

## PROTOCOLE DE L'ETUDE

**RISQUE DE PALUDISME CHEZ LES ENFANTS QUI ONT ATTEINT L'ÂGE DE CINQ ANS ET NE SONT PLUS ÉLIGIBLES À LA CHIMIOPREVENTION DU PALUDISME SAISONNIER (CPS) ET OU À LA VACCINATION SAISONNIÈRE CONTRE LE PALUDISME AU BURKINA FASO ET AU MALI**

Numéro d'identification de l'étude TMA2019SFP-2834

Brief Titre: SEVR-SMC

Version du Protocole: Version 1.0

Date de la version: 16 Mars 2021

Sponsor: Institut de Recherche en Science de la Santé,  
Boulevard de l'Indépendance, "Ex Ecole Jamot"  
01 BP: 545 Bobo-Dioulasso 01  
Tél: +226 20 981 880

Principal Investigateur: Issaka Zongo, MD, PhD

**Membres de l'équipe:**

Prof Jean-Bosco Ouédraogo, Burkina Faso

Prof Halidou Tinto, Burkina Faso

Dr Serge R. Yerbanga, Burkina Faso

Dr Yves Daniel Compaoré, Burkina Faso

Dr Charles Zoungrana, Burkina Faso

Prof Alassane Dicko, Mali

Prof Issaka Sagara, Mali

Dr Matthew Cairns, United Kingdom

Prof Daniel Chandramohan, United Kingdom

Prof Chris Drakeley, United Kingdom

Prof Paul Milligan, United Kingdom

Prof Brian Greenwood, United Kingdom

**Institutions participante:**

Institut de Recherche en Science de la Santé, Bobo-Doulasso, Burkina Faso,

Malaria Research and Training Centre, Bamako, Mali,

London School of Hygiene and Tropical Medicine, London, UK

## TABLE DES MATIERES

<b>1. ABBREVIATIONS.....</b>	<b>4</b>
<b>2. RESUME.....</b>	<b>5</b>
<b>3. CONTEXTE.....</b>	<b>6</b>
<b>4.1 Objectifs principaux.....</b>	<b>6</b>
<b>4.2 Objectifs secondaires.....</b>	<b>6</b>
<b>5. CONCEPTION DE L'ETUDE.....</b>	<b>7</b>
<b>5.1 Sites d'étude.....</b>	<b>7</b>
<b>5.2 POPULATION D'ETUDE.....</b>	<b>8</b>
<b>6. METHODES.....</b>	<b>8</b>
<b>6.1 Extension du suivi.....</b>	<b>8</b>
<b>6.2 Etudes cas-témoins.....</b>	<b>9</b>
6.2.1 Etude cas-témoins pour le paludisme simple.....	9
6.2.2 Etude cas-contrôle pour le paludisme grave.....	11
<b>6.3 Enquête de fin de saison.....</b>	<b>12</b>
<b>6.4 Surveillance de la mortalité.....</b>	<b>13</b>
<b>6.5 Enquête sur la sérologie.....</b>	<b>13</b>
<b>6.6 Prise en charge de la cohort pendant la campagne nationale de la CPS.....</b>	<b>13</b>
<b>6.7 Procédures de recrutement.....</b>	<b>13</b>
<b>6.8.1 Détection des parasites de <i>P. falciparum</i>.....</b>	<b>14</b>
<b>6.8.2 Mesure du taux d'hémoglobine.....</b>	<b>14</b>
6.8.3 Détection des marqueurs moléculaires de la résistance.....	14
6.8.4 Sérologie du paludisme.....	15
<b>7. CALCUL DE LA TAILLE DES DIFFERENTES ETUDES.....</b>	<b>15</b>
7.1 L'adhérence à la CPS comme facteur de risque pour l'effet rebond.....	16
7.2 Comparaison de l'effet rebond selon l'appartenance à un groupe d'intervention.....	17
7.3 Paludisme grave.....	17
<b>8. GESTION DES DONNEES.....</b>	<b>18</b>
<b>9. ANALYSE DES DONNEES.....</b>	<b>18</b>
<b>10. ASSURANCE QUALITE/CONTROLE QUALITE.....</b>	<b>18</b>
<b>11. CONSIDERATIONS ETHIQUES.....</b>	<b>18</b>
<b>12. GESTION DE L'ETUDE.....</b>	<b>19</b>
<b>13. GOUVERNANCE, RESPONSABILITE ET COLLABORATION.....</b>	<b>19</b>
<b>14. DEVELOPEMENT DE CAPACITE.....</b>	<b>19</b>
<b>15. ECHEANCES DE L'ETUDE.....</b>	<b>20</b>
<b>16. BUDGET.....</b>	<b>20</b>
<b>17. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>	<b>22</b>

