

Chapitre 1 : Introduction

1.1 Le parasite *Plasmodium*

1.1.1 La famille *Apicomplexa*

Le phylum *Apicomplexa*, du domaine des eucaryotes et du règne des *Chromalveolata*, forme un large groupe de protozoaires unicellulaires. En 1970, Levine nomme et identifie la famille *Apicomplexa* comme étant des parasites intracellulaires obligatoires qui sont caractérisés par la présence d'un complexe apical responsable de l'invasion de la cellule hôte¹. Il s'agit du plus large groupe de parasites unicellulaires, comprenant entre 1.2 et 10 millions d'espèces, dont la majorité est considérée comme pathogène pour les humains ou les animaux². Parmi les mieux caractérisés, on retrouve les genres *Toxoplasma* (responsable de la toxoplasmose chez les oiseaux et les mammifères), *Cryptosporidium* (connu pour causer la cryptosporidiose chez les vertébrés), *Theileria* (parasite causant la theilériose chez les animaux de ferme) et *Plasmodium* (pathogène de la malaria chez les humains et divers vertébrés)³.

Le parasite *Toxoplasma* est le membre le plus étudié de la famille *Apicomplexa* et il est fréquemment utilisé comme organisme modèle dans des études de biologie moléculaire et cellulaire. En laboratoire, *T. gondii* est majoritairement utilisé pour sa plasticité génétique : facilité de transfection (stabilité et efficacité) et grande variété d'outils de modification génique applicable. *T. gondii* est aussi facilement cultivable *in vitro* et le modèle animal est très bien établi et facile d'utilisation⁴.

1.1.1.2 Le genre *Plasmodium*

Le genre *Plasmodium*, mieux connu de par le nom de la maladie qu'il cause : la malaria, fut observé pour la première fois dans le sang de patients infectés en 1880 par le français Charles Louis Alphonse Leveran. Ce dernier a d'ailleurs remporté le Prix Nobel de Médecine en 1907 pour sa découverte. Quelques années plus tard, Grassi, Bignami et Bastienelli démontrèrent que la malaria humaine est transmise via un moustique vecteur infecté du genre *Anopheles*⁵. Toutefois, le nom malaria fut donné à cette maladie bien avant la découverte du pathogène, en 1740. Apparue en Italie, le terme malaria signifie mauvais air (« bad air »), puisque la croyance générale à cette époque était que des vapeurs toxiques ou miasmes étaient responsables de la maladie. Lorsque Leveran identifia le genre *Plasmodium*, il essaya de changer le nom de la maladie pour un nom plus scientifique et proposa le terme Paludisme. Aujourd'hui encore, les deux noms coexistent dans la littérature⁶.

Seul un nombre restreint de vertébrés sont susceptibles à la malaria : les reptiles, les oiseaux et certains mammifères⁷. Parmi les espèces de *Plasmodium*, cinq ont la capacité d'infecter l'humain : *P. knowlesi* (retrouvé principalement chez les singes), *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale* et *P. falciparum* (aussi capable d'infecter les gorilles). Ce dernier est toutefois associé à la forme la plus sévère de la malaria avec des taux de morbidité et de mortalité les plus élevés. Cependant, à l'extérieur de la région de l'Afrique subsaharienne c'est *P. vivax* qui est le plus répandu et ce principalement dans le sud-ouest de l'Asie (Inde et Pakistan). Une différence importante entre *P. falciparum* et *P. vivax* est la capacité de ce dernier à former des hypnozoïtes, une forme latente qu'adopte le parasite dans le foie humain et de laquelle il peut sortir quelques jours voir plusieurs années après l'apparition des premiers symptômes cliniques⁸. Finalement, certaines espèces de *Plasmodium* vont infecter les rongeurs, comme *P. berghei*, *P. chabaudi* et *P. yoelii*. Ces dernières sont fréquemment utilisées en laboratoire pour des essais *in vivo* chez la souris.

1.1.2 Le cycle de vie du parasite *Plasmodium falciparum*

Le parasite *P. falciparum* possède un cycle trimorphique comprenant deux hôtes : un humain et un insecte vecteur (Figure 1). La transmission s'effectue lors de la prise d'un repas sanguin par le moustique femelle du genre *Anopheles* infecté par le parasite. Une fois dans la circulation sanguine humaine, *P. falciparum* se fraie un chemin jusqu'au foie, puis établit son cycle de réplication à l'intérieur des hépatocytes. Au terme de cette réplication, des millions de parasites sous forme mérozoïte sont libérés dans le sang où ils infectent les globules rouges de façon cyclique. De cette façon, le parasite s'établit à long terme dans la circulation sanguine où il établit un cycle de réplication à tous les 48h. Les mérozoïtes n'ont pas la capacité d'infecter un nouveau moustique, une différenciation sexuelle en gamétocytes est requise. Au terme de cette différenciation, les gamétocytes présents dans la circulation sanguine pourront être ingérés par un autre moustique anophèle lors d'un prochain contact. Finalement, c'est à l'intérieur de l'intestin de l'insecte que les gamètes fusionnent pour former un zygote, qui ultimement se retrouve sous forme de sporozoïtes avant d'être retransmis à l'humain⁹.

