

SEED Hématologie



Paludisme : fléau mondial, défis diagnostiques et nouvelles possibilités

Introduction

Le paludisme est une maladie qui frappe l'humanité depuis des millénaires et qui reste une menace aujourd'hui pour 40 % de la population mondiale. Cette maladie est causée par un parasite unicellulaire du genre *Plasmodium* principalement transmis à l'Homme par la piqûre de moustiques Anopheles femelles infectés. Il existe d'autres voies de transmission, notamment la transmission du parasite de la mère au fœtus, par transfusion sanguine ou par une seringue contaminée. Le parasite *Plasmodium* envahit les hépatocytes et les érythrocytes, où il se multiplie avant destruction de la cellule, entraînant de nombreux symptômes et complications comme l'anémie, la fièvre, les maux de tête, les frissons et la jaunisse.

Actuellement, le paludisme se concentre dans les régions tropicales et subtropicales autour de l'Équateur (cf. figure 1), où les facteurs environnementaux favorisent la transmission de la maladie tout au long de l'année. Un climat chaud constant ($\geq 20\text{ °C}$) accompagné de longues saisons des pluies offrent des conditions idéales pour la prolifération des moustiques et la multiplication des parasites dans leur organisme. En outre, les mauvaises conditions de logement dans les zones rurales et la surpopulation permettent une transmission plus efficace de l'infection d'individu à individu [1].

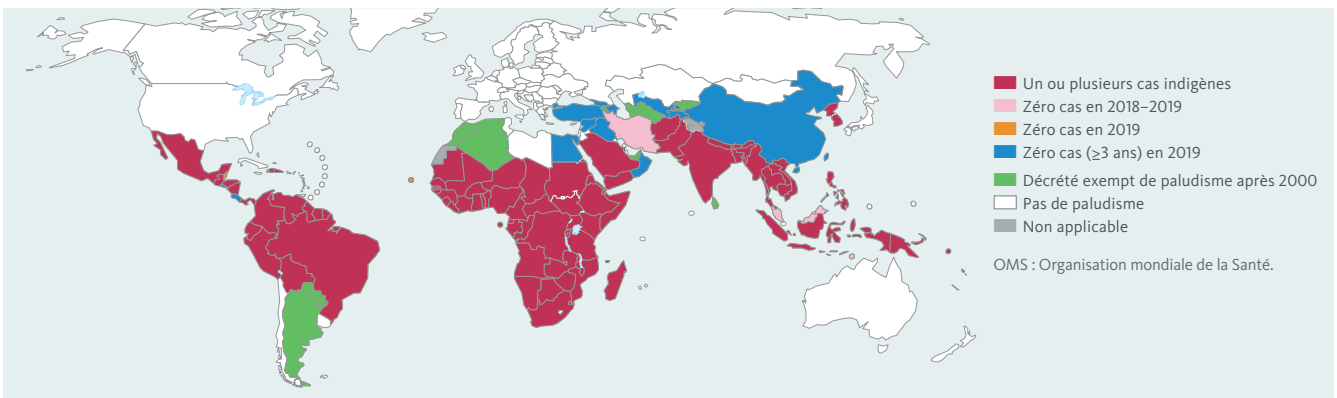


Fig. 1 Pays avec des cas indigènes et leur statut en 2019 [1].

Un fléau sanitaire mondial

Le paludisme est une maladie que l'on est capable de dépister, de prévenir et de guérir, mais elle continue de causer de lourdes pertes à l'échelle mondiale. L'Organisation mondiale de la Santé (OMS) a depuis longtemps compris le besoin d'efforts coordonnés pour combattre cette maladie et a ainsi lancé la première initiative mondiale pour éradiquer la maladie en 1955. Bien qu'efficace au début, avec une éradication du paludisme dans 37 pays, ce programme a connu ensuite de nombreux revers avant d'être abandonné en 1972. Après une période de 30 ans pendant laquelle aucun programme structuré de contrôle du paludisme n'a été instauré, conduisant à des dizaines de millions de morts, la lutte a été relancée en 2000, avec des résultats visibles vingt ans plus tard [2].

Selon les chiffres de l'OMS, le nombre total de cas estimés chaque année est passé de 238 millions en 2000 à 229 millions en 2019, avec une diminution de 50 % du nombre annuel de décès, de 736 000 en 2000 à 409 000 en 2019, malgré la croissance continue de la population mondiale (cf. figure 2). Les programmes de contrôle du paludisme menés pendant cette période ont également permis de faire chuter le nombre de pays où cette maladie est endémique, de 108 à 87, l'incidence de 80 à 57 cas pour 1 000 personnes et le taux de mortalité de 25 à 10 décès pour 100 000 personnes [1].