## 1. ABBREVIATIONS

IC: Intervalle de confiance

CVMNK: Espèce de parasite sensible au *Pfcr*

CVIET: Espèce de parasite résistant au *Pfcr*

CHUSS: Centre Hospitalier Universitaire Souro Sanou

DHFR: Dihydrofolate Reductase

DHPS: Dihydropteroate Synthase

BPC: Bonnes Pratiques Cliniques

BPL: Bonnes Pratiques de Laboratoire

CIH-BPC: Conférence Internationale d'Harmonisation Bonnes Pratiques Cliniques

ID: Identification

IRR: Incidence Rate Ratio

IRSS: Institut de Recherche en Science de la Santé

MII: Moustiquaires Imprégnées d'Insecticide

LSHTM: London School of Hygiene and Tropical Medicine

MRTC: Malaria Research and Training Center

ODK: Open Data Kit

TDR: Test de diagnosis Rapide

CPS: Chimio Prévention du paludisme Saisonnier

CSP+AZ: Chimio Prévention du paludisme Saisonnier plus azithromycine

MOS: Mode Opérateur Standardisé

OMS: Organisation Mondiale de la Santé

## 2. RESUME

Les outils actuels et efficaces de lutte contre le paludisme comprennent la chimioprévention du paludisme saisonnier (CPS), qui est adaptée aux pays du Sahel et du sud du Sahara. Cette stratégie implique l'administration de doses thérapeutiques complètes de sulfadoxine-pyriméthamine plus amodiaquine une fois par mois pendant la période de haute transmission du paludisme. La CPS a la capacité d'éliminer les infections en cours tout en empêchant l'acquisition de nouvelles infections. Cette suppression prolongée de la présence du parasite dans l'organisme peut entraîner un ralentissement du développement d'une réponse immunitaire efficace pour combattre l'infection. Dans les études de recherche dans lesquelles l'intervention n'a été administrée que sur une courte période (pas plus de deux saisons de transmission), il n'y avait aucune preuve cohérente de cette déficience; certaines études ont trouvé un léger effet, tandis que d'autres n'en ont trouvé aucun. Cependant, dans les programmes de mise en œuvre dans lesquels l'intervention est donnée plusieurs fois (les enfants nés pendant le déploiement de l'intervention recevront de la CPS depuis l'âge de 3 mois à 5 ans sans interruption. Il est important d'évaluer cet «effet de rebond» potentiel pour alerter les décideurs politiques sur cette menace potentielle car plusieurs millions d'enfants sont actuellement traités par la CPS. Pour étudier la question du rebond, nous allons mener deux études cas-témoins (une pour le paludisme simple et une pour le paludisme grave). Deux témoins communautaires seront recrutés pour chaque cas dans l'étude cas-témoins de paludisme non compliqué tandis que un témoin communautaire et un témoin en milieu hospitalier seront recrutés pour chaque cas dans l'étude cas témoins de paludisme grave. Les participants seront tous interrogés sur leur utilisation des moustiquaires imprégnées d'insecticide de longue durée (MILDA), leur statut socio-économique, leurs antécédents de la CPS et leur logement. Ces informations seront utilisées pour déterminer si le risque de paludisme est plus élevé chez les enfants qui ont eu un niveau élevé de couverture de la CPS par rapport à ceux qui n'en ont pas, en tenant compte des facteurs de confusion potentiels. Il y aura également un suivi passif des cas dans les établissements de santé. Le projet a le potentiel d'accélérer la progression vers la lutte et l'élimination du paludisme au Burkina Faso et au Mali et d'indiquer s'il est nécessaire de fournir une protection supplémentaire aux enfants dans la période immédiatement après qu'ils ne soient plus éligibles à la chimioprévention.

### **3. CONTEXTE**

La chimioprévention du paludisme saisonnier (CPS) s'est avérée être une intervention de lutte antipaludique très efficace dans les régions du Sahel [1-5], et elle est maintenant largement mise en œuvre dans tous les pays d'endémie palustre du Sahel avec l'appui financier de bailleurs de fonds internationaux et des gouvernements locaux après que l'OMS ait approuvé la stratégie en mars 2012 [6]. Au Burkina Faso et au Mali, la mise en œuvre de la CPS a atteint un niveau de couverture élevée [7]. Dans chaque pays, la stratégie de traitement est celle du porte-à-porte. Les agents de santé communautaires visitent la maison et délivrent la première dose de la CPS et cochent la carte d'administration de la CPS. Les deux autres doses d'amodiaquine seront administrées par les mères à la maison. La CPS a été conçue pour les enfants de moins de cinq ans. Actuellement, tous les enfants des régions où la CPS est en cours, reçoivent le traitement jusqu'à l'âge de 59 mois, sauf au Sénégal où l'administration se poursuit jusqu'à l'âge de 10 ans. Une CPS efficace élimine les parasites existants et prévient la survenue de nouvelles infections. Il est possible que la suppression continue de l'infection entrave le développement de l'immunité naturellement acquise contre le paludisme. Ainsi, les enfants qui ont cessé de recevoir la CPS parce qu'ils ont atteint l'âge de cinq ans peuvent devenir plus sensibles au paludisme, et en particulier au paludisme grave. Des données limitées sont disponibles sur les effets de rebond possibles après l'arrêt de la chimioprévention. Au Mali et au Sénégal, il n'y a pas eu d'augmentation globale du risque dans la période suivant l'arrêt de l'intervention qui avait été administrée pendant 2 ans [3, 8], taux d'incidence (TRI) de 0,98 (IC à 95%: 0,82-1,17) ) et 1,07 (IC à 95%: 0,90–1,27) ont été observés respectivement. Une méta-analyse des données disponibles sur le TPI chez les enfants n'a trouvé que de faibles preuves d'une augmentation de l'incidence du paludisme au cours de l'année suivant l'intervention (TRI = 1,11; IC à 95% 0,99-1,24; P = 0,07) [1]. Ces données non concluantes décrivent les conséquences d'une courte période d'administration de la CPS. Le risque de rebond du paludisme chez les enfants qui ont reçu la CPS pendant cinq ans n'est pas connu.

### **4. OBJECTIFS**

#### **4.1 Objectifs principaux**

Les principaux objectifs de ce projet sont de déterminer si les enfants qui ont reçu la CPS et / ou le vaccin antipaludique RTS, S / AS01E pendant cinq ans ont un risque accru de paludisme simple ou de paludisme grave dans l'année suivant l'arrêt des interventions par rapport aux enfants qui n'avaient pas reçu les interventions.

#### **4.2 Objectifs secondaires**

Les objectifs secondaires comprennent:

a. Déterminer si les enfants qui ont reçu la CPS et / ou le vaccin antipaludique RTS, S / AS01E pendant cinq ans ont un risque accru de parasitémie asymptomatique du paludisme à la fin de la saison de transmission du paludisme dans l'année suivant l'arrêt des interventions par rapport aux enfants qui n'avaient pas reçu les interventions.

b. Déterminer si les enfants qui ont reçu la CPS et / ou le vaccin antipaludique RTS, S / AS01E pendant cinq ans ont un risque accru d'anémie légère ou modérée ou de malnutrition à la fin de la saison de transmission du paludisme dans l'année suivant les interventions par rapport aux enfants qui n'avaient pas reçu ces interventions.

c. Déterminer la prévalence des marqueurs moléculaires associés à la résistance à la sulfadoxine-pyriméthamine et à l'amodiaquine après cinq ans d'administration de la CPS.

d. Déterminer si la CPS réduit le titre d'anticorps contre un panel d'antigènes de *Plasmodium falciparum* et si l'un de ces changements est lié à un risque accru d'infection par le paludisme.

## 5. CONCEPTION DE L'ETUDE

### 5.1 Sites d'étude

Cette étude sera mise en oeuvre dans des sites existants mis en place en 2014 pour mener un essai clinique multicentrique visant à déterminer si l'ajout de l'azithromycine à la CPS est plus efficace que la CPS seule pour réduire l'incidence des décès et des hospitalisations (à l'exclusion de ceux pour traumatisme ou chirurgie électorale) chez les enfants africains [9]. Cet essai qui s'est bien passé et qui a montré que l'ajout d'AZ ne réduisait pas les décès, a été suivi par un autre essai clinique randomisé en double aveugle (étude en cours), qui cherche à déterminer si la vaccination saisonnière avec le vaccin antipaludique RTS, S / SA01E n'est pas inférieure à la CPS avec SP + AQ et si la combinaison des deux interventions est supérieure à l'une ou l'autre des interventions administrées seules; cet essai se termine en mars 2022. Cette plateforme (site et étude) offre un excellent cadre pour enquêter sur l'occurrence potentielle d'un effet "rebond du paludisme" car un historique complet de la CPS et des épisodes de maladies des enfants ayant participé à l'essai Clinique est disponible.