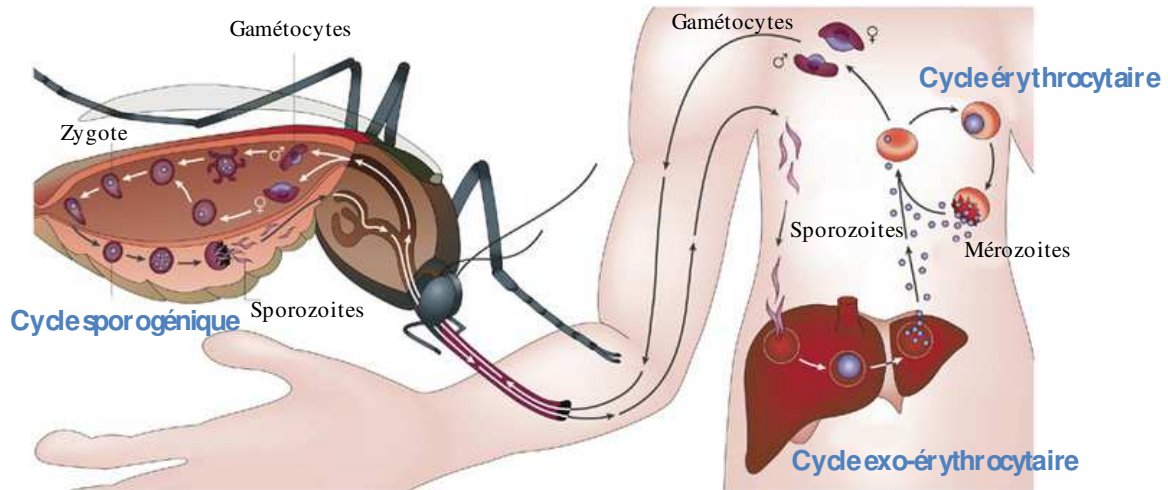


Figure 1 : Cycle de vie de *P. falciparum* (Adaptée de ¹⁰)

1.1.2.1 Le cycle exo-érythrocytaire

Le début de l'infection humaine s'amorce avec l'injection par le moustique anophèle de quelques centaines de sporozoïtes dans l'épiderme humain (Figure 2). Grâce à leur capacité motile, les parasites se dirigent rapidement vers la circulation sanguine puis migrent jusqu'au foie. Avant d'atteindre les hépatocytes, les sporozoïtes doivent au préalable traverser la barrière sinusale du foie, composée majoritairement de cellules de Kupffer, les macrophages spécialisés du foie⁹. Après avoir navigué à travers et entre ces cellules immunitaires, les parasites vont finalement atteindre leurs cellules cibles, les hépatocytes. Les sporozoïtes vont d'abord continuer de glisser sur ces cellules hépatiques avant d'en envahir une et d'y élire domicile à l'intérieur d'une vacuole parasitophore (VP). Une fois bien établi dans la cellule hôte, le sporozoïte se différencie en trophozoïte hépatique qui grossit et se réplique. Ce phénomène de schizogonie permet de produire plusieurs mérozoïtes à l'intérieur d'une seule cellule. Les mérozoïtes produits sont contenus dans des vésicules appelées mérosomes. Rendues à terme, ces vésicules ruptures et chaque sporozoïte libère des milliers de mérozoïtes dans la circulation sanguine irriguant le foie^{11,12}.