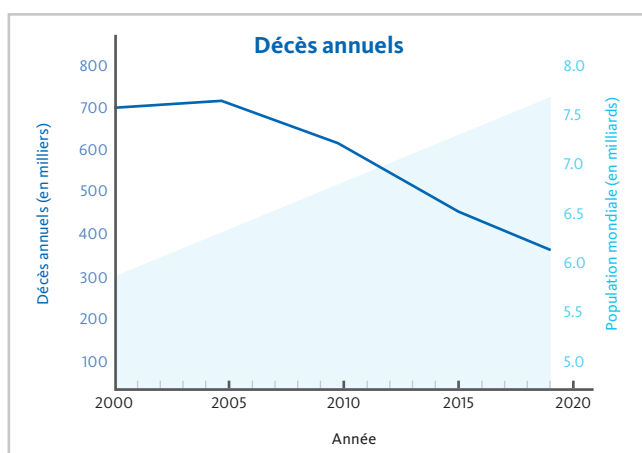
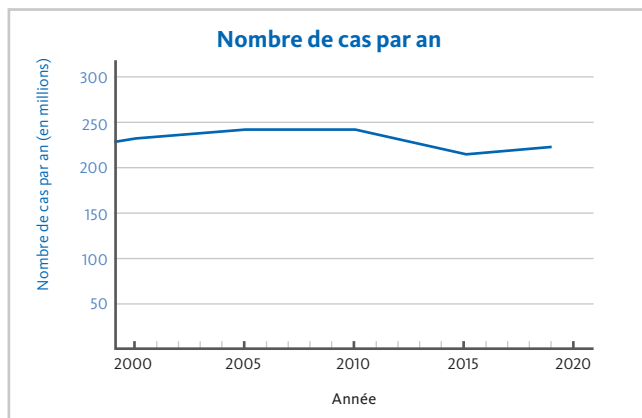



Fig. 2 Estimation du nombre annuel de cas de paludisme et de décès entre 2000 et 2019 [1]. Les données concernant la population mondiale sont tirées de ourworldindata.org.

C'est sur le continent africain que le paludisme fait le plus de ravages, avec 94 % des cas et des décès par an, et 27 des 29 pays représentant 95% des cas de paludisme dans le monde. Les pays les plus touchés sont le Nigeria et la République démocratique du Congo, avec respectivement 27 % et 12 % des cas à l'échelle mondiale.

Le continent européen reste exempt de paludisme depuis 2015, mais quelques cas sont toujours rapportés chaque année, avec une incidence de 8 641 cas en 2019. Ces cas sont considérés comme des cas importés, touchant des personnes ayant voyagé dans des pays où la maladie est endémique. Mais les efforts de surveillance, de dépistage, de diagnostic et de traitement ont jusqu'ici permis d'empêcher une résurgence du paludisme dans cette région [3].


Les populations les plus vulnérables sont les femmes enceintes et les enfants de moins de cinq ans. Dans ces deux groupes, le système immunitaire peut être respectivement soit affaibli, soit encore assez jeune. La mortalité au sein de la population pédiatrique est très élevée : elle représentait 67% des décès en 2019. On estime à 12 millions le nombre de femmes exposées au parasite responsable du paludisme au cours de leur grossesse, ce qui représentait 822 000 enfants de faible poids à la naissance [1].

Pendant ces deux décennies, le programme mondial de lutte antipaludique mené par l'OMS a lancé l'initiative « T3: Test. Treat. Track. » (Tester. Traiter. Tracer.) afin d'aider les pays où la maladie est endémique à atteindre une couverture universelle en matière de dépistage et de traitement, et à renforcer leurs systèmes de surveillance (cf. figure 3). Cette initiative stipule que : (1) tous les cas suspects de paludisme doivent être analysés et le diagnostic doit être confirmé soit par un examen microscopique, soit par un test diagnostique rapide (TDR) avant le début du traitement ; (2) tous les cas confirmés doivent être traités avec une thérapie antipaludique à l'efficacité prouvée en fonction de la gravité de la maladie ; (3) tous les cas suspects, tous les tests diagnostiques réalisés et tous les traitements administrés doivent faire l'objet d'un suivi et d'un enregistrement dans un système de surveillance afin d'identifier les populations à risque et d'affecter des ressources en conséquence [4].




Tester

Les pays où le paludisme est endémique doivent s'assurer de tester tous les cas suspects.



Traiter

Tous les cas confirmés doivent être traités avec une thérapie antipaludique à l'efficacité prouvée.



Tracer

La maladie est suivie en continu grâce à des systèmes de surveillance précis afin d'orienter les directives et les actions à mettre en œuvre.

Fig. 3 Résumé de la stratégie T3 du programme mondial de lutte antipaludique mené par l'OMS.

