE DES FIGURES

Figure 1 : <i>Plasmodium falciparum</i> à différents stades.....	8
Figure 2 : <i>Plasmodium ovale</i> à différents stades.....	9
Figure 3 : <i>Plasmodium vivax</i> à différents stades.....	10
Figure 4 : <i>Plasmodium malariae</i> à différents stades.....	11
Figure 5 : <i>Plasmodium knowlesi</i> à différents stades	12
Figure 6 : Cycle du <i>Plasmodium</i> chez l’anophèle et l’homme.	14
Figure 7 : Pays et territoires affectés par le paludisme en 2015 (OMS).	18
Figure 8 : Carte de la région de Thiès.....	35
Figure 9 : Courbe de décroissance de la fluorescence en fonction de la température de fusion (T _m).....	44
Figure 10 : Pics des T _m correspondant aux dérivés normalisés de la fluorescence.....	45
Figure 11 : T _m de l’amplicon et de la région couverte par la sonde.....	47
Figure 12 : Illustration de la machine de la fusion à haute résolution	51
Figure 13 : Répartition des patients selon le sexe.	53
Figure 14 : Répartition des patients selon la classe d’âge	54
Figure 15 : Répartition de la parasitémie selon l’âge.....	55
Figure 16 : Prévalence des génotypes <i>PfcrK76T</i>	56
Figure 17 : Prévalence des génotypes de <i>PfmdrN86Y</i>	57
Figure 18 : Prévalences des simples et doubles mutations des gènes <i>PfmdrN86Y</i> et <i>PfcrK76T</i>	58
Figure 19 : Répartition des génotypes de <i>Pfcr K76T</i> en fonction de l’âge.....	59
Figure 20 : Répartition des génotypes de <i>PfmdrN86Y</i> en fonction de l’âge.....	60
Figure 21 : répartition du génotype sauvage <i>PfcrK76</i> en fonction du sexe.....	61
Figure 22 : Répartition du génotype mutant <i>Pfcr76T</i> en fonction du sexe.....	62
Figure 23 : Répartition du génotype mixte en fonction du sexe.	63
Figure 24 : Répartition du génotype sauvage <i>PfmdrN86</i> en fonction du sexe.	64
Figure 25 : Répartition du génotype mutant <i>Pfmdr86Y</i> en fonction du sexe....	65
Figure 26 : Répartition du génotype mixte en fonction du sexe	66

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Aspects distinctifs des différentes espèces de Plasmodium en fonction du cycle évolutif.	7
Tableau II : Différentes zones d'endémicité palustre.....	19
Tableau III : Programme de la réaction HRM.....	51

LISTE DES ABREVIATIONS

°C : Degrés Celsius

3D7: Souche de référence sauvage aux gènes *Pfmdr* et *Pfcr*

A: Adénine

ADN: Acide désoxyribonucléique

ARN: Acide ribonucléique

C: Cytosine

CO₂ : Dioxyde de carbone

CPN : Consultations prénatales

CQ: Chloroquine

CTA : Combinaisons thérapeutiques à base de dérivés d'artémisinine

DAPI: 4-6-Di Amidino-2-Phényl Indole

DDT: Dichloro-Diphenyl-Trichlorethane

dNTP: Di-nucléotides Triphosphate

EDTA : Ethylène-Diamine-Tetra-Acetate

ELISA: Enzyme Linked Immunosorbent Assay

G: Guanine

G6PD : Glucose 6-phosphate déshydrogénase

H3 : Hypoxanthine

HCH : Hexa-Chloro-Hexane

HRM: High Resolution Melting

HRP: Histidine Rich Protein

ICEMR: International Center of Excellence for Malaria Research

IP: Indice plasmodique

IS: Indice splénique

IV: Intraveineuse

mSP : Merozoite surface protein

N₂ : Azote

nmol : Nanomol

O₂ : Oxygène

O.M.S. : Organisation Mondiale de la Santé

PABA : Acide para-amino-benzoïque

PCR: Polymerase chain reaction

Pfcr : *Plasmodium falciparum* chloroquino-resistance transporter

Pfmdr: *Plasmodium falciparum* multi drug resistant

pLDH: Plasmodium Lactico-déshydrogénase

pmol: Picomol

PNLP : Programme national de lutte contre le paludisme

QBC: Quantitative Buffy Coat

RBM: Roll Back Malaria

RFLP: Restriction Fragment Length Polymorphism

RGPH : Recensement Général de la Population et de l'Habitat

RPMI: Roswell Park Memorial Institute

SLAP : Section de lutte antiparasitaire

SNPs: Single Nucleotide Polymorphisms

SP /AQ: Sulfadoxine-Pyriméthamine/Amodiaquine

SP: Sulfadoxine-Pyriméthamine

T: Thymine

TDR: Test de diagnostic rapide

TPI : Traitement préventif intermittent

WHO: World Health Organization

µl: Microlitre



SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	1
PREMIERE PARTIE.....	4
I. GENERALITES SUR LE PALUDISME	5
1. Définition	5
2. Epidémiologie	5
2.1. Agent pathogène.....	5
2.1.1. Classification.....	5
2.1.2. Morphologie.....	6
2.1.3. Biologie.....	13
2.2. Le vecteur.....	16
2.3. Répartition géographique	16
2.4. Modalités de transmission	18
2.5. Modalités épidémiologiques	19
3. Physiopathologie du paludisme	20
4. Symptomatologie du paludisme à <i>P. falciparum</i>	22
5. Diagnostic biologique	23
5.1. Méthodes conventionnelles	23
5.1.1. Goutte épaisse	23
5.1.2. Frottis mince	24
5.2. Tests de diagnostics rapides (TDR).	24
5.3. Méthodes moléculaires.....	25
5.3.1. PCR.....	25
5.3.2. Le QBC (Quantitative Buffy Coat).....	27
6. Traitement	27
6.1. Prise en charge d'un paludisme grave	28
7. Résistance.....	28
8. La prophylaxie.....	30
8.1. La prophylaxie individuelle	30
8.2. La prophylaxie collective	31
II. GENOME DE <i>PLASMODIUM FALCIPARUM</i>	32
1. Structure et composition.....	32
2. Les mutations de <i>Pfmdr-1</i> et <i>Pfprt</i> chez <i>P. falciparum</i>	32

DEUXIEME PARTIE : TRAVAIL PERSONNEL	34
I. JUSTIFICATIFS, CADRE ET POPULATION D'ETUDE	35
1. Cadre d'étude	35
1.1. Région de Thiès : présentation	35
1.2. Démographie générale et urbanisation	36
1.3. Situation sanitaire de la région	36
2. Présentation et fonctionnement de la SLAP	37
3. Type et période d'étude	38
3.1. Aspects éthiques	38
3.2. Critères d'inclusion	40
3.3. Critères de non inclusion	40
II. MATERIELS ET METHODES	41
1. Sélection des patients	41
2. Collecte et préparation des échantillons	41
2.1. Prélèvements	41
2.2. Conservation	41
2.3. Extraction de l'ADN	41
3. Génotypage par la méthode High Resolution Melting (HRM)	43
3.1. Principe	43
3.2. Matériels et réactifs	48
3.3. Mode opératoire	49
3.3.1. Préparation du mélange réactionnel	49
3.3.2. Etape de la PCR et analyse HRM	50
4. ANALYSE STATISTIQUE	52
1. Résultats relatifs aux patients	53
1.1. Répartition des patients selon le sexe	53
1.2. Répartition des patients selon l'âge	54
1.3. Répartition de la densité parasitaire selon l'âge	55
2. Résultats relatifs au génotypage	56
2.1. Résultats du génotypage de <i>Pfcrk76T</i>	56
2.2. Résultats du génotypage de <i>PfmdrN86Y</i>	57
2.3. Résultats des mutations combinées des gènes <i>PfmdrN86Y</i> et <i>Pfcrk76T</i>	58
2.4. Mutations des gènes <i>Pfcrk76T</i> et <i>PfmdrN86Y</i> en fonction de l'âge	59

2.4.1. Résultats du génotypage de <i>Pfcr1K76T</i> en fonction de l'âge.....	59
2.4.2. Résultats du génotypage de <i>PfmdrN86Y</i> en fonction de l'âge.....	60
2.5. Mutation des gènes <i>Pfcr1</i> et <i>Pfmdr</i> en fonction du sexe.....	61
2.5.1. Résultats du génotypage de <i>Pfcr1K76T</i> en fonction du sexe.....	61
2.5.2. Résultats du génotypage de <i>PfmdrN86Y</i> en fonction du sexe.....	64
DISCUSSION.....	67
CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS.....	67
REFERENCES.....	67

INTRODUCTION

Maladie liée à la pauvreté et cause de celle-ci, le paludisme touche non seulement la santé de milliards d'individus à travers le monde mais affecte également la richesse des pays déjà pauvres où il sévit de manière endémique. Au niveau mondial, la population susceptible d'être infectée par le parasite s'élève à 3,3 milliards dans 97 pays et territoires, et le risque est plus élevé (plus d'une chance sur 1 000 de contracter la maladie au cours d'une année) pour 1,2 milliard de personnes [83]. En 2013, le financement du contrôle et de l'élimination du paludisme a atteint US\$ 2,7 milliards, répartis entre investissements internationaux (82 %) et ressources nationales (18 %, soit US\$ 527 millions) [83].

La plupart des décès surviennent en Afrique, au sud du Sahara où ils concernent dans l'immense majorité les enfants de moins de cinq ans [47]. Au Sénégal, le paludisme représente 5,6% des motifs de consultation, avec une mortalité proportionnelle de 7,14% [61].

Depuis 2003, de nombreuses interventions sont mises en œuvre par le Programme National de Lutte contre le Paludisme (PNLP) et ont permis de réduire la prévalence du paludisme. Cette réduction tourne autour de l'utilisation de Moustiquaires Imprégnées d'Insecticide à Longue Durée d'Action (MILDA), la pulvérisation intra domiciliaire d'insecticide à effet rémanent, la Chimio-prévention du Paludisme Saisonnier (CPS) [1, 52], les Tests de Diagnostic rapide (TDR) et la prise en charge thérapeutique avec les Combinaisons Thérapeutiques à base d'Artémisinine (CTA) pour le paludisme simple et la quinine dans les cas graves.

Le défi majeur du traitement est constitué par l'apparition de résistances aux antipaludiques. Au Sénégal le traitement du paludisme simple reposait sur la chloroquine, avec l'apparition des résistances, des changements ont été effectués avec le remplacement de la chloroquine d'abord par l'association sulfadoxine-pyriméthamine en 2003 puis les CTA en 2006 [51].

P. falciparum s'adapte en permanence et développe des résistances, y compris contre les CTA et les molécules utilisées dans ces associations.

Les polymorphismes des gènes *P. falciparum* chloroquine resistance transporter (*Pfcr1*) et *P. falciparum* multidrug resistance 1 (*Pfmdr1*) sont associés à une diminution de la sensibilité à l'amodiaquine et à la luméfantrine, ces polymorphismes pourraient altérer les réponses thérapeutiques des associations artésunate-amodiaquine (ASAQ) et artéméther luméfantrine (AL).

Ainsi, rechercher ces mutations pourrait renseigner sur l'efficacité de ces associations avant l'apparition des échecs thérapeutiques. C'est dans ce contexte que nous nous sommes fixés comme objectif de déterminer la prévalence des mutations des gènes *Pfcr1K76T* et *Pfmdr1N86Y* des souches de *P. falciparum* isolées à Thiès

Notre étude a été réalisée grâce à un financement du projet ICEMR (International Center of Excellence for Malaria Research) au département de parasitologie de l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar pendant la période de transmission palustre de 2011.

PREMIERE PARTIE

I. GENERALITES SUR LE PALUDISME

1. Définition [18]

Le paludisme ou malaria est une maladie parasitaire due à la présence et à la multiplication dans l'organisme humain de protozoaires du genre *Plasmodium*. Il est transmis à l'homme par la piqûre de moustiques femelles hématophages infectés du genre *Anopheles*.

2. Epidémiologie

2.1. Agent pathogène

2.1.1. Classification

L'agent pathogène du paludisme est un protozoaire appartenant :

- au phylum des *Apicomplexa*
- à la classe des *Sporozoea*
- à l'ordre des *Haemosporina*
- à la famille des *Plasmodiidae*
- au genre *Plasmodium*

Il existe cinq espèces qui peuvent parasiter l'homme :

- *Plasmodium falciparum* : c'est l'espèce la plus pathogène et responsable des accès pernecieux potentiellement mortels. Elle est présente dans les zones tropicales d'Afrique, d'Amérique Latine et d'Asie [17].
- *P. vivax*
- *P. ovale*
- *P. malaria*
- *P. knowlesi* : espèce zoonotique du singe responsable d'un nombre important d'infections humaines en Asie du Sud-Est [16, 81].

Récemment *P. cynomolgi* parasite de la volaille a été retrouvé chez l'homme [71].

2.1.2. Morphologie

Les parasites appartenant au genre *Plasmodium* sont des protozoaires très petits (1-2 μ m) qui présentent plusieurs formes: trophozoïte, schizonte, gamétocyte. La morphologie de ces formes évolutives et des hématies parasitées varie en fonction de l'espèce plasmodiale (**Tableau I**).

Tableau I : Aspects distinctifs des différentes espèces de Plasmodium en fonction du cycle évolutif.

	<i>P. falciparum</i>	<i>P. vivax</i>	<i>P. ovale</i>	<i>P. malariae</i>	<i>P. knowlesi.</i>
Hématies parasités	Taille identique aux hématies non parasitées	Plus grandes que les hématies non parasitées Déformées irrégulièrement	Plus grandes que les hématies non parasitées Forme ovale ou frangée	Plus petites que les hématies non parasitées	Taille identique aux hématies non parasitées
Trophozoïte (forme jeune)	Anneau cytoplasmique mince. Petit noyau souvent divisé	Anneau cytoplasmique épais Gros noyau	Anneau cytoplasmique mince	Anneau cytoplasmique épais Gros noyau	Petit anneau fin, brun pâle. Noyau Comportant un ou deux grains rouges (aspect binucléé).
Trophozoïte (forme âgée)	Forme en bague plus élargie voire déformée	Corps amoeboïde : cytoplasme digité ou fragmenté + gros noyau +/- déformé + fin pigment noir	Corps amoeboïde : cytoplasme et noyau fragmentés	Forme en bague très épaisse ou forme en drapeau (rectangulaire) Gros pigment noir	Cytoplasme compact avec chromatine large.
Pigments	Tache de Maurer (tache rouge sombre en coup d'angle à la surface de l'hématie)	Granulations de Schüffner à la surface de l'hématie (granulations fines)	Granulations de Schüffner à la surface de l'hématie (granulations volumineuses)	Granulations de Ziemann abondantes	Abondant souvent en plaques équatoriale
Schizontes	<ul style="list-style-type: none"> Immatures: avec 2-4 mérozoïtes et des agrégats de pigment. Matures : mérozoïtes sont disposés de façon irrégulière: 8 à 40, généralement entre 12 et 32. 	Les formes à maturité ont 12 à 24 mérozoïtes, généralement 14 ou 20.	<ul style="list-style-type: none"> N'occupent pas plus des 2/3 de la cellule agrandie. Mérozoïtes disposés de façon irrégulière : 6 à 12, généralement 10. 	Occupent souvent toute la cellule hôte. <ul style="list-style-type: none"> Présence de 8 à 12 mérozoïtes, généralement 8 ou 10. Formes en rosette fréquente 	Occupent toute la cellule hôte. <ul style="list-style-type: none"> Présence de 10 à 14 mérozoïtes.
Gamétocytes	Forme caractéristique en banane (10µm), amas central de granulations nucléaires (rouge) et de pigment (noir)	Arrondi (10-12µm), cytoplasme bleu pâle ou mauve, fin pigment noir dispersé	Arrondi (7-8µm), cytoplasme bleu pâle ou mauve, fin pigment noir peu abondant	Arrondi (5-6µm), cytoplasme bleu pâle ou mauve, pigment noir en grains volumineux et abondants	Rond ou ovale a chromatine compact. Noyau macrogamétocyte excentré et noyau microgamétocyte diffus.

La coloration au May-Grünwald-Giemsa sur lame de frottis sanguin montre le cytoplasme coloré en bleu et le noyau en rouge. Ils apparaissent sous différentes formes : trophozoïte, schizonte, gamétocyte. L'aspect de ces différentes formes permet de différencier les espèces de *Plasmodium* pouvant infester l'homme : *P. falciparum*, *P. malariae*, *P. ovale*, *P. vivax* et *P. knowlesi* (Figures 1-5).

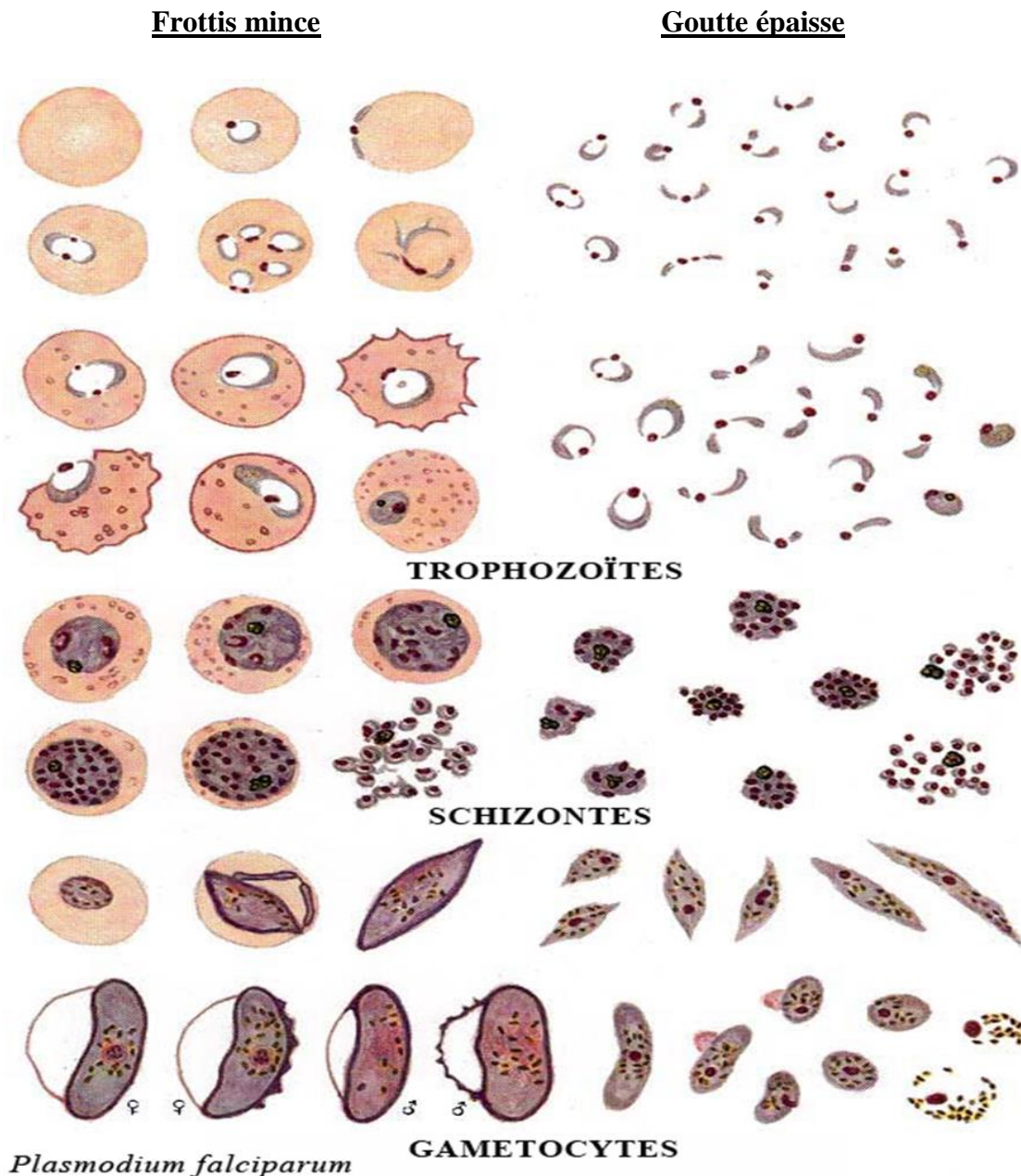
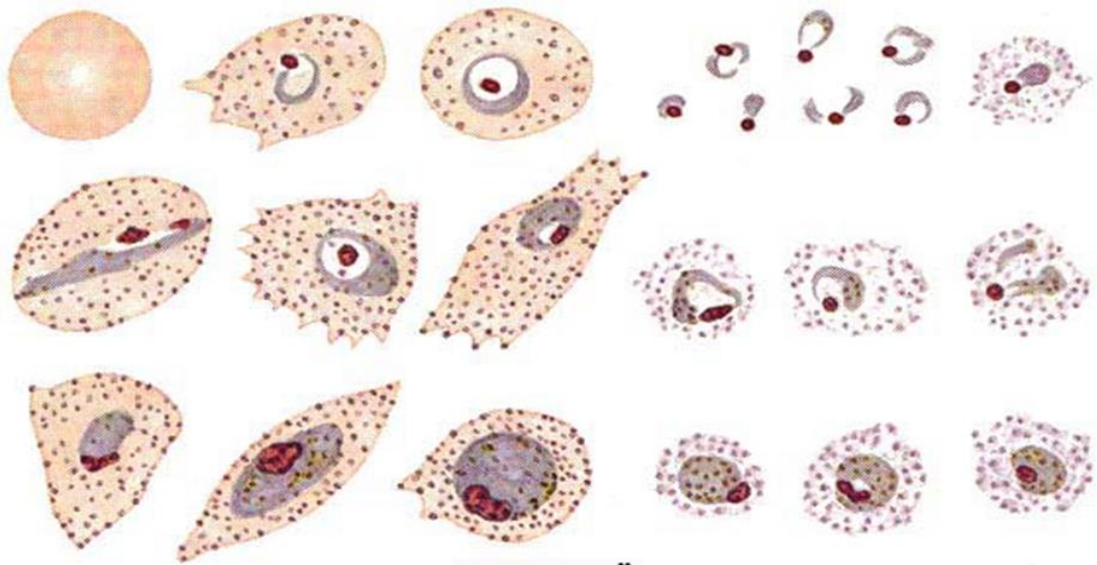


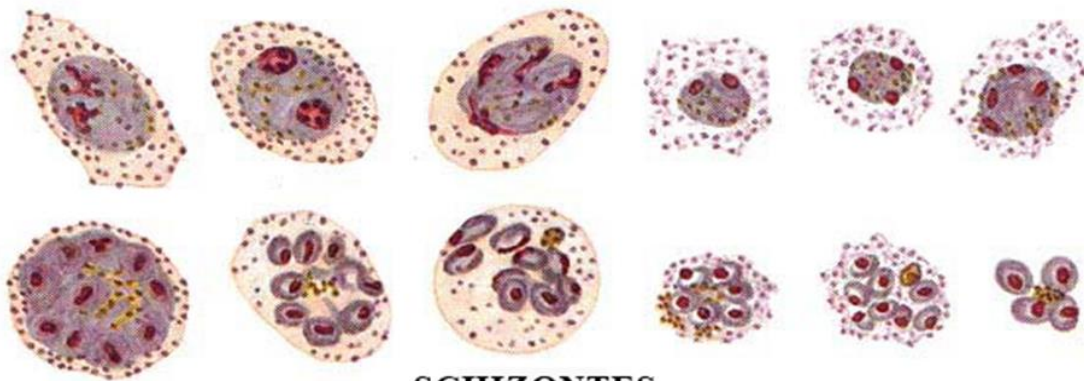
Figure 1 : *Plasmodium falciparum* à différents stades [19].

