

# Caractérisation moléculaire des espèces plasmodiales chez les femmes enceintes en consultation prénatale dans le district sanitaire de Nanoro, Burkina Faso

---

Marc Christian TAHITA<sup>1,2\*</sup>, Bérenger KABORE<sup>1,2</sup>,  
Ousmane TRAORE<sup>1,2</sup>, Hamidou ILBOUDO<sup>1,2</sup>, Palpougouini LOMPO<sup>1,2</sup>,  
Doda Gricela Elodie SANON<sup>2</sup>, Bienvenue Wend Denda NANA<sup>2</sup>,  
Adama KAZIENGA<sup>2</sup>, Irene Molina – DE LA FUENTE<sup>3,4</sup>,  
Pedro BERZOSA<sup>3,4</sup>, Halidou TINTO<sup>1,2</sup>

## Résumé

Introduction : L'infection à *Plasmodium* pendant la grossesse est une cause majeure de morbidité maternelle et de complications fœtales Afrique subsaharienne. *Plasmodium falciparum* est l'espèce la plus dangereuse et la plus répandue dans les zones endémiques mais coexiste avec d'autres espèces jouant un rôle dans la transmission. L'objectif de cette étude était de déterminer l'épidémiologie moléculaire de l'infection à *Plasmodium sp* dans le district sanitaire de Nanoro, Burkina Faso.

Méthodes : Il s'est agi d'une étude transversale lors de laquelle, les femmes enceintes pour la première consultation prénatale de routine ont été recrutées dans le district sanitaire de Nanoro après signature du consentement éclairé. Des échantillons de sang sur papier Whatmann 3M collectés pour l'analyse moléculaire des espèces plasmodiales par la PCR nichée. Les données ont été présentées sous forme de proportions et la régression logistique a été réalisée pour tester l'interaction entre âge de la participante et le taux de positivité de la PCR

Résultats : Au total, 418 femmes enceintes ont été incluses. L'âge moyen était de 26 ans avec un écart-type de 6,6 ans. Plus des trois quarts des femmes avait un âge compris entre (18,34]. La prévalence globale de l'infection à *Plasmodium falciparum* et *Plasmodium vivax* était respectivement de 47,37% et 0,48% dans la population d'étude.

Conclusion : Cette étude a montré une prévalence élevée du paludisme à *plasmodium falciparum* avec la notification de *plasmodium vivax* au Burkina Faso. Ces résultats

---

<sup>1</sup> Institut de Recherche en Sciences de la Santé/Direction Régionale du Centre-Ouest, Tel. 25330881, Nanoro, Burkina Faso

<sup>2</sup> Clinical Research Unit of Nanoro, Nanoro, Tel. 25330881, Burkina Faso

<sup>3</sup> Malaria and Neglected Tropical Diseases Laboratory, National Centre of Tropical Medicine, Institute of Health Carlos III, Tel: Tel. +34 918222012, Madrid, Spain

<sup>4</sup> CIBERINFEC - CIBER Infectious Diseases (ISCIII), Tel. +34 911718117, Madrid, Spain

\* Auteur correspondant : Marc Christian Tahita, marctahita@yahoo.fr)

<https://orcid.org/0000-0003-2158-0182>, +226 70051755

appellent à la conduite d'études épidémiologiques à large échelle pour informer et guider les politiques de santé.

**Mots-clés** : Femmes enceintes, *Plasmodium*, PCR nichée, Burkina Faso

## **Molecular Characterization Of Plasmodial Species In Pregnant Women Attending Antenatal Clinics In The Nanoro Health District, Burkina Faso**

### **Abstract**

**Introduction:** *Plasmodium* infection during pregnancy is a major cause of maternal morbidity and adverse fetal outcomes in sub-Saharan Africa. *Plasmodium falciparum* is the most dangerous and widespread species in endemic areas but coexists with other species that play a role in transmission. The aim of this study was to determine the molecular epidemiology of *Plasmodium sp* infection in the health district of Nanoro, Burkina Faso.