Le parasite *Plasmodium*

On dénombre actuellement cinq espèces de parasite *Plasmodium* à l'origine du paludisme chez l'homme mais la majeure partie des cas et des décès est causée par deux d'entre elles seulement, *Plasmodium falciparum* et *Plasmodium vivax*. *P. falciparum* est le parasite le plus létal, responsable de 97,2% des cas dans le monde et de 99,7% des cas en Afrique. En revanche, c'est *P. vivax* qui présente la plus grande distribution géographique et qui prédomine en Asie du Sud-Est (51,7% des cas) et aux Amériques (72,3% des cas).

La transmission et le cycle de vie du parasite responsable du paludisme implique plusieurs stades dans l'organisme du moustique, puis dans le foie et les érythrocytes de l'Homme (cf. figures 4 et 5) [5].

a. Cycle exo-érythrocytaire : réplication dans le foie

Une infection démarre par la piqûre d'un moustique infecté, qui libère des sporozoïtes dans l'hôte. Ces derniers sont transportés par la circulation sanguine jusqu'au foie et infectent les hépatocytes, où ils mûrissent en schizontes et se répliquent. Après un certain temps, les schizontes éclatent, entraînant la destruction des hépatocytes hôtes et des mérozoïtes sont libérés dans la circulation sanguine.

b. Cycle érythrocytaire : multiplication asexuée dans les érythrocyte

Les mérozoïtes infectent à leur tour les érythrocytes, se multiplient de façon asexuée et se transforment en trophozoïtes immatures à la forme caractéristique en anneau.

Certains trophozoïtes se transforment alors en schizontes et, comme à un stade précédent du cycle, éclatent, détruisant les érythrocytes infectés et libérant des mérozoïtes pouvant infecter de nouveaux érythrocytes.

c. Cycle érythrocytaire : multiplication sexuée dans les érythrocytes

Au stade de trophozoïtes immatures, certaines cellules se différencient en gamétocytes, qui forment les stades érythrocytaires sexués : les microgamétocytes mâles et les macrogamétocytes femelles. Ces cellules peuvent être transférées à un autre moustique lors d'une piqûre.

d. Cycle sporogonique : multiplication au sein du moustique

Les gamétocytes ingérés par le moustique lors de la piqûre d'un hôte infecté atteignent l'estomac, où le microgamète pénètre le macrogamète, générant des zygotes capables de circuler. Les zygotes s'allongent pour devenir des ookinètes qui envahissent la paroi de la partie moyenne de l'intestin du moustique, où ils produisent des oocystes. Les oocystes grandissent jusqu'à ce qu'ils éclatent et libèrent des sporozoïtes, qui migrent jusqu'à la glande salivaire du moustique avant d'être transmis à un autre hôte humain à la piqûre suivante.

Bien que *P. falciparum* et *P. vivax* possèdent les mêmes stades de cycle de vie (décrits ci-dessus), les deux parasites présentent plusieurs différences dans ce développement. *P. falciparum* passe en moyenne 5,5 jours au premier stade de son cycle de vie, dans les cellules hépatiques, contre huit jours pour *P. vivax*, et libère environ 30 000 mérozoïtes de chaque hépatocyte, par rapport à 10 000 en cas d'infection par *P. vivax*. En outre, pour les deux espèces, la schizogonie dure 48 heures mais la période d'incubation de *P. falciparum* est en moyenne de 11 jours contre 14 jours pour *P. vivax* et ses trophozoïtes forment de plus petits anneaux que *P. vivax*. Enfin, *P. falciparum* peut infecter des érythrocytes de tout âge, sans augmenter leur volume, alors que *P. vivax* infecte les jeunes érythrocytes (réticulocytes) et entraîne une augmentation de leur volume. Cette différence de cellules cibles de prédilection peut expliquer l'écart entre la parasitémie maximale observée, qui peut aller jusqu'à 50% en cas d'infection grave par *P. falciparum*, contre 2% à 5% en cas d'infection par *P. vivax* [6].

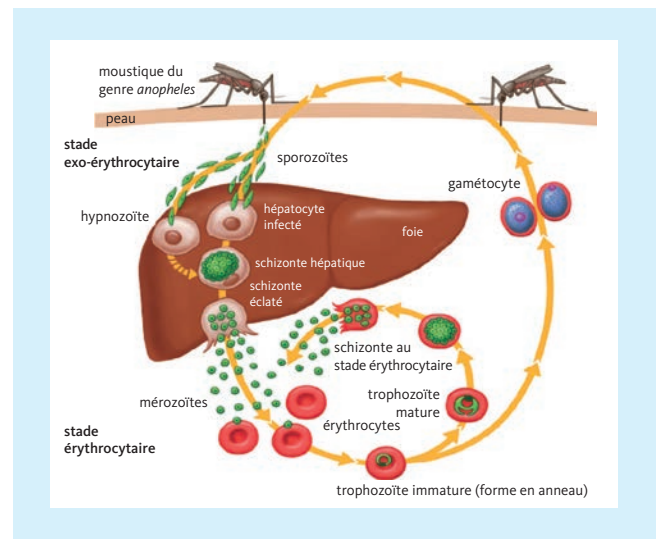


Fig. 4 Cycle de vie du parasite *Plasmodium*.

