



Survenue du paludisme pendant la grossesse et retard de croissance intra-utérin en Afrique

Manfred Mario Kokou Accrombessi

► To cite this version:

Manfred Mario Kokou Accrombessi. Survenue du paludisme pendant la grossesse et retard de croissance intra-utérin en Afrique. Médecine humaine et pathologie. Sorbonne Université, 2018. Français. NNT : 2018SORUS238 . tel-02476409

HAL Id: tel-02476409

<https://theses.hal.science/tel-02476409>

Submitted on 12 Feb 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THESE DE DOCTORAT DE SORBONNE UNIVERSITE

Spécialité **EPIDEMIOLOGIE**

Ecole doctorale Pierre Louis de santé publique

ED 393 Epidémiologie et Sciences de l'Information Biomédicale

Présentée par

M. Manfred Mario Kokou ACCROMBESSI

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR de SORBONNE UNIVERSITE

**SURVENUE DU PALUDISME PENDANT LA GROSSESSE ET RETARD DE
CROISSANCE INTRA-UTERIN EN AFRIQUE**

Soutenue le 27 Septembre 2018

Devant le jury composé de :

M. le Dr Michel Cot

Mme. le Dr Valérie Briand

Mme. le Dr Raquel Gonzalez

M. le Dr Renaud Becquet

Mme. le Dr Barbara Heude

Mme. le Dr Valériane Leroy

M. le Pr Fabrice Carrat

M. le Pr Achille Massougbdji

Directeur de thèse

Co-directeur de thèse

Rapporteur

Rapporteur

Examineur

Examineur

Examineur

Examineur

Thèse préparée dans le cadre du réseau doctoral en santé publique animé par
l'Ecole des Hautes Etudes en Santé Publique (EHESP)



Réseau doctoral
en santé publique



Je dédie ce travail

A Sènan,

Mahougnon et Mahounan

Pour la longue absence que je leur ai imposée

Pour le soutien indéfectible tout au long de cette Expérience

Remerciements

Aux mères et aux enfants de la Commune de Sô-Ava et d'Abomey-Calavi

Je remercie très chaleureusement le Dr Valérie Briand, la mère de ce travail. Je te remercie d'avoir cru en moi et de m'avoir soutenu tout au long de ces quatre années. Valérie, “*la petite tornade*” on t'a surnommé ainsi nous tes étudiants; sans vouloir te jeter des fleurs, tu as été une chef formidable autant pour l'encadrement scientifique que tu m'as offert que pour tes qualités humaines. Tu as toujours été disponible, tout en me laissant de l'autonomie dans les tâches que j'entreprenais. Je te remercie pour tes enseignements, tes conseils, ton investissement et surtout ta patience au cours de la dernière année de thèse. Trop de mots diluent la pensée dit-on, je terminerai donc en te disant tout simplement MERCI et que ce serait toujours un grand plaisir de t'accueillir dans le quartier latin de l'Afrique, le Bénin.

Je remercie le Dr Michel Cot qui m'a offert l'opportunité d'apprendre à ses côtés durant ces neuf dernières années. Depuis 2009, nos chemins se sont croisés au Bénin sur les projets MiPPAD et APEC et l'aventure continue avec le projet DeWorm3 en passant par les projets PlacMalVac et RECIPAL. Michel, tout au long de ces années passées à tes côtés, je n'ai constaté qu'un seul défaut en toi, celui d'être proche, disponible et à l'écoute des préoccupations de tes étudiants aussi bien sur le plan scientifique et professionnel que sur le plan personnel et social. Je donnerai toujours le meilleur de moi-même pour rester fidèle à toutes les valeurs scientifiques que tu m'as transmises.

Je remercie les membres du jury de m'avoir fait l'honneur de consacrer de leur temps à ce travail; les Professeurs Fabrice Carrat, Achille Massougbodji, les Docteurs Barbara Heude et Valériane Leroy en tant qu'examineurs et les Docteurs Raquel Gonzales et Renaud Becquet en tant que rapporteurs.

Je remercie particulièrement le Professeur Achille Massougbodji pour son soutien depuis mes années de médecine jusqu'à ce jour.

Je remercie le Dr Emmanuel Yovo sans lequel ce travail aurait été difficile. Cette thèse est aussi le fruit de tes efforts dans l'accomplissement de tes tâches dans le projet RECIPAL.

Je remercie chaleureusement le Dr Smaila Ouédraogo qui m'a épaulé et soutenu depuis neuf ans dans cette aventure pour la santé publique. Tu as été et tu resteras toujours un mentor pour moi.

Aux docteurs Carenne d'Almeida et Gino Agbota, je vous remercie pour cette complicité et pour m'avoir soutenu dans les périodes les plus difficiles de la thèse.

Je remercie toute l'équipe du projet RECIPAL et le personnel des centres de santé de Sô-Ava et d'Akassato pour le travail accompli. Un énorme coup de cœur au Dr Nadine Fievet, une Dame simplement trop adorable sur tous les plans mais surtout personnel.

Je remercie aussi particulièrement l'équipe du volet nutrition, Dr Yves Martin-Prével, Dr Agnès Gartner, Dr Nadia Fanou, et Diane Djossinou pour leurs implications respectives dans le volet nutrition du projet RECIPAL

Je remercie M. le Commandant, l'intendant Hansi Accrombessi. Je n'y serai pas arrivé sans ton appui. Avant d'être mon grand frère, tu as été avant tout un ami et confident. Je préfère m'en arrêter là, seul le Seigneur te témoignera ma bienveillance.

Aux doctorants de l'unité, Gino, Sem, Sissoko, Romain, Margaux, Claire, Magalie, Tatiana, Léonidas, Edwige, Cornélia, je vous souhaite du courage. A mes amis et anciens doctorants et post-doctorants de l'unité, Tania, Samad, Justin, Violeta, Ghislain, Rafiou, Komi, Ibrahim, Géraud, Charles, Julie, Blandine, Adjimon, Sédami, je vous remercie pour vos précieux conseils.

A toute l'équipe de l'UMR216–MERIT (Paris-Cotonou), du CERPAGE et de l'IRCB, je vous remercie du fond du cœur pour m'avoir accompagné dans toutes mes tâches. Je suis particulièrement reconnaissant au Dr Philippe Deloron et au Dr Jean-Philippe Chippaux pour leurs différents soutiens.

A M. Hountondji Eric, Mme Céline Robart, Alizée et Lucas, je vous dis merci pour votre accueil chaleureux lors de mes différents séjours en France dans le cadre de cette thèse.

J'ai une pensée particulière aux Docteurs Saadou Issifou, Yannelle Dossou et Euripide Avokpaho et à M. Parfait Houngbégnon. Merci pour vos précieux conseils et votre amitié.

Je remercie le réseau doctoral animé par l'Ecole des Hautes Etudes en Santé Publique pour m'avoir accordé mon financement de thèse et pour son soutien pour les différentes mobilités au sein de la France. Je remercie particulièrement Madame Karine Laboux, Emmanuelle Guevara et le Dr Judith Mueller pour leur disponibilité constante.

Je remercie également l'école doctorale Pierre et Louis de Santé Publique, l'ED 393 Epidémiologie et Sciences de l'Information Biomédicale pour sa formation tout au long de la thèse. Un sincère merci à Madame Lydie Martorana qui n'a jamais cessé de nous accorder son entière disponibilité.

Mes remerciements vont également à l'endroit du Dr Muriel Vray qui a accepté être ma tutrice durant mes années de thèse. Merci pour vos précieux conseils.

Mes remerciements vont aussi à l'endroit de la Fondation des Treilles pour le prix Jeune chercheur qu'elle m'a octroyé.

Résumé

Chaque année, plus de 32 millions de femmes enceintes sont exposées au paludisme en Afrique sub-Saharienne (ASS). Le paludisme pendant la grossesse constitue l'une des principales causes de morbidité et de mortalité maternelle et périnatale. Il est notamment associé à la survenue d'un retard de croissance intra-utérin (RCIU) qui est l'un des principaux déterminants de la mortalité néonatale et infantile en zone d'endémie palustre. En ASS, le traitement préventif intermittent contre le paludisme pendant la grossesse n'est recommandé qu'à partir du 2^{ème} trimestre de la grossesse en raison du potentiel effet tératogène de la sulfadoxine-pyriméthamine. Par ailleurs, ce n'est que vers 4-5 mois de grossesse, lors de leur première visite prénatale, que les femmes reçoivent une moustiquaire imprégnée d'insecticide. Par conséquent, les femmes sont insuffisamment voire non protégées contre le paludisme au cours du 1^{er} trimestre de la grossesse.

L'objectif principal de cette thèse était de décrire la prévalence des infections palustres au cours de la grossesse, notamment au 1^{er} trimestre, et d'en évaluer les effets sur la morbidité de l'enfant à la naissance et sur la santé maternelle, notamment l'anémie en fin de grossesse. Pour atteindre ces objectifs, nous avons mis en place une cohorte de 411 femmes enceintes suivies depuis la période pré-conceptionnelle jusqu'à l'accouchement dans le sud du Bénin et nous avons analysé les données issues de cette cohorte. L'infection palustre était dépistée mensuellement en utilisant la goutte épaisse et les femmes étaient immédiatement traitées.

Dans un premier temps, nous avons montré que les infections palustres étaient plus fréquentes au 1^{er} trimestre de la grossesse que pendant la période pré-conceptionnelle, avec un risque d'être infecté plus élevé chez les primigestes au 1^{er} trimestre. Les femmes infectées avant conception étaient trois fois plus à risque d'être infectées au 1^{er} trimestre de la grossesse.

Nous avons ensuite montré que la prévalence des infections palustres microscopiques au 1^{er} trimestre était importante (21,8%) et plus élevée qu'aux 2^{ème} et 3^{ème} trimestres de la grossesse

(17,7% et 14,6%). De façon globale, la proportion d'enfants nés avec un faible poids de naissance (FPN), nés prématurés ou présentant un petit poids pour l'âge gestationnel (PPAG), étaient respectivement de 9%, 8,9% et 20,4%. Plus de la moitié des femmes (58,1%) étaient anémiées en fin de grossesse. En utilisant une analyse en chemins, permettant de prendre en compte la chronologie des infections palustres au cours de la grossesse, nous avons montré un effet direct significatif des infections palustres au 1^{er} trimestre chez la femme sur le risque d'anémie en fin de grossesse. En revanche, aucune association directe n'a été mise en évidence entre la survenue d'une infection palustre au 1^{er} trimestre chez la mère et le FPN, le PPAG et la prématurité. Toutefois, les femmes infectées de façon répétée au cours de la grossesse, avec une première infection au 1^{er} trimestre, étaient significativement plus à risque de FPN.

Enfin, nous avons montré que les infections palustres au 1^{er} trimestre de la grossesse étaient fréquentes et qu'elles étaient délétères pour la mère et l'enfant. Ainsi, les stratégies de prévention contre le paludisme, en complément de ce qui est actuellement mis en œuvre, devraient débiter dès le début de la grossesse et s'appuyer sur une approche intégrée, combinant l'utilisation de médicaments efficaces et sûrs au 1^{er} trimestre de la grossesse, associée à des stratégies anti-vectorielles (moustiquaire imprégnée et pulvérisation intra-domiciliaire). L'administration d'un traitement préventif au début de la grossesse reste un challenge, d'abord parce que les femmes consultent tardivement pour leur première visite anténatale, et ensuite à cause de l'absence de médicaments sûrs pendant le 1^{er} trimestre. Par ailleurs, le rôle favorisant des infections dans la période pré-conceptionnelle pourrait être en faveur de l'utilisation d'un vaccin contre le paludisme placentaire administré aux femmes en âge de procréer afin de leur conférer une immunité protectrice dès le début de la grossesse.

Mots-clés: Paludisme, grossesse, 1^{er} trimestre, prévention, retard de croissance intra-utérin, cohorte pré-conceptionnelle, Afrique.

Title

Effect of the timing of malaria infection during pregnancy on fetal growth restriction in Africa

Abstract

Every year in sub-Saharan Africa (SSA), more than 32 million pregnant women are exposed to malaria. Malaria associated with pregnancy is one of main causes of maternal and perinatal morbidity and mortality. In particular, it is responsible for intrauterine growth restriction (IUGR), a major determinant of neonatal and infant mortality in malaria-endemic areas. In SSA, intermittent preventive treatment against malaria in pregnancy is usually provided from the 2nd trimester of pregnancy because of the potential teratogen effects of sulfadoxine-pyrimethamine. Furthermore, bed nets are also rarely provided to women before the 2nd trimester because they generally attend the maternity clinic for their first antenatal visit around 4-5 months of pregnancy. Therefore, pregnant women remain insufficiently or not protected during the 1st trimester of pregnancy, when malaria may be particularly deleterious for the mother and the foetus.

The main objective of this work was to describe the dynamics of microscopic malaria infections during pregnancy, especially those occurring in the 1st trimester, and to assess their effects on poor maternal and birth outcomes. For that purpose, we set up a cohort study of 411 pregnant women followed from the preconception period to delivery in Southern Benin. Microscopic malaria infections were detected monthly during pregnancy using thick blood smear and immediately treated.

First, we showed that microscopic malaria was more prevalent in early pregnancy than before conception, with a higher risk to be infected for primigravidae in the 1st trimester. Women already infected with malaria in preconception were three times more likely to be infected during the first trimester.

We also showed that the prevalence of microscopic malaria infection was high in the 1st trimester (21.8%) and then decreased in the 2nd and 3rd trimester of pregnancy (17.7% and 14.6%, respectively). Globally, the prevalence of low birthweight (LBW), preterm birth (PTB), and small-birthweight-for gestational age (SGA) was 8.9%, 20.4% and 9%, respectively. More than half of the women (58.1%) were anaemic at the end of pregnancy. We used path analysis models for assessing the direct effect of malaria infection in the 1st trimester on adverse pregnancy outcomes, taking into account the indirect effect mediated by malaria in the 2nd and 3rd trimesters. We showed a significant direct effect of malaria infection in the 1st trimester on the maternal anaemia at the end of pregnancy whereas no direct effect was found on PTB, SGA and LBW. However, women with repeated malarial infections starting in the 1st trimester had the highest risk to deliver LBW newborns.

In conclusion, microscopic malaria infections in the 1st trimester of pregnancy have deleterious effects on maternal and birth outcomes. Thereby, preventive strategies against malaria should clearly start from the 1st trimester of pregnancy. They should complement currently implemented measures by combining the administration of efficacious and safe drugs in the 1st trimester, associated to vector control interventions (bed nets, potentially associated with indoor residual spraying). Administration of preventive treatment in early pregnancy remains challenging, first because women attend late their first antenatal visit and secondly there is currently a lack of safe drugs during the 1st trimester. The possible continuum between malaria infections in the pre-conception period and in the beginning of pregnancy may argue in favour for the development of a vaccine against placental malaria which could elicit protective immunity prior to pregnancy to best protect women during early pregnancy.

Keywords: Malaria, pregnancy, 1sttrimester, prevention, intra-uterine growth restriction, preconceptional cohort, Africa.

Laboratoire d'accueil

MERIT UMR 216- Mère et enfant face aux infections tropicales

Institut de Recherche pour le Développement

Université Paris Descartes

Faculté de pharmacie-laboratoire de parasitologie

4, avenue de l'observatoire

75270 Paris cedex 6

Sommaire

I. INTRODUCTION	21
II. GENERALITES	24
2.1. Retard de croissance fœtale	25
2.1.1. Croissance pondérale normale du fœtus.....	25
2.1.2. Définition du retard de la croissance fœtale	25
2.1.2.1. <i>Retard de croissance intra-utérin</i>	<i>26</i>
2.1.2.2. <i>Hypotrophie ou petit poids pour l'âge gestationnel</i>	<i>27</i>
2.1.2.3. <i>Petit poids de naissance ou faible poids de naissance</i>	<i>30</i>
2.1.3. Causes et conséquences d'une croissance fœtale altérée	30
2.1.4. Facteurs de risque du retard de croissance intra-utérin en Afrique.....	31
2.1.4.1. <i>Problématique de l'article 1</i>	<i>31</i>
2.1.4.2. <i>Résumé des résultats de l'article 1</i>	<i>32</i>
2.1.4.3. <i>Article 1. Accrombessi et al. Paediatric and perinatal epidemiology.....</i>	<i>34</i>
2.2. Généralités sur le paludisme	51
2.2.1. Cycle du paludisme	51
2.2.2. Manifestation clinique et physiopathologie du paludisme	53
2.2.3. Zone d'endémie et transmission du paludisme	54
2.2.4. Outils diagnostiques	55
2.3. Paludisme associé à la grossesse ou paludisme gestationnel (PG)	57
2.3.1. Mortalité et morbidité associées à la grossesse dans les pays en développement..	57
2.3.2. Epidémiologie du paludisme gestationnel.....	59
2.3.2.1. <i>Zone de paludisme stable</i>	<i>59</i>
2.3.2.2. <i>Zone de paludisme instable</i>	<i>61</i>
2.3.3. Pathogénicité du paludisme gestationnel	63
2.3.4. Conséquences du paludisme gestationnel sur la croissance fœtale.....	65
2.3.5. Conséquences du paludisme gestationnel sur la durée de la grossesse et la viabilité du fœtus et du nouveau-né	65
2.3.6. Spécificités du paludisme au 1^{er} trimestre de grossesse	66
2.3.7. Stratégie de lutte contre le paludisme gestationnel en zone d'endémie stable	67
2.3.7.1. <i>Traitement adéquat des cas de paludisme.....</i>	<i>68</i>
2.3.7.2. <i>Moyens de prévention.....</i>	<i>68</i>
2.3.7.3. <i>Autres moyens de lutte.....</i>	<i>69</i>
III. PROBLEMATIQUE	71
3.1. Situation du problème.....	72
3.2. Objectifs de la thèse.....	73
IV. METHODOLOGIE	75

4.1. Généralités sur le Bénin	76
4.1.1. Indicateurs de santé au Bénin	76
4.1.2. Mesures de lutte contre le paludisme au Bénin	79
4.2. La cohorte RECIPAL	81
4.2.1. Contexte et mise en place de la cohorte	81
4.2.2. Zone d'étude	82
4.2.3. Design et population d'étude	83
4.2.4. Procédures de suivi et de collecte des données	89
4.2.4.1. <i>Phase pré-conceptionnelle</i>	89
4.2.4.2. <i>Phase gestationnelle</i>	90
4.2.4.3. <i>Composantes spécifiques de l'étude</i>	91
4.2.5. Techniques de laboratoire	94
4.2.5.1. <i>Diagnostic microscopique du paludisme</i>	94
4.2.5.2. <i>Dépistage de l'infection à VIH</i>	95
4.2.5.3. <i>Dépistage de l'hémoglobine</i>	95
4.2.5.4. <i>Dépistage de la schistosomiase urinaire</i>	96
4.2.5.5. <i>Dépistage de l'infection à chlamydia et à gonocoque</i>	96
4.2.6. Gestion des évènements morbides	96
4.2.7. Organisation du travail	98
4.2.7.1. <i>Phase pré-conceptionnelle</i>	98
4.2.7.2. <i>Phase gestationnelle</i>	100
4.2.8. Difficultés rencontrées pendant le suivi	101
4.2.9. Attrition de la cohorte	104
4.2.10. Gestion de données	106
4.2.11. Aspects éthiques	107
4.2.12. Mon implication sur le projet	107
4.2.13. Article 2 Accrombessi <i>et al.</i> , BMJ Open 2018	109
4.2.13.1. <i>Problématique de l'article 2</i>	109
4.2.13.2. <i>Résumé des résultats de l'article 2</i>	109
4.2.13.3. <i>Article 2: Accrombessi et al. –BMJ Open –2018.</i>	110
V. RESULTATS	111
5.1. Prévalence et facteurs de risque des infections palustres microscopiques au 1^{er} trimestre de la grossesse	112
5.1.1. Problématique de l'article 3	112
5.1.2. Résumé des résultats de l'article 3	113
5.1.3. Article 3. Accrombessi <i>et al.</i> , Journal of Infectious Disease 2018	115

5.2. Effets délétères des infections palustres microscopiques du 1^{er} trimestre de grossesse sur la santé de la mère et de l'enfant pendant la grossesse	116
5.2.1. Problématique de l'article 4	116
5.2.2. Résumé des résultats de l'article 4.....	117
5.2.3. Article 4. Accrombessi et al. Soumis dans <i>The Clinical Infectious Disease</i>	118
VI. DISCUSSION	146
6.1. Discussion proprement dite des principaux résultats	147
6.1.1. Prévalence et dynamique des infections palustres aux différents trimestres de la grossesse.....	147
6.1.2. Conséquences des infections palustres aux différents trimestres de la grossesse sur l'anémie maternelle et les issues défavorables de grossesse	150
6.1.3. Fréquence et déterminants des fausses couches spontanées	151
6.2. Forces de l'étude	152
6.3. Limites de l'étude.....	154
6.3.1. Limites spécifiques à l'étude	155
6.3.2. Limites non spécifiques à l'étude	156
6.3.2.1. <i>Estimation de l'âge gestationnel et du poids fœtal</i>	<i>157</i>
6.3.2.2. <i>Courbes de croissance fœtale utilisée</i>	<i>158</i>
6.4. Recommandations pour l'amélioration de la prévention du paludisme associé à la grossesse et du retard de croissance intra-utérin	159
VII. CONCLUSION ET PERSPECTIVES	165
VIII. REFERENCES	169
IX. ANNEXES	190

Liste des abréviations

AG: Age gestationnel

ASS: Afrique sub-Saharienne

CA: Circonférence abdominale

CHU-MEL: Centre hospitalo-universitaire de la mère et de l'enfant

CNHU-HKM: Centre national hospitalo-universitaire Hubert-Koutoukou-Manga

CPN: Consultation prénatale

CUGO: Clinique universitaire de gynéco-obstétrique

CTA: Combinaison thérapeutique à base d'artémisinine

DBP: Diamètre bipariétal

DDR: Date des dernières règles

DHA-PQ: Dihydroartémisinine-pipéraqune

EDS-IV: Quatrième enquête démographique de la santé du Bénin

FPN: Faible poids de naissance

Hb: Hémoglobine

IC: Intervalle de confiance

IRD: Institut de Recherche pour le Développement

LCC: Longueur crânio-caudale

LF: Longueur fémorale

MILD: Moustiquaire imprégnée d'insecticide à longue durée d'action

PG: Paludisme gestationnel ou paludisme associé à la grossesse

PC: Périmètre crânien

PID: Pulvérisation Intra Domiciliaire

PNLP: Programme National de Lutte contre le Paludisme

PPAG: Petit poids pour l'âge gestationnel

OMS: Organisation mondiale de la santé

OR: Odds ratio

ORa: Odds ratio ajusté

RCIU: Retard de croissance intra-utérin

RECIPAL: REtard de Croissance Intra-utérin et PALudisme

RR: Risque relatif

SA: Semaine d'aménorrhée

SP: Sulfadoxine-pyriméthamine

TDR: Test de diagnostic rapide

TPIg: Traitement préventif intermittent pendant la grossesse

VAD: Visite à domicile

VIH: Virus de l'immunodéficience humaine

Liste des tableaux

Tableau 1: Courbes de croissance établies en Afrique sub-Saharienne.

Tableau 2: Manifestations cliniques de l'accès palustre.

Tableau 3: Effets du paludisme gestationnel sur la morbidité et la mortalité maternelle et infantile, selon le niveau d'endémicité.

Tableau 4: Indicateurs de la santé maternelle et infantile, Enquête Démographique et de Santé, Bénin 2011-2012.

Tableau 5: Comparaison des caractéristiques des femmes en âge de procréer de la cohorte RECIPAL avec les données extraites de l'enquête démographique de la santé (EDS-IV 2011/2012).

Liste des figures

Figure 1: Cycle biologique du Plasmodium chez l'humain et le moustique

Figure 2: Répartition géographique du paludisme dans le monde en 2015

Figure 3: Rapport de mortalité maternelle (décès pour 100 000 naissances vivantes), 2015

Figure 4: Distribution de la mortalité infantile (décès pour 1 000 naissances vivantes), 2016

Figure 5: Physiopathologie du paludisme gestationnel au niveau du placenta

Figure 6: Conception de l'étude RECIPAL

Figure 7: Procédures de collecte de données de la cohorte RECIPAL

Figure 8: Suivi échographique (cohorte RECIPAL)

Figure 9: Procédures de collecte des données lors des visites à domicile avant grossesse (cohorte RECIPAL)

Figure 10: Diagramme de flux de la cohorte RECIPAL

Figure 11: Rythme de recrutement pendant la phase pré-conceptionnelle

Liste des articles publiés en relation avec la thèse

1. Accrombessi M, Zeitlin J, Massougbojji A, Cot M, Briand V. What Do We Know about Risk Factors for Fetal Growth Restriction in Africa at the Time of Sustainable Development Goals? A Scoping Review. *Paediatric and Perinatal Epidemiology*. 2018 Mar;32(2):184-196. doi: 10.1111/ppe.12433. Impact factor: 2.50
2. Accrombessi M, Yovo E, Cottrell G, Agbota G, Gartner A, Martin-Prevel Y, Fanou-Fogny N, Djossinou D, Zeitlin J, Tuikue-Ndam N, Bodeau-Livinec F, Houzé S, Jackson N, Ayemonna P, Massougbojji A, Cot M, Fievet N, Briand V. Cohort profile: effect of malaria in early pregnancy on fetal growth in Benin (RECIPAL preconceptional cohort). *BMJ open* 2018 Jan 8;8(1):e019014. doi: 10.1136/bmjopen-2017-019014. Impact factor: 2.41
3. Accrombessi M, Fievet N, Yovo E, Cottrell G, Agbota G, Massougbojji A, Cot M, Briand V. Prevalence and Associated Risk Factors of Malaria in the First Trimester of Pregnancy: A Preconceptional Cohort Study in Benin. *The Journal of Infectious Disease*. 2018 Mar 28;217(8):1309-1317. doi: 10.1093/infdis/jiy009. Impact factor: 5.34
4. Hounkonnou C, Djènantin A, Egbinola S, Houngbegnon P, Bouraima A, Soares C, Fievet N, Accrombessi M, Yovo E, Briand V, Cottrell G. Impact of the use and efficacy of long lasting insecticidal net on malaria infection during the first trimester of pregnancy - a preconceptional cohort study in southern Benin. *BMC Public Health*. 2018;18(1):683. doi:10.1186/s12889-018-5595-2. Impact factor: 3.04
5. Guy M, Accrombessi M, Fievet N, Yovo E, Massougbojji A, Le Bot B, Glorennec P, Bodeau-Livinec F, Briand V. Toxics (Pb, Cd) and Trace elements (Zn, Cu, Mn) during pregnancy: Burden and potential exposition sources in Southern Benin *Environmental Research Journal*. 2018;167:198-206. doi: 10.1016/j.envres.2018.06.054. Impact factor: 4.74

Liste des articles en cours de préparation en relation avec la thèse

1. Accrombessi M, Yovo E, Fievet N, Agbota G, Cottrell G, Massougbdji A, Cot M, Briand V. Effects of Malaria Infection during the First Trimester of Pregnancy on Poor Maternal and Birth outcomes in Benin (Submitted in *The Clinical Infectious Disease Journal*).
2. Yovo E, Accrombessi M, Massougbdji A, Cot M, Briand V. Time to pregnancy and associated factors: a longitudinal pre-conceptional cohort in Southern Benin. (in preparation).

Liste des communications orales et posters en relation avec la thèse

1. Accrombessi M, Yovo E, Cottrell G, Fievet N, Massougbdji A, Cot M, Briand V. Malaria in the first trimester of pregnancy : incidence and associated risk factors in Benin, sub-Saharan Africa. 65th Annual Meeting of American Society of Tropical Medicine and Hygiene (ASTMH). Atlanta (USA), 13-17 Novembre 2016 (Poster)
2. Accrombessi M, Yovo E, Cottrell G, Fievet N, Massougbdji A, Cot M, Briand V. Effects of malaria in the first trimester of pregnancy on the poor birth outcomes, a pre-conceptional study in Benin. “Malaria: From Innovation to Eradication” Keystone symposia, the Speke Resort & Conference Centre, Kampala, Uganda, 19-23 February 2017 (Poster)
4. Accrombessi M, Fievet N, Yovo E, Cottrell G, Agbota G, Massougbdji A, Cot M, Briand V. Prevalence and associated risk factors of malaria in the first trimester of pregnancy: a preconceptional cohort study in Benin. 7th Multilateral Initiative on malaria (MIM), Pan Africa Malaria Conference, Dakar, Senegal, 15-20 April 2018 (oral communication).
5. Accrombessi M, Yovo E, Fievet N, Cottrell G, Agbota G, Massougbdji A, Cot M, Briand V. Malaria in the first trimester, but not in the 2nd and 3rd trimester of pregnancy, is associated with maternal anaemia: a preconceptional cohort study in Benin. 67th Annual Meeting of

American Society of Tropical Medicine and Hygiene (ASTMH). New Orleans (USA), 28th
October – 1st Novembre 2018 (Poster)

Liste des autres communications et posters en relation avec la thèse

Voir annexe 1

Liste des autres articles publiés pendant la thèse

Voir annexe 2

I. INTRODUCTION

Malgré les progrès substantiels réalisés ces dernières années, le paludisme demeure la première endémie parasitaire en milieu tropical. L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a estimé à 216 millions le nombre de cas de paludisme dans le monde en 2016, soit 5 millions de cas de plus qu'en 2015.¹ Le paludisme a été responsable de plus de 450 000 décès en 2016. L'Afrique sub-Saharienne (ASS) continue de supporter une part importante de la morbidité palustre mondiale avec 90% des cas enregistrés et 91% des décès dus à cette maladie.¹

La maladie est due à un protozoaire, du genre *Plasmodium*, avec quatre principales espèces pathogènes pour l'homme dont la plus répandue et la plus virulente en zone tropicale et intertropicale est le *Plasmodium falciparum*.^{2,3} Plus récemment, une cinquième espèce, *Plasmodium knowlesi*, a été retrouvée chez l'homme.⁴ L'infestation chez l'homme se fait par la piqure d'un *Culicidae* femelle du genre *Anopheles*.

Au-delà de la morbi-mortalité attribuée au paludisme—sur laquelle nous reviendrons— cette pathologie a un impact non négligeable sur le développement socio-économique dans les zones endémiques. En 2016, les financements attribués à la prévention et au traitement du paludisme étaient estimés à 2,7 milliards de dollars (US \$) avec une contribution des gouvernements des pays d'endémie palustre atteignant 800 millions de dollars, soit 31% du financement total.¹ Par ailleurs, il est nécessaire de souligner les coûts indirects constitués par la perte de revenus, de productivité ou d'absentéisme associés à la maladie ou au décès prématuré.

Dans toutes les zones d'endémie, en plus des enfants de moins de 5 ans et des personnes immunodéprimées, les femmes enceintes constituent une population particulièrement à risque de paludisme. En effet, les femmes enceintes ont une susceptibilité au paludisme plus élevée que les femmes non enceintes ou les hommes adultes.⁵⁻⁷ Cette plus grande susceptibilité s'explique en partie par des phénomènes immunitaires, hormonaux ou par une susceptibilité

accrue aux piqûres de moustiques⁸⁻¹⁰ mais aussi par la particularité des parasites responsables de l'infection chez la femme enceinte.¹¹

Malgré les lourds investissements dans la prévention, le paludisme associé à la grossesse ou paludisme gestationnel (PG) demeure un problème majeur de santé publique dans les zones d'endémie, spécialement en ASS. Il est associé à un risque élevé de prématurité et de retard de croissance intra-utérin (RCIU).¹² Ces deux facteurs sont responsables de la survenue d'un faible poids de naissance (FPN) qui est l'un des déterminants majeurs de la mortalité néonatale et infantile dans les pays en développement.¹³ Plusieurs travaux ont suggéré que le risque d'infection palustre était maximum au cours du deuxième trimestre de la grossesse.¹⁴⁻¹⁶ Pourtant, de récentes études ont montré que le premier trimestre constituerait une période particulièrement à risque d'infection palustre avec des conséquences néfastes pour la santé de la mère et du fœtus.¹⁷⁻²³ Toutefois, la plupart de ces études n'avaient pas été initialement conçues pour évaluer l'effet des infections précoces de la grossesse et reposaient sur l'analyse de données collectées à l'occasion d'essais cliniques pour lesquels les femmes avaient été recrutées à l'hôpital.

Ce travail de thèse traite de la problématique de la survenue de l'infection palustre aux différents trimestres de la grossesse sur la santé de l'enfant, notamment sur sa croissance *in utero*. Elle vise à apporter davantage d'informations sur la prévalence des infections palustres aux différents trimestres de la grossesse, plus particulièrement celles survenant au premier trimestre car correspondant à la mise en place du placenta et de sa vascularisation. Elle évalue également de façon plus précise les conséquences des infections précoces sur la santé de la mère.

II. GENERALITES

2.1. Retard de croissance fœtale

2.1.1. Croissance pondérale normale du fœtus

La vitesse de la croissance fœtale est très variable tout au long de la grossesse. Le gain pondéral absolu est faible durant le 1^{er} trimestre de grossesse (environ 10g/semaine).^{24,25} A partir du milieu du 2^{ème} trimestre, la vitesse de la croissance fœtale et le gain pondéral augmentent progressivement. La majorité du gain pondéral survient pendant le 3^{ème} trimestre avec une légère régression du poids fœtal les deux dernières semaines de la grossesse.²⁶ Le gain pondéral moyen est d'environ 85g/semaine de la 16^{ème} à la 27^{ème} semaine d'aménorrhée (SA), puis la vitesse de croissance augmente pour atteindre son pic entre 28 et 38 SA avec un gain pondéral moyen de 200g/semaine. Elle décroît ensuite progressivement pour passer à environ 70g/semaine jusqu'à la fin de la grossesse.²⁴ Très peu d'études ont évalué la vitesse de croissance fœtale en ASS.²⁷⁻²⁹ Le poids de naissance a été pendant longtemps un outil couramment utilisé pour l'évaluation et la surveillance de la santé périnatale. Cependant, depuis l'apparition de l'échographie et du monitoring fœtal anténatal, le simple poids à la naissance commence à laisser place à l'évaluation de la croissance fœtale.

2.1.2. Définition du retard de la croissance fœtale

Le retard de la croissance fœtale est une pathologie fréquente aussi bien dans les pays à ressources limitées que les pays développés mais son diagnostic est difficile à établir. En effet, différencier un authentique retard pathologique de croissance fœtale d'une situation de petit poids constitutionnel représente le principal enjeu du diagnostic. Par ailleurs, dans les pays en développement, l'estimation précise de l'âge gestationnel (AG) et des courbes de référence rendent également difficile l'identification des enfants avec un retard de croissance.

2.1.2.1. Retard de croissance intra-utérin (RCIU)³⁰

Le RCIU équivaut, en anglais, au terme *intra-uterine growth restriction* (IUGR). Il s'agit d'une entité nosologique correspondant à une croissance fœtale insuffisante par rapport à une croissance normale génétiquement programmée.^{24,31} Ce terme est souvent utilisé de façon abusive en période anténatale, le caractère pathologique de la croissance fœtale ne pouvant être que rarement confirmé et le potentiel génétique de croissance du fœtus déterminé. Le diagnostic de RCIU ne peut être fait qu'en mettant en évidence une déviation significative (mais dont la définition est elle aussi sujette à discussion) de la vitesse de croissance observée par rapport à celle attendue. Pour cela, il est nécessaire de disposer d'au moins deux mesures échographiques.³² Le RCIU est également utilisé lorsqu'il existe un petit poids pour l'âge gestationnel pathologique, c'est-à-dire associé à un ralentissement de la vitesse de croissance. En pratique clinique, ce sont des fœtus pour lesquels il y a eu une souffrance chronique qui peut se manifester par des anomalies de la quantité du liquide amniotique ou de la vascularisation. Le RCIU peut survenir à n'importe quel trimestre de la grossesse avec un risque maximal au 3^{ème} trimestre lorsque la croissance pondérale est maximale.³³⁻³⁶ Différentes méthodes de diagnostic de RCIU ont été proposées, mais la méthode optimale reste à définir, surtout dans les pays d'ASS. Les mesures biométriques en série pourraient améliorer la prédiction du RCIU et sont recommandées pour évaluer la croissance fœtale dans les grossesses à haut risque.³⁷

Certains auteurs ont suggéré l'utilisation de la vitesse de croissance de la circonférence abdominale et du poids fœtal estimé *in-utero* pour prédire le RCIU.³⁸⁻⁴⁰ La croissance fœtale est également évaluée par le changement des z-scores du poids fœtal au cours de la grossesse.⁴¹ En supposant une croissance continue, sans tenir compte des habituelles variations de la vitesse de croissance autour de la moyenne,^{42,43} un fœtus devrait suivre la même trajectoire de croissance pendant la grossesse avec un z-score croissant (écart par rapport à la moyenne

calculé selon la formule suivante: (poids observé - poids moyen) / écart-type). Ainsi, un différentiel de z-score négatif indiquerait une croissance perturbée ou diminuée.⁴¹

2.1.2.2. Hypotrophie ou petit poids pour l'âge gestationnel (PPAG)

Elle est la conséquence du RCIU et il s'agit le plus souvent d'une croissance fœtale insuffisante. Le PPAG a une définition statistique et correspond à un poids ou une anthropométrie du nouveau-né inférieur(e) à une norme définie pour un âge gestationnel.³⁰ Le PPAG peut être la manifestation de deux situations: une situation pathologique qui correspond à un fœtus réellement hypotrophe avec un RCIU, ou une situation physiologique qui correspond à un fœtus constitutionnellement petit sans RCIU. L'hypotrophie équivaut en anglais au terme *small for gestational age* (SGA).

L'étude de la morbidité et de la mortalité périnatales associées au PPAG est, dans la littérature, le plus souvent réalisée en définissant un poids de naissance inférieur au 10^{ème} percentile pour l'âge gestationnel par rapport à une courbe de référence. Le 3^{ème}, 5^{ème} et 10^{ème} percentiles sont le plus souvent utilisés comme seuils.^{33,44-46} Le PPAG ou SGA est couramment utilisé comme un indicateur indirect de RCIU et les deux termes PPAG et RCIU sont souvent utilisés de façon interchangeable. Le tableau 1 présente l'ensemble des courbes de croissance établies en ASS pour définir le PPAG. La plupart de ces courbes développées sont souvent des courbes de poids à la naissance avec une estimation imprécise de l'AG et portant sur de petits effectifs. Nous avons discuté plus amplement de la fiabilité et des limites de ces courbes de croissance établies en ASS dans la section discussion de notre thèse (cf. page 158). En pratique en Afrique, les médecins utilisent peu les biométries fœtales pour évaluer la croissance *in utero*. Le diagnostic de RCIU est posé à la naissance pour des enfants pesant moins de 2500g et à plus de 37 SA.

Tableau 1: Courbes de croissance établies en Afrique Sub-saharienne (1)

Auteur (Référence)	Pays Année	Disponibilité courbes	Effectif	Stratification	Datation AG Couverture Courbe	Critères inclusion/exclusion
Alihonou E ⁴⁷	Bénin 1978-1983	Oui	4 502 nouveau-nés	Sexe	DDR 28-45 SA Courbe de poids de naissance	Exclusion: femmes non béninoises, mort-nés, grossesses multiples, cycles menstruels irréguliers
Olowe S ⁴⁸	Nigéria 1981	Oui	436 femmes	Aucune	DDR 25-42 SA Courbe de poids de naissance	Inclusion; "grossesse non compliquée"
Munjanja S ⁴⁹	Zimbabwe 1988	Non	190 femmes	Aucune	DDR 12-40 SA Courbe de poids de naissance	-
Osinusi K ⁵⁰	Nigéria 1989	Non	242 femmes	Aucune	Echo 16-40 SA Courbe de poids de naissance	-
Kalanda BF ⁵¹	Malawi 1993-1994	Non	4104 femmes 1334 nouveau-nés	Sexe	DDR 35-41 SA Courbe de poids de naissance	Inclusion: Toutes les femmes venant accoucher entre 35 et 41 SA.
Cisse R ⁵²	Burkina Faso 1996-1998	Oui	126 femmes 4 804 mesures	Aucune	Echo < 14 SA 15-40 SA Courbe de poids <i>in-utero</i>	Inclusion; AG>14 SA, grossesse simple, DDR certaine, "Grossesse non compliquée", accouchement à terme
Landis S ⁵³	RDC 2005-2006	Oui	144 femmes 755 mesures	Aucune	Echo 15-40 SA Courbe de poids <i>in-utero</i>	Exclusion: < 22 SA, grossesse gémellaire, hémoglobinopathies, HTA ou MFIU

Tableau 1: Courbes de croissance établies en Afrique sub-Saharienne (2)

Auteur	Pays Année	Disponibilité courbes	Effectif	Stratification	Datation AG Couverture Courbe	Critères inclusion/exclusion
Salpou D ⁵⁴	Cameroun 2008	Non	200 femmes	Aucune	DDR 12-22 SA Courbe de poids <i>in-utero</i>	Inclusion: DDR certaines, "grossesse non compliquée"
Schmiegelow C ⁵⁵	Tanzanie 2008-2010	Oui	583 fœtus 2193 mesures	Sexe	Echo 25-42 SA Courbe de poids <i>in-utero</i>	Exclusion: mort-nés, malformations sévères, infection VIH, grossesses multiples, accouchements prématurés, pathologies maternelles (HTA, malnutrition, diabète)
Ayangade S ⁵⁶	Nigéria	Oui	558 femmes 713 mesures	Aucune	DDR 14-40 SA Courbe DBP	Inclusion: grossesse simple, DDR certaine, "grossesse non compliquée"
Okupe R ⁵⁷	Nigéria	Oui	552 femmes 1104 mesures	Aucune	DDR 12-40 SA Courbe DBP	Inclusion: grossesse simple, "non compliquée", DDR certaine, travail spontané à terme.
Okonofua FE ⁵⁸	Nigéria	Non	219 femmes	Aucune	Echo 20-Terme Courbe DBP-DAT-CA	Inclusion: grossesse simple "non compliquée"

Abréviations: DDR: Date des dernières règles; SA: Semaines d'aménorrhée; RDC: République Démocratique du Congo; DBP: Diamètre bipariétal; DAT: Diamètre abdominal transverse; CA: Circonférence abdominale.