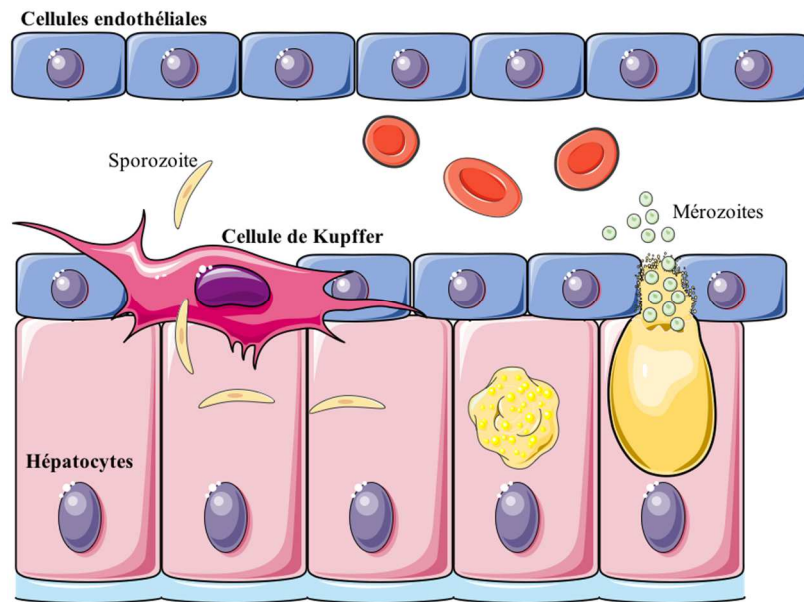


Figure 2 : Migration vers le foie et la production de mérozoïtes

1.1.2.2 Le cycle érythrocytaire

Les mérozoïtes nouvellement libérés par les hépatocytes vont rapidement gagner la circulation sanguine et infecter les globules rouges (Figure 3). Ce processus se déroule en quelques minutes et nécessite plusieurs interactions de type ligand-récepteur entre la surface de du globule rouge et celle du parasite. Suite à cet attachement, le mérozoïte pénètre progressivement à l'intérieur de l'érythrocyte tout en formant une VP, dans laquelle il va se développer¹³. Durant les premières 24h, *P. falciparum* se présente sous la forme anneau et termine de former la VP, puis commence à exporter des protéines dans le globule rouge. Au stade trophozoïte (24-36h), le parasite s'active et grossit. La demande énergétique augmente et le parasite doit dégrader l'hémoglobine en hémozoïne. De plus, la production protéique augmente et l'export de protéines s'intensifie. En effet, à ce stade, le globule rouge est grandement modifié par *Plasmodium*, et ce afin d'augmenter l'apport de nutriments et d'augmenter l'adhésion de la cellule aux parois des vaisseaux sanguins. À 40 heures post-invasion, le parasite est prêt à se diviser et à se répliquer ; il s'agit du stade schizont. Au terme de la division cellulaire (schizogonie), il y a formation de 16 à 32 mérozoïtes à l'intérieur du schizont. Lors de la rupture de la membrane érythrocytaire, les nouveaux mérozoïtes produits sont libérés dans la circulation sanguine où ils vont infecter de nouveaux globules rouges et entreprendre un second cycle de vie. Ce cycle de 48 heures est nommé cycle érythrocytaire ou cycle asexué et est responsable de tous les symptômes de la malaria^{14,15}.

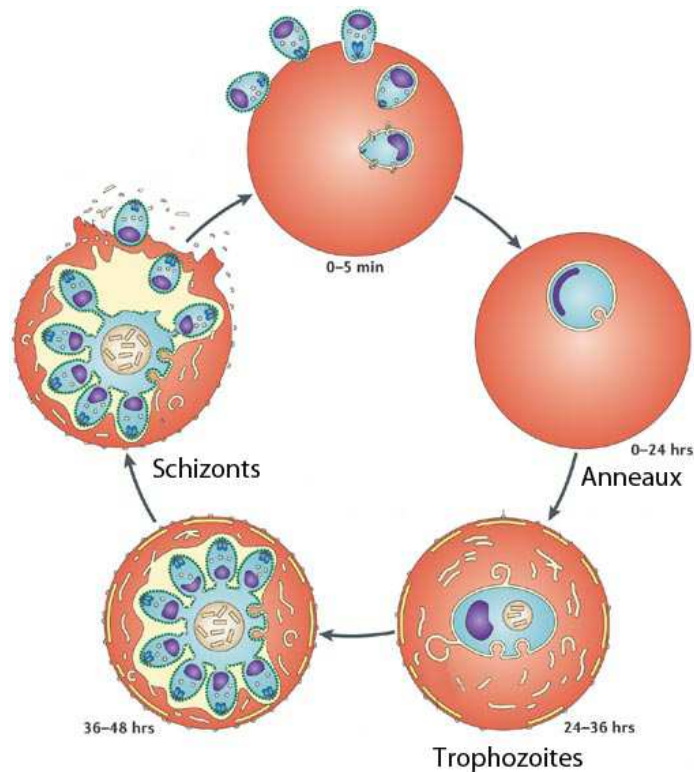


Figure 3 : Réplication de *P. falciparum* à l'intérieur des globules rouges (Adaptée de ¹⁶)

1.1.2.3 La gamétocytogenèse

La gamétocytogenèse est intimement liée au cycle asexué. De ce fait, au cours du cycle érythrocytaire, une faible proportion de parasites va évoluer vers la forme gamétocyte. Le processus décisionnel ainsi que les mécanismes déclenchant ce changement de voie restent cependant encore mal compris. Néanmoins, les hypothèses pointent vers un changement épigénétique et transcriptionnel dû à des stimuli environnementaux¹⁷⁻²². La décision d'évoluer vers le stade gamétocyte est prise dès les premières étapes du cycle érythrocytaire. Ce processus de maturation prend de 7 à 15 jours et mène à la formation de gamétocytes mâles ou femelles matures^{17,18}. Il s'agit d'une étape critique puisque seuls les parasites sexués sont en mesure d'être transmis de l'humain au moustique femelle, permettant ainsi sa propagation²³.