**Methods:** This was a cross-sectional study in which pregnant women attending routine antenatal clinics for their first time in Nanoro health district were recruited after signing an informed consent form. A questionnaire was administered and blood samples on Whatmann3M paper were collected for molecular analysis of plasmodial species. The data were presented as proportions, and logistic regression was performed to test the interaction between participant and PCR positivity rate.

**Results:** A total of 418 pregnant women were included. The mean age was 26 years with a standard deviation of 6.6 years. More than three-quarters of the women were aged between [18,34]. The overall prevalence of *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* infections was 47.37% and 0.48% respectively in the study population.

**Conclusion:** This study showed a high prevalence of *Plasmodium falciparum* malaria with the notification of *Plasmodium vivax* in Burkina Faso. These results call for large-scale epidemiological studies to inform and guide health policies.

**Keywords:** Pregnant women, *Plasmodium*, Nested PCR, Burkina Faso

## **Introduction**

Le paludisme reste toujours un problème de santé publique dans le monde et particulièrement en Afrique sub-Saharienne (1). En effet, plus de 249 millions de cas ont été rapportés en 2022 avec plus de 95% des cas dans la région Afrique de l'Organisation mondiale de la santé (OMS) (2). Le paludisme est causé par un parasite du genre *Plasmodium* et de nos jours 5 espèces sont communément connus pour infecter l'Homme : *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium ovale*, *Plasmodium vivax* and *Plasmodium knowlesi*. *Plasmodium falciparum* est l'espèce la plus pathogène, responsable des

cas mortels et dominante dans les zones tropicales d’Afrique, d’Amérique Latine et d’Asie (3). *Plasmodium vivax* quant à lui est l’espèce la plus répandue à la surface du globe mais est rare en Afrique de l’Ouest et en Afrique Centrale (4). En effet des facteurs érythrocytaires tels que l’absence de l’antigène Duffy à la surface des hématies confère une résistance à *Plasmodium vivax* dans ces localités en Afrique. Dans de nombreuses régions d’Afrique de l’Est et de l’Ouest, *Plasmodium ovale* et *Plasmodium malariae* sont relativement répandus et représentent une part importante des épisodes de paludisme fébrile (5) ainsi que des infections asymptomatiques.

Au Burkina Faso, le paludisme est la première cause de consultation, d’hospitalisation et de mortalité dans les formations sanitaires (6). Pour endiguer ce fléau, l’OMS recommande la détection précoce des cas et leur prise en charge avec des combinaisons thérapeutiques à base d’artémisinine (CTAs) associée à des mesures préventives (7). Malgré ces mesures, le paludisme continue de sévir en Afrique sub-Saharienne entraînant des absentéismes des enfants à l’école, des cas de faible poids de naissance et décès liés au paludisme (8). En 2023, on a recensé 246 millions de cas et 569 000 décès dans la région africaine de l’OMS. Les enfants de moins de 5 ans et les femmes enceintes constituent les groupes les plus à risque. Parmi ces dernières, 12,4 millions ont été affectées par le paludisme (9). Chaque cas de paludisme devra être confirmé soit par microscopie ou par un test de diagnostic rapide (TDR) avant tout traitement. Le TDR le plus utilisé sur le territoire national, basé sur la protéine riche en histidine 2 (HRP2), est spécifique à *Plasmodium falciparum*, ce qui peut malheureusement entraîner la non-détection des infections dues à d’autres espèces (10). Avec les changements climatiques associés aux mouvements de populations dans l’espace de l’Afrique de l’ouest, l’épidémiologie des espèces plasmodiales est sujette à variation (11). Dans chaque pays, les stratégies de détection et traitement des cas étant basée sur les espèces régulièrement rencontrées, il est donc impérieux de pouvoir monitorer l’épidémiologie de ces espèces plasmodiales. La microscopie reste la méthode de référence pour la détection du paludisme mais ses performances varient avec la qualité des lecteurs, des équipements et réactifs (12). Ainsi des erreurs d’identification des espèces plasmodiales sont fréquentes entre *Plasmodium ovale* et *Plasmodium vivax* (13). Les méthodes moléculaires dont la réaction en chaîne de polymérisation (PCR) constitue donc la méthode de choix pour l’identification des espèces plasmodiales dans notre étude. La

présente étude a pour objectif de déterminer l'épidémiologie moléculaire des espèces plasmodiales chez les femmes enceintes vues en consultations prénatales (CPN) dans le district de Nanoro, Burkina Faso.