Source : Accrombessi M et Briand V, 2018

2.1.2.3. *Petit poids de naissance ou faible poids de naissance*

La définition du faible poids de naissance (FPN) est un poids à la naissance inférieur à 2500 g. Il correspond à 3 situations distinctes: (i) un enfant hypotrophe, conséquence d'un retard de croissance; (ii) un enfant eutrophe né prématuré; (iii) un enfant constitutionnellement petit.³⁰ Le terme anglais consacré pour désigner le FPN est *low birthweight*. Le FPN est souvent utilisé pour discriminer les nouveau-nés malades et sains, en particulier dans les pays d'ASS où l'estimation précise de l'AG n'est pas souvent possible.⁵⁹

2.1.3. Causes et conséquences d'une croissance fœtale altérée

Une croissance fœtale altérée peut être causée par une pathologie maternelle, placentaire ou fœtale.⁶⁰⁻⁶⁴ Les causes maternelles d'une croissance fœtale altérée sont essentiellement les troubles hypertensifs liés à la grossesse,^{61,64-66} la malnutrition,^{61,67} l'anémie,^{68,69} les maladies infectieuses telles que le paludisme⁷⁰⁻⁷² et l'infection à VIH.⁷³⁻⁷⁵ Les principales causes fœtales sont les grossesses multiples et les malformations congénitales.^{61,63} Les causes placentaires sont essentiellement des anomalies macroscopiques (insertion vélamenteuse, métrorragies répétées sur placenta prævia) et microscopiques (nécrose ischémique, hypotrophie placentaire à prédominance villositaire). Dans les pays en développement, notamment en ASS, les causes infectieuses telles que l'infection palustre et le VIH ainsi que les causes nutritionnelles sont prédominantes.⁷⁶

A court terme, les enfants présentant un RCIU ont une morbidité et une mortalité périnatales, néonatales et infantiles augmentées. Le FPN représente un déterminant majeur de la santé de l'enfant et est associé à une morbidité et mortalité infantiles augmentées.^{13,77-79} Le PPAG chez les nouveau-nés modérément prématurés ou nés à terme représente également un facteur de risque important de la mortalité néonatale.⁸⁰ Il a été récemment montré que ces nouveau-nés représentaient une grande proportion des décès néonataux en Afrique de l'Est.⁸¹ Par ailleurs, le

RCIU est également un facteur de risque d'accouchement prématuré et de souffrance fœtale aiguë.^{80,82,83}

Le RCIU a aussi des conséquences à long terme sur la santé de l'enfant au-delà des périodes néonatale et infantile. Le FPN et le RCIU sont associés à une morbidité élevée pendant l'enfance¹³ et à des maladies non transmissibles à l'âge adulte.^{84,85}

2.1.4. Facteurs de risque du retard de croissance intra-utérin en Afrique

Les facteurs de risque du RCIU sont complexes et multifactoriels. Nous avons effectué une revue de littérature pour évaluer les principaux déterminants du RCIU en Afrique. Cette revue a fait l'objet d'un article publié dans le Paediatric and Perinatal Epidemiology Journal.

2.1.4.1. Problématique de l'article 1

Le RCIU est un problème majeur de santé publique qui a touché cette dernière décennie des millions de nouveau-nés dans les pays à revenus faibles et intermédiaires, avec 20% de ces enfants naissant en ASS. La croissance fœtale est une des périodes les plus vulnérables du cycle de la vie humaine, le RCIU ayant de profondes conséquences sur la santé à moyen et long terme pendant l'enfance ainsi qu'à l'âge adulte. Les enfants ayant eu une restriction de la croissance *in-utero* ont un risque augmenté de morbidité et de mortalité pendant les périodes néonatale et post-natale telles qu'un retard du développement neuro-moteur et cognitif pendant l'enfance et des troubles cardio-métaboliques à l'âge adulte.

Malgré ce lourd fardeau que représente le RCIU, il existe très peu de données disponibles sur sa prévalence et les facteurs de risque qui lui sont associés en Afrique. Une limite majeure dans l'évaluation de cette affection est le manque de précision dans l'estimation de l'AG et l'absence de consensus quant à la définition du RCIU. Le FPN est donc communément utilisé comme proxy du RCIU. Cependant, l'utilisation de cet indicateur entraîne une surestimation de la

prévalence du RCIU et est source potentielle de biais dans l'estimation des facteurs de risque associés.

L'un des principaux objectifs de développement durable est de réduire le taux de mortalité des enfants de moins de 5 ans à moins de 25 pour 1000 naissances-vivantes d'ici 2030. Le RCIU étant l'un des principaux responsables de la morbidité et de la mortalité néonatale et infantile en Afrique, il est donc indispensable de faire une synthèse des données disponibles sur les déterminants du RCIU et leur contribution relative en Afrique. Dans un contexte où les ressources sont limitées, cela pourrait permettre de renforcer la mise en œuvre de mesures de prévention efficaces et de dépistage de RCIU auprès des femmes les plus à risque.

L'objectif de l'article ci-dessous était d'évaluer l'étendue de la littérature scientifique sur le RCIU en Afrique, les différentes méthodes utilisées pour définir ce retard et les principaux facteurs de risque associés, en utilisant la méthodologie des "scoping reviews",⁸⁶ et ce afin de faire des recommandations en termes de priorités de santé publique. Nous avons utilisé des indicateurs tels que le RCIU et le PPAG au lieu du FPN, en pondérant les différentes prévalences sur la taille d'échantillon de chaque étude et en utilisant un risque d'association agrégé. L'article a été publié dans le « *Paediatric and Perinatal Epidemiology Journal* ».

2.1.4.2. Résumé des résultats de l'article 1

La recherche bibliographique a permis d'identifier 671 articles potentiels, parmi lesquels 56 répondaient aux critères d'éligibilité et 45 ont été sélectionnés pour la scoping review.

Caractéristiques générales des études incluses dans la revue

Les principaux travaux portant sur le RCIU en Afrique ont été réalisés dans les pays de l'Afrique de l'Ouest, de l'Est et du Sud (31,1%, 26,7% et 26,7%, respectivement). Plus de la moitié des études (55,6%) était des études de cohorte et 35,6% était des enquêtes transversales. Dans la

majorité des études, le RCIU était défini par un PPAG (66,7%) ou par un FPN à terme (i.e. poids de naissance < 2500g et AG > 37 SA) dans 20% des cas. Seules deux études avaient utilisé comme indicateur le RCIU basé sur des mesures échographiques *in utero*. La date des dernières règles, les scores de Dubowitz et de Ballard étaient les principales méthodes utilisées pour évaluer l'AG (31,1%, 22,2% et 17,8%, respectivement). L'échographie n'avait été utilisée que dans 15,5% des cas. Concernant les courbes de référence, près de la moitié des études (46,9%) avait utilisé des courbes établies dans les pays développés. Seules 18,7% des courbes utilisées avaient été développées dans des populations africaines.

Prévalence du retard de croissance fœtale

La prévalence médiane du RCIU était de 15,8% (extrêmes: 2,6%–59,2%), la prévalence la plus élevée étant rapportée en Afrique de l'Est (15,8%). Dans les études utilisant des courbes de référence, la prévalence médiane du PPAG était respectivement de 9,8% vs. 15,8%, selon que la courbe de référence avait été établie en Afrique ou pas.

Facteurs de risque du retard de croissance intra-utérin

Les infections maternelles pendant la grossesse (31,2%), le statut nutritionnel maternel (17,2%), les facteurs obstétricaux (16,4%), les facteurs génétiques et constitutionnels (11,5%) étaient les principaux facteurs de risque rapportés comme étant associés au RCIU. Parmi les infections maternelles, l'infection palustre (50%) et l'infection à VIH (31,6%) étaient les principales pathologies rapportées avec des prévalences respectives variant entre 8,2-63,5% et 7,7-63% selon le pays et la zone d'étude. L'indice de masse corporelle et un faible gain pondéral gestationnel étaient les principaux déterminants maternels nutritionnels incriminés dans la survenue du RCIU.

Les risques relatifs agrégés associés au RCIU pour le statut nutritionnel maternel inadéquat, l'infection à VIH, le paludisme et l'hypertension gestationnelle étaient respectivement de 2,28

(IC 95% 1,59–3,25); 1,86 (IC 95% 1,38–2,50); 1,95 (IC 95% 1,04–3,66) et 2,61 (IC 95% 2,42–2,81).

Au vu des données disponibles, il est apparu que le statut nutritionnel maternel, l'infection à VIH et le paludisme étaient les facteurs qui contribuaient le plus à la survenue d'un RCIU en ASS. Les risques attribuables variaient, pour chacune de ces pathologies, entre 11–38%, 7–37% et 6–35%. Cette revue a également permis de mettre en évidence une forte hétérogénéité en terme de prévalence du RCIU et d'estimation des risques d'association, au sein même d'une région. Une définition consensuelle du retard de croissance en ASS s'avère nécessaire pour mieux mesurer le RCIU et proposer des recommandations de prévention adéquates.

2.1.4.3. Article 1. Accrombessi et al. Paediatric and perinatal epidemiology

What Do We Know about Risk Factors for Fetal Growth Restriction in Africa at the Time of Sustainable Development Goals?

A Scoping Review

Manfred Accrombessi,^{a,b}  Jennifer Zeitlin,^c Achille Massougbodji,^b Michel Cot,^a Valérie Briand^a

^aUMR216-MERIT, French National Research Institute for Sustainable Development (IRD), Université Paris Descartes, Paris, France

^bCentre d'Étude et de Recherche sur le Paludisme Associé à la Grossesse et à l'Enfance (CERPAGE), Cotonou, Benin

^cObstetrical, Perinatal, and Pediatric Epidemiology Research Team, Centre for Epidemiology and Biostatistics (U1153-EPOPé), National Institute for Health and Medical Research (INSERM), Université Paris Descartes, Paris, France

Abstract

Background: The reduction in the under-5 year mortality rate to at least as low as 25 per 1000 livebirths by 2030 has been implemented as one of the new Sustainable Development Goals. Fetal growth restriction (FGR) is one of the most important determinants of infant mortality in developing countries. In this review, we assess the extent of the literature and summarize its findings on the main preventable factors of FGR in Africa.

Methods: A scoping review was conducted using the Arksey and O'Malley framework. Five bibliographic databases and grey literature were used to identify studies assessing at least one risk factor for FGR. Aggregate risk estimates for the main factors associated with FGR were calculated.

Results: Forty-five of a total of 671 articles were selected for the review. The prevalence of FGR varied between 2.6 and 59.2% according to both the African region and the definition of FGR. The main preventable factors reported were a low maternal nutritional status (aggregate odds ratio [OR]: 2.28, 95% confidence interval [CI] 1.59, 3.25), HIV infection (aOR 1.86, 95% CI 1.38, 2.50), malaria (aOR 1.95, 95% CI 1.04, 3.66), and gestational hypertension (aOR 2.61, 95% CI 2.42, 2.82).

Conclusion: FGR is, to a large extent, preventable through existing efficacious interventions dedicated to malaria, HIV and nutrition. Further studies are still needed to assess the influence of risk factors most commonly documented in high-income countries. Improving research on FGR in Africa requires a consensual and standardized definition of FGR—for a higher comparability—between studies and settings.

Keywords: fetal growth restriction, pregnancy, birthweight, Africa, scoping review.

Introduction

Fetal growth restriction (FGR) refers to poor growth of a fetus in the mother's womb during pregnancy. It is a major public health problem that is estimated to have affected 32.4 million newborns in low and middle-income countries (LMIC) over the last decade, with sub-Saharan Africa (SSA) accounting for 20% of this total burden.^{1,2} The fetal period is one of the most vulnerable periods in the human life cycle, with intrauterine growth restriction having profound influences on subsequent health during childhood and

adulthood.³ Growth-restricted children have an increased risk of morbidity and mortality during the neonatal and post neonatal periods, growth and neurodevelopmental impairment during childhood, as well as an increased risk of cardio metabolic disorders during adulthood.⁴

Despite this high burden of FGR, only scattered data on the prevalence and risk factors associated with FGR are available for Africa. A major constraint for research is the lack of accurate estimation of gestational age for most pregnancies and of a standardized definition for FGR in LMIC. This has resulted in the use of low birthweight (LBW) as a proxy for FGR in many studies. But, using LBW can lead to the overestimation of FGR prevalence and possible bias when estimating the effect of its related risk factors.⁵

Correspondence:

Manfred Accrombessi, Faculté des Sciences Pharmaceutiques
Paris Descartes, MERIT-UMR216/IRD, Paris, France.
E-mail: accrombessimanfred@yahoo.fr

One of the Sustainable Development Goals is to reduce the under-5 year mortality rate to at least as low as 25 per 1000 livebirths by 2030.⁶ FGR is one of the most important factors predisposing to neonatal and infant death in Africa, therefore knowledge is needed about its prevalence and the contribution of risk factors to FGR in an African context, where identifying salient risk factors contributes to the definition of effective preventive measures against FGR. The aim of this study is to assess the extent of the scientific literature on FGR in Africa, its methods and the findings on principal risk factors, using a scoping review methodology of fetal growth indicators such as small-for-gestational age (SGA) and intrauterine growth restriction (IUGR) instead of LBW.

Methods

Study design

We chose to conduct a scoping review to address broad topics while including multiple study designs, based on the framework outlined by Arksey and O'Malley.⁷

Data sources and search strategy

The initial search was implemented on June 9, 2015, using five electronic databases: Medline/Pubmed, Sci-Verse Scopus, Science Direct, Embase, African Journal Online as described in the Table S1. Risk factors for FGR, and the related research terms, were selected according to the literature. Grey literature, which is produced on all levels of government, academics, business and industry in print and electronic formats, but which is not controlled by commercial publishers, was identified using the Health Interuniversity Library Paris Descartes University and Open Grey (System for Information on Grey Literature in Europe). Finally, the following websites were consulted manually: Cochrane Library (www.cochranelibrary.com), French PhD thesis database (www.these.fr) and Google Scholar (<https://scholar.google.com>). These databases were reviewed again on April 5, 2017 to identify additional articles.

Title and abstract screening

All query terms were searched in the title and abstract. Articles were eligible if they met the following criteria:

(i) study population including pregnant women; (ii) observational study design (case-control, transversal, cohort study); (iii) results presented for at least one FGR risk factor; and (iv) availability of either abstract or full-text. Articles published in languages other than English or French and those assessing an intervention (clinical trial) were excluded. The selection of studies was restricted to African countries.

The eligibility of the citation, based on the title and the abstract, was independently assessed by two authors (MA and VB). All discrepancies were reviewed by a third party (MC) and resolved through consensus.

Full-text articles screening

Full-text articles were procured for citations deemed to be relevant after title and abstract screening, including by contacting the source author or journal if not available. A form was developed by the authors to extract study characteristics such as publication year, study area and design, methods for fetal growth and gestational age assessment, statistical analysis methodology, and results, as well as strengths and weaknesses of the study.

Fetal growth restriction and exposure definitions

In our review, FGR is used as a generic term to refer to IUGR, SGA and other definitions of suboptimal fetal growth. IUGR is most commonly defined as a fetal growth rate that is inferior to the expected fetal growth for the corresponding gestational age.⁸ It reflects a pathological process affecting the growth potential of the fetus. Its diagnosis can only be made by demonstrating a significant deviation from the normal pattern of intrauterine growth based on ultrasound measurements.⁹ SGA is most commonly defined as a weight below either two standard deviations or the 10th percentile of a birthweight distribution for the corresponding gestational age according to a reference curve. It includes both constitutionally small and intrauterine growth-restricted newborns.²

Groups of factors associated with FGR were selected according to the literature.¹⁰ They were classified as follows:

- 1 Genetic and constitutional factors: infant sex, ethnic origin, maternal height, and sickle cell disease.
- 2 Socio-economic and demographic factors: maternal age, socio-economic status (education, occupation and/or income), and marital status.

- 3 Obstetric factors: gravidity, inter-pregnancy interval, previous history of fetal growth restriction or prematurity, and history of spontaneous abortion, stillbirth or neonatal death.
- 4 Maternal nutritional status: body mass index (BMI) during pregnancy, middle-upper-arm-circumference during pregnancy and gestational weight gain, caloric/protein intake status, micronutrients deficiencies and anaemia.
- 5 Maternal morbidity during pregnancy: *infectious morbidity* (malaria, HIV infection, urinary, and genital tract infections) and *non-infectious morbidity* (gestational hypertensive disorders such as pre-eclampsia and diabetes).
- 6 Behavioural determinants: cigarette smoking and alcohol consumption.
- 7 Antenatal care (ANC) follow-up: first ANC visit and number of ANC visits.

Citation management, data summary, and synthesis

Data abstracted from each study were exported into STATA version 13.1 (StataCorp, College Station, TX, USA) for analysis. Tables were constructed to summarize the data according to the African region and publication year. The number of times a specific factor/group of factors was significantly associated with FGR as a ratio of the total number of associations that were tested in the review was calculated. The overall—and according to region—prevalence of FGR was calculated by weighting on the study sample size. Then, the REVMAN software (Review manager 5.3; Cochrane Collaboration, London, UK) was used to provide aggregate risk estimates, and their 95% confidence intervals (CI), for the main preventable factors (malaria, HIV and maternal malnutrition). For that purpose, only studies with multivariate analysis were included. A heterogeneity statistical test was performed and a random effect model was used when the I^2 statistic for heterogeneity was higher than 50%. Finally, population attributable risk (PAR) was calculated according to the following formula¹¹: $PAR = (P(aRR-1))/(1 + P(aRR-1))$ where P is the prevalence of the factor in the given population and aRR is its related aggregate relative risk (or odds ratio when available only).

Results

The search yielded 671 potentially relevant citations of which 56 citations met the eligibility criteria and 45

were left for review^{1a-45a} (Table S2) after 11 citations which were excluded based on the full-texts (Figure 1).

The general characteristics of the studies included in this review are reported in Table 1. More details are given in Table S3. All studies were published between 1975 and 2016, with 73.3% (33/45) after 2000. Studies were mainly conducted in Western, Eastern, and Southern African countries (31.1, 26.7, and 26.7%, respectively); only one was conducted in Northern Africa.^{21a} More than half were cohort studies (55.6%) and 35.6% were cross-sectional surveys. In most studies (66.7%), SGA was used as a proxy for FGR. Among these, 18.7% (6/32) used a reference chart developed in Africa, 46.9% (15/32) used a reference chart from a developed country, and 34.4% (11/32) used international reference charts (Full details on the reference charts presented in the Table S4). In studies using reference charts, the median prevalence of SGA was 9.8% vs. 15.8% when an African vs. non-African reference chart was used, respectively.

Most of the remaining studies (20%) used term-LBW as an outcome (i.e. birthweight <2500 g and gestational age ≥ 37 weeks of gestation). Only two studies used IUGR based on *in utero* measurements as an outcome.^{14a,30a} Last menstrual period (LMP), Dubowitz and Ballard scores were the most frequent methods used to assess gestational age (31.1, 22.2, and 17.8%, respectively), while gestational age assessment using US was reported in only seven studies (15.5%).

The median prevalence of FGR was 15.8% ranging from 2.6 to 59.2%. The highest prevalence was reported in Eastern African countries. The findings of each study included in the review are presented in Table 2 according to region and publication year.

As shown in Figure 2, socio-economic and demographic factors, infections during pregnancy, maternal nutritional status, obstetrical and constitutional factors were the main risk factors investigated. Socio-economic and demographic factors, maternal infections and nutrition were increasingly studied over time. In contrast, non-infectious conditions during pregnancy (hypertensive disorders in particular), behavioural factors (cigarette smoking and alcohol consumption), and ANC follow-up were less studied. A list of the factors that were tested in each region is given in Table S5. Factors associated with FGR in developed countries, but not reported in studies included in this review, were: paternal height and weight, maternal psychological factors, maternal pre-pregnancy weight, caffeine and coffee consumption,

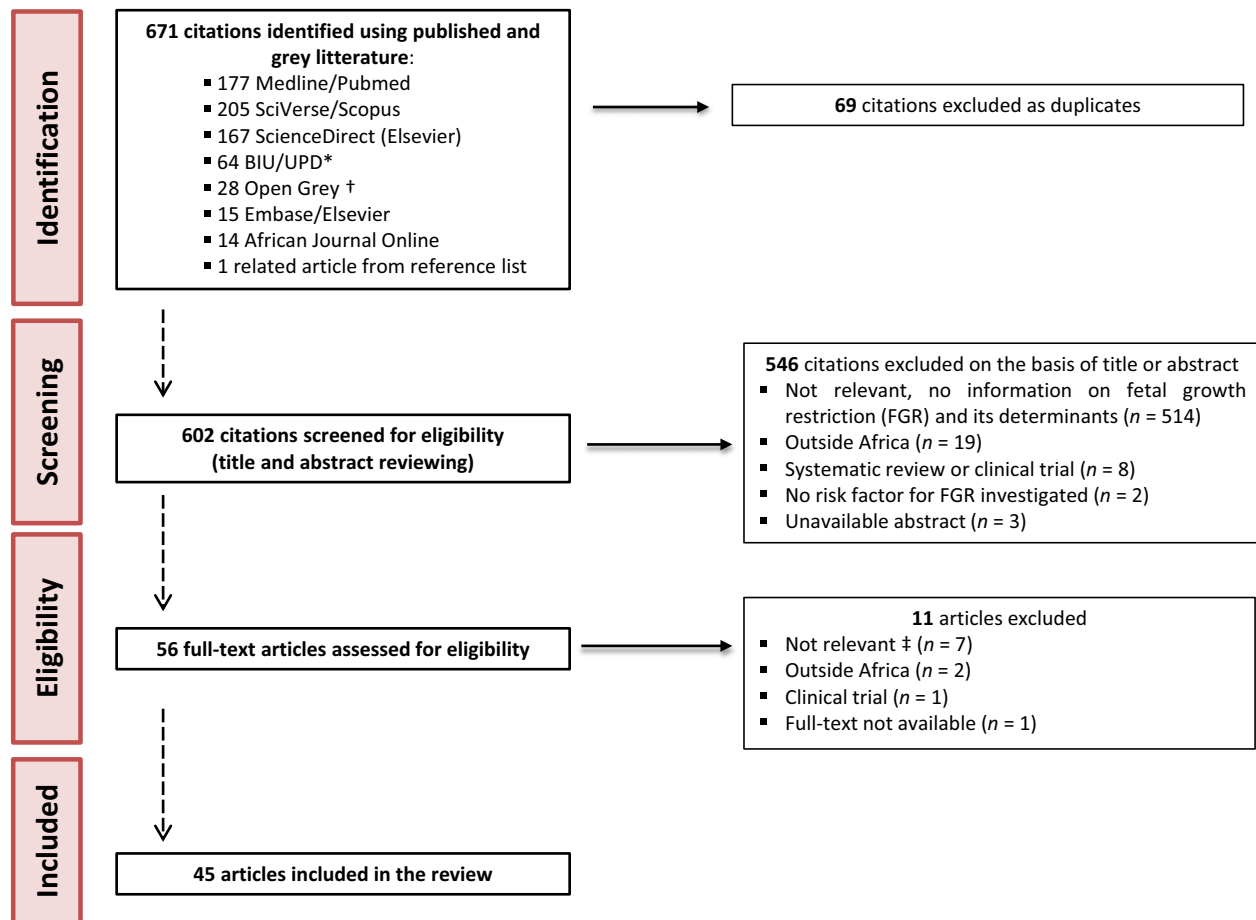


Figure 1. Flowchart of study selection process. *Health Interuniversity Library (BIU) of Paris Descartes University (UPD). †System for Information on Grey Literature in Europe. ‡Not relevant articles: FGR was not an outcome or no factor was tested for its association with FGR.

congenital malformation and genetic factors other than sickle cell trait.

In almost all studies (82.9%), these associations were assessed using a multivariable analysis, taking into account the possible effect of other related risk factors. Maternal infections during pregnancy (which represented 31.2% of the 122 factors significantly associated with FGR in this review), nutritional status (17.2%), obstetric factors (16.4%), genetic, and constitutional factors (11.5%) were the most reported factors among those significantly associated with FGR (Figure S1). Among infections, malaria (50%) and HIV (31.6%) were mainly reported as risk factors for FGR, with prevalence ranging from 8.2 to 63.5% and 7.7 to 63%, respectively, depending on the country and the study area. Regarding maternal nutritional status, a low BMI during pregnancy and a low gestational weight gain were the main indicators of poor

nutritional status associated with FGR. Only five studies reported a significant association between maternal anaemia and FGR.^{1a,14a,15a,38a,41a}

Table 3 presents the prevalence range of the main risk factors and the related reported risk estimates. The aggregate risk estimates for maternal nutritional status, HIV infection, malaria and gestational hypertension were 2.28 (95% CI 1.59, 3.25), 1.86 (95% CI 1.38, 2.50), 1.95 (95% CI 1.04, 3.66), and 2.61 (95% CI 2.42, 2.82), respectively. Maternal nutritional status, malaria, and HIV infection appear to contribute to FGR with a PAR ranging from 11 to 38%, 7 to 37%, and 6 to 35%, respectively (Table S5). PARs were highly variable because of a high heterogeneity in both FGR prevalence and risk estimates, even within a specific region. As shown in Table 2 and Table S6, populations and methods for assessing FGR were likely to differ between studies.

Table 1. General characteristics of the studies on fetal growth restriction included in the review ($n = 45$)

Characteristic		No	Percentage (%)
Publication year	<1990	2	4.4
	1990–1995	4	8.9
	1996–2000	6	13.3
	2001–2005	11	24.4
	2006–2010	7	15.6
	2011–2017	15	33.4
African region	Africa, Western	14	31.1
	Africa, Central	6	13.3
	Africa, Eastern	12	26.7
	Africa, Southern	12	26.7
	Africa, Northern	1	2.2
Study design	Cohort study	25	55.6
	Cross-sectional survey	16	35.6
	Case-control study	4	8.8
Method for gestational age assessment	LMP	14	31.1
	Dubowitz score	10	22.2
	Ballard score	8	17.8
	Ultrasound	7	15.5
	Not reported	5	11.1
	Finnström score	1	2.2
FGR definition	SGA	30	66.7
	Term-LBW	9	20.0
	IUGR	2	4.4
	Others ^a	4	8.9
Reference charts for FGR ($n = 32$)	Local	6	18.7
	International	11	34.4
	Established in a developed country	15	46.9
Prevalence of FGR, Median ^b	Africa, Western	13	10.9 (2.6, 32)
	Africa, Central	3	5.3 (4.3, 34)
	Africa, Eastern	10	15.8 (8, 23.5)
	Africa, Southern	10	10.7 (6.1, 59.2)
	Sub-Saharan Africa	36	15.8 (2.6, 59.2)

FGR, fetal growth restriction; LMP, last menstrual period; SGA, small for gestational age (Birthweight < 10th percentile for gestational age or <−2 SD according to a reference curve); IUGR: Definition based on *in utero* measurements; Term-LBW: Gestational age ≥ 37 weeks and birthweight < 2500 g.

^aTwo studies used a composite variable based on newborn's anthropometric measurements (birthweight, birth length, head circumference, ponderal index), and two studies did not report FGR definition.

^bMedian prevalence of FGR weighted by study size; range in brackets.

Comment

Main findings

This scoping review provides an overview of FGR in Africa based on both published and grey literature. We confirmed the independent influence of factors such as malaria, HIV infection, and maternal nutrition on FGR, which are modifiable factors for which efficacious interventions exist. In contrast, well-known risk factors for FGR in developed countries such as gestational hypertension, cigarette smoking, and socio-economic status were seldom evaluated, although several were associated with significantly increased risk of FGR.

Interpretation

Maternal infections during pregnancy

In this review, malaria and HIV infections were among the most reported factors significantly associated with FGR, representing more than 30% of all factors reported. Both conditions are highly prevalent in SSA,^{12,13} making particularly relevant the investigation of their impact on fetal growth.

The prevalence of microscopic malaria ranged from 8.2 to 63.5% with an aggregate risk estimate for FGR of 1.95, and associated PARs ranging from 7 to 38% depending on the study area. These estimates are concordant with those published in 2001.¹⁴ From a biological point of view, these results make sense because of well-documented mechanisms underlying the effect of malaria on fetal growth.^{15,18a,69}

Our results suggest that in high transmission areas a noticeable proportion of FGR may be prevented while controlling malaria during pregnancy.¹² WHO recommendations for the prevention of malaria in pregnancy include the use of insecticide-treated nets (ITNs) and intermittent preventive treatment in pregnancy (IPTp) with sulphadoxine-pyrimethamine (SP).¹⁶ These strategies have proven to be efficacious in preventing maternal anaemia and LBW,¹⁷ but need to be better implemented in most SSA countries.¹⁸

Comparable estimates have been reported for FGR due to HIV, with prevalences and PARs ranging from 7.7 to 63% and 6.2 to 35.1%, respectively. As for malaria, underlying biological mechanisms have been identified to explain the effect of HIV infection on fetal growth.^{22a} Only one study^{28a} evaluated the possible

Table 2. Features of the 45 studies on fetal growth restriction included in the review

First author (year), [ref] ^a country	FGR definition (prevalence)	Study design (sample size)	Significant factors associated to FGR	Comments
Africa, Western				
Alihonou E. (1987) [1a] Benin	SGA, Alihonou's charts (16.7%)	Cross-sectional study (754)	Gestational anaemia, primigravidity, history of abortion, short maternal height, education, low socio-economic status	Local reference charts used to define SGA Univariate analysis
Meda M. (1995) [2a] Burkina-Faso	Term-LBW (Prevalence not applicable ^b)	Case-control study (1159)	Malaria infection, primigravidity, inadequate ANC visits, maternal undernutrition, short maternal stature, female newborn	Term-LBW used as a proxy for IUGR
Fourn L. (1999) [3a] Benin	Term-LBW (10.9%)	Cohort study (4113)	Malaria infection, smoking during pregnancy, maternal undernutrition, previous IUGR, bleeding during pregnancy	Term-LBW used as a proxy for IUGR
Okoko B. (2002) [4a] Gambia	SGA, Battaglia's charts (7%)	Cross-sectional study (313)	Malaria infection	Reference charts established in a developed country Univariate analysis
Rayco-Solon P. (2005) [5a] Gambia	SGA, Williams' charts (25.1%)	Cohort study (1916)	Annual hungry season	International reference charts used to define SGA Univariate analysis
Nikiema L. (2005) [6a] Burkina-Faso	SGA, Alexander's charts (32%)	Cross-sectional study (463)	Inadequate ANC visits, maternal undernutrition, primigravidity	Reference charts established in a developed country
Djadou K. (2005) [7a] Togo	SGA, Usher's and McLean's charts (11.7%)	Cohort study (1006)	Young maternal age, maternal undernutrition	Reference charts established in a developed country Univariate analysis
Olusanya O. (2010) [8a] Nigeria	Term-LBW (4.3%)	Cross-sectional study (2619)	Young maternal age, inadequate ANC visits, female newborn	Term-LBW used as a proxy for IUGR
Yatich N. (2010) [9a] Ghana	SGA, Williams' charts (13.4%)	Cross-sectional study (746)	Malaria infection, helminth infection, malaria, and helminth co-infection, primigravidity, inadequate ANC visits	International reference charts used to define SGA
Olagbuji B. (2010) [10a] Nigeria	Definition not reported (3.4%)	Cross-sectional study (406)	HIV infection	Univariate analysis
Olusanya O. (2012) [11a] Nigeria	SGA, Olowe's charts (5.8%)	Cross-sectional study (3491)	Gestational hypertension	Local reference charts used to define SGA
Wilson N. (2012) [12a] Ghana	Definition not reported (2.6%)	Cohort study (960)	Sickle cell disease	International reference charts used to define SGA
Padonou G. (2014) [13a] Benin	SGA, William's charts (25.3%)	Cross-sectional study (526)	Low maternal nutritional status, primigravidity male newborn	
Briand V. (2016) [14a] Benin	IUGR, Schmiegelow's charts (18.5%)	Cohort study (1016)	Δ z-scores over time: Concomitant, recent and early malaria infection, gestational anaemia; BW z-scores: Primigravidity, low anthropometric status, length of gestation	Local charts based on <i>in utero</i> measurements

Table 2. *Continued*

First author (year), [ref] ^a country	FGR definition (prevalence)	Study design (sample size)	Significant factors associated to FGR	Comments
Africa, Central				
Meuris S. (1993) [15a] Democratic Republic of Congo	Composite Variable ^c (Prevalence not reported)	Cohort study (657)	Malaria infection, gestational anaemia	FGR definition based on weight, length, head circumference and ponderal index
Mafina-Mienandi M. (2002) [16a] Republic of Congo	SGA, Leroy's and Lefort's charts (Prevalence not applicable ^b)	Case-control study (1078)	Low gestational weight gain, low socio-economic status, low educational level	Reference charts established in a developed country
Landis S. (2009) [17a] Democratic Republic of Congo	SGA, Hadlock's charts (29%)	Cohort study (177)	Malaria during pregnancy, low gestational weight gain, maternal undernutrition	Reference charts established in a developed country
Griffin J. (2012) [18a] Democratic Republic of Congo	SGA, Johnsen's charts (34%)	Cohort study (182)	Malaria during pregnancy, primigravidity	Reference charts established in a developed country
Moyambe-Thaba J. (2013) [19a] Democratic Republic of Congo	SGA, Alexander's charts (Prevalence not applicable ^b)	Case-control study (420)	Malaria during pregnancy, gestational hypertension, short maternal stature, low socio-economic status	Reference charts established in a developed country
Sofeu C. (2014) [20a] Cameroon	SGA, AUDIPOG's charts (5.3%)	Cohort study (3737)	HIV-infection, infectious diseases during pregnancy, primigravidity	Reference charts established in a developed country
Africa, Northern				
Arafa M. (2007) [21a] Egypt	SGA, Egyptian local charts (9.8%)	Cross-sectional study (2419)	Professional status	Local reference charts used to define SGA
Africa, Eastern				
Temmerman M. (1990) [22a] Kenya	Term-LBW (Prevalence not applicable ^b)	Case-control study (1507)	HIV infection, gestational hypertension, primigravidity	Term-LBW used as a proxy for IUGR
Bulterys M. (1994) [23a] Rwanda	SGA, Battaglia's charts (23.3%)	Cohort study (627)	HIV infection	Reference charts established in a developed country
Walraven G. (1997) [24a] Tanzania	Term-LBW (23.5%)	Cross-sectional study (3162)	Primigravidae women, female newborn	Term-LBW used as proxy for IUGR
Leroy V. (1998) [25a] Rwanda	Term-LBW (9.9%)	Cohort study (765)	Genital ulceration, gestational anaemia	Term-LBW used as proxy for IUGR
Dreyfuss M. (2001) [26a] Tanzania	SGA, Brenner's charts (11.5%)	Cohort study (822)	Malaria infection, candidiasis infection, HIV infection, low gestational weight gain, vitamin E deficiency, male newborn	Reference charts established in a developed country
Watson-Jones D (2002) [27a] Tanzania	Term-LBW (8%)	Cohort study (380)	Syphilis infection	International reference charts used to define SGA
Ayisi J. (2003) [28a] Kenya	SGA, Williams' charts (9.8%)	Cohort study (2466)	Malaria infection, HIV infection, primigravidity	International reference charts used to define SGA
Habib N. (2008) [29a] Tanzania	SGA, Brenner's charts (18%)	Cross-sectional study (14 444)	HIV infection	Reference charts established in a developed country

Table 2. *Continued*

First author (year), [ref] ^a country	FGR definition (prevalence)	Study design (sample size)	Significant factors associated to FGR	Comments
Schmiegelow C. (2013) [30a] Tanzania	IUGR, Schmiegelow's charts (Prevalence not reported)	Cohort study (876)	Malaria infection	Local charts based on <i>in utero</i> measurements
Slyker J. (2014) [31a] Kenya	SGA, Mikolajczyk's charts (9%)	Cohort study (475)	Maternal bacterial vaginosis, Gestational weight gain	International reference charts used to define SGA
Isaksen A B. (2015) [32a] Tanzania	SGA, Intergrowth 21st charts (Prevalence not reported)	Cross-sectional study (34 090)	Alcohol consumption	International reference charts used to define SGA Self-report of alcohol consumption
Muhihi A (2016) [33a] Tanzania	SGA, Intergrowth 21st charts (15.8%)	Cohort study (19 269)	Young maternal age, inadequate ANC visits, short maternal stature, primiparity, male newborn	International reference charts used to define SGA
Africa, Southern				
Stein H. (1975) [34a] South Africa	SGA, Battaglia's & Lubchenco's charts (59.2%)	Cross-sectional study (103)	Maternal undernutrition	Reference charts established in a developed country Univariate analysis
Taha T. (1995) [35a] Malawi	Term-LBW (6.1%)	Cross-sectional study (1385)	HIV infection	Term-LBW used as a proxy for IUGR Univariate analysis
Steketee R. (1996) [36a] Malawi	Term-LBW (11.1%)	Cohort study (1766)	Malaria infection, primigravidity, maternal undernutrition, female newborn	Term-LBW used as a proxy for IUGR
Sullivan A. (1999) [37a] Malawi	SGA, Aberdeen's charts (10.1%)	Cohort study (178)	Malaria infection, low education level, inadequate ANC visits	Reference charts established in a developed country
Verhoeff F. (2001) [38a] Malawi	SGA, William's charts (20.3%)	Cohort study (1480)	Malaria infection, primigravidity, short maternal stature	International reference charts used to define SGA
Ticconi C. (2003) [39a] Zimbabwe	SGA, Alexander's charts (15.5%)	Cohort study (986)	Malaria infection, HIV infection	Reference charts established in a developed country
Kalanda B. (2005) [40a] Malawi	Composite Variable ^c (Prevalence not reported)	Cross-sectional study (1423)	Malaria infection, HIV infection, primigravidity	FGR definition based on weight, length and gestational age at birth
Kalanda B. (2006) [41a] Malawi	SGA, William's charts (20.3%)	Cohort study (1571)	Malaria infection, gestational anaemia, primigravidity, short maternal stature	International reference charts used to define SGA
Parekh N. (2011) [42a] Botswana	SGA, Botswana local charts (3.7%)	Cross-sectional study (16 219)	HIV infection, HAART initiation before conception, gestational hypertension, poor obstetrical history, low education level	Local reference charts used to define SGA

Table 2. Continued

First author (year), [ref] ^a country	FGR definition (prevalence)	Study design (sample size)	Significant factors associated to FGR	Comments
Ndirangu J (2012) [43a] South Africa	SGA, Alexander's charts (16.6%)	Cohort study (2368)	HIV infection, primigravidity, short maternal stature	Reference charts established in a developed country
Johnson K M (2016) [44a] Botswana	SGA, WHO charts (10.7%)	Cohort study (14 170)	Gestational hypertension	International reference charts used to define SGA
Sania A (2017) [45a] South Africa	SGA, Intergrowth 21st charts (12%)	Cohort study (571)	Alcohol consumption	International reference charts used to define SGA

FGR, fetal growth retardation; LBW, low birthweight; MUAC, mid-upper-arm-circumference; ANC, antenatal care; BMI, body mass index; HAART, highly active antiretroviral treatment; SGA, small-for-gestational age (<10th percentile of a birthweight distribution for the corresponding gestational age according to a reference chart); Term-LBW: Gestational age ≥ 37 week and birthweight <2500 g; IUGR, intrauterine growth restriction [change in fetal weight or birthweight z-scores over time ($\Delta < 0$)].

^aReference are in bracket (full details are presented in the Table S2).

^bSGA/IUGR prevalence not estimated because of case-control design; References are in brackets.

^cComposite variable based on newborn's anthropometric measurements (birthweight, birth length, head circumference, ponderal index).

synergism between malaria and HIV on FGR, with no evidence for such an interaction.¹⁹

WHO recommends that highly active antiretroviral treatment (HAART) should be initiated in all HIV-infected women at any CD4 count,²⁰ with clear benefits in terms of prevention of mother-to-child transmission of HIV and reduction in the consequences of HIV for the fetus.²¹ In these women, IPTp with SP is not recommended and a daily prophylaxis with cotrimoxazole (CTX) must be administered for the prevention of both opportunistic infections due to HIV and malaria. More efforts should be undertaken in order to better determine the efficacy of CTX to protect these highly vulnerable women against malaria.²²

Maternal nutritional status and anaemia

Nutritional factors (BMI and weight gain during pregnancy) and anaemia represented more than 17% of all factors significantly associated with FGR. Maternal undernutrition was an important risk factor for FGR with PARs ranging from 11 to 38%. No study reported on the association between FGR and maternal pre-pregnancy weight, which is suggested to be one of the most important maternal conditions influencing fetal growth.²³ While maternal anaemia—due to malnutrition or inflammation—was associated with FGR,²⁴ further studies to quantify this effect according to haemoglobin level are needed. Finally, we identified three studies suggesting an interaction between maternal undernutrition and malaria, with a higher risk of FGR due to malaria in undernourished women.^{14a,17a,30a} Their synergistic effect on fetal growth may be explained by shared physiological pathways.²⁵

In terms of prevention, supplementation with iron and folic acid during pregnancy has been recommended by WHO.²⁰ These supplementations have proven to be efficacious when started during the early weeks of pregnancy.²⁶ Since many women do not have contact with health services before the second or third trimester of pregnancy, this may argue in favour of implementing such interventions before conception in women of child-bearing age. The preconception period may also be a key period for other interventions intended to reduce risk factors for FGR such as malaria.²⁷

Obstetrical factors and antenatal care

Primigravidity and history of past adverse pregnancy outcomes as well as inadequate ANC follow-up were

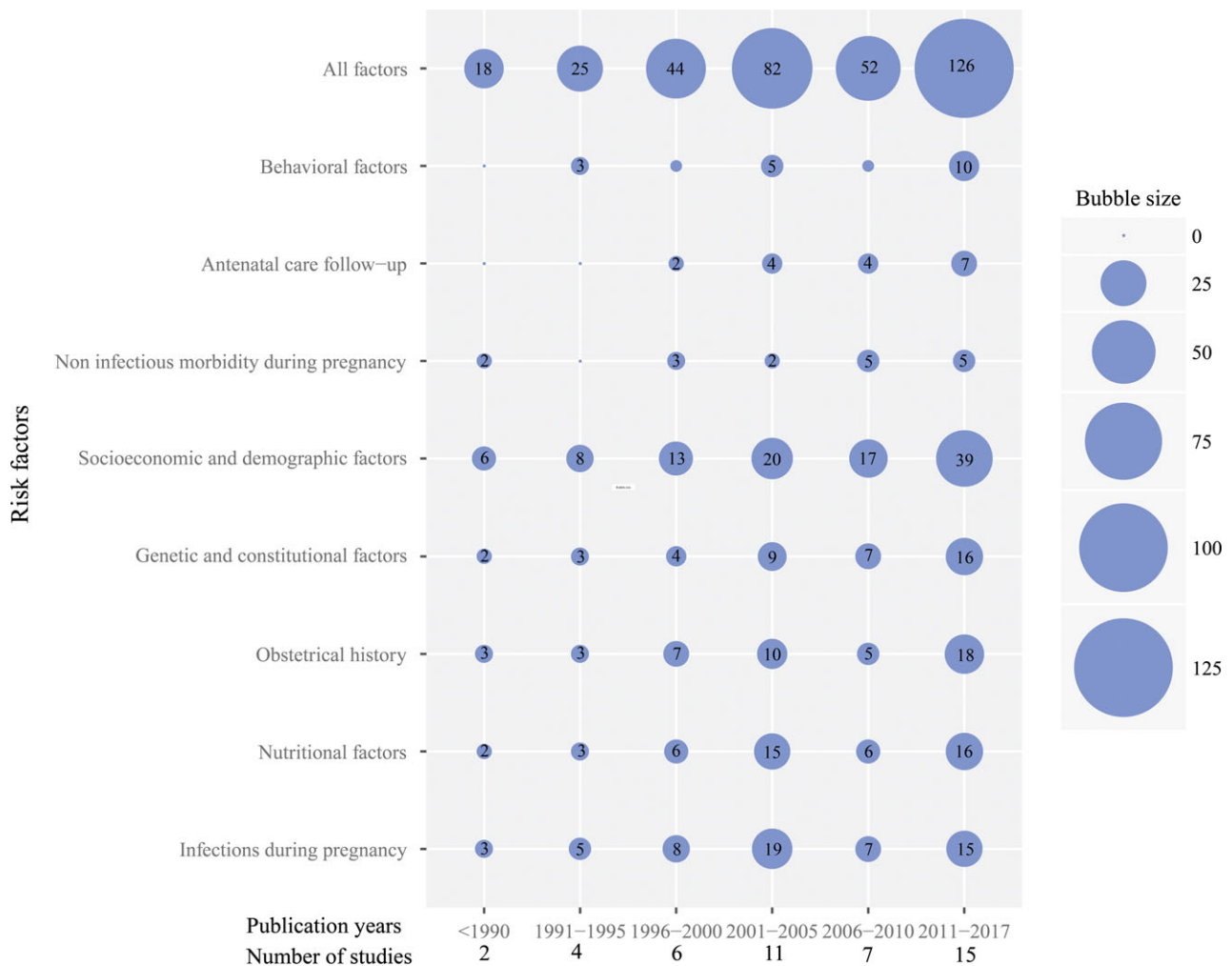


Figure 2. Factors assessed as potential risk factors for FGR, according to publication year. The bubble size is proportional to the number of times a specific group of factors was tested for its relation with FGR in the 45 included studies. For example, between 1996 and 2000, 13 socio-economic factors were tested in relation to FGR in six different studies.

also reported as risk factors for FGR. In this review, primigravidity was associated with FGR in many studies with adjusted risk estimates ranging from 1.2 to 4.9.^{2a,6a,9a,13a,14a,20a,22a,24a,36a,38a,40a,41a,43a} This effect may be due to the fact that primigravidae are more susceptible to gestational stimuli, but they also are more likely to suffer from malaria and obstetrical complications such as gestational hypertension.²⁸ In this way, the detection and the prevention of risk factors should be particularly strengthened in this population of women.