Le site d'étude au Burkina Faso est le district sanitaire de Houndé, situé à 100 km de Bobo-Dioulasso, la deuxième ville du Burkina Faso (où se trouve le Centre Hospitalier Universitaire, Souro Sanou, 2<sup>ème</sup> Hôpital National universitaire de Référence) et qui est la base de l'Institut de Recherche en Sciences de la Santé, Direction Régionale de l'Ouest (IRSS). Le site d'étude au Mali est le district de Bougouni dans la région de Sikasso, au Mali, à 150 km au sud de Bamako où est basé le Centre de recherche et de formation sur le paludisme (MRTC). Le paludisme, dû principalement à *P. falciparum*, est très saisonnier dans les deux districts avec plus de 80% des cas survenant pendant la saison des pluies (juillet - octobre) et le mois suivant. La prévalence du paludisme à *P. falciparum* chez les enfants d'âge scolaire en décembre 2019 était de 61% à Houndé et de 22,5% à Bougouni. Le principal vecteur du paludisme dans chaque zone d'étude est *Anopheles gambiae* ss. Une forte proportion d'enfants dort sous une moustiquaire traitée avec un insecticide de longue durée d'action

(MILDA). Le traitement de première intention du paludisme dans le système de santé publique est l'artéméther / luméfantrine dans chaque district. Les cas de paludisme simple sont traités dans l'un des centres de santé du district et, à Bougouni, certains cas sont traités dans la communauté par des agents de santé communautaires formés. Les cas de paludisme grave sont pris en charge dans l'hôpital de district.

**Figure 1** : Carte du Burkina Faso et du Mali montrant les deux sites.



## 5.2 POPULATION D'ETUDE

La population de l'étude comprendra des enfants recrutés dans l'essai RTS, S / AS01E + CPS en avril 2017 dans les districts de Houndé ou Bougouni qui ont soit reçu des interventions de l'essai jusqu'en 2020 (cohorte 1) ou 2021 (cohorte 2) et qui ont atteint l'âge de 59 mois en juillet 2021 ou 2022 et ne seront donc plus éligibles pour recevoir la CPS ou une vaccination saisonnière avec RTS, S / AS01E. Environ 60% des enfants (environ 2800 enfants) seront éligibles à l'inscription dans les études de suivi et dans l'étude cas-témoins en 2021 et les enfants restants, environ 2000, en 2022.

## 6. METHODES

### 6.1 Extension du suivi

Un système de surveillance passive sera mis en place dans les formations sanitaires participants à l'étude pour suivre et enregistrer toutes les consultations des enfants qui ont quitté l'essai RTS, S / AS01E + CPS parce qu'ils ont plus de 59 mois et ne sont plus éligibles à la CPS. Le personnel du projet identifiera les enfants de l'étude grâce à leur carte d'identification lorsqu'ils se présenteront à un centre de santé ou à un hôpital et une nouvelle carte d'identification sera remise en plus de leur ancienne carte mais en conservant le même numéro de randomisation.

## 6.2 Etudes cas-témoins

Au cours de la première année de cette étude de suivi, des études cas-témoins seront menées chez des enfants ayant reçu la CPS et / ou une vaccination saisonnière pendant quatre ans, et une deuxième série d'études sera réalisée l'année suivante pour les enfants qui ont reçu cinq ans de CPS et / ou RTS, S / AS01E. Dans chaque étude cas-témoins, les cas et les témoins seront recrutés de manière à couvrir toute la saison de transmission du paludisme. D'autres études cas-témoins seront menées les années suivantes si un rebond significatif est observé au cours des deux premières années après que la CPS n'ait plus été administrée. Cela permettra une estimation de la rapidité avec laquelle l'immunité est reconstruite.

### 6.2.1 Etude cas-témoins pour le paludisme simple

#### Cas

Les cas à inclure dans cette étude seront les enfants des deux sexes âgés d'au moins 5 ans, qui ont cessé de recevoir la CPS et / ou le vaccin RTS, S / AS01E et qui se présentent dans une formation sanitaire avec une maladie fébrile, sans autre cause évidente de la fièvre, et qui sont positifs pour *P. falciparum* par microscopie avec une parasitémie > 5 000 parasites et <250 000 par microlitre. Un test de diagnostic rapide (TDR) sera utilisé pour la prise en charge immédiate de l'enfant. L'identifiant du cas tel que rapporté sur la carte d'identification sera soigneusement enregistré ou scanné, ce qui permettra d'accéder à l'historique complet de cet enfant en matière de CPS ou de vaccination par le vaccin RTS, S / AS01E et permettra également le suivi de tous les dossiers de morbidité de cet enfant au cours des quatre ou cinq années précédentes.

**Critères d'inclusion** pour les enfants des deux sexes seront :

- Inclusion dans l'un des trois groupes d'intervention de l'essai CPS + RTS, S / AS01E en avril 2017 et qui sont restés dans l'étude jusqu'à la date de début de la prolongation du suivi (avril 2021 pour la cohorte 1 et avril 2022 pour la cohorte 2).
- Âge supérieur à 59 mois.
- Diagnostic du paludisme à falciparum non compliqué, défini par une température  $\geq 37,5$  ° C ou des antécédents de fièvre au cours des 48 dernières heures plus un frottis sanguin positif pour la parasitémie du paludisme à *P. falciparum* avec une densité parasitaire > 5000 et < 250000 parasites par micro litre .
- Signature d'un consentement éclairé par les parents ou tuteurs pour la participation de leur enfant à l'étude cas-témoins.

**Critères d'exclusion** selon tout manquement aux critères cités plus haut.

#### Contrôles

Les témoins seront recrutés au sein de la même communauté que le cas avec deux témoins par cas. Pour atteindre le nombre requis de contrôles, une liste de contrôles potentiels vivant dans le même village que le cas sera tirée de la base de données et triée dans un ordre aléatoire. Les enfants résidant à au moins 2 concessions à l'écart du cas seront visités dans l'ordre de la liste, afin de recruter deux témoins. Si un contrôle désigné n'est pas disponible, le prochain enfant de la liste sera pris en compte.

**Critères d'inclusion** pour la sélection du contrôle pour cette étude comprendront :

- Inclusion dans l'un des trois groupes d'intervention de l'essai CPS + RTS, S / AS01E en avril 2017 et maintien dans l'essai jusqu'à la date de début de la prolongation du suivi (avril 2021 pour la cohorte 1 et avril 2022 pour la cohorte 2).
- Résidence dans la même communauté que le cas.
- Fourniture d'un consentement éclairé signé des parents ou du tuteur pour l'inclusion de leur enfant dans l'étude cas-témoins.