Frottis mince

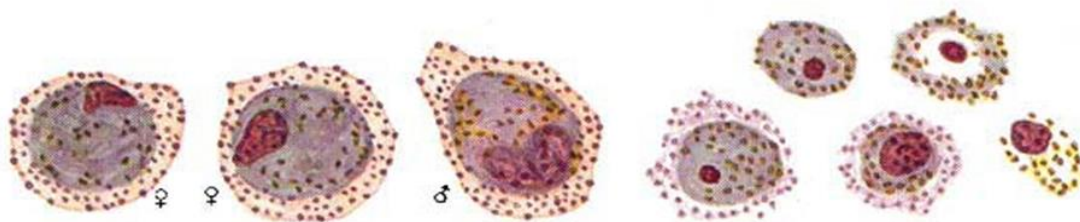
Goutte épaisse



TROPHOZOÏTES



SCHIZONTES



GAMETOCYTES

Plasmodium ovale

Figure 2 : *Plasmodium ovale* à différents stades [19].

Frottis mince

Goutte épaisse

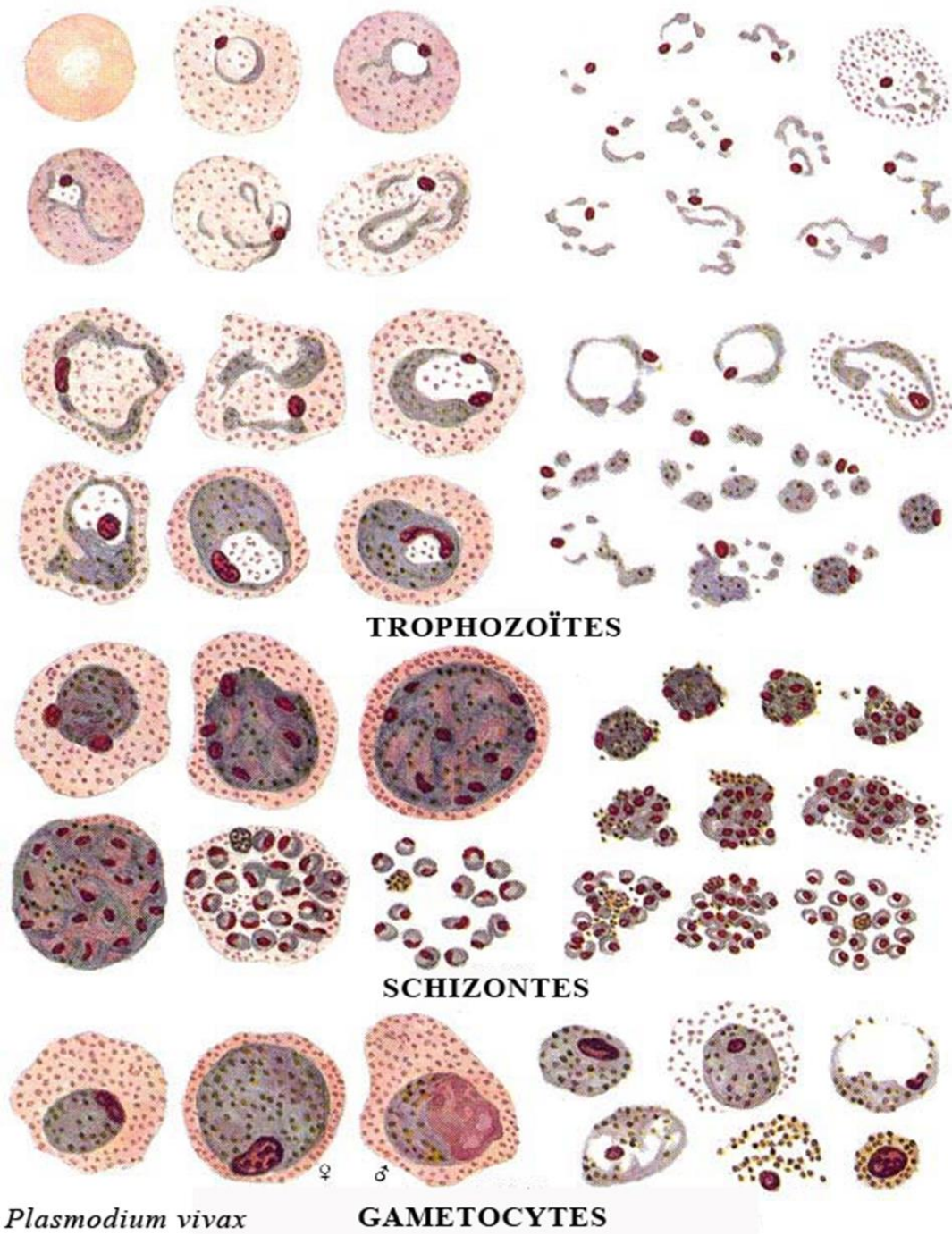


Figure 3 : *Plasmodium vivax* à différents stades [19].

Frottis mince

Goutte épaisse

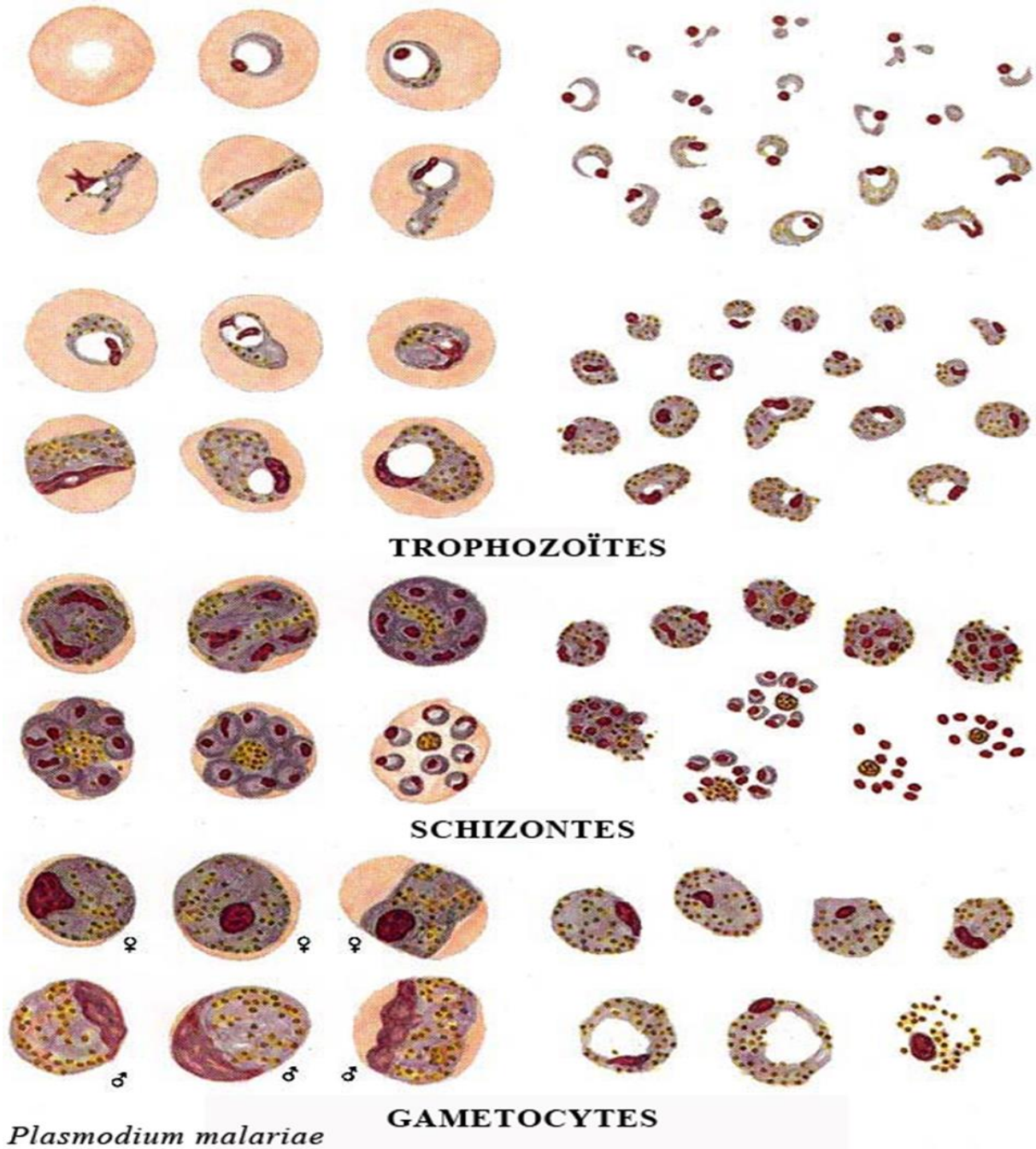


Figure 4 : *Plasmodium malariae* à différents stades [19].

Frottis mince

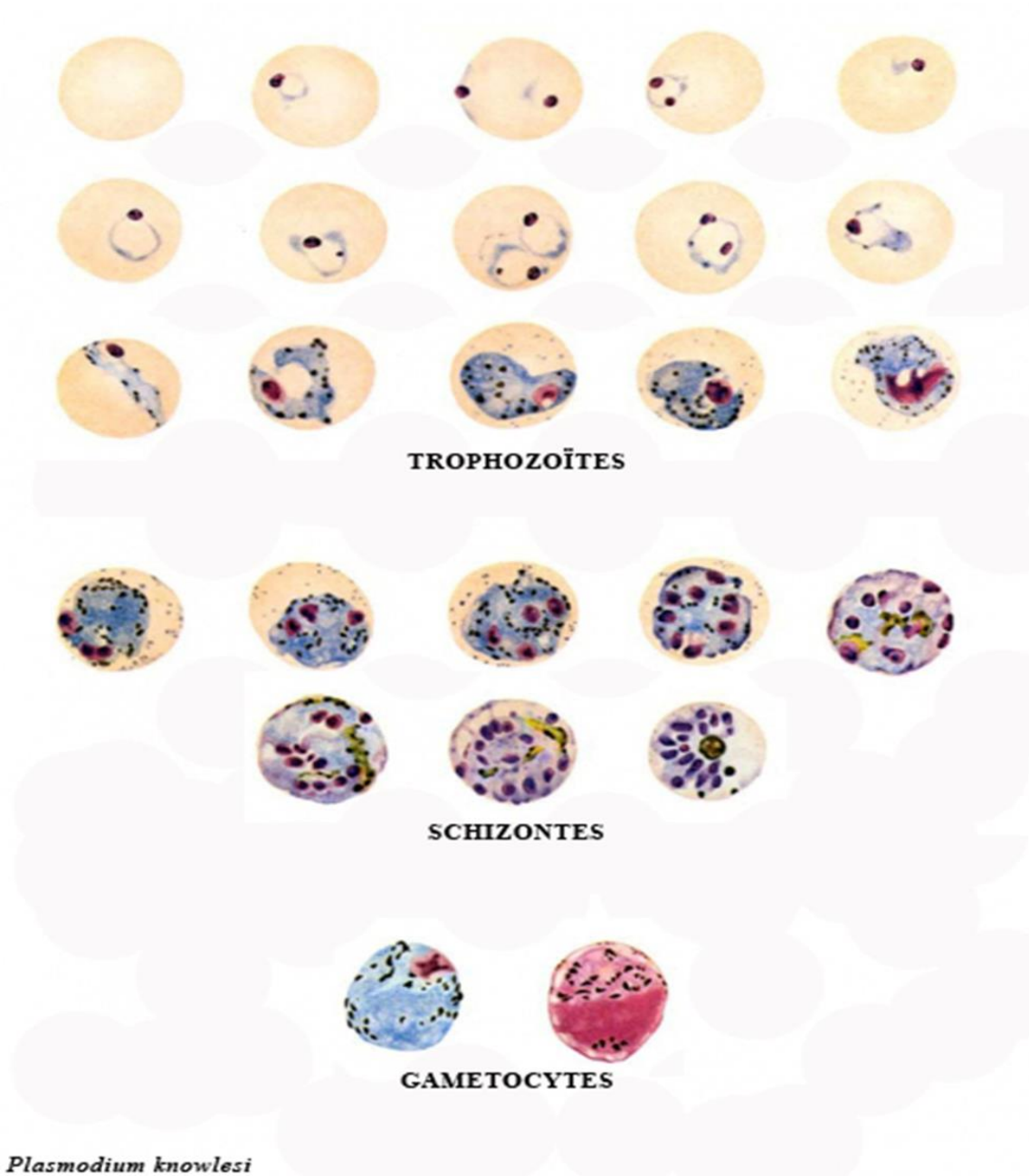


Figure 5: *Plasmodium knowlesi* à différents stades [84].

2.1.3. Biologie

❖ Habitat

Plasmodium est un parasite intra-érythrocytaire retrouvé chez l'homme dans le foie et le sang circulant. Chez l'anophèle on le retrouve dans l'intestin et la trompe. (cf. cycle évolutif)

❖ Cycle évolutif (Figure 6)

Le cycle se déroule successivement chez l'hôte vertébré qui peut être l'homme (phase asexuée chez l'hôte intermédiaire) et chez l'anophèle qui est l'hôte invertébré (phase sexuée chez l'hôte définitif).

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

- La phase hépatique ou pré-érythrocytaire (exo-érythrocytaire) : elle correspond à la phase d'incubation, cliniquement asymptomatique.
- La phase sanguine ou érythrocytaire : elle correspond à l'apparition des symptômes du paludisme.

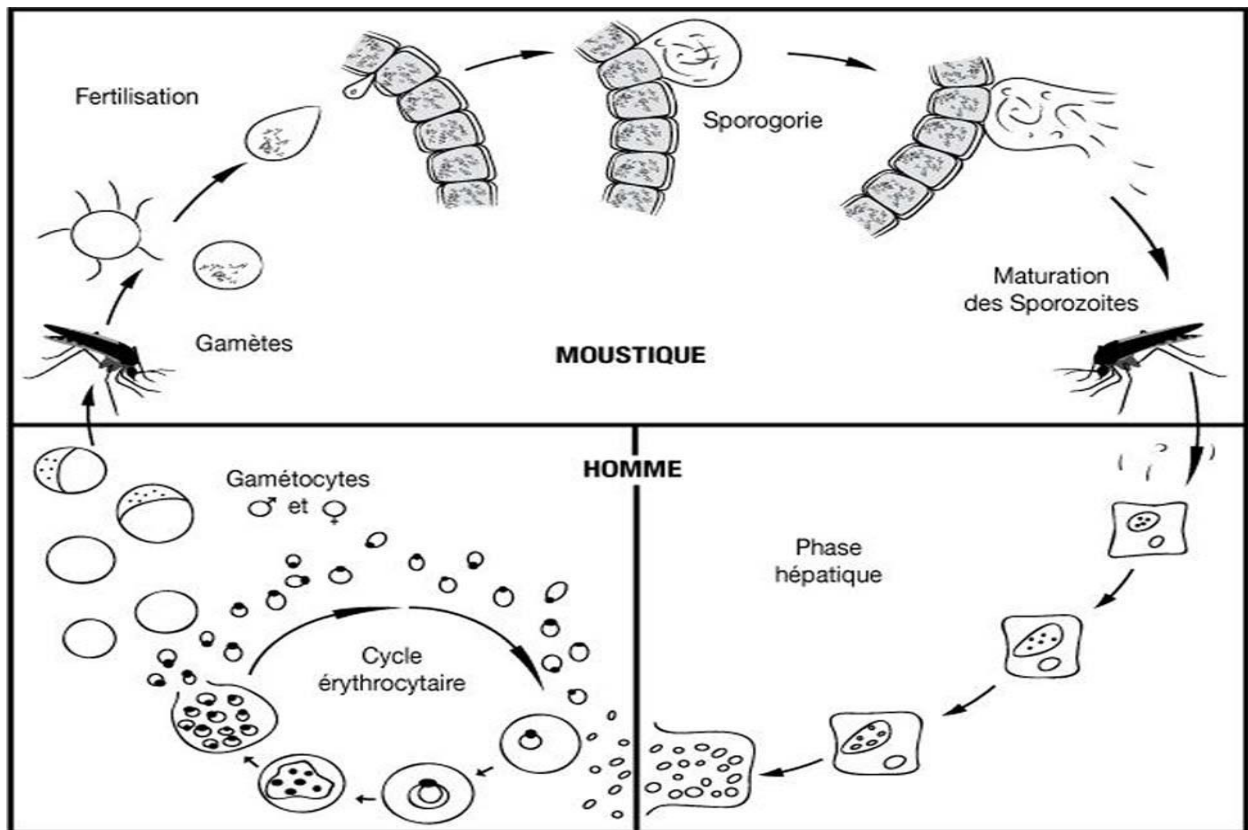


Figure 6 : Cycle du *Plasmodium* chez l’anophèle et l’homme.

➤ **Chez l’homme**

✓ **Schizogonie pré-érythrocytaire**

Les **sporozoïtes** inoculés par l’anophèle femelle à l’homme lors de son repas sanguin restent pendant une trentaine de minutes dans la circulation sanguine. Beaucoup sont détruits par les macrophages mais certains parviennent à gagner les hépatocytes. Ils se transforment en **trophozoïte**. Le trophozoïte accroît son noyau et devient un trophozoïte âgé.

Ce dernier se transforme en **schizontes pré-érythrocytaires** ou « corps bleus » (formes multinucléées) qui, après quelques jours de maturation, éclatent et libèrent des milliers de **mérozoïtes** dans le sang (10 000 à 30 000 mérozoïtes en fonction des espèces).

La schizogonie hépatique est unique dans le cycle, la cellule hépatique ne pouvant être infectée que par des sporozoïtes.

Dans les infections à *P. vivax* et *P. ovale*, une schizogonie hépatique retardée (hypnozoïtes) peut entraîner la libération dans le sang de mérozoïtes plusieurs mois ou plusieurs années après la piqûre du moustique, expliquant ainsi les reviviscences tardives observées avec ces 2 espèces. Les hypnozoïtes n'existent pas dans l'infection à *P. falciparum* (évolution d'un seul tenant) et ils n'ont pas été mis en évidence non plus dans l'infection à *P. malariae*.

✓ Schizogonie érythrocytaire

Très rapidement les mérozoïtes pénètrent dans les globules rouges. La pénétration du mérozoïte dans l'érythrocyte et sa maturation en trophozoïte puis en schizonte prend 48 ou 72 heures (en fonction de l'espèce) et conduit à la destruction du globule rouge et à la libération de 8 à 32 nouveaux mérozoïtes. Ces mérozoïtes pénètrent dans de nouveaux globules rouges et débutent un nouveau cycle de réplication.

Après un certain nombre de cycles érythrocytaires, certains mérozoïtes subissent une maturation, accompagnée d'une différenciation sexuée : ils se transforment en gamétocytes mâles et femelles.

➤ Chez l'anophèle femelle

Les gamétocytes, ingérés par le moustique lors d'un repas sanguin sur un sujet infecté, se transforment en **gamètes mâles et femelles** qui fusionnent en un œuf libre, mobile appelé **ookinète**. Cet ookinète quitte la lumière du tube digestif, se fixe ensuite à la paroi externe de l'estomac et se transforme en **oocyste**. Les cellules parasitaires se multiplient à l'intérieur de cet oocyste, produisant des centaines de sporozoïtes qui migrent ensuite vers les glandes salivaires du

moustique. Ces sporozoïtes sont les formes infestantes prêtes à être inoculées avec la salive du moustique, lors d'un repas sanguin sur un hôte vertébré.

2.2. Le vecteur

Le vecteur du paludisme est l'anophèle femelle ; arthropode appartenant :

- à l'ordre des *Diptères*
- à la sous ordre des *Nématocères*
- à la famille des *Culicidae*
- à la sous famille des *Anophelinae*
- au genre *Anopheles*

Il existe environ 400 espèces décrites, dont près de soixante sont vectrices du paludisme.

A. gambiae, *A. funestus* et *A. arabiensis* sont les vecteurs du paludisme les plus importants en Afrique Sub-saharienne [70].

Au Sénégal on retrouve uniquement *Anopheles funestus* et *Anopheles gambiae*. Les anophèles passent au cours de leur vie par quatre stades successifs : œuf, larve, nymphe et imago ou adulte. Les trois premiers sont aquatiques tandis que l'adulte a une vie aérienne.

2.3. Répartition géographique [45]

Le paludisme sévit dans pratiquement toutes les zones intertropicales et existe encore dans plusieurs zones subtropicales ou même tempérées (**figure 7**).

P. falciparum ne se trouve qu'en zone inter tropicale, *P. vivax* est retrouvé en Afrique du nord, à Madagascar, en Asie et en Amérique du sud, alors que *P. ovale* est surtout localisé en Afrique centrale et *P. malariae* existe partout mais est peu représenté.

Dans le monde 3,3 milliards personnes répartis dans 97 pays et territoires sont susceptibles d'être infectées, et le risque est plus élevé (plus d'une chance sur 1 000 de contracter la maladie au cours d'une année) pour 1,2 milliard de personnes [83].

A l'exception des zones désertiques et hautes montagneuses, le paludisme sévit dans les zones intertropicales soit en Afrique, en Asie et en Amérique du Sud et Central. La zone la plus touchée est l'Afrique où la quasi-totalité du continent est exposé aux risques de la maladie. Le paludisme a été définitivement éradiqué en Europe il y'a une cinquantaine d'années. Mais aujourd'hui, l'intensification des voyages internationaux a augmenté le nombre de cas importés, ce qui pourrait réintroduire le paludisme dans des zones actuellement indemnes : on parle de paludisme d'importation.

Au Sénégal, le paludisme sévit à l'état endémique avec une recrudescence saisonnière. L'essentiel de la transmission s'effectue au cours de la saison des pluies et en début de saison sèche, période favorable au développement des espèces vectrices.

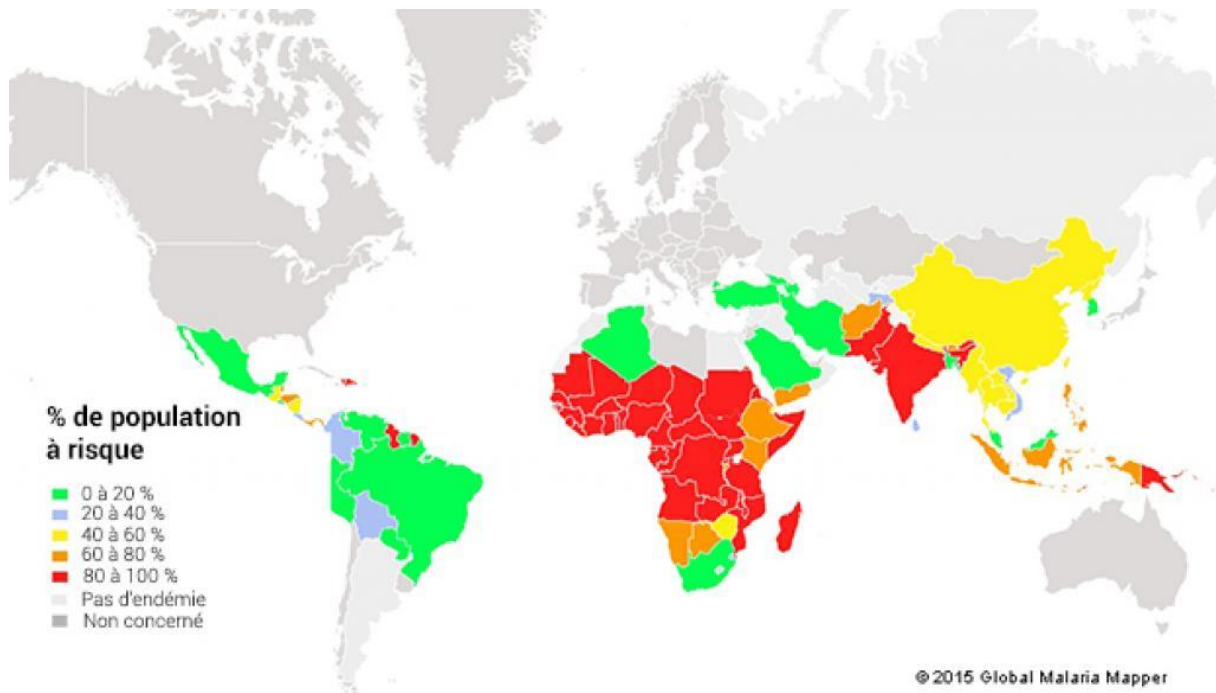


Figure 7 : Pays et territoires affectés par le paludisme en 2015 (OMS).