The contribution of ANC follow-up to FGR was poorly documented, despite clear recommendations from WHO for improving ANC in Africa.²⁰ The timing of the first visit (third trimester vs. second)^{9a} and the number of visits (less than three or no visit at all)

were associated with the risk of FGR (aOR: from 1.1 to 4.4).^{2a,6a,37a} Despite adjustment for some possible factors, inadequate ANC follow-up may concern at-risk women for FGR in terms of—and may have been confounded by—living environment and pathological conditions. However, ANC follow-up constitutes a real window of opportunity to improve fetal outcomes due to timely prevention, diagnosis, and treatment of pregnancy complications.^{2a,8a,20a,29} A free policy for the first ANC visit may improve ANC attendance and preventive strategies implementation.

Other determinants

Hypertensive disorders, cigarette smoking, and alcohol consumption during pregnancy as well as a low

Table 3. Prevalence of preventable factors and related aggregate risk estimates for fetal growth restriction in sub-Saharan African countries

Factors	Prevalence range	Adjusted risk estimates (range)	Aggregate ^a risk estimates (95% CI)	Studies contributing ^b	Heterogeneity test (I^2 , P value)
Malaria infection	8.2–63.5%	1.40–5.50	1.95 (1.04, 3.66)	2a, 9a, 19a, 26a, 30a, 39a, 40a, 41a,	$I^2 = 99\%$, $P < 0.001$
HIV infection	7.7–63%	1.28–4.50	1.86 (1.38, 2.50)	20a, 22a, 23a, 25a, 26a, 29a, 39a, 40a, 42a, 43a	$I^2 = 89\%$, $P < 0.001$
Low maternal nutritional status ^d	9.9–48%	1.60–7.57	2.28 (1.59, 3.25)	2a, 6a, 13a, 16a, 25a,	$I^2 = 81\%$, $P < 0.001$
Gestational hypertension	5.6–22.2%	1.80–4.60	2.61 (2.42, 2.82)	11a, 19a, 22a, 42a, 44a	$I^2 = 0\%$, $P = 0.45$
Inadequate ANC follow-up	15.2–58%	1.13–4.36	1.38 (1.20, 1.60)	2a, 6a, 8a, 9a, 33a	$I^2 = 71\%$, $P = 0.008$

^aAggregate adjusted risk estimates were weighted by study size. Only studies with multivariate analysis were included for aggregated risk estimation.

^bNumbers refer to references contributing to aggregate risk estimates.

^c I^2 represents the percentage of variation between the sample estimates that is due to heterogeneity rather than to sampling error. Significant heterogeneity is typically considered to be present if I^2 is 50% or more.

^dNutritional status (low body mass index during pregnancy, low gestational weight gain).

socio-economic status (SES) are important and well-documented risk factors for FGR in high-income countries. This review evidenced a very low number of studies on the effect of these factors in Africa. Indeed, only four assessed and demonstrated the effect of gestational hypertension on FGR^{11a,19a,22a,42a}. Hypertensive disorders during pregnancy are one of the most frequent medical conditions in pregnancy and a well-known contributor to maternal and perinatal mortality worldwide.^{30,31} There is clearly a need for more studies assessing the effect of hypertension on FGR and its potential interaction with malaria in Africa.³²

Only three studies reported a significant association between FGR and smoking or alcohol.^{3a,32a,45a} African women seldom use tobacco products and this is mainly reported in women living in urban areas. However, alcohol consumption during pregnancy is more frequent, although probably under-reported because of local culture and acceptance.³³ Because of well-documented deleterious consequences of smoking and alcohol on the fetus in high-income countries, further studies are required to assess the effect of both factors on fetal growth in Africa.

Finally, maternal SES (measured by criteria such as education, occupation, household characteristics or a combination of them) was also reported as a significant risk factor for FGR.^{1a,16a,19a,21a,37a,42a,43a} In all studies, confidence intervals were large and the association with FGR may have been partly confounded by factors such as poor maternal nutrition or

infections, which are more likely in women with a low SES. However, the independent effect of SES has clearly been documented in developed countries.³⁴

Strengths of the study

This study contributes new knowledge about FGR in Africa by compiling and synthesizing information on the results of the existing literature.¹⁴ In addition to identifying factors requiring further investigation in the African context, this review documented the methodological limitations of available studies and provides a base for improving research on FGR in Africa within a future research agenda. This review has also highlighted the lack of a validated and consensual definition for FGR in Africa, making comparisons between studies challenging. This calls for a better estimation of gestational age and the use of standardized reference charts.

Limitations of the data

This review documents the wide heterogeneity in methods used across studies. This constitutes a major challenge for researchers and public health professionals seeking to use research results to inform policy. We found that the prevalence of FGR was highly variable, ranging from 3 to 60% according to region. This variability is likely to be explained by differences in the definition of FGR, gestational age estimation

and references used for FGR, revealing the absence of consensus about an optimal approach for defining FGR in Africa.

While these differences contribute to the wide range in the FGR prevalence and likely impact on the magnitude of the effect sizes in risk factor analyses, the existence of significant associations with common risk factors were concordant across studies. We computed a PAR for common preventable factors despite these limitations in order to provide an estimated range for their effects. Nevertheless, the PAR should be interpreted in the light of these methodological limitations.

Conclusions

Despite the methodological issues related to FGR identification that were raised in this review, FGR was reaffirmed as a major public health problem in African countries. FGR is preventable through existing efficacious interventions for malaria, HIV, and maternal undernutrition, which should be implemented as early as possible during pregnancy. Further studies are needed to assess the influence of factors such as gestational hypertension, cigarette smoking, sickle cell disease, and socio-economic status, which have been poorly investigated so far. Finally, a consensual definition for FGR in Africa is warranted. A broader use of US, as recommended by WHO,²⁰ as well as of international standards for fetal growth and newborn size (INTERGROWTH-21st and WHO projects)^{35,36} may contribute to better assess FGR and facilitate international comparisons.

Acknowledgements

We thank Nick Awde for reading and editing the manuscript. MA was funded by the Réseau Doctoral de l'Ecole des Hautes Etudes en Santé Publique (EHESP) for PhD scholarship and received a prize from the Fondation des Treilles (<http://www.les-treilles.com/en/>).

References

All citations with superscript “a” refer to the 45 articles included in the review. They are listed in Table 2 and wholly informed in Table S2.

- 1 Lee ACC, Katz J, Blencowe H, Cousens S, Kozuki N, Vogel JP, *et al.* National and regional estimates of term and

- preterm babies born small for gestational age in 138 low-income and middle-income countries in 2010. *The Lancet Global Health* 2013; 1:e26–e36.
- 2 Katz J, Lee ACC, Kozuki N, Lawn JED, Cousens S, Blencowe H, *et al.* Mortality risk in preterm and small-for-gestational-age infants in low-income and middle-income countries: a pooled country analysis. *The Lancet* 2013; 382:417–425.
- 3 Gülmezoglu M, de Onis M, Villar J. Effectiveness of interventions to prevent or treat impaired fetal growth. *Obstetrical and Gynecological Survey* 1997; 52:139–149.
- 4 Longo S, Bollani L, Decembrino L, Di Comite A, Angelini M, Stronati M. Short-term and long-term sequelae in intrauterine growth retardation (IUGR). *The Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine* 2013; 26:222–225.
- 5 Maulik D. Fetal growth compromise: definitions, standards, and classification. *Clinical Obstetrics and Gynecology* 2006; 49:214–218.
- 6 World Health Organization. Sustainable Development Goal 3: Health Ensure healthy lives and promote wellbeing for all at all ages WHO; 2015 <http://www.who.int/topics/sustainable-development-goals/targets/en/> [last accessed November 2016].
- 7 Arksey H, O'Malley L. Scoping studies: towards a methodological framework. *International Journal of Social Research Methodology* 2005; 8:19–32.
- 8 Hay WW, Thureen PJ, Anderson MS. Intrauterine growth restriction. *NeoReviews* 2001; 2:e129–e138.
- 9 Chatelain P. Children born with intra-uterine growth retardation (IUGR) or small for gestational age (SGA): long term growth and metabolic consequences. *Endocrine Regulations* 2000; 34:33–36.
- 10 Kramer MS. Determinants of low birth weight: methodological assessment and meta-analysis. *Bulletin of the World Health Organization* 1987; 65:663–737.
- 11 Walter SD. Calculation of attributable risks from epidemiological data. *International Journal of Epidemiology* 1978; 7:175–182.
- 12 Dellicour S, Tatem AJ, Guerra CA, Snow RW, ter Kuile FO. Quantifying the number of pregnancies at risk of malaria in 2007: a demographic study. *PLoS Medicine* 2010; 7:e1000221.
- 13 Chin J. Current and future dimensions of the HIV/AIDS pandemic in women and children. *Lancet (London, England)* 1990; 336:221–224.
- 14 Steketee RW, Nahlen BL, Parise ME, Menendez C. The burden of malaria in pregnancy in malaria-endemic areas. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 2001; 64:28–35.
- 15 Rogerson SJ, Hviid L, Duffy PE, Leke RFG, Taylor DW. Malaria in pregnancy: pathogenesis and immunity. *The Lancet. Infectious Diseases* 2007; 7:105–117.
- 16 WHO Malaria Policy Advisory Committee and Secretariat. Malaria Policy Advisory Committee to the WHO: conclusions and recommendations of eighth biannual meeting (September 2015). *Malaria Journal* 2016; 15:117.
- 17 Kayentao K, Garner P, van Eijk AM, Naidoo I, Roper C, Mulokozi A, *et al.* Intermittent preventive therapy for malaria during pregnancy using 2 vs 3 or more doses of

- sulfadoxine-pyrimethamine and risk of low birth weight in Africa: systematic review and meta-analysis. *JAMA* 2013; 309:594–604.
- 18 van Eijk AM, Hill J, Larsen DA, Webster J, Steketee RW, Eisele TP, *et al.* Coverage of intermittent preventive treatment and insecticide-treated nets for the control of malaria during pregnancy in sub-Saharan Africa: a synthesis and meta-analysis of national survey data, 2009–11. *The Lancet. Infectious Diseases* 2013; 13:1029–1042.
 - 19 Whitworth J, Morgan D, Quigley M, Smith A, Mayanja B, Eotu H, *et al.* Effect of HIV-1 and increasing immunosuppression on malaria parasitaemia and clinical episodes in adults in rural Uganda: a cohort study. *Lancet (London, England)* 2000; 356:1051–1056.
 - 20 World Health Organization. WHO recommendations on antenatal care for a positive pregnancy experience. 2016.
 - 21 Cooper ER, Charurat M, Mofenson L, Hanson IC, Pitt J, Diaz C, *et al.* Combination antiretroviral strategies for the treatment of pregnant HIV-1-infected women and prevention of perinatal HIV-1 transmission. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes* 1999; 2002:484–494.
 - 22 González R, Sevene E, Jagoe G, Slutsker L, Menéndez C. A public health paradox: the women most vulnerable to malaria are the least protected. *PLoS Medicine* 2016; 13:e1002014.
 - 23 Ramakrishnan U, Grant F, Goldenberg T, Zongrone A, Martorell R. Effect of women's nutrition before and during early pregnancy on maternal and infant outcomes: a systematic review. *Paediatric and Perinatal Epidemiology* 2012; 26(Suppl 1):285–301.
 - 24 van den Broek N. Anaemia in pregnancy in developing countries. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology* 1998; 105:385–390.
 - 25 Dimasuay KG, Boeuf P, Powell TL, Jansson T. Placental responses to changes in the maternal environment determine fetal growth. *Frontiers in Physiology* 2016; 7:12.
 - 26 Persson LÅ, Arifeen S, Ekström E-C, Rasmussen KM, Frongillo EA, Yunus M, *et al.* Effects of prenatal micronutrient and early food supplementation on maternal hemoglobin, birth weight, and infant mortality among children in Bangladesh: the MINIM at randomized trial. *JAMA* 2012; 307:2050–2059.
 - 27 Bhutta ZA, Das JK, Rizvi A, Gaffey MF, Walker N, Horton S, *et al.* Evidence-based interventions for improvement of maternal and child nutrition: what can be done and at what cost? *The Lancet* 2013; 382:452–477.
 - 28 Brabin BJ. An analysis of malaria in pregnancy in Africa. *Bulletin of the World Health Organization* 1983; 61:1005–1016.
 - 29 Huynh B-T, Cottrell G, Cot M, Briand V. Burden of malaria in early pregnancy: a neglected problem? *Clinical Infectious Diseases* 2015; 60:598–604.
 - 30 Kassebaum NJ, Bertozzi-Villa A, Coggeshall MS, Shackelford KA, Steiner C, Heuton KR, *et al.* Global, regional, and national levels and causes of maternal mortality during 1990–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet (London, England)* 2014; 384:980–1004.
 - 31 Gruslin A, Lemyre B. Pre-eclampsia: fetal assessment and neonatal outcomes. *Best Practice and Research. Clinical Obstetrics and Gynaecology* 2011; 25:491–507.
 - 32 Ndao CT, Dumont A, Fievet N, Doucoure S, Gaye A, Lehesran JY. Placental malarial infection as a risk factor for hypertensive disorders during pregnancy in Africa: a case-control study in an urban area of Senegal, West Africa. *American Journal of Epidemiology* 2009; 170:847–853.
 - 33 Del Boca FK, Darkes J. The validity of self-reports of alcohol consumption: state of the science and challenges for research. *Addiction (Abingdon, England)* 2003; 98(Suppl 2):1–12.
 - 34 Kramer MS, Séguin L, Lydon J, Goulet L. Socio-economic disparities in pregnancy outcome: why do the poor fare so poorly? *Paediatric and Perinatal Epidemiology* 2000; 14:194–210.
 - 35 Papageorgiou AT, Ohuma EO, Altman DG, Todros T, Cheikh Ismail L, Lambert A, *et al.* International standards for fetal growth based on serial ultrasound measurements: the Fetal Growth Longitudinal Study of the INTERGROWTH-21st Project. *The Lancet* 2014; 384:869–879.
 - 36 Kiserud T, Piaggio G, Carroli G, Widmer M, Carvalho J, Neerup Jensen L, *et al.* The world health organization fetal growth charts: a multinational longitudinal study of ultrasound biometric measurements and estimated fetal weight. *PLoS Medicine* 2017; 14:e1002220.

Supporting Information

Additional Supporting Information may be found in the online version of this article at the publisher's web-site:

Figure S1. Groups of factors reported as significantly associated with FGR in the 45 included studies.

Table S1. Query term equations used for the identification of the articles in the scoping review.

Table S2. References of the articles included in the scoping review.

Table S3. Characteristics of the 45 studies included in the scoping review.

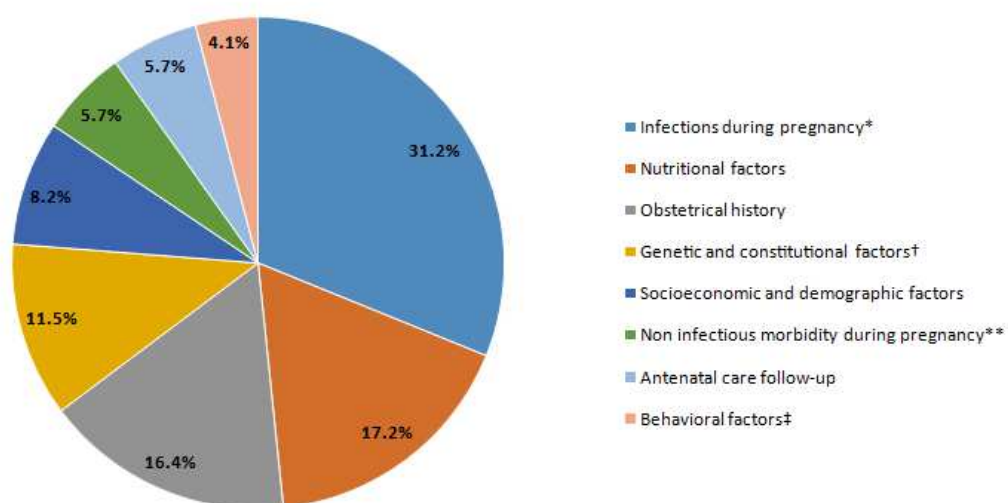
Table S4. Details of citations for reference charts used to define fetal growth restriction in the studies included in the scoping review.

Table S5. Main factors assessed as risk factors for fetal growth restriction, by African region.

Table S6 Major preventable factors and associated population attributable risk (PAR) estimates of fetal growth restriction, by African region.

Supplementary files

Figure S1 : Groups of factors reported as significantly associated with fetal growth restriction in the 45 included studies



Supplemental table S1. Query term equations used for the identification of the articles in the scoping review

Database Searching	Equations
Medline/Pubmed	((("Fetal growth restriction" [Mesh] OR "Infant, small for gestational age" [Mesh]) AND ("Risk factors" [Mesh] OR "Risk" [Mesh] OR "Pregnancy, High-Risk" [Mesh] OR "Malaria" [Mesh] OR "Parasitemia"[Mesh] OR "Anemia" [Mesh] OR "Alcohols" [Mesh] OR "Fetal Alcohol Spectrum Disorders" [Mesh] OR "Alcohol-Induced Disorders" [Mesh] OR "smoking"[Mesh] OR "Tobacco Smoke Pollution" [Mesh] OR "Tobacco Products" [Mesh] OR "Tobacco" [Mesh] OR "Pregnancy complications" [Mesh] OR "Hypertension" [Mesh] OR "Hypertension, Pregnancy-Induced" [Mesh] OR "Pre-eclampsia" [Mesh] OR "Reproductive Tract Infections" [Mesh] OR "Herpes Genitalis" [Mesh] OR "Rubella" [Mesh] OR "Toxoplasmosis" [Mesh] OR "Cytomegalovirus" [Mesh] OR "Syphilis" [Mesh] OR "Urinary Tract Infections" [Mesh] OR "HIV" [Mesh] OR "HIV infection" [Mesh] OR "Diabetes Mellitus" [Mesh] OR "Diabetes, Gestational" [Mesh] OR "Body Weight" [Mesh] OR "Nutrition Disorders" [Mesh] OR "Malnutrition" [Mesh] OR "Thinness" [Mesh] OR "Socioeconomic Factors" [Mesh] OR "Demography" [Mesh] OR "Population characteristics" [Mesh] OR "Epidemiologic study characteristics as topic" [Mesh] OR "Sociological factors" [Mesh] OR "Anthropometry" [Mesh] OR "Anemia, Sick cell" [Mesh] OR "Sickle Cell Trait" [Mesh] OR "Placenta Diseases" [Mesh]) AND ("Africa" [Mesh] OR "Africa South of the Sahara" [Mesh]))
Embase/Elsevier	'fetal growth restriction' OR 'infant, small for gestational age' AND ('risk factors' OR 'risk' OR 'pregnancy, high-risk' OR 'malaria' OR 'parasitemia' OR 'anemia' OR 'alcohols' OR 'fetal alcohol spectrum disorders' OR 'alcohol-induced disorders' OR 'smoking' OR 'tobacco smoke pollution' OR 'tobacco products' OR 'tobacco' OR 'pregnancy complications' OR 'hypertension' OR 'hypertension, pregnancy-induced' OR 'pre-eclampsia' OR 'sexually transmitted diseases' OR 'reproductive tract infections' OR 'herpes genitalis' OR 'rubella' OR 'toxoplasmosis' OR 'cytomegalovirus' OR 'syphilis' OR 'urinary tract infections' OR 'hiv' OR 'hiv infection' OR 'diabetes mellitus' OR 'diabetes, gestational' OR 'body weight' OR 'nutrition disorders' OR 'malnutrition' OR 'thinness' OR 'socioeconomic factors' OR 'demography' OR 'population characteristics' OR 'epidemiologic study characteristics as topic' OR 'sociological factors' OR 'anthropometry' OR 'anemia, sickle cell' OR 'sickle cell trait' OR 'placenta diseases') AND ('africa' OR 'africa south of the sahara')
SciVerseScopus	(TITLE-ABS-KEY ("Fetal growth restriction" OR "small for gestational age" OR "Fetal growth restriction" OR "intra uterine growth restriction") AND LIMIT-TO (Africa))
ScienceDirect (Elsevier)	("Fetal growth restriction") AND (Africa)AND LIMIT-TO (contenttype, "JL,BS", "Journal")
AfricanJournals Online (AJOL)	((Malaria OR Anemia OR "Risk factor" OR Hypertension OR "Reproductive tract infections" OR "Gestational diabetes" OR Malnutrition) AND Pregnancy AND Outcome)
Open Grey*	"Fetal growth restriction" OR "small for gestational age" OR "Fetal growth restriction" OR "intra uterine growth restriction") AND "Africa"
Interuniversity Library (BIU) of Paris Descartes university**	"Fetal growth restriction"

Supplemental table S2. References of the articles included in the scoping review.

Reference	Citation
1a	Alihonou E , Azandegbe N, Perrin R, Hekpazo A, Laleye H. [Epidemiologic approach to intrauterine growth retardation in the People's Republic of Benin]. <i>Revue Française De Gynécologie Et D'obstétrique</i> 1987;82:253–257
2a	Meda N , Soula G, Dabis F, Cousens S, Some A, Mertens T, et al. [Risk factors in prematurity and intrauterine growth retardation in Burkina Faso]. <i>Revue D'épidémiologie Et De Santé Publique</i> 1995;43:215–224
3a	Fourn L , Ducic S, Seguin L. Smoking and intrauterine growth retardation in Republic of Benin. <i>Journal of Epidemiology and Community Health</i> 1999;53:432–433
4a	Okoko BJ , Ota MO, Yamuah LK, Idiong D, Mkpnam SN, Avieka A, et al. Influence of placental malaria infection on foetal outcome in the Gambia: twenty years after Ian McGregor. <i>Journal of Health, Population, and Nutrition</i> 2002;20:4–11
5a	Rayco-Solon P , Fulford AJ, Prentice AM. Differential effects of seasonality on preterm birth and intrauterine growth restriction in rural Africans. <i>American Journal of Clinical Nutrition</i> 2005;81:134–139
6a	Nikiema L , Pilleron S, Martin-Prevel Y. Determinants of intra uterine growth retardation in rural Burkina Faso. 18th International Congress of Nutrition. Durban, South Africa. <i>Annals of Nutrition & Metabolism</i> 2005;49:368(Abst. 6.7.28)
7a	Djadou K , Sadzo-Hetsu K, Tatagan-Agbi K, Assimadi K, Sodzi K, Lapillonne A. [Anthropometric parameters, frequency and risk factors of intrauterine growth retardation in full-term infants in North Togo]. <i>Archives De Pédiatrie: Organe Officiel De La Société Française De Pédiatrie</i> 2005;12:1320–1326
8a	Olusanya BO . Intrauterine growth restriction in a low-income country: Risk factors, adverse perinatal outcomes and correlation with current WHO Multicenter Growth Reference. <i>Early Human Development</i> 2010;86:439–444
9a	Yatich NJ , Jolly PE, Funkhouser E, Agbenyega T, Rayner JC, Ehiri JE, et al. The Effect of Malaria and Intestinal Helminth Coinfection on Birth Outcomes in Kumasi, Ghana. <i>The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene</i> 2010;82:28–34
10a	Olagbuji BN , Ezeanochie MC, Ande AB, Oboro VO. Obstetric and perinatal outcome in HIV positive women receiving HAART in urban Nigeria. <i>Archives of Gynecology and Obstetrics</i> 2010;281:991–994
11a	Olusanya BO. , Solanke OA. Perinatal outcomes associated with maternal hypertensive disorders of pregnancy in a developing country. <i>Hypertension in Pregnancy</i> 2012;31:120–130
12a	Wilson NO , Ceesay FK, Hibbert JM, Driss A, Obed SA, Adjei AA, et al. Pregnancy outcomes among patients with sickle cell disease at Korle-Bu Teaching Hospital, Accra, Ghana: retrospective cohort study. <i>The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene</i> 2012;86:936–942
13a	Padonou G , Le Port A, Cottrell G, Guerra J, Choudat I, Rachas A, et al. Prematurity, intrauterine growth retardation and low birth weight: risk factors in a malaria-endemic area in southern Benin. <i>Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene</i> 2014;108:77–83

Supplemental table S2. References of the articles included in the scoping review (*continued*).

Reference	Citation
14a	Briand V , Saal J, Ghafari C, Huynh B-T, Fievet N, Schmiegelow C, et al. Fetal Growth Restriction Is Associated With Malaria in Pregnancy: A Prospective Longitudinal Study in Benin. <i>The Journal of Infectious Diseases</i> 2016;214:417–425
15a	Meuris S , Piko BB, Eerens P, Vanbellinchen AM, Dramaix M, Hennart P. Gestational malaria: assessment of its consequences on fetal growth. <i>The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene</i> 1993;48:603–609
16a	Mafina-Mienandi MC , Ganga-Zandzou PS, Makoumbou P, Malonga H, Ekoundzola JR, Mayanda HF. [Risk factors of intrauterine growth retardation in Congo]. <i>Journal De Gynécologie, Obstétrique Et Biologie De La Reproduction</i> 2002;31:500–505
17a	Landis SH , Lokomba V, Ananth CV, Atibu J, Ryder RW, Hartmann KE, et al. Impact of maternal malaria and under-nutrition on intrauterine growth restriction: a prospective ultrasound study in Democratic Republic of Congo. <i>Epidemiology and Infection</i> 2009;137:294–304
18a	Griffin JB , Lokomba V, Landis SH, Thorp JM, Herring AH, Tshefu AK, et al. Plasmodium falciparum parasitaemia in the first half of pregnancy, uterine and umbilical artery blood flow, and foetal growth: a longitudinal Doppler ultrasound study. <i>Malaria Journal</i> 2012;11:319
19a	Moyambe JNT , Bernard P, Khang'Mate F, Nkoy AMTA, Mukalenge FC, Makanda D, et al. [Risk factors for intra-uterine growth retardation in Lubumbashi]. <i>The Pan African Medical Journal</i> 2013;14:4
20a	Sofeu CL , Warszawski J, Ateba Ndongo F, Penda IC, Tetang Ndiang S, Guemkam G, et al. Low birth weight in perinatally HIV-exposed uninfected infants: observations in urban settings in Cameroon. <i>PloS One</i> 2014;9:e93554
21a	Arafa MA , Amine T, Abdel Fattah M. Association of maternal work with adverse perinatal outcome. <i>Canadian Journal of Public Health</i> 2007;98:217–221
22a	Temmerman M , Plummer FA, Mirza NB, Ndinya-Achola JO, Wamola IA, Nagelkerke N, et al. Infection with HIV as a risk factor for adverse obstetrical outcome. <i>AIDS (London, England)</i> 1990;4:1087–1093
23a	Bulterys M , Chao A, Munyemana S, Kurawige JB, Nawrocki P, Habimana P, et al. Maternal human immunodeficiency virus 1 infection and intrauterine growth: a prospective cohort study in Butare, Rwanda. <i>The Pediatric Infectious Disease Journal</i> 1994;13:94–100
24a	Walraven GE , Mkanje RJ, van Asten HA, van Roosmalen J, van Dongen PW, Dolmans WM. The aetiology of low birthweight in a rural area of Tanzania. <i>Tropical medicine & international health</i> 1997;2:558–567
25a	Leroy V , Ladner J, Nyiraziraje M, De Clercq A, Bazubagira A, Van de Perre P, et al. Effect of HIV-1 infection on pregnancy outcome in women in Kigali, Rwanda, 1992-1994. Pregnancy and HIV Study Group. <i>AIDS (London, England)</i> 1998;12:643–650
26a	Dreyfuss ML , Msamanga GI, Spiegelman D, Hunter DJ, Urassa EJ, Hertzmark E, et al. Determinants of low birth weight among HIV-infected pregnant women in Tanzania. <i>The American Journal of Clinical Nutrition</i> 2001;74:814–826

Supplemental table S2. References of the articles included in the scoping review (*continued*).

Reference	Citation
27a	Watson-Jones D , Chagalucha J, Gumodoka B, Weiss H, Rusizoka M, Ndeki L, et al. Syphilis in pregnancy in Tanzania. I. Impact of maternal syphilis on outcome of pregnancy. <i>The Journal of Infectious Diseases</i> 2002;186:940–947
28a	Ayisi JG , Van Eijk AM, Ter Kuile FO, Kolczak MS, Otieno JA, Misore AO, et al. The effect of dual infection with HIV and malaria on pregnancy outcome in western Kenya. <i>AIDS</i> 2003;17:585–594
29a	Habib N , Daltveit A, Bergsjø P, Shao J, Oneko O, Lie R. Maternal HIV status and pregnancy outcomes in northeastern Tanzania: a registry-based study. <i>BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology</i> 2008;115:616–624
30a	Schmiegelow C , Minja D, Oesterholt M, Pehrson C, Suhre HE, Boström S, et al. Malaria and fetal growth alterations in the 3(rd) trimester of pregnancy: a longitudinal ultrasound study. <i>PloS One</i> 2013;8:e53794
31a	Slyker JA. , Patterson J., Ambler G., Richardson BA. d, Maleche-Obimbo E., Bosire R., et al. Correlates and outcomes of preterm birth, low birth weight, and small for gestational age in HIV-exposed uninfected infants. <i>BMC Pregnancy and Childbirth</i> 2014;14
32a	Isaksen AB. , Østbye T., Mmbaga BT., Daltveit AK. Alcohol consumption among pregnant women in Northern Tanzania 2000-2010: A registry-based study. <i>BMC Pregnancy and Childbirth</i> 2015;15
33a	Muhihi A , Sudfeld CR, Smith ER, Noor RA, Mshamu S, Briegleb C, et al. Risk factors for small-for-gestational-age and preterm births among 19,269 Tanzanian newborns. <i>BMC pregnancy and childbirth</i> 2016;16:110
34a	Stein H. Maternal protein depletion and small for gestational age babies. <i>Archives of Disease in Childhood</i> 1975;50:146–148
35a	Taha TET , Dallabetta GA, Canner JK, Chipangwi JD, Liomba G, Hoover DR, et al. The Effect of Human Immunodeficiency Virus Infection on Birthweight, and Infant and Child Mortality in Urban Malawi. <i>International Journal of Epidemiology</i> 1995;24:1022–1029
36a	Steketee RW , Wirima JJ, Hightower AW, Slutsker L, Heymann DL, Breman JG. The effect of malaria and malaria prevention in pregnancy on offspring birthweight, prematurity, and intrauterine growth retardation in rural Malawi. <i>The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene</i> 1996;55:33–41
37a	Sullivan AD , Nyirenda T, Cullinan T, Taylor T, Harlow SD, James SA, et al. Malaria infection during pregnancy: intrauterine growth retardation and preterm delivery in Malawi. <i>The Journal of Infectious Diseases</i> 1999;179:1580–1583
38a	Verhoeff FH , Brabin BJ, van Buuren S, Chimsuku L, Kazembe P, Wit JM, et al. An analysis of intra-uterine growth retardation in rural Malawi. <i>European Journal of Clinical Nutrition</i> 2001;55:682–689
39a	Ticconi C , Mapfumo M, Dorrucci M, Naha N, Tarira E, Pietropolli A, et al. Effect of maternal HIV and malaria infection on pregnancy and perinatal outcome in Zimbabwe. <i>Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes (1999)</i> 2003;34:289–294

Supplemental table S2. References of the articles included in the scoping review (*continued*).

Reference	Citation
40a	Kalanda BF , van Buuren S, Verhoeff FH, Brabin BJ. Anthropometry of fetal growth in rural Malawi in relation to maternal malaria and HIV status. <i>Archives of Disease in Childhood. Fetal and Neonatal Edition</i> 2005;90:F161-165
41a	Kalanda BF , Verhoeff FH, Chimsuku L, Harper G, Brabin BJ. Adverse birth outcomes in a malarious area. <i>Epidemiology and Infection</i> 2006;134:659–666
42a	Parekh N , Ribaud H, Souda S, Chen J, Mmalane M, Powis K, et al. Risk factors for very preterm delivery and delivery of very-small-for-gestational-age infants among HIV-exposed and HIV-unexposed infants in Botswana. <i>International Journal of Gynaecology and Obstetrics</i> 2011;115:20–25
43a	Ndirangu J. , Newell M-L. b, Bland RM. c, Thorne C. Maternal HIV infection associated with small-for-gestational age infants but not preterm births: Evidence from rural South Africa. <i>Human Reproduction</i> 2012;27:1846–1856
44a	Johnson KM , Zash R, Haviland MJ, Hacker MR, Luckett R, Diseko M, et al. Hypertensive disease in pregnancy in Botswana: Prevalence and impact on perinatal outcomes. <i>Pregnancy Hypertension</i> 2016;6:418–422
45a	Sania A , Brittain K, Phillips TK, Zerbe A, Ronan A, Myer L, et al. Effect of alcohol consumption and psychosocial stressors on preterm and small-for-gestational-age births in HIV-infected women in South Africa: a cohort study. <i>BMJ open</i> 2017;7:e014293

Supplemental table S3. Characteristics of the 45 studies included in the scoping review.

First author (year), Country	Study year/period (Duration)	Gestational age (GA) assessment	Study population	Significant factors and associations
Africa, Western				
Alihonou E. (1987) [1a] Benin	1983 (3 mo)	LMP	Urban population	Gestational anaemia, primigravidae , history of abortion, short maternal height, low education, low socioeconomic status (OR and P-value not reported)
Meda M. (1995) [2a] Burkina-Faso	1991-1992 (12 mo)	Dubowitz score	Urban population	Peripheral malaria infection during pregnancy: aOR 2.4, 95% CI 1.5, 3.8 Primigravidae: aOR 3.3, 95% CI 2.0, 5.3 Inadequate ANC visits (number < 3): aOR 2.0, 95% CI 1.5, 2.8 Maternal undernutrition (MUAC < 24 cm): aOR 1.6, 95% CI 1.0, 2.7 Short maternal stature (height ≤ 155 cm): aOR 1.8, 95% CI 1.2, 2.8 Female newborn: aOR 1.8, 95% CI 1.4, 2.6
Fourn L. (1999) [3a] Benin	1991-1992 (12 mo)	LMP	Urban population	Peripheral malaria during pregnancy: aRR 1.1, 95% CI 1.0, 1.3 Smoking during pregnancy: aRR 1.8, 95% CI 1.0, 3.1 Maternal undernutrition (weight <50kgs): aRR 2.0, 95% CI 1.6, 2.5 Obstetrical factor (previous IUGR), aRR 1.7, 95% CI 1.2, 2.4 Bleeding during pregnancy, aRR 2.0, 95% CI 1.6-2.7
Okoko B. (2002) [4a] Gambia	1997 (5 mo)	Dubowitz score	Rural population Exclusion of pregnant women with hypertension	Placental malaria (OR not reported)
Rayco-Solon P. (2005) [5a] Gambia	1976-2003 (26 y)	Dubowitz score	Rural population	Annual hungry season (RR not reported)
Nikiema L. (2005) [6a] Burkina-Faso	2005 (2 mo)	LMP	Urban population Exclusion of women who delivered < 33 wk	Inadequate ANC visits (number < 3): aOR 1.5, 95% CI 1.2, 1.9 Maternal undernutrition (BMI< 18.5 kg/m ²): aOR 1.6, 95% CI 1.2-2.1 Primigravidae: aOR 1.6, 95% CI 1.2-2.1
Djadou K. (2005) [7a] Togo	1999-2000 (12 mo)	LMP	Rural population Exclusion of pregnant women with hypertension	Young maternal age (< 18 years): RR 2.7, 95% CI 1.2, 5.9 Maternal undernutrition (BMI< 20 kg/m ²): RR 1.8, 95% CI 1.1, 2.9 Maternal undernutrition (weight <50 kgs): RR 2.6, 05% CI 1.6, 4.2
Olusanya O. (2010) [8a] Nigeria	2005-2007 (2 y)	LMP	Urban population	Young maternal age (< 20 years): aOR 2.9, 95% CI 1.2, 6.9 Inadequate ANC visits (none): aOR 1.9, 95% CI 1.3, 2.7 Female newborn: aOR 1.4, 95% CI 0.9, 1.9
Yatich N. (2010) [9a] Ghana	2006 (2 mo)	Ultrasound scan	Urban population Exclusion of complicated pregnancies	Peripheral malaria during pregnancy: aOR 2.7, 95% CI 1.5, 5.9 Helminth infection during pregnancy: aOR 2.2, 95% CI 1.4, 3.8 Malaria and helminthco-infection: aOR 3.5, 95% CI 1.4, 8.6 Primigravidae: aOR 1.4, 95% CI 1.1, 2.3 Inadequate ANC visits (1st ANC at 3 rd trimester): aOR 2.4, 95% CI 1.4, 4.1
Olagbuji B. (2010) [10a] Nigeria	2007-2008 (12 mo)	Not reported	Urban population HIV-infected pregnant women population Exclusion of women with chronic medical disorders	HIV infection: OR 13.8, 95% CI 1.8, 106.7
Olusanya O. (2012) [11a] Nigeria	2005-2007 (2 y)	LMP	Urban population	Gestational hypertension: aOR 2.9, 95% CI 1.8, 4.7

Supplemental table S3. Characteristics of the 45 studies included in the scoping review (*continued*).

First author (year), Country	Study year/period (Duration)	Gestational age (GA) assessment	Study population	Significant factors and associations
Africa, Western				
Wilson N. (2012) [12a] Ghana	2007-2008 (12 mo)	Not reported	Urban population Exclusion of women with co-morbidities (HIV, malaria)	Sickle cell disease: aRR 4.0, 95% CI 1.4, 11.6
Padonou G. (2014) [13a] Benin	2007-2008 (13 mo)	Ballard score	Rural population	Maternal low nutritional status: aOR 2.5, 95% CI 1.6, 3.9 Primigravidae: aOR 1.9, 95% CI 1.1, 3.3 Male newborn: aOR 1.7 95% CI 1.1, 2.6
Briand V. (2016) [14a] Benin	2008-2010 (2 y)	Ultrasound scan, Hadlock's algorithm	Rural population Inclusion of women with GA < 24 wk	Δ z-scores over time Concomitant malaria infection: coefficient -0.05, 95% CI -0.06, -0.04 Recent malaria infection: coefficient -0.03, 95% CI -0.03, -0.02 Early malaria infection: coefficient -0.04, 95% CI -0.04, -0.03 Gestational anaemia: coefficient 0.03, 95% CI 0.02, 0.04 BW z-scores Primigravidae: coefficient -0.42, 95% CI -0.57, -0.26 Low anthropometric status: coefficient -0.37, 95% CI -0.65, -0.10 Length of gestation (< 37 weeks): coefficient -0.48, 95% CI -0.80, -0.10
Africa, Central				
Meuris S. (1993) [15a] Democratic Republic of Congo	Not specify (7 mo)	Not reported	Rural population	FGR definition based on weight (W), length (L), head circumference (HC) and ponderal index (PI) at birth Type I (decrease of W, L, HC) : Gestational anaemia (Hb < 10 g/dl) Type II (decrease of W, L) : Placental malaria Type III (decrease of W, PI) : Peripheral malaria during pregnancy (OR not reported)
Mafina-Mienandi M. (2002) [16a] Republic of Congo	2001 (6 mo)	Ballard Score	Urban population Exclusion of women who delivered < 37 wk	Low gestational weight gain (< 5kgs): aOR 7.6, 95% CI 4.1, 14.1 Low socioeconomic status: aOR 5.7, 95% CI 3.4, 9.4 Low educational level: aOR 3.6, 95% CI 1.9, 6.7
Landis S. (2009) [17a] Democratic Republic of Congo	2005-2006 (12 mo)	Ultrasound scan, Hadlock's algorithm	Urban population Inclusion of pregnant women with GA < 24 wk Exclusion of HIV-infected pregnant women	Peripheral malaria episodes ≥ 3: aRR 3.3, 95% CI 1.3, 8.2 Low monthly gestational weight gain (< 1.5 kg): aRR 5.7, 95% CI 1.3, 25.0 Maternal undernutrition (decrease in MUAC): aRR 2.7, 95% CI 1.0, 7.7
Griffin J. (2012) [18a] Democratic Republic of Congo	2005-2006 (12 mo)	Ultrasound scan, Hadlock's algorithm	Urban population Inclusion of pregnant women with GA < 22 wk Exclusion of pregnant women with hypertension	Primigravidae with early pregnancy malaria: aRR 3.6, 95% CI 2.1, 6.2
Moyambe-Thaba J. (2013) [19a] Democratic Republic of Congo	2010-2011 (17 mo)	Ultrasound scan	Rural population Inclusion of pregnant women with GA < 24 wk	Peripheral malaria during pregnancy: aOR 2.3, 95% CI 2.2, 4.2 Gestational hypertension: aOR 4.6, 95% CI 2.2, 9.6 Short maternal stature (height < 155 cm): aOR 3.9, 95% CI 1.6, 9.6 Low socioeconomic status: aOR 5.3, 95% CI 2.6, 11.0

Supplemental table S3. Characteristics of the 45 studies included in the scoping review (*continued*).