**Critères d'exclusion.**

Tous les enfants seront éligibles pour être un témoin à moins que l'enfant n'ait été emmené à la centre de santé pour le traitement de la fièvre dans les 24 heures suivant le moment où le cas a été transporté à la clinique. Cet enfant ne sera pas non plus inclus comme un cas.

**Mesure de l'exposition**

L'exposition principale d'intérêt est l'effet de la CPS sur un "effet rebond" potentiel sur la morbidité. Celui-ci sera évalué de deux manières : premièrement, en comparant les enfants avec différents niveaux d'observance au calendrier de la CPS dans le groupe CPS seul, et deuxièmement en comparant les enfants qui ont été randomisés pour recevoir le vaccin CPS et RTS, S (le groupe combiné), avec des enfants ayant reçu le placebo CPS et le vaccin RTS, S (groupe RTS, S seul). Cette deuxième comparaison permettra d'évaluer l'impact de la CPS au cours des 4-5 premières années de vie sur la morbidité. Des données supplémentaires seront collectées sur d'autres facteurs de risque potentiellement importants qui pourraient agir comme des facteurs de confusion ou des modificateurs de l'effet de la CPS sur le rebond. Ceux-ci comprendront : le statut socio-économique du parent / tuteur, le niveau d'éducation du parent ou du tuteur, l'utilisation d'une moustiquaire par l'enfant de l'étude, le type de moustiquaire, la qualité et l'utilisation de la moustiquaire la nuit précédant l'entretien, la taille du ménage (nombre d'enfants moins de 5 ans dans le ménage), le traitement avant l'épisode en cours, la proximité de l'établissement de santé le plus proche (estimé à l'aide du GPS), le temps nécessaire pour rechercher des soins, la disponibilité d'un agent de santé communautaire dans la communauté de cas. Des visites à domicile seront effectuées pour les cas et les contrôles afin d'évaluer des facteurs tels que l'état de la maison, l'utilisation d'une moustiquaire, etc., sauf si cela n'est pas possible en raison des restrictions du COVID-19, dans lequel cas un entretien téléphonique sera entrepris.

### **6.2.2 Etude cas-contrôle pour le paludisme grave**

Le programme national de lutte contre le paludisme exige que les cas de paludisme grave soient traités à l'hôpital. Par conséquent, les membres de l'équipe d'étude seront basés dans les hôpitaux de district de Houndé et Bougouni pour le recrutement des cas de paludisme grave.

#### **Cas**

Les enfants admis dans un hôpital de l'étude avec un diagnostic primaire de paludisme grave basé sur les symptômes et signes de paludisme sévère et un TDR positif ou un frottis sanguin positif seront éligibles pour l'inclusion dans cette étude cas-témoins. Les enfants admis à l'hôpital avec des caractéristiques de paludisme grave, telles qu'une anémie sévère, qui ont un TDR négatif ou un frottis sanguin négatif au moment de leur admission à l'hôpital mais qui ont été traités pour le paludisme avec des enregistrements confirmés d'un TDR positif ou d'un frottis sanguin positif les deux semaines précédentes seront également éligibles à l'inclusion.

**Critères d'inclusion** un cas dans cette étude cas-témoins doit respecter les critères suivant :

- Inclusion dans l'un des trois groupes d'intervention de l'essai SMC + RTS, S / AS01E en avril 2017 et maintien dans l'essai jusqu'à la date de début de l'extension du suivi (avril 2021 pour la cohorte 1 et avril 2022 pour la cohorte 2).
- Âge supérieur à 59 mois.
- Admission à l'hôpital avec un diagnostic clinique primaire de paludisme grave.
- Fourniture d'un consentement éclairé signé des parents ou tuteurs pour inclusion dans l'étude cas-témoins.

**Critères d'exclusion.** Les enfants ne répondant pas aux critères sus cités ne seront pas inclus pour le recrutement des cas.

#### **Contrôles.**

Deux contrôles en communauté et deux autres en milieu hospitalier seront recrutés pour chaque cas dans l'étude cas-témoins pour le paludisme grave.

**Contrôles dans la communauté:** Deux témoins seront recrutés dans la communauté, sélectionnés dans la base de données contenant les enregistrements de tous les enfants de l'essai CPS + RTS, S / AS01E comme décrit ci-dessus pour l'étude cas-témoins du paludisme non compliqué. Les critères d'inclusion pour les témoins communautaires seront les mêmes que pour les témoins communautaires inscrits dans l'étude de cas-témoins de paludisme simple.

**Contrôles en milieu hospitalier:** Deux témoins seront recrutés en milieu hospitalier pour réduire le risque de biais liés à l'accès aux soins. Ces témoins seront des enfants admis à l'hôpital pour une raison autre qu'un traumatisme, une chirurgie électorale, un

empoisonnement. Si plus de deux cas adéquats répondant à ces critères sont identifiés, les deux premières familles à approcher seront sélectionnées au hasard.

**Critères d'inclusion** pour un enfant pour être un contrôle en milieu hospitalier seront :

- a. Inclusion à l'étude CPS + RTS, S / AS01E en avril 2017 et rester dans l'essai jusqu'à la date de début de la continuation de l'étude (avril 2021 pour la cohorte 1 et avril 2022 pour la cohorte 2).
- b. Admission à l'hôpital avec une maladie hors traumatisme, chirurgie électorale, empoisonnement dans le mois suivant l'admission du cas.
- b. Diagnostic primaire autre que le paludisme grave.
- c. Signature d'un consentement éclairé par les parents ou tuteurs pour l'inclusion de l'enfant dans l'étude cas-témoins.

**Critères d'exclusion.** Les enfants qui ne répondent pas aux critères ci-dessus ne seront pas considérés comme éligibles en tant que témoin. La résidence dans la même communauté que le cas ne sera pas requise en raison du possible nombre limité de témoins hospitaliers appropriés et disponibles.

**Mesure de l'exposition:** Tous les facteurs de risque seront collectés en cas de paludisme simple. En outre, des informations seront recueillies sur le fait que la mère ait voyagé ou non, ou a souffert d'une maladie grave, les premiers signes détectables de la maladie, le temps entre l'aggravation de la maladie et les premiers signes détectables de la maladie, les antécédents de convulsions, le temps mis avant le début de la prise en charge, la disponibilité des moyens de transport pour emmener l'enfant à la formation sanitaire la disponibilité immédiate du personnel de santé et des médicaments antipaludiques à l'hôpital de district, qui prend en charge les soins de l'enfant (père, mère, parent), la disponibilité de soins gratuits (politique nationale) et l'état nutritionnel. Une visite sera faite au domicile du cas et aux autres contrôles pour obtenir des informations supplémentaires sur l'environnement local, sauf si cela n'est pas possible en raison des restrictions COVID-19, dans lequel cas un entretien téléphonique sera entrepris.