## **I. Matériel et méthodes**

### **I.1. Type et période de l'étude**

Il s'agit d'une étude transversale utilisant des échantillons biologiques et des données collectées de décembre 2020 à mars 2021 chez des femmes enceintes vues en consultation prénatales.

### **I.2. Cadre et population d'étude**

L'étude s'est déroulée à la maternité de 4 centres de santé (centres médicaux de Nanoro, Soaw, Kindi et le centre de santé et de promotion sociale de Pella) du district sanitaire de Nanoro. La population d'étude était constituée par les femmes enceintes venant à la consultation prénatale et ayant donné leur consentement éclairé pour participer à l'étude.

### **I.3. Echantillonnage et taille d'échantillon**

Toutes les femmes enceintes fréquentant les formations sanitaires du district sanitaire de Nanoro pour leur première consultation prénatale ont été invitées à participer à la présente étude. Nous avons utilisé la formule de proportion de population unique avec une prévalence de paludisme estimée à 43 %, un niveau de confiance de 95 %, une marge d'erreur de 5 % et un taux de non-réponse de 10 %. Sur la base des éléments ci-dessus cités, la taille totale de l'échantillon était de 418.

### **I.4. Collecte des données**

Nous avons utilisé la base de données d'une étude antérieure qui a porté sur la caractérisation des femmes enceintes venant à la première consultation prénatale dans 4 centres de santé du district sanitaire de Nanoro. Des échantillons de sang sur papier filtre Whatmann 3MM ont été obtenus à partir d'échantillons de sang total collectés sur tube EDTA. Ces papiers filtres ont ensuite été séchés puis transférés au laboratoire central de l'Unité de Recherche Clinique de Nanoro pour stockage à -80°C avant leur envoi et analyse au laboratoire du National Centre of Tropical Medicine, Institute of Health Carlos III, Madrid (Espagne).

## **I.5. Analyse moléculaire des échantillons**

L'ADN parasite a été extrait des papiers filtres en utilisant la méthode Chelex-Saponine (14) et la caractérisation des espèces plasmodiales a été réalisée par la PCR nichée. Cette méthode comprenant deux séries d'application successives basée sur la caractérisation du gène de la petite sous-unité de l'ARN ribosomique nucléaire (ARNsr), un gène multicopie possédant à la fois des domaines caractéristiques de chacune des quatre espèces plasmodiales du paludisme. La première réaction comprend une amorce inverse universelle et deux amorces spécifiques pour le *Plasmodium* et les mammifères, respectivement. L'amorce spécifique aux mammifères a été incluse comme contrôle positif. La deuxième réaction PCR comprend une amorce directe spécifique de *Plasmodium* et des amorces inverses spécifiques de chacune des quatre espèces recherchées.

## **I.6. Analyses statistiques**

Toutes les données ont été recueillies et saisies sur le logiciel Excel avant d'être exportées vers le logiciel R v4.4 pour l'analyse statistique. Les statistiques descriptives ont été complétées en utilisant les proportions pour les variables catégorielles, tandis que l'écart-type a été utilisée pour les variables quantitatives. Le test chi-carré de Pearson a été utilisé pour comparer les proportions. Une valeur  $p$  inférieure à 5 % a été considérée comme statistiquement significative.

## **I.7. Considérations éthiques**

L'étude a été conduite dans le strict respect des règles éthiques. Ainsi, avant le début de l'étude, une approbation éthique a été obtenue auprès du comité d'éthique institutionnel de l'Institut de Recherche en Science de la Santé/Direction Régionale de l'Ouest (IRSS-DRO), Burkina Faso (N/REF. A15-2020 CEIRES). Un consentement libre volontaire et éclairé a été obtenu chez chaque participant pour sa participation à l'étude.