First author (year), Country	Study year/period (Duration)	Gestational age (GA) assessment	Study population	Significant factors and associations
Africa, Central				
Sofeu C. (2014) [20a] Cameroon	2007-2010 (3 y)	LMP	Urban population Inclusion of HIV-infected pregnant women	HIV-infection: aRR 4.0, 95% CI 2.0, 8.1 Infectious diseases during pregnancy: aRR 1.4, 95% CI 1.0, 2.0 Primigravidae: aRR 1.9, 95% CI 1.3, 2.7
Africa, Northern				
Arafa M. (2007) [21a] Egypt	2004-2005 (4 mo)	Ballard score	Urban population	Working status (vs. housewives): aOR 0.4, 95% CI 0.3, 0.6
Africa, Eastern				
Temmerman M. (1990) [22a] Kenya	1998 (9 mo)	LMP or Dubowitz score	Urban population Exclusion of women with caesarean section	HIV infection: aOR 2.3, 95% CI 1.2, 4.2 Gestational hypertension: aOR 2.7, 95% CI 1.2, 6.4 Primigravidae: aOR 1.2, 95% CI 1.1, 1.4
Bulterys M. (1994) [23a] Rwanda	1989-1992 (2 y, 4 mo)	Ballard score	Rural population Inclusion of HIV-infected pregnant women	HIV-1 infection, aRR: 1.7 (1.1-2.8)
Walraven G. (1997) [24a] Tanzania	1989-1990 (12 mo)	Dubowitz score	Rural population	Primigravidae: aOR 3.6, 95% CI 2.1, 6.0 Female newborn: aOR 1.5, 95% CI 1.0, 2.1
Leroy V. (1998) [25a] Rwanda	1992-1993 (12 mo)	Finnström score	Urban population	Genital ulceration: aRR 3.5, 95% CI 1.3, 9.4 Gestational anaemia: aRR 3.5, 95% CI 1.1, 10.8
Dreyfuss M. (2001) [26a] Tanzania	1995-1997 (2 y, 2 mo)	LMP	Urban population Inclusion of HIV-infected pregnant women	Peripheral malaria during pregnancy: aRR 1.8, 95% CI 1.1, 3.0 Candidiasis infection: aRR 0.6, 95% CI 0.4, 0.9 HIV infection: aRR 2.1, 95% CI 0.9, 4.6 Gestational weight gain (per kg): aRR 0.95, 95% CI 0.92, 0.98 Vitamin E deficiency (< 8 mg/L): aRR 1.9, 95% CI 1.1, 3.3 Male newborn: aRR 0.6, 95% CI 0.4, 0.9
Watson-Jones D (2002) [27a] Tanzania	1998-2000 (2 y)	Dubowitz score	Rural population Exclusion of pre-eclampsia and diabetic women	Syphilis infection: aRR 2.1, 95% CI 1.0, 4.2
Ayisi J. (2003) [28a] Kenya	1996-1999 (3 y)	Dubowitz score	Urban population Inclusion of uncomplicated pregnancies	Primigravidae with malaria alone, aRR: 1.8 (1.2-2.8) Primigravidae with malaria and HIV, aRR: 2.0 (1.1-3.6) Multigravidae with malaria and HIV, aRR: 2.1 (1.0-4.2)
Habib N. (2008) [29a] Tanzania	1999-2006 (7 y)	LMP	Rural population	HIV-infection: aOR 1.6, 95% CI 1.1, 2.4
Schmiegelow C. (2013) [30a] Tanzania	2008-2010 (18 mo)	Ultrasound scan, Hadlock's algorithm	Rural population Exclusion of pregnant women with pre-eclampsia	BW z-score: Peripheral malaria, coefficient -0.50, 95% CI -0.86, -0.13 Relative fetal weight gain: Peripheral malaria, aRR 4.9, 95% CI 2.9, 11.8

Supplemental table S3. Characteristics of the 45 studies included in the scoping review (*continued*).

First author (year), Country	Study year/period (Duration)	Gestational age (GA) assessment	Study population	Significant factors and associations
Africa, Eastern				
Slyker J. (2014) [31a] Kenya	1999-2002 (3 y)	Dubowitz score	Urban population HIV-infected population with GA $\geq$ 28 wk	Maternal bacterial vaginosis: aRR 3.2, 95% CI 1.4, 7.4 Gestational weight gain (increase BMI): aRR 0.7, 95% CI 0.6, 0.9
Isaksen A B. (2015) [32a] Tanzania	2000-2010 (10 y)	Not reported	Rural population	Alcohol consumption: aOR 0.87, 95% CI 0.80, 0.94
Muhihi A (2016) [33a] Tanzania	2010-2013 (2y, 6 mo)	LMP	Rural and urban population	Young maternal age (< 20 years): aRR 1.2, 95% CI 1.1, 1.3 Inadequate ANC visits (1st at 3 rd trimester): aRR 1.1, 95% CI 1.0, 1.3 Short maternal stature (height < 150 cm): aRR 1.6, 95% CI 1.3, 1.9 Primiparity: aRR 1.6, 95% CI 1.4, 1.7 Male newborn: OR 1.1, 95% CI 1.0, 1.2
Africa, Southern				
Stein H. (1975) [34a] South Africa	Not specify	Dubowitz score	Urban population	Maternal undernutrition (albumin level < 30g/L), OR not reported
Taha T. (1995) [35a] Malawi	1989-1990 (12 mo)	Ballard score	Urban population	HIV-infected vs. HIV-non infected women (term-LBW: 7.5% vs 4.4%) (OR not reported)
Steketee R. (1996) [36a] Malawi	1987-1990 (3 y)	Dubowitz score	Rural population	Placental malaria: aRR 1.7, 95% CI 1.2, 2.5 Primigravidae: aRR 4.9, 95% CI 2.7, 9.2 Maternal undernutrition (weight < 50 kgs): aRR 1.8, 95% CI 1.3, 2.6 Female newborn: aRR 4.5, 95% CI 2.5, 7.9
Sullivan A. (1999) [37a] Malawi	1995-1996 (7 mo)	Dubowitz score	Rural population Exclusion of women with life-threatening illness	Peripheral malaria during pregnancy: aRR 5.5, 95% CI 1.6, 19.2 Low education level (none): aRR 5.4, 95% CI 2.0, 14.1 Inadequate ANC visits (number $\leq$ 1): aRR 4.4, 95% CI 1.3, 14.5
Verhoeff F. (2001) [38a] Malawi	1993-1994 (21 mo)	Ballard score	Rural population	Peripheral or placental malaria: aRR 1.4, 95% CI 1.0, 1.9 Primigravidae: aRR 1.9, 95% CI 1.4, 2.6 Short maternal stature (height < 150 cm): aRR 1.6, 95% CI 1.0, 2.4
Ticconi C. (2003) [39a] Zimbabwe	2000-2001 (12 mo)	Not reported	Rural population	Peripheral malaria during pregnancy: aRR 3.9, 95% CI 2.5, 6.3 HIV infection: aRR 4.1, 95% CI 2.4, 6.9
Kalanda B. (2005) [40a] Malawi	1993-1994 (16 mo)	Ballard score	Rural population	Wasting (birthweight for gestational age z-score < -2 standard deviation) HIV infection: aOR 1.8, 95% CI 1.0, 2.9 Primigravidae: aOR 1.8, 95% CI 1.1, 3.1 Stunting (birth length for gestational age z-score < -2 standard deviation) Peripheral malaria at delivery : aOR 1.7, 95% CI 1.0, 2.9 Primigravidae : aOR 2.1, 95% CI 1.3, 3.6
Kalanda B. (2006) [41a] Malawi	1993-1994 (16 mo)	Ballard score	Rural population	Peripheral or placental malaria: aOR 1.4, 95% CI 1.0, 1.9 Gestational anaemia at 1 st ANC: aOR 1.7, 95% CI 1.2, 2.5 Primigravidae, aOR: 1.9, 95% CI 1.4, 2.7 Short maternal stature (height < 150 cm): aOR 1.6, 95% CI 1.0, 2.5

Supplemental table S3. Characteristics of the 45 studies included in the scoping review (*continued*).

First author (year), Country	Study year/period (Duration)	Gestational age (GA) assessment	Study population	Significant factors and associations
Africa, Southern				
Parekh N. (2011) [42a] Botswana	2007-2010 (2 y, 5 mo)	LMP or fundal height measurement	Urban population	HIV infection: aOR 1.9, 95% CI 1.4, 2.6 HAART initiation before conception: aOR 1.8, 95% CI 1.2, 2.5 Gestational hypertension: aOR 3.4, 95% CI 2.4, 4.9 History of adverse pregnancy outcomes: aOR 1.8, 95% CI 1.2, 2.5 Low education level: aOR 1.5, 95% CI 1.0, 2.2
Ndirangu J (2012) [43a] South Africa	2001-2004 (3 y)	LMP	Rural population	HIV infection: aRR 1.3, 95% CI 1.1, 1.5 Primigravidae: aRR 1.7, 95% CI 1.4, 2.1 Short maternal stature (height < 158.4 cm): aRR 1.4, 95% CI 1.1, 1.8 Water source (non-piped vs. piped): aRR 1.3, 95% CI 1.0, 1.5 Delivery at home: aRR 1.5, 95% CI 1.2, 1.9
Johnson KM (2016) [44a] Botswana	2014-2015 (12 mo)	LMP	Rural and urban population Exclusion of HIV-infected pregnant women	Non-severe hypertension: aRR 1.6, 95% CI 1.4, 1.8 Severe hypertension: aRR 2.7, 95% CI 2.3, 3.1 Gestational hypertension: aRR 1.8, 95% CI 1.6, 2.0
Sania A (2017) [45a] South Africa	2013-2014 (15 mo)	Ultrasound scan	HIV-infected population	Alcohol consumption: aRR 2.0, 95% CI 1.1, 3.6

References are in bracket, and all completed citations are presented in the supplemental table S2

Hb :Haemoglobin, **SGA**: Small-for-gestational age, **IUGR**: Intrauterine growth restriction, **PTD**: Preterm delivery, **LBW**: Low birthweight, **MUAC**: Mid-upper-arm-circumference, **BMI**: Body mass index, **HAART**: Highly active antiretroviral treatment, **LMP** : Last menstrual period, **WK**: weeks of gestation, **aOR**: Adjusted odds ratio, **aRR**: Adjusted relative risk, **CI**: Confidence interval

Supplemental table S4. Details of citations for reference charts used to define fetal growth restriction in the studies included in the scoping review

Charts	Citations
Reference charts developed in Africa	
Alihonou's chart	Alihonou E, Azandegbe N, Perrin R, Hekpazo A, Laleye H. [Epidemiologic approach to intrauterine growth retardation in the People's Republic of Benin]. <i>Revue Française De Gynécologie Et D'obstétrique</i> 1987;82:253–257.
Olowe's chart	Olowe SA. Standards of intrauterine growth for an African population at sea level. <i>The Journal of Pediatrics</i> 1981;99:489–495.
Schmiegelow's chart	Schmiegelow C, Scheike T, Oesterholt M, Minja D, Pehrson C, Magistrado P, et al. Development of a fetal weight chart using serial trans-abdominal ultrasound in an East African population: a longitudinal observational study. <i>PloS One</i> 2012;7:e44773.
Egyptian local chart	Egyptian charts, Ministry of Health, unpublished data.
Botswana local chart	Botswana–Harvard AIDS Institute Partnership, Ministry of Health, unpublished data.
Reference charts from a developed country	
Battaglia's chart	Battaglia FC, Lubchenco LO. A practical classification of newborn infants by weight and gestational age. <i>The Journal of Pediatrics</i> 1967;71:159–163.
Alexander's chart	Alexander GR, Himes JH, Kaufman RB, Mor J, Kogan M. A United States national reference for fetal growth. <i>Obstetrics and Gynecology</i> 1996;87:163–168.
Usher's & McLean's chart	Usher R, McLean F. Intrauterine growth of live-born Caucasian infants at sea level: standards obtained from measurements in 7 dimensions of infants born between 25 and 44 weeks of gestation. <i>The Journal of Pediatrics</i> 1969;74:901–910.
Leroy's & Lefort's chart	Leroy B, Lefort F. [The weight and size of newborn infants at birth]. <i>Revue Française De Gynécologie Et D'obstétrique</i> 1971;66:391–396.
Haddock's chart	Hadlock FP, Deter RL, Harrist RB, Park SK. Estimating fetal age: computer-assisted analysis of multiple fetal growth parameters. <i>Radiology</i> 1984;152:497–501.
Johnsen's chart	Johnsen SL, Rasmussen S, Wilsgaard T, Sollien R, Kiserud T. Longitudinal reference ranges for estimated fetal weight. <i>Acta Obstetrica Et Gynecologica Scandinavica</i> 2006;85:286–297.
Audipog's chart	Mamelle N, Munoz F, Grandjean H. [Fetal growth from the AUDIPOG study. I. Establishment of reference curves]. <i>Journal De Gynecologie, Obstetrique Et Biologie De La Reproduction</i> 1996;25:61–70.
Brenner's chart	Brenner WE, Edelman DA, Hendricks CH. A standard of fetal growth for the United States of America. <i>American Journal of Obstetrics and Gynecology</i> 1976;126:555–564.
Aberdeen's chart	Thomson AM, Billewicz WZ, Hytten FE. The assessment of fetal growth. <i>The Journal of Obstetrics and Gynaecology of the British Commonwealth</i> 1968;75:903–916.
International reference charts	
William's chart	Williams RL, Creasy RK, Cunningham GC, Hawes WE, Norris FD, Tashiro M. Fetal growth and perinatal viability in California. <i>Obstetrics and Gynecology</i> 1982;59:624–632.
Mikolajczyk's chart	Mikolajczyk RT, Zhang J, Betran AP, Souza JP, Mori R, Gülmezoglu AM, et al. A global reference for fetal-weight and birthweight percentiles. <i>Lancet (London, England)</i> 2011;377:1855–1861.
Intergrowth 21st chart	Villar J, Cheikh Ismail L, Victora CG, Ohuma EO, Bertino E, Altman DG, et al. International standards for newborn weight, length, and head circumference by gestational age and sex: the Newborn Cross-Sectional Study of the INTERGROWTH-21st Project. <i>Lancet (London, England)</i> 2014;384:857–868.
WHO charts	Kiserud T, Piaggio G, Carroli G, Widmer M, Carvalho J, Neerup Jensen L, et al. The World Health Organization Fetal Growth Charts: A Multinational Longitudinal Study of Ultrasound Biometric Measurements and Estimated Fetal Weight. <i>PLoS medicine</i> 2017;14:e1002220.

Supplemental table S5.Main factors assessed as risk factors for fetal growth restriction, by African region.

First author (year), [ref] Country	Malaria	HIV	Other infections*	Genetic factors	Obstetric factors	ANC follow-up	Non infectious morbidity [‡]	Nutritional factors [‡]	Behavioral ^β factors	Socioeconomic- demographic factors [£]
AFRICA, WESTERN										
Alihonou E. (1987) [1a] Benin	X	-	X	X	X	-	X	X	X	X
Meda M. (1995) [2a] Burkina-Faso	X	X	-	X	X	X-	-	X	X	X
Fourn L. (1999) [3a] Benin	X	-	-	-	X	X	-	X	X	X
Okoko B. (2002) ^{§ †} [4a] Gambia	X	-	-	X	X	X	-	X	-	X
Rayco-Solon P. (2005) [5a] Gambia	-	-	-	-	-	-	-	X	-	X
Nikiema L. (2005) [6a] Burkina-Faso	X	-	-	X	X	X	X	X	X	X
Djadou K. (2005) [7a] Togo	-	-	-	-	-	-	-	X	-	X
Olusanya O. (2010) [8a] Nigeria	-	X	-	X	X	X	X	X	-	X
Yatich N. (2010) [9a] Ghana	X	X	X	X	X	X	-	X	-	X
Olagbuji B. (2010) [10a] Nigeria	-	X	X	-	X	-	-	-	-	X
Olusanya O. (2012) [11a] Nigeria	-	X	-	-	X	X	X	-	-	X
Wilson N. (2012) [§] [12a] Ghana	-	-	-	X	X	X	-	-	-	X
Padonou G. (2014) [13a] Benin	X	-	-	X	X	X	-	X	-	X
Briand V. (2016) [14a] Benin	X	X	-	X	X	X	-	X	-	X
AFRICA, CENTRAL										
Meuris S. (1993) [15a] Democratic republic of Congo	X	-	-	X	-	-	-	X	-	X
Mafina-Mienandi M. (2002) [16a] Republic of Congo	X	-	X	X	X	X	X	X	-	X
Landis S. (2009) ^{§ †} [17a] Democratic republic of Congo	X	-	-	X	X	-	-	X	-	X
Griffin J. (2012) [§] [18a] Democratic republic of Congo	X	-	-	X	X	-	-	X	-	X
Moyambe-Thaba J. (2013) [19a] Democratic republic of Congo	X	-	-	X	X	-	X	X	X	X
Sofeu C. (2014) [20a] Cameroon	-	X	-	X	X	-	X	-	-	X

Supplemental table S5.Main factors assessed as risk factors for fetal growth restriction, by African region (*continued*).

First author (year), [ref] Country	Malaria	HIV	Other infections*	Genetic factors	Obstetric factors	ANC follow-up	Non infectious morbidity [¥]	Nutritional factors [‡]	Behavioral [§] factors	Socioeconomic- demographic factors [£]
AFRICA, EASTERN										
Temmerman M. (1990) [22a] Kenya	-	X	X	X	X	X-	X	-	-	X
Bulterys M. (1994) [23a] Rwanda	-	X	X	X	X	-	-	-	X	X
Walraven G. (1997) [24a] Tanzania	X	-	-	X	X	X	-	X	-	X
Leroy V. (1998) [25a] Rwanda	X	X	X	X	X	-	-	X	-	X
Dreyfuss M. (2001) [26a] Tanzania	X	X	X	X	X	-	-	X	X	X
Watson-Jones (2002) [27a] Tanzania	X	X	X	X	X	-	-	X	-	X
Ayisi J. (2003) [28a] Kenya	X	X	-	X	X	-	-	X	X	X
Habib N. (2008) [29a] Tanzania	-	X	-	X	X	-	-	-	-	X
Schmiegelow C. (2013) [†] [30a] Tanzania	X	X	-	X	X	-	-	X	-	X
Slyker J. (2014) [31a] Kenya	-	X	X	X	X	-	-	X	-	X
Isaksen A B. (2015) [32a] Tanzania	-	X	-	X	X	-	-	X	X	X
Muhihi A (2016) [33a] Tanzania	-	-	-	X	X	X	-	X	-	X
AFRICA, SOUTHERN										
Stein H. (1975) [34a] South Africa	-	-	-	-	-	-	-	X	-	-
Taha T. (1995) [35a] Malawi	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-
Steketee R. (1996) [36a] Malawi	X	X	X	X	X	-	-	X	X	X
Sullivan A. (1999) [37a] Malawi	X	-	-	-	X	X	-	X	-	X
Ticconi C. (2003) [38a] Zimbabwe	X	X	-	-	X	-	-	-	-	X
Verhoeff F. (2001) [39a] Malawi	X	X	-	X	X	X	-	X	-	X
Kalanda B. (2005) [40a] Malawi	X	X	-	X	X	-	-	-	-	X

Supplemental table S5.Main factors assessed as risk factors for fetal growth restriction, by African region (*continued*).

First author (year), [ref] Country	Malaria	HIV	Other infections*	Genetic factors	Obstetric factors	ANC follow-up	Non infectious morbidity [¥]	Nutritional factors [‡]	Behavioral ^β factors	Socioeconomic- demographic factors [£]
AFRICA, SOUTHERN										
Kalanda B. (2006) [41a] Malawi	X	X	-	X	X	X	-	X	-	X
Parekh N. (2011) [42a] Botswana	-	X	X	-	X	-	X	X	X	X
Ndirangu J (2012) [43a] South Africa	-	X	-	X	X	-	-	X	-	X
Johnson KM (2016) [44a] Botswana	-	-	-	-	X	-	X	X	X	X
Sania A (2017) [45a] South Africa	-	X	-	X	X	-	-	X	X	X
AFRICA, NORTHERN										
Arafa M. (2007) [21a] Egypt	-	-	-	-	X	X	X	X	-	X

References are in brackets (full details are presented in the supplemental table S2)

* Helminth infection, sexually transmitted infections such as chlamydia and syphilis; β Behavioral factors: alcohol, tobacco products consumption

§ HIV pregnant women have been excluded from the study; ¥ Non infectious factors included mainly gestational hypertension and diabetes; ‡ Nutritional factors: Low pre-pregnancy BMI, gestational weight gain, anaemia

† Women with hypertensive disorders have been excluded from the study; £ Sociodemographic & economic status: Maternal age, education, marital status, socio-economic level

Supplemental table S6. Major preventable factors and associated population attributable risk (PAR) estimates of fetal growth restriction, by African region

Factors	Prevalence range	Aggregate [§] adjusted risk estimates (95% CI)	PAR range	Studies contributing*	Heterogeneity test (I ² **, P value)
Sub-Sahara Africa					
Malaria infection	8.2–63.5%	1.95 (1.04, 3.66)	7.2–37.6%	2a, 9a, 19a, 26a, 30a, 39a, 40a, 41a,	I ² = 99%, P < 0.001
HIV infection	7.7–63%	1.86 (1.38, 2.50)	6.2–35.1%	20a, 22a, 23a, 25a, 26a, 29a, 39a, 40a, 42a, 43a	I ² = 89%, P < 0.001
Low maternal nutritional status [†]	9.9–48%	2.28 (1.59, 3.25)	11.2–38.1%	2a, 6a, 13a, 16a, 25a,	I ² = 81%, P < 0.001
Africa, Western					
Malaria infection	18.3–36.3%	1.60 (1.36, 1.89)	9.9–17.9%	2a, 9a	I ² = 0%, P = 0.38
HIV infection	1.6–6.3%	na	na	-	na
Low maternal nutritional status [†]	9.9–29.8%	1.84 (1.51, 2.25)	7.7–27.1%	2a, 6a, 13a	I ² = 0%, P = 0.64
Africa, Central					
Malaria infection	34%	1.55 (1.18, 2.05) [£]	15.7%	19a	na
HIV infection	22.4%	3.58 (2.14, 5.98) [£]	36.6%	20a	na
Low maternal nutritional status [†]	48%	3.35 (2.84, 3.96) [£]	53.1%	16a	na
Africa, Eastern					
Malaria infection	8.2–18.9%	2.12 (1.45, 3.09)	8.4–17.5%	26a, 30a	I ² = 42%, P = 0.19
HIV infection	7.7–63%	1.72 (1.42, 2.09)	5.3–31.2%	22a, 23a, 25a, 26a, 29a	I ² = 0%, P = 0.75
Low maternal nutritional status [†]	6.2%	2.72 (1.23, 6.04) [£]	9.6%	25a	Na
Africa, Southern					
Malaria infection	14.7–27.4%	2.22 (0.58–8.41)	15.2–25.1%	39a, 40a, 41a	I ² = 100%, P < 0.001
HIV infection	8.3–50.2%	1.68 (1.02, 2.76)	5.3–25.4%	39a, 40a, 42a, 43a	I ² = 95%, P < 0.001
Low maternal nutritional status [†]	9.9–23.6%	na	na	-	na

PAR = P (aRE-1)/(1+P (aRE-1)) where P is the prevalence of the risk factor in the given population and aRE is the aggregate related risk estimates.

§ Aggregate risk estimates were weighted on study sample size. Only studies with multivariate analysis were included for aggregate relative risk estimation and PAR calculation

£ Only adjusted risk estimate, not aggregate, was considered to PAR calculation when one study is available for a specific factor according to African region

* Numbers refer to references contributing to the PAR estimates, all details of reference are presented in the supplemental table S2

** I² represents the percentage of variation between the sample estimates that is due to heterogeneity rather than to sampling error. Significant heterogeneity is typically considered to be present if I² is 50% or more

† Nutritional status (low body mass index during pregnancy, low gestational weight gain)

na: Not applicable because only one study contributed to PAR calculation or risk estimates were not reported

2.2. Généralités sur le paludisme

2.2.1. Cycle du paludisme

La figure 1 illustre le cycle biologique du parasite. Il est caractérisé par une *phase de reproduction asexuée* chez l'homme (hôte intermédiaire), qui est suivie par une *phase de reproduction sexuée* chez l'Anophèle femelle (hôte définitif).

A l'occasion d'un repas sanguin, le moustique vecteur, l'Anophèle, transmet les *Plasmodium* au stade de sporozoïte à l'homme, ceux-ci envahissent les cellules hépatiques dans les 30 à 60 minutes, où ils se répliquent et se divisent en mérozoïtes. La cellule hépatique infectée se rompt, libérant les mérozoïtes dans la circulation sanguine. Ceux-ci envahissent les globules rouges. Les symptômes apparaissent 4-8 jours après l'invasion initiale des globules rouges. Le cycle de réplication des mérozoïtes dans les globules rouges dure de 36 à 72 heures (de l'invasion des globules rouges à l'hémolyse). Ainsi, à la suite d'infections synchrones (infections provenant d'une seule piqûre infectieuse), la fièvre survient toutes les 36-72 heures lorsque les globules rouges infectés se lysent et libèrent des endotoxines en masse.⁸⁷⁻⁸⁹ Les mérozoïtes libérés par éclatement des globules rouges parasités vont coloniser d'autres globules rouges. Ce n'est qu'après plusieurs cycles de multiplication que les formes sexuées de *Plasmodium* (ou gamétocytes) apparaissent dans les hématies.⁹⁰ Les gamétocytes se concentrent dans les capillaires de la peau et sont ensuite absorbés par le moustique au cours d'un autre repas sanguin.

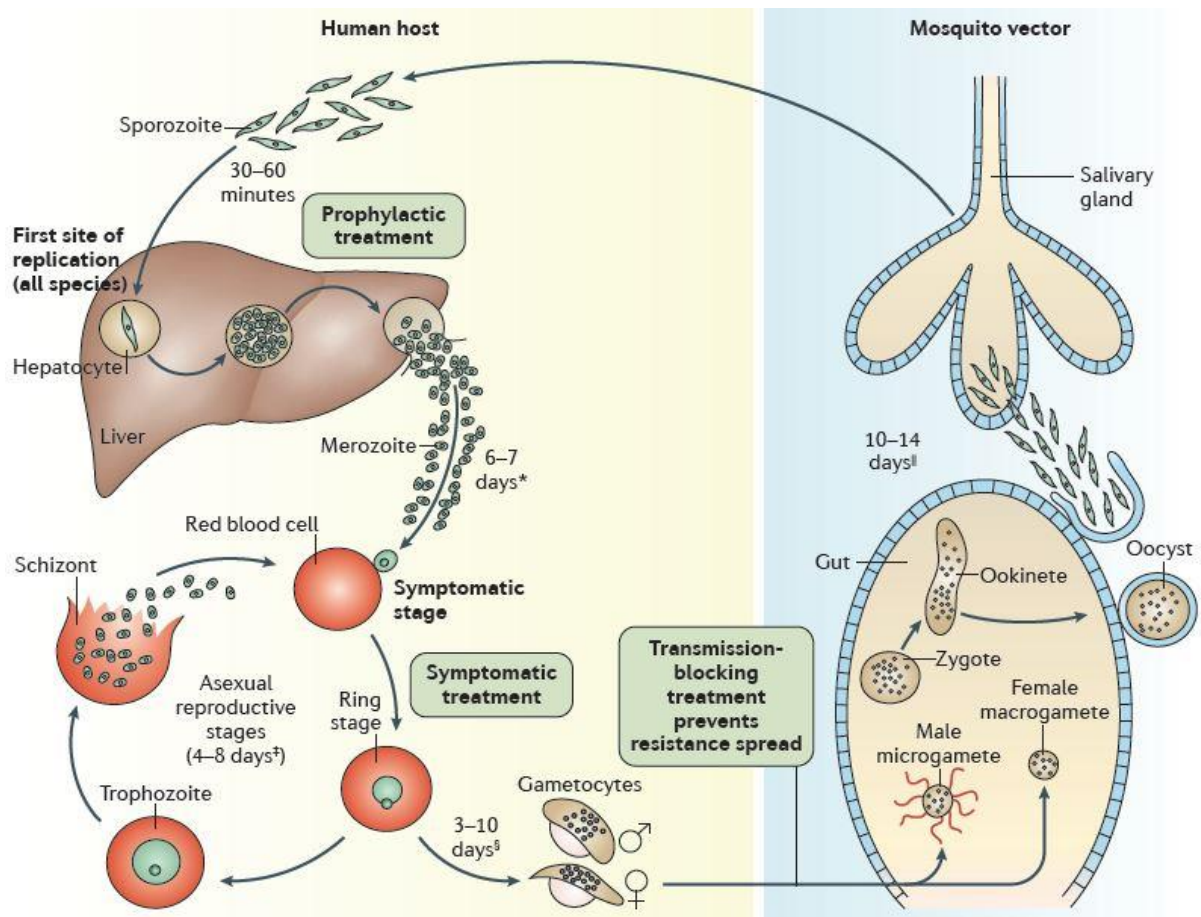


Figure 1: Cycle biologique du *Plasmodium* chez l'humain et le moustique

Source: Margaret A. Phillips *et al.*, Nat Rev Dis Primers 2017

Dans l'intestin du moustique, chaque gamétocyte mâle produit huit microgamètes après trois cycles de mitose alors que le gamétocyte femelle mûrit en un macrogamète. Les gamétocytes mâles et femelles fusionnent, formant un zygote diploïde, qui s'allonge en un ookinète; cette forme motile traverse la paroi gastrique et s'enkyste dans sa paroi pour former un oocyste. Le noyau de l'oocyste se divise et forme de nouveaux sporozoïtes. Après éclatement, les sporozoïtes migrent vers les glandes salivaires de l'anophèle pour une nouvelle inoculation chez l'homme lors d'une prochaine piqûre. Ainsi, 7-10 jours après que le moustique se soit nourri de sang contenant des gamétocytes, il peut être infestant à nouveau.

2.2.2. Manifestation clinique et physiopathologie du paludisme

Les manifestations cliniques du paludisme sont étroitement liées aux différentes étapes du cycle érythrocytaire. Elles sont similaires pour toutes les espèces (Tableau 1). Les formes cliniques varient d'une infection asymptomatique à un paludisme sévère. La lyse synchronisée des érythrocytes infectés entraîne des symptômes cliniques tels que les céphalées, des douleurs musculaires, de la fièvre, des frissons et une anémie.^{2,91} La fièvre serait causée par la production de cytokines pro-inflammatoires dans la circulation sanguine, en réponse aux produits de destruction des érythrocytes et des dérivés pyrogènes induits par les parasites. La baisse rapide de la concentration d'hémoglobine (Hb) au cours de la phase aiguë de l'infection serait la conséquence directe de la lyse des globules rouges infectés associée à une faible production compensatrice de globules rouges par la moelle osseuse.⁹²

Tableau 2: Manifestations cliniques de l'accès palustre

Manifestations cliniques		Durée
Incubation		
		- 9 à 30 jours pour <i>P. falciparum</i> - 18 à 40 jours pour <i>P. malariae</i> - 15 jours à plusieurs mois pour <i>P. vivax</i> et <i>P. ovale</i>
Invasion		
Période froide	Début brutal: Frissons, chair de poule	15 mn à une heure
Période chaude	Fièvre, céphalée, soif, vomissement	2 heures ou plus
Période de repos	Sueurs profuses, lassitude	6 à 10 heures

L'infection par *P. falciparum* peut évoluer vers un accès sévère soit d'emblée, soit après un ou plusieurs accès palustres simples. Elle peut être responsable d'une atteinte cérébrale, le neuropaludisme, ou d'anémie sévère (Hb < 70 g/L) pouvant mettre en jeu le pronostic vital,

particulièrement chez les sujets non immuns. Le neuropaludisme est lié à la séquestration des hématies parasitées dans les petits vaisseaux cérébraux.

2.2.3. Zone d'endémie et transmission du paludisme

Le paludisme est présent dans les régions tropicales et subtropicales (Figure 2). La répartition géographique varie selon l'espèce. *P. falciparum* et *P. vivax*, les deux espèces les plus fréquentes, sont retrouvées en ASS, Asie, Océanie, Amérique centrale et du sud. La transmission du paludisme dépend de différentes caractéristiques principalement climatiques et entomologiques qui permettent de distinguer des zones palustres dites “stables” et “instables”.⁹³

L'intensité de la transmission conditionne l'expression de la maladie chez l'homme. On parle de zone palustre *stable* lorsque la transmission est importante et se maintient d'une année à l'autre de manière permanente ou saisonnière. C'est le cas de la majorité des pays de l'Afrique intertropicale. La stabilité de l'endémie permet l'apparition progressive d'une protection immunitaire dans la population qui limite les effets pathogènes du parasite. Cette immunité acquise, ou prémunition, apparaît plus ou moins rapidement chez l'enfant selon le niveau de transmission de la zone, généralement entre 6 et 10 ans, et se renforce progressivement. Les nourrissons et les jeunes enfants, encore non prémunis, sont donc les plus exposés aux formes graves de paludisme.

Lorsque le taux de transmission est faible et varie d'une année à l'autre, l'endémie est dite *instable*. C'est le cas de l'Amérique du Sud et de l'Asie du Sud-Est où la prémunition des populations est variable, faible pour certains, et les épisodes épidémiques surviennent à l'occasion de changements de saisons. Les formes graves susceptibles d'entraîner le décès touchent la population quel que soit l'âge avec une prédominance pour les nourrissons et les jeunes enfants qui n'ont pas encore développé d'immunité protectrice—aussi faible qu'elle soit.

Quel que soit la zone d'endémie, les femmes enceintes constituent une population à risque à part entière. Ce travail de thèse est consacré à ce groupe à risque.



Figure 2: Répartition géographique du paludisme dans le monde en 2018

Source: Centers for Disease Control and Prevention (https://www.cdc.gov/malaria/travelers/about_maps.html)

2.2.4. Outils diagnostiques

Les techniques de diagnostic du paludisme reposent sur la mise en évidence directe ou indirecte de la présence de *Plasmodium* par un examen microscopique ou par des méthodes de détection d'antigènes parasitaires ou par isolement de l'ADN plasmodial.

- **Les techniques de microscopie conventionnelles**

Elles consistent à rechercher et à mettre en évidence le parasite dans le sang. Elles sont basées sur la lecture de la **goutte épaisse** et du **frottis sanguin** réalisés à partir d'une goutte de sang périphérique déposée sur une lame.⁹⁴ La goutte épaisse permet de concentrer les parasites dans une quantité de sang donnée et d'examiner un volume sanguin important tandis que le frottis sanguin ne permet d'en étudier qu'une petite partie (les bords du frottis). La sensibilité de la goutte épaisse est de 20 à 30 fois plus élevée que celle du frottis mince. Cependant le frottis permet de faire le diagnostic différentiel des différentes espèces plasmodiales. La technique de

la goutte épaisse est l'examen de référence de l'OMS avec une sensibilité élevée (10 à 20 parasites/ μ l).⁹⁵ Elle est largement utilisée en routine.

- **Les techniques d'immuno-chromatographie**

Elles s'utilisent sous forme de tests de diagnostic rapide (TDR) qui consistent en une détection rapide en 5 à 15 min, de la présence ou de l'absence d'un antigène de *Plasmodium*: la protéine HRP-2 (histidine-rich protein-2) spécifique du *P. falciparum* ou la pLDH (*Plasmodium* lactate déshydrogénase) spécifique d'autres espèces, dans le sang du patient à l'aide d'anticorps monoclonaux spécifiques. Le principe du TDR repose sur un test d'immuno-chromatographie sur bandelette à partir d'une goutte de sang.^{96,97} Dans les milieux à faibles ressources technologiques, sans accès à des laboratoires adéquats et à des personnels formés, les TDR permettent aux cliniciens de confirmer une éventuelle infection palustre et de la traiter immédiatement. Cependant, l'utilisation des TDR présente certaines limites dues à une moindre sensibilité en cas de faible parasitémie, en présence d'auto-anticorps ou de facteurs rhumatoïdes. Par ailleurs, la persistance pendant environ 15 jours de l'antigène HRP-2 dans la circulation sanguine, après disparition des parasites vivants et le problème de mutation parasitaire ($\approx$ 10% des cas, HRP2 non exprimé) induisent respectivement des faux positifs et des faux négatifs à la lecture du TDR posant un problème de diagnostic. La majorité des tests actuels recherche au moins deux antigènes et a une sensibilité supérieure à 90% par rapport à la goutte épaisse.^{98,99}

- **La Réaction de Polymérisation en chaîne “Polymerase Chain Reaction” (PCR)**

Elle permet la détection de l'ADN plasmodial par hybridation des sondes marquées ou après amplification de séquences d'ADN connues chez le parasite afin de mettre en évidence des infections occultes avec des parasitémies très faibles.¹⁰⁰ Il s'agit d'une technique plus sensible et plus performante que la microscopie (sensibilité à 100%).¹⁰¹ Toutefois, sa mise en place nécessite une plateforme de biologie moléculaire coûteuse et une compétence technique.¹⁰² Cette technique permet une détection des infections non dépistées par la microscopie; ces

infections sont dites « sub-microscopiques ». La PCR est souvent utilisée dans le cadre de la recherche pour la caractérisation des parasites (génotypage et phénotypage). Il s'agit d'une technique quantitative et qualitative permettant la différenciation des espèces plasmodiales.

- **Le loop mediated isothermal amplification (LAMP)**

Une nouvelle technique, le LAMP basée sur l'amplification d'ADN parasitaire a été récemment mise en place. Le LAMP est une méthode d'amplification sans extraction d'ADN. Elle est très sensible et équivalente aux techniques de PCR, capable de détecter de faibles concentrations de parasites dans l'organisme.^{103,104} Comme la PCR, le LAMP n'est pas une technique couramment utilisée en routine.

2.3. Paludisme associé à la grossesse ou paludisme gestationnel (PG)

2.3.1. Mortalité et morbidité associées à la grossesse dans les pays en développement

Chaque année, 210 millions de femmes deviennent enceintes dans le monde avec 42% de complications obstétricales enregistrées pendant la grossesse, parmi lesquelles 10-15% de complications morbides sévères et approximativement 303 000 décès maternels survenant pendant la grossesse ou dans un délais de 42 jours après l'accouchement (estimation de 2015).¹⁰⁵⁻¹⁰⁸ Environ 99% des décès maternels enregistrés dans le monde en 2015 sont survenus dans les pays en développement, l'ASS représentant à elle seule 66% des décès, suivie de l'Asie du Sud (Figure 3).¹⁰⁵

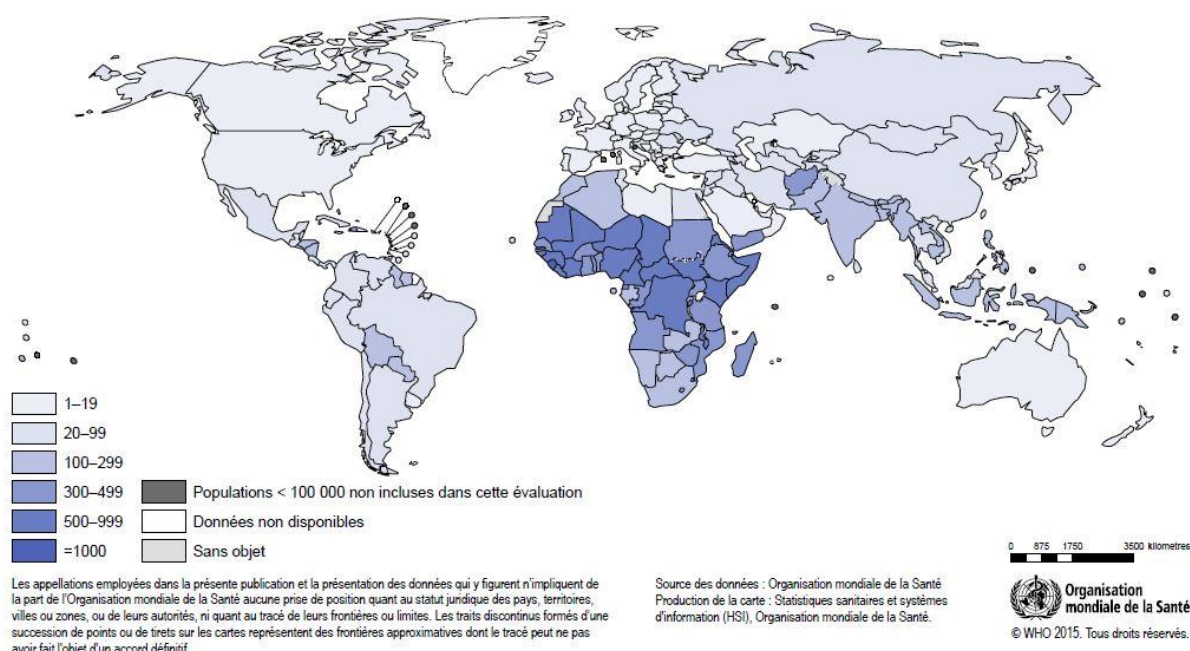


Figure 3: Rapport de mortalité maternelle (décès pour 100 000 naissances), 2015

Source : Statistiques sanitaires et systèmes d'information (HSI), OMS 2015.

Par ailleurs, près de 45% des décès d'enfants de moins de 5 ans concernent des nouveau-nés (enfants au cours des 28 premiers jours de vie). Les trois quarts des décès de nouveau-nés surviennent pendant la première semaine de vie. En 2016, le nombre de décès d'enfants de moins de 5 ans était estimé à 5,6 millions.^{109,110} Environ 80% de ces décès surviennent dans les pays de l'ASS et de l'Asie du Sud (Figure 4).