### **6.3 Enquête de fin de saison**

A la fin de la saison de transmission en 2021 et 2022, une enquête transversale de tous les enfants de la cohorte initiale sera réalisée. Les enfants bénéficieront d'un examen clinique par le personnel médical de l'étude, une prise de la température et des paramètres anthropométriques, et un échantillon de sang par piqûre au doigt sera prélevé pour la détection de la parasitémie du paludisme et la mesure de la concentration d'hémoglobine à l'aide d'un appareil à hémocue. Cette étude sera l'occasion d'étudier la relation entre la parasitémie ou l'anémie avec exposition à la CPS et / ou au RTS, S / AS01E, et l'adhésion à la CPS au cours des quatre cinq dernières années.

#### **6.4 Surveillance de la mortalité**

Les décès survenant dans la communauté pendant la période d'étude seront suivis et enregistrés. Les agents de terrain en contact étroit avec les communautés veilleront à ce que tous les décès soient identifiés et enregistrés. Une autopsie verbale sera entreprise pour recueillir des informations sur la cause possible du décès.

#### **6.5 Enquête sur la sérologie**

En juin 2021, tous les enfants précédemment inclus dans l'étude et demeurant dans la zone d'étude seront invités à se rendre au point de vaccination habituelle et ceux qui sont encore éligibles à la vaccination recevront une dose de rappel de RTS, S / AS01E. A cette occasion, un questionnaire sera administré à tous les enfants, qu'ils soient toujours éligibles à la vaccination ou non, afin de recueillir des informations sur les variables qui pourraient influencer la susceptibilité au paludisme au cours de la prochaine saison de transmission, telles que le type de construction de la maison, l'utilisation d'une MII, l'accès à un centre de santé, etc. En même temps, une goutte de sang par piqûre au doigt sera obtenue pour la mesure des anticorps dirigés contre un large éventail d'antigènes du paludisme et pour déterminer le schéma de la réponse immunitaire en fonction du niveau d'exposition à la CPS ou au RTS, S / AS01E au cours des quatre années précédentes. La relation entre ce schéma et l'incidence des épisodes cliniques de paludisme lors de la transmission ultérieure du paludisme sera évaluée. Lors de l'enquête transversale décrite ci-dessus, une goutte de sang par piqûre au doigt sera obtenue pour la préparation d'un frottis sanguin et la détermination de la concentration de l'hémoglobine. En même temps, une goutte de sang sera obtenue pour la mesure des anticorps afin de déterminer comment le schéma a changé après un an d'exposition au paludisme.

#### **6.6 Prise en charge de la cohorte pendant la campagne nationale de la CPS**

Au cours des saisons de haute transmission à venir, certains des enfants appartenant à l'essai ne devront plus recevoir la CPS ou la vaccination saisonnière alors que la campagne du programme national de lutte contre le paludisme est en cours. Lors du recensement annuel, l'équipe chargée de l'étude expliquera aux mères que les enfants de plus de 59 mois ne doivent plus prendre la CPS mais que le projet continuera à fournir des soins aux enfants dans l'étude de suivi. Si, néanmoins, un enfant bénéficie de la CPS dans le cadre du programme national, bien que cela ne soit pas recommandé, il sera enregistré que cela sera pris en compte lors de l'analyse.

#### **6.7 Procédures de recrutement**

Le recrutement pour l'étude cas-témoins simple se fera comme suit. Les participants potentiels à l'étude qui consulteront dans une formation sanitaire participant au projet et

qui répondront aux critères d'inclusion auront un échantillon de sang prélevé au doigt pour un TDR du paludisme au centre de de santé et pour la préparation d'une goutte épaisse et d'un frottis sanguin. L'inclusion et le traitement seront basés sur le résultat positif du TDR. Un court questionnaire sera alors rempli. Après confirmation microscopique, le cas et les deux témoins, sélectionnés au hasard dans la base de données de l'essai, seront visités à domicile pour remplir les questionnaires; cela donnera l'occasion d'inspecter les moustiquaires, les caractéristiques de la maison et toute autre caractéristique pertinente de l'environnement lié au risque de paludisme comme la résidence à proximité d'un site potentiel de reproduction de moustiques.

## **6. 8. PROCEDURES DE LABORATOIRE**

### **6.8.1 Detection des parasites de *P. falciparum***

Un test de diagnostic rapide basé sur l'histidine riche en protéines 2 (HRP2) sera utilisé à des fins de soins immédiats et la cassette sera conservée pour une analyse ultérieure. Les lames séchées et colorées au Giemsa seront lues indépendamment par deux microscopistes. En cas de discordance, une troisième lecture sera effectuée et le résultat médian sera considéré comme définitif pour les évaluations de la densité parasitaire.

### **6.8.2 Mesure du taux d'hémoglobine**

Le taux d'hémoglobine sera mesuré en utilisant des méthodes colorimétriques au moyen d'une Hemocue (Hemocue AB, Angelholm, Sweden).

### **6.8.3 Détection des marqueurs moléculaires de la résistance**

Les gouttes de sang collectées sur du papier filtre (Whatman No3), séchées et conservées avec un dessiccant, pour une analyse ultérieure des marqueurs moléculaires de résistance. Les TDR utilisés seront également stockés afin qu'ils puissent être utilisés pour évaluer l'utilité des TDR pour la surveillance des marqueurs moléculaires.

L'ADN des parasites sera extrait en utilisant des méthodes déjà publiées [10]. Pour le génotypage de *Pfcr*: un test de PCR en temps réel (qPCR) utilisant trois sondes bi-marquées sera utilisé pour détecter les trois haplotypes *pfcr* communément connus à savoir CVMNK, CVIET et SVMNT [11], permettant la détection de tout retour de sensibilité à la chloroquine. La PCR et le séquençage de gènes *pfmdr1*, *dhfr* et *dhps*. Tous les échantillons positifs de qPCR seront utilisés pour le génotypage de *Pfmdr-1* (86, 184, 1034, 1042 et 1246), *pfDHFR* (51/59/108/164) et *pfDHPS* (437/540/581/613). Ces trois gènes seront amplifiés par la PCR imbriquée en utilisant des amorces déjà publiées [11, 12]. Le génotypage de ces gènes montrera les tendances de la prévalence de ces marqueurs sur plusieurs années de mise en œuvre de SMC. Les polymorphismes des gènes *pfmdr1*, *dhfr* et *dhps* seront déterminés par séquençage direct des produits amplifiés (kits de séquençage de cycle BigDye Terminator v3.1; séquenceur ABI 3730 (Applied Biosystems)). Les chromatogrammes de séquence

seront analysés à l'aide de Geneious v10.1.3 (Biomatters, États-Unis) par alignement avec les séquences de gènes correspondantes de la lignée de parasites de laboratoire 3D7.