1.1.2.4 Le cycle sporogénique

Une fois prélevés de la circulation sanguine humaine, les gamétocytes migrent à l'intérieur de l'estomac de l'anophèle et continuent de se différencier pour devenir des macrogamètes. Les conditions chimiques particulières de ce nouvel environnement entraînent la lyse du globule rouge et les gamètes se retrouvent alors sous forme extracellulaire. Dans une fenêtre de 60 min, le gamète femelle est fécondé par le gamète mâle pour former un zygote. Ce dernier se développe et se transforme ensuite en ookinète²⁴. L'ookinète mature est doté de capacité motile, ce qui lui permet de

migrer à travers les cellules épithéliales de la paroi intestinale²⁵. Après cette traversée, l'ookinète se dépose sur la lame basale de l'estomac et commence une autre étape de différenciation afin de devenir un oocyte. C'est à cet endroit, à l'abri, que l'oocyte va se multiplier et produire des milliers de sporozoïtes. Rendu à maturité, l'oocyte va graduellement permettre la libération de sporozoïtes, qui iront rejoindre l'hémolymphe de l'insecte, avec pour destination finale ses glandes salivaires^{26,27}. Cette étape de production de sporozoïtes appelée sporogonie est cruciale puisque ce sont ces parasites, entreposés dans les glandes salivaires, qui seront injectés à l'humain lors d'un prochain repas sanguin.

1.1.3 La morphologie du parasite

Rappelons que pour compléter son cycle trimorphique, *P. falciparum* doit infecter deux hôtes, l'humain et un insecte vecteur. Cette dualité entraîne le parasite à adopter plusieurs formes afin de survivre dans des environnements variés et d'infecter efficacement diverses cellules hôtes.

1.1.3.1 Le mérozoïte

Le mérozoïte est une forme invasive non motile dont l'hôte exclusif est le globule rouge et qui est associé au cycle érythrocytaire. Il s'agit certainement de la forme la plus étudiée de *P. falciparum*. En effet, depuis le développement de méthodes de culture *in vitro* par Trager et Jensen à la fin des années 1970, il est devenu possible d'étudier le cycle érythrocytaire et la morphologie du parasite en laboratoire^{28,29}.

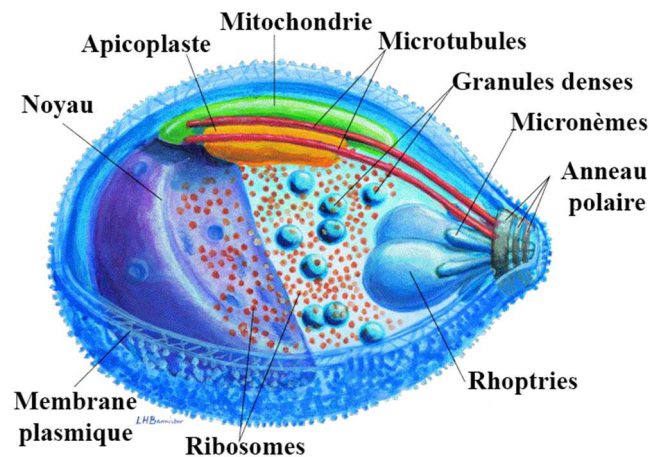


Figure 4 : La structure du mérozoïte (Adaptée de ³⁰)

Le mérozoïte de *Plasmodium* est très petit comparativement aux autres membres de la famille *Apicomplexa*, 1,6 μm de long et 1 μm de large, soit l'équivalent d'une grosse bactérie³⁰. Il possède une forme plutôt ovoïde, mais polarisée, rappelant celle d'un avocat (Figure 4). Parmi les composantes cellulaires du mérozoïte, on retrouve les organites traditionnellement retrouvés chez les cellules eucaryotes : un noyau, un réticulum endoplasmique (RE), un appareil de Golgi, une

mitochondrie ainsi qu'un organite plus atypique, l'apicoplaste. Ce dernier est le lieu où s'effectue la synthèse de lipides, nécessaire à la formation des membranes, ainsi que le site de production de l'hème, utilisé lors de la synthèse protéique³¹⁻³³.