## **II. Résultats**

Au total, 418 femmes enceintes venant à la première CPN ont été enrôlés dans la présente étude. Parmi ces femmes, l'âge moyen était de 26 ans avec un écart-type de 6.6 ans. Plus du trois quarts des femmes avait un âge compris entre (18,34] et environ 10% avait un âge compris entre [16,18]. Concernant le niveau d'éducation, environ 70% des participantes à l'étude étaient non-scolarisées contre 9% ayant un

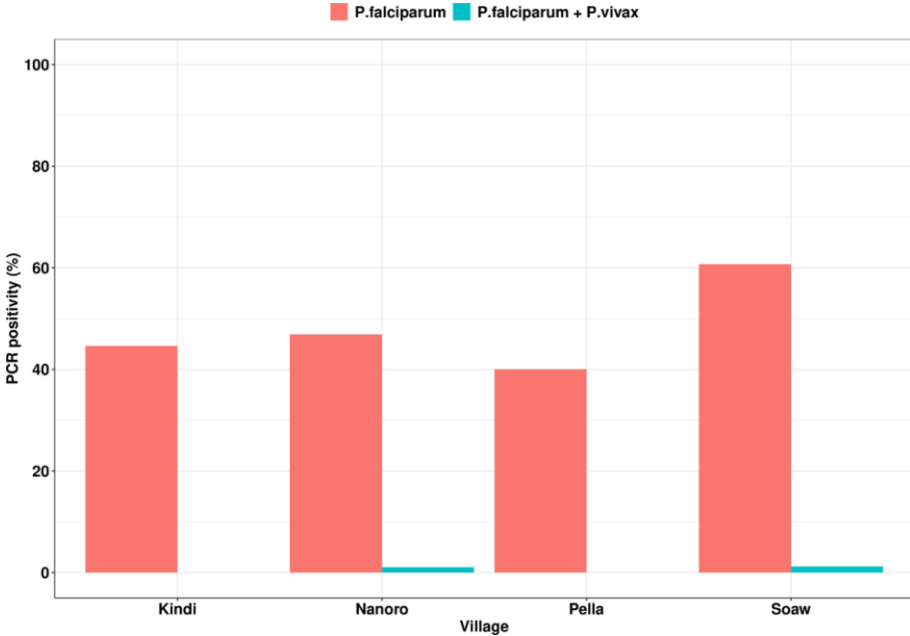
niveau primaire et 21% avec un niveau secondaire et universitaire. Sur le plan gestationnel, la très grande majorité des participantes était au deuxième trimestre de grossesse (80%) contre 14% au premier trimestre. Par rapport à la répartition géographique, 35,4% des participantes venaient de Kindi, 23% de Nanoro, 21,5% de Pella et 20,1% de Soaw (Tableau 1).

**Tableau I :** Caractéristiques sociodémographiques et obstétricales des femmes enceintes à l'enrôlement

<b>Variables</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
<b>Age maternel (ans)</b>		
[16,18]	44	10,5
(18,34]	316	75,6
(34,45]	58	13,9
<b>Niveau d'éducation</b>		
Non scolarisé	292	69,9
Primaire	38	9,1
Secondaire/Université	88	21,0
<b>Utilisation moustiquaire</b>		
Non	75	17,9
Oui	270	64,6
Absent	73	17,5
<b>Age gestationnel</b>		
Premier trimestre	58	13,9
Second trimestre	332	79,4
Troisième trimestre	28	6,7
<b>Gravidité</b>		
Primigravide	109	26,1
Secundigravide	56	13,4
Multigravide	253	60,5
<b>Village</b>		
Kindi	148	35,4
Nanoro	96	23,0
Pella	90	21,5
Soaw	84	20,1