#### **6.8.4 Serologie du paludisme**

Les anticorps dirigés contre une large gamme d'antigènes pré-érythrocytaires et sanguins du paludisme seront mesurés à l'aide de la plateforme de billes Luminex, suivant un protocole développé par le professeur Drakeley à la London School of Hygiene and Tropical Medicine [13].

### **7. CALCUL DE LA TAILLE DES DIFFERENTES ETUDES**

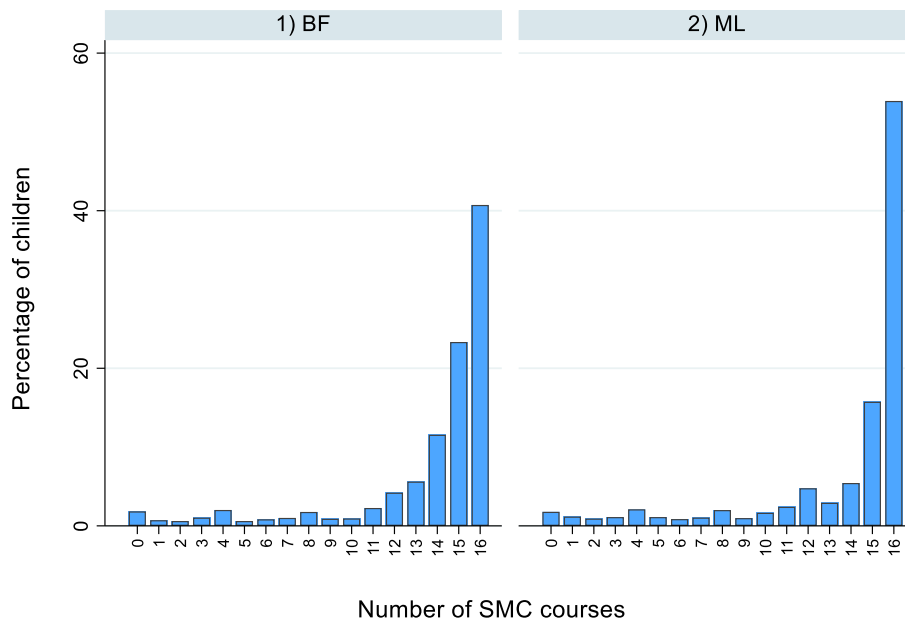
Le taux d'abandon de l'étude a été faible et on estime qu'environ 2800 enfants seront disponibles pour rejoindre l'étude de suivi post CPS + RTS, S / AS01E en 2021 et 2200 en 2022.

La taille de l'échantillon pour l'étude cas-témoin du paludisme simple est de 450 cas de paludisme clinique dans chaque pays par an, soit 900 cas au total. Deux contrôles seront recrutés par cas. L'expérience antérieure dans les zones d'étude suggère que ce nombre de cas est susceptible d'être recruté dans un délai d'un an.

Dans le but d'évaluer à la fois l'adhésion antérieure à la CPS et au groupe de randomisation préalable en tant qu'expositions, la taille de l'échantillon doit prendre en compte les deux comparaisons et tenir compte du fait que l'équipe d'étude sera aveugle à l'attribution du traitement antérieur. Si 450 cas de paludisme simple sont recrutés par an dans chaque pays, il y aura alors environ 150 cas par groupe d'intervention préalable (CPS seul, RTS, S / AS01E seul et le groupe combiné) chaque année (300 cas par groupe d'intervention antérieur aux deux ans, dans chaque pays).

L'analyse préliminaire, illustrée dans la figure ci-dessous, suggère qu'il y aura un large éventail d'exposition aux CPS chez les enfants individuels, ce qui permettra de faire des comparaisons utiles.

Figure: 2 Nombre de doses de CPS au Burkina Faso et au Mali jusqu'en fin 2020.



### 7.1 L'adhérence à la CPS comme facteur de risque pour l'effet rebond

Les calculs ci-dessous sont basés sur la prévalence de l'exposition (adhésion totale aux CPS antérieurs) de 40%. Ce taux était de 40,7% au Burkina Faso et de 53,9% au Mali au cours des quatre années précédentes. On ne sait pas jusqu'à quel point l'observance diminuera au cours de la cinquième année d'étude, mais cela sera connu bien avant la saison 2022 et la taille de l'échantillon pourra donc être ajustée si nécessaire.

En supposant un rapport de côtes de 1,75, qui refléterait une augmentation relative de 35% de l'exposition parmi les cas (à 54%), et permettant une certaine corrélation de l'exposition entre les cas et les témoins en raison du potentiel d'observance à corrélérer au sein des villages (jusqu'à 0,4), alors avec une signification de 5%, 300 cas dans le groupe CPS seul fourniront une puissance de 90% pour détecter une différence d'adhérence à la CPS entre les cas et les témoins. Bien qu'il soit possible que la différence relative d'exposition soit supérieure à 35% (c'est-à-dire un OR supérieur à 1,75), ou que la corrélation soit inférieure à 0,4, cette taille d'échantillon garantira une précision adéquate autour de l'estimation de l'effet. Chaque année, il y aura 150 cas dans le seul groupe CPS, ce qui donne 80% de puissance pour détecter un OR de 2 au niveau de signification de 5%, avec d'autres hypothèses comme ci-dessus. Quant à la comparaison sur deux ans, l'intérêt principal est la

précision sur la taille de l'effet plutôt que la détection d'une différence; la taille de l'échantillon de 150 cas devrait garantir une précision raisonnable chaque année.

### **7.2 Comparaison de l'effet rebond selon l'appartenance à un groupe d'intervention**

En considérant la prise antérieure d'une intervention particulière (CPS seul, RTS, S / AS01E seul ou la combinaison des deux) comme exposition, la prévalence de l'exposition parmi les témoins sera de 33% pour chaque groupe de randomisation. Il est peu probable qu'une intervention antérieure soit corrélée entre les cas et les témoins dans les villages utilisés pour définir les ensembles appariés, car cela a été randomisé. Un échantillon de 300 cas dans chaque groupe d'intervention préalable, dans chaque pays, fournira une puissance de 90% pour détecter un odds ratio de 1,6 entre les groupes d'intervention précédents. Un échantillon de 150 cas par an aura une puissance de 80% pour détecter un OR de 1,77 (et donc une précision raisonnable autour d'un effet de traitement plus important).