2.4. Modalités de transmission [14]

Le paludisme est transmis surtout pendant la nuit, par la piqûre d'un moustique, l'anophèle femelle. La phase sanguine du cycle rend possible d'autres modes de contamination : transmission congénitale, transfusionnelle, par greffe d'organe ou transmission accidentelle chez des personnels de santé manipulant du sang contaminé. En pratique ces transmissions sont tout à fait exceptionnelles et n'influencent pas l'épidémiologie.

2.5. Modalités épidémiologiques [13]

Pour évaluer l'endémicité palustre deux indices sont utilisés pour classer les régions (**Tableau II**).

- L'indice splénique est le pourcentage des porteurs de splénomégalie chez les enfants de 2 à 9 ans.
- L'indice plasmodique est le pourcentage de sujets examinés présentant des hématozoaires dans le sang.

Tableau II : Différentes zones d'endémicité palustre [38]

Niveau d'endémie	Indice splénique (IS)	Indice plasmodique (IP)
Zone Hypo endémique	$0 < IS \leq 10\%$	$IP < 25\%$
Zone méso-endémique	$10 < IS \leq 50\%$	$25 < IP \leq 50\%$
Zone hyper-endémique	$50 < IS \leq 75\%$	$50 < IP \leq 75\%$
Zone holo-endémique	$\geq 75\%$	$\geq 75\%$

L'épidémiologie du paludisme est extrêmement variable d'une zone géographique à une autre. Cette hétérogénéité est sous la dépendance de nombreux facteurs. Nous avons déjà évoqué le rôle de la distribution des anophèles et leur capacité vectorielle, ainsi que les caractéristiques biologiques des parasites. Un autre facteur extrêmement important est le rôle de l'immunité.

❖ Immunité naturelle

Bien qu'encore mal connus, il existe très probablement des facteurs génétiques conférant à certains sujets une immunité naturelle, au moins partielle. On évoque des facteurs érythrocytaires : trait drépanocytaire (sujet AS), groupe sanguin Duffy négatif, et des facteurs non érythrocytaires: système HLA, polymorphisme de la réponse immune, facteurs ethniques...

❖ **Immunité acquise**

Elle joue incontestablement un rôle essentiel dans le paludisme. Cette immunité s'acquiert progressivement en situation d'exposition continue. Elle n'est pas stérilisante (n'empêche pas d'être de nouveau contaminé) et ne permet pas de se débarrasser totalement du parasite. En revanche elle empêche progressivement la survenue de formes cliniques graves. Cela explique qu'en zone de transmission intense, les jeunes enfants payent le plus lourd tribut à la maladie. Progressivement le risque d'accès grave diminue alors que le sujet tolère des parasitémies de plus en plus importantes tout en restant cliniquement asymptomatique. En zone de transmission intense il est exceptionnel qu'un sujet adulte décède du paludisme.

Cette immunité est donc « non stérilisante », fonction de l'espèce, et ne se développe qu'après une longue période d'exposition ininterrompue. Elle est transmissible (nouveau-né). En revanche elle n'est jamais totale et jamais définitive.

3. Physiopathologie du paludisme [8]

La physiopathologie du paludisme est bien connue et les répercussions de l'infection palustre sur certains organes ont été bien décrites.

❖ **Le sang**

La phase de schizogonie érythrocytaire entraîne une hémolyse responsable d'une anémie d'installation progressive. L'hémoglobine libérée par l'hémolyse provoque une surcharge rénale et est partiellement transformée en bilirubine dans le foie. L'excès est éliminé dans les urines entraînant une hémoglobinurie. D'autre part l'utilisation de l'hémoglobine par le parasite amène la précipitation dans son cytoplasme de granules de pigment (hémozoïne). Le pigment, accumulé dans le cytoplasme du schizonte, est relargué dans le plasma lors de la

libération des mérozoïtes. Il est alors phagocyté par les monocytes-macrophages et les polynucléaires neutrophiles.

Les plaquettes sont séquestrées par des mécanismes encore mal précisés, probablement immunologiques. La conséquence en est une thrombopénie, perturbation biologique fréquemment observée au cours du paludisme.

❖ **La rate**

La rate est hypertrophique, molle et congestive. Sa couleur caractéristique, rouge foncé, parfois brune est due à l'accumulation du pigment internalisé par les phagocytes.

L'augmentation de volume est provoquée par l'hypertrophie de la pulpe blanche (lymphocytes, cellules réticulaires, macrophages). L'activité phagocytaire concerne les globules rouges parasités, les débris cellulaires, le pigment parasitaire.

Histologiquement, au cours du paludisme viscéral évolutif, la rate est énorme, fibrocongestive et foncée à la coupe avec une hyperplasie lymphoïde et histiocytaire mais les parasites y sont rares.

❖ **Le foie**

La schizogonie exo-érythrocytaire ne produit aucune lésion inflammatoire. La destruction par les schizontes d'un certain nombre de cellules parenchymateuses passe inaperçue. On observe une hyperplasie des cellules de Küpffer chargées de la phagocytose des débris cellulaires et de l'hémozoïne, associée à des dépôts d'hémosidérine. Ultérieurement les dépôts de pigment envahissent les espaces portes au sein d'infiltrats lympho-histiocytaires.

4. Symptomatologie du paludisme à *P. falciparum* [9]

❖ Accès palustre de primo invasion à *P. falciparum*

C'est la forme clinique la plus courante en zone d'endémie, elle est observée chez les jeunes enfants.

➤ Incubation

Elle correspond à la durée de la phase hépatocytaire (7 à 12 jours pour *P. falciparum*) et est totalement asymptomatique.

➤ Invasion

Elle est marquée par l'apparition d'une fièvre brutale, continue, souvent accompagnée d'un malaise général avec myalgies, céphalées et parfois troubles digestifs (anorexie, douleurs abdominales, nausées, vomissements et même parfois diarrhée). On parle « d'embarras gastrique fébrile ». L'examen clinique est à ce stade souvent normal, le foie et la rate ne sont pas palpables.

Ultérieurement le foie peut augmenter de volume et devenir un peu douloureux, la rate devient palpable au bout de quelques jours, les urines sont rares, foncées et peuvent contenir des protéines. On observe parfois un bouquet d'herpès labial.

Or le malade peut, à tout moment et en quelques heures, évoluer de « l'accès simple » (c'est à dire non compliqué) vers un accès grave, d'évolution rapidement mortelle en l'absence d'une prise en charge adaptée. Au début de l'épisode, aucun argument épidémiologique, clinique ou biologique, ne permet de faire un pronostic et de savoir si un patient évoluera ou non vers un tableau grave.

❖ Accès palustre à fièvre périodique

Cette forme clinique correspond à la description de la triade classique de l'accès palustre : « frissons, chaleur, sueurs » survenant tous les 2 ou 3 jours. En pratique elle n'est observée de manière typique que dans les infestations à *P. vivax*, *P. ovale* et *P. malariae*, faisant suite à un accès de primo invasion non traité, mais pouvant survenir longtemps après l'épisode fébrile initial.

La fièvre tierce avec clocher thermique survenant à J1, J3, J5 ... Elle correspond à une schizogonie de 48 heures. En pratique elle peut être régulière et correspondre à une infection par *P. vivax* ou *P. ovale* (fièvre tierce bénigne).

Elle peut être irrégulière et faire suite à un accès de primo-invasion à *P. falciparum* (fièvre tierce maligne). Dans ce dernier cas il faudra toujours redouter l'évolution possible, vers un accès grave.

La fièvre quarte avec clocher thermique survenant à J1, J4, J7 ... Elle correspond à une schizogonie de 72 heures et elle est donc observée exclusivement au cours des infections à *P. malariae*.

Quelle que soit l'espèce en cause, la répétition de ces accès s'accompagne d'une anémie et d'une splénomégalie progressivement croissante. Cela explique que tout paludisme, même dû à une espèce autre que *P. falciparum*, peut à terme avoir des répercussions graves, notamment chez les enfants.

5. Diagnostic biologique

5.1. Méthodes conventionnelles

5.1.1. Goutte épaisse

Cette technique de micro-concentration très ancienne reste **la méthode de référence**. Elle consiste à examiner quelques microlitres (μ l) de sang après hémolyse des globules rouges et coloration selon la méthode de Giemsa.

C'est une excellente technique mais de réalisation un peu délicate et qui nécessite une bonne expérience pour la lecture.

5.1.2. Frottis mince

La lame est colorée selon la méthode de May-Grünwald-Giemsa ou par du Giemsa après fixation à l'alcool. Les parasites, colorés en rouge (noyau) et bleu (cytoplasme) sont retrouvés à l'intérieur des globules rouges (pas d'hémolyse avec cette technique) rendant l'identification et le diagnostic d'espèce plus aisés. Par contre la quantité de sang examinée est plus faible que sur une goutte épaisse et donc cette méthode peut être mise en défaut en cas de parasitémie faible (sensibilité théorique 20 à 30 fois moindre qu'avec la goutte épaisse).

La démarche diagnostique idéale doit associer l'examen microscopique d'un frottis sanguin et d'une goutte épaisse (Révision 2007 de la Conférence de Consensus de 1999).

5.2. Tests de diagnostics rapides (TDR).

Ce sont des méthodes immunochromatographiques. Le principe de ces tests est la détection de protéines spécifiques de *Plasmodium* (antigènes ou enzymes), en chromatographie sur un support solide.

C'est ainsi que pour le diagnostic rapide du paludisme, on peut rechercher :

❖ L'antigène HRP-2 (Histidin Rich Protein 2)

Il permet la mise en évidence de l'antigène HRP2 spécifique de *P. falciparum* dans le sang du sujet infecté.

Ce sont des kits vendus dans le commerce, très sensibles, même dans les cas de parasitémie faible avec examen microscopique négatif. Mais ils ne permettent pas d'apprécier la parasitémie ou de faire un contrôle de traitement.

En raison de la persistance de l'antigénémie pendant environ trois semaines après la clairance ces tests peuvent rester positifs après disparition de la parasitémie.

Cette particularité peut permettre le diagnostic rétrospectif d'accès palustres en cas de traitement présomptif effectué à l'aveugle.

❖ **La lactico déshydrogénase plasmodiale (pLDH)**

La pLDH (*Plasmodium Lactico déshydrogénase*) est une enzyme glycolytique soluble exprimée à des taux élevés, aux stades de développement asexués des parasites du paludisme. Elle est trouvée chez chacune des quatre espèces de *Plasmodium*.

5.3. Méthodes moléculaires

5.3.1. PCR

❖ **Principe**

C'est un processus d'amplification de l'ADN in vitro. Elle permet d'obtenir un très grand nombre de copies d'ADN choisis.

Elle permet de déceler les mutations. C'est une technique sensible et spécifique

Elle utilise deux amorces qui sont sous forme d'ADN simple brin de courte taille. Elle comporte trois étapes principales que sont : la dénaturation, l'hybridation et l'extension.

➤ **La dénaturation**

C'est l'étape pendant laquelle les deux brins de l'ADN sont séparés par une élévation de la température correspondant à la température de fusion. A ce stade 50% de l'ADN se trouve sous forme simple brin. En fait, plus la température est élevée, plus le nombre de molécules d'ADN simples brins augmente. Cette

température peut aller jusqu'à 97°C. Cette étape dure 15 à 30 secondes en fonction de la longueur de la séquence.

➤ **L'hybridation**

C'est la seconde étape et a lieu lors du refroidissement avec la baisse de la température de la réaction. Les amorces s'hybrident à leurs séquences complémentaires sur l'ADN cible. La température d'hybridation varie entre 50 et 72°C. Cette étape dépend également de la séquence et du nombre de nucléotides de l'amorce.

➤ **L'extension**

C'est la dernière étape. Chaque amorce fixée sur l'un des deux brins va s'étendre à partir de son extrémité 5' par une succession de nucléotides par le biais de l'ADN polymérase. L'extension des deux amorces se fait en sens opposé en incluant la séquence à amplifier. La température portée à 72°C permet à l'ADN polymérase thermostable, d'effectuer une synthèse plus rapide.

Ces trois étapes sont répétées 35 à 40 fois selon la quantité d'ADN de départ.

❖ **Détection et analyse des produits de la PCR**

➤ **L'électrophorèse**

L'électrophorèse est la migration de particules chargées sous l'influence d'un champ électrique. Dans un milieu liquide, les acides nucléiques se déplacent à la même vitesse donc ils peuvent y être séparés qu'en fonction de leur taille. Les milieux utilisés sont ceux qui freinent les molécules en fonction de leur taille, c'est le cas des gels. En PCR, les fragments obtenus sont analysés sur gels d'agarose.

➤ **La révélation des produits de la PCR**

Les produits de PCR sont décelés après marquage. Les méthodes de marquage les plus sensibles sont celles qui utilisent soit du bromure d'éthidium (BET), soit du nitrate d'argent (AgNO_3), soit des radio-isotopes.

➤ **La détermination de la taille des fragments**

Elle se fait par l'introduction d'un marqueur de taille (ou de poids moléculaire) que l'on fait migrer en même temps que les échantillons. Le marqueur permet de connaître la taille des différents fragments obtenus.

5.3.2. Le QBC (Quantitative Buffy Coat)

Il s'agit d'une technique basée sur une centrifugation différentielle en tube capillaire associé à un marquage par l'acridine orange des cellules contenant de l'acide nucléique y compris le *Plasmodium*. Il s'agit d'une technique de concentration, très facile à maîtriser, donnant une sensibilité équivalente à celle de la goutte épaisse. En revanche elle nécessite un matériel spécifique et le coût est très élevé.

6. Traitement

Une des difficultés majeures du traitement (curatif ou prophylactique) du paludisme réside actuellement dans la progression de la résistance de *P. falciparum* vis à vis des antipaludiques en général, et de la chloroquine en particulier (antipaludique très largement utilisé à l'échelle mondiale pendant toute la deuxième moitié du 20^{ème} siècle. Actuellement les résistances continuent de progresser à la fois en termes géographiques (de plus en plus de pays sont touchés) et en terme d'intensité (la chloroquine n'est plus la seule molécule concernée) [10].

❖ **Accès palustre simple à *P. falciparum* [11]**

Le choix du protocole thérapeutique doit donc être guidé par l'efficacité théorique de la molécule et sa faible toxicité : rapport bénéfice / risque. Le Sénégal a changé sa politique nationale de traitement de l'accès palustre simple en introduisant l'association sulfadoxine-pyriméthamine (SP) en 2003. En 2006, le PNLP a adopté les combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine (CTA) dans le traitement de première intention de l'accès palustre simple conformément aux recommandations de l'OMS.

6.1. Prise en charge d'un paludisme grave [12]

Les modalités de prise en charge d'un paludisme grave reposent sur les principes suivants :

- Identification des signes de gravité face à un accès palustre (cliniquement suspecté ou déjà confirmé biologiquement). Pour tout paludisme grave le patient doit être hospitalisé en urgence dans une unité de réanimation.
- Mise en route immédiate d'un traitement à base de quinine par voie intraveineuse
- Traitement symptomatique ; en cas de défaillance viscérale le traitement antiparasitaire devra être complété par des mesures de réanimation habituelles.
- Enfant et femme enceinte : les principes de prise en charge sont les mêmes en tenant compte d'un risque plus élevé d'hypoglycémie.

7. Résistance

L'OMS a défini en 1965 et 1973 la résistance comme la « capacité du parasite à survivre et/ou à se multiplier en dépit de l'administration et de l'absorption d'un

médicament donné à doses égales ou supérieures à celles habituellement recommandées mais dans les limites de la tolérance du malade » [39, 58].

La chimiorésistance essentiellement celle de *P. falciparum*, par les difficultés thérapeutique qu'elle implique ,accroit singulièrement l'importance et le coût du paludisme dans les régions d'endémicité les moins développées. Les schizontocides majeurs ont un rôle marginal pour diminuer la transmission du paludisme, étant peu ou pas actifs sur les formes infestantes de l'homme (sporozoïtes) ou de l'anophèle (gamétocytes).

En ce sens , la quinine depuis 1830 , puis les antipaludiques de synthèse (chloroquine,pyriméthamine,proguanil) depuis 1950 ont contribué de façon spectaculaire au contrôle du paludisme .

Depuis 1960 , l'extension de la chimiorésistance a des conséquences cliniques et économiques graves.

Les mécanismes de chimiorésistance opposés par le parasite aux antipaludiques commencent à être mieux connus. Ils sont complexes et seraient susceptibles de s'étendre aux médicaments récemment introduits (dérivés de l'artémisines, mefloquine, halofantrine), et leur fréquence s'étend à mesure de leur sélection par la pression médicamenteuse.

Les parasites partagent avec les virus une grande variabilité génétique , source d'échappement immunitaire et de chimiorésistance. Les variants , issus d'erreurs de réplication de l' ADN sont d'autant plus fréquents que la multiplication asexuée est rapide et que les systèmes enzymatiques de réparation de l'ADN sont imparfaits. Au cours du cycle érythrocytaire de *P. falciparum* , l'ADN se réplique cinq fois en 48 heures et la probabilité de mutation par nucléotide par réplication est de 10^{-8} . Les mutations à l'origine des résistances altèrent le mécanisme d'accumulation du médicament ou modifient sa cible [33].

Elle constitue le point focal de ce travail et elle est en relation avec la mutation des gènes incriminés dans la résistance de *P. falciparum* à certains antipaludiques.

Le séquençage du génome d'agents pathogènes semble avoir apporté de nouvelles approches pour leur prise en charge et leur surveillance. Dans le cas du paludisme, cela a concerné particulièrement les gènes de deux types de protéines impliquées dans le mécanisme d'action de médicaments ou dans la résistance du plasmodium. Il s'agit :

- d'une part de protéines cibles de médicaments impliquées dans le métabolisme parasitaire,
- d'autre part de protéines de transport capables de chasser la molécule médicamenteuse [63]

Des mutations peuvent altérer le fonctionnement normal de ces protéines. La preuve d'un lien de cause à effet entre ces mutations et la résistance a été apportée par des croisements génétiques [70]. L'identification de ces mutations chez les parasites résistants aux concentrations thérapeutiques sanguines et la démonstration que ces mutations sont liées à des échecs en font des marqueurs moléculaires de résistances.

8. La prophylaxie

8.1. La prophylaxie individuelle

La chimioprophylaxie n'est plus recommandée par l'OMS pour les individus vivant en zone d'endémie palustre à moins que ce ne soit une femme enceinte ou les enfants de moins cinq ans. Depuis 2003, l'OMS a publié une recommandation de politique de santé en faveur d'une nouvelle intervention contre le paludisme à *P. falciparum* ; la chimioprévention du paludisme saisonnier (CPS), autrefois appelée traitement préventif intermittent (TPI). Le TPI se définit comme l'administration intermittente du traitement antipaludéen

au cours de la saison de transmission du paludisme pour éviter la morbidité et la mortalité dues à cette infection. La TPI a été adopté par 34 des 45 pays d'Afrique où la transmission du paludisme est active [83].

L'utilisation des Moustiquaires Imprégnés d'Insecticide à Longue Durée d'Action (MILDA) est un moyen de protection très efficace dans la lutte contre le paludisme.

8.2. La prophylaxie collective

C'est principalement la lutte contre le vecteur en éliminant tous les points d'eau stagnants où peut se développer l'anophèle mais aussi la pulvérisation intra domiciliaire d'insecticide à effet rémanent (DDT, malathion, propoxur ...).

II. GENOME DE *PLASMODIUM FALCIPARUM*

1. Structure et composition

P. falciparum est composé d'un génome chromosomique (14 chromosomes) et d'un génome extra-chromosomique (mitochondrie, apicoplaste). Il possède 6000 à 7000 gènes parmi lesquels les gènes *Pfmdr-1* (chromosomes 5) et *Pfprt* (chromosomes 7), impliqués dans la résistance aux antipaludiques.

Le génome de la souche de référence 3D7 de *P. falciparum* est composé de 22,8 Méga bases (Mb) repartie sur les 14 chromosomes. Le génome nucléaire est riche en A+T (82%) avec toutefois une distribution non uniforme. Les gènes sont moins riches en A+T (60 à 70%) que les introns et régions inter-géniques (> 85%) [68].

2. Les mutations de *Pfmdr-1* et *Pfprt* chez *P. falciparum*

Les mutations dans le génome de *P. falciparum* sont parfois simples, d'autres fois elles sont multiples, comme sur les gènes *Pfmdr-1* et *Pfprt* responsables de la résistance aux quinoléines.

Le polymorphisme de ces deux gènes est impliqué dans la résistance aux antipaludiques. En effet le gène *Pfmdr1* localisé sur le chromosome 5 code la P-glycoprotéine homologue (Pgh1), une protéine de la superfamille des ABC transporteurs, homologue des pompes d'efflux de médicaments présentes dans des cellules résistantes aux anticancéreux [22]. Sa mutation Asn86Tyr (*PfmdrN86Y*) a été associée à la résistance à l'amodiaquine [82].

Il est enfin possible que ce soit l'augmentation du nombre de copies de gènes comme *Pfmdr-1* [70] qui induise des résistances à la méfloquine, à la luméfantine et à des dérivés de l'artémisinine [58, 59].

Inversement, la version non mutée du codon 86 du gène *PfmdrN86Y* était sélectionnée par des traitements par la combinaison artéméter-luméfantine (AL) [31, 69], suggérant qu'elle pourrait être un marqueur de résistance à la luméfantine [82].

Le gène *Pfcrt* (chromosome 7) code une protéine de transport de la membrane de la vacuole digestive où s'accumule normalement la chloroquine. La mutation Lys76Thr du gène *Pfcrt* (*PfcrtK76T*) est associée à la résistance à la chloroquine au point qu'elle est présente chez toutes les souches résistantes [7].

Cependant cette mutation a été associée à la résistance à la chloroquine dans certaines études et pas dans d'autres. La présence de cette mutation est associée à une multiplication du risque de résistance *in vivo* à la chloroquine par 2,2 sur un suivi de 14 jours et par 1,8 sur un suivi de 28 à 42 jours [56]. En effet, dans plusieurs études, la mutation de *Pfmdr-1N86Y* a été trouvée préférentiellement associée à celle *PfcrtK76T*. La combinaison de ces deux mutations (*Pfmdr1N86Y* + *PfcrtK76T*), multiplie le risque de résistance *in vivo* à la chloroquine par 3,9, ce qui ne diffère pas de ce qui a été observé pour la mutation *PfcrtK76T* prise isolément. Le rôle du gène *Pfmdr1* dans la résistance à la chloroquine, est donc controversé et ne peut être que limité [22, 82].

L'introduction expérimentale de mutations a été associée *in vitro* à une résistance à la quinine [46, 64] et à une augmentation de la sensibilité à la méfloquine, l'halofantrine, la luméfantrine et aux dérivés de l'artémisinine [22, 82].

Le rôle de ces mutations n'a pas été clairement confirmé sur le terrain, en particulier la résistance aux dérivés de l'artémisinine qui émerge actuellement à la frontière Thaïlande - Cambodge n'est pas associée au gène *Pfmdr1* [69].