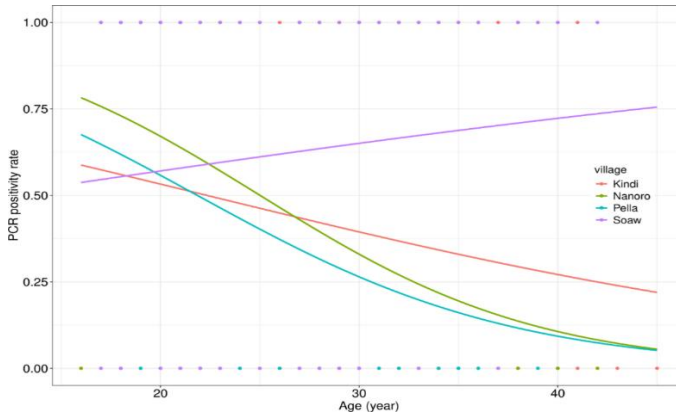
La prévalence de l'infection à *Plasmodium falciparum* était de 47,37% (198/418) dans la population d'étude. La plus grande prévalence a été obtenue à Soaw avec 60,71% et la plus faible à Pella avec 40%. Deux

(02) infections à *Plasmodium vivax* ont été identifiées en coïnfection avec *Plasmodium falciparum* donnant une prévalence de 0,48% (2/418). Les autres espèces telles que *Plasmodium ovale* et *Plasmodium malaria* n’ont pas été identifiées.



**Figure 1 :** Prévalence de l’infection palustre par village et selon l’espèce plasmodiale avec la PCR comme référence.

La figure 2 présente la fréquence de l’infection à *Plasmodium falciparum* en fonction de l’âge du patient et du site d’étude. Nous avons trouvé une différence significative pour la fréquence de cette infection à *Plasmodium falciparum* en fonction de l’âge ( $p \leq 0,05$ ) et du site d’étude ( $p \leq 0,05$ ) à l’exception du département de Soaw.



**Figure 2 :** Influence de l'âge des participants et du site d'étude sur l'infection parasitaire par PCR

### III. Discussion

Cette étude avait pour objectif d'étudier l'épidémiologie moléculaire des espèces plasmodiales chez les femmes enceintes vues en consultations prénatales dans le district sanitaire de Nanoro. Les résultats montrent une prévalence globale de *Plasmodium falciparum* de 47,37 % et de *Plasmodium vivax* de 0,48 %. Ces données soulignent une fois de plus que le paludisme reste un problème majeur de santé publique, avec les femmes enceintes identifiées comme l'un des groupes les plus vulnérables. *Plasmodium falciparum* est connu pour être l'espèce la plus dangereuse des 5 espèces plasmodiales, Cependant, il présente l'avantage d'être sensible à plusieurs classes d'antipaludiques (8). Dans notre étude, *P. falciparum* s'est confirmé comme l'espèce prédominante, surpassant largement les autres espèces, une observation corroborée par plusieurs études similaires menées dans la même zone géographique ou dans d'autres pays africains (15,16,17). Le diagnostic microscopique bien que largement utilisé, présente des limites importantes. Il dépend de la compétence des microscopistes, qui peuvent faire défaut en nombre ou en formation. De plus, des lacunes dans le contrôle de qualité et la difficulté d'identifier correctement des infections à faible parasitémie ou mixtes augmentent le risque d'erreurs (18). En effet, l'identification des espèces plasmodiales en se basant sur la microscopie pourrait conduire à des erreurs d'indentification car il est très difficile de différencier *Plasmodium ovale* de *plasmodium vivax* (19). Grâce à l'utilisation des méthodes moléculaires, plus sensibles et spécifiques, cette étude a permis de révéler la présence de *Plasmodium vivax* en coïnfection avec *Plasmodium falciparum*. Ce résultat contraste