Source : Hill A (2011): Vaccines against malaria. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* [5].

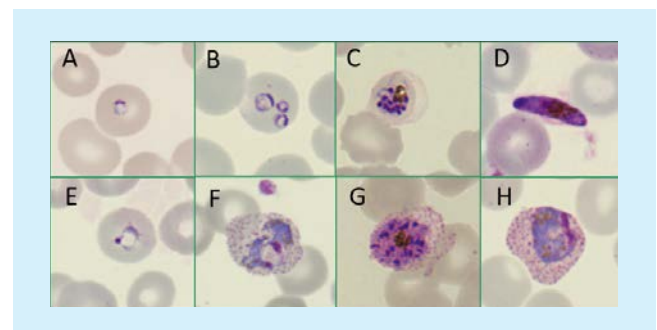


Fig. 5 Morphologie de *Plasmodium falciparum* (A–D) et de *Plasmodium vivax* (E–H). On peut observer des trophozoïtes de forme annulaire (A, E), des trophozoïtes matures (B, F), des schizontes (C, G) et des gamétocytes (D, H).

Source : Rob Koelewijn et Jaap van Hellemond, Dept. Medical Microbiology @ Infectious Diseases, Erasmus MC University Medical Center Rotterdam, Pays-Bas.

Manifestation clinique

Le paludisme peut se manifester sous différentes formes. De nombreux cas sont asymptomatiques : le parasite est présent dans la circulation sanguine en très petite quantité (parasitémie inférieure à 5 000 parasites par microlitre de sang), mais sans signe ni symptôme de la maladie. Une anémie légère est parfois observée, avec moins de 0,1% des érythrocytes infectés par le parasite. On trouve cette forme de paludisme principalement chez des personnes ayant acquis une forte immunité contre la maladie par des années d'exposition constante, comme des adolescents ou des adultes habitant ou venant de zones dans lesquelles la maladie est endémique et où le taux de transmission est élevé.

La forme légère de paludisme s'accompagne des symptômes classiques : fièvre, frissons, maux de tête et léthargie. On observe une parasitémie supérieure à 5 000 parasites par microlitre de sang, ainsi qu'une anémie légère où plus de 0,1% des érythrocytes sont infectés. Les migrants ayant développé une semi-immunité présentent généralement cette forme de paludisme.

La manifestation la plus extrême de la maladie est la forme sévère du paludisme, caractérisée par sa complexité avec des signes et des symptômes de lésion d'organes. La parasitémie dépasse alors les 100 000 parasites par microlitre de sang, s'accompagne d'une anémie sévère et présente jusqu'à 10% d'érythrocytes infectés. Dans la plupart des cas, on retrouve ce type de paludisme dans les zones où la maladie est endémique, chez des enfants de moins de cinq ans, des femmes enceintes et des voyageurs au système immunitaire jeune ou immunodéprimés.

Anémie

L'anémie figure dans le tableau clinique de tous les types de paludisme ; en outre, elle contribue d'une manière ou d'une autre à une proportion importante des décès. Plusieurs mécanismes expliquent la pathogénie de l'anémie palustre. Le plus évident est la destruction des érythrocytes infectés lorsque les schizontes éclatent pour libérer les mérozoïtes. Une parasitémie plus élevée conduit à un plus grand nombre de cellules hémolysées. En même temps, la rate a la capacité d'éliminer les parasites des érythrocytes et de libérer à nouveau ces derniers dans la circulation sanguine. La taille de la rate augmente afin d'accroître le taux de clairance parasitaire mais les érythrocytes ayant été infectés n'ont plus qu'une durée de vie limitée.

Cependant, le facteur contribuant le plus à l'anémie est la destruction des érythrocytes non parasités. La membrane des érythrocytes, de par sa forme et sa structure caractéristiques, leur permet de changer de forme lorsqu'ils passent à travers des

capillaires plus petits que leur diamètre, et de passer à travers le système de filtration de la rate. On appelle cette propriété la déformabilité. En cas d'infection, la majorité des érythrocytes perdent en déformabilité, et comme la rate élimine les cellules anormales de façon plus stricte, un grand nombre de cellules saines mais légèrement rigides sont retirées de la circulation sanguine et détruites dans la rate, ce qui aggrave l'hémolyse et l'anémie. Enfin, des troubles de l'érythropoïèse ont été observés en cas de paludisme. Les cytokines pro-inflammatoires et d'autres facteurs libérés pendant l'infection freinent la production d'érythrocytes et favorisent la destruction des précurseurs de globules rouges [7].