DEUXIEME PARTIE : TRAVAIL PERSONNEL

I. JUSTIFICATIFS, CADRE ET POPULATION D'ETUDE

1. Cadre d'étude

La section de lutte antiparasitaire (SLAP) du département de Thiès (**Figure 8**) a été choisie comme site de recrutement des patients de notre étude.

1.1. Région de Thiès : présentation



Figure 8 : Carte de la région de Thiès [41].

La région de Thiès présente une superficie de 6601 km², soit 3,3 % du territoire national, elle fait partie avec Dakar et Diourbel, des plus petites régions du pays. Elle est limitée au Nord par la région de Louga, au Sud par la région de Fatick, à l'Ouest par l'Océan Atlantique et la région de Dakar, et à l'Est par les régions de Diourbel et Fatick.

La région possède d'importantes nappes souterraines et superficielles, l'eau est également de bonne qualité (salinité inférieure à 0,3 g/L) et la moyenne pluviométrique est de 300 à 500mm/an. La Région de Thiès est le deuxième pôle socio-économique du pays après Dakar ; ceci s'explique par sa position de carrefour entre Dakar et les autres régions et ses réseaux structurants. Sur le plan économique, plusieurs activités ont lieu dans cette région notamment la pêche, l'élevage, l'agriculture, le tourisme, la télécommunication, le transport, l'industrie et les mines.

1.2. Démographie générale et urbanisation

La région de Thiès est située au centre de la zone soudano-sahélienne (**Figure 8**). Elle est à 70 Km de la ville de Dakar et a une superficie de 6601 Km² soit 3,35% du territoire national. Selon l'Agence Nationale de la Statistique et de la Démographie (ANSD), elle abrite environ 1.743.707 habitants soit 13,2 % de la population nationale au recensement de l'année 2013.

1.3. Situation sanitaire de la région

La santé est un élément de mesure très important. Malgré la couverture en infrastructures assez correcte (un poste de santé pour 9832 habitants), l'accès des populations urbaines aux soins sanitaires et aux médicaments demeure difficile [40].

La région médicale est organisée en districts socio-sanitaires avec des infrastructures réparties comme suit:

- 3 Etablissements publics de santé
- 2 Etablissements hospitaliers privés
- 9 Centres de santé
- 1 Centre psychiatrique Dalal xel
- 17 Cases de santé
- 26 Cabinets médicaux privés
- 32 Cabinets de soins infirmiers privés
- 165 Officines privées de pharmacie
- 10 Cliniques privées

1.4. Endémicité palustre.

Le paludisme sévit à l'état hypoendémique dans le département de Thiès avec cependant une recrudescence pendant la saison des pluies et au décours de celle-ci. Le taux de prévalence du paludisme dans la population générale de cette région se situe à 2,2 % en 2013 [60]. La morbidité qui est passée de 20,7 % en 2007 à 4,7 % en 2009 [43] et La mortalité est de 6,26 % en 2008, et moins de 3,7 % en 2013 [42].

P. falciparum est le principal agent responsable de paludisme dans ces départements. La transmission du paludisme est assurée par *Anopheles arabiensis* avec un taux d'inoculation entomologique inférieur à 5 et dont les gîtes larvaires sont constitués par les puits peu profonds et par les plaques d'inondations.

2. Présentation et fonctionnement de la SLAP

La SLAP est un service de lutte antipaludique implantée dans la région de Thiès depuis 1953, en accord tripartite avec l'OMS, le FISE (actuel UNICEF) et le gouvernement français.

Ce service avait pour objectif de parvenir à l'élimination du paludisme par la lutte anti vectorielle. Par la suite, elle a réadapté ses actions vers des activités de lutte antipaludique visant le contrôle de la maladie. C'est ainsi que ses activités sont étendues à d'autres maladies antiparasitaires, et devient la Section de Lutte Antiparasitaire. Sa mission est entre autres d'effectuer des études d'enquêtes épidémiologiques en collaboration avec des programmes nationaux, institutions et de l'université.

La SLAP intervient dans des domaines qui font partie des axes prioritaires du plan stratégique du PNLP, dont le dépistage et la prise en charge des cas de paludisme non compliqué, la formation et la supervision du personnel de santé. Elle participe également à la formation et l'encadrement des étudiants et techniciens de laboratoire.

Aujourd'hui, la SLAP est devenue le site officiel du projet International Center of Excellence for Malaria Research (ICEMR).

ICEMR est un programme de recherche opérationnelle qui intègre des études épidémiologiques, entomologiques, immunologiques mais également de chimiorésistance. Ce Programme a son siège à l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar, et comme zone d'étude la région de Thiès.

3. Type et période d'étude.

Il s'agit d'une étude transversale descriptive qui s'est déroulée durant la période de transmission palustre de Septembre à Novembre 2011.

3.1. Aspects éthiques

- **Risques potentiels liés aux prélèvements d'échantillons de sang humain.**

Lorsque le prélèvement d'échantillon de sang capillaire était réalisé (au niveau du bout du doigt), le risque potentiel était une sensation douloureuse au point de

prélèvement. Un autre risque potentiel était une violation de la confidentialité en matière de santé ou de l'information sociale relative à la participation à l'étude. Un numéro d'identification a été assigné aux participants pour assurer la confidentialité. Les participants avaient la possibilité de décliner leur participation ou de se retirer à tout instant de l'étude. Dans chaque cas, un processus de consentement éclairé était mis en place et les participants étaient libres de choisir de ne pas participer, et une décision de ne pas participer ne compromettait pas les soins à leur disposition. Toutefois, le suivi des participants ayant consenti était supérieur à ceux qui avaient refusé la participation.

➤ **Avantages potentiels.**

L'étude n'est pas conçue pour fournir des avantages directs pour les personnes concernées. Cependant, un examen clinique et de référence pour les soins appropriés était offert en cas de problèmes de santé identifiés sur le terrain par les membres de l'équipe d'étude. Puisque les objectifs du projet étaient expliqués aux membres de la communauté, ils avaient la possibilité d'obtenir plus d'informations sur les causes du paludisme, la prévention et de contrôle.

➤ **Confidentialité.**

La participation était volontaire à cette étude et les informations relatives aux participants étaient protégées en :

- organisant les données enregistrées par l'utilisation de code plutôt que les noms des participants ou des informations relatives,
- gardant les copies des fiches où sont inscrits les codes dans des armoires fermées à clef au niveau des quatre sites d'étude.

La confidentialité des patients était maintenue strictement par les investigateurs, leur personnel, le bailleur et ses agents. Aucune information concernant l'étude ou les données ne sera mise à la disposition d'aucune tierce personne non autorisée sans l'approbation écrite du sponsor.

Cette étude a eu l'approbation du Comité National d'Ethique et de Recherche en Santé(CNERS) du Sénégal avant sa réalisation.

3.2. Critères d'inclusion.

Les critères d'inclusion étaient les suivants:

- patients vivant dans un rayon de 5 Km.
- patients ayant un poids corporel supérieur ou égale à 8 kg
- accès palustre simple (pas d'évidence de paludisme sévère ou de paludisme cérébral)
- consentement libre et éclairé du patient, des parents ou des tuteurs.
- lettre d'information destinée aux enfants

3.3. Critères de non inclusion.

Ces critères sont les suivants:

- prise antérieure d'antipaludiques dans les 4 jours précédents
- patients vivant dans un rayon supérieur à 5 Km
- patients ayant un poids corporel inférieur ou égale à 8 kg
- co-infection avec d'autres espèces plasmodiales
- refus volontaire de participer à l'étude
- évidence de paludisme sévère
- prostration (incapacité à marcher ou à s'asseoir)

II. MATERIELS ET METHODES

1. Sélection des patients

Les patients présentant un paludisme à *P. falciparum* diagnostiqué par goutte épaisse et frottis mince sont inclus dans l'étude en tenant compte d'un certain nombre de critères d'inclusion et de non inclusion.

2. Collecte et préparation des échantillons

2.1. Prélèvements

Le sang des patients ayant rempli les critères de sélection est prélevé sur tube avec anticoagulant (EDTA) et sur papier buvard.

Un volume de 50 à 200 µl de sang veineux sera déposé sur papier buvard de type « FTA Whatmann cards », séché et gardé à température ambiante, ce qui entraîne la lyse des cellules, la dénaturation des protéines, l'inactivation des pathogènes sanguins et la protection de l'ADN des rayons UV.

2.2. Conservation

Les échantillons ont été conservés à température ambiante à l'abri de l'humidité.

2.3. Extraction de l'ADN

❖ Principe

Les hématies parasitées sont lysées, ensuite mis en présence de phénol qui dissout les lipides, précipite les protéines et laisse en solution les acides nucléiques. Enfin l'ADN est précipité avec l'alcool en présence de sels. L'ADN précipite en un nuage cotonneux blanchâtre et qui sera lavé avant d'être redissout dans l'eau distillée.

❖ Technique

Nous avons utilisé le kit Qiagen pour extraire l'ADN parasite selon les recommandations du fabricant :

- Les extrémités du papier filtre contenant le sang séché sont coupées, placées dans un tube Eppendorf de 1,5 ml, mélangées avec 180 µl de Buffer ATL et ce mélange est incubé à 85°C pendant 10 min puis centrifugé brièvement ;
- 20 µl de protéinase K sont ajoutés et l'ensemble est mélangé par Vortex puis incubé à 56°C pendant 1 heure ;
- 200 µl de tampon Buffer AL sont ajoutés, mélangés par Vortex et le mélange est incubé à 70°C pendant 10 min ;
- 200 µl d'éthanol 96% sont ajoutés et le tout est mélangé par Vortex ;
- Le mélange obtenu est transvasé dans une colonne QIAamp; ce dernier est hermétiquement fermé puis centrifugé à 8000 tours par minute pendant 1 min., la colonne QIAamp est placée dans un nouveau tube de 2 ml tandis que le tube contenant le filtrat est jeté;
- Le capuchon de la colonne est ouvert puis 500 µl de Buffer AW1 sont ajoutés. Après avoir fermé la colonne, le tube est centrifugé à 14000 tours par minutes pendant 3 min ;
- La colonne QIAamp est placée dans un nouveau tube Eppendorf de 1,5ml et le tube contenant le filtrat est jeté;
- Le capuchon de la colonne est ouvert et 50 µl de Buffer AE sont ajoutés ; cette préparation est incubée à la température ambiante pendant 1 min, ensuite centrifugée à 8000 tours par minute pendant 1 min ; le filtrat contenant l'ADN est noté E1 et conservé à -20°C ; E1 étant plus riche en ADN est prévu pour une éventuelle PCR;
- L'étape précédente est répétée et le filtrat contenant l'ADN est noté E2 et conservé -20°C ; E2 est prévu pour le génotypage par la HRM.

3. Génotypage par la méthode High Resolution Melting (HRM)

3.1. Principe

La fusion à haute résolution ou High Resolution Melting en anglais est une technique de génotypage dont le principe de fonctionnement est le suivant :

Une étape de PCR permet d'amplifier la séquence d'intérêt de l'ADN, un composé fluorescent ; le fluophore qui n'émet de fluorescence que lorsqu'il est intercalé entre les deux brins de l'ADN, sert de révélateur. Ainsi l'ADN issu de la PCR va être soumis à des températures croissantes de façon graduelles.

L'ADN double brin se dénature progressivement libérant le composant dont la fluorescence s'estompe au fur et à mesure.

La température à laquelle la moitié de l'ADN est sous forme de simples brins est révélée par la diminution de la fluorescence initiale de 50%. Cette température correspond à la température de fusion (T_m) qui dépend de la longueur de la séquence d'ADN, de sa richesse en paire de base GC (plus le nombre de paires de bases GC est important plus la T_m est élevée) et de l'importance des éventuelles mésappariements (**Figure 9**). Le changement de la fluorescence est enregistré permettant d'établir une courbe appelée courbe de fusion, caractéristique d'une séquence génomique donnée.

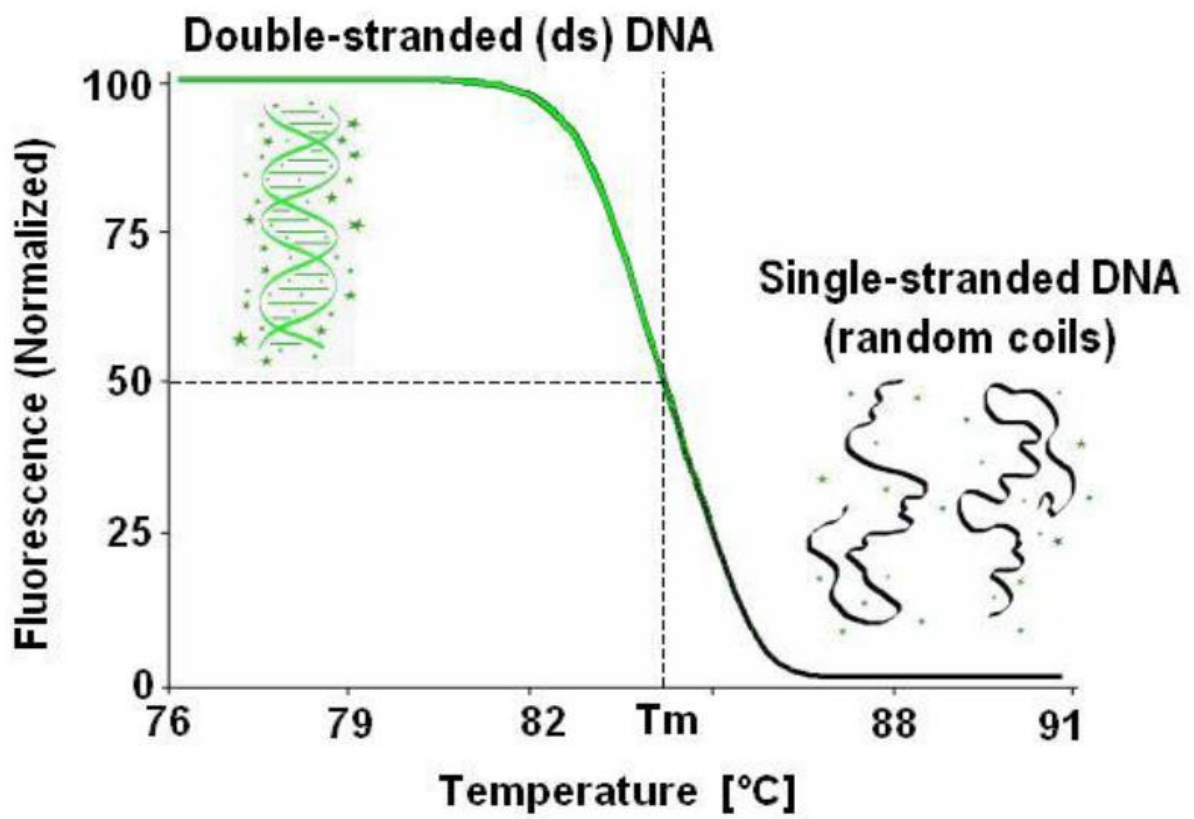
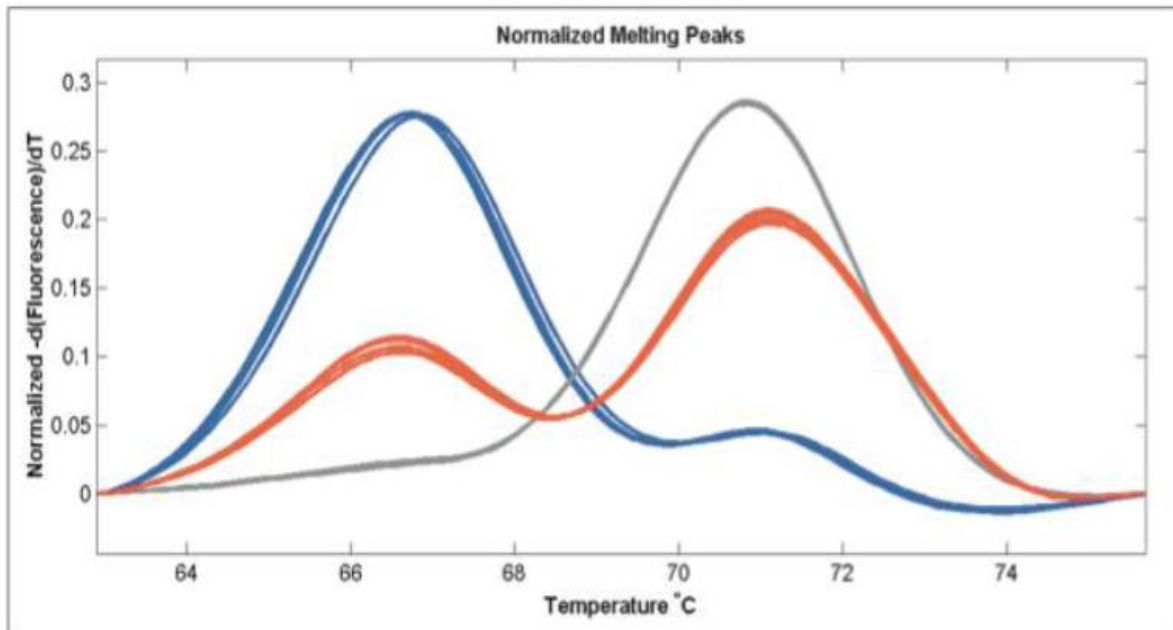


Figure 9 : Courbe de décroissance de la fluorescence en fonction de la température de fusion (T_m).

Ainsi des séquences génomiques différentes auront des T_m différentes.

A l'aide d'un logiciel, le dérivé mathématique de la courbe donne un pic qui permet de mieux visualiser la T_m correspondante. C'est sur cette base qu'il est possible d'identifier toute mutation même à un seul nucléotide près (Single Nucleotide Polymorphism ou SNP) (**Figure 10**).



Mi Resistant sample

Mi Susceptible sample

Mi Heterozygous resistant sample

Figure 10 : Pics des T_m correspondant aux dérivés normalisés de la fluorescence.

Dans la technique HRM avec sonde, une PCR asymétrique est réalisée en ajoutant 5 fois plus d'amorces anti-sens que d'amorces sens. L'excès de simples brins d'ADN qui en résulte sert de substrat pour la sonde (Probe). La sonde ne couvrant qu'une courte séquence génomique donnera un pic avec une T_m plus faible. Ainsi deux pics sont visualisés : le pic court correspond à la région couverte par la sonde tandis que le pic long correspond à la région amplifiée ou amplicon. Pour une mutation survenant sur un SNP couvert par la sonde, cette dernière se lie moins bien sur la séquence (mésappariement) et on observe alors une déviation vers la gauche du pic. (**Figure 11**).

L'utilisation d'une sonde dans la technique HRM permet d'obtenir une meilleure résolution. La sonde permet également de séparer des SNPs se situant à des positions très rapprochées dans le génome.

Des souches de référence dont la séquence génomique est connue pour le type de SNP étudié sont analysées parallèlement. A chaque fois qu'un pic d'une souche de référence se superpose avec celui de la souche étudiée, on en conclut que les deux souches possèdent la même séquence génomique pour ce type de SNP. Si le pic de la souche étudiée ne correspond à aucune souche de référence, il s'agit d'une mutation nouvelle jusque-là inconnue et dont il faudra déterminer la nature par séquençage.

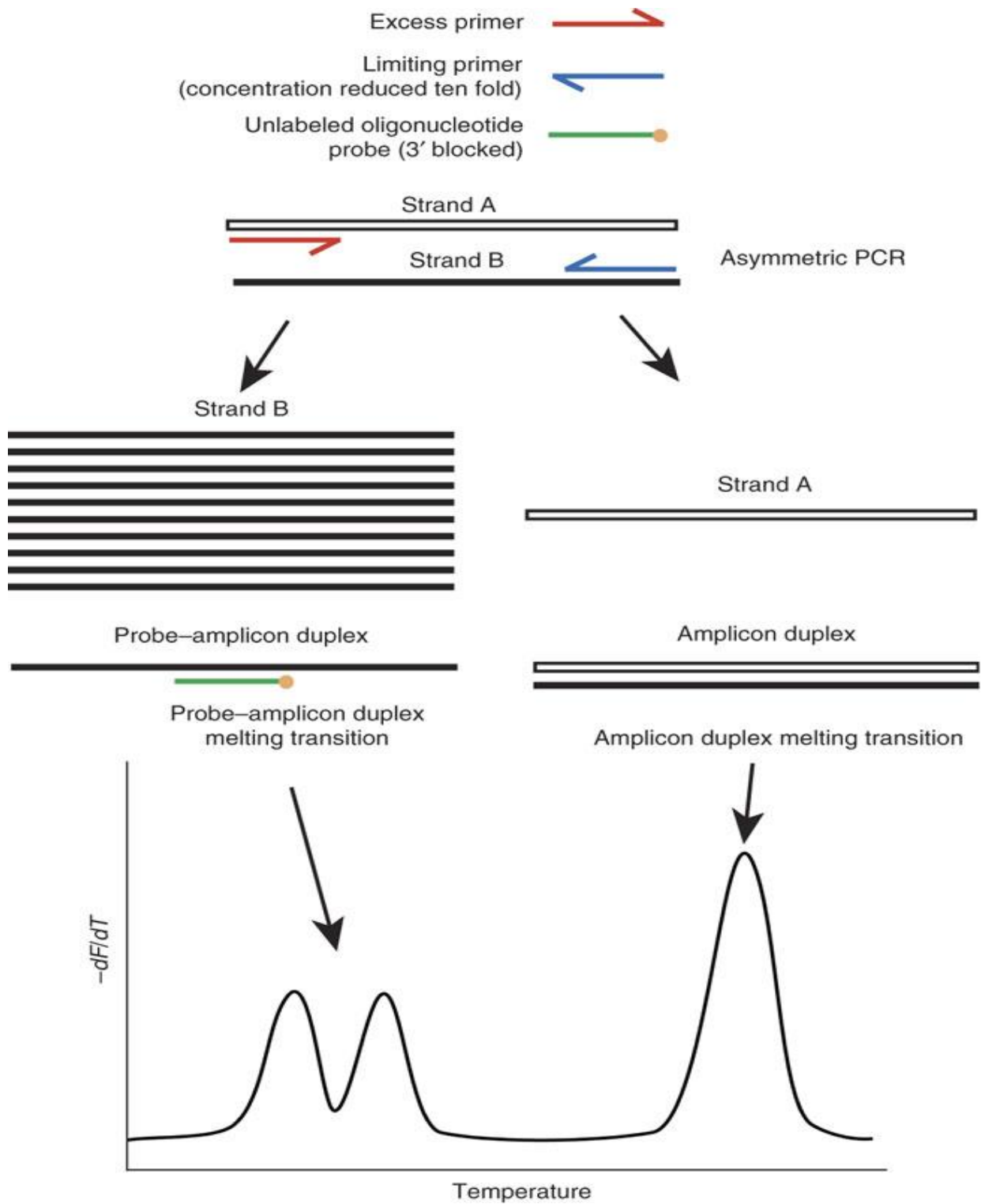


Figure 11 : T_m de l'amplicon et de la région couverte par la sonde.

3.2. Matériels et réactifs

❖ Capillaires en verre

Ce sont des capillaires dans lesquelles le mélange réactionnel est mis en présence avec l'ADN; ils sont en verres et confèrent une bonne transmission de la chaleur dans le thermocycleur.

❖ Amorces et sondes

Il s'agit des amorces sens (F: Forward) et anti-sens (R: Reverse) qui encadrent une courte région du génome (200-400pb) incluant le SNP d'intérêt et d'une sonde d'hybridation (P: Probe) spécifique du SNP d'intérêt. Ils sont présentés sous forme de lyophilisat dans de petits flacons qu'on reconstitue lors de l'usage. Après reconstitution, les flacons sont conservés à -20°C pour un usage ultérieur. Les séquences génomiques des amorces et sondes ont été définies à partir des logiciels PlasmDB version 6.3, Primer Design Software (version 1.0.R.84). Les sondes ont été conçues de telle sorte qu'elles couvrent le SNP d'intérêt; ces sondes sont bloquées à leur extrémité 3' par un groupement Phosphoramidite pour éviter leur extension au cours de la PCR. Les SNPs d'intérêt que nous avons étudié sont le codon *N86Y* pour le gène *Pfmdr* et le codon *K76T* pour le gène *Pfcrf*.