Le paludisme associé à la grossesse est l'une des causes majeures de morbidité et mortalité maternelle, périnatale et infantile dans les pays de l'ASS.^{12,111-113} Chaque année, plus de 32 millions de femmes enceintes sont exposées au paludisme pendant la grossesse en ASS.¹¹⁴ On estime que 75 000 à 200 000 décès d'enfants de moins d'un an sont liés au paludisme gestationnel chaque année.¹²

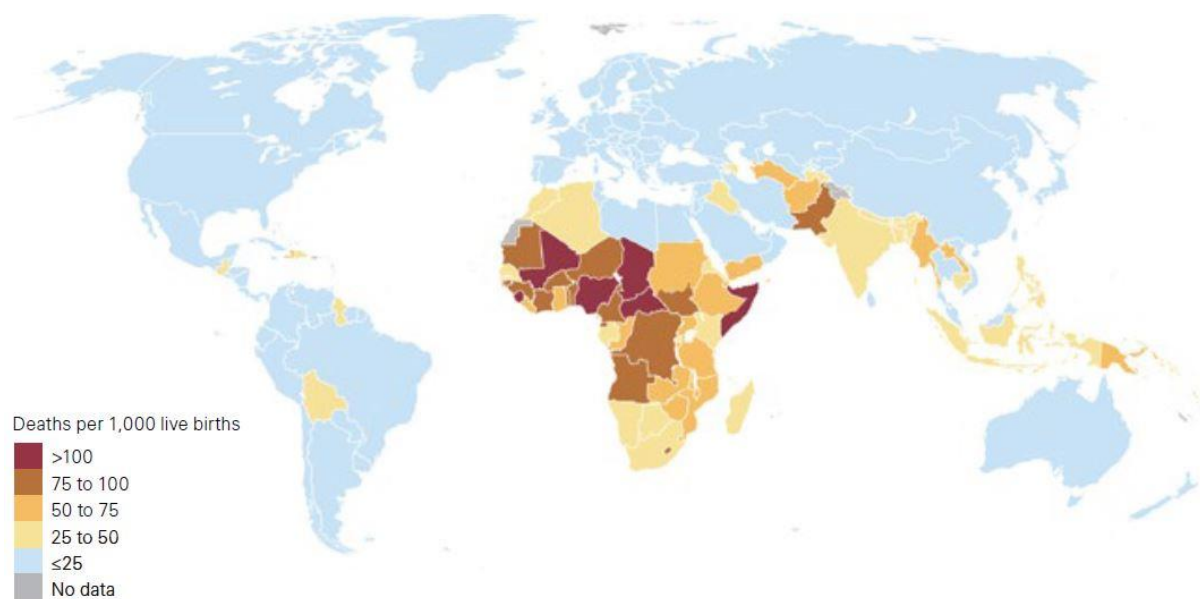


Figure 4: Distribution de la mortalité infantile (décès avant l'âge d'un an pour 1 000 naissances vivantes), 2016

Source: UN Inter-agency Group, UNICEF, WHO, World Bank, UN DESA/Population Division. Level and Trends in Child Mortality 2017. UNICEF, 2017. Cette carte ne reflète pas la position des agences IGME des Nations Unies sur le statut juridique d'un pays ou d'un territoire ou de la délimitation de frontières.

2.3.2. Epidémiologie du paludisme gestationnel

Le paludisme au cours de la grossesse constitue un problème majeur de santé publique dans les pays d'endémie palustre avec un impact important sur la santé de la mère et de son enfant. On estime qu'environ 125 millions de femmes enceintes sont exposées à une infection palustre chaque année dans les zones impaludées.¹¹⁴ Les conséquences et les caractéristiques cliniques dépendent du niveau de transmission palustre.^{7,115}

2.3.2.1. Zone de paludisme stable

En zone d'endémie stable, les femmes enceintes sont le plus souvent asymptomatiques lorsqu'elles sont infectées par le paludisme et l'infection évolue rarement vers une forme grave. Les infections palustres survenant pendant la grossesse sont les plus souvent de faibles parasitémiées non détectables par les méthodes de diagnostic conventionnelles.^{116,117} D'un point de vue physiopathologique, il existe des variantes bien particulières de *P. falciparum*

spécifiques à la grossesse.⁹ Ces parasites sont différents de ceux trouvés chez les adultes non gestants. Ils ont un tropisme particulier pour le placenta et ont la capacité à s'y adhérer. Dans les zones de forte transmission, on estime qu'en moyenne 25% des femmes présentent une infection palustre microscopique au cours de la grossesse et/ou une infection placentaire, ce taux variant de 5–52% selon les études, les zones considérées et les nouvelles politiques du traitement préventif intermittent mises en place.^{12,71,118}

La prévalence du PG (correspondant à la survenue d'infections périphériques au cours de la grossesse et/ou à l'existence d'une infection placentaire) et ses conséquences dépendent du rang gestationnel de la femme. Le risque d'infection palustre est élevé chez les femmes primigestes et secondigestes comparées aux multigestes en raison d'une immunité protectrice spécifique acquise par ces dernières au cours des grossesses successives.^{119,120} L'âge maternel représente également un facteur de risque important de PG, indépendamment du rang gestationnel. En effet, les femmes jeunes (≤ 20 ou ≤ 25 ans, selon les études) sont plus à risque de développer une infection palustre au cours de la grossesse.^{121,122} Ce constat reflète qu'en plus de l'immunité spécifique développée au cours des grossesses, l'immunité protectrice que les individus développent avec l'âge contribuerait au contrôle du PG.

Les conséquences du PG se traduisent essentiellement par la survenue d'une anémie maternelle et par la réduction du poids de naissance du nouveau-né. L'association entre infection palustre et risque d'anémie pendant la grossesse, particulièrement chez les primigestes a été décrite dans de nombreuses études.^{123–127} Le FPN, défini par un poids inférieur à 2500g,¹²⁸ est actuellement utilisé de façon consensuelle pour évaluer l'impact du PG sur l'état de santé de l'enfant. Près de 60-80% des enfants qui décèdent durant la période néonatale sont des enfants nés avec un FPN, le plus souvent lié à un retard de croissance intra-utérin (RCIU).¹²⁹ Dans les zones de paludisme stable, le RCIU serait le principal déterminant du FPN, contrairement aux zones de paludisme instable où la prématurité serait le principal facteur étiologique.^{15,130}

Le PG est également associé à une augmentation du risque de morbi-mortalité infantile.^{12,131–133} Chez les enfants, de nombreuses études ont montré que le risque d'anémie^{134–136} et d'infection palustre et non palustre au cours de la première année de vie^{137–141} était plus important lorsque la mère avait été infectée par le paludisme pendant la grossesse.

2.3.2.2. Zone de paludisme instable

Dans les zones de plus faible transmission, le PG est responsable d'une morbidité et d'une mortalité plus importante pour la mère et l'enfant car l'immunité acquise est moins bien établie. Les infections sont souvent symptomatiques et évoluent vers des formes graves. L'évolution vers une forme compliquée est d'ailleurs plus fréquente chez les femmes enceintes que chez les adultes.¹⁴² Contrairement à ce qui est observé dans les zones de paludisme stable, la prévalence et les conséquences du PG sont comparables chez les primigestes et les multigestes. La transmission palustre étant plus faible, la prévalence des infections placentaires est également plus basse, de l'ordre de 7% en moyenne avec une forte variabilité entre pays.¹² Les femmes infectées dans ces zones sont également plus à risque d'anémie maternelle et de FPN que les femmes non infectées. Le risque de fausses couches spontanées et de morts fœtales *in utero* est aussi plus important que dans les zones de paludisme stable (Tableau 3). Dans les zones dites instables, la majorité des infections sont liées à *P. falciparum* et *P. vivax* alors que dans les zones dites stables, les infections sont essentiellement liées à *P. falciparum*.¹¹⁴

Notre travail de thèse concernera uniquement le PG en zone d'endémie stable.

Tableau 3: Effets du paludisme gestationnel sur la morbidité et la mortalité maternelle et infantile, selon le niveau d'endémicité (tiré de Cot M et Deloron P¹¹⁵ et Nosten F⁷)

		Zones de paludisme stable	Zones de paludisme instable
Mère	Susceptibilité au paludisme	+++	++
	Femmes à risque	Toutes, mais primigestes ++	Toutes
	Paludisme symptomatique	+	+++
	Paludisme grave	-	+++
	Infection placentaire	+++	+
	Anémie	++	+++
	Mortalité	++	+++
Fœtus/nouveau-né	Fausses couches/morts fœtales	+	+++
	Paludisme congénitale	++	+
	Faible poids de naissance	+++	+++
	Retard de croissance <i>in utero</i>	+++	++
	Prématurité	++	+++

Source: Valérie Briand, 2008

(-) rare, (+) peu fréquent, (++) fréquent, (+++) très fréquent

Endémicité (stable vs instable) dans laquelle la fréquence de l'évènement est la plus élevée

2.3.3. Pathogénicité du paludisme gestationnel

La susceptibilité des femmes enceintes à l'infection palustre, en dehors de la présence de parasites spécifiques, est également expliquée par la placentation (mise en place du placenta) qui joue un rôle important d'immuno-modulation du système immunitaire.¹⁴³ Ainsi, la grossesse représente un état d'équilibre immunologique au cours de laquelle le système immunitaire de la mère doit à la fois tolérer le fœtus et maintenir sa compétence immunitaire de défense contre les micro-organismes.¹⁴⁴ Le PG est responsable de la survenue d'une anémie maternelle, d'un RCIU et d'accouchement prématuré, principaux mécanismes mis en cause dans la survenue du FPN (Figure 5). Le RCIU et la prématurité sont le résultat de la séquestration massive des érythrocytes infectés dans le placenta, elle-même, à l'origine d'une inflammation placentaire qui va perturber les échanges fœto-maternels.^{9,145,146} Lorsque les globules rouges sont parasités, ils expriment à leur surface des antigènes variants parasitaires qui permettent l'adhésion de ces globules rouges à des récepteurs spécifiques de l'endothélium de différents organes. Chez la femme enceinte, les globules rouges parasités par ces variants de *P. falciparum* expriment à leur surface des antigènes parasitaires adhérant spécifiquement aux récepteurs de la chondroïtine sulfate A (CSA), présents uniquement dans les espaces intervilleux du placenta. Les femmes enceintes infectées développent des anticorps anti-adhérences spécifiques (anti-VAR2CSA) qui sont associés à la protection contre le paludisme lors de grossesses ultérieures.¹⁴⁷

Bulmer *et al.* ont proposé une classification histopathologique en fonction de la présence ou non de parasites et de la localisation des pigments malariques (produits de la dégradation de l'hème hémoglobinique par les formes intra-érythrocytaires du *Plasmodium*) dans le placenta:¹⁴⁸

- Infection **récente active** caractérisée par la présence de globules rouges parasités et de pigments malariques intra-érythrocytaires et intra-monocytaires dans les espaces intervilleux, mais absence de pigment dans la fibrine,

- Infection **chronique** caractérisée par la présence de globules rouges parasités et pigments malariques intra-érythrocytaires et intra-monocytaires dans les espaces intervillositaires et pigments dans la fibrine et/ou dans la villosité,
- Infection **passée chronique** caractérisée par l'absence de parasite et la présence de pigments confinés dans la fibrine et dans les cellules à l'intérieur de la fibrine.

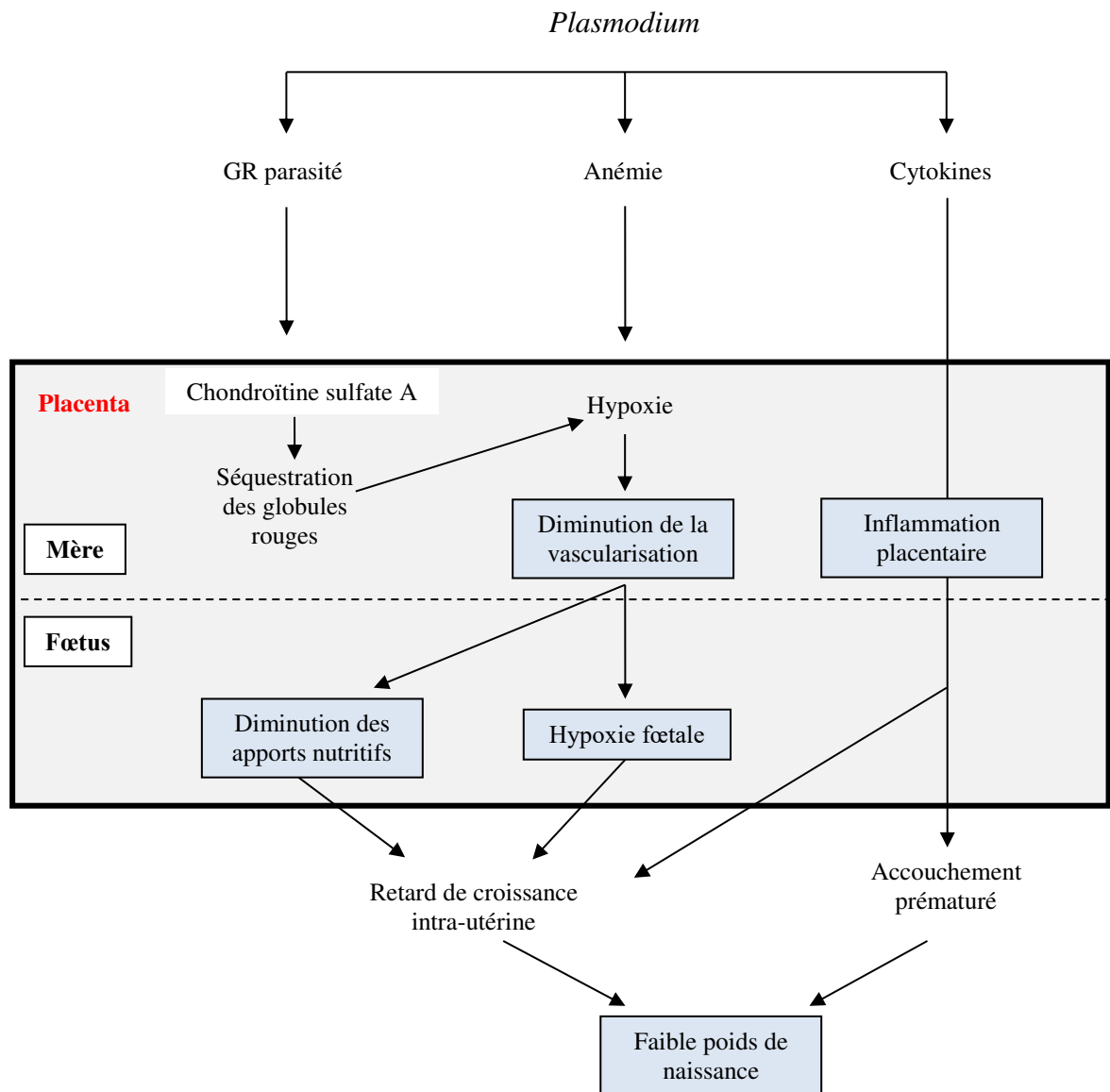


Figure 5: Physiopathologie du paludisme gestationnel au niveau du placenta

Source: Bourée P *et al.*, Revue Francophone des Laboratoires 2008

2.3.4. Conséquences du paludisme gestationnel sur la croissance fœtale

Même si le PG est souvent asymptomatique, l'infection causée par l'espèce *P. falciparum* a de graves conséquences sur la grossesse notamment sur le développement du fœtus. Le PG altère la croissance fœtale, entraînant une diminution du poids à la naissance.^{15,72,130,149,150} La plupart des études estiment que le poids de naissance diminue entre 98–320 g en cas de PG.^{17,18,150–152} Le PG a été également associé à la diminution de la taille,^{130,149,152} du périmètre crânien,^{130,150,152,153} et de l'index pondéral du nouveau-né.¹⁵ Plusieurs études ont suggéré que la diminution de la taille et du périmètre crânien du fœtus étaient la conséquence d'un dysfonctionnement prolongé de la fonction placentaire due à une infection placentaire chronique.¹⁵⁰ Une étude récente sur des mesures anthropométriques *in utero* a mis en évidence une diminution du diamètre bipariétal au 2^{ème} trimestre de la grossesse chez les femmes enceintes infectées par le paludisme.¹⁵⁴

La perturbation probable de l'invasion trophoblastique,^{155–157} la diminution du volume placentaire¹⁵⁸ et l'altération du flux sanguin utéro-placentaire,^{159–161} observées au cours du PG, pourraient affecter le développement fœtal au cours des 1^{er} et 2^{ème} trimestres. Au cours du 3^{ème} trimestre, la séquestration des érythrocytes infectés pourrait altérer la fonction placentaire,^{162,163} provoquer une hypoxie¹⁶³ et perturber la sécrétion des hormones régulatrices de la croissance et l'apport des nutriments et d'oxygène.¹⁶⁴ Il a été aussi démontré qu'une infection palustre aigue pendant la grossesse pouvait engendrer une modification immédiate de l'irrigation sanguine fœtale sans atteinte cérébrale et être associée à un RCIU tardif.¹⁶⁵

2.3.5. Conséquences du paludisme gestationnel sur la durée de la grossesse et la viabilité du fœtus et du nouveau-né

Le PG a été mis en cause dans la survenue d'accouchements prématurés, de fausses couches spontanées et de morts fœtales *in utero*.^{70,130,132,166,167} La survenue d'un accouchement

prématuré était associée à des infections palustres survenant tardivement pendant la grossesse avec une parasitémie élevée.¹³⁰ Cependant, d'autres études évaluant l'association entre le PG et la prématurité n'ont pas pu mettre en évidence une association statistiquement significative.^{15,149,168} Ces différences pourraient s'expliquer en partie par l'absence de méthodes précises d'évaluation de l'AG à l'accouchement.

Le PG est également associé à une augmentation du risque de mortalité néonatale et infantile notamment à travers la survenue d'un RCIU ou d'un FPN,^{133,169,170} à un retard de croissance chez le nourrisson^{171,172} et à un risque élevé d'infections palustres et non palustres durant la première année de vie.^{137,139–141}

2.3.6. Spécificités du paludisme au 1^{er} trimestre de grossesse

Très peu de données sont disponibles à ce jour sur la prévalence et les conséquences des infections palustres au 1^{er} trimestre.^{17–21,23,173} Cela s'explique en partie par le fait que les femmes enceintes, en ASS, consultent tardivement pour leur première CPN (vers 4-5 mois de grossesse).¹⁷⁴ Brabin *et al.* avaient déjà démontré, par modélisation mathématique, au début des années 80, que les taux les plus élevés d'infection palustre survenaient entre 13 et 16 SA.¹⁴ Ces résultats ont été récemment confirmés par une modélisation statistique plus sophistiquée qui a montré que, sous TPI, 70% des infections palustres qui survenaient au moment de la placentation (environ 12 SA) étaient responsables de 70% du risque d'infection placentaire.¹⁷⁵ Dans une étude récente, conduite dans la commune de Comé au sud du Bénin, il a été rapporté que 18% des femmes avaient été infectées au cours du 1^{er} trimestre de la grossesse, témoignant de l'importance de l'exposition précoce au cours de la grossesse.⁷¹

Certains travaux ont suggéré que les infections palustres survenant avant 4 ou 5 mois de grossesse avaient des effets délétères sur la santé de la mère et de l'enfant.^{17–19,23} Toutefois, aucune de ces études n'avait été conçue pour répondre spécifiquement à la question de l'effet

des infections au 1^{er} trimestre de la grossesse. Les femmes étaient incluses relativement tard, en fin de 1^{er} trimestre ou en début de 2^{ème} trimestre. Ces études étaient sujettes à des biais de classification (catégorisation de certaines femmes infectées comme non infectées) ou à une sous-estimation de l'exposition. Récemment, la survenue d'une infection palustre au 1^{er} trimestre a été rapportée comme étant un important facteur de risque de fausses couches en Asie du Sud-Est.¹⁶⁷

La rareté des études évaluant la prévalence et l'impact des infections palustres en début de grossesse tient principalement au fait qu'il est difficile de suivre les femmes dès le 1^{er} trimestre, mais aussi de dater la grossesse avec précision. Au Burkina Faso et au Bénin, Cottrell *et al.* et Huynh *et al.* ont respectivement montré que les femmes infectées avant le 4^{ème} mois de grossesse donnaient naissance à des nouveau-nés de plus petit poids de naissance (-68g, 95% IC [-145, -10]; -99g, 95% IC [-189, -9]).^{17,18} Par contre, aucune association entre infection palustre précoce (< 15 SA) et petit poids de naissance n'a été retrouvée en Ouganda et au Malawi.^{20,21} En République Démocratique du Congo, Griffin *et al.* n'ont objectivé aucune association statistiquement significative entre la survenue de l'infection palustre avant 21 SA sur le risque de FPN et de PPAG. Toutefois, les primigestes infectées durant cette période présentaient un risque entre 3 et 6 fois plus élevé de donner naissance à un enfant avec un PPAG par rapport aux multigestes non infectées durant la grossesse.¹⁷³

2.3.7. Stratégie de lutte contre le paludisme gestationnel en zone d'endémie stable

Dans les zones de paludisme stable, la plupart des femmes enceintes infectées par le paludisme sont asymptomatiques, le principal moyen de lutte contre le PG est donc avant tout préventif. Ces mesures de prévention sont essentiellement médicamenteuses et entomologiques.¹⁷⁶⁻¹⁷⁸

2.3.7.1. Traitement adéquat des cas de paludisme

Le traitement actuellement recommandé par l'OMS pour les accès simples à *P. falciparum* en zone stable, lors du 1^{er} trimestre, est la quinine (8 mg/kg, 3 fois par jour) associée à de la clindamycine (10 mg/kg, 2 fois par jour) pendant 7 jours.^{179,180} Si la clindamycine n'est pas disponible ou si le prix est hors de portée, la monothérapie à base de quinine est préconisée. Le traitement de 2^{ème} intention recommandé est l'artésunate (4 mg/kg par jour en seule prise) associé à la clindamycine (10 mg/kg, 2 fois par jour) pendant 7 jours.

Pendant les 2^{ème} et 3^{ème} trimestres de grossesse, les combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine (CTA) sont actuellement le traitement de 1^{ère} intention.¹⁸¹ L'artésunate (4 mg/kg par jour en seule prise) associée à la clindamycine (10 mg/kg, 2 fois par jour) ou encore la quinine (8 mg/kg, 3 fois par jour) associée à de la clindamycine (10 mg/kg, 2 fois par jour) pendant 7 jours peuvent être utilisés en traitement de seconde intention.

En cas de paludisme grave, le traitement se fait par voie parentérale. La molécule de choix est l'artésunate en IV, remplacée par l'artéméther ou la quinine lorsqu'elle n'est pas disponible. La prise en charge est pluridisciplinaire à cause de l'atteinte multi-organique.

2.3.7.2. Moyens de prévention

- **Moustiquaire imprégnée d'insecticide à longue durée**

L'OMS recommande l'utilisation de moustiquaire imprégnée d'insecticide à longue durée d'action (MIILD) à la femme enceinte dès le début de la grossesse.¹⁷⁸ Plusieurs études ont montré l'efficacité des MIILD sur la diminution des conséquences du PG.¹⁸²⁻¹⁸⁴ Les femmes enceintes utilisant une MIILD au cours de la grossesse ont un risque diminué d'infection placentaire (RR=0.79, 95% IC 0.63-0.98) et de faible poids de naissance (RR=0.77, 95% IC 0.61-0.98) par rapport à celles n'utilisant pas de MIILD. Cependant, le taux de couverture actuel de possession et d'utilisation de MIILD chez les femmes enceintes reste encore faible en ASS.¹⁸⁵

En effet, moins de 42% des femmes enceintes en ASS possèdent une MIILD.¹⁸⁶ Ce taux reste insuffisant face à l'objectif de 80% de couverture fixé par l'OMS.

- **Traitement préventif intermittent pendant la grossesse (TPIg)**

La prise d'une chimioprophylaxie (chloroquine) contre le paludisme chez la femme enceinte a été recommandée pour la première fois dans les années 1980.¹⁸⁷ A partir de 2000, l'OMS a préconisé l'utilisation d'une nouvelle stratégie–le traitement préventif intermittent (TPIg)– pour la prévention du PG, en remplacement de la chimioprophylaxie.¹⁸⁸ Selon les dernières recommandations de l'OMS, le TPIg consiste en l'administration, avec prise contrôlée du médicament, d'une dose curative de sulfadoxine-pyriméthamine (SP) à chaque consultations prénatales (CPN), à partir du 2^{ème} trimestre et indépendamment de l'existence d'une infection.¹⁷⁸

Depuis sa recommandation en 2000 par l'OMS, de nombreux travaux ont montré l'efficacité de cette stratégie. Chez les femmes ayant reçu un TPIg-SP, il a été mis en évidence une diminution de 20 à 80% de la prévalence de l'infection placentaire^{189–193} et de 17 à 76% de l'anémie maternelle.^{194–196} Le risque de FPN s'est également trouvé diminuer d'environ 50%^{197,198} et le poids de naissance augmenté de 90 à 130g.^{199,200} Certaines études ont également montré que le TPIg était associée à la réduction de la mortalité néonatale. Cependant le taux de couverture du TPI (au moins 2 doses de SP) reste faible en ASS (< 22%)¹⁸⁶ pour des raisons politiques, logistiques et humaines (faible adhésion des femmes et du personnel soignant). Au Bénin en 2009, la proportion de femmes enceintes ayant reçu 2 doses de TPIg était de 68.4%.²⁰¹

2.3.7.3. Autres moyens de lutte

La pulvérisation intra-domiciliaire d'insecticides et l'utilisation de répulsifs à base de DEET (N-diethyl-m-toluamide) ont été évaluées et n'ont pas fait la preuve de leur efficacité pour limiter les effets du PG. De plus, certaines études ont suggéré des effets toxiques chez la femme enceinte.^{202–204}

L'utilisation d'un vaccin pour la prévention du PG est également discutée. Il existe actuellement un vaccin en cours d'évaluation à un stade relativement peu avancé (Phase I et IIb).^{205–207} Il est basé sur l'antigène de surface, VAR2CSA, qui est une protéine de la famille PfEMP1, qui vise à prévenir les conséquences du paludisme chez la femme enceinte, le fœtus et le nouveau-né. L'objectif d'un tel vaccin est d'induire des anticorps capables d'inhiber l'adhérence des érythrocytes infectés au placenta. Plusieurs études ont mis en évidence que les anticorps dirigés contre VAR2CSA étaient associés à une protection contre le PG.^{11,147,207–210} Un tel vaccin est d'un intérêt crucial car il pourra être administré chez les femmes en âge de procréer pour une protection attendue lors de sa première grossesse et en début de grossesse. Cependant, les défis majeurs avec cet antigène résident dans le polymorphisme des séquences de VAR2CSA et les variants et épitopes immunogènes qui devraient être inclus dans un vaccin pour avoir une efficacité optimale. Par ailleurs, le moment optimal d'administration d'un tel vaccin reste un grand challenge.

III. PROBLEMATIQUE

3.1. Situation du problème

Le PG demeure un problème majeur de santé publique en ASS.¹¹⁴ Il constitue l'une des principales causes de morbidité et de mortalité maternelle, périnatale et infantile. Il est associé à un risque élevé d'anémie maternelle, de prématurité et de RCIU.¹² Ces deux derniers facteurs sont responsables de la survenue d'un PPN, qui est un déterminant majeur de la mortalité néonatale et infantile dans les pays en développement.^{12,13}

Compte tenu des risques encourus par la mère et l'enfant, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) recommande l'utilisation de mesures de prévention. En ASS, celles-ci associent l'utilisation d'une MIILD et le TPIg. Ce dernier consiste en l'administration d'une dose curative de SP à chaque CPN à partir du 2^{ème} trimestre de grossesse –en raison du potentiel effet tératogène de la SP–,²¹¹ avec au moins un mois d'intervalle entre chaque prise. Par ailleurs, la majorité des femmes enceintes reçoivent une MIILD à la 1^{ère} CPN, qui survient en général tardivement au cours de la grossesse (4^{ème}-5^{ème} mois de grossesse). Ainsi, les femmes enceintes restent insuffisamment voire non protégées au cours du 1^{er} trimestre de la grossesse. Pourtant, de récentes études ont suggéré que le début de la grossesse était une période à risque pour le fœtus vis-à-vis du paludisme.²² De plus, il a été récemment mis en évidence que la sélection des parasites spécifiques de la grossesse –ayant la capacité d'adhérer au placenta et responsables de la morbidité associée au PG– survenait avant la 15^{ème} SA.²¹²

A notre connaissance, très peu d'études se sont intéressées à l'impact de l'infection palustre précoce sur les issues défavorables de grossesse notamment le retard de croissance fœtal.^{17-21,23}

Ces études ont suggéré que la survenue d'une infection palustre avant 4 ou 5 mois de grossesse était néfaste pour la santé de la mère et de l'enfant, occasionnant une réduction du poids de naissance et un risque augmenté d'anémie. Toutefois, elles n'avaient pas été conçues pour répondre spécifiquement à la question des effets délétères des infections au 1^{er} trimestre. Ainsi,

les conséquences du paludisme au début de la grossesse restent mal documentées et aucune recommandation, en dehors de la moustiquaire imprégnée, n'est faite pour protéger les femmes spécifiquement au cours de cette période.

3.2. Objectifs de la thèse

L'objectif de ce travail de thèse était d'étudier l'impact du paludisme en fonction du moment de survenue des infections pendant la grossesse –notamment au 1^{er} trimestre– sur la croissance fœtale et la durée de la grossesse au Bénin. Cette thèse s'est déroulée dans le cadre du projet RECIPAL “ RETard de Croissance Intra-utérin et PALudisme ” qui a reçu un financement de l'Agence Nationale de la Recherche (ANR-13-JSV1-0004, financement 2013-2018) et la fondation Simone Beer sous l'auspice de la Fondation de France (00074147, financement 2017). Le projet RECIPAL a reposé sur le suivi d'une cohorte de 411 femmes enceintes recrutées dès la période pré-conceptionnelle et suivies jusqu'à l'accouchement.

Dans un premier article publié dans « *Paediatric and Perinatal Epidemiology Journal* » en 2018, nous avons effectué une revue exhaustive de la littérature sur la prévalence et les déterminants du RCIU en Afrique. Cette revue a été réalisée suivant la méthodologie des “ *Scoping reviews* ”, permettant d'intégrer les résultats issus de la littérature grise.

Dans un deuxième article publié dans « *BMJ Open Journal* » en 2018, nous avons présenté la cohorte RECIPAL. Nous avons décrit la zone d'étude, la procédure de collecte des données et les principales caractéristiques des femmes incluses dans l'étude.

Dans un troisième article publié dans « *The Journal of Infectious Disease* » en 2018, nous avons décrit l'épidémiologie des infections palustres au 1^{er} trimestre de la grossesse. Nous avons également déterminé les principaux facteurs de risque de survenue de ces infections précoces. Cela a permis de mieux appréhender le poids qu'elles représentent au début de la grossesse.

Dans un quatrième article, soumis dans « *The Clinical of Infectious Disease Journal* », nous avons évalué l'effet du moment de survenue des infections palustres, notamment celles du 1^{er} trimestre, sur la santé de l'enfant à la naissance et l'anémie maternelle en fin de grossesse en utilisant une modélisation dite des “ *analyses en chemins* ” (Path analysis) permettant de prendre en compte la chronologie de survenue des infections survenant pendant la grossesse.

IV. METHODOLOGIE

4.1. Généralités sur le Bénin

Le Bénin est situé en Afrique de l'Ouest. Il s'étend sur une superficie de 114 762 km² et compte 10 millions d'habitants selon le rapport du dernier recensement en 2013 (RGPH-IV). Plus de 47% de la population sont âgés de moins de 15 ans, et le taux de natalité et le taux global de fécondité étaient respectivement de 42,4‰ et 204‰ en 2006. La grande majorité de la population vit en zone rurale (INSAE- EDSB-IV).

4.1.1. Indicateurs de santé au Bénin

Le tableau 4 présente quelques principaux indicateurs de santé maternelle et infantile disponibles pour le Bénin et, plus spécifiquement, pour le Département de l'Atlantique dans lequel notre étude s'est déroulée. Ces données sont issues de la quatrième Enquête Démographique et de Santé (EDS-IV) réalisée au Bénin en 2011-2012 (INSAE-EDSV-IV). Elle a été conduite auprès de 18 000 ménages, répartis sur tout le territoire. Parmi ces ménages sélectionnés, 16 599 femmes ont été interviewées à l'aide d'un questionnaire individuel. Ces enquêtes en population, réalisées tous les cinq ans environ, sont importantes car elles permettent de faire un état des lieux des questions démographiques et sanitaires d'un pays, et de suivre l'évolution de ces indicateurs dans le temps. Toutefois, il s'agit d'enquêtes rétrospectives, dans lesquelles la validité des données collectées à l'interrogatoire est parfois sujette à des biais, de mémorisation principalement.

Tableau 4: Indicateurs de santé maternelle et infantile, Enquête Démographique et de Santé Bénin 2011-2012 (1)

	Bénin [¥]	Département de l'Atlantique
Suivi prénatal*		
Aucun	11,7%	-
≥ 1 CPN	83,6%	-
≥ 4 CPN	58,2%	-
1 ^{ère} CPN avant 4 mois de grossesse	48%	-
Nombre médian de mois de grossesse à la 1 ^{ère} CPN	3,8	-
≥ 1 échographie(s) obstétricale(s)	49,4%	55,7%
Supplémentation en fer	80,9%	87,6%
Accouchement*		
Accouchement dans un établissement de santé public	74,9%	76,3%
Césarienne	5,4%	6,4%
Petit poids de naissance**	12,7%	10%
Proportion d'avortement	3,5%	2,9%
Mort fœtale <i>in utero</i> (statistiques de 2013)	25 pour 1000 naissances	21,1 pour 1000 naissances
Indicateurs de mortalité*		
Décès maternel	204,4/10 ⁵ naissances vivantes	124,2/10 ⁵ naissances vivantes
Mortalité périnatale	7,4/10 ³ naissances vivantes	3,7/10 ³ naissances vivantes
Mortalité néonatale [§]	23/1000	-
Mortalité infantile [§]	42/1000	-
Mortalité infanto-juvénile [§]	70/1000	-
Infection par le VIH [£]		
Prévalence population générale	1,2%	1,1%
Prévalence chez la femme enceinte	0,9%	-

Tableau 4: Indicateurs de santé maternelle et infantile, Enquête Démographique et de Santé Bénin 2011-2012 (2)

		Bénin[¥]	Département de l'Atlantique
Possession d'une moustiquaire (population générale) [†]	Traitée ou non	85,5%	81,5%
	Imprégnée	79,8%	75,3%
Utilisation d'une moustiquaire la nuit précédente (femme enceinte) [†]	Traitée ou non	79,9%	83%
	Imprégnée	74,6%	76,9%

¥ 18 000 ménages sélectionnés ; 16 599 femmes et 5 180 hommes ont interviewés durant l'enquête.

* Statistiques établies parmi les femmes de 15-49 ans ayant eu une naissance vivante au cours des 5 années ayant précédé l'enquête. CPN, consultation prénatale

** Poids < 2500 g. Prévalence calculée auprès de 61% (72% dans le département de l'Atlantique) des mères interrogées. Poids basé sur un enregistrement écrit, soit sur déclaration de la mère

§ Mortalité néonatale: mortalité dans le premier mois de vie; mortalité infantile: mortalité dans la première année de vie; mortalité infanto-juvénile: mortalité dans les 5 premières années de vie.

Taux exprimé en nombre de décès/1000 naissances vivantes.

£ Enquête de séroprévalence réalisée auprès de 80% des personnes enquêtées.

† Moustiquaire imprégnée d'insecticide : moustiquaire imprégnée par le fabricant ne nécessitant aucun traitement supplémentaire ou moustiquaire réimprégnée dans les 12 derniers mois.

4.1.2. Mesures de lutte contre le paludisme au Bénin

Au Bénin, le paludisme représente environ la moitié (48,3%) des motifs de consultation chez les enfants de moins de 5 ans et un tiers des causes d'hospitalisation.²¹³ Selon les statistiques nationales de 2010, l'incidence du paludisme simple était de 138 pour 1000 habitants (547/1000 chez les enfants de moins d'un an), l'incidence du paludisme grave était de 23‰ (8,4‰ chez les enfants de moins d'un an) et le taux de létalité pour le paludisme simple et grave était de 0,9/1000 cas (2,3/1000 cas chez les enfants de moins d'un an).²¹³ Ces statistiques donnent un ordre d'idée de la prévalence du paludisme au Bénin, mais elles ne sont qu'approximatives, le diagnostic n'étant pas systématiquement confirmé biologiquement.

Le Programme National de Lutte contre le Paludisme (PNLP), qui dépend du Ministère de la Santé Publique, est l'autorité responsable de l'application et du suivi de l'ensemble des mesures de lutte contre le paludisme à l'échelon national. En Avril 2000, le Benin en collaboration avec d'autres Etats de l'Organisation de l'Union Africaine, ont signé la convention sur le partenariat « *Roll Back Malaria* » impliquant plusieurs institutions internationales dont l'OMS. Ceci a permis la mise en place de plusieurs plans stratégiques de lutte contre le paludisme avec pour objectif de réduire de 50% la morbidité et la mortalité liées à cette maladie avant la fin 2010. De nouveaux objectifs ont donc été définis sous l'initiative « *Action and Investment to Defeat malaria* » avec la perspective phare de réduire de 90% l'incidence et la mortalité palustre et d'éliminer la maladie dans au moins 35 pays d'ici 2030. Pour y arriver, les stratégies nationales de lutte contre le paludisme retenues intègrent le renforcement des méthodes de prévention multiples d'une part et l'amélioration de l'accès précoce au traitement et le diagnostic optimal du paludisme d'autre part. Comme stratégies majeures de lutte antipaludique, le Bénin a adopté:²¹⁴

(1) l'accès universel à l'utilisation effective des MIILD à travers des campagnes de distribution de masse à toute la population, la distribution de routine de MIILD aux femmes enceintes lors des CPN et aux mères d'enfants de moins d'un an lors des vaccinations de routine. Cette stratégie est renforcée par une communication de masse et de proximité au niveau communautaire. Cependant malgré les nombreux efforts fournis, moins de la moitié des femmes enceintes (45,2%) et des enfants de moins d'un an (40,8%) avait reçu une MIILD en distribution de routine en 2014. En outre, l'une des limites de cette stratégie est l'exposition externe des ménages aux piqûres de moustiques avant l'utilisation de la MIILD au coucher.

(2) la Pulvérisation Intra Domiciliaire (PID) et la lutte anti-larvaire dans les zones éligibles. La PID est considérée comme une mesure complémentaire au MIILD. Cependant, elle a connu un faible taux de couverture (réalisation dans 9 sur les 77 communes du Bénin en 2014). Cette stratégie suscite une réflexion profonde sur les éventuels problèmes écologiques notamment la destruction de certaines espèces utiles à l'équilibre du système écologique. Par ailleurs, cette stratégie fait également face au problème de résistance des vecteurs du paludisme aux insecticides et à l'acceptabilité de la PID par les populations.

(3) la prévention du paludisme chez les femmes enceintes à travers le TPIg-SP. En pratique, le TPIg est proposé aux femmes enceintes lors de leur 1^{ère} CPN sous forme d'un kit comprenant la première dose de SP, un traitement en fer (200mg/jour) et en acide folique (5mg/jour) pour un mois, une cure de mébendazole (500 mg x 2/ jour) et une MIILD. Ce kit est subventionné et vendu pour la somme moyenne de 850 FCFA (1,30 euros). Malgré son efficacité prouvée, la couverture nationale du TPIg est très faible surtout après la 1^{ère} CPN. En effet, en 2014 la proportion de femmes enceintes ayant reçu le TPIg est passé de 51,7% à la 1^{ère} CPN à 3,7% à la 2^{ème} CPN.²¹⁵ Cette baisse de prise de TPIg s'explique essentiellement par le nombre de CPN faible après la 1^{ère} consultation –d'où le nombre limité d'occasion d'administrer le TPIg– le nombre important de fausses couches tardives et d'accouchements prématurés, les problèmes

de rupture de SP en zone rurale et d'adhésion du personnel de santé en zone urbaine.²⁰¹ Au Bénin, les nouvelles recommandations de l'OMS sont largement vulgarisées depuis 2015 mais très peu implémentées dans les centres de santé.

(4) l'accès précoce au diagnostic et au traitement des cas de paludisme aux niveaux périphérique, intermédiaire et central du système sanitaire. Cette stratégie se heurte régulièrement au problème de rupture des intrants de diagnostic et de traitement.

(5) la gratuité de la prise en charge des cas de paludisme chez les enfants de moins de cinq ans et les femmes enceintes. Elle a contribué à la baisse importante de la morbi-mortalité liée au paludisme dans ces populations à risque mais pose actuellement le problème de remboursement tardif des formations sanitaires. Aussi, la mise en place de cette stratégie en 2011 aurait entraîné une surconsommation abusive des traitements antipaludiques.

4.2. La cohorte RECIPAL

4.2.1. Contexte et mise en place de la cohorte

Notre projet de thèse a été mis en place dans le cadre de l'étude RECIPAL qui repose sur le suivi d'une cohorte de 411 femmes enceintes recrutées dès la période pré-conceptionnelle et suivies jusqu'à l'accouchement. L'objectif principal de ce projet était d'évaluer les conséquences du paludisme précoce au cours de la grossesse sur la santé de la mère et de l'enfant. Plus spécifiquement, il s'agissait : (i) d'évaluer l'effet des infections palustres microscopiques et sub-microscopiques au cours des 3 premiers mois de grossesse sur la croissance fœtale, la durée de la grossesse et l'anémie maternelle; (ii) de déterminer si l'effet du paludisme sur le fœtus est modifié par le statut nutritionnel de la femme qui constitue un autre déterminant important de la croissance fœtale.

L'approche méthodologique proposée dans le cadre de RECIPAL est originale et, à notre connaissance, unique dans le domaine du paludisme gestationnel. Elle repose sur (1) le recrutement des femmes avant la conception, de manière à détecter les premières infections palustres durant la grossesse et à pouvoir dater la grossesse avec précision par l'échographie, (2) l'étude de l'effet du paludisme sur la croissance fœtale évaluée *in utero* et de façon longitudinale, (3) la prise en compte du statut nutritionnel de la femme avant et pendant la grossesse et (4) l'évaluation de l'effet des infections palustres sub-microscopiques sur la santé de la mère et de l'enfant.

L'unité mixte de recherche “Mère et Enfants face aux Infections Tropicales” (MERIT, UMR216) de l'Institut de Recherche pour le Développement (IRD)/Université Paris Descartes a été le promoteur de l'étude RECIPAL, le Dr Valérie Briand en étant l'investigateur principal. L'étude RECIPAL a été le fruit d'une collaboration entre l'unité MERIT, l'unité Nutripass (UMR204) de l'IRD/Université de Montpellier/SupAgro Montpellier, l'équipe EPOPé (Obstetrical, Perinatal, and Paediatric Epidemiology Research Team) de l'U1153 de l'Inserm (Institut national de la santé et de la recherche médicale), l'Ecole des Hautes Etudes en Santé Publique (EHESP) et deux institutions béninoises de l'Université d'Abomey-Calavi, la Faculté des Sciences de la Santé et la Faculté des Sciences Agronomiques.