Perspectives et défis cliniques

Un diagnostic précoce et exact du paludisme est essentiel dans la lutte contre cette maladie, afin de permettre la mise en place d'un traitement spécifique destiné à prévenir les complications et à réduire la mortalité. Le processus de diagnostic commence par une suspicion de paludisme à partir d'un ensemble de critères cliniques prédéfini, qui peut différer en fonction du niveau d'endémicité de la maladie et des types de fièvre non palustres présents dans la région.

Parmi les grandes maladies, le paludisme présente l'un des tableaux cliniques les moins spécifiques. Les causes de la fièvre vont d'une infection virale bénigne à une infection grave engageant le pronostic vital et nécessitant un traitement immédiat et adapté. Le paludisme peut coexister avec d'autres maladies mortelles, comme la pneumonie, qui requiert elle aussi un traitement urgent et approprié, en particulier chez les jeunes enfants. Lors de la prise en charge d'un patient fébrile, il est donc impossible de savoir, sur la seule base du tableau clinique, si l'affection est due au paludisme ou à une autre maladie. Pour un traitement optimal capable de sauver des vies, il est essentiel de poser un diagnostic précis. Poser un diagnostic pour confirmer le paludisme est encore plus vital dans les régions où des programmes assurent le contrôle de la maladie, où son incidence décline et où la probabilité qu'elle soit la cause de la fièvre est réduite. Le diagnostic permet de s'assurer que les traitements antipaludiques ne sont pas utilisés à mauvais escient et que les autres maladies sont correctement diagnostiquées et prises en charge.

Chez un individu présentant un état fébrile aiguë, effectuer un test de dépistage du paludisme a pour objectif de confirmer la présence ou l'absence d'une infection palustre afin de décider si l'administration d'un traitement antipaludique est ou non préconisée.

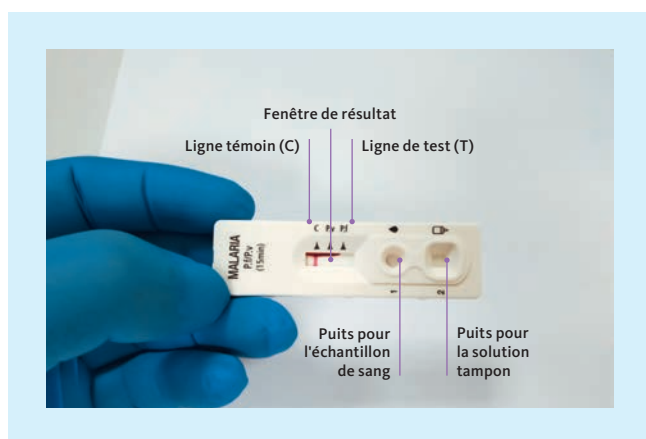


Fig. 6 Représentation schématique d'une cassette de TDR

Tableau 1 Utilisation du TDR : défis potentiels

Mauvaise spécificité	<ul style="list-style-type: none"> ■ faux positifs ■ impossible de différencier une infection récente d'une nouvelle infection
Sensibilité	<ul style="list-style-type: none"> ■ hautement variable (plus de 100 TDR sont disponibles sur le marché) ■ dépend des conditions de stockage ■ dépend de l'espèce (à moins d'être pan-spécifique, possibilité de manquer d'autres infections) ■ mutation émergente de la protéine riche en histidine 2 (HRP-2) chez <i>P. falciparum</i> : faux négatifs ■ seuil inférieur de détection ~ 100 à 200 parasites/μl ■ des TDR ultrasensibles basés sur HRP-2 existent avec un seuil de détection inférieur de 10 fois celui d'un TDR classique (utilisé principalement à des fins de surveillance)
Limites diagnostiques	<ul style="list-style-type: none"> ■ méthode indirecte (parasite détecté de manière indirecte) ■ absence de quantification ■ ne peut pas être utilisé pour le suivi

Tests diagnostiques actuels et nouvelles possibilités

1. Test de diagnostic rapide (TDR)

Il s'agit d'un test immunochromatographique simple et facile d'utilisation visant à détecter les antigènes du parasite responsable du paludisme dans un échantillon de sang prélevé au doigt (cf. figure 6). Le TDR ne requiert ni eau, ni électricité, ni équipement de laboratoire et peut donc être effectué même dans des zones rurales reculées. La réalisation du TDR et l'interprétation des résultats ne nécessitent qu'une formation

limitée et la performance diagnostique ne dépend pas de la disponibilité de techniciens de laboratoire formés. Le TDR se présente généralement sous quatre formes : cassette, bandelette réactive, carte ou autre format hybride combinant plusieurs éléments. Le délai d'obtention des résultats est d'environ 15 minutes.