### **7.3 Paludisme grave**

L'expérience antérieure dans la zone d'étude suggère qu'il y aura environ 10 à 15 épisodes de paludisme grave pour 1000 enfants-années à risque parmi les enfants qui ne sont plus éligibles à la CPS, soit un total de 30 à 50 cas graves dans la première année après l'arrêt de l'intervention et 20 à 30 parmi les enfants qui ne sont plus éligibles à la CPS l'année suivante. Pour cette analyse, les données des deux années seront combinées et considérées séparément pour les témoins communautaires et les témoins hospitaliers. Avec 42 cas et deux contrôles, l'étude aura une puissance de 80% pour détecter un facteur de risque retrouvé chez 50% des contrôles, mais dans 75% des cas (soit un risque relatif de 1,5, ou un odds ratio de 3,0). Avec 55 cas, l'étude aurait une puissance de 90% pour détecter cette différence.

Sur la base de l'expérience antérieure dans les zones d'étude, il est prévu que la prévalence de la parasitémie du paludisme chez les enfants âgés de cinq qui n'ont pas reçu de CPS sera d'environ 20% au Mali et de 50% au Burkina Faso, soit environ 1000 enfants parasitémiques lors de l'enquête transversale de 2021 et 700 autres en 2022. La prévalence de l'anémie modérée définie comme une hémoglobine de moins de 7,0 g / dl sera bien moindre et se situera probablement entre 0,5% et 1,0% avec environ 30 cas détectés en la première année de suivi et 15 l'année suivante, donc l'analyse pour ce point final utilisera les données des deux années.

## **8. GESTION DES DONNEES**

Les données de surveillance passive obtenues dans les CSPS ou à l'hôpital de district seront d'abord collectées sur des registres, puis immédiatement capturées avec des dispositifs électroniques en utilisant l'application ODK Collect (Open Data Kit) dans chaque site et pour chaque activité. Les techniciens de laboratoire disposeront de registres de laboratoire pour enregistrer les lectures qui seront ensuite capturées sur leurs appareils électroniques (Android). La base de données pour les études cas-témoins sera conservée et gérée séparément. Des copies papier de sauvegarde seront effectuées au cas où un appareil tomberait en panne pour une raison quelconque.

## **9. ANALYSE DES DONNEES**

Un plan d'analyse statistique complet sera rédigé avant la fin de l'étude. L'objectif primaire de cette étude est d'évaluer l'impact de l'exposition antérieure à la CPS sur la morbidité palustre. Nous examinerons les expositions (de niveau différent) parmi les cas et les contrôles et les ensembles de divergences contribueront à l'analyse. L'analyse prendra en compte les facteurs de risque de paludisme non compliqué et sévère dans le contexte de SMC et SMC + RTS, S chez les enfants encore éligibles à la SMC ou à la vaccination saisonnière ainsi que ceux âgés de plus de 5 ans, qui ne sont plus éligibles pour bénéficier de l'intervention.

## **10. ASSURANCE QUALITE/CONTROLE QUALITE**

Un moniteur interne indépendant sera désigné pour s'assurer que les études sont menées conformément au protocole de l'étude, que des procédures éthiques appropriées sont en place ; il examinera un nombre aléatoire de dossiers cliniques et de laboratoire lors de chaque visite. Des procédures de contrôle de la qualité seront élaborées dans chaque site, y compris des contrôles de supervision de l'enregistrement des données par le personnel de terrain et des contrôles manuels de l'exactitude de la saisie des données.

## **11. CONSIDERATIONS ETHIQUES**

Un consentement individuel, écrit et éclairé sera obtenu de la famille ou du tuteur légalement reconnu de chaque enfant lors de l'enquête finale en mars 2022 (car ils sont couverts jusque-là par l'étude d'extension RTS, S + CPS) avec une mention claire que les participants sont libre de quitter l'étude à tout moment sans obligation de justification. L'approbation éthique sera obtenue du Comité d'éthique du Burkina Faso, du Mali et du Royaume-Uni.

Une piqûre au doigt sera effectuée pour la réalisation d'un test de diagnostic rapide du paludisme, un frottis sanguin et pour enregistrer quelques gouttes sur du papier filtre.

L'équipe du projet (médecins, infirmières et techniciens de laboratoire) est bien expérimentée et formée pour fournir ces soins adéquats en règle avec les mesures de prévention de l'infection. La piqûre au doigt causera une douleur mineure et le matériel à utiliser sera stérile et à usage unique (kits jetables). En outre, une attention particulière sera accordée à tout événement indésirable qui se produira au cours de l'étude.

## **12. GESTION DE L'ÉTUDE**

L'Institut de Recherche en Sciences de la Santé agira en tant que sponsor de l'étude; un comité de pilotage indépendant sera mis en place pour superviser l'essai et son approbation du protocole sera sollicitée avant le début de l'étude. L'essai respectera les principes énoncés dans la Conférence internationale sur les bonnes pratiques cliniques d'harmonisation (ICH GCP)

## **13. GOUVERNANCE, RESPONSABILITE ET COLLABORATION**

Dr Issaka Zongo, le Principal investigateur de l'étude sera le principal répondant pour la gestion quotidienne de l'essai. Il supervisera tous les aspects scientifiques et techniques de l'étude et sera le principal canal de communication. La gestion et l'analyse des données seront effectuées par Issaka Zongo en étroite collaboration avec le statisticien junior et le gestionnaire des données du projet. Des conseils seront sollicités auprès de statisticiens de la London School of Hygiene and Tropical Medicine. Les essais sur les marqueurs moléculaires seront réalisés par un jeune scientifique recruté dans le cadre de ce projet; Le Professeur Philip Rosenthal de l'Université de Californie à San Francisco a accepté d'accueillir les travaux du laboratoire.

## **14. DEVELOPEMENT DE CAPACITE**

Outre l'essai principal, le projet sera une opportunité de renforcement des capacités; une grande quantité de données cliniques sera collectée sur le terrain. Ce programme donnera une expérience d'étude de terrain à de jeunes scientifiques et formera des projets de maîtrise et de doctorat en parasitologie et épidémiologie; un étudiant en Master sera inscrit pour deux années académiques complètes d'octobre 2021 à septembre 2023 pour l'obtention du diplôme; le doctorant s'inscrira à partir de janvier 2022 pour l'obtention du diplôme prévu pour la fin de la bourse. Enfin, le chercheur principal de ce projet gagnera une expérience d'encadrement.

## **15. ECHEANCES DE L'ETUDE**

Le projet a été planifié pour démarrer le 1er Janvier 2021 et le déroulement est détaillé conformément an Gantt Chart.