❖ 2.5X Light Scanner Mix (accompagné de Grade Water)

Ce réactif est contenu dans un petit flacon. Il est constitué de :

- Nucléotides
- L'agent intercalant qui est le révélateur (LCGreen)
- L'ADN polymérase

❖ Souches de référence

Nous avons utilisé des souches provenant de cultures adaptées de parasites de *P. falciparum* provenant du Malaria Research and Reference Reagent Repository incluant 3D7 (MRA-151, D. Walliker), 7G8 (MRA-152, D. Walliker), Dd2 (MRA-156, T. E. Wellems), V1/S (MRA-176, D. E. Kyle), Tm90 (MRA-205, D. E. Kyle).

3.3. Mode opératoire

3.3.1. Préparation du mélange réactionnel

❖ Préparation de la solution de 10X Primer Probe

Dans un tube Eppendorf de 1,5ml, ajouter :

- 1µl de Forward Primer à 50 µmol/l
- 5µl de Reverse Primer à 50 µmol/l
- 2µl de Probe à 100 µmol/l

❖ Préparation de la solution de Master Mix

Les volumes sont en fonction du nombre d'échantillons n (n = 2 à 32).

Pour n = 1, ajouter dans un tube Eppendorf de 1,5ml :

- 4µl de ddH₂O (Reagent Grade Water)
- 4µl de 2.5X LightScanner Mix
- 1µl de 10X Primer Probe

Dans les capillaires Roche ajouter en doublon:

- 9µl du Master Mix
- 1µl de l'ADN

Les capillaires sont soigneusement fermés et placés dans le thermocycleur **(Figure 12)**.

3.3.2. Etape de la PCR et analyse HRM

- L'amplification a été réalisée avec le thermocycleur à gradient, à 32 puits (Bio-Rad iCycler) suivi de l'analyse HRM par le LightScanner (Idaho Technology, Inc.). Toutes les réactions d'amplifications par PCR ont été réalisées dans la solution de 2.5 x LightScanner master mix avec comme révélateur le LCGreen.
- Le cycle d'amplification a été réalisé comme suit :
- Une première étape de dénaturation initiale à 95°C pendant 2 minutes est réalisée. C'est une étape de chauffage qui permet de déshybrider les ADN double brin, de casser les structures secondaires, d'homogénéiser le milieu réactionnel par agitation thermique, d'activer les polymérase, de dénaturer d'autres enzymes qui pourraient être dans la solution (Transcriptase Inverse, Uracil-N-Glycosylase). Elle est suivie de 55 cycles d'amplification comme suit:
- Dénaturation à 95 °C pendant 30 secondes ; cette étape permet de déshybrider les ADN, de « décrocher » les polymérase qui seraient encore liées à une matrice et d'homogénéiser le milieu réactionnel.
- Hybridation ou appariement des amorces à 56° C pendant 30 secondes ; Cette étape permet aux amorces sens et anti-sens de s'hybrider aux ADN matrice grâce à une température qui leur est thermodynamiquement favorable ;
- Elongation à 74°C pendant 30 secondes

Après l'étape de PCR, les produits d'amplification sont analysés par HRM en utilisant le LightScanner qui contient l'agent intercalant fluorescent. A ce niveau les produits subissent une augmentation graduelle de la température entre 45 et 90 °C. C'est la fusion (deuxième étape).

Tableau III : Programme de la réaction HRM

Nom du Programme	Température	Nombre de cycle
Dénaturation	95°C30 s	1
Elongation	95°C.....05 s	55
	56°C30 s	
Pré-fusion	95°C05 s	1
	37°C05 s	
Fusion	45°C à 90°C06 s (avec 0,3°C/s)	1

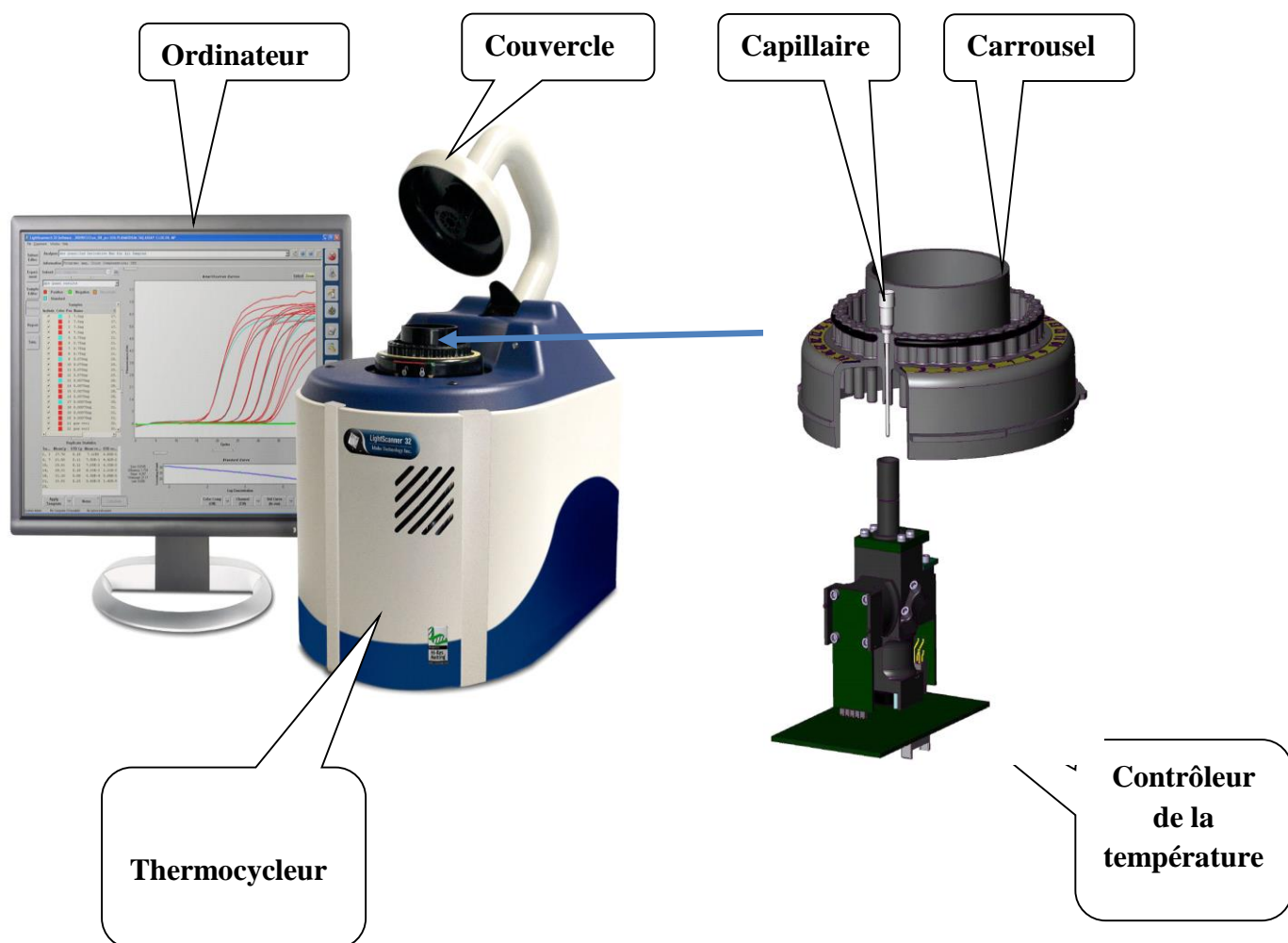


Figure 12 : Illustration de la machine de la fusion à haute résolution [2].

4. ANALYSE STATISTIQUE

Les données de la fluorescence sont enregistrées et analysées par le logiciel LightScanner 32 Report, version 1.0.0.33. Les résultats sont exportés sous forme de fichiers PDF. (Annexe)

Les données ont été saisies sur le logiciel Excel et analysées sur le logiciel Stata version 12.0. Les variables qualitatives relevées ont été décrites en termes d'effectifs et de pourcentage des données renseignées et les variables quantitatives ont été décrits en termes d'effectifs, de moyennes, d'écart type, d'extrêmes et de médiane. Les intervalles de confiance à 95% pouvaient être calculés. Les comparaisons de groupes ont été réalisées à l'aide des tests Khi2. Les valeurs de p (degrés de significativité) inférieures à 0,05 ont été considérées comme significatives.

III. RESULTATS

1. Résultats relatifs aux patients

1.1. Répartition des patients selon le sexe.

Notre population d'étude était constituée de 64,4% (96) d'hommes et 35,6% (53) de femmes soit un sex ratio de 1,81. (**Figure 13**).

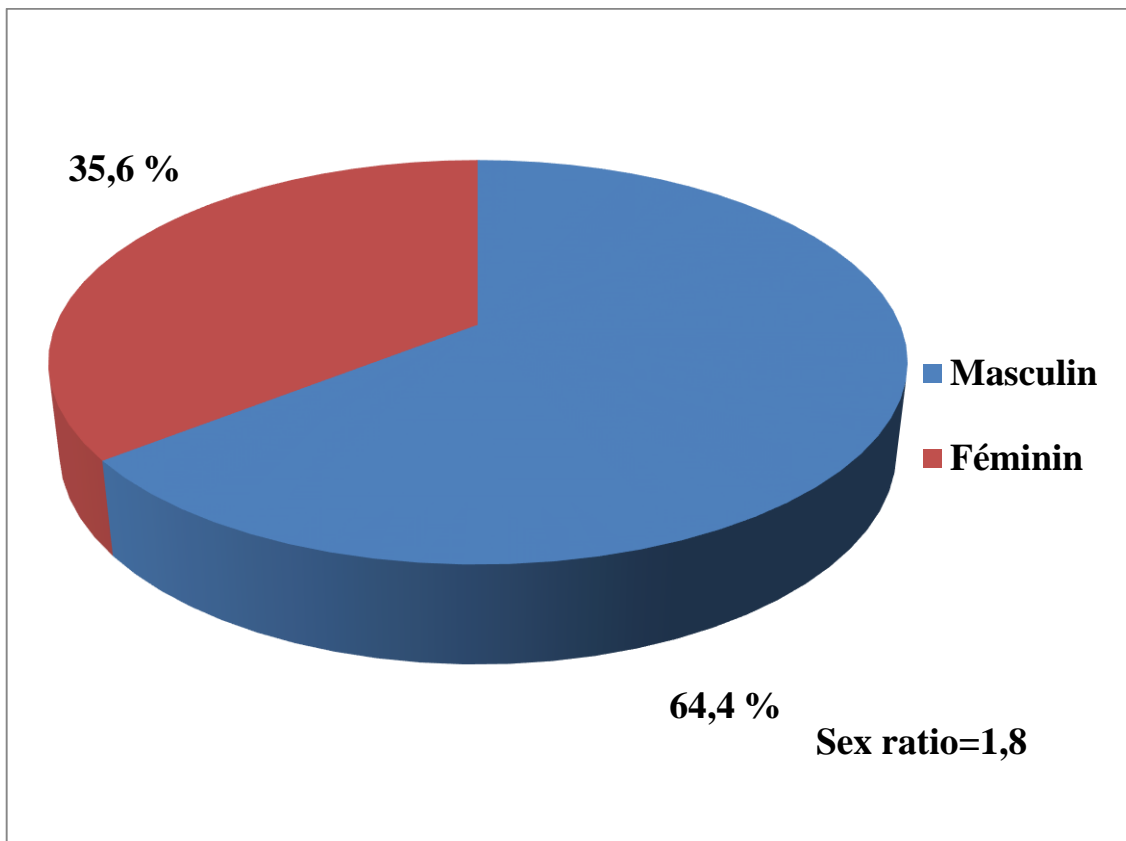


Figure 13 : Répartition des patients selon le sexe.

1.2. Répartition des patients selon l'âge.

Les patients étaient âgés de 5 à 74 ans avec une moyenne de 20 ans et l'âge médian était de 16 ans. Les patients âgés de plus de 20 ans étaient plus représentés dans notre groupe ; soit 34 %, suivis des patients âgés de 11 à 15 ans ; 26 % et ceux de 16 à 20 ans ; 23 %. Enfin le groupe de patients âgés de 6 à 10 ans était le moins représenté ; 16 %. Notre population d'étude ne comportait pas d'enfants de moins de 5 ans (**Figure 14**).

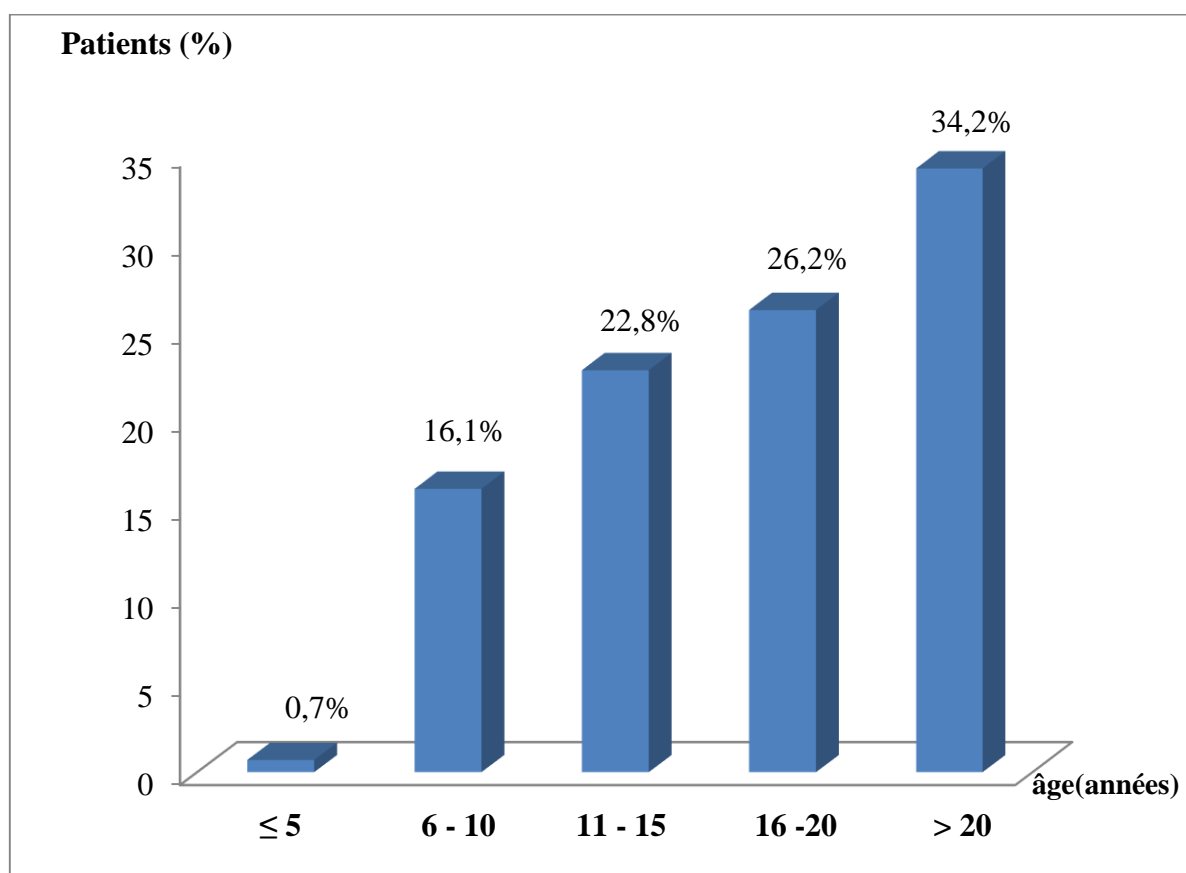


Figure 14 : Répartition des patients selon la classe d'âge

1.3. Répartition de la densité parasitaire selon l'âge.

La parasitémie variait entre 0,07 et 7 % avec une moyenne de 3,5 % (**Figure 15**).

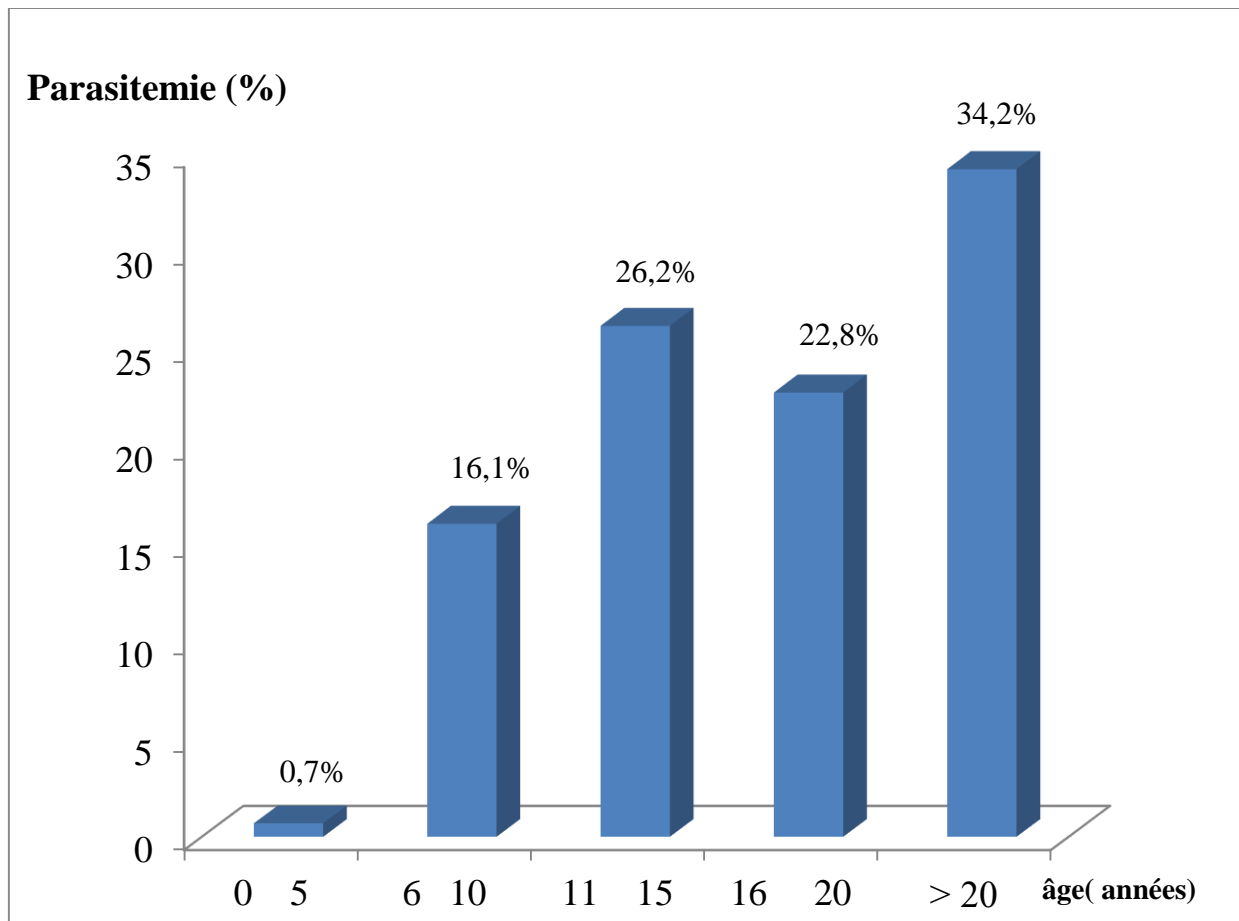


Figure 15 : Répartition de la parasitémie selon l'âge.

2. Résultats relatifs au géotypage.

2.1. Résultats du géotypage de *Pfcrtr K76T*

Nous avons retrouvé 41,5 % (54 échantillons) de souches présentant un profil sauvage (pas de mutation) sur le codon 76 du gène *PfcrtrK76T*, 49,2 % (64 échantillons) étaient mutantes et 9,2 % (12 échantillons) ont présenté les deux profils à la fois (mixte) (**Figure 16**).

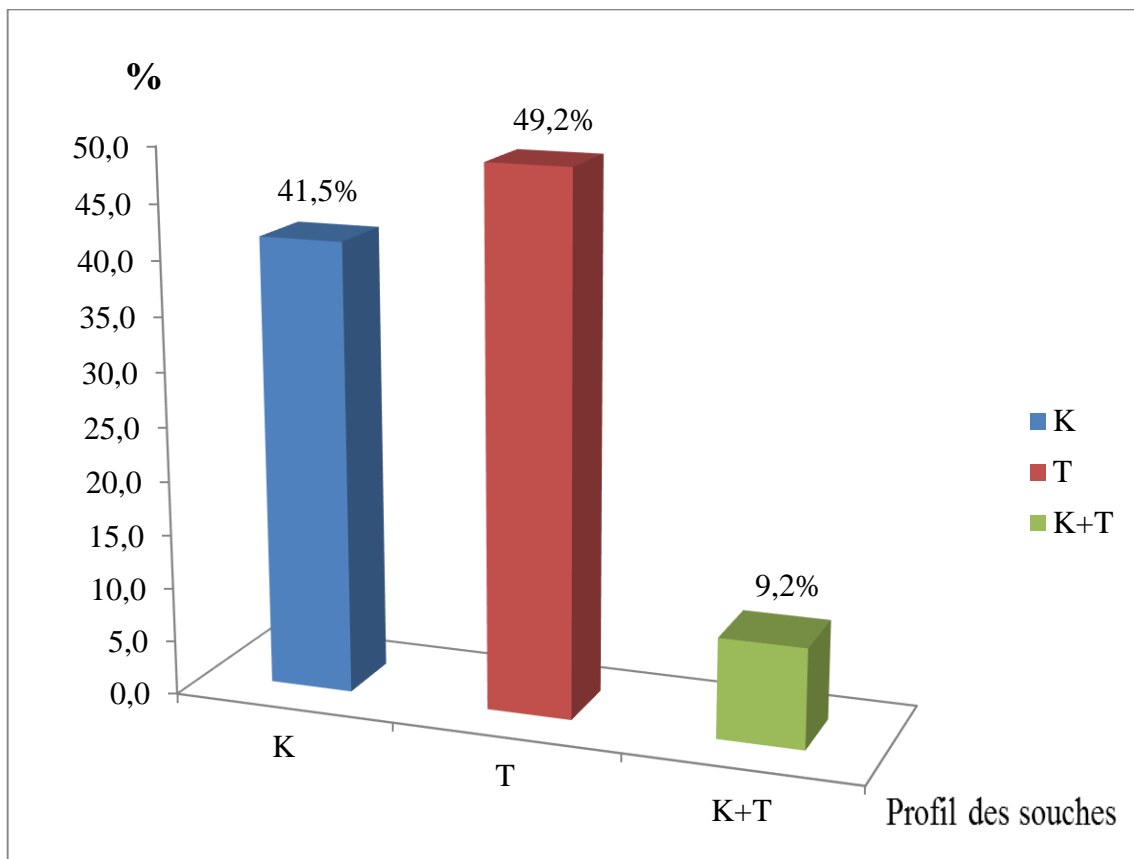


Figure 16 : Prévalence des géotypes *PfcrtrK76T*.

2.2. Résultats du génotypage de *PfmdrN86Y*.

Nous avons trouvé que 85 % (126) des échantillons montraient un profil sauvage, 02 % (3) présentaient une mutation et 1 % des échantillons avaient les deux profils (mixte); sauvage et mutante (**Figure 17**).