2. Microscopie

L'OMS recommande un diagnostic rapide basé sur la présence du parasite, par microscopie ou TDR, dans tous les cas de suspicion de paludisme avant qu'un traitement antipaludique ne soit administré [8]. La coloration au Giemsa est la méthode habituellement utilisée pour la microscopie en cas de suspicion de paludisme. Le diagnostic requiert l'examen d'un frottis mince¹ et d'une goutte épaisse² du même patient.

Cependant, la précision des résultats de microscopie dépend de la disponibilité d'un technicien compétent utilisant des réactifs de coloration de bonne qualité pour l'examen et de lames bien préparées à l'aide d'un microscope bien entretenu avec une source de lumière adéquate. En outre, il convient de ne pas dépasser une charge de travail légère à modérée pour éviter la fatigue. Par conséquent, il est difficile de maintenir une microscopie de qualité, en particulier dans les services de santé de proximité, dans lesquels la plupart des patients se rendent et qui sont situés dans les pays où le paludisme est endémique. Le secteur privé, qui fournit également des services d'analyses de laboratoire à une grande partie de la population de certains pays, manque souvent cruellement de ressources.

Tableau 2 Diagnostic du paludisme par microscopie : défis potentiels

Les résultats sont variables	<ul style="list-style-type: none"> ■ qualité du frottis ■ expérience du technicien ■ temps passé à scanner chaque frottis, c'est-à-dire à réaliser la microscopie HPF (<i>high-power fields</i>) avant de déclarer le frottis négatif
La microscopie reste la méthode de référence mais présente des « faux négatifs »	<ul style="list-style-type: none"> ■ la sensibilité n'est pas toujours satisfaisante, surtout chez la femme enceinte ■ la sensibilité est influencée par la charge de travail ■ limite de détection en routine d'env. 100–500 parasites/μL ■ limite de détection expert d'env. 5–50 parasites/μL
Limites diagnostiques	<ul style="list-style-type: none"> ■ résultat subjectif – dépend de l'expérience du technicien ■ disponibilité limitée du personnel expérimenté ■ méthode non standardisée ■ programmes d'EEQ manuels (par pays)

¹ Le frottis mince consiste en une goutte de sang étalée pour former une couche dont l'épaisseur diminue progressivement vers le bord biseauté. Au niveau de ce bord biseauté, les cellules doivent former une monocouche, sans se toucher les unes des autres. Ce frottis mince sert à confirmer l'espèce de parasite du paludisme en présence.

² La goutte épaisse consiste en de nombreuses couches de globules rouges et blancs. Au moment de la coloration, l'hémoglobine contenue dans les globules rouges se dissout (ce qu'on appelle la déshémoglobination), ce qui rend plus facile et plus rapide l'examen d'une grande quantité de sang. Les composés sanguins (y compris les éventuels parasites) sont plus concentrés (environ 30 fois) que dans un frottis mince de même taille. L'examen d'une goutte épaisse est plus efficace pour détecter les parasites (meilleure sensibilité). Cependant, il ne permet pas d'examiner en détail la morphologie des parasites et ne suffit souvent pas à identifier l'espèce du parasite en présence.

Pour les pays où la maladie n'est pas endémique, le dilemme réside dans le manque d'expérience des techniciens, bien que l'ensemble des prérequis techniques qu'implique la préparation d'un frottis soit rempli. En effet, le paludisme n'est que rarement dépisté en routine dans les laboratoires d'hématologie et peut passer inaperçu.

Actuellement, le diagnostic du paludisme est posé à l'aide de deux méthodes principales : le TDR et la microscopie. D'après l'OMS et les Centres pour le Contrôle et la Prévention des Maladies (Centers for Disease Control and Prevention, CDC), les deux méthodes présentent des inconvénients majeurs pour un diagnostic efficace du paludisme. Les TDR ont un coût abordable, sont rapides et simples à réaliser mais ne peuvent servir qu'au dépistage. La microscopie est la méthode de référence pour le diagnostic du paludisme mais dépend fortement de la disponibilité d'un laboratoire correctement équipé et de techniciens expérimentés.

3. Analyses moléculaires

La réaction en chaîne par polymérase (PCR) est une méthode moléculaire couramment utilisée pour la détection du génome de *Plasmodium* dans les échantillons sanguins. Le principe de la PCR est de multiplier (amplifier) certaines séquences d'ADN. Dans le domaine du diagnostic, cette amplification spécifique permet par exemple la détection de micro-organismes dans des échantillons humains. Généralement, on considère qu'il s'agit d'une méthode rapide (par rapport à une mise en culture) et hautement spécifique pour le diagnostic des maladies infectieuses. La PCR est intéressante en complément de la microscopie pour confirmer l'identification des parasites de l'espèce *Plasmodium* dans les échantillons cliniques. Il existe des sous-types de PCR servant des objectifs différents, p. ex. la PCR classique pour la confirmation qualitative ou la PCR quantitative (qPCR) pour évaluer la quantité de génome (c'est-à-dire de parasites) dans un échantillon.