## **16. BUDGET**

Cette étude est financée par une subvention de EDCTP au Dr Zongo Issaka (TMA2019SFP-2834)

Gantt Chart. Risque de paludisme chez les enfants ages de plus de 59 mois et non éligibles pour la CPS ou la vaccination saisonnière au Burkina Faso et au Mali (SmV)

	2021				2022				2023				2024				2025			
	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4
Soumission du protocole au comité d'éthique	■																			
Approbation du comité d'éthique		■																		
Enregistrement de l'étude		■																		
Continuation du suivi passif						■	■	■	■	■	■	■	■							
Etude cas-témoins recrutement (1 <sup>ère</sup> année)			■	■																
Etude cas-témoins recrutement (2 <sup>ème</sup> année)							■	■												
Monitoring de l'étude			■				■				■									
Entrée et nettoyage des données			■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■		
Traitement des échantillons pour les marqueurs moléculaires															■	■	■	■		
Enquête sérologique															■	■	■	■		
Analyse et interpretation des données																	■	■		
Préparation de manuscrit																	■	■	■	
Défense thèse PhD																				■

## 17. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Wilson AL; IPTc Taskforce. A systematic review and meta-analysis of the efficacy and safety of intermittent preventive treatment of malaria in children (IPTc). PLoS One. 2011 Feb 14;6(2):e16976. doi: 10.1371/journal.pone.0016976. Review. PubMed PMID: 21340029; PubMed Central PMCID: PMC3038871.
1. 2. Konaté AT, Yaro JB, Ouédraogo AZ, Diarra A, Gansané A, Soulama I, Kangoyé DT, Kaboré Y, Ouédraogo E, Ouédraogo A, Tiono AB, Ouédraogo IN, Chandramohan D, Cousens S, Milligan PJ, Sirima SB, Greenwood B, Diallo DA. Intermittent preventive treatment of malaria provides substantial protection against malaria in children already protected by an insecticide-treated bednet in Burkina Faso: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. PLoS Med. 2011 Feb 1;8(2):e1000408. doi: 10.1371/journal.pmed.1000408. PubMed PMID: 21304925; PubMedCentral PMCID: PMC3032552.
3. Cisse B, Cairns M, Faye E, NDiaye O, Faye B, Cames C, Cheng Y, NDiaye M, Lô AC, Simondon K, Trape JF, Faye O, NDiaye JL, Gaye O, Greenwood B, Milligan P. Randomized trial of piperazine with sulfadoxine-pyrimethamine or dihydroartemisinin for malaria intermittent preventive treatment in children. PLoS One. 2009 Sep 28;4(9):e7164. doi: 10.1371/journal.pone.0007164. PubMed PMID: 19784374; PubMed Central PMCID: PMC2747010.
4. Sokhna C, Cissé B, Bâ el H, Milligan P, Hallett R, Sutherland C, Gaye O, Boulanger D, Simondon K, Simondon F, Targett G, Lines J, Greenwood B, Trape JF. A trial of the efficacy, safety and impact on drug resistance of four drug regimens for seasonal intermittent preventive treatment for malaria in Senegalese children. PLoS One. 2008 Jan 23;3(1):e1471. doi: 10.1371/journal.pone.0001471. PubMed PMID: 18213379; PubMed Central PMCID: PMC2198946.
5. Zongo I, Milligan P, Compaore YD, Some AF, Greenwood B, Tarning J, Rosenthal PJ, Sutherland C, Nosten F, Ouedraogo JB. Randomized Noninferiority Trial of Dihydroartemisinin-Piperazine Compared with Sulfadoxine-Pyrimethamine plus Amodiaquine for Seasonal Malaria Chemoprevention in Burkina Faso. Antimicrob Agents Chemother. 2015 Aug;59(8):4387-96. doi: 10.1128/AAC.04923-14. Epub 2015 Apr 27. PubMed PMID: 25918149; PubMed Central PMCID: PMC4505196.
6. WHO, "WHO policy recommendation: Seasonal malaria chemoprevention (SMC) for Plasmodium falciparum malaria control in highly seasonal transmission areas of the Sahel sub-region in Africa."
7. Zongo I, Ouedraogo JB, Lal S, Cairns M, Scott S, Snell P, Moroso D, "Coverage of SMC in Burkina Faso 2017," 2018.
8. Dicko A, Sagara I, Sissoko MS, Guindo O, Diallo AI, Kone M, Toure OB, Sacko M, Doumbo OK. Impact of intermittent preventive treatment with sulphadoxine-pyrimethamine targeting

the transmission season on the incidence of clinical malaria in children in Mali. *Malar J*. 2008 Jul 8;7:123. doi: 10.1186/1475-2875-7-123.

9. Chandramohan D, Dicko A, Zongo I, Sagara I, Cairns M, Kuepfer I, Diarra M, Barry A, Tapily A, Nikiema F, Yerbanga S, Coumare S, Thera I, Traore A, Milligan P, Tinto H, Doumbo O, Ouedraogo JB, Greenwood B. Effect of Adding Azithromycin to Seasonal Malaria Chemoprevention. *N Engl J Med*. 2019 Jun 6;380 (23):2197-2206.

10. Beshir KB, Sepúlveda N, Bharmal J, Robinson A, Mwanguzi J, Busula AO, de Boer JG, Sutherland C, Cunningham J, Hopkins H. Plasmodium falciparum parasites with histidine-rich protein 2 (pfhrp2) and pfhrp3 gene deletions in two endemic regions of Kenya. *Sci Rep*. 2017 Nov 7;7(1):14718. doi: 10.1038/s41598-017-15031-2.

11. Gadalla NB, Elzaki SE, Mukhtar E, Warhurst DC, El-Sayed B, Sutherland CJ. 2010. Dynamics of pfcr1 alleles CVMNK and CVIET in chloroquine-treated Sudanese patients infected with Plasmodium falciparum *Malaria J* 9: 74.

12. Beshir K, Hallett RL, Eziefula AC, Bailey R, Watson J, Wright SG, Chiodini PL, Polley SD, Sutherland CJ. 2010. Measuring the efficacy of anti-malarial drugs in vivo: quantitative PCR measurement of parasite clearance. *Malaria J*. 9: 312.

13. Achan J, Reuling IJ, Yap XZ, Dabira E, Ahmad A, Cox M, Nwakanma D, Tetteh K, Wu L, Bastiaens GJH, Abebe Y, Manoj A, Kaur H, Miura K, Long C, Billingsley PF, Sim BKL, Hoffman SL, Drakeley C, Bousema T, D'Alessandro U. 2020 Serologic markers of previous malaria exposure and functional antibodies inhibiting parasite growth are associated with parasite kinetics following a Plasmodium falciparum controlled human infection. *Clin Infect Dis*. 2020 ;70:2544-2552.