avec certaines données précédentes de la littérature, qui rapportaient rarement ou pas du tout ce type de coinfections dans des zones similaires (20). Les érythrocytes du groupe sanguin Duffy négatif ne possèdent pas le récepteur membranaire nécessaire à l'infection par *Plasmodium vivax*. Selon les données épidémiologiques le *Plasmodium vivax*, ne pouvait infecter que les globules rouges jeunes possédant à leur surface la protéine Duffy. Les populations Duffy-négatives étaient naturellement protégées contre l'infection par *Plasmodium vivax*, et donc son absence en Afrique subsaharienne, où les populations sont exclusivement ou très majoritairement Duffy-négatives (21). Cette présence inhabituelle de *Plasmodium vivax* pourrait s'expliquer par les effets combinés du changement climatique, qui modifie la répartition géographique des vecteurs, et par l'insécurité, entraînant des migrations de populations ces dernières années. Ces déplacements favorisent l'introduction et la propagation d'espèces plasmodiales dans des zones où elles étaient auparavant absentes ou rares. En effet, *Plasmodium vivax* est endémique dans des pays comme le Soudan, la Somalie, l'Éthiopie, et Djibouti mais il a également été notifié dans des pays frontaliers comme la Côte d'Ivoire et le Mali renforçant l'hypothèse d'une expansion régionale (22,23). Cette présence en faible proportion revêt une importance sur le plan épidémiologique car la détection et la prise en charge des cas de paludisme à *Plasmodium vivax* seront différentes de celle à *Plasmodium falciparum*. Au Burkina Faso, il est recommandé l'utilisation de TDR-HRP2 ne permettant pas la détection de *Plasmodium vivax* (24). L'utilisation systématique des TDR-HRP2 en routine restreint la détection des infections causées par des espèces de *Plasmodium* autres que *Plasmodium falciparum*. Cette restriction diagnostique peut entraîner une sous-estimation de ces infections et, par conséquent, favoriser la poursuite de la chaîne de transmission. Il serait alors judicieux que, devant tout cas suspect de paludisme avec un résultat négatif obtenu à partir d'un TDR-HRP2, une confirmation soit réalisée à l'aide d'une méthode diagnostique alternative. Cette démarche permettrait non seulement de détecter les infections dues à des espèces de *Plasmodium* autres que *Plasmodium falciparum*, mais également d'identifier les cas d'infections à *Plasmodium falciparum* associées à des délétions du gène *hrp2*, responsables de faux négatifs avec ces tests. Aussi, les antipaludiques généralement recommandés dans le cas des infections à *falciparum* ne peuvent être utilisés dans les infections à *plasmodium vivax* (25). Il est donc impérieux de conduire régulièrement des études épidémiologiques pour la caractérisation des espèces et leur évolution en vue d'informer les programmes de lutte. La

fréquence à l'infection à *Plasmodium falciparum* diminuait avec l'âge dans notre étude. En effet cela pourrait s'expliquer par le fait que chez les plus jeunes (primipares), le niveau d'immunité contre les parasites séquestrés dans le placenta est plus faible que chez les plus âgées (multipares) (26,27). Les multipares acquièrent naturellement une résistance au *Plasmodium falciparum* au cours des grossesses successives entraînant l'acquisition d'anticorps contre les globules rouges parasités liés à la chondroïtine sulfate A du placenta (27). Une différence significative a été observée entre la fréquence de l'infection parasitaire et la zone d'étude, avec une forte prévalence de 60% d'infection parasitaire obtenue à Kindi. Bien que la plus faible prévalence fût 40% dans le village de Pella, ces différences de prévalence entre villages pourraient s'expliquer par la différence des conditions environnementales, influençant grandement la transmission du paludisme dans une région donnée (28). Contrairement à notre étude, d'autres recherches menées dans la même zone soudanienne, notamment celles de Gnémé et *al.*, ont rapporté une forte présence de *Plasmodium ovale* et *Plasmodium malariae*, particulièrement à la fin de la saison pluvieuse, en utilisant la microscopie (29). La différence avec notre étude pourrait s'expliquer d'une part, par l'utilisation de méthodes moléculaires dans notre étude plus sensible que la microscopie et d'autre part par le moment de notre étude, la saison sèche où la prolifération des moustiques est faible donc une faible transmission du paludisme.

## **Conclusion**

Une prédominance de *Plasmodium falciparum* a été démontrée dans la présente étude associée à la confirmation de l'existence de *Plasmodium vivax* au Burkina Faso en utilisant des méthodes moléculaires. La prévalence palustre très élevée dans notre étude rappelle la nécessité de mettre l'accent sur les actions de sensibilisation en faveur des mesures préventives. Nos résultats démontrent aussi l'importance de la surveillance épidémiologique des espèces plasmodiales à grande échelle dans le pays afin de pouvoir alerter et guider les politiques de santé.