L'identification de toutes les espèces (donnant un résultat positif au dépistage du paludisme) ou la différenciation entre espèces par l'identification de l'espèce en présence dépend du choix des amorces utilisées pour la PCR (brins d'ADN courts pour cibler une séquence d'ADN spécifique, p. ex. celles présentes chez les différents parasites du paludisme) et de la conception du test. La PCR est largement utilisée à des fins de confirmation, notamment pour la détermination de l'espèce. Par conséquent, l'analyse est principalement réalisée manuellement avec des réactifs élaborés en interne, bien qu'il existe dans le commerce plusieurs kits de réactifs PCR pour le dépistage du paludisme.

Autre méthode moléculaire émergente, la méthode LAMP (*loop-mediated isothermal amplification*, amplification isothermique à médiation par boucle). Comme pour la PCR, une séquence

Tableau 3 Tests moléculaires PCR et LAMP : défis potentiels et limites

	PCR	LAMP
Disponibilité	<ul style="list-style-type: none"> ■ disponibilité limitée, seulement dans les centres spécialisés en raison du besoin d'équipement technique de pointe ■ coûts élevés par rapport aux autres tests de routine ■ non disponible à la demande (en lots, env. 6 heures) ■ nécessite un haut niveau d'expertise 	<ul style="list-style-type: none"> ■ meilleure disponibilité en raison d'un équipement moins spécialisé ■ coût inférieur à celui de la PCR en raison d'un équipement moins spécialisé ■ disponible à la demande, contrairement à une méthode à haut rendement ■ moindre besoin d'expertise par rapport à la PCR
Sensibilité	<ul style="list-style-type: none"> ■ très haute sensibilité, mais aussi grande variabilité, selon : <ul style="list-style-type: none"> • le gène cible • le nombre de cibles • l'âge/la qualité de l'échantillon • la qualité de l'ADN/ARN ■ technologie utilisée (p. ex. qualitative ou quantitative) 	<ul style="list-style-type: none"> ■ très haute sensibilité, mais forte variabilité selon : <ul style="list-style-type: none"> • le gène cible • le nombre de cibles • l'âge/la qualité de l'échantillon • la qualité de l'ADN/ARN ■ technologie utilisée (p. ex. qualitative ou quantitative)
Limites diagnostiques	<ul style="list-style-type: none"> ■ pas de standardisation entre laboratoires, entraînant des résultats variables en fonction de la technologie choisie, du kit utilisé, du gène cible, etc ■ difficulté d'identification du stade du cycle de vie du parasite, notamment des gamétocytes (nécessite un test dédié par RT-PCR) ■ la contamination de l'environnement de travail par l'amplicon obtenu par PCR engendre un risque grave de résultats faussement positifs 	<ul style="list-style-type: none"> ■ les kits disponibles dans le commerce permettent une standardisation ■ impossible d'identifier le stade du cycle de vie du parasite ■ la contamination de l'environnement de travail par l'amplicon obtenu par PCR engendre un risque grave de résultats faussement positifs

d'ADN spécifique est ciblée par une amorce et amplifiée afin de permettre sa détection. La méthode LAMP diffère de la PCR car l'amplification est effectuée à température constante (amplification isothermique) en utilisant un type différent d'enzyme polymérase. De par cette simplicité associée à une certaine fiabilité face aux interférences, la méthode LAMP peut tout à fait devenir un test de dépistage simple mais spécifique des maladies infectieuses sur le terrain.

Plusieurs plateformes de dépistage du paludisme par une méthode moléculaire automatisée ont été mises au point, s'inspirant en grande partie de la technologie LAMP. Elles sont aujourd'hui utilisées pour le dépistage et/ou la confirmation du diagnostic de paludisme dans certaines structures, principalement dans des pays où la maladie n'est pas endémique.

Les défis potentiels et les limites de ces plateformes automatisées dépendent fortement du produit commercial utilisé et ne sont donc pas illustrés dans le tableau 3.

Étant donné que la PCR comme la LAMP se réfèrent au génome du parasite, aucune de ces méthodes ne convient pour déterminer à quelle étape de son cycle de vie se trouve le parasite. Cette information nécessite une analyse spécialisée par RT-PCR (*reverse transcriptase PCR*, PCR par transcriptase inverse) au niveau du transcriptome.

4. Quantification des érythrocytes infectés par un analyseur d'hématologie

Plusieurs fabricants d'analyseurs d'hématologie ont introduit des dispositifs de marquage du paludisme dans différents modèles d'analyseur. La sensibilité et la spécificité de ces marqueurs varient beaucoup, les rendant inaptes à devenir ou à remplacer une méthode de dépistage fiable. Le principe général est basé sur l'utilisation d'algorithmes pour détecter une éventuelle présence d'érythrocytes infectés perturbant la mesure dans certains canaux.