4.2.2. Zone d'étude

L'étude s'est déroulée dans les communes de Sô-Ava (rurale) et d'Abomey-Calavi (semi-urbaine), situées dans le sud du Bénin, à 25 km de Cotonou, la capitale économique. La petite agriculture (maïs, arachide, manioc, maraîchage) est la principale source de revenus dans la commune d'Abomey-Calavi tandis que l'activité de pêche prédomine dans la commune de Sô-Ava qui est une zone lacustre. Le climat de la zone d'étude est subéquatorial avec deux saisons des pluies s'étendant d'avril à juillet et de septembre à novembre, avec une pluviométrie

annuelle moyenne étant d'environ 1200 mm. Le paludisme y est pérenne toute l'année et y sévit de façon hyper endémique, sa transmission est continue et intense (zone de paludisme stable), avec des pics habituellement observés après les deux saisons des pluies. *Plasmodium falciparum* est l'espèce parasitaire la plus rencontrée (97% des cas).²¹⁶ Dans cette zone, le taux d'inoculation entomologique moyen est de 2,1 piqûres infectantes d'anophèle/personne/100 nuits.²¹⁷ Les principales espèces de vecteur de paludisme sont *Anopheles gambiae ss* et *Anopheles funestus*. La commune de Sô-Ava, cité lacustre située au niveau du lac Nokoué, connaît chaque année une période de crue qui s'étend généralement d'août à novembre.

Quatre arrondissements (Sô-Ava, Vekky et Houédo dans la commune de Sô-Ava et Akassato dans la commune d'Abomey-Calavi) ont été sélectionnés pour l'étude en fonction de la densité de population dans les arrondissements et du nombre moyen de consultations prénatales et d'accouchements par mois dans les principales maternités publiques de ces arrondissements. Dans ces quatre arrondissements, la taille de la population était estimée à 124 994 habitants en 2013, incluant 17,4% (21 779) femmes en âge de procréer (18-45 ans) (INSAE-RGPH4). Nous avons par la suite travaillé dans 35 villages sur les 36 appartenant à ces quatre arrondissements en fonction de leur proximité avec les maternités.

Le recrutement des participantes à l'étude a débuté en juin 2014 et s'est terminé en décembre 2016. Le suivi de la cohorte des femmes enceintes s'est terminé en août 2017.

4.2.3. Design et population d'étude

La figure 6 présente la conception de l'étude RECIPAL avec les principaux déterminants évalués à travers un suivi pré-conceptionnel et gestationnel. La population d'étude était constituée par des femmes en âge de procréer recrutées en population générale et suivies mensuellement pendant une durée maximale de 18 mois, suivi prolongé jusqu'à 24 mois en cours d'étude. Ces femmes en âge de procréer constituaient la *cohorte initiale* de l'étude. Parmi

elles, celles devenues enceintes ont ensuite été suivies mensuellement à la maternité depuis le début de la grossesse jusqu'à l'accouchement, constituant ainsi la *cohorte finale* de l'étude.

Nous avons estimé qu'un échantillon de 466 naissances était suffisant pour mettre en évidence un risque deux fois élevé d'issues défavorables de la grossesse en cas d'infection palustre précoce¹⁷³ selon l'hypothèse d'une prévalence de 25% d'infection palustre microscopique au 1^{er} trimestre et 30% d'issues défavorables de la grossesse (PPN, PPAG, prématurité, mort-né)^{18,71,218} avec une puissance de 80% et un risque de 1^{ère} espèce de 5%. Nous avons également estimé que suivre 2000 femmes en âge de procréer (cohorte initiale) devait permettre d'identifier 510 femmes enceintes (cohorte finale) durant 18 mois de suivi dans la cohorte initiale. Ce calcul a été basé sur le taux de fertilité total de 200/1000/année au Bénin et en concédant 15% de perdus de vue après recrutement dans la cohorte initiale et de 10% dans la cohorte finale.

Toutes les femmes en âge de procréer, quelle que soit leur gestité, vivant dans la zone d'étude étaient éligibles pour être incluses dans l'étude. Pour être recrutées, les femmes devaient répondre aux **critères d'inclusion** suivants:

- Avoir un test de grossesse urinaire négatif le jour du recrutement,
- Etre âgée entre 18 et 45 ans,
- N'avoir aucune contraception durant la période,
- N'avoir aucun problème antérieur de fertilité (aménorrhée primaire ou secondaire, incapacité à concevoir depuis 10 ans ou plus, maladie abortive),
- Avoir un désir de maternité,
- N'avoir aucun voyage prévu pendant plus de 2 mois au cours des 18 mois suivant l'inclusion,
- Accepter le protocole de l'étude RECIPAL et donner son consentement éclairé écrit.

Une communication orale et écrite a été utilisée pour fournir des informations complètes à la femme et à son conjoint. Le formulaire de consentement avait été traduit en langue locale pour les couples qui étaient illettrés.

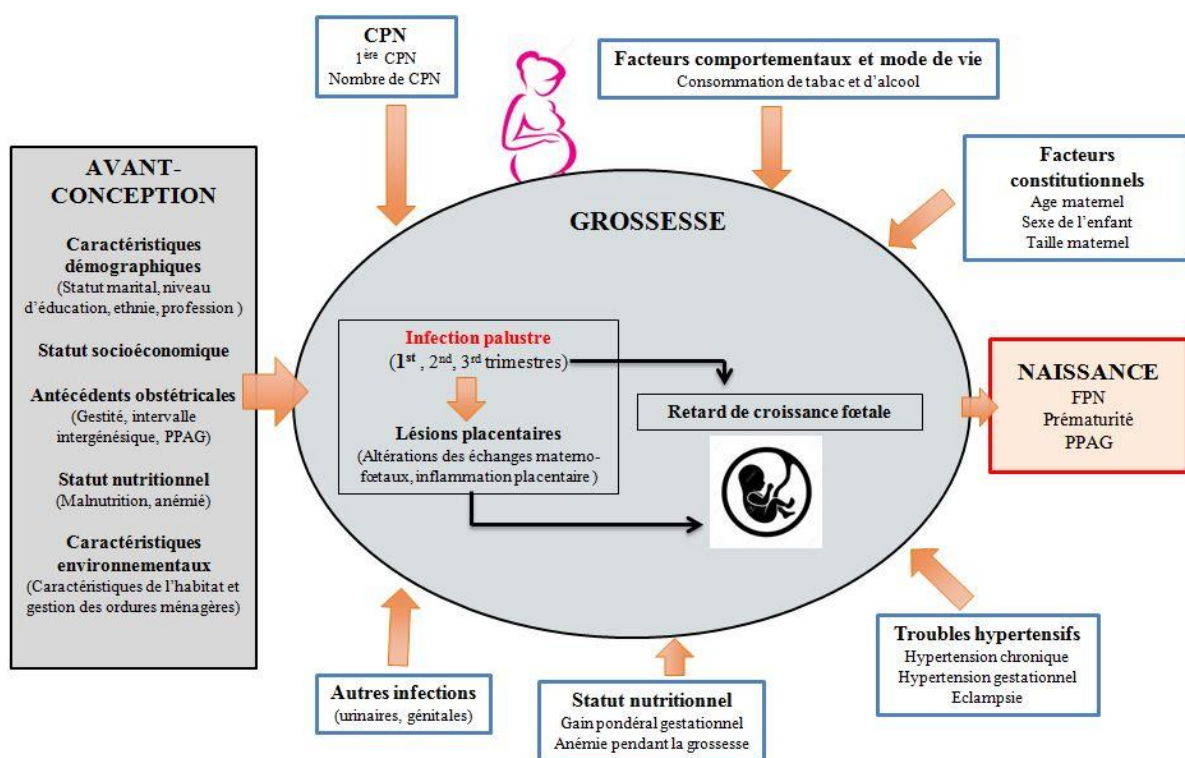


Figure 6: Conception de la cohorte RECIPAL

CPN: consultation prénatale; FPN: faible poids de naissance; PPAG: petit poids pour l'âge gestationnel

Trois procédures différentes ont été utilisées de manière concomitante pour enrôler les femmes en âge de procréer dans la cohorte initiale:

- **Première procédure:** Des campagnes de sensibilisation de type “*place grand public*” ont été organisées dans chacun des 35 villages sélectionnés pour présenter l'étude à toute la population. Les femmes intéressées étaient invitées à s'inscrire dans un registre déposé auprès du chef du village et elles étaient visitées dans leurs ménages le lendemain pour leur inclusion. Les enquêteurs de l'étude étaient en contact permanent avec les différents chefs de village pour vérifier l'enregistrement éventuel d'un couple s'étant manifesté. Les séances de sensibilisation étaient répétées plusieurs fois tout au

long de l'étude dans les villages ayant un faible score d'enregistrement. Par ailleurs, des sessions d'information ont également été réalisées dans les différents centres de santé certifiés ou accrédités des zones d'étude, qu'ils participent ou non à l'étude, afin d'accroître l'implication de la communauté et l'acceptabilité de l'étude.

- **Deuxième procédure:** Des campagnes de sensibilisation spécifiques ont été organisées avec les responsables communautaires (élus locaux, autorités sanitaires, têtes couronnées), les autorités religieuses (traditionnelles, musulmanes et chrétiennes) et les médias (principalement par le canal de la radio) pour la mobilisation sociale. Des sessions d'information ont également été faites lors de rencontres avec les différentes associations des femmes, des jeunes, des artisans et lors des séances de culte dans les églises les plus fréquentées. La population féminine était aussi informée lors des consultations prénatales à la maternité ou lors des séances de vaccination de routine du programme élargi de vaccination au centre de santé. Les femmes intéressées se rapprochaient des enquêteurs de l'étude ou des relais communautaires avec qui nous travaillions pour s'enregistrer.
- **Troisième procédure:** Cette dernière a consisté à faire du porte-à-porte pour sensibiliser et identifier les femmes éligibles et intéressées en utilisant le réseau des relais communautaires de santé. Ces relais communautaires sont des membres de la communauté, désignés par la communauté et responsables devant la communauté de leurs activités. Ils sont approuvés par les centres de santé et reçoivent de courtes formations périodiques, mais n'appartiennent pas nécessairement au corps médical. Les pisteurs, qui sont également des membres de la communauté et souvent sollicités par les centres de santé pour les activités de journées nationales et les stratégies avancées de vaccination, ont été impliqués dans l'identification et l'enrôlement des femmes en âge de procréer de leur communauté après avoir été formés.

De juin 2014 à septembre 2016, 1302 femmes en âge de procréation étaient intéressées par l'étude. Parmi elles, 1214 (93,2%) répondaient aux critères d'inclusion et ont été recrutées. Selon le recensement général de la population de 2013 et la 4^{ème} enquête démographique de santé du Bénin, nous avons estimé que les femmes incluses dans l'étude représentaient 6% du nombre total des femmes en âge de procréer vivant dans la zone d'étude. En comparant les caractéristiques sociodémographiques de base des femmes incluses dans notre étude à celles de l'étude de Dansou *et al.*,²¹⁹ qui ont utilisé les données individuelles d'un échantillon représentatif de femmes en âge de procréer incluses dans l'EDS-IV, les femmes de notre étude avaient un niveau de pauvreté plus élevé. Les autres caractéristiques sociodémographiques telles que l'âge, le niveau d'éducation, la parité et le niveau d'exposition aux médias étaient cependant similaires (Tableau 5).

Tableau 5: Comparaison des caractéristiques des femmes en âge de procréer de la cohorte RECIPAL avec les données extraites de l'enquête démographique de la santé (EDS-IV 2011/2012)

		Cohorte RECIPAL[§], N=1214 (2014-2017)	Dansou <i>et al.</i>^{*§} (2017)
		% (n)	%
Age (années)	≤ 19	3.2 (38)	4.5
	20-24	24.2 (294)	19.0
	25-29	33.6 (408)	25.8
	30-34	22.3 (271)	23.8
	≥ 35	16.7 (203)	24.2
Niveau d'éducation	Aucune	73.2	73.1
Indicateur de richesse du ménage (Quintiles) [†]	Très pauvre	35.2 (427)	22.3
	Pauvre	23.1 (281)	21.6
	Moyen	17.4 (211)	21.6
	Riche	12.4 (150)	19.5
	Très riche	11.9 (145)	15.0
Parité	0	8.8 (107)	-
	1	13.8 (167)	18.4
	2-4	47.6 (578)	51.5
	≥ 5	29.8 (362)	30.1
Exposition au média	Aucune	44.1 (536)	45.2
	Moyen	37.5 (455)	32.6
	Elevé	18.4 (223)	22.2

* N= 8,701. Données extraites de l'enquête EDS-IV de 2011-2012.

Dansou J, Adekunle AO, Arowojolu AO. Factors associated with antenatal care services utilisation patterns amongst reproductive age women in Benin Republic: An analysis of 2011/2012 Benin Republic's Demographic and Health Survey data. *Niger Postgrad Med J* 2017;24:67–74

§ Femmes âgées de 18–45 ans et 15–49 ans dans la cohorte RECIPAL et l'EDS-IV, respectivement.

† L'indicateur de richesse du ménage a été approximé dans l'étude RECIPAL en utilisant un score synthétique combinant les caractéristiques de l'habitat et les biens d'équipement possédés par le ménage, et pour l'étude de Dansou *et al.* en utilisant une analyse en composante principale.

4.2.4. Procédures de suivi et de collecte des données

La figure 7 présente les procédures de suivi et de collecte des données dans le cadre de notre étude. Il a été réalisé un suivi avant conception et tout au long de la grossesse.

4.2.4.1. Phase pré-conceptionnelle

A l'inclusion, des données sociodémographiques (âge, statut marital, lieu de résidence, ethnie, niveau de scolarisation, statut professionnel de la femme et du conjoint), économiques (biens d'équipement possédés tels que la possession de moyens de déplacement, de radio, de télévision, de téléphone, de champs, d'animaux) et les caractéristiques de l'habitat (possession d'eau, d'électricité, composition des murs et du sol, type de toilettes) étaient collectées. A cette occasion, un dépistage pour l'infection palustre, la schistosomiase urinaire, et l'infection à *Chlamydia trachomatis* et *Neisseria gonorrhoeae* était réalisé. Le taux d'Hb ainsi que des marqueurs de l'inflammation étaient dosés. Après l'inclusion dans l'étude, les femmes étaient visitées à domicile mensuellement par des agents enquêteurs formés (infirmiers et/ou sages-femmes), assistés par des relais communautaires, qui collectaient des informations sur la date des dernières règles (DDR) et réalisaient un test urinaire de grossesse (One-Step; International Holding, Germany). Les données anthropométriques maternelles étaient collectées tous les 3 mois et les apports alimentaires évalués deux fois au cours de ce suivi pré-conceptionnel. Les tests de grossesse et les visites à domicile par les enquêteurs étaient généralement bien acceptés par les ménages.

De plus, après 12 mois les femmes toujours suivies recevaient des conseils médicaux pour aider à la conception. Elles étaient invitées à la maternité pour un examen gynécologique précis en cas de signes en faveur d'une infection génitale. Après 24 mois, le suivi des femmes qui n'avaient pas pu concevoir s'arrêtait et elles étaient orientées, si elles le souhaitaient, vers un gynécologue pour une évaluation de leur fertilité.

4.2.4.2. Phase gestationnelle

Une fois enceinte, les femmes étaient suivies en CPN à la maternité tous les mois jusqu'à l'accouchement. Elles étaient encouragées à venir spontanément à la maternité pour des consultations d'urgence, en cas de symptômes quels qu'ils soient. Le staff de la maternité (en charge des consultations prénatales de routine et des examens cliniques) et les enquêteurs de l'étude (en charge de la collecte des données spécifiques à l'étude RECIPAL) étaient simultanément impliqués dans le suivi prénatal des femmes. A l'inclusion dans la cohorte finale, un dépistage VIH était effectué à la première visite prénatale. Des données cliniques, anthropométriques et obstétricales (utilisation de la MILLD, administration du TPIg, consommation d'alcool, supplémentation en micronutriment, fer, acide folique) étaient collectées à chaque visite prénatale. Par ailleurs, un dépistage du paludisme par une goutte épaisse ainsi que la recherche d'une protéinurie, d'une glycosurie et d'une infection urinaire par l'utilisation d'une bandelette urinaire (Combi-screen Analyticon, Germany) étaient systématiquement réalisés à chaque visite mensuelle. Les apports alimentaires étaient évalués une fois chaque trimestre. Au moins cinq échographies-dopplers étaient réalisées pour chaque femme enceinte. Un échantillon de sang veineux était prélevé au 1^{er} et au 3^{ème} trimestre de grossesse afin de doser les marqueurs de l'inflammation et mesurer la plombémie et la magnésémie.

A l'accouchement, les nouveau-nés étaient pesés dans l'heure suivant la naissance à l'aide d'une balance électronique numérique précise à 2 g près (SECA 757; SECA, Germany). La taille (SECA infantometer 416, Germany) et le périmètre crânien (SECA 201, Germany) du nouveau-né étaient mesurés au millimètre près. L'infection palustre était recherchée dans le sang veineux de la mère, du cordon et du placenta. Une biopsie placentaire était réalisée pour rechercher la présence de parasites et altérations placentaires liées au paludisme à l'examen histopathologique.

A partir des prélèvements sanguins et urinaires réalisés avant et pendant la grossesse, des échantillons de sang total, de sérum, de plasma ainsi que les échantillons d'urines ont été conservés entre -20°C ou -80°C avec un monitoring quotidien de la température.

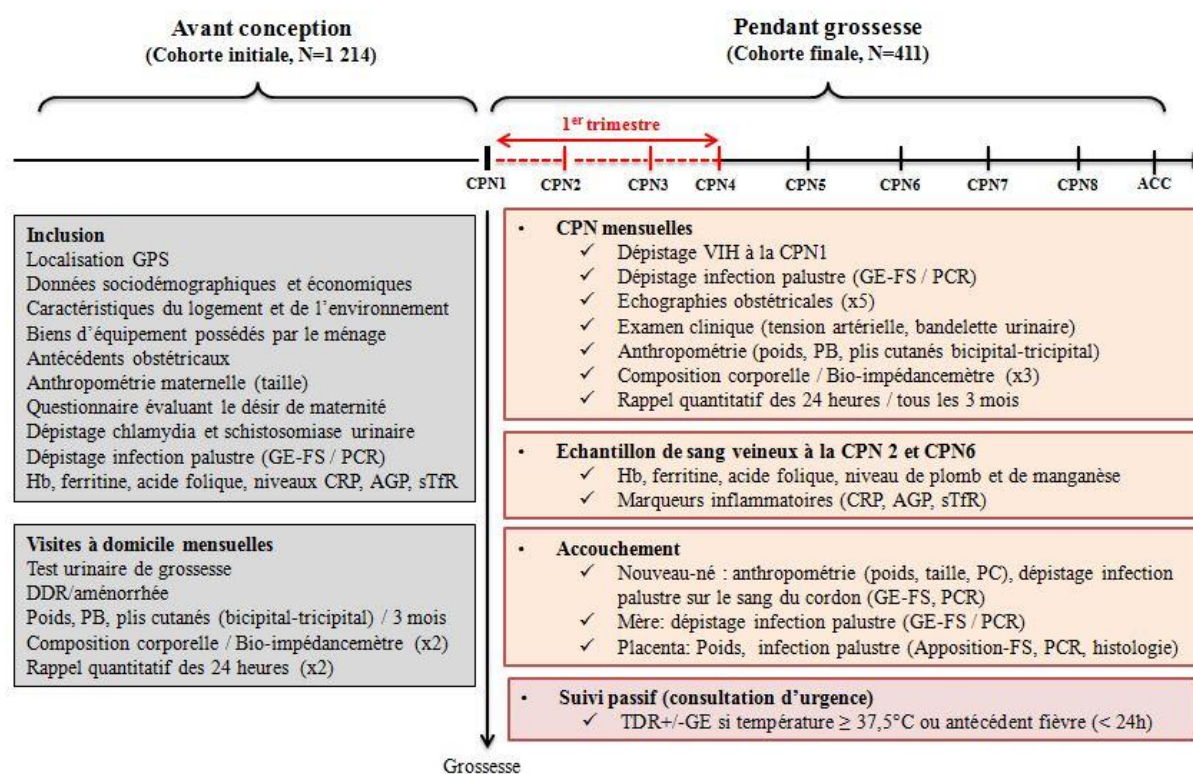


Figure 7: Procédures de collecte de données de la cohorte RECIPAL

CPN: Consultation prénatale; PCR: Polymerase chain reaction; GE-FS: Goutte épaisse-Frottis sanguin
 CRP: C-reactive protein; AGP: Alpha1-Acid Glycoprotein; sTfR: Soluble Transferrin Receptor; PC: Périmètre crânien
 GPS: Global positioning system; PB: Périmètre brachial ; Hb: Haémoglobine; DDR: Date des dernières règles; TDR: Test de Diagnostic rapide

4.2.4.3. Composantes spécifiques de l'étude

Diagnostic de l'infection palustre. Avant conception et pendant la grossesse, l'infection palustre a été recherchée par microscopie (goutte épaisse, frottis sanguin)²²⁰ et par la réaction de Polymérisation en chaîne (PCR). Par ailleurs, à n'importe quel moment de la grossesse, un test de diagnostic rapide du paludisme (Pf+pan rapid test SD Bioline Ag, IDA foundation, Netherlands; BioSynex, France) était effectué en cas de signes en faveur d'un paludisme pour un diagnostic et un traitement immédiats.

Suivi échographique. La figure 8 présente le moment de réalisation des différentes échographies et les différents paramètres étudiés. La première échographie était réalisée entre 9 et 14 SA selon la DDR enregistrée lors du suivi pré-conceptionnel. L'AG était estimé en semaines et basé sur la mesure de la longueur crânio-caudale en utilisant la courbe de Robinson comme courbe de référence.²²¹ Après cette première échographie de datation, l'AG final retenu était basé soit sur la DDR si la différence entre les deux mesures (DDR/échographie) était inférieure à 7 jours, soit sur l'échographie si la différence était supérieure à 7 jours.

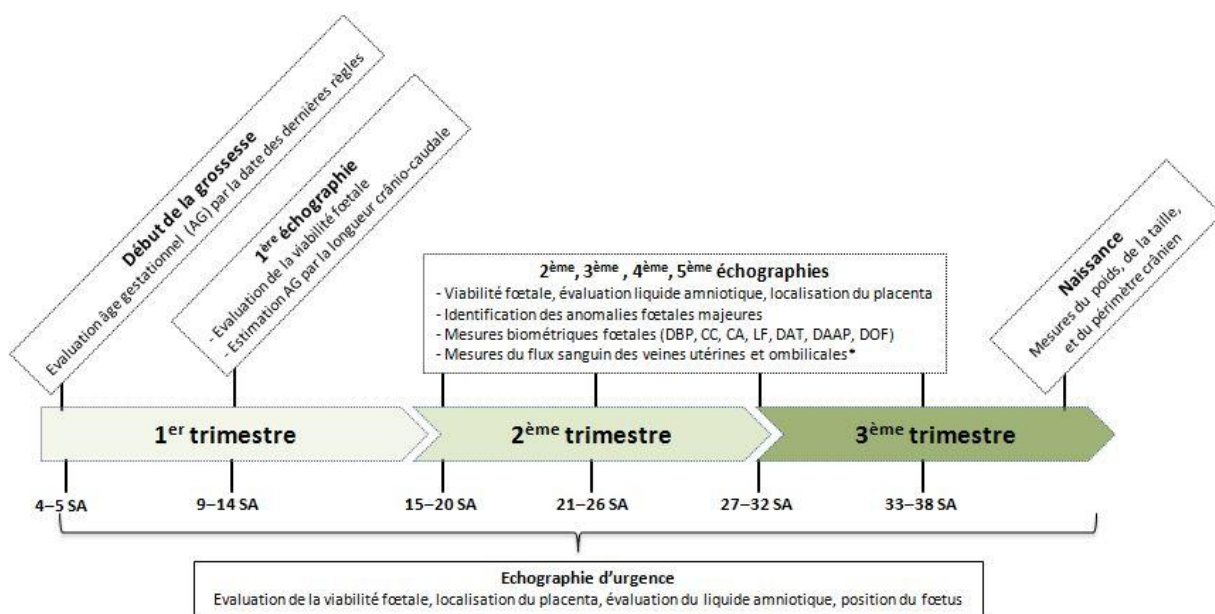


Figure 8: Suivi échographique (cohorte RECIPAL)

CC: Circonférence crânienne; CA: Circonférence abdominale; LF: Longueur fémorale; DBP: Diamètre bipariétal; DOF: Diamètre occipito-frontal; DAT: Diamètre abdominal transverse; DAAP: diamètre abdominal antéro-postérieur

* Les flux sanguins des veines utérines et ombilicales étaient respectivement mesurés à 21-25 SA et 28 SA

Quatre échographies complémentaires étaient effectuées pour évaluer la biométrie fœtale (diamètre bipariétal, circonférence crânienne, longueur fémorale, circonférence abdominale, diamètre occipito-frontal, diamètre abdominal transverse et diamètre abdominal antéro-postérieur) et mesurer les flux sanguins des veines ombilicales et utérines. Les mesures étaient effectuées conformément à la méthodologie proposée dans le projet INTERGROWTH-21st.²²² Chaque paramètre était mesuré deux fois, puis une moyenne était calculée. Une troisième mesure était effectuée lorsque l'écart entre les deux premières mesures était jugé trop important

par le médecin échographiste. Un contrôle de qualité était effectué sur 10% des mesures fœtales par un échographiste senior de l'université d'Oxford, ayant participé au projet INTERGROWTH-21st.

Mesures anthropométriques et évaluation des apports alimentaires. Les mesures anthropométriques étaient recueillies à l'aide de procédures standards déjà validées.²²³ Lors du suivi pré-conceptionnel, le poids était mesuré à domicile à l'aide d'une balance électronique avec une précision de 200 g (Tefal, France). L'ensemble du jeu des balances électroniques était étalonné trois par semaine. A la maternité, les femmes étaient pesées avec le Tanita MC-780, dispositif de mesure de composition corporelle (Tanita, Tokyo, Japan). La taille était mesurée par un gabarit de type SECA 206 (Hambourg, Allemagne), tandis que le périmètre brachial (bras gauche) était mesuré par un ruban métrique ergonomique SECA 201 (Hambourg, Allemagne). La mesure des plis cutanés était effectuée au niveau du triceps et du biceps à l'aide d'une pince à plis Holtain (Crymyeh, UK). L'ensemble du jeu de mesures était répété deux fois de suite par le même enquêteur, puis une moyenne de ses mesures était calculée. La composition corporelle, basée sur la méthode d'analyse de l'impédance bioélectrique, était évaluée à l'aide d'un analyseur de la composition corporelle multi-fréquence, Tanita MC-780, avec un dispositif de quatre électrodes couplées sur les mains et les pieds. Un contrôle de qualité des données anthropométriques était effectué périodiquement par un chercheur de l'unité Nutripass (UMR2014, IRD), en charge de la mise en place du suivi anthropométrique et alimentaire sur le projet.

Les apports alimentaires étaient évalués grâce à un questionnaire quantitatif de rappel des 24 heures en utilisant la méthode standard de passage multiple.²²⁴ Au préalable, une liste exhaustive des aliments et des recettes les plus couramment consommés a été établie à l'occasion d'une étude préliminaire sur les habitudes alimentaires des femmes dans la zone d'étude. Cette liste a été utilisée pour identifier de façon précise les aliments déclarés par les

femmes comme ayant été consommés la veille de l'entretien. Les quantités d'aliments consommés ont été estimées à l'aide de mesures de ménage incluant des ustensiles pré-calibrés, des photos alimentaires représentant différentes tailles de portion, la valeur monétaire des portions alimentaires vendues sur les marchés. Un tableau de composition des aliments et une base de données sur les recettes couramment consommées sont actuellement en cours d'élaboration. Ceux-ci permettront de déterminer l'apport en macro et micronutriments des femmes de l'étude, au vu de ce qu'elles déclarent avoir consommé. Le questionnaire du rappel des 24h était effectué avant et pendant la grossesse pour prendre en compte la variabilité intra-individuelle.

4.2.5. Techniques de laboratoire

4.2.5.1. Diagnostic microscopique du paludisme

La technique de Lambaréné a été utilisée pour le diagnostic des infections palustres.²²⁵ Elle consiste à étaler 10 µL de sang sur une surface de 1,8 cm² de lame de microscope. Chaque champ microscopique contient un volume bien défini de sang. La lame est ensuite colorée au Giemsa et lue au microscope à l'objectif 100 avec de l'huile à immersion. Le nombre moyen de parasites par champ est déterminé, puis multiplié par un facteur multiplicateur (facteur microscopique) pour obtenir le nombre moyen de parasites par µL de sang. La parasitémie est déterminée en estimant le nombre moyen de parasites par champ microscopique. Le nombre de champs microscopiques à compter dépend de la densité parasitaire (plus de 1000 parasites/champ: compter ½ champ; entre 100 et 999 parasites/champ: compter 1 champ). Cette technique de détection a une sensibilité meilleure à celle de la goutte épaisse classique.²²⁰

Dans le cadre de RECIPAL, chaque lame était lue par deux microscopiques indépendants et bien entraînés. Chacun d'eux établissait son diagnostic en aveugle des résultats de l'autre microscopiste. Une troisième lecture, par un biologiste senior, était effectuée dans les cas

suivants: (i) discordance entre les résultats des deux microscopistes, positif par l'un et négatif par l'autre; (ii) les deux microscopistes avaient estimé la parasitémie comme > 400 parasites/ μL mais le rapport des densités parasitaires entre les deux lectures était supérieur à 2; ou (iii) au moins un des microscopistes avait estimé la parasitémie comme ≤ 400 parasites/ μL et la densité la plus élevée était plus de 10 fois plus faible que celle de l'autre.

L'approche de diagnostic moléculaire était basée sur une combinaison de PCR en temps réel comprenant des amorces de gènes spécifiques, des sondes pour le codage des gènes, le small (18S) *Plasmodium* rRNA, et un système ultrasensible de détection spécifique à *Plasmodium falciparum*.²²⁶

4.2.5.2. Dépistage de l'infection à VIH

Le dépistage du VIH par des méthodes de détection rapide fait partie intégrante du suivi anténatal proposé aux femmes au Bénin. Au cours de l'étude RECIPAL, le dépistage était proposé à la femme après un counseling lors de la première CPN. En cas d'accord, il était réalisé à l'aide du test Determine® HIV-1/2 (Abbott Determine kit HIV 1 et 2 package insert) et Bioline (SD Bioline Kit HIV 1 et 2 3.0 package insert). Ces tests reposent sur une méthode immunochromatographique pour la détection qualitative par lecture visuelle des anticorps anti-VIH-1 et anti-VIH-2 dans le sérum, le plasma, ou le sang total humain. Toutes les femmes déclarées positives étaient orientées vers l'hôpital de zone pour le dosage de la charge virale et du taux de CD4. En cas de confirmation, la femme était prise en charge gratuitement selon les recommandations du programme national de lutte contre le VIH/SIDA à travers son volet prévention de la transmission mère-enfant du VIH (PTME).

4.2.5.3. Dépistage de l'hémoglobine

Le taux d'hémoglobine était déterminé par une méthode photométrique à l'aide d'un hémoglobinomètre (HemoCue®). Cette technique nécessite 8-10 μL de sang. Le dosage du taux

d'hémoglobine était réalisé une fois avant la conception, puis au 1^{er} et au 3^{ème} trimestre de grossesse.

4.2.5.4. Dépistage de la schistosomiase urinaire

L'infection à schistosomiase était recherchée par la détection des œufs de *Schistosoma haematobium* par la technique de filtration des urines (Nytrel® filter). La charge parasitaire des œufs était déterminée pour 10 mL d'urine. Une recherche de l'infection à l'inclusion dans la cohorte, puis en fin de grossesse était réalisée.

4.2.5.5. Dépistage de l'infection à chlamydia et à gonocoque

Le diagnostic d'infection à *Chlamydiae trachomatis* et d'infection à *Neisseria gonorrhoeae* reposait sur la réalisation d'une PCR (Triplex®) effectuée sur un échantillon urinaire.

4.2.6. Gestion des évènements morbides

Les évènements morbides survenus chez les femmes enceintes et leurs nouveau-nés étaient pris en charge conformément aux différentes recommandations du Ministère de la Santé du Bénin. Les cas de paludisme simple et d'anémie modérée (taux d'Hb entre 70 et 110 g/L) étaient pris en charge localement au niveau des maternités de l'étude. Par contre, les cas de paludisme grave et d'anémie sévère (taux d'Hb < 70 g/L) étaient référés vers les centres de référence, l'hôpital de zone en première intention, puis vers la clinique universitaire de gynéco-obstétrique (CUGO) et le centre hospitalo-universitaire (CHU-MEL) en seconde intention si le plateau technique était insuffisant à l'hôpital de zone.

Pendant la phase pré-conceptionnelle, les femmes infectées par la schistosomiase urinaire étaient traitées par le praziquantel en dose unique de 40 mg/kg. A l'inclusion, les femmes infectées par *P. falciparum*, qu'elles soient symptomatiques ou non, étaient traitées par l'artéméther-luméfantrine (96/480 mg) deux fois par jour pendant 3 jours. Les femmes anémiées

(taux d'Hb < 120 g/L) recevaient des comprimés de fer (200 mg) et d'acide folique (10 mg) deux fois par jour pour un traitement de 3 mois. Pour les femmes infectées par *Chlamydiae trachomatis* et *Neisseria gonorrhoeae*, elles étaient respectivement traitées par de l'azithromycine (1 g en dose unique par voie orale) et de la ceftriaxone (1 g en dose unique par voie intraveineuse). Les conjoints ainsi que les coépouses éventuelles non incluses dans RECIPAL étaient également traités en cas d'infection à *Neisseria gonorrhoeae*. Les femmes avec un statut nutritionnel faible (indice de masse corporel <17 kg/m²) avant conception, bénéficiaient de conseils alimentaires et un monitoring mensuel du poids. Elles étaient orientées vers des structures de référence pour un bilan étiologique.

Pendant la grossesse, en cas de paludisme non compliqué au 1^{er} trimestre, les femmes étaient traitées avec de la quinine par voie orale (10 mg/kg/8 heures) pendant 7 jours. Cependant, l'observance du traitement n'a pas pu être vérifiée. En cas de paludisme sévère, l'artésunate en intraveineuse était utilisée jusqu'à ce que le traitement oral soit toléré (relais par les combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine). Les infections aux 2^{ème} et 3^{ème} trimestres étaient traitées avec de l'artéméther-luméfantrine pendant 3 jours. En cas de persistance de symptômes de paludisme, une goutte épaisse de contrôle était réalisée 3 jours après le début du traitement. Le traitement de l'anémie pendant la grossesse dépendait du niveau du taux d'hémoglobine. Les femmes recevaient 200 mg de sulfate de fer, deux fois par jour, pendant 3 mois en cas d'anémie modérée ou étaient référées dans un hôpital de référence en cas d'anémie sévère. Par ailleurs, selon les recommandations nationales, toutes les femmes recevaient une supplémentation en fer (200 mg/jour) et en acide folique (5mg/jour) jusqu'à l'accouchement pour prévenir l'anémie gestationnelle. Tous les médicaments administrés pour le traitement des infections palustres, de la schistosomiase urinaire et de l'anémie, ainsi que les affections en relation avec la grossesse étaient pris en charge par le projet.

4.2.7. Organisation du travail

L'étude s'était déroulée en communauté ainsi que dans la maternité du centre de santé de commune de Sô-Ava, le centre de santé d'arrondissement d'Akassato et de Houédo et le centre Saint Joseph de Sô-Tchanhoué. Le service de gynéco-obstétrique du centre hospitalo-universitaire d'Abomey-Calavi (hôpital de zone), la CUGO du centre national hospitalo-universitaire Hubert-Koutoukou-Manga (CNHU-HKM) et le CHU-MEL, principaux centres de référence de la zone d'étude, étaient impliqués dans la prise en charge des femmes enceintes en cas d'évènement morbide grave. L'équipe de terrain était composée de 29 personnes permanentes en charge du volet clinique, anthropométrique, biologique et échographique du projet; celle-ci incluait l'investigateur principal, 1 médecin coordonnateur, 1 chercheur-immunologiste senior, 1 médecin superviseur, 5 infirmiers/sages-femmes enquêteurs, 1 chercheur biostatisticien, 4 relais communautaires recrutés spécifiquement pour le projet, 1 barreur pour la conduite de la barque motorisée, 4 médecins gynécologues qui ont travaillé en alternance pour la réalisation des échographies, 2 agents de saisie et 2 ingénieurs de laboratoire. Par ailleurs, 6 personnes permanentes étaient en charge du volet nutritionnel (2 médecins chercheurs nutritionnistes, 1 ingénieur agronome titulaire, 1 ingénieur agronome superviseur et 2 agents enquêteurs). Cette équipe était appuyée, pour le recrutement des femmes de la cohorte initiale, par 35 pisteurs identifiés dans les différents villages participants. Le personnel de l'enquête a travaillé en étroite collaboration avec les sages-femmes des différentes maternités incluses dans l'étude.

4.2.7.1. Phase pré-conceptionnelle

Chaque enquêteur était responsable du suivi d'un sous-échantillon de la cohorte initiale (~ 243 femmes en âge de procréer par enquêteur). Des visites à domicile (VAD) étaient programmées pour les enquêteurs (~ 159 VAD/mois/enquêteur) par le médecin coordonnateur aidé du médecin superviseur. A chaque visite réalisée, la visite suivante était programmée en accord

avec la femme et selon le protocole de l'étude. Quelques jours avant la visite, l'enquêteur appelait chaque femme par téléphone pour confirmer la date et l'heure de la visite. Pour celles qui n'étaient pas joignable par téléphone, une liste était établie et envoyée aux relais communautaires qui rendaient visite aux femmes dans leur ménage. Les procédures suivantes étaient appliquées lorsqu'une femme restait injoignable par téléphone et physiquement:

- En cas d'absence due à ses activités quotidiennes, l'enquêteur sur le terrain planifiait une autre visite dans les prochains jours et demandait à un membre du ménage, d'avertir la femme de la visite. Lorsque le délai risquait d'être dépassé conformément au protocole, les relais communautaires repassaient en fin de journée, dans la soirée, pour revoir la femme.
- Lorsqu'une femme prévoyait de voyager pour une durée de moins de 7 jours, l'enquêteur contactait la femme et planifiait une autre date de visite avec elle à son retour. Lorsque le voyage devait durer plus de 7 jours, un test de grossesse urinaire était réalisé avant le départ. En cas de test positif, la 1^{ère} CPN était effectuée avant le départ; en cas de résultat négatif, une nouvelle visite était prévue pour le retour de la femme dans les deux mois suivants.
- Une visite mensuelle était considérée “manquante” lorsqu'elle n'était pas réalisée dans les 21 jours suivant la date prévue malgré les visites de rappel de l'enquêteur sur le terrain (Figure 9).

Dans les situations suivantes, la femme était exclue du suivi: trois visites mensuelles successives manquées, ou deux visites mensuelles successives manquées mais avec un test de grossesse positif à son retour de voyage.

Nous avons considéré que le suivi pré-conceptionnel était **complet** si la femme avait été suivie jusqu'à la survenue d'une grossesse, ou suivie sans interruption depuis son entrée dans la cohorte

initiale –pour une durée maximale de 24 mois– sans survenue d'une grossesse. Selon la date d'entrée dans la cohorte, les femmes ayant complété le suivi ont suivies entre 4 et 24 mois.

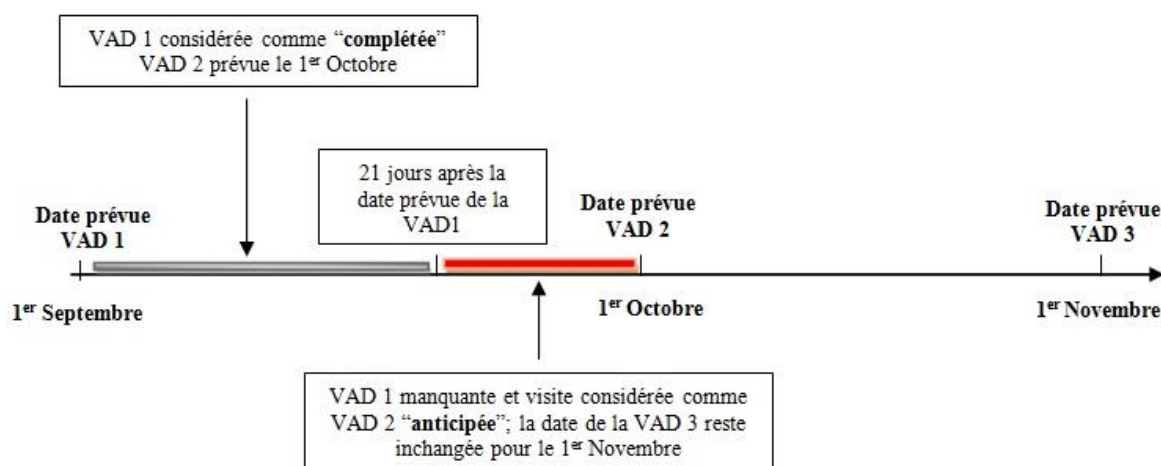


Figure 9: Procédures visite à domicile avant grossesse (cohorte RECIPAL)

VAD: Visite à domicile

4.2.7.2. Phase gestationnelle

Les sages-femmes étaient en charge du suivi prénatal habituel des femmes. Celui-ci avait lieu chaque mois ou chaque 6 semaine en fonction du moment de réalisation des échographies. Nos enquêteurs renvoyaient les femmes après la consultation de la sage-femme, à la maternité, pour recueillir des informations spécifiques à l'étude RECIPAL. En cas de visite manquée, les procédures étaient les mêmes que lors du suivi pré-conceptionnel. Nous avons considéré que le suivi gestationnel était **complet** lorsque la femme avait été suivie jusqu'à l'accouchement.

Pour les deux phases, le suivi était donc considéré **incomplet** en cas de pertues de vue (2 à 3 visites consécutives manquées durant la période pré-conceptionnelle et aucune information pendant plus de 3 mois pendant la grossesse), de migration hors de la zone d'étude, et lorsqu'aucune donnée n'était disponible à l'accouchement, le plus souvent à la suite d'une fausse couche.

4.2.8. Difficultés rencontrées pendant le suivi

Le recrutement des femmes en âge de procréer dans la cohorte initiale a été interrompu plus tôt que prévu. La période de recrutement a duré 9 mois de plus que prévu dans le protocole (27 mois vs. initialement 18 mois), mais elle n'a pas pu être prolongée pour des contraintes essentiellement financières. En outre, en raison de contraintes liées à la conception de l'étude et au contexte socioculturel local, une proportion non négligeable, 36,5% (444/1214) des femmes en âge de procréer n'ont pas pu compléter le suivi pré-conceptionnel. Au final, le nombre de femmes en âge de procréer et de femmes enceintes recrutées dans l'étude a été beaucoup plus faibles que prévu (1214 vs. 2000 femme en âge de procréer; 411 vs. 510 femmes enceintes). Les difficultés de recrutement et les raisons de retrait de consentement ont été les suivantes:

- **Les contraintes liées à la conception de l'étude**

Pour être recrutées dans l'étude, les femmes devaient accepter ne pas voyager hors de la zone d'étude plus de 2 mois d'affilée pendant l'étude. Les femmes ayant eu 3 visites à domicile successives manquantes ou 2 visites manquantes avec un test de grossesse positif au retour de voyage étaient exclues du suivi pré-conceptionnel. Chez les femmes dont le suivi a été incomplet, 31,1% (138/444) avaient migré de la zone d'étude pendant plus de 2 mois et ont dû être exclues de l'étude. Ce fort flux migratoire s'explique par le fait que la commune de Sô-Ava est une cité lacustre où l'activité rémunératrice principale est la pêche. En effet, pendant la période de forte activité de pêche (3 à 4 mois/an), de nombreuses femmes se rendaient dans la cité de Makoko au Nigéria pour le commerce de poisson. Dans notre étude, 63,2% (86/138) des femmes qui avaient migré avaient pour destination finale le Nigéria.