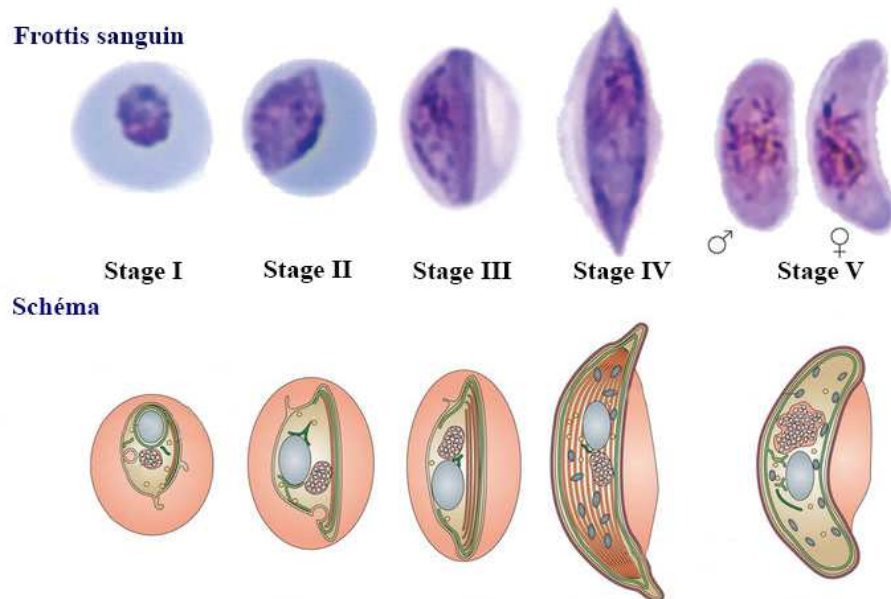
Une autre structure distinctive retrouvée chez le mérozoïte (ainsi que chez le gamétocyte, l'ookinète et le sporozoïte) est le complexe intra-membranaire (IMC). Il s'agit d'une structure sous-jacente à la membrane plasmique du parasite (MPP) qui assure plusieurs rôles lors du cycle érythrocytaire : division cellulaire, invasion du globule rouge et rôle structural^{34,35}.

Finalement, la principale particularité du mérozoïte est probablement son complexe apical. Ce dernier est composé de trois organites sécrétoires : les rhoptries, les micronèmes et les granules denses. Au moment de l'invasion du globule rouge, ces organites apicaux sécrètent des protéines qui permettent d'effectuer les différentes étapes nécessaires à son entrée dans la cellule hôte^{36,37}. Au cours de ce processus d'invasion, il y a formation d'une VP entourant le mérozoïte, qui va devenir son lieu de résidence à l'intérieur de la cellule hôte. Cette étape d'invasion est cruciale pour la survie du mérozoïte et se déroule généralement en quelques minutes. Cependant, d'un point de vue immunologique, ces quelques minutes représentent une opportunité d'action importante pour les cellules du système immunitaire. En effet, il s'agit du seul moment de vulnérabilité pour le parasite au cours duquel, il peut être ciblé par les anticorps. C'est pour cette raison que beaucoup d'efforts sont entrepris afin d'étudier les molécules de surface du mérozoïte ainsi que les molécules sécrétées avant son entrée dans le globule rouge, et ce afin de trouver de nouvelles cibles vaccinales³³.

1.1.3.2 Le gamétocyte

Le gamétocyte est la forme sexuée de *Plasmodium* qui assure la transmission du parasite de l'humain vers le moustique anophèle. Autrefois peu étudié, le gamétocyte est aujourd'hui le sujet de nombreuses publications. En effet, de récentes avancées ont permis le développement de nouvelles techniques de production de gamétocytes *in vitro*^{39,40}. Chez *P. falciparum*, l'évolution du gamétocyte vers une forme mature prend de 10 à 12 jours et peut être divisée en cinq stades (Figure 5). Tout d'abord, lors des deux premiers stades (I et II), la morphologie du parasite reste pratiquement indissociable de la forme asexuée trophozoïte. Cependant, lors du stade III, le parasite commence à s'allonger et à prendre plus de place à l'intérieur du globule rouge. Par contre, c'est lors des stades IV et V que des changements structuraux sont les plus marquants. Le parasite adopte alors une forme de croissant ou falciforme (d'où le nom *falciparum*) et déforme complètement l'érythrocyte. Lors du dernier stade (V), le gamétocyte est rendu à maturité et l'on peut facilement différencier le gamétocyte femelle, plus allongé, du gamétocyte mâle, plus large⁴¹. L'adoption et le maintien de cette forme sont

possibles grâce à la présence de l'IMC, directement sous la MPP. Bien que similaire à l'IMC retrouvé chez le mérozoïte, son rôle chez le gamétocyte semble exclusivement structural⁴².