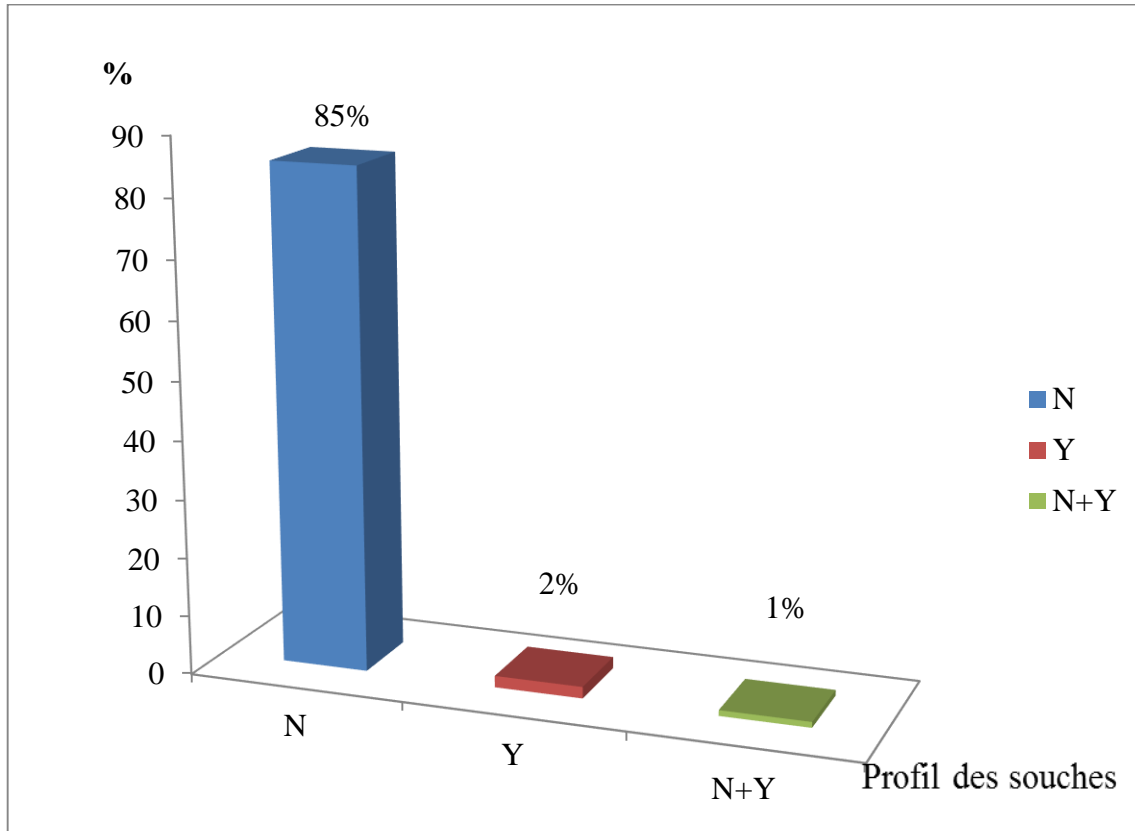


Figure 17 : Prévalence des génotypes de *PfmdrN86Y*.

2.3. Résultats des mutations combinées des gènes *PfmdrN86Y* et *PfcrtK76T*.

Nos résultats montrent que 36 % (54) des échantillons ne présentent pas de mutation pour les deux gènes (*PfmdrN86Y* et *PfcrtK76T*) et 2 % de nos échantillons ont la double mutation (**Figure 18**).

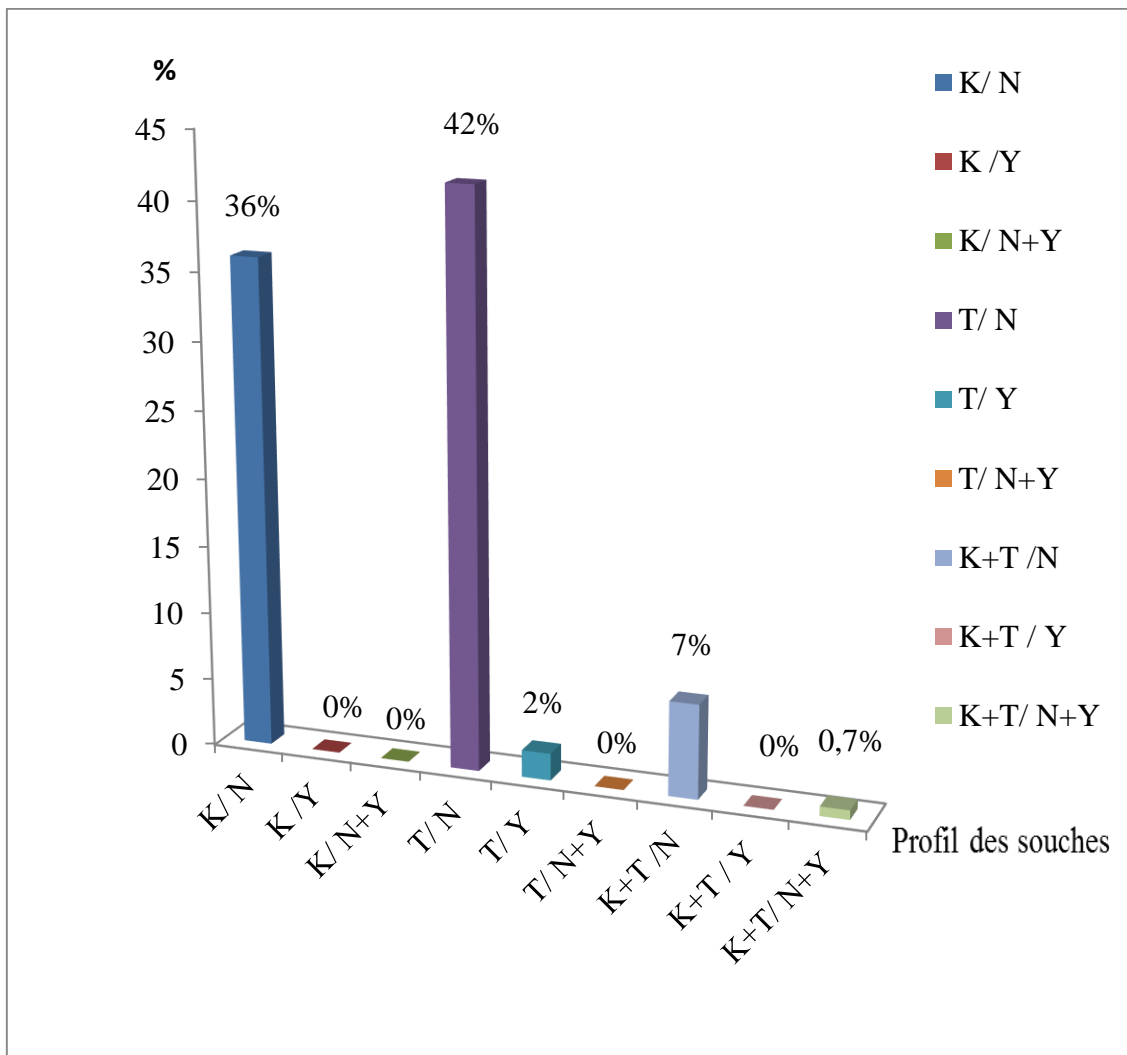


Figure 18 : Prévalences des simples et doubles mutations des gènes *PfmdrN86Y* et *PfcrtK76T*.

2.4. Mutations des gènes *Pfcr* K76T et *Pfmdr* N86Y en fonction de l'âge.

2.4.1. Résultats du génotypage de *Pfcr*K76T en fonction de l'âge.

Les échantillons recueillis chez les enfants âgés de moins de 5 ans ne présentaient pas de mutation, contrairement à ceux provenant des patients de plus de 20 ans chez qui nous avons observé 49 % (25) de mutations (**Figure 19**).

Les échantillons présentant les deux profils étaient observés surtout chez les sujets âgés de 11 à 15 ans (15 %).

La répartition du génotype sauvage/mutant en fonction de l'âge du patient n'est pas statistiquement significative ($p = 0,42$).

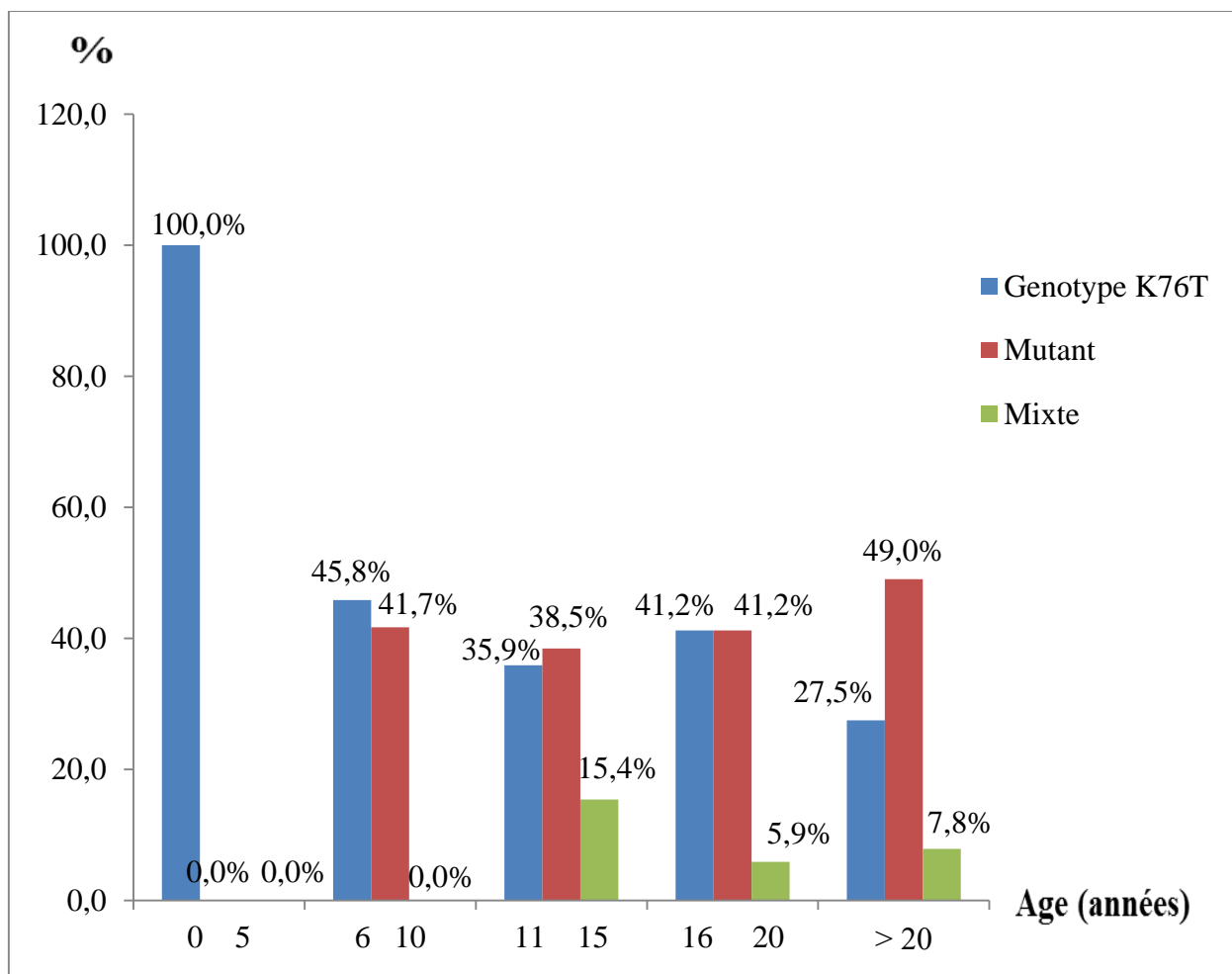


Figure 19 : Répartition des génotypes de *Pfcr* K76T en fonction de l'âge.

2.4.2. Résultats du génotypage de *PfmdrN86Y* en fonction de l'âge.

Dans la tranche d'âge de patients allant de 0 à 5 ans, un seul échantillon est recueilli et ce dernier ne présentait pas de mutation. Dans la tranche d'âge de 6 à 15 ans, 8,3% des échantillons présentaient des mutations (**Figure 20**).

Nous avons observé chez les sujets âgés de plus de 20 ans, un seul échantillon avec les deux profils. La répartition du génotype sauvage/mutant en fonction de l'âge du patient n'était pas statistiquement significative ($p = 0,572$).

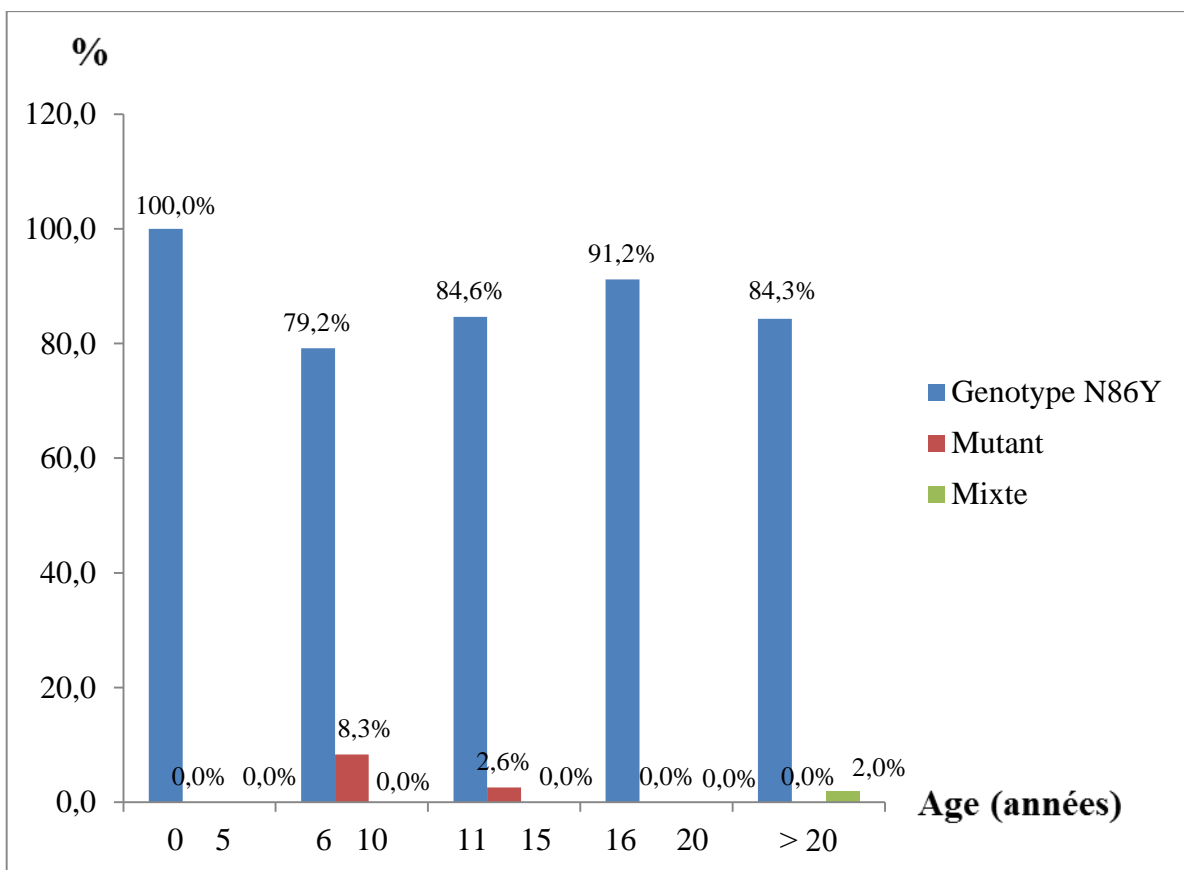


Figure 20 : Répartition des génotypes de *PfmdrN86Y* en fonction de l'âge.

2.5. Mutation des gènes *Pfcr*t et *Pfmd*r en fonction du sexe

2.5.1. Résultats du génotypage de *Pfcr*tK76T en fonction du sexe.

a. Génotype sauvage *Pfcr*tK76

Le génotype sauvage est retrouvé dans 36,2% de nos échantillons avec 21,4% (32 échantillons) chez les hommes et 14,8% (22 échantillons) chez les femmes (**Figure 21**). La répartition du génotype sauvage entre les deux sexes n'était pas statistiquement significative ($p = 0,3202$).

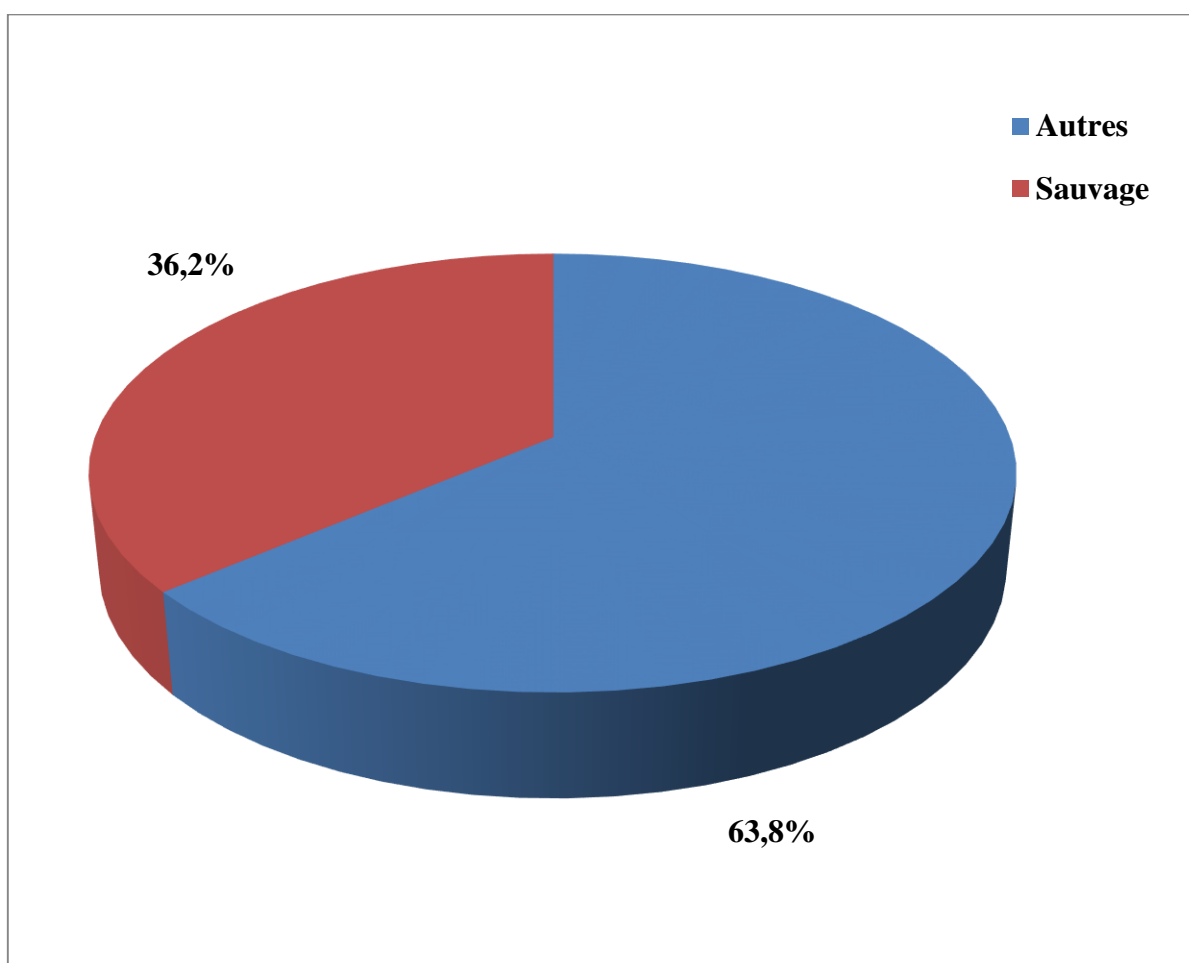


Figure 21 : répartition du génotype sauvage *Pfcr*tK76 en fonction du sexe.

b. Génotype mutant *Pfcrt76T*

Les échantillons présentant des mutations étaient de 42,9% (64), avec 28,9% (43) trouvés chez les hommes et 14% (21) chez les femmes (**Figure 22**). La répartition du génotype mutant entre les hommes et les femmes n'était pas statistiquement significative. ($p = 0,5417$).

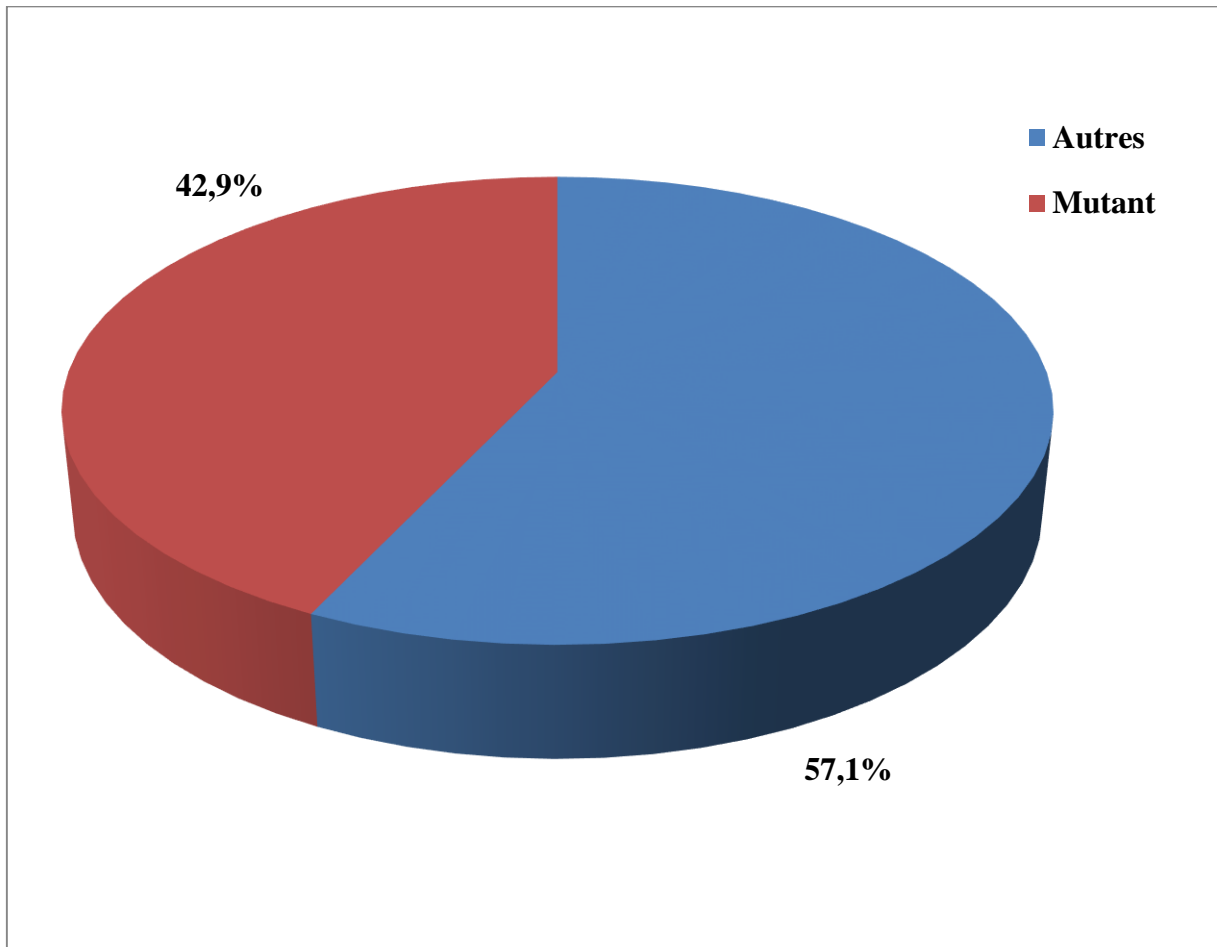


Figure 22: Répartition du génotype mutant *Pfcrt76T* en fonction du sexe.

c. Génotype mixte

Les échantillons présentant les deux génotypes étaient retrouvés à un taux de 8,05% dont 6,04% (9 échantillons) chez les hommes et 2,01% (3 échantillons) chez les femmes (**Figure 23**). La coexistence des génotypes sauvage et mutant entre les hommes et les femmes n'était pas statistiquement significative ($p = 0,4250$).