La seconde grande contrainte de l'étude a été la longue durée du suivi pré-conceptionnel. Parmi les femmes qui ont retiré leur consentement de l'étude, 36% (98/272) d'entre elles avaient déclaré être fatiguées du suivi et être déçues de n'avoir pas été vite enceintes. Aucun médication

particulière, ni intervention spécifique n'était administrée ou mise en œuvre dans le cadre du projet pour aider les femmes à concevoir; seuls des conseils médicaux et un examen gynécologique, en cas de symptômes évoquant une infection génitale, étaient réalisés.

Au cours de la grossesse, la principale contrainte était liée au nombre de CPN. En effet, neuf CPN étaient planifiées pour chaque femme. A chaque CPN, une goutte épaisse et un frottis sanguin étaient réalisés sur du sang capillaire sauf à la 2nde (au 1^{er} trimestre) et à la 6^{ème} (au 3^{ème} trimestre) CPN où un prélèvement veineux était réalisé. Le nombre moyen de CPN dans notre étude a été de 8,1 (SD $\pm$ 2,8, range: 1-15). Bien que l'ensemble des femmes enceintes étaient satisfaites du suivi pendant la grossesse, certaines ont retiré leur consentement pour des raisons d'indisponibilité liées au nombre trop élevé de CPN prévu.

- **Les réalités socioculturelles africaines**

Soixante-quatre pourcent (174/222) des femmes ont refusé de continuer à participer à l'étude en raison des rumeurs concernant les prélèvements de sang et de placenta, ainsi que de soupçons concernant les soins médicaux qui étaient fournis gratuitement par le projet. En effet, tout au long de l'étude, et principalement au début de l'étude, des rumeurs ont circulé au sujet de la quantité et du nombre de fois où le sang était collecté et son utilisation à des fins religieuses "vodoun". Ces fausses rumeurs ont, à de rares occasions, été exacerbées par la survenue d'évènements morbides graves que la population a attribué à l'étude. Grâce aux nombreuses campagnes de sensibilisation dans les villages, à l'appui des autorités locales politiques et sanitaires, des chefs religieux, ainsi que l'organisation des visites dans nos différents laboratoires par les élus locaux et les sages des villages, nous avons pu circonscrire—sans les arrêter complètement— ces fausses rumeurs (Figure 10). La forte proportion d'analphabètes (> 70%) et la « peur systématique de l'étranger » de la part de la population Toffin, qui était l'ethnie prédominante, a fortement contribué à la propagation de ces rumeurs. Les craintes concernant

la manipulation du placenta ont été la source de nombreuses réticences à continuer le suivi jusqu'à l'accouchement. Cela a déjà été rapporté dans la littérature dans de nombreuses communautés africaines.^{227,228} En effet, dans le projet RECIPAL, une biopsie du placenta pour l'examen anatomo-pathologique de celui-ci, et un prélèvement de 4 mL de sang placentaire étaient réalisés à la recherche d'une infection palustre; le placenta était rendu à la famille aussitôt après l'accouchement. Tout au long de l'étude, des informations sur l'utilité et la méthode de prélèvement placentaire étaient données à la femme et à sa famille. Malgré ces précautions, le prélèvement du placenta a été aussi une cause importante de refus de continuer de participer à l'étude, le plus souvent au moment de l'accouchement.

La pression sociale exercée par les membres de la famille était également source de retrait de consentement. Dans la mesure du possible, le conjoint de la femme et les membres de la famille (notamment la belle-mère) étaient impliqués dans les différentes étapes du suivi. Pour de nombreuses femmes, l'accord de la famille était nécessaire pour leur participation à l'étude et pour le suivi mensuel à la maternité jusqu'à l'accouchement. Par ailleurs, dans le projet RECIPAL, les femmes ont bénéficié d'une prise en charge gratuite des pathologies liées à la grossesse, détectées soit dans le cadre du suivi programmé, soit lors des consultations d'urgence et à l'accouchement. Cela était parfois une raison de retrait de consentement, à la demande du conjoint et non de la femme. En effet, 17.4% (8/46) des conjoints des femmes enceintes durant la grossesse ont refusé que leur femme continue le suivi sous prétexte que « la belle-famille les jugeait incapables de prendre soin de leur fille, raison pour laquelle ils acceptaient la gratuité du projet ».

Il est important de souligner d'autres difficultés mineures rencontrées au cours de l'étude. La première a été relative aux conditions d'accessibilité de certains ménages au centre de santé lors de la période de crue, qui dure en moyenne 3 mois par an. En effet, chaque année d'août à novembre on observe une montée des eaux dans la commune de Sô-Ava, obligeant de

nombreux ménages à changer de domicile au sein de la zone, et rendant ainsi la logistique de l'étude plus difficile. Une difficulté concernait le changement de l'ensemble de l'équipe d'enquêteurs 6 mois après le début du projet, ces derniers ayant été recrutés dans la fonction publique sur la base d'un concours passé deux ans plus tôt (Figure 10).

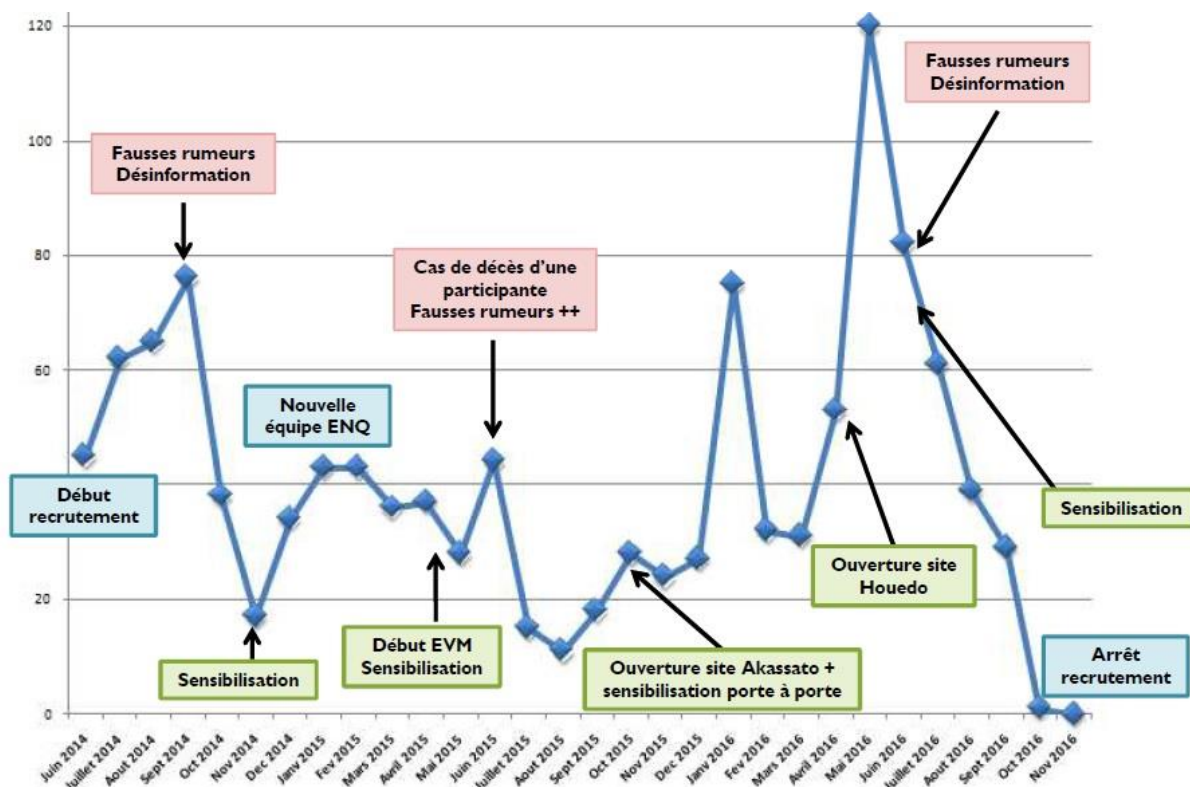


Figure 10: Rythme de recrutement pendant la phase pré-conceptionnelle
(Difficultés et actions mis en place)

4.2.9. Attrition de la cohorte

La figure 11 présente le diagramme de flux de la cohorte RECIPAL. De Juin 2014 à Septembre 2016, 1302 femmes en âge de procréer ont manifesté leur désir et/ou ont été approchées pour participer à l'étude. Parmi elles, 1214 femmes (93,2%) remplissaient les critères d'inclusion et ont été recrutées; 88 femmes (6,8%) n'ont pas pu être incluses principalement parce qu'elles avaient un test de grossesse positif à l'inclusion (63,6%) ou un problème déclaré de fertilité (14,8%).

Parmi les 1214 femmes en âge de procréer enrôlées dans la cohorte initiale pré-conceptionnelle, 411 femmes (33,9%) sont devenues enceintes, 359 (29,6%) ont complété le suivi sans grossesse et 444 (36,6%) n'ont pas pu terminer le suivi principalement à cause de retraits de consentement (61,3%, 272/444) et de migrations hors de la zone d'étude (31,1%, 138/444) qui sont survenus, respectivement, après 5,2 et 6,3 mois de suivi en moyenne.

Au cours du suivi gestationnel, sur les 411 femmes devenues enceintes, 273 femmes (66,4%) ont terminé le suivi et des informations à l'accouchement ont pu être collectées; 17,5% (72/411) ont fait une fausse couche spontanée et 3 femmes (0,7%) ont eu une grossesse non viable (2 avortements thérapeutiques et 1 grossesse extra-utérine); 63 femmes n'ont pas terminé leur suivi à cause d'un retrait de consentement (46/411, 11,2%) ou d'une migration hors de la zone d'étude (17/411, 4,1%). Dans notre étude, la prévalence des fausses couches dans notre étude était élevée, environ la moitié (47,2%, 34/72) survenant avant 6 SA. Ces données sont relativement uniques pour l'ASS, En effet, parce que la grossesse n'est pas systématiquement dépistée précocement et en raison d'un recours tardif des femmes enceintes à la maternité, les fausses couches sont généralement sous-déclarées.

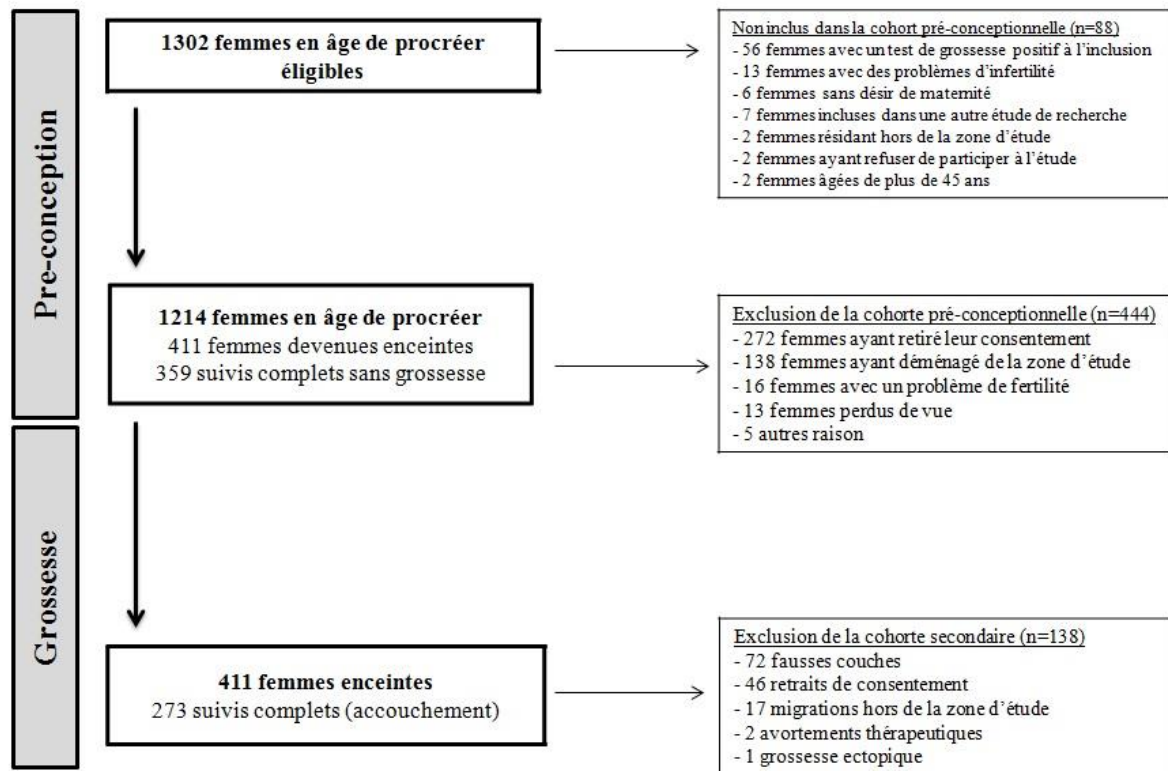


Figure 11: Diagramme de flux (cohorte RECIPAL)

4.2.10. Gestion de données

Les données ont été saisies en temps réel par deux opérateurs indépendants sur le logiciel Access (Microsoft, version 2007). Les différentes bases étaient périodiquement vérifiées par le médecin coordinateur, data manager du programme. Toutes les informations collectées auprès des femmes étaient confidentielles et uniquement transmises au personnel de l'étude ou au personnel de santé des maternités. L'accès aux bases était restreint au gestionnaire de données jusqu'à la fin de l'étude. Ces différentes bases étaient sauvegardées toutes les semaines sur deux disques durs externes et sur un serveur sécurisé. Les données collectées dans les cahiers d'observation (CRFs) étaient régulièrement vérifiées (> 1 fois/semaine) par le médecin-coordonnateur et le médecin superviseur. Ainsi, la qualité des données était vérifiée en deux étapes: la première consistait, chaque semaine, en la vérification (données manquantes et/ou incohérentes) par le médecin-superviseur et le médecin coordonnateur de toutes les visites

réalisées reportées dans le CRF; la seconde, faite par le data manager après la saisie des données, consistait à la validation de la double saisie et l'établissement d'un rapport incluant les discordances, les données dupliquées et les valeurs manquantes et incohérentes. Ce rapport était régulièrement envoyé au médecin superviseur qui était responsable de la correction des erreurs relevées avec l'aide des enquêteurs.

4.2.11. Aspects éthiques

Le projet RECIPAL a été approuvé par le comité éthique de l'Institut des Sciences Biomédicales Appliquées (ISBA) et a reçu la clairance éthique du comité consultatif de déontologie et d'éthique de l'IRD. Avant inclusion, l'étude était expliquée à chaque participante, en français ou en langue locale (Toffin, Aizo, Fon) pour celles qui ne comprenaient pas le français. En cas d'accord de participation, une notice d'information était remise à la femme et le consentement éclairé signé par la femme (ou par un témoin impartial en cas d'illettrisme) était recueilli. Une copie de ces deux documents était remise à la femme et l'autre conservée au niveau du site de l'étude. Pendant toute l'étude, les femmes pouvaient volontairement et librement se retirer de l'étude.

4.2.12. Mon implication sur le projet

J'ai commencé à travailler sur le projet RECIPAL 6 mois avant le début de ma thèse en tant que médecin-coordonateur de l'étude. En Octobre 2014, j'ai débuté ma thèse sur le projet RECIPAL et j'ai continué en parallèle la fonction de médecin-coordonateur. Mon travail de thèse a été réalisé conjointement entre le Bénin et la France. Au cours des 4 années de thèse, j'ai été en charge de:

- la mise en place de l'étude dans les 35 villages, répartis sur trois sites différents, l'organisation des campagnes d'information, de sensibilisation et de mobilisation sociale, la formation des enquêteurs sur le terrain, la supervision et le suivi de la cohorte

(des femmes en âge de procréer et des femmes enceintes) d'un point de vue logistique, épidémiologique, clinique, administratif et financier;

- la création et la gestion de la base de données, ainsi que la supervision des agents de saisie;
- l'analyse statistique des données de l'étude ;
- le co-encadrement d'un étudiant béninois avec le Dr Valérie Briand pour sa thèse d'exercice de médecine réalisée dans le cadre du projet RECIPAL;
- la rédaction (ou participation à la rédaction) de six articles, dont quatre relatifs à mon sujet de thèse et deux portant sur des études ancillaires.

Par ailleurs, j'ai participé à la mise en place de deux études ancillaires au projet RECIPAL : le projet EVALMOUS (financement Initiative 5% du Fonds Mondial, coordination UMR216) portant sur l'utilisation et l'efficacité des moustiquaires au début de la grossesse; le projet SEPSIS (financement bioMérieux, coordination UMR216 et UMR9198) portant sur l'impact du paludisme gestationnel et du RCIU sur la morbidité et le développement de l'immunité du jeune enfant. Ce dernier projet a reposé sur le suivi d'une partie des enfants nés des femmes incluses dans le projet RECIPAL.

Enfin, entre 2016 et 2017, j'ai rédigé et soumis pour financement (Fondation Groupe Pasteur Mutualité et Fondation des Treilles) un projet ancillaire portant sur la prévalence et les déterminants des fausses couches précoces au Bénin. L'ensemble de mon travail de thèse a été réalisé sous la supervision du Dr Valérie Briand et du Dr Michel Cot. Mon travail a été rendu possible grâce au soutien financier du réseau doctoral de l'EHESP par lequel j'ai obtenu un contrat doctoral et par la Fondation des Treilles à travers son prix "Jeunes Chercheurs" dont j'ai été lauréat en 2018.

4.2.13. Article 2 Accrombessi *et al.*, BMJ Open 2018

4.2.13.1. Problématique de l'article 2

La cohorte RECIPAL représente à ce jour une ressource unique qui fournit des informations importantes sur les facteurs de risque infectieux (paludisme inclus), biologiques, nutritionnels et environnementaux influençant la santé des femmes en âge de procréer, des femmes enceintes et de leurs nouveau-nés. Celle-ci contribuera à mieux définir les recommandations futures pour la prévention de l'infection palustre au début de la grossesse et de la malnutrition maternelle en Afrique. Elle confirme qu'il est possible de constituer une cohorte de femmes enceintes recrutées dès la période pré-conceptionnelle et fournit des informations précieuses pour la mise en place des futures études sur la période péri-conceptionnelle. Ainsi, il nous a paru pertinent de publier la méthodologie de l'étude ainsi que les difficultés rencontrées et les solutions envisagées. Cet article présente également les principales caractéristiques des femmes des deux cohortes.

4.2.13.2. Résumé des résultats de l'article 2

Caractéristiques générales des femmes au cours de la période pré-conceptionnelle

A l'inclusion, les femmes étaient âgées en moyenne de 27,8 ($\pm$ 5,5) ans et 8,8% d'entre elles étaient nulligestes. La majorité d'entre elles (73,1%) vivaient à Sô-Ava, l'ethnie Toffin était la plus représentée. Environ trois quarts des femmes (73,2%) étaient sans éducation et vivaient pour la plupart dans un foyer monogame (60%). A l'inclusion dans l'étude, près de la moitié d'entre elles (49,1%) étaient anémiées et 38% avaient un indice de masse corporelle en dehors des normes recommandées par l'OMS. Un quart des femmes (24,7%) étaient infectées par la schistosomiase urinaire. La prévalence des infections palustres était de 5,7%.

La durée moyenne de suivi au cours de la période pré-conceptionnelle était de 5,9 mois (médiane: 7,1; range: 0,49-23,7). Le délai médian nécessaire pour concevoir était de 12,3 mois

et le taux d'incidence de fertilité était de 5,4 grossesses pour 100 personnes-mois (IC 95% 4,9-5,9). La probabilité de concevoir après 5, 10, 15 et 20 mois de suivi était respectivement de 24,5% (IC 95% 21,9-27,4); 42,1% (IC 95% 38,6-45,9); 56,6% (IC 95% 52,1-61,1) et 62,8% (IC 95% 57,6-68).

Caractéristiques générales des femmes pendant la grossesse

Les femmes enceintes ont été identifiées à 6,9 SA en moyenne, et ont bénéficié de 7,5 CPNs chacune en moyenne. La prévalence des infections palustres microscopiques au cours du 1^{er}, 2^{ème} et 3^{ème} trimestre était respectivement de 25,4%, 19,4% et 16,1%. Environ la moitié des femmes (44,9%) avaient été infectées au moins une fois pendant la grossesse. La proportion de femmes présentant une infection palustre placentaire était de 7,8%. Plus de la moitié des femmes (65,7%) avaient reçu au moins 2 doses de TPIg. Parmi les autres déterminants de la croissance fœtale: 57,9% des femmes avaient eu un gain pondéral inadéquat pendant la grossesse; 3,4%avaient présenté une hypertension gestationnelle et quatre femmes (0,1%) avaient été dépistées positives pour l'infection VIH. Durant la grossesse, 68,6% des femmes étaient anémiées. La prévalence de PPN, de PPAG (selon la courbe INTERGROWTH-21st) et de prématurité était respectivement de 9,3%; 18,3% et 12,6%.

4.2.13.3. Article 2: Accrombessi et al. –BMJ Open –2018

BMJ Open Cohort profile: effect of malaria in early pregnancy on fetal growth in Benin (RECIPAL preconceptional cohort)

Manfred Accrombessi,^{1,2} Emmanuel Yovo,² Gilles Cottrell,¹ Gino Agbota,^{1,2} Agnès Gartner,³ Yves Martin-Prevel,³ Nadia Fanou-Fogny,⁴ Diane Djossinou,^{3,4} Jennifer Zeitlin,⁵ Nicaise Tuikue-Ndam,¹ Florence Bodeau-Livinec,^{5,6} Sandrine Houzé,^{1,7} Nicola Jackson,⁸ Paul Ayemonna,⁹ Achille Massougbodji,² Michel Cot,¹ Nadine Fievet,¹ Valérie Briand¹

To cite: Accrombessi M, Yovo E, Cottrell G, *et al.* Cohort profile: effect of malaria in early pregnancy on fetal growth in Benin (RECIPAL preconceptional cohort). *BMJ Open* 2018;**8**:e019014. doi:10.1136/bmjopen-2017-019014

► Prepublication history and additional material for this paper are available online. To view these files, please visit the journal (<http://dx.doi.org/10.1136/bmjopen-2017-019014>).

Received 7 August 2017
Revised 25 October 2017
Accepted 10 November 2017

ABSTRACT

Purpose RETard de Croissance Intra-uterin et PALudisme (RECIPAL) is an original preconceptional cohort designed to assess the consequences of malaria during the first trimester of pregnancy, which is a poorly investigated period in Africa and during which malaria may be detrimental to the fetus.

Participants For this purpose, a total of 1214 women of reproductive age living in Sô-Ava and Akassato districts (south Benin) were followed up monthly from June 2014 to December 2016 until 411 of them became pregnant. A large range of health determinants was collected both before and during pregnancy from the first weeks of gestation to delivery. Five Doppler ultrasound scans were performed for early dating of the pregnancy and longitudinal fetal growth assessment.

Findings to date Pregnant women were identified at a mean of 6.9 weeks of gestation (wg). Preliminary results confirmed the high prevalence of malaria in the first trimester of pregnancy, with more than 25.4% of women presenting at least one microscopic malarial infection during this period. Most infections occurred before six wg. The prevalence of low birth weight, small birth weight for gestational age (according to INTERGROWTH-21st charts) and preterm birth was 9.3%, 18.3% and 12.6%, respectively.

Future plans RETard de Croissance Intra-uterin et PALudisme (RECIPAL) represents at this time a unique resource that will provide information on multiple infectious (including malaria), biological, nutritional and environmental determinants in relation to health outcomes in women of reproductive age, pregnant women and their newborns. It will contribute to better define future recommendations for the prevention of malaria in early pregnancy and maternal malnutrition in Africa. It confirms that it is possible to constitute a preconceptional pregnancy cohort in Africa and provides valuable information for researchers starting cohorts in the future.

INTRODUCTION

Malaria in pregnancy is associated with a wide range of deleterious effects in women and their offspring. In Sub-Saharan African (SSA)

Strengths and limitations of this study

- A unique cohort combining highly detailed, high-quality health-related information on the pregnancies of approximately 400 women recruited in the preconception period, with a substantial related biobank of plasmas, placental and other samples.
- Preconceptional design allowing the early identification and follow-up of pregnant women: screening of women for both microscopic and submicroscopic malaria from the first weeks of pregnancy; accurate estimation of gestational age by using early obstetrical ultrasound scan and collection of some important factors influencing fetal growth such as prepregnancy nutritional status and gestational hypertensive disorders.
- Collection of valuable information for the implementation of future preconceptional cohorts in Africa.
- High attrition in the preconceptional cohort, with a possible impact on the external validity of some findings.
- Reduced sample size at delivery due to a high proportion of spontaneous abortion, with a possible lack of power for analyses on birth outcomes.

countries, preventive strategies are based on long-lasting insecticide-treated bed nets (LLITNs) and intermittent preventive treatment in pregnancy (IPTp). IPTp consists in the administration of sulfadoxine-pyrimethamine (SP) at each antenatal care (ANC) visit from the second trimester of pregnancy onwards.¹ LLITN are distributed at the first ANC visit, which generally occurs around 4–5 months of pregnancy.² Therefore, pregnant women remain unprotected or insufficiently protected during the first months of pregnancy and particularly during the first trimester. However, this period may be a high-risk period for the fetus if pregnancy-associated malarial parasites



CrossMark

For numbered affiliations see end of article.

Correspondence to

Dr Valérie Briand;
valerie.briand@ird.fr

accumulate into the placenta during trophoblast differentiation and vascular remodelling of the uterus.^{3,4} Impaired placentation may then contribute to fetal growth restriction and low birth weight (LBW).

Few studies have investigated malaria in early pregnancy, and while some have shown an adverse effect on birth outcomes, this has not been consistent.⁵ In Burkina Faso and in Benin, malarial infection in the first trimester⁶ or before 4 to 5 months of pregnancy^{7,8} has been associated with a higher risk of LBW or a decrease in birth weight. Conversely, such association was not reported in Uganda and Malawi,^{9,10} but the number of women screened in the first trimester was low in these two studies. One of the problems in interpreting this existing literature relates to the challenges of recruiting women early in pregnancy; most of the studies were not designed to assess the consequences of malaria early in pregnancy and therefore women were generally recruited late in the first trimester, which may lead to misclassification errors and underestimation of exposure. Besides, using LBW as a proxy for fetal growth restriction (FGR) can lead to the overestimation of FGR prevalence and possible bias when estimating the effect

of malaria. Finally, maternal nutrition is one of the main factors influencing fetal growth in developing countries.¹¹ Therefore, adjusting for this factor when assessing the effect of early malaria on FGR is important. As well, a recent study has suggested a higher risk of FGR due to malaria in undernourished women.¹²

The REtard de Croissance Intra-uterin et PALudisme (RECIPAL) study aimed to assess the effect of malaria (both microscopic and submicroscopic) in the first trimester of pregnancy on both the mother and the fetus, with a focus on fetal growth, by following a cohort of pregnant women recruited before conception. Moreover, it also aimed at assessing the influence of the woman's nutritional status in the relationship between malaria in early pregnancy and birth outcomes.

COHORT DESCRIPTION

Study setting

The study cohort is currently conducted in the districts of Sô-Ava and Abomey-Calavi, located in Southern Benin (figure 1). Women's recruitment has been completed by

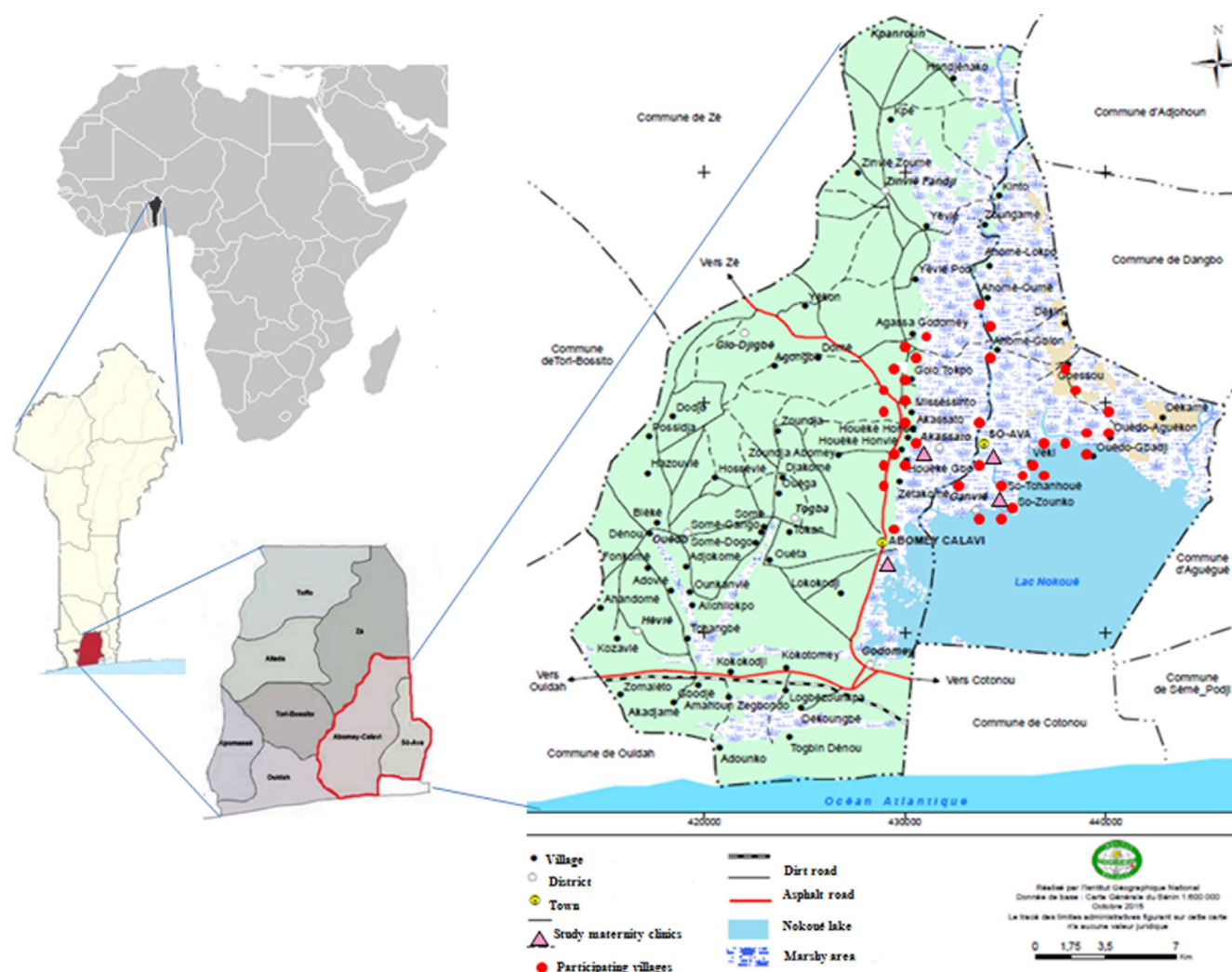


Figure 1 Geographical location of Sô-Ava and Abomey-Calavi districts and of the 35 villages of the RECIPAL study, Southern Benin, 2014–2017. RECIPAL, REtard de Croissance Intra-uterin et PALudisme.



December 2016, and pregnancy follow-up is still ongoing. In the area, malaria is hyperendemic with a mean entomological inoculation rate of 2.1 infected anopheles bites/person/100 nights.¹³ The main mosquito vectors of malaria are *Anopheles gambiae* ss and *Anopheles funestus*.¹⁴ Four subdistricts (Sô-Ava, Vekky and Houedo in Sô-Ava District and Akassato in Abomey-Calavi District) were selected for the study according to the population density and mean number of ANC visits and deliveries per month in the four main public maternity clinics of Sô-Ava and Abomey-Calavi districts. In these four subdistricts, the population size was estimated to 124994 people in 2013, including 17.4% (21 779) women of reproductive age (WRA).¹⁵ Thirty-five out of a total of 36 villages were then selected for the study according to their proximity to the maternity clinics.

Study design, subject identification, recruitment and enrolment procedures

Briefly, WRAs were recruited at community level and followed monthly for a maximum period of 24 months until becoming pregnant. They constituted the RECIPAL initial cohort. The subsample of women who became pregnant was then followed up monthly at the maternity clinic from early pregnancy to delivery. They constituted the RECIPAL final cohort.

A sample size of 466 births was estimated sufficient to evidence a two-fold OR for the association between malaria and poor birth outcomes,⁴ assuming a prevalence of 25% of women with microscopic malaria in the first trimester of pregnancy and 30% of poor birth outcomes (LBW, small-for-gestational age (SGA), preterm birth (PTB) or stillbirth)^{8 16 17} with an 80% power, significant level at 0.05. We estimated that following 2000 WRA (initial cohort) would have allowed identifying 510 pregnant women (final cohort) during a planned 18-month period for recruitment in the initial cohort (based on a total fertility rate of 200/1000/year in Benin (<http://esa.un.org/unpd/wpp/index.htm>)) and allowing 15% of loss to follow-up after recruitment in the initial cohort.

After explanation of the study to the local political and administrative authorities, three concomitant procedures were used to recruit WRA. First, repeated sensitisation events were organised in each of the 35 selected villages for presenting the study to all inhabitants. If interested, women were invited to register with the head of the community and were visited at home the day after for their inclusion. That procedure constituted the main way of recruitment throughout the study. Second, leaders of the community, religious authorities and mass media were involved to help us mobilise women during public meetings (masses, women's association meetings, etc). The last way of recruitment consisted of going door to door to identify eligible and interested women with the assistance a network of community health workers (more details are provided in the online supplementary file S1).

To be included, women had met the following criteria: negative urinary pregnancy test, 18 to 45 years old, no current contraception, no previous fecundity issues,

willingness to become pregnant, no planned travel for more than 2 months within the next 18 months, acceptance of RECIPAL protocol and signed written informed consent. Both oral and written communication was used for providing information on the project to the women and their husbands. The consent form was translated into the local language for women who were illiterate.

From June 2014 to December 2016, 1302 WRA were willing to participate in the study. Among them, 1214 (93.2%) met the inclusion criteria and were recruited, 88 (6.8%) were not included mainly because of a positive urinary pregnancy test at inclusion (63.6%) or past infertility issues (14.8%). Based on both the 2013 national census and the 2011–2012 Demographic Health Survey (DHS-IV) in Benin, we estimated that women included in the project represented 6% of the total number of WRA living in the study area. Compared with women included in Dansou *et al* study,¹⁸ which used individual data of a representative sample of WRA included in the Beninese DHS-IV, WRA included in RECIPAL had a higher level of poverty. The other sociodemographic characteristics such as age, education level, household wealth, gravidity and media exposure were, however, similar (online supplementary file S2).

RECIPAL study was approved by the ethics committees of the Institut des Sciences Biomédicales Appliquées (ISBA) in Benin and from the National Research Institute for Sustainable Development in France as well as by the Ministry of Health in Benin.

Cohort follow-up

Preconceptional follow-up

After enrolment, WRAs were visited at home monthly by specifically trained investigators assisted by local community health workers. Follow-up consisted mainly of recording the first day of last menstrual period (LMP) and performing a urinary pregnancy test every month. To minimise the risk of loss of confidentiality during the tracking of women for follow-up, the study team was instructed to speak only to people—including family members—to whom women have granted them permission to speak. After 12 months, women who were still followed received medical advices to help conceive, and they were invited to attend the maternity clinic for a medical examination in case of symptoms of genital infection. After 24 months, the follow-up ended and women who did not conceive were invited to attend a gynaecologist for fertility issues assessment. More details on the follow-up procedures have been provided in the online supplementary file S3.

Gestational follow-up

Once pregnant, women were followed up at the maternity clinic for monthly ANC visits. In addition, they were encouraged to attend the maternity clinic any time in case of any symptoms. Both the maternity staff (for usual ANC follow-up and clinical examination) and study investigators (for all specific issues related to RECIPAL) were involved in women's follow-up. Throughout the study, women were offered free transport to the maternity clinic; in Sô-Ava

District, a free river shuttle was set up. At 37 weeks of gestation (wg), women were visited at home weekly and transportation to the study maternity clinic was scheduled for delivery.

According to Beninese national recommendations, a kit including iron and folic acid tablets for 1 month, mebendazole for deworming, the first dose of SP for IPTp and a LLITN was given to each pregnant woman at the first ANC visit. The maternity staff was encouraged to administer at least three doses of IPTp from the second trimester onwards as recommended by the Beninese National Malaria Control Programme, as well as iron and folic acid supplementation throughout the pregnancy. RECIPAL women benefited from free management of any diseases related to the pregnancy—detected either as part of RECIPAL follow-up or during unscheduled visits, free ANC visits and delivery. Women infected with malaria were treated with quinine in the first trimester of pregnancy and artemether–lumefantrine from the second trimester.

Infant follow-up

The infant follow-up was not initially planned as part of the RECIPAL project. It is currently carried out as part of the SEPSIS project (bioMérieux-funding, UMR216/9198 coordination), which aims to assess immune dysfunctions associated with the risk of sepsis in preterm and growth-restricted newborns as well as in those exposed to malaria in utero. All infants born from the RECIPAL women from April 2016 have been included and followed until 3 months of age.

Cohort attrition

Among the 411 pregnant women, 207 (50.4%) have already delivered, 16.5% (68/411) had a spontaneous abortion (n=68) or a non-viable pregnancy (n=2), 62 did not complete the study because of informed consent withdrawal (45/411, 10.9%) or migration (17/411, 4.1%)

and 72 women are still followed (figure 2). Spontaneous abortions, informed consent withdrawals and migrations occurred at 8.9 (± 3.9), 13.2 (± 8.1) and 14.2 (± 8.6) wg in average (SD), respectively. More details on the reasons for cohort attrition are provided in the online supplementary file S4.

Figure 2 presents the flowchart diagram of the study. Among the 1214 WRA enrolled in the initial cohort, 411 (33.9%) became pregnant, 359 (29.6%) completed the follow-up without conceiving and 444 women (36.6%) did not complete the study mainly because of informed consent withdrawal (272/444) or migration outside the study area (138/444) that occurred after 5.2 and 6.3 months of follow-up in average, respectively.

Data collection

Preconceptional data

Demographic, socioeconomic and household characteristics were collected at inclusion (table 1). At this occasion, screening for malaria, urinary schistosomiasis, *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* was performed. Haemoglobin (Hb) and markers of inflammation levels were determined. The first day of LMP was recorded and a urinary pregnancy test (One-Step; International Holding, Germany) was performed each month. Anthropometric measurements were collected every 3 months, and dietary intakes were assessed twice during follow-up.

Gestational data

At each ANC visit, clinical, anthropometric and obstetrical data, as well as LLITN use, IPTp administration, alcohol consumption and iron, folic acid and other micronutrient supplementation intake were collected (table 2). In addition, malarial screening was performed, and proteinuria, glycosuria and urinary infection were detected using a urine dipstick test (Combi-screen;

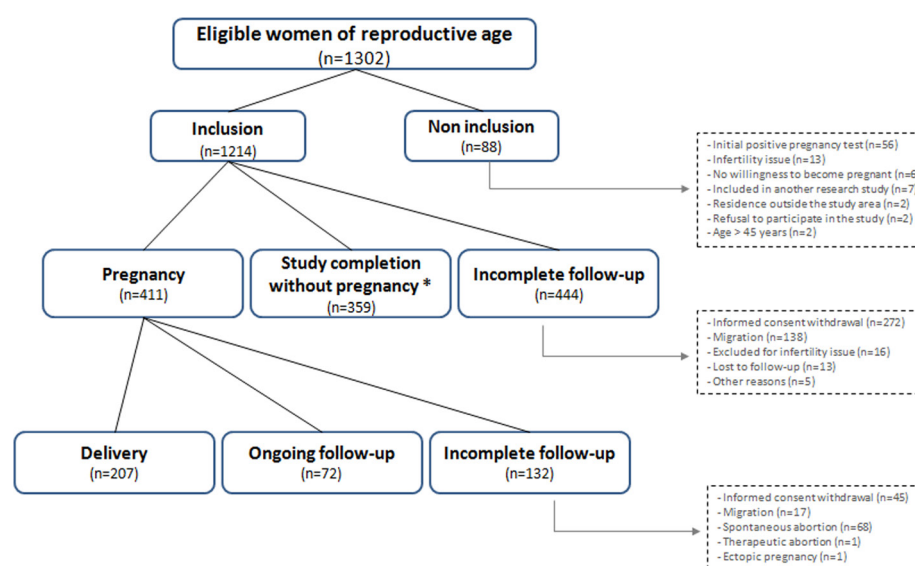


Figure 2 Flow chart diagram of RECIPAL study.* Study completion: follow-up from enrolment until the end of the study (24-month follow-up without pregnancy for women recruited before December 2014 or monthly follow-up without pregnancy for women recruited between December 2014 and December 2016), excluding consent withdrawal, migration and lost to follow-up. RECIPAL, RETard de Croissance Intra-uterin et PALudisme.

Table 1 Clinical, nutritional and biological data collected during the preconceptional follow-up—the RECIPAL study, 2014–2017

	Inclusion	D1	M1	M2, M3	M4	M5, M6	M7	M8, M9	M10	M11, M12	M13	M14, M15	M16	M17, M18	M19	M20, M21	M22
General characteristics																	
Place of visit	*	†	†	*	*	*	*	*	†	*	*	*	*	*	*	*	*
Eligibility criteria	‡	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§
Informed consent	‡	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§
GPS location	‡	§	§	§	§	§	§	—	§	§	§	§	§	§	§	§	§
Sociodemographic characteristics	§	‡	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§
Housing characteristics	§	‡	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§
Economic characteristics	§	‡	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§
Clinical and nutritional data																	
Obstetrical history	§	‡	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§
Height	§	‡	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§
Weight, MUAC, skinfold thickness	§	‡	‡	§	‡	§	‡	§	‡	§	‡	§	‡	§	‡	§	‡
Body composition (BIA)	§	‡	‡	§	§	§	§	§	‡	§	§	§	§	§	§	§	§
Dietary 24 hours recall	§	‡	§	‡	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§
Amenorrhoea/LMP	§	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡
Biological data																	
Urinary pregnancy test	‡	§	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡
Malarial screening (TBS, PCR)	§	‡	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§
Hb, ferritin, folic acid levels	§	‡	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§
CRP, AGP, sTfR levels	§	‡	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§
<i>Chlamydia trachomatis</i> ¶	§	‡	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> ¶																	
Urinary schistosomiasis¶	§	‡	‡	§	§	§	§	§	§	‡	§	§	§	§	§	§	§
Urine storage**	§	‡	‡	§	§	§	‡	§	‡	§	§	§	§	§	§	§	§

*Household visit.