1.1.3.3 L'ookinète et l'oocyte

L'ookinète est une forme invasive et motile retrouvée seulement chez le moustique femelle infecté par *Plasmodium*. Il est caractérisé par une forme allongée et polarisée où l'extrémité la plus étroite correspond au pôle apical. Il diffère des autres stades invasifs du fait qu'il ne possède ni rhoptries ni granules denses à son pôle apical. En effet, il ne renferme qu'un seul type d'organite sécrétoire spécialisé : les micronèmes. Plusieurs rôles ont été attribués aux protéines micronémales, par exemple la reconnaissance hôte-parasite ainsi que la liaison et la motilité à la surface des cellules épithéliales^{44,45}. En résumé, les micronèmes jouent un rôle essentiel dans le processus d'invasion des cellules épithéliales, permettant au parasite de traverser la paroi intestinale du moustique.

Le rôle principal de l'oocyte est la production de sporozoïtes. De ce fait, contrairement aux formes invasives, il ne possède pas de pôle apical ni d'organites habituellement impliqués dans le processus d'invasion. Sur une période de 10 à 12 jours, les sporozoïtes vont se développer à l'intérieur de l'oocyte entraînant un gonflement de la MPP⁴⁶. Au terme du processus de réplication, un seul oocyte contient des milliers de sporozoïtes. Finalement, ces derniers sont relâchés dans l'hémolymphe d'où ils migrent afin d'atteindre les glandes salivaires de l'anophèle⁴⁷.

1.1.3.4 Le sporozoïte

Le stade sporozoïte a la particularité d'évoluer dans deux habitats très différents, l'insecte et l'humain, et d'y jouer des rôles essentiels. À l'instar du gamétocyte, le sporozoïte doit interagir avec différents types cellulaires et rapidement s'adapter à ce changement d'environnement. Pour ce faire, le parasite est pourvu d'un système de régulation transcriptionnelle tissu-spécifique hautement contrôlé et flexible⁴⁸.

Au cours de son existence, le sporozoïte va traverser et envahir plusieurs types cellulaires. Ce long trajet est possible grâce à la capacité motile du sporozoïte, laquelle provient principalement d'un moteur d'actine-myosine et de la protéine TRAP (« thrombospondin-related anonymous protein »). Cette protéine est sécrétée par les micronèmes à la surface du parasite et permet au parasite de se déplacer par glissement, en plus de lui permettre d'envahir les cellules cibles⁴⁹. Une autre protéine importante pour le sporozoïte est la protéine circumsporozoïte (CSP). Il s'agit de la principale protéine de surface du sporozoïte qui, avec la protéine TRAP, est responsable de l'invasion des glandes salivaires en plus de l'adhésion et de l'invasion des hépatocytes⁵⁰. Tout comme le mérozoïte, le sporozoïte possède un complexe apical composé de micronèmes et de rhoptries, bien qu'aucune granule dense n'ait été observée jusqu'à ce jour⁵¹.

En résumé, le parasite *Plasmodium* est un organisme polymorphique qui s'adapte très bien à ses différents hôtes. Chacun des stades se développe et se transforme en fonction de son environnement, et ce, toujours avec l'objectif final d'assurer la transmission entre l'insecte vecteur et l'hôte humain.

1.2 La Malaria

1.2.1 Épidémiologie

La malaria est présente sur trois continents et touche principalement les pays d'Afrique, d'Asie et d'Amérique du Sud. En 2016, selon l'Organisation mondiale de la santé, 91 pays étaient toujours considérés comme endémiques pour la malaria contrairement à 108 pays en 2000 (Figure 6). Cette diminution de l'incidence des cas est en grande partie attribuable au déploiement à grande échelle de méthodes d'intervention et de contrôle de la malaria. C'est dans la région d'Asie du Sud-Est que l'on observe la plus importante baisse, avec 54% de diminution des cas entre 2010 et 2015, contrairement à 21% pour le continent africain⁵².

Malgré les efforts pour lutter contre ce fléau, la malaria reste un problème de santé majeur pour les pays fortement touchés. En effet, en 2015 on dénombrait 212 millions d'infections à *Plasmodium* à l'échelle mondiale. Malgré une diminution du taux de mortalité de 62% entre 2000 et 2015, le nombre

de décès causé par le paludisme reste très élevé et est estimé à 429 000 en 2015. De plus, la grande majorité de ces décès est observée chez les enfants de moins de 5 ans, la population la plus à risque, chez laquelle l'on a dénombré 303 000 morts cette même année⁵².