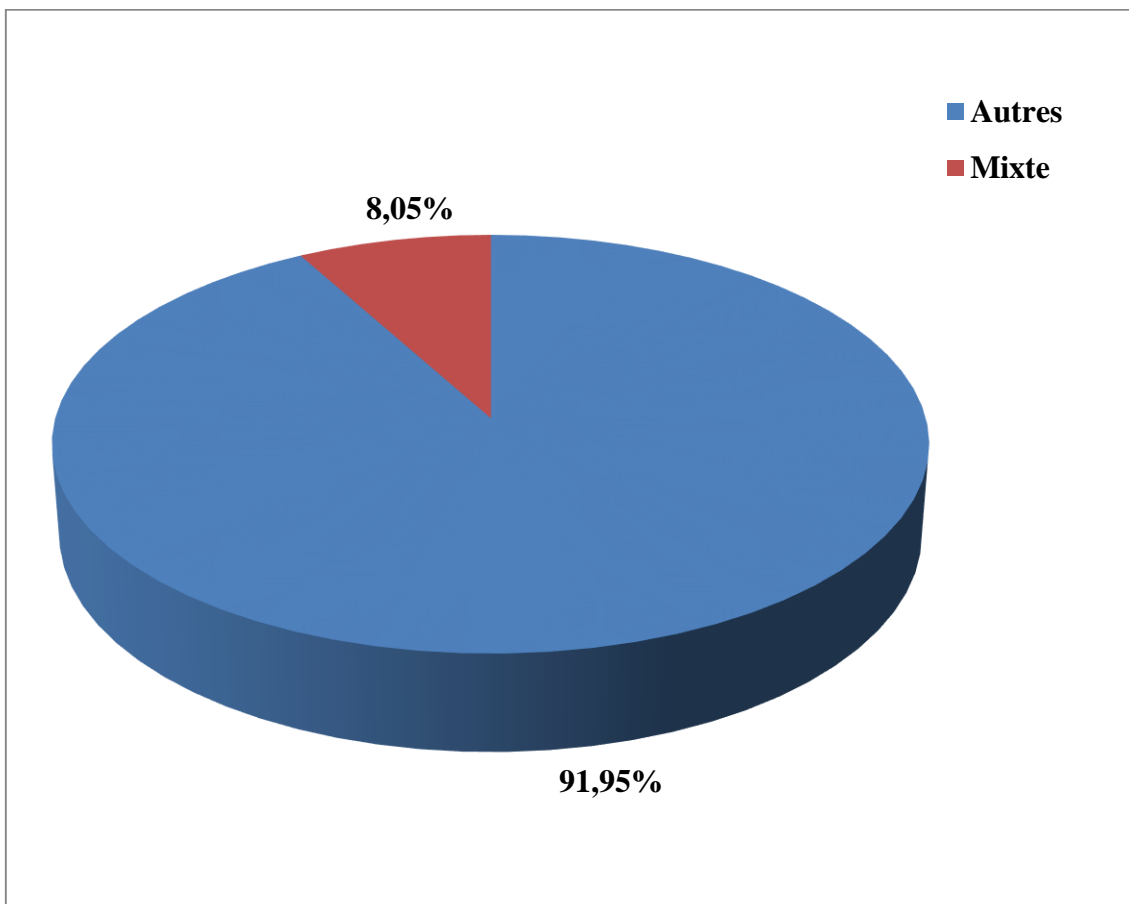


Figure 23 : Répartition du génotype mixte en fonction du sexe.

2.5.2. Résultats du géotypage de *PfmdrN86Y* en fonction du sexe.

a. Géotype sauvage *PfmdrN86*

Le géotype sauvage est présent dans 97,3% des échantillons, avec 61,7% (92 échantillons) retrouvés chez les hommes et 35,6% (53 échantillons) chez les femmes (**Figure 24**). Aucun échantillon recueilli chez les femmes ne présentait un géotype mutant et/ou mixte.

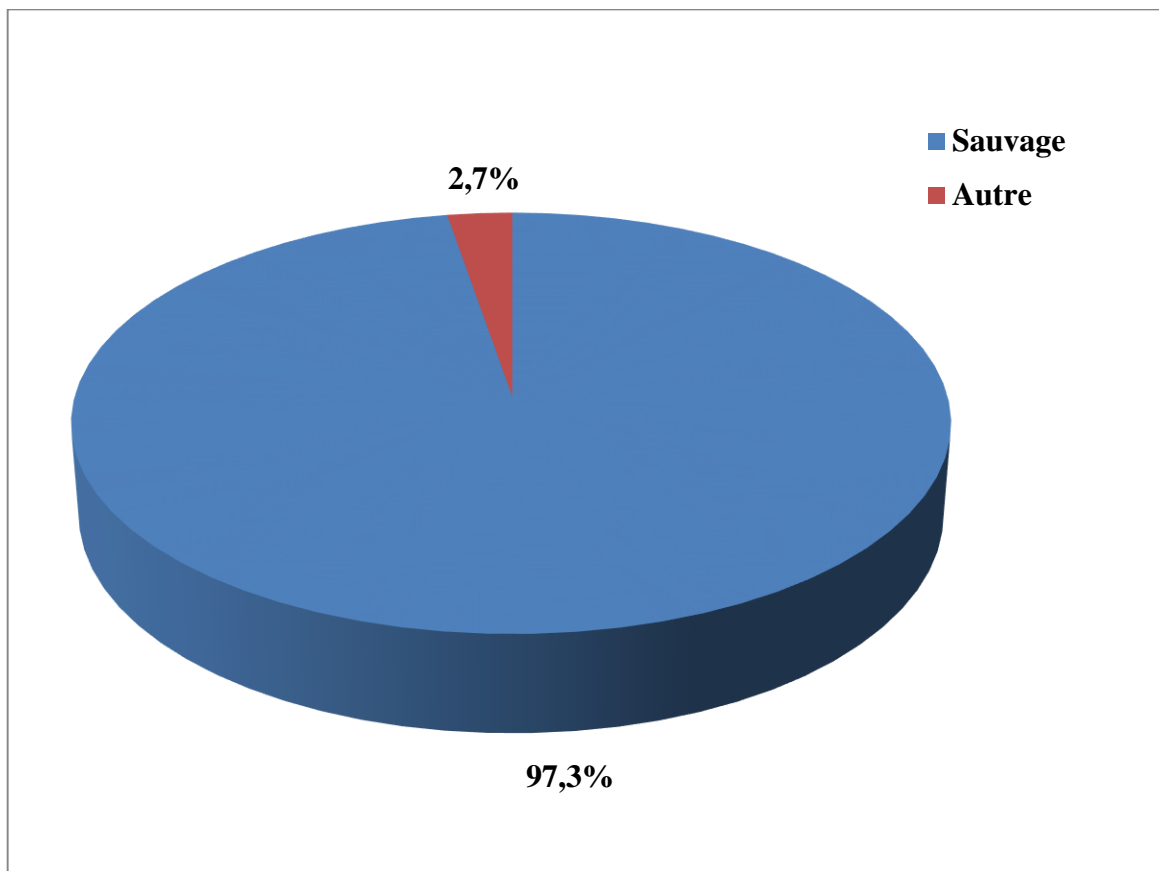


Figure 24 : Répartition du géotype sauvage *PfmdrN86* en fonction du sexe.

b. Génotype mutant *Pfmdr86Y*

La mutation était retrouvée uniquement chez les hommes à un taux de 2% (3 échantillons) et pas chez les femmes (**Figure 25**).

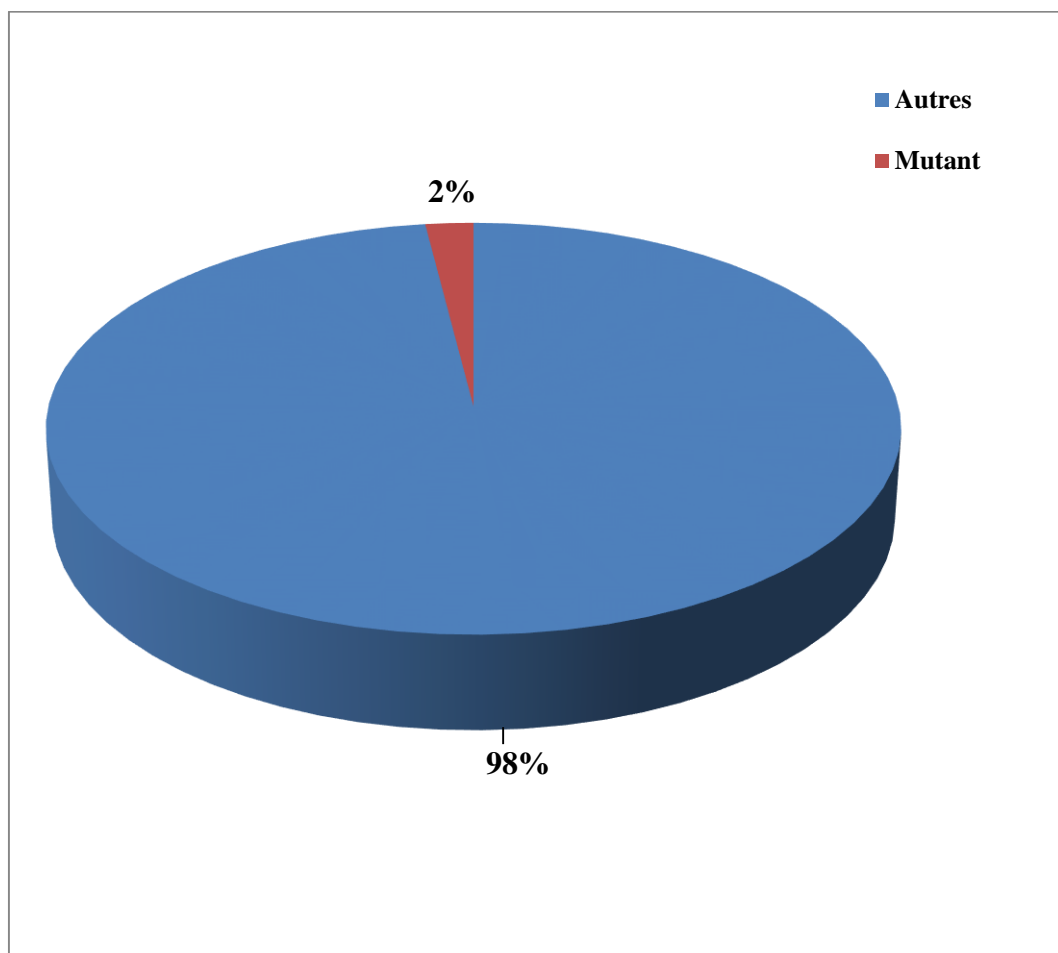


Figure 25 : Répartition du génotype mutant *Pfmdr86Y* en fonction du sexe.

c. Génotype mixte

Les échantillons contenant les deux profils (mixte) n'étaient retrouvés que chez les hommes à un taux 0,7% (1 échantillon) : **Figure 26.**

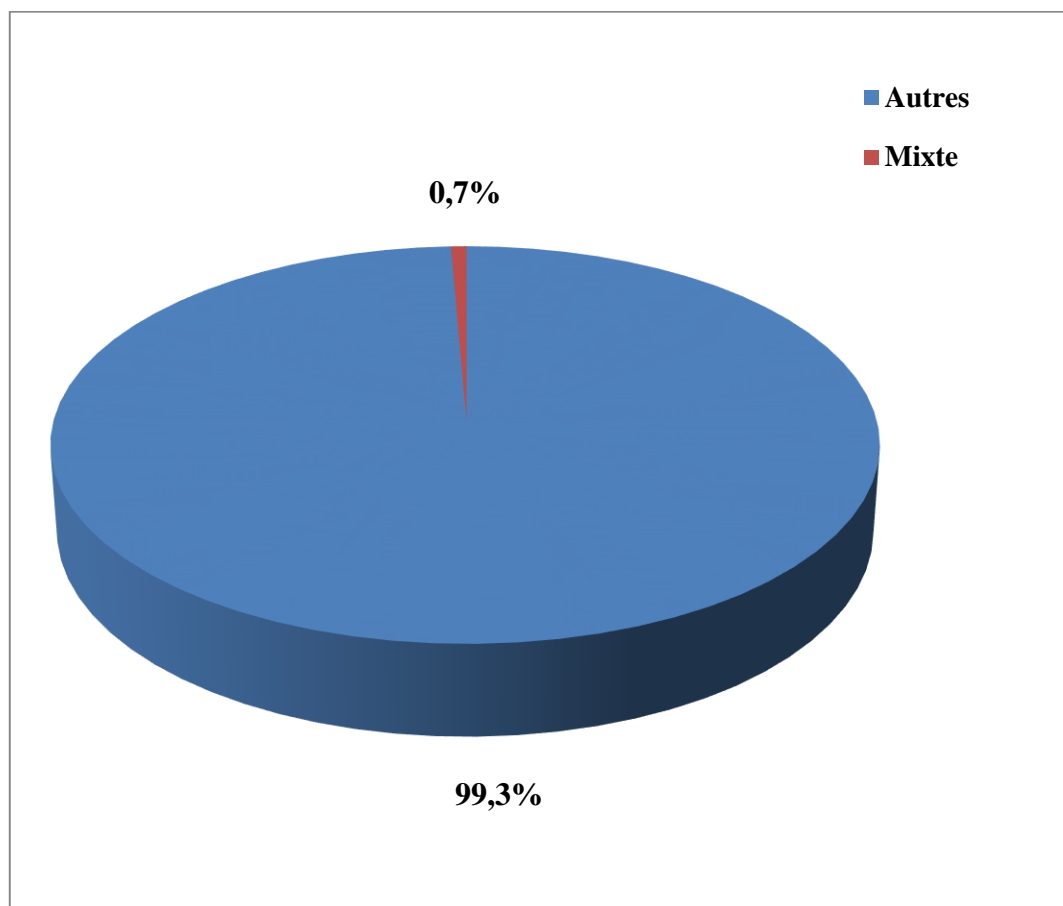


Figure 26 : Répartition du génotype mixte en fonction du sexe

DISCUSSION

L'analyse des géotypes parasites fournit de nouveaux moyens pour décrire et caractériser le paludisme sur un site donné. Dans l'étude que nous avons menée, nous nous sommes intéressés au polymorphisme des gènes *PfmdrN86Y* et *PfcrtK76T* des isolats de *P. falciparum* prélevés à Thiès en 2011 par High Resolution Melting (HRM).

Dans notre population d'étude les hommes étaient plus représentés que les femmes.

Une étude menée en 2008 sur le même site à Thiès avait aussi retrouvé plus d'hommes que de femmes [48].

Ceci reste difficile à expliquer car les femmes et les hommes présentent les mêmes compétences immunologiques contre les infestations parasites, et donc contre *Plasmodium*.

La prévalence de la mutation du gène *PfcrtK76T* est supérieure à celle du gène *PfmdrN86Y*, ceci pourrait s'expliquer par l'utilisation pendant très longtemps de la chloroquine dans le traitement et la prophylaxie du paludisme. Dans les années 2000, deux études réalisées à Pikine (Sénégal) avaient montré des taux de mutations atteignant presque le double de nos résultats pour le gène *PfcrtK76T* [5, 74]. La prévalence de la mutation du gène *PfcrtK76T* dans la localité de Thiès est basse comparée aux résultats trouvés à Pikine [5, 48]. Contrairement à une étude menée à Abidjan (Côte Ivoire) en 2003, la fréquence de la mutation du gène *PfcrtK76T* était supérieure à celle de *PfmdrN86Y* chez *P. falciparum* [20], ces résultats étaient en accord avec ceux des isolats d'origine Ouest Africaine en 2002 [32].

Concernant la prévalence de la mutation par rapport au sexe pour le gène *PfcrtK76T*, il y avait plus de mutations chez les hommes que chez les femmes sans aucune corrélation statistiquement significative.

Pour le gène *PfmdrN86Y* aucune souche mutante n'avait été retrouvée chez les femmes.

Pour ce qui est de la mutation du gène *Pfcrk76T* en fonction de l'âge, la prévalence des mutations est légèrement plus élevée chez les sujets âgés de 6 à 10 ans comparée à ceux âgés de 11 et 15 ans. Par contre aucune mutation n'avait été retrouvée chez les enfants de moins de 6 ans. Les mutations étaient surtout observées chez les sujets de plus 10 ans. Nos résultats sont en phase avec ceux trouvés à Pikine [5].

Concernant la prévalence de la mutation du gène *PfmdrN86Y* en fonction de l'âge, aucune mutation n'a été retrouvée chez les sujets de moins de 5 ans et de plus de 16 ans. A Pikine il y'avait légèrement plus de mutations chez les enfants de moins de 5 ans [5]. Aucune explication probante ne peut être apportée sur la présence ou non d'une mutation chez les patients selon leur âge. Par contre une étude réalisée à Thiès a trouvé que le nombre de mutations est plus important chez les enfants et les jeunes adultes [72, 73].

La prévalence de la mutation du gène *PfmdrN86Y* par rapport au sexe était très faible chez les hommes et nulle chez les femmes. Cette prévalence est basse comparée aux résultats trouvés à Thiès en 2008 [48].

Le faible taux de mutation de ce gène impliqué dans la résistance à toutes les molécules d'antipaludiques peut être expliqué en partie par les efforts consentis par le PNLP pour réduire la pression médicamenteuse en préconisant la confirmation des cas de paludisme simple soit par une goutte épaisse soit par un test de diagnostic rapide (TDR) avant tout traitement par les combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine (CTA).

Cependant le paludisme reste un réel problème de santé publique du fait de l'existence et de la propagation de souches résistantes aux traitements antipaludiques notamment à la chloroquine. Dans cette présente étude, il n'a pas été établi une relation entre l'existence ou non d'une mutation et l'efficacité thérapeutique.

Le taux de mutation élevé du gène *Pfcrk76T* de *P. falciparum* dans notre étude pourrait s'expliquer par le fait que la chloroquine est restée pendant très longtemps le médicament de choix pour traiter le paludisme simple à *P. falciparum* depuis plusieurs décennies, et jusqu'à une époque relativement récente; et cette pression médicamenteuse est responsable de la sélection de mutants pour ce gène, impliqués dans la chloroquino-résistance de *P. falciparum*.

Certains parasites ayant atteint un haut niveau de résistance à la chloroquine, comme en Asie du Sud-Est, sont généralement résistants à l'amodiaquine [39]. En effet, la pression médicamenteuse a été importante et multiple dès le début des années 1950, associant pour les lysosomotropes ; la chloroquine, l'amodiaquine, la quinine puis la méfloquine après 1980. L'amodiaquine présente une analogie structurale avec la chloroquine (noyau aminoquinoline), elle diffère par la présence d'un cycle aromatique sur la chaîne latérale de l'amodiaquine. Un faible degré de résistance croisée a été observé entre la chloroquine et monodéséthyl-amodiaquine, le principal métabolite de l'amodiaquine [28, 53].

Des découvertes récentes ont mis en cause l'allèle *Pfcrk76T* dans la résistance à l'amodiaquine et de son métabolite actif monodéséthyl-amodiaquine (md-AQ) [6, 65].

L'analyse de corrélation est la première indication d'un mode d'action et éventuellement de résistance commune. *In vitro*, il est possible d'apprécier la réponse d'une même souche vis-à-vis de plusieurs antipaludiques et donc de comparer l'action des différents antipaludiques lysosomotropes sur une population de parasites. Ainsi, pour les souches africaines de *P. falciparum* importées en France, la variation du niveau de sensibilité à la monodéséthyl-amodiaquine, le métabolite qui rend compte de l'efficacité de l'amodiaquine, est explicable par le niveau de sensibilité à la chloroquine. L'échec de

l'amodiaquine chez les sujets infestés par des souches fortement chloroquino-résistantes y trouve son explication. Certaines études ont montré une réduction de la réponse *in vivo* à l'amodiaquine [50, 75] et une augmentation de 50 % de la valeur de la concentration inhibitrice *in vivo*, en association avec la présence de la mutation des gènes *PfmdrN86Y* et *PfcrtK76T* [25 - 27]

Le gène *Pfmdr-1* code pour une protéine de la superfamille des ABC transporteurs, homologue des pompes d'efflux de médicaments présentes dans des cellules résistantes aux anticancéreux [22]. La mutation *Pfmdr86Y* a été associée à la résistance à l'amodiaquine [82]. La présence de cette mutation augmente le risque de résistance *in vivo* à l'amodiaquine et d'échec thérapeutique par la combinaison amodiaquine + sulfadoxine-pyriméthamine [15]. Inversement, la version non mutée du gène *PfmdrN86* était sélectionnée par des traitements par la combinaison artéméther-luméfantine [31, 69], suggérant qu'elle pourrait être un marqueur de résistance à la luméfantine [82].

La mutation *PfmdrN86Y* a aussi été associée à la résistance à la chloroquine dans certaines études et pas dans d'autres [56]. La présence de cette mutation est associée à une augmentation de plus du double du risque de résistance *in vivo* à la chloroquine [56]. Ces associations étaient cependant considérées comme faibles. En effet, dans plusieurs études, la mutation *Pfmdr86Y* a été trouvée préférentiellement associée à la mutation *Pfcrt76T*. La combinaison de ces deux mutations (*Pfmdr86Y* + *Pfcrt76T*), augmente le risque de résistance *in vivo* à la chloroquine [56], ce qui ne diffère pas de ce qui a été observé pour la mutation *Pfcrt76T* prise isolément. Le rôle du gène *Pfmdr1* dans la résistance à la chloroquine, est donc controversé et ne peut être que limité [22, 56].

L'introduction expérimentale de mutations a été associée *in vitro* à une résistance à la quinine [46, 64] et à une augmentation de la sensibilité à la méfloquine, l'halofantrine, la luméfantine et aux dérivés de l'artémisinine [22, 56].

Le rôle de ces mutations n'a pas été clairement confirmé sur le terrain, en particulier la résistance aux dérivés de l'artémisinine qui émerge actuellement à la frontière Thaïlande-Cambodge n'est pas associée au gène *Pfmdr1* [21]. Lorsque le nombre de copie du gène *Pfmdr1* est augmenté, sa séquence nucléotidique est généralement dépourvue de mutation (allèle dit «sauvage») [22]. L'augmentation du nombre de copies du gène *Pfmdr1* (de 1 à 2 copies ou plus) a été associée à la résistance aux endoperoxides (dérivés de l'artémisinine ; évidences *in vitro*) et aux arylaminoalcools comme la méfloquine, l'halofantrine ou la luméfantrine [22, 58] , avec une augmentation du risque de résistance *in vivo* à la méfloquine et à un risque significativement élevé de résistance *in vivo* à l'association artésunate-méfloquine [36, 56]. Mais l'association entre la diminution de sensibilité à la méfloquine et l'augmentation du nombre de copies de *Pfmdr1* a été rarement prouvée pour des souches provenant du continent Africain. Un récent rapport sur les parasites circulant au Ghana, avec un nombre de copies augmenté du gène *Pfmdr1*, souligne l'importance d'inclure ce paramètre dans la surveillance moléculaire. Cette étude vient appuyer la conclusion qu'un nombre augmenté de copies de *Pfmdr1* rend également moins sensibles les parasites à la luméfantrine [68]. Dans une étude menée à Pikine (Sénégal); il n'y avait pas d'association entre la mutation *Pfmdr86Y* et la résistance *in vivo* [5].