## **Contributions des auteurs**

TMC et TH ont conceptualisé l'étude. TMC, TH, TO, KB et IH ont drafté l'étude. LP, SEGD et NWB ont participé au travail de terrain et à la collecte des données. DLFIM a effectué les analyses de laboratoire. KA a effectué l'analyse des données ; TMC, TH, DLFIM, BP et SR ont

interprété les données. TMC a préparé la première version du manuscrit, revue par TMC, TH, TO, KB, IH, DLFIM, BP, LP, SEGD et NWB. Tous les auteurs ont contribué à l'élaboration du manuscrit final et ont approuvé sa soumission. Tous les auteurs ont lu et approuvé la version publiée du manuscrit.

## **Déclaration de conflits d'intérêts**

Aucun

## **Remerciements**

Nous remercions toutes les femmes qui ont participé à cette étude. Nous tenons également à remercier l'ensemble du personnel médical, de laboratoire et administratif de Nanoro, Soaw, Pella et Kindi.

La présente étude a été soutenue financièrement par la Fondation Mérieux dans le cadre du programme de petites subventions et par le ministère luxembourgeois des Affaires étrangères et européennes (subvention "Microbiologie pour le développement").

## **Références bibliographiques**

1. World Health Organization. World Health Organization Malaria Fact Sheet N°94. World Health Organization: Geneva, Switzerland, 2014.
2. World Health Organization. World Malaria Report 2021. World Health Organization: Geneva, Switzerland, 2021.
3. Ciceron L, Jaureguiberry G, Gay F, Danis M. Development of a *Plasmodium* PCR for monitoring efficacy of antimalarial treatment. J Clin Microbiol. 1999;37(1):35–8.
4. World Health Organization. Malaria Policy Advisory Committee to the WHO: conclusions and recommendations of sixth biannual meeting. Malar J. 2015;14:107.
5. Roucher C, Rogier C, Sokhna C, Tall A, Trape JF. A 20-year longitudinal study of *Plasmodium ovale* and *Plasmodium malariae* prevalence and morbidity in a West African population. PLoS One. 2014;9(2):e87169.
6. Ministère de la santé. Programme National de Lutte contre le Paludisme. Plan stratégique de lutte contre le paludisme 2021-2025, Ouagadougou. 2021;

7. World Health Organization. Guidelines for the treatment of malaria, 3rd edn. World Health Organization: Geneva, Switzerland, 2015.
8. Rogerson SJ, Desai M, Mayor A, Sicuri E, Taylor SM, van Eijk AM. Burden, pathology, and costs of malaria in pregnancy: new developments for an old problem. Vol. 18, *The Lancet Infectious Diseases*. 2018.
9. World Health Organization. World Malaria Report 2024. World Health Organization: Geneva, Switzerland, 2024.
10. Stresman G, Whittaker C, Slater HC, Bousema T, Cook J. Quantifying *Plasmodium falciparum* infections clustering within households to inform household-based intervention strategies for malaria control programs: An observational study and meta-analysis from 41 malaria-endemic countries. *PLoS Med*. 2020 Oct;17(10):e1003370.
11. Caminade C, Kovats S, Rocklov J, Tompkins AM, Morse AP, Colón-González FJ, et al. Impact of climate change on global malaria distribution. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014 Mar;111(9):3286–91.
12. World Health Organization. Malaria Rapid Diagnosis: Making it Work. Meet Rep Reg Off West Pacific Geneva; World Health Organization: Geneva, Switzerland, 2003.
13. McKenzie FE, Sirichaisinthop J, Miller RS, Gasser RAJ, Wongsrichanalai C. Dependence of malaria detection and species diagnosis by microscopy on parasite density. *Am J Trop Med Hyg*. 2003 Oct;69(4):372–6.
14. Plowe CV, Cortese JF, Djimde A, Nwanyanwu OC, Watkins WM, Winstanley PA, et al. Mutations in *Plasmodium falciparum* dihydrofolate reductase and dihydropteroate synthase and epidemiologic patterns of pyrimethamine-sulfadoxine use and resistance. *J Infect Dis*. 1997;176(6):1590–6.
15. Tahita MC, Tinto H, Menten J, Ouedraogo J-BB, Guiguemde RT, van Geertruyden JP, et al. Clinical signs and symptoms cannot reliably predict *Plasmodium falciparum* malaria infection in pregnant women living in an area of high seasonal transmission. *Malar J*. 2013;12:464.