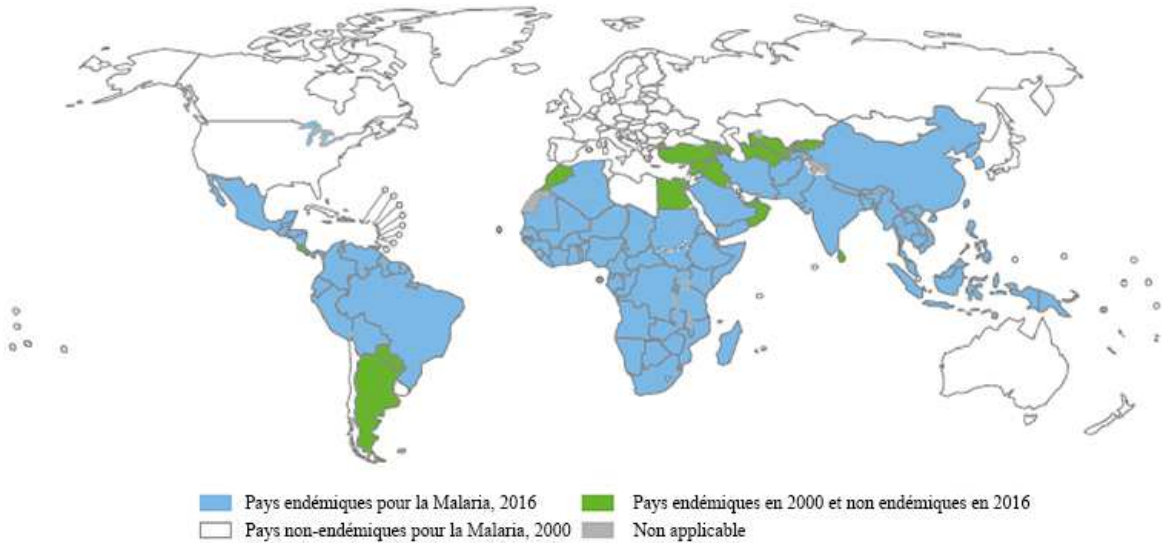


Figure 6 : Pays endémiques pour la malaria en 2000 et 2016 (Adaptée de ⁵²)

En plus du coût humain, la malaria a un impact socio-économique important non seulement chez les pays endémiques, mais pour l'ensemble des pays développés. Chez les pays endémiques, le fardeau économique directement associé à l'infection doit s'ajouter à la pauvreté générale de ces pays majoritairement en voie de développement. En effet, les personnes atteintes sont moins efficaces au travail et s'absentent plus fréquemment pour cause de maladie. L'on doit aussi ajouter le coût associé à la prise en charge des malades par le système de santé, qui se chiffrait à 332 millions de dollars US en 2015. Le total de la facture augmente lourdement lorsque l'on ajoute les montants investis en prévention et en recherche et développements. En 2015, c'est 2,9 milliards de dollars qui ont été investis par l'ensemble des pays pour contrôler et éliminer la malaria⁵².

1.2.2 Les manifestations cliniques

Les premiers symptômes résultant d'une infection à *Plasmodium* sont très semblables à ceux d'une infection virale et donc difficile à diagnostiquer. Parmi ces symptômes, on retrouve des maux de tête, de la fatigue et des douleurs musculaires. S'ensuivent alors des périodes de fortes fièvres cycliques, des frissons, des nausées et vomissements ainsi qu'un malaise généralisé. Si la maladie n'est pas traitée, elle peut dégénérer et les manifestations cliniques s'aggravent, on parle alors de malaria sévère. La progression vers l'état sévère est très rapide et peut prendre de quelques jours à quelques heures. La malaria sévère est caractérisée par une acidose métabolique, une insuffisance rénale ainsi

que des œdèmes pulmonaires⁵³. Sans traitement, la malaria peut mener au coma (malaria cérébrale) et est fatale dans la majorité des cas^{54,55}.

Chez les jeunes enfants atteints, on observe plutôt de la léthargie, une perte d'appétit et de la toux. La forme sévère s'accompagne alors de symptômes tels qu'une anémie sévère, des convulsions, une hypoglycémie et le décès est principalement causé par la malaria cérébrale^{56,57}.