Une étude menée au Brésil n'avait montrée aucune relation entre la mutation du gène *Pfmdr86Y* et la résistance à la quinine, la méfloquine et les dérivés de l'artémisinine [31].

La mutation de *Pfcrt76T* est associée à la résistance à la chloroquine au point qu'elle soit présente chez toutes les souches résistantes [82]. Cette mutation est souvent associée à d'autres mutations du même gène (C72S, M74I, N75E, A220S...) dont les rôles ne sont pas clairement connus. Elles pourraient compenser l'effet de la mutation en position 76 sur la capacité du parasite à se

multiplier. L'existence de souches de *P. falciparum* sensibles à la chloroquine et portant cependant la mutation K76T suggère que d'autres gènes pourraient être impliqués dans la résistance à la chloroquine.

Dans une étude menée à Pikine (Sénégal) [5] ; aucune relation n'a été retrouvée entre la présence de la mutation *Pfcr76T* et l'échec thérapeutique.

CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

Le paludisme; infection parasitaire mortelle dans sa forme grave est très répandu en zone intertropicale où il sévit de façon endémique. En dépit des efforts déployés dans la lutte contre le paludisme, cette pathologie reste toujours un réel problème de santé publique, essentiellement en Afrique où une forte morbi-mortalité est encore notée chez les enfants de moins de 5 ans et les femmes enceintes.

P. falciparum est l'espèce plasmodiale responsable de la plus grande partie de la létalité attribuable au paludisme. La prise en charge de la maladie repose essentiellement sur le diagnostic précoce et le traitement des cas de paludisme. Mais la chimiorésistance des souches de *P. falciparum* est un des obstacles majeurs qui entravent les programmes nationaux de lutte contre le paludisme. Le Sénégal conformément aux recommandations de l'OMS a adopté en 2006, les Combinaisons Thérapeutiques à base d'Artémisinine (CTA) dans sa politique nationale de traitement des accès palustres simples, après une période de transition au cours de laquelle la sulfadoxine-pyriméthamine (SP) était en première ligne et cette association est toujours utilisée en prophylaxie chez la femme enceinte et les enfants de moins de cinq ans.

Nous avons étudié le polymorphisme génétique des souches de *P. falciparum* isolées à Thiès pour l'année 2011 par la technique High Resolution Melting (HRM). En effet, sur les 132 souches correctement génotypées, nos résultats montrent que 42,9 % des souches de notre échantillonnage sont sauvages pour le gène *Pfcrk76T* contre 02 % pour le gène *PfmdrN86Y*. La prévalence des mutations pour le gène *Pfcrk76T* est plus importante chez les hommes avec 28,9 % contre 14% chez les femmes et pour ce qui du gène *PfmdrN86Y*, 2 % des souches présentaient une mutation retrouvée uniquement chez les hommes.

Ces résultats, montrent que les mutations génétiques sont fréquemment observées chez *P. falciparum* surtout pour le gène *Pfcrk76T*.

Ainsi, la surveillance des souches de *P. falciparum* doit être de rigueur pour une utilisation efficace des antipaludiques comme l'amodiaquine ou la luméfantrine en association.

Pour que ces marqueurs moléculaires soient utiles dans la surveillance de l'efficacité des combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine (CTA), il faut les identifier rapidement, les valider, et les utiliser en zone d'endémie. Ces marqueurs sont en effet de bons indicateurs pour la surveillance de l'efficacité du traitement par les antipaludiques utilisés en association.

Pour cela le développement et la vulgarisation des méthodes de biologie moléculaire, la disponibilité des séquences nucléotidiques de génomes de *P. falciparum* et la collaboration étroite entre chercheurs fondamentaux, cliniciens et responsables des programmes nationaux de lutte contre le paludisme sont les principaux atouts de la recherche et du développement de ces marqueurs moléculaires de résistance de *P. falciparum* aux antipaludiques utilisés en association.

REFERENCES

1. **Aponte J. and Schellenberg D.** : Efficacy and Safety of intermittent preventive treatment with Sulfadoxine-Pyrimethamine for malaria in Africa infants: a pooled analysis of six randomized, placebo-controlled trials. *Lancet*, 2009; 374(9700): 1533-42
2. **Applied Biosystem:** Guide to high resolution melting (HRM) analyse, 2009. Inc 1-20.
3. **Ashburner, M. et al.** Gene ontologie: Outil pour l'unification de la biologie. *Nature Genet* 25, 25-29 (2000)
4. **Babiker, HA, Creasey, AM, Bayoumi, RA, Walliker, D. & Arnot, DE** diversité génétique de *Plasmodium falciparum* dans un village de l'est du Soudan. 2. Résistance aux médicaments, caryotype moléculaire et le génotype de MDR1 des isolats récents. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 85, 578-583 (1991)
5. **Badiane A.** : Polymorphisme génétique (*Pfcr*t et *Pfmdr*1) et résultats du traitement par la chloroquine chez les paludéens recrutés à Pikine 2002-2003 (étude rétrospective). Thèse Pharm, Dakar 2005
6. **Beshir K, Sutherland CJ, Merinopoulos I, et al.** Amodiaquine resistance in *Plasmodium falciparum* malaria in Afghanistan is associated with the *Pfcr*tSVMNT allele at 72 to 76. *Antimicrob Agents Chemother* 2010; 54:3714–6.
7. **Bowman, S.. et al** La séquence nucléotidique complète du chromosome 7 de *Plasmodium falciparum*. *Nature* 400, 532-538 (1999)
8. **Chabasse D, Danis M, Guiguen C, Richard-Lenoble D, Botterel F, Miégevillle M.** Parasitoses et mycoses des régions tempérées et tropicales. Paris : MASSON, 2007 :48-321
9. **Chabasse D, Danis M, Guiguen C, Richard-Lenoble D, Botterel F, Miégevillle M.** Parasitoses et mycoses des régions tempérées et tropicales. Paris : MASSON, 2007 :49-321

10. **Chabasse D, Danis M, Guiguen C, Richard-Lenoble D, Botterel F, Miégeville M.** Parasitoses et mycoses des régions tempérées et tropicales. Paris : MASSON, 2007 :57-321
11. **Chabasse D, Danis M, Guiguen C, Richard-Lenoble D, Botterel F, Miégeville M.** Parasitoses et mycoses des régions tempérées et tropicales. Paris :MASSON, 2007 :58-321
12. **Chabasse D, Danis M, Guiguen C, Richard-Lenoble D, Botterel F, Miégeville M.** Parasitoses et mycoses des régions tempérées et tropicales. Paris :MASSON, 2007 :59-321
13. **Chabasse D, Danis M, Guiguen C, Richard-Lenoble D, Botterel F, Miégeville M.** Parasitoses et mycoses des régions tempérées et tropicales. Paris :MASSON,2007 :46-321
14. **Chabasse D, Danis M, Guiguen C, Richard-Lenoble D, Botterel F, Miégeville M.** Parasitoses et mycoses des régions tempérées et tropicales. Paris :MASSON, :43-321 ;2007
15. **Cox-Singh J., Davis T.M., Lee K.S., et al.** Amodiaquine and artemether-lumefantrine select distinct alleles of the *Plasmodium falciparum mdr1* gene in Tanzanian children treated for uncomplicated malaria. Antimicrob Agents Chemother ; 51 : 991-7;2007.
16. **Cox-Singh J., Davis T.M., Lee K.S., Shamsul S.S., Matusop A., Ratnam S., Rahman H.A., Conway D.J. et Singh B.** *Plasmodium knowlesi* malaria in humans is widely distributed and potentially life threatening. Clin Infect Dis, 2008, 46(2): 165-71
17. **DANIS M.** Symptomatology du paludisme In paludisme Ellipses/AUPELF ; 1991 ; 87-89
18. **DANIS M., MOUCHET J.** Paludisme Editions Marketing Ellipses/AUPELF, Paris, 1994.
19. **Deluot A.M., Levillayer H et Poirot J.L:** Diagnostic du paludisme Développement et Santé, Décembre 1998, n° 138

20. **DJAMAN A. J.** Evaluation de la chimiorésistance de *P. falciparum* à différents antipaludiques (chloroquine, sulfadoxine-pyriméthamine, quinine) et profil génétique des isolats correspondants. Thèse de Parasitologie, Université Paris XII 2003.
21. **Dondorp A, Nosten F, Yi P, Das DB, Phylo AP, Tarning J, et al.** Artemisinin resistance in *Plasmodium falciparum* Malaria. *N Engl J Med*; 361 : 455-67;2009.
22. **Duraisingh MT, Cowman AF.** Contribution of the *Pfmdr1* gene to antimalarial drugresistance. *Acta Trop* 2005 ; 94 : 181-90
23. **Duret L.** t-RNA gene number and codon usage in the *C. elegans* genome are co-adapted for optimal translation of highly expressed genes. *Trends Genet.* 16, 287-289;2000
24. **Dyer, M., Wong, IH, Jackson, M., Huynh, P. & Mikkelsen, R.** Isolement et analyse de la séquence d'un ADNc codant pour un nucléotide d'adénine translocateur de *Plasmodium falciparum* . *Biochim. Biophys. Acta* 1186 , 133-136 ;1994
25. **Echeverry DF, Holmgren G, Murillo C, Higueta JC, Bjorkman A, Gil JP, Osorio L, 2007.** Short report: polymorphisms in the *Pfcr1* and *Pfmdr1* genes of *Plasmodium falciparum* and *in vitro* susceptibility to amodiaquine and desethylamodiaquine. *Am J Trop Med Hyg* 77: 1034–1038.
26. **Figueiredo, LM, Freitas-Junior, LH, Bottius, E., Olivo-Marin, JC & Scherf, A.** Un rôle central pour *Plasmodium falciparum* régions subtélomériques dans le positionnement spatial et de la réglementation de la longueur des télomères. *EMBO J.* 21, 815-824 (2002)
27. **Folarin OA, Bustamante C, Gbotosho GO, Sowunmi A, Zalis MG, Oduola AM, Happi CT, 2011.** *In vitro* amodiaquine resistance and its association with mutations in *Pfcr1* and *Pfmdr1* genes of *Plasmodium falciparum* isolates from Nigeria. *Acta Trop* 120: 224–230.

28. **G. E. Childs et al.,** *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 40, 7 (1989).
29. **Gardner, MJ. et al** chromosome 2 séquence du paludisme humain parasite *Plasmodium falciparum* . *Sciences* 282, 1126-1132 (1998)
30. **Hernandez, RR, Hinterberg, K. & Scherf, A.** Compartimentation des gènes codant pour les antigènes immunodominants à chromosome fragile extrémités conduit à disperser les familles de gènes subtélomériques et l'évolution du gène rapide de *Plasmodium falciparum* . *Mol. Biochem. Parasitol.* 78 , 137-148 (1996)
31. **Humphreys GS, Merinopoulos I, Ahmed J, Whitty CJ, Mutabingwa TK, Sutherland CJ, et al.** Amodiaquine and artemether-lumefantrine select distinct alleles of the *Plasmodium falciparum mdr1* gene in Tanzanian children treated for uncomplicated malaria. *Antimicrob Agents Chemother* 2007 ; 51 : 991-7.
32. **J. Le Bras et al** Molecular surveillance of drug resistance through imported isolate s of *Plasmodium falciparum* in Europe. *Malar J*, 2002, 1, p11.
33. **J. Le Bras et al** /*Medecine et maladies infectieuse* 36(2006) 401-405).
34. **Jour, KP et al.** Gènes nécessaires pour l'expression d'un déterminant de la virulence et de la transmission de *Plasmodium falciparum* sont situés sur une zone de 0,3 mégabases du chromosome 9. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 90, 8292-8296 (1993)
35. **Katinka M. D., Duprat S., Cornillot E., Metenier G., Thomarat F., Prensier G.** 2001 Genome sequence and gene compaction of the eukaryote parasite *Encephalitozoon cuniculi*. *Nature* 414: 450-453
36. **Lim P, Alker AP, Khim N, Shah NK, Incardona S, Doung S, et al.** *Pfmdr1* copy number and artemisinin derivatives combination therapy failure in *falciparum malaria* in Cambodia. *Malar J* 2009 ; 8 : 11.
37. **Louis, EJ, Naumova, ES, Lee, A., Naumov, G. & Haber, JE** L'extrémité des chromosomes dans la levure: sa nature de la mosaïque et de l'influence sur la dynamique de recombinaison génétique 136 , 789-802 (1994)

- 38. Mazer D. et Sankale M:** Guide de médecine en Afrique et Océan Indien. EDICEF, 1990: 636.
- 39. Mbacham W. N.,** Marqueurs moléculaires de résistance aux médicaments antipaludiques: nécessaires mais pas suffisants pour un changement de politique de santé. *Médecine Tropicale* 2007, pp 183-187
Méd Mal Infect 1999 ; 29 Suppl 3 : 274-81
- 40. Ministère de l'économie et finances:** Situation économique et sociale de la région de Thiès, 2005
- 41. Ministère de l'Intérieur:** Découpage administratif de la région de Thiès, 2012
- 42. Ministère de la santé du Sénégal:** Morbidité et mortalité palustre au Sénégal ; archive programme nationale de lutte contre le paludisme; 2013
- 43. Ministère de la Santé et de la Prévention du Sénégal:** Rapport Statistique 2009. Dakar Programme National de Lutte contre le Paludisme (PNLP), 2010.
- 44. Moriyama E. N., Powell J. R.** 1997 Codon usage, bias and t-RNA abundance in *Drosophila*. *J. Mol. Evol.* 45, 514-523.
- 45. MOUCHET J, CARNAVALE P.** Les vecteurs de la transmission du paludisme.
- 46. Mu J, Ferdig MT, Feng X, Joy DA, Duan J, Furuya T, et al.** Multiple transporters associated with malaria parasite responses to chloroquine and quinine. *Mol Microbiol* 2003 ; 49 : 977-89.
- 47. Murray Christopher J.L., Rosenfedl., Lisa C., Lim Stephen S., Andrews Kathyn G., Foreman Kyle J and Haring D:** Global malaria mortality between 1980 and 2010: a systematic analysis. *Lancet*, 2012 Feb 4; 379 (9814):413-31.
- 48. Ndiaye F.** Chimiosensibilité in vitro de l'artémisinine et polymorphisme du gène *Pfmdr1* des souches de *P. falciparum* isolé à Thiès en 2008. Thèse Med, Dakar 2009, n° 113.

- 49. Nyarango PM, Gebremeskel T, Mebrahtu G, Mufunda J, Abdulummini U, Ogbamariam A, et al.** A steep decline of malaria morbidity and mortality trends in Eritrea between 2000 and 2004 : the effect of combination of control methods. *Malar J*; 5 : 33, 2006.
- 50. Ochong EO, van den Broek IV, Keus K, Nzila A, 2003. Short report:** association between chloroquine and amodiaquine resistance and allelic variation in the *Plasmodium falciparum* multiple drug resistance 1 gene and the chloroquine resistance transporter gene in isolates from the upper Nile in southern Sudan. *Am J Trop Med Hyg* 69: 184–187
- 51. Ogbonna A, Uneke CJ.** Artemisinin-based combination therapy for uncomplicated malaria in sub-Saharan Africa: the efficacy, safety, resistance and policy implementation since Abuja 2000. *Trans R Soc Trop Med Hyg*; 102: 621-7, 2008.
- 52. Organisation mondiale de la santé (OMS):** Chimio-prévention du paludisme saisonnier pour lutter contre le paludisme à *P. falciparum* en zones de forte transmission dans la sous-région du Sahel en Afrique. Mars 2012: 4.
- 53. P. G. Bray, S. R. Hawley, M. Mungthin, S. A. Ward,** *Mol. Pharmacol.* 50, 1559 (1996).
- 54. PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE MEDICALES** Eléments de morphologie et de biologie
- 55. Paulsen, informatique, Nguyen, L., Sliwinski, MK, Rabus, R. & Saier,** analyses génome, *MH Jr microbienne*: les capacités de transport comparatifs dans dix-huit des procaryotes. *J. Mol. . Biol* 301 , 75-100 (2000)
- 56. Picot S, Olliaro P, de Monbrison F, Bienvenu AL, Price RN, Ringwald P.** A systematic review and meta-analysis of evidence for correlation between molecular markers of parasite resistance and treatment outcome in *falciparum malaria*. *Malar J* 2009 ; 8 : 89.

- 57. Pologe, LG & Ravetch, JV** Un réarrangement chromosomique dans un *P. falciparum* gène de la protéine riche en histidine est associé au phénotype de knobless. *Nature* 322 , 474-477 (1986)
- 58. PRICE RN, UHLEMANNAC, BROCKMANA et Coll.** Mefloquine resistance in *Plasmodium falciparum* and increased *Pfmdr1* gene copy number. *Lancet* 2004 ; 364 : 438-47.
- 59. PRICE RN, UHLEMANNAC, VANVUGTM et Coll** Molecular and pharmacological determinants of the therapeutic response to artemether-lumefantrine in multidrug-resistant *Plasmodium falciparum* malaria. *Clin Infect Dis* 2006 ; 42 : 1570-7.
- 60. Programme Nationale de Lutte contre le Paludisme (PNLP):** Cadre Stratégique de lutte contre le Paludisme 2014 – 2018.
- 61. Programme National de Lutte contre le Paludisme(PNLP):** Rapport 2008
- 62. Rager, N., Mamoun, CB, Carter, NS, Goldberg, DE & Ullman, B.** Localisation du *Plasmodium falciparum* transporteur de nucléosides PfNT1 à la membrane parasite de plasma. *J. Biol. . Chem* 276 , 41095-41099 (2001)
- 63. RANFORD-CARTWRIGHT LC, BALFE P, CARTER R, WALLIKER D** - *Mol Biochem Parasitol* 1991 ; 46 : 185-7.
- 64. Reed MB, Saliba KJ, Caruana SR, Kirk K, Cowman AF.** Pgh1 modulates sensitivity and resistance to multiple antimalarials in *Plasmodium falciparum*. *Nature* 2000 ; 403 : 906-9.
- 65. Sa JM, Twu O, Hayton K, et al.** Geographic patterns of *Plasmodium falciparum* drug resistance distinguished by differential responses to amodiaquine chloroquine. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106:18883–9.
- 66. Scherf, A. et al** inactivation du gène de *Plasmodium falciparum* par des cassures chromosomiques et la guérison: identification d'une protéine spécifique de gamétocytes avec un rôle potentiel dans la gamétocytogenèse *EMBO J.* 11, 2293-2301 (1992)

- 67. Scherf, A., Figueiredo, LM & Freitas-Junior, LH** *Plasmodium* télomères: point de vue d'un agent pathogène *Curr. Opin. Microbiol.* 4 , 409-414 (2001)
- 68. Sidhu AB, Uhlemann AC, Valderramos SG, Valderramos JC, Krishna S, Fidock DA, 2006.** Decreasing *Pfmdr1* copy number in *Plasmodium falciparum* malaria heightens susceptibility to mefloquine, lumefantrine, halofantrine, quinine, and artemisinin. *J Infect Dis* 194: 528–535.
- 69. Sisowath C, Strömberg J, Mårtensson A, Msellem M, Obondo C, Björkman A, et al.** In vivo selection of *Plasmodium falciparum pfmdr1 86N* coding alleles by artemether- lumefantrine (Coartem). *J Infect Dis* 2005; 191 : 1014-7.
- 70. SU X, KIRKMAN LA, FUJIOKA H, WELLEMS TE** - Complex polymorphisms in an ~330 kDa protein are linked to chloroquine-resistant *P. falciparum* in Southeast Asia and Africa. *Cell* 1997 ; 91 : 593-603.
- 71. Ta et al.** *Malaria Journal* 2014.13 :68)
- 72. Tan T. H., Pach R., Crausaz A., Ivens A., Schneider A.** 2002 tRNAs in *Trypanosoma brucei*; genomic organization, expression, and mitochondrial import. *Mol. Cell. Biol* 22, 3707-3717
- 73. Tarassov I. A. & Martin R. P.** 1996 Mechanisms of tRNA import into yeast mitochondria: an overview. *Biochimie* 78, 502-510
- 74. Thomas SM, Ndir O, Dieng T, Mboup S, Wypij D, Maguire JH, Wirth DF.** 2002 In vitro chloroquines susceptibility and PCR analysis of *Pfprt* and *Pfmdr* polymorphisms in *P. falciparum* isolates from Sénégal.
- 75. Tinto H, Guekoun L, Zongo I, Guiguemde RT, D'Alessandro U, Ouedraogo JB, 2008.** Chloroquine-resistance molecular markers (*Pfprt T76* and *Pfmdr-1 Y86*) and amodiaquine resistance in Burkina Faso. *Trop Med Int Health* 13: 238–240.

- 76. Vaidya A. B., Akella R. & Suplick K. 1989** Sequences similar to genes for two mitochondrial proteins and portions of ribosomal RNA in tandemly arrayed 6-kilobase-pair DNA of a malaria parasite. *Mol. Biochem. Parasitol.* 35: 97-107
- 77. Vaidya A. B., Lashgari M. S., Pologe L. G. & Morrisey J. 1993** Structural features of Plasmodium cytochrome b that may underlie susceptibility to 8-aminoquinolines and hydroxynaphthoquinones.
- 78. Van Deutekom, JC. et al** implications pour le conseil génétique et l'étiologie de FSHD1: preuve d'échange subtélomérique de 3,3 kb unités entre chromosomes 4q35 et 10q26 répétée en tandem *Hum. Mol. Genet.* 5, 1997-2003 (1996)
- 79. VOLKMAN SK, SABETI PC, DECAPRIO D et Coll** -A genome-wide map of diversity in *Plasmodium falciparum*. *Nat Genet* 2007; 39 : 113-9.
- 80. Watanabe J., Sasaki M., Suzuki Y., & Sugano S.** 2001 FULL-malaria: a database for a full-length enriched cDNA library from human malaria parasite, *Plasmodium falciparum*. *Nucleic acids Res.* 29: 70-71
- 81. White N.J.** *Plasmodium knowlesi*: the fifth human malaria parasite. *Clin Infect Dis*, 2008, 46 (2): 172-3.
- 82. WHO.** Susceptibility of *Plasmodium falciparum* to antimalarial drugs: report on global monitoring: 1996-2004. World Health Organisation ed, Geneva, 2005. Report No. : WHO/HTM/MAL/2005.1103.
- 83. WHO.** The world malaria report 2014. Geneva: World Health Organization; 2014. Report No. :WHO/HTM/GMP/2015.2
- 84. William E:** *Plasmodium knowlesi*: A Malaria Parasite of Monkeys and Humans. *Annu. Rev. Entomol.* 2012. 57:107–21.
- 85. Wilson R. J., Denny P.W., Presier P.R., Rangachari K., Roberts K., Roy A., Whyte A., Strath M., Moore D.J., Moore P.W, Williamson D.H.** 1996 Complete gene map of the plastid-like DNA of the malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *J. Mol. Biol.* 261: 155-172

- 86. Zuegge J., Ralph S., Schmuker M., McFadden G. I. & Schneider G.**
2001 Deciphering apicoplast targeting signals-feature extraction from nuclear-encoded precursors of *Plasmodium falciparum* apicoplast proteins.
Gene 280: 19-26

LE SERMENT DE GALIEN

« Je jure, en présence des Maitres de La Faculté, des Conseillers de L'Ordre des Pharmaciens et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

D'exercer, dans l'intérêt de la sante publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

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

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

PERMIS D'IMPRIMER

Vu :
Le président de jury

Vu :
Pour le doyen

Vu et Permis d'imprimer

Pour le recteur, président de l'assemblée de l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar

Et par délégation

Le doyen