16. Lingani M, Zango SH, Valéa I, Sanou M, Ouoba S, Samadoulougou S, Robert A, Tinto H, Dramaix M, Donnen P. Prevalence and risk factors of malaria among first antenatal care attendees in rural Burkina Faso. *Trop Med Health*. 2022, 25;50(1):49.
17. Rouamba T, Samadoulougou S, Ouédraogo M, Hien H, Tinto H, Kirakoya-Samadoulougou F. Asymptomatic malaria and anaemia among pregnant women during high and low malaria transmission seasons in Burkina Faso: household-based cross-sectional surveys in Burkina Faso, 2013 and 2017. *Malar J*. 2021 May;20(1):211.
18. Berzosa P, de Lucio A, Romay-Barja M, Herrador Z, González V, García L, et al. Comparison of three diagnostic methods (microscopy, RDT, and PCR) for the detection of malaria parasites in representative samples from Equatorial Guinea. *Malar J*. 2018 Sep;17(1):333.
19. Doderer-Lang C, Atchade PS, Meckert L, Haar E, Perrotey S, Filisetti D, et al. The ears of the African elephant: unexpected high seroprevalence of *Plasmodium ovale* and *Plasmodium malariae* in healthy populations in Western Africa. *Malar J*. 2014 Jun;13:240.
20. Quaye IK, Aleksenko L, Oeuvray C, Yewhalaw D, Duah N, Gyan B, et al. The Pan African *Vivax* and *Ovale* Network (PAVON): Refocusing on *Plasmodium vivax*, *ovale* and asymptomatic malaria in sub-Saharan Africa. *Parasitol Int*. 2021 Oct;84:102415.
21. Bouyssou I, El Hoss S, Doderer-Lang C, Schoenhals M, Rasoloharimanana LT, Vigan-Womas I, et al. Unveiling *Plasmodium vivax* invasion pathways in Duffy-negative individuals. *Cell Host Microbe*. 2023 Dec;31(12):2080-2092.e5.
22. Tiono AB, Diarra A, Sanon S, Nébié I, Konaté AT, Pagnoni F, et al. Low specificity of a malaria rapid diagnostic test during an integrated community case management trial. *Infect Dis Ther*. 2013 Jun;2(1):27–36.
23. Deressa W, Ali A, Enqusellassie F. Self-treatment of malaria in rural communities, Butajira, southern Ethiopia. *Bull World Health Organ*. 2003;81(4):261–8.
24. Desai M, ter Kuile FO, Nosten F, McGready R, Asamoah K, Brabin B, et al. Epidemiology and burden of malaria in pregnancy. *Lancet Infect Dis*. 2007;7(2):93–104.

25. Fernández D, Segura C, Arboleda M, Garavito G, Blair S, Pabón A. In vitro susceptibility of *Plasmodium vivax* to antimalarials in Colombia. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014 Nov;58(11):6354–9.
26. Fried M, Duffy PE. Malaria during Pregnancy. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2017, 1;7(6):a025551.
27. McLean ARD, Ataide R, Simpson JA, Beeson JG, Fowkes FJI. Malaria and immunity during pregnancy and postpartum: a tale of two species. *Parasitology.* 2015 ;142(8):999–1015.
28. Kibret S, Glenn Wilson G, Ryder D, Tekie H, Petros B. Environmental and meteorological factors linked to malaria transmission around large dams at three ecological settings in Ethiopia. *Malar J.* 2019;18(1):54.
29. Gnémé A, Guelbéogo WM, Riehle MM, Tiono AB, Diarra A, Kabré GB, et al. *Plasmodium* species occurrence, temporal distribution and interaction in a child-aged population in rural Burkina Faso. *Malar J.* 2013;12:67.