1.2.3 La pathogenèse

L'ensemble des symptômes énumérés précédemment sont ressentis lors du cycle érythrocytaire de *Plasmodium* et sont directement liés à l'infection des globules rouges par le parasite. La principale particularité de *P. falciparum* est sa capacité à faire adhérer les globules infectés aux parois des vaisseaux sanguins. Ceci permet au parasite de se séquestrer à l'intérieur de différents tissus et organes afin d'éviter l'élimination par la rate⁵⁸. L'attachement est possible grâce à la présence de structures protubérantes (« Knob ») à la surface de l'érythrocyte infecté, dont la composante majeure est la protéine PfEMP1 (« *Plasmodium falciparum* erythrocyte membrane protein 1 »). Cette adhérence des érythrocytes infectés peut entraîner une obstruction des vaisseaux sanguins, empêchant ainsi les tissus d'être correctement perfusés et de recevoir l'apport en oxygène nécessaire^{59,60}.

La diminution de l'apport en globules rouges est aussi expliquée par la destruction massive d'érythrocytes par la rate. En effet, lors de la rupture du globule rouge, il y a libération de nouveaux mérozoïtes, mais aussi de facteurs cellulaires. Ces derniers déclenchent une réponse immunitaire splénique, stimulant la rate afin d'augmenter la filtration et la destruction de globules rouges entraînant une anémie et compromettant l'apport en oxygène⁶¹. En plus, on observe une importante activation des monocytes et des macrophages au moment de la rupture, entraînant une sécrétion de cytokines pro-inflammatoires correspondant aux pics de fièvre typique de la malaria⁶¹.

1.2.3.1 La protéine PfEMP1

La protéine PfEMP1 est exprimée à la surface des érythrocytes infectés et joue un rôle central dans la pathogenèse. Elle est codée par la famille de gènes *var* composée de 40-50 gènes dont l'expression varie selon le clone de *P. falciparum*. L'expression de PfEMP1 est basée sur le principe de variation antigénique selon lequel chaque parasite exprime un seul type de PfEMP1 au cours d'un cycle érythrocytaire^{62,63}. Une même molécule PfEMP1 est généralement exprimée chez une population de parasites et varie de façon synchronisée dans le temps et ce afin d'éviter d'épuiser rapidement le répertoire de variants disponibles^{64,65}. De plus, la grande variété de domaines sur PfEMP1 permet aux globules rouges infectés de lier différents récepteurs cellulaires présent sur les cellules endothéliales, affectant ainsi l'endroit de séquestration de ce globule rouge infecté⁶⁶. Par exemple, il a été montré

que certains variants de PfEMP1 ont une affinité pour le récepteur ICAM-1 dans le cerveau causant ainsi la malaria cérébrale tandis que dans la circulation périphérique, le CD36 est le récepteur principal de PfEMP1⁶⁶⁻⁶⁸. Dans les cas de malaria chez les femmes enceintes, certaines molécules PfEMP1 peuvent interagir avec la protéine chondroïtine sulfate A exprimée à la surface des cellules épithéliales placentaires, causant ainsi des complications à la fois chez la femme, mais aussi chez le fœtus⁶⁹.

Finalement, il est important de mentionner que la progression vers la forme sévère tant chez l'adulte que chez l'enfant ne peut être expliquée que par les facteurs mentionnés ci-haut. En effet, il faut aussi tenir compte des co-infections possibles qui sont nombreuses dans les pays en voie de développement, en plus des graves problèmes de malnutrition, qui ensemble pourraient influencer la sévérité de la maladie et les complications observées.

1.2.4 Les techniques de diagnostic clinique

Dû aux complications possibles et à la ressemblance des symptômes avec ceux d'une simple infection virale, il est important de rapidement et correctement diagnostiquer la maladie. Depuis les années 1900, les techniques de diagnostic de la malaria ont été basées sur l'observation au microscope de frottis sanguin colorés au GIEMSA⁷⁰. Cette technique consiste à étaler une goutte de sang sur une lame suivie d'une coloration au GIEMSA. Cette coloration permet de distinguer les différents stades asexués et sexués dans le sang, en colorant en bleu violet les différentes structures du parasite : les pigments d'hémozoïne, la chromatine et le cytoplasme⁷¹. Cependant, l'accès à un microscope de qualité n'est pas toujours possible dans les régions touchées par la malaria, c'est pourquoi l'on se tourne de plus en plus vers l'utilisation de tests de diagnostic rapide. Depuis les années 1990, on a vu apparaître plus de 200 tests sur le marché, basés sur un principe similaire de détection d'antigènes par les anticorps. Ces tests sont principalement conçus sous le format de cassettes ou de bandelettes de nitrocellulose. Parmi les antigènes les plus fréquemment ciblés par ces tests, on retrouve la protéine de surface HRP2 (« Histidine-rich protein 2 »), la protéine pLDH (« *Plasmodium* lactate dehydrogenase »), et l'aldolase. Certains tests sont spécifiques aux infections à *P. falciparum* tandis que d'autres détectent les infections mixtes (*falciparum*, *vivax*, *malariae* et *ovale*)^{72,73}.