†Visit performed at the study maternity clinic.

‡Information collected/assessed at each specific time point.

§Information not collected/assessed at each specific time point.

¶*Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* screening (using PCR and serology), as well as schistosomiasis screening (Nytrel filter) started 9 and 12 months after study initiation, respectively.

**Urine storage for further analysis.

AGP, alpha1-acid glycoprotein; BIA, bioimpedance analysis; CRP, C-reactive protein; D, day; Hb, haemoglobin; GPS, global positioning system; LMP, last menstrual period; M, months; MUAC, mid-upper-arm-circumference; RECIPAL, RETard de Croissance Intra-uterin et PALudisme; sTfR, soluble transferrin receptor; TBS, thick blood smear.

Table 2 Clinical, nutritional and biological data collected during pregnancy—the RECIPAL study, 2014–2017

	ANCv 1	ANCv 2	ANCv 3	ANCv 4	ANCv 5	ANCv 6	ANCv 7	ANCv8	Delivery
Clinical and nutritional data									
Gestational age (weeks), mean (SD)	6.8±2.5	11.6±2.9	16.7±2.9	22.1±3.7	27.6±3.8	32.7±3.5	36.2±2.5	38.4±1.4	39.1±3.0
Medical and obstetrical history*†	‡	§	§	§	§	§	§	§	§
Alcohol consumption in the last 24 hours	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	§
Iron and folate intake in the last 24 hours	§	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	§
Use of ITN the night before the visit	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	§
Axillary temperature, blood pressure	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡
Gestational age (based on LMP or first US)	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡
Anthropometric measurements									
Weight	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡
Mid-upper-arm-circumference	‡	§	§	‡	§	‡	§	§	§
Skinfold thickness (bicipital and tricipital)	‡	§	§	‡	§	‡	§	§	§
Body composition (bioimpedance analysis)	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	§
Dietary 24 hours recall	§	‡	§	§	‡	§	‡	§	§
Biological data									
Blood and rhesus group	‡	§	§	§	§	§	§	§	§
HIV 1 screening	‡	§	§	§	§	§	§	§	§
Peripheral malaria (TBS, PCR)	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡
Placental malaria (TBS, PCR, histology)	§	§	§	§	§	§	§	§	‡
Cord blood malaria (TBS, PCR)	§	§	§	§	§	§	§	§	‡
Hb level	§	‡	§	§	§	‡	§	§	§
Serum ferritin, sTfR, CRP, AGP, folic acid levels	§	‡	§	§	§	‡	§	§	§
Lead level	§	‡	§	§	§	‡	§	§	§
Urinary infection and proteinuria (dipstick test)	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	§
Helminthic intestinal infection (PCR)	‡	§	§	§	§	§	§	§	§
Urinary schistosomiasis	§	§	§	§	§	§	‡	§	§
Urine storage¶	§	‡	§	‡	§	‡	§	§	§

*Sickle cell disease, diabetes or other chronic medical affection; history of preterm delivery or hypertensive disorders.

†History of cigarette smoking during pregnancy collected at delivery.

‡Information collected/assessed at each specific time point.

§Information not collected/assessed at each specific time point.

¶Urine storage for further analysis.

AGP, alpha1-acid glycoprotein; ANCv, antenatal care visit; CRP, C-reactive protein; Hb, haemoglobin; ITN, insecticide-treated bed net; LMP, last menstrual period; RECIPAL, REtard de Croissance Intra-uterin et PALudisme; sTfR, soluble transferrin receptor; TBS, thick blood smear; US, ultrasound scan.

Analyticon, Germany). Dietary intakes were assessed once every trimester. Five Doppler ultrasound scans (US) were performed. A sample of venous blood was collected in the first and third trimesters for Hb, markers of inflammation and lead levels determination.

At delivery, newborns were weighed within 1 hour after birth on an electronic digital scale with an accuracy

of 2 g (SECA 757; SECA, Germany). Newborn's length (SECA infantometer 416, Germany) and head circumference (SECA 201, Germany) were recorded to the nearest millimetre. Malarial screening was performed on maternal venous blood, placental and cord blood (table 2). A placental biopsy was performed for malarial histopathology. Follow-up and quality control

**Table 3** Biological samples stored before conception, during pregnancy and at birth—the RECIPAL study, 2014–2017

	Prepregnancy	Pregnancy*	Delivery/birth	Planned analyses
Total blood				
Total blood (200 µL)	–	Mother (×2)	–	Erythrocytic folic acid
Total blood (500 µL)	–	Mother (×2)	Mother–placenta cord	Metal level
Blood spot +4°C (50 µL)	Mother (×1)	Mother (×8)†	Mother–placenta cord	<i>Plasmodium</i> detection (PCR)
Blood spot –20°C (100 µL)	Mother (×1)	Mother (×8)†	Mother–placenta cord	Immunological markers
Red cells (Trizol, 100 µL)	Mother (×1)	Mother (×8)	Mother–placenta cord	<i>Plasmodium</i> phenotyping
Buffy coat PAX gene (300 µL)	–	Mother (×2)	Mother–placenta cord	Immunological markers
Plasma/serum				
Plasma –20°C‡	Mother (×1)	Mother (×2)	Mother–placenta cord	Micro-RNAs, cytokines and chemokines
Plasma –80°C‡	Mother (×1)	Mother (×2)	Mother–placenta cord	Micro-RNAs, cytokines and chemokines
Serum (100 µL)	Mother (×1)		–	<i>Chlamydia trachomatis</i> and <i>Neisseria gonorrhoeae</i> detection
Serum (400 µL)	–	Mother (×2)		Vitamin A
Serum (100 µL)‡	Mother (×1)	Mother (×2)	–	Ferritin, CRP, sTfR, AGP
Urine (1.8 mL)	Mother (×2)	Mother (×3)	–	Pollutant/pesticide
Stool (–80°C)	Mother (×1)	–	–	Helminthic infection
Placenta				
Biopsy with formalin	–	–	Placenta	Histopathology for malaria
Biopsy –20°C	–	–	Placenta	Immunological markers
Biopsy with RNA later	–	–	Placenta	Immunological markers

The frequency of sample collection is indicated in parentheses.

*During pregnancy, samples were collected twice (during the first and third trimester of pregnancy), three times (during each trimester) or eight times (during each ANC visit).

†In case of unscheduled visit, an additional blood spot was collected.

‡Quantity of plasma stored before, during pregnancy and at delivery was 200, 600–800, 600 µL, respectively.

AGP, alpha1-acid glycoprotein; ANC, antenatal care; CRP, C reactive protein; RECIPAL, RETard de Croissance Intra-uterin et PALudisme; sTfR, soluble transferrin receptor.

procedures are provided in the online supplementary file S3.

The types and origins of the biological samples collected before and during pregnancy are listed in [table 3](#). Total blood, serum, plasma urine samples are stored in –20°C or –80°C freezers with a daily monitoring of the temperature.

Specifics components

Malarial diagnosis

Before conception and during pregnancy, malarial screening was performed using both microscopy (thick blood smear) and PCR. Blood smears were stained with Giemsa and parasitaemia was quantified by the Lambaréné method.¹⁹ A molecular diagnostic approach, using a combination of real-time PCR assays comprising genus-specific primers and probes for the gene encoding the small (18S) *Plasmodium* rRNA and an ultrasensitive *Plasmodium falciparum*-specific

detection system²⁰ were used to screen samples containing *Plasmodium* parasites. In addition, any time during pregnancy, a rapid diagnostic test (Pf+pan rapid test SD Bioline Ag, IDA Foundation, Netherlands; BioSynex, France) was performed in case of symptoms suggestive of malaria for immediate diagnosis and treatment.

Ultrasound follow-up

The first US for dating the pregnancy was performed between 9 and 13 wg based on LMP recorded during the preconceptional follow-up (see online supplementary file S5). The gestational age (GA) was estimated in days based on crown-rump length measurement using the Robinson's chart.²¹ At the end, GA estimation was based either on LMP if the difference between the two measurements (LMP/US) was less than 7 days or on US if the difference is >7 days. Following INTERGROWTH-21st methodology, four additional scans were performed for fetal biometry

assessment and uterine and umbilical blood flow measurements.²² Each parameter was measured twice and then averaged; a third measure was performed in case of discrepancy between the two first measurements. A quality control was performed on 10% of the pictures.

Anthropometric measurements and dietary intake assessment

Anthropometric measurements were collected using standard procedures (tables 1 and 2).²³ During household visits, women's body weight was measured with a 200 g precision with calibrated electronic scales (Tefal, France). At the facility level, women were weighed with a Tanita MC-780 body composition device (Tanita, Tokyo, Japan). Height was measured to the nearest millimetre with a SECA 206 (Hamburg, Germany) gauge. The left mid-upper-arm-circumference was measured with a SECA 201 (Hamburg, Germany) ergonomic circumference measuring tape. Skin-fold thickness measurements were made to the nearest millimetre at the triceps and biceps sites using a Holtain (Crymyeh, UK) skinfold calliper. The set of measurements was repeated twice—by the same field investigator—and then the measurements were averaged. Body composition, assessed by bioelectrical impedance analysis method, was measured by the multifrequency body composition analyser Tanita MC-780 with a four-electrode arrangement paired on hands and feet. A quality control of anthropometric data was performed periodically by a senior research scientist in nutrition.

Dietary intakes were assessed by 24-hour recalls using the standard multiple-pass methodology.²⁴ A comprehensive list of the most common food items and recipes was developed from a preliminary study of the diet habits of the study area. This list was used to identify foods mentioned by the women as consumed during the interview. Amounts of food consumed were estimated by household measures consisted of precalibrated utensils, food pictures of different portion sizes and monetary value of known food portions sold on the study area markets. A food composition table and recipes database are under construction for conversion of household units to gram and to determine macronutrients and micronutrients intake by the women.

Characteristics of the study populations

At enrolment, WRA were 27 years old in average (table 4). Nulligravidae represented 8.8% of the cohort. More than half of the women were anaemic, one quarter was infected with schistosomiasis and 38% had an abnormal body mass index. The prevalence of microscopic malaria was 5.7%, with two geographical clusters in Sô-Ava and Vekky subdistricts (figure 3). The median duration of follow-up in the initial cohort was 5.9 months (mean=7.1, range: 0.49–23.7). Compared with women included in the initial cohort, women who did not complete the follow-up were significantly different in terms of residence area, ethnicity, household density and schistosomiasis status (table 4).

Pregnant women were identified at a mean of 6.9 wg and benefited from 7.5 scheduled ANC visits in average (table 4). The prevalence of microscopic malarial infection

was 25.4%, 19.4% and 16.1% during the first, second and third trimester of pregnancy, respectively. The prevalence of SGA was 11.5% and 18.3% using Schmiegelow's and INTERGROWTH-21st charts, respectively (table 5). The proportion of PTB and LBW was 12.6% and 9.3%, respectively. Overall, 29.5% (61/207) of newborns presented at least one poor birth outcome defined as LBW, PTB, SGA or stillbirth.

FINDINGS TO DATE

Fertility and time to pregnancy

The median time to pregnancy was 12.3 months (figure 4). The fertility rate was 5.4 pregnancies/100 persons-month (95% CI =4.9 to 5.9). The probability (95% CI) of conceiving after 5, 10, 15 and 20 months of follow-up were 24.5% (21.9–27.4), 42.1% (38.6–45.9), 56.6% (52.1–61.1) and 62.8% (57.6–68), respectively. Using multivariate survival analysis, factors associated with a lower risk of conceiving were maternal age more than 35 years, a low education level, being polygamous, living in Vekky subdistrict, long-term couple (>8 years), infrequent sexual activity, overweight and urinary schistosomiasis infection (E Yovo, personal communication, 2017).

Malaria in the first trimester of pregnancy

The incidence rate of malarial infection during the first trimester was 19.7 cases per 100 persons-month (95% CI 15.8 to 24.5). Using a multilevel logistic regression, we showed that women infected with malaria before conception were more likely to be infected during the first trimester (adjusted OR (aOR): 2.68, 95% CI 1.24 to 5.78). Gestational age was also negatively correlated with malarial infection (aOR: 0.64, 95% CI 0.41 to 0.98) (M Accrombessi, personal communication, 2017).

STRENGTHS AND LIMITATIONS

The preconceptional design—and early identification of pregnant women—allowed (1) the screening of women for malaria from the very beginning of pregnancy; (2) the accurate estimation of GA by using US before 14 wg; (3) the determination of prepregnancy nutritional status²⁵ and hypertensive disorders screening,²⁶ which highly influence fetal growth and (4) the minimisation of selection bias embedded in the design of women recruited at facility level. Besides, PTB and intrauterine growth restriction could be accurately assessed thanks to the precise estimation of GA and longitudinal fetal growth assessment.

In addition to malaria, RECIPAL will provide valuable information on WRA in Africa in terms of fertility and nutrition, which are seldom evaluated and may help to define new preconceptional interventions for improving maternal and child health.²⁷ Also, it yields logistical and ethical information for the implementation of future preconceptional cohorts.

**Table 4** Characteristics of women included in the initial and final RECIPAL cohorts, Southern Benin, 2014–2017

Characteristics		Initial cohort (n=1214 WRA)	WRA with incomplete follow-up (n=444)	P value (1214 vs 444)*	WRA with complete follow-up but no pregnancy (n=359)	Final cohort Pregnant women (n=411)	P value (411 vs 359)*
General characteristics							
Subdistrict, n (%)	Sô-Ava	279 (23.0)	102 (23.0)		45 (12.5)	132 (32.1)	
	Vekky	423 (34.8)	228 (51.4)	<0.001	57 (15.9)	138 (33.8)	<0.001
	Houedo	186 (15.3)	33 (7.4)		120 (33.4)	33 (7.8)	
	Akassato	326 (26.9)	81 (18.2)		137 (38.2)	108 (26.3)	
Ethnic group, n (%)	Toffin	864 (71.2)	346 (77.9)		218 (60.7)	300 (72.9)	
	Aizo	195 (16.1)	56 (12.6)	0.001	80 (22.3)	59 (14.4)	0.002
	Fon	86 (7.1)	23 (5.2)		31 (8.6)	32 (7.8)	
	Others	69 (5.6)	19 (4.3)		30 (8.4)	20 (4.9)	
Age (years)	Mean (±SD)	27.8 (±5.5)	28.0 (±5.6)	0.31	28.8 (±5.6)	26.8 (±5.0)	<0.001
Marital status, n (%)	Polygamy	445 (36.7)	173 (38.9)		154 (42.9)	118 (28.7)	
	Monogamy	729 (60.0)	257 (57.9)	0.45	204 (56.8)	268 (65.2)	<0.001
	Cohabitation	40 (3.3)	14 (3.1)		1 (0.3)	25 (6.1)	
Education, n (%)	Illiterate	889 (73.2)	336 (75.7)	0.14	263 (73.3)	290 (70.6)	0.41
Household density	Mean (±SD)	5.7 (±3.0)	6.0 (±3.4)	0.009	5.2 (±2.3)	5.9 (±3.0)	0.001
Gravidity, n (%)	Nulligravidae	107 (8.8)	48 (10.8)		26 (7.2)	–	
	Primigravidae	167 (13.8)	58 (13.1)	0.17	43 (12.0)	33 (8.0)	0.22
	Multigravidae	940 (77.4)	338 (76.1)		290 (80.8)	378 (92.0)	
Number of live birth(s)	Mean (±SD)	2.8 (±2.0)	2.6 (±2.0)	0.07	2.9 (±2.1)	2.7 (±1.9)	0.16
Short stature, n (%)	Maternal length <150 cm	92 (8.0)	27 (6.1)	0.46	32 (8.9)	33 (8.0)	0.65
Mid-upper-arm-circumference, n (%)	<23 cm	76 (6.3)	23 (5.2)	0.62	27 (7.5)	26 (6.3)	0.51
Preconceptional characteristics							
BMI, n (%)	<18.5 kg/m ²	95 (8.3)	26 (6.9)		29 (8.1)	40 (9.7)	
	18.5–24 kg/m ²	706 (61.7)	229 (61.1)	0.36	212 (59.2)	265 (64.5)	0.10
	≥25 kg/m ²	343 (30.0)	120 (32.0)		117 (32.7)	106 (25.8)	
Schistosomiasis infection, n (%)†	Yes	177 (24.7)	50 (31.2)	0.03	63 (19.6)	64 (27.0)	0.04
Anaemia, n (%)‡	Yes	596 (49.1)	210 (47.3)	0.07	165 (46.0)	221 (53.8)	0.03
Microscopic malaria, n (%)§	Yes	64 (5.7)	28 (7.5)	0.06	12 (3.4)	24 (5.9)	0.10
Gestational characteristics							
Median time to pregnancy (months)	Median	–	–	–	–	12.3	–
Fertility incidence rate (95% CI)		–	–	–	–	5.4 (4.9–5.9)	–
Gestational age at first ANC visit (weeks)	Mean (±SD)	–	–	–	–	6.9 (±2.5)	–

Continued

Table 4 Continued

Characteristics		Initial cohort (n=1214 WRA)	WRA with incomplete follow-up (n=444)	P value (1214 vs 444)*	WRA with complete follow-up but no pregnancy (n=359)	Final cohort Pregnant women (n=411)	P value (411 vs 359)*
Gravidity, n (%)	Primigravidae	–	–	–	–	33 (8.0)	–
	Multigravidae	–	–	–	–	378 (92.0)	–
Number of IPTp doses, n (%)**	≥2	–	–	–	–	136 (65.7)	–
Inadequate gestational weight gain†, n (%)**	Yes	–	–	–	–	120 (57.9)	–
Number of ANC visits (scheduled)**	Mean (±SD)	–	–	–	–	7.5 (±1.1)	–
Number of ANC visits (unscheduled)**	Mean (±SD)	–	–	–	–	2.1 (±1.3)	–
HIV status, n (%)**	Positive	–	–	–	–	4 (1.9)	–
Gestational hypertension, n (%)**	Yes	–	–	–	–	7 (3.4)	–
Anaemia, n (%)‡**	During pregnancy‡‡	–	–	–	–	142 (68.6)	–
	In the first trimester	–	–	–	–	98 (48.5)	–
	In the third trimester	–	–	–	–	118 (57.0)	–
Microscopic malaria, n (%)**	During pregnancy‡‡	–	–	–	–	93 (44.9)	–
	In the first trimester ‡‡	–	–	–	–	51 (25.4)	–
	In the second trimester‡‡	–	–	–	–	40 (19.4)	–
	In the third trimester‡‡	–	–	–	–	33 (16.1)	–
Placental malarial infection, n (%)**	Yes	–	–	–	–	13 (7.8)	–

*Student's t-test and χ^2 test were used for comparing continuous and categorical variables, respectively.

†Schistosomiasis infection status before conception has been assessed in 718 WRA (initial cohort): 160 with incomplete preconceptional follow-up, 321 with complete preconceptional follow-up without pregnancy and 237 included in the final cohort.

‡According to WHO thresholds (12 g/dL for non-pregnant women and 11 g/dL for pregnant).

§Before conception, 78 missing and 5 missing values in the initial and final cohort, respectively. During pregnancy, 6, 1 and 2 missing values at first, second and third trimester of pregnancy, respectively; 40 missing values for placental malaria.

¶Incidence rate defined as the number of pregnancies/persons-month at risk.

**Results based on the 207 women who have already delivered.

††A gestational weight gain was considered inadequate when the total weight gain during pregnancy was below to 12.5 kg, 11.5 kg, 7 kg and 5 kg in the underweight women (prepregnancy BMI < 18.5 kg/m²), normal weighted women (prepregnancy BMI between 18.5 and 24.9 kg/m²), overweight women (prepregnancy BMI between 25.0 and 29.9 kg/m²) and obese women (prepregnancy BMI ≥30 kg/m²) before conception, respectively.

‡‡ At least one episode.

ANC, antenatal care; BMI, body mass index; IPTp, intermittent preventive treatment in pregnancy; RECIPAL, REtard de Croissance Intra-uterin et PALudisme; WRA, women of reproductive age.

Only 107 (8%) nulligravidae were included in the study. The main reason is that RECIPAL was implemented shortly after a study, which has recruited nulligravid WRAs living

in the same area. This study aimed at assessing maternal immune responses in early pregnancy to help designing a phase 1 vaccine trial against malaria. It included 278

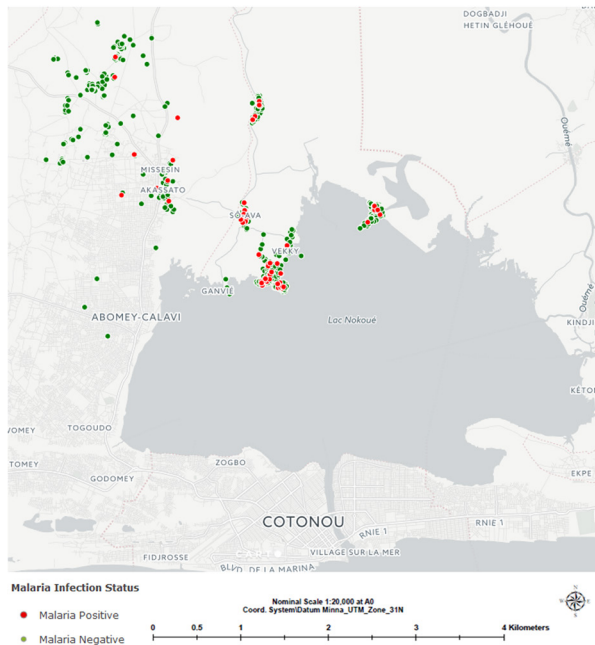


Figure 3 Malarial status (infected vs non-infected) in women of reproductive age at inclusion in RECIPAL (initial cohort), Southern Benin, 2014–2017. For online interactive map, check this link: Malaria Infection Status of Women at Inclusion of Cohort. RECIPAL, REtard de Croissance Intra-uterin et PALudisme.

nulligravid WRAs, of whom 60 became pregnant.²⁸ Both studies were conducted concomitantly for several months and women already included in the first study could not be eligible for RECIPAL. Because primigravidae were under-represented in the final RECIPAL cohort, it is likely that the prevalence of maternal conditions related to primigravidity were underestimated. Although we cannot completely exclude selection bias, it should not have strongly influenced the association between malaria in early pregnancy and FGR.

Finally, because of constraints related to the study design (long duration of the preconceptional follow-up and weariness of the women) and African sociocultural realities (rumour about blood collection, suspicion regarding medical care provided free of charge, etc), a noticeable proportion (22%) of women withdrew their informed consent before the end of the 24-month follow-up. Overall, the initial cohort attrition was 37%. Since some baseline characteristics in women who completed the preconceptional follow-up and those who did not were different, this might impact the external validity of some of results. During pregnancy, there was a high proportion (16.5%) of spontaneous abortions, which contributed to the final cohort attrition. At the end, birth outcomes

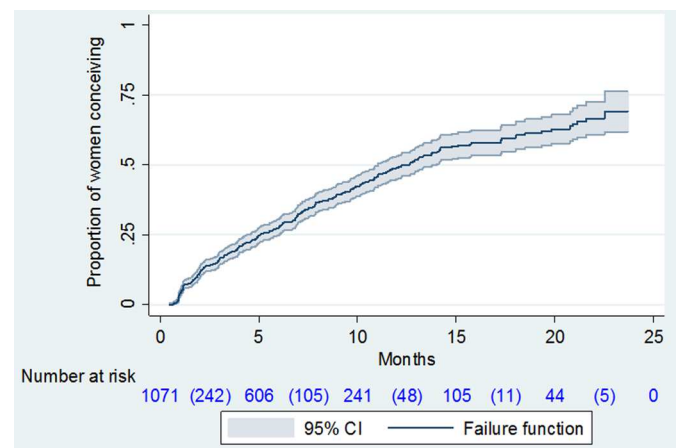


Figure 4 Kaplan-Meier failure estimate of the probability of conceiving; 1214 women of reproductive age included in the initial RECIPAL cohort, Southern Benin, 2014–2017. Probability of conceiving (solid line) and its 95% CI (grey lines). Number of pregnancy events are in parentheses. Number of censored women at 5, 10, 15, 20 and 24 months were 223, 260, 88, 50 and 30, respectively. RECIPAL, REtard de Croissance Intra-uterin et PALudisme.

Table 5 Preliminary data description of newborns at birth (subsample of the cohort)—the RECIPAL study (2014–2017)

Newborn characteristics*		n	Mean ($\pm$ SD) or proportion (%)
Gender	Male	205	55.2
Stillbirth	Per 1000 live births	206	14.8
Preterm birth (<37 weeks)	Yes	207	12.6
Small birth weight for gestational age †‡§	Yes	191	11.5
Small birth weight for gestational age ‡§	Yes	191	18.3
Birth weight (g)‡		193	3043.9 ($\pm$ 432.8)
	<2500	193	9.3
Poor birth outcome‡¶	Yes	207	29.5

*Data based on the first 207 deliveries.

†Small birth weight for gestational age: <10th percentile of birth weight for gestational age using Schmiegelow's charts.

‡Twins excluded.

§Small birth weight for gestational age: <10th percentile of birth weight for gestational age using INTERGROWTH-21st charts.

¶Stillbirth, preterm birth, small birth weight for gestational age (using INTERGROWTH-21st charts) or low birth weight.

RECIPAL, REtard de Croissance Intra-uterin et PALudisme.

could be evaluated in only 68% of women, with a possible lack of power for some upcoming analyses.

CONCLUSION

If the deleterious effects of malaria in the first trimester of pregnancy are confirmed, our results may argue in favour of starting preventive measures from the very beginning of pregnancy or even before pregnancy. Artemisinin-based combination therapies have been shown to be safe during the first trimester of pregnancy and, therefore, may be a good option for the replacement of SP.²⁹ Besides, a vaccine against pregnancy-associated malarial parasites, which could elicit protective immunity prior to pregnancy to best protect pregnant women during early pregnancy may be proposed as a complementary strategy. Such a vaccine is currently under evaluation.³⁰

Author affiliations

¹UMR216-MERIT, French National Research Institute for Sustainable Development (IRD), Université Paris Descartes, Paris, France

²Centre d'Etude et de Recherche sur le Paludisme Associé à la Grossesse et à l'Enfance (CERPAGE), Cotonou, Benin

³UMR204-Nutripass, French National Research Institute for Sustainable Development (IRD), Université de Montpellier, Montpellier, France

⁴Ecole de Nutrition et des Sciences et Technologies Alimentaires (ENSTA), Faculté des Sciences Agronomiques, Université d'Abomey-Calavi, Abomey-Calavi, Benin

⁵Obstetrical, Perinatal and Pediatric Epidemiology Research Team, Centre for Epidemiology and Biostatistics (U1153-EPOPé), National Institute for Health and Medical Research (INSERM), Université Paris Descartes, Paris, France

⁶Département Méthodes Quantitatives en Santé Publique, Ecole des Hautes Etudes en Santé Publique (EHESP), Université de Rennes, Rennes, France

⁷Laboratoire de Parasitologie, CNR du Paludisme, AP-HP, Hôpital Bichat, Paris, France

⁸Department of Obstetrics and Gynaecology, Oxford University, Oxford, UK

⁹Service de Gynécologie et Obstétrique, Centre Hospitalier Universitaire d'Abomey-Calavi, Abomey-Calavi, Benin

Acknowledgements We are extremely grateful to all families who took part in this study, the midwives, nurses and community health workers for recruiting and following them and the whole RECIPAL team, including research scientists, engineers, technicians and managers. We also thank Seun Egbisola for study area mapping.

Collaborators The "Mother and child face to tropical infections" research unit (MERIT), French National Research Institute for Sustainable Development (IRD)/Paris Descartes University was the promoter of the study. RECIPAL was a collaborative project between MERIT, another IRD research unit (Nutripass, Montpellier), EPOPé research team (Inserm), the Ecole des Hautes Etudes en Santé Publique (EHESP) and two Beninese collaborators from Abomey-Calavi University (the Faculty of Health Sciences and the Faculty of Agronomy Sciences).

Contributors Project management: MA, NF, AM, MC and VB (principal investigator). Field, epidemiology and data collection: MA, EY, GC, GA, PA, NF and VB. Nutritional data collection: YM-P, AG, NF-F, DD, MA and EY. Biology and molecular analyses: NF, NT-N and SH. Obstetrical data collection: MA, EY, NJ and VB. Statistical analysis: MA, GC, MC, JZ, FB-L, YM-P, AG, NF-F, DD and VB. Manuscript writing: MA, GA, GC, AG, YM-P, NFF, DD, JZ, NTM, FB-L, SH, MC, NF and VB.

Funding This study was supported by the French National Research Agency (ANR, ANR-13-JSV1-0004, grant 2013) and the Fondation de France (no: 00074147, grant 2017). MA was funded by the Réseau doctoral de l'Ecole des Hautes Etudes en Santé Publique (EHESP) for PhD scholarship and received a prize from the Fondation des Treilles (<http://www.les-treilles.com/en/>).

Competing interests None declared.

Patient consent Obtained.

Ethics approval The ethics committees of the Institut des Sciences Biomédicales Appliquées (ISBA) and the Ministry of Health in Benin.

Provenance and peer review Not commissioned; externally peer reviewed.

Data sharing statement The researchers associated with this study are open for the sharing and reuse of the data, but an end-user data use agreement will be required for accessing the data. Collaborations are encouraged, although data sets are not currently publicly available. Any researcher interested in exploring RECIPAL data should contact directly the principal investigator, Valerie Briand (email: valerie.briand@ird.fr).

Open Access This is an Open Access article distributed in accordance with the Creative Commons Attribution Non Commercial (CC BY-NC 4.0) license, which permits others to distribute, remix, adapt, build upon this work non-commercially, and license their derivative works on different terms, provided the original work is properly cited and the use is non-commercial. See: <http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>

© Article author(s) (or their employer(s) unless otherwise stated in the text of the article) 2018. All rights reserved. No commercial use is permitted unless otherwise expressly granted.

REFERENCES

1. WHO Malaria Policy Advisory Committee and Secretariat. Malaria Policy Advisory Committee to the WHO: conclusions and recommendations of eighth biannual meeting (September 2015). *Malar J* 2016;15:117.
2. Crawley J, Hill J, Yartey J, et al. From evidence to action? Challenges to policy change and programme delivery for malaria in pregnancy. *Lancet Infect Dis* 2007;7:145–55.
3. Umbers AJ, Aitken EH, Rogerson SJ. Malaria in pregnancy: small babies, big problem. *Trends Parasitol* 2011;27:168–75.
4. Griffin JB, Lokomba V, Landis SH, et al. Plasmodium falciparum parasitaemia in the first half of pregnancy, uterine and umbilical artery blood flow, and foetal growth: a longitudinal Doppler ultrasound study. *Malar J* 2012;11:319.
5. Huynh BT, Cottrell G, Cot M, et al. Burden of malaria in early pregnancy: a neglected problem? *Clin Infect Dis* 2015;60:598–604.
6. Valea I, Tinto H, Drabo MK, et al. An analysis of timing and frequency of malaria infection during pregnancy in relation to the risk of low birth weight, anaemia and perinatal mortality in Burkina Faso. *Malar J* 2012;11:71.
7. Cottrell G, Mary JY, Barro D, et al. The importance of the period of malarial infection during pregnancy on birth weight in tropical Africa. *Am J Trop Med Hyg* 2007;76:849–54.
8. Huynh BT, Fievet N, Gbaguidi G, et al. Influence of the timing of malaria infection during pregnancy on birth weight and on maternal anaemia in Benin. *Am J Trop Med Hyg* 2011;85:214–20.
9. De Beaudrap P, Turyakira E, White LJ, et al. Impact of malaria during pregnancy on pregnancy outcomes in a Ugandan prospective cohort with intensive malaria screening and prompt treatment. *Malar J* 2013;12:139.
10. Kalilani-Phiri L, Thesing PC, Nyirenda OM, et al. Timing of malaria infection during pregnancy has characteristic maternal, infant and placental outcomes. *PLoS One* 2013;8:e74643.
11. Osrin D, de L Costello AM. Maternal nutrition and fetal growth: practical issues in international health. *Semin Neonatol* 2000;5:209–19.
12. Cates JE, Unger HW, Briand V, et al. Malaria, malnutrition, and birthweight: a meta-analysis using individual participant data. *PLoS Med* 2017;14:e1002373.
13. Djénontin A, Bio-Bangana S, Moiroux N, et al. Culicidae diversity, malaria transmission and insecticide resistance alleles in malaria vectors in Ouidah-Kpomasse-Tori district from Benin (West Africa): A pre-intervention study. *Parasit Vectors* 2010;3:83.
14. Corbel V, N'Guessan R, Brengues C, et al. Multiple insecticide resistance mechanisms in *Anopheles gambiae* and *Culex quinquefasciatus* from Benin, West Africa. *Acta Trop* 2007;101:207–16.
15. Institut National de la Statistique et de l'Analyse Economique. Fourth (2013) general census of population and habitation in Benin. 2015.
16. Briand V, Saal J, Ghafari C, et al. Fetal growth restriction is associated with malaria in pregnancy: a prospective longitudinal study in Benin. *J Infect Dis* 2016;214:417–25.
17. Unger HW, Orme-Kaius M, Karl S, et al. Factors associated with ultrasound-aided detection of suboptimal fetal growth in a malaria-endemic area in Papua New Guinea. *BMC Pregnancy Childbirth* 2015;15:83.



18. Dansou J, Adekunle AO, Arowojolu AO. Factors associated with antenatal care services utilisation patterns amongst reproductive age women in Benin Republic: an analysis of 2011/2012 benin republic's demographic and health survey data. *Niger Postgrad Med J* 2017;24:67–74.
19. Planche T, Krishna S, Kombila M, *et al.* Comparison of methods for the rapid laboratory assessment of children with malaria. *Am J Trop Med Hyg* 2001;65:599–602.
20. Hofmann N, Mwingira F, Shekalaghe S, *et al.* Ultra-sensitive detection of *Plasmodium falciparum* by amplification of multi-copy subtelomeric targets. *PLoS Med* 2015;12:e1001788.
21. Robinson HP, Fleming JE. A critical evaluation of sonar "crown-rump length" measurements. *Br J Obstet Gynaecol* 1975;82:702–10.
22. Papageorgiou AT, Sarris I, Ioannou C, *et al.* Ultrasound methodology used to construct the fetal growth standards in the INTERGROWTH-21st Project. *Int J Gynaecol Obstet* 2013;120(Suppl 2):27–32.
23. Lohman T, Roche A, Martorell R. *Anthropometric standardisation reference manual*. Champaign, IL: Human Kinetics, 1998.
24. Gibson R, Gibson RS. *Principles of nutritional assessment (second edition)*. Oxford, UK: Oxford University Press, 2005.
25. Kramer MS. The epidemiology of adverse pregnancy outcomes: an overview. *J Nutr* 2003;133:1592S–6.
26. Ndao CT, Dumont A, Fievet N, *et al.* Placental malarial infection as a risk factor for hypertensive disorders during pregnancy in Africa: a case-control study in an urban area of Senegal, West Africa. *Am J Epidemiol* 2009;170:847–53.
27. Persson LÅ, Arifeen S, Ekström EC, *et al.* Effects of prenatal micronutrient and early food supplementation on maternal hemoglobin, birth weight, and infant mortality among children in Bangladesh: the MINIMat randomized trial. *JAMA* 2012;307:2050–9.
28. Gbédandé K, Fievet N, Viwami F, *et al.* Clinical development of a VAR2CSA-based placental malaria vaccine PAMVAC: quantifying vaccine antigen-specific memory B & T cell activity in Beninese primigravidae. *Vaccine* 2017;35:3474–81.
29. Moore KA, Simpson JA, Paw MK, *et al.* Safety of artemisinins in first trimester of prospectively followed pregnancies: an observational study. *Lancet Infect Dis* 2016;16:576–83.
30. Tuikue-Ndam N, Deloron P. Developing vaccines to prevent malaria in pregnant women. *Expert Opin Biol Ther* 2015;15:1173–82.

V. RESULTATS

5.1. Prévalence et facteurs de risque des infections palustres microscopiques au 1^{er} trimestre de la grossesse

5.1.1. Problématique de l'article 3

Il existe actuellement très peu de données dans la littérature qui documentent l'importance du paludisme au cours du premier trimestre de la grossesse. Cela s'explique en grande partie par le fait que les femmes enceintes dans les pays d'ASS consultent tardivement à la maternité pour leur première CPN. Ainsi, bien que les conséquences du paludisme pendant la grossesse sur la santé maternelle et périnatale aient été documentées, l'effet des infections palustres au début de la grossesse, avant l'administration du TPIg, reste peu exploré. Par ailleurs, les moustiquaires étant rarement fournies aux femmes avant le 2^{ème} trimestre de la grossesse et le TPIg n'étant recommandé qu'à partir du 2^{ème} trimestre, les femmes enceintes sont insuffisamment (voire non) protégées au début de la grossesse.

Pourtant, des études antérieures ont montré que l'infection à *Plasmodium falciparum* était plus fréquente au début qu'à la fin de la grossesse.^{14,22} De plus, les quelques études publiées sur l'effet du paludisme au début de la grossesse ont montré que les infections précoces étaient associées à un risque augmenté d'anémie maternelle, de RCIU et de FPN.²² En Asie du Sud-Est, il a été également démontré que le paludisme au cours du 1^{er} trimestre de la grossesse était un facteur de risque de fausses couches spontanées.¹⁶⁷ Cependant, la plupart des études disponibles n'avaient pas été spécifiquement conçues pour évaluer l'influence du paludisme au début de la grossesse. Les femmes enceintes étaient généralement recrutées vers la fin du 1^{er} trimestre (pour un petit nombre) ou au début du 2^{ème} trimestre.

L'objectif de cet article était d'évaluer la fréquence des infections palustres au cours du 1^{er} trimestre de la grossesse, et d'en évaluer la dynamique ainsi que les principaux facteurs maternels et environnementaux associés à la survenue de ces infections précoces.

5.1.2. Résumé des résultats de l'article 3

Caractéristiques générales des femmes enceintes au cours du 1^{er} trimestre

Parmi les 411 femmes enceintes recrutées dans la cohorte finale, 387 ont été incluses dans la présente analyse. Parmi les 24 femmes non incluses, 9 avaient un AG >15 SA au moment du dépistage de la grossesse, 10 femmes avaient retiré leur consentement et 5 femmes avaient fait une fausse couche spontanée avant la 1^{ère} CPN. Parmi les 387 femmes, 289 (74,7%) ont été suivies jusqu'à la fin du 1^{er} trimestre, 61 femmes (15,8%) ont fait une fausse couche durant cette période, 23 (5,9%) ont refusé de continuer le suivi et 13 (3,4%) ont migré hors de la zone d'étude au cours du 1^{er} trimestre. L'âge moyen des femmes était de 26,8 ans; 7,8% étaient primigestes. La grossesse a été identifiée à 6,7 SA en moyenne. Durant le 1^{er} trimestre, plus de 97% des femmes ont déclaré avoir dormi sous moustiquaire la nuit précédant la visite.

Prévalence des infections palustres pendant le 1er trimestre de grossesse

La prévalence des infections palustres avant la conception était de 6,3% (10% vs. 5,9% chez les primi-et les multigestes, respectivement). Au cours du 1^{er} trimestre de la grossesse, la proportion de femmes avec au moins une infection palustre était de 20,8% (26,7% vs. 20,3% chez les primi-et les multigestes, respectivement). Cette plus grande susceptibilité des femmes enceintes a également été observée en restreignant l'analyse à la 1^{ère} CPN (11,7% d'infections avant grossesse vs. 6,3% à la 1^{ère} CPN). Plus de 7% des infections palustres étaient symptomatiques. Le taux d'incidence globale des infections palustres au cours du 1^{er} trimestre était de 19,7 infections pour 100 personnes-mois (IC 95% 15,8-24,5), plus de deux infections ont été dépistées dans 3,1% des cas. Parmi les femmes dépistées durant le 1^{er} mois (≤ 6 SA), le 2^{ème} mois (7-10 SA) et le 3^{ème} mois (11-14 SA) de grossesse, la prévalence des infections palustres était respectivement de 16,7%, 9,2% et 11,2%.

Au cours du 1^{er} trimestre, nous avons globalement montré que le risque d'infection palustre diminuait à la fin du 1^{er} mois puis restait à peu près constant jusqu'à la fin du 3^{ème} mois de grossesse. Si cette tendance s'observait chez les multigestes, le risque d'infection semblait d'abord augmenter au cours du 2^{ème} mois pour diminuer à la fin du 3^{ème} mois de grossesse chez les primigestes.

Facteurs de risque des infections palustres du 1^{er} trimestre de grossesse

A l'issue de l'analyse univariée, la zone de résidence, le nombre de CPN, la survenue d'une infection palustre avant conception et l'âge gestationnel étaient significativement associés au risque de survenue d'une infection palustre durant le 1^{er} trimestre de grossesse. Aucune association n'a été trouvée entre l'infection palustre au 1^{er} trimestre et l'âge maternel, le statut socioéconomique du ménage, la saison, et l'utilisation d'une moustiquaire par la femme.

Après ajustement sur les potentiels facteurs confondants, nous avons observé que les femmes infectées avant conception avaient un risque significativement plus élevé d'être infectées pendant le 1^{er} trimestre de la grossesse que les femmes non infectées avant conception (ORa: 2,68; IC 95% 1,24-5,78). Par ailleurs, plus la grossesse évoluait dans le temps (âge gestationnel pris en compte sous la forme de polynôme à 2 degrés), plus le risque d'être infecté diminuait. Si les primigestes semblaient plus à risque d'infection au cours du 1^{er} trimestre que les multigestes, cette différence ne s'est pas avérée statistiquement significative. Toutefois, en stratifiant les analyses sur la gestité, nous avons mis en évidence une diminution du risque d'infection palustre au cours du 1^{er} trimestre chez les multigestes (ORa: 0,61; IC 95% 0,38-0,96), mais pas chez les primigestes.

En restreignant les analyses à la 1^{ère} CPN, l'âge gestationnel précoce et la survenue d'une infection palustre avant conception sont restés significativement associés au risque élevé d'infection palustre au 1^{er} trimestre de la grossesse.

5.1.3. Article 3. Accrombessi *et al.*, Journal of Infectious Disease 2018

Prevalence and Associated Risk Factors of Malaria in the First Trimester of Pregnancy: A Preconceptional Cohort Study in Benin

Manfred Accrombessi,^{1,2} Nadine Fievet,¹ Emmanuel Yovo,² Gilles Cottrell,¹ Gino Agbota,^{1,2} Achille Massougbdji,² Michel Cot,¹ and Valérie Briand¹

¹Mère et Enfant Face aux Infections Tropicales, French National