XN-31 est un nouvel analyseur d'hématologie automatisé intégrant un nouveau laser qui, associé à un réactif innovant, permet de détecter et de quantifier les érythrocytes infectés par le parasite du paludisme (*malaria-infected red blood cells*, MI-RBC). XN-31 rapporte la parasitémie non seulement en valeur absolue (MI-RBC#), mais aussi sous forme de ratio entre le nombre d'érythrocytes infectés et le nombre total d'érythrocytes (MI-RBC%). Le nuage de points qui en résulte permet de visualiser la population d'érythrocytes infectés. Chaque mesure génère un hémogramme complet concomitant qui fournit au clinicien des informations importantes pour l'interprétation clinique, car l'anémie joue un rôle majeur dans la mortalité en cas de paludisme et le degré de thrombopénie est un indicateur de la gravité de la pathologie.

XN-31 est conçu pour une utilisation par des professionnels de santé travaillant en laboratoire, comme alternative à la microscopie afin de diagnostiquer rapidement et objectivement le paludisme chez des sujets présentant un tableau clinique susceptible de correspondre. Disponible tous les jours en continu, indépendamment de l'expertise de l'utilisateur, qui ne nécessite aucune expérience dans le diagnostic du paludisme. L'analyseur fournit une numération précise et une détection directe des parasites et a montré une sensibilité de 100 % (IC de 95 % : 97,0 % – 100 %), ainsi qu'une spécificité de 100 % (IC de 95 % : 92,6 % – 100 %) dans la détection du parasite responsable du paludisme [9].

Enfin, il peut être utilisé à des fins de dépistage de masse ainsi que pour le suivi rapide et simple de la clairance parasitaire, grâce à une méthode standardisée donnant des résultats objectifs et cohérents, indépendamment de toute expertise. XN-31 possède une limite de quantification (LoQ) standard constante de 20 parasites/ μ L, assurant une numération fiable même en cas de faible parasitémie, ce qui permet aux cliniciens d'évaluer la réponse hématologique du patient en cours de traitement, indépendamment de l'expertise de l'utilisateur. La numération n'est pas non plus impactée par les mutations parasitaires, contrairement à la mutation de la protéine riche en histidine 2 (HRP2) de *P. falciparum*, qui nuit à la performance des TDR.

Perspectives

Au niveau mondial, des progrès ont été réalisés dans la réduction du nombre de cas et du nombre de décès dus au paludisme grâce à une plus large couverture et à l'efficacité des interventions menées, ainsi qu'à une augmentation des ressources allouées.

L'avenir de la lutte contre cette pathologie dépend fortement de facteurs externes tels que la croissance démographique, les flux migratoires, la pauvreté, l'inégalité, les situations d'urgence complexes et le changement climatique. À cela s'ajoutent l'inefficacité des systèmes de santé et les menaces biologiques comme les insecticides et la résistance aux médicaments.

La Stratégie Technique Mondiale de lutte contre le Paludisme vise à [10] :

- assurer l'accès universel à la prévention, au diagnostic et au traitement de la maladie.
- accélérer les efforts en vue de l'éradication de la maladie pour atteindre le statut « exempt de paludisme ».
- transformer la surveillance du paludisme en une intervention de base, essentielle.

Les outils de diagnostic disponibles en continu et qui ne sont pas liés aux compétences du personnel doivent soutenir cette Stratégie Technique Mondiale et être utilisés de façon à élargir l'accès à des moyens de diagnostic et de traitement précoces de qualité.

Bibliographie

- [1] **Global Malaria Programme (2020):** World Malaria Report 2020. WHO.
- [2] **The Roll Back Malaria Partnership et al. (2011):** Eliminating malaria: learning from the past, looking ahead. WHO.
- [3] **European Center for Disease Prevention and Control (2021):** Malaria, annual epidemiological report for 2019. ECDC.
- [4] **World Health Organization (2012):** T3 Test. Treat. Track. WHO.
- [5] **Hill AV (2011):** Vaccines against malaria. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 366(1579): 2806–14.
- [6] **Riedel S et al. (2019):** Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology, Twenty-Eighth Edition. McGraw-Hill Education/Medical.
- [7] **White NJ (2018):** Anaemia and malaria. *Malar J* 17(1): 371.
- [8] **Global Malaria Programme (2021):** WHO Guidelines for malaria. WHO.
- [9] **Pillay E et al. (2019):** Evaluation of automated malaria diagnosis using the Sysmex XN-30 analyser in a clinical setting. *Malar J* 18(1): 15.
- [10] **Global Malaria Programme (2019):** World Malaria Report 2019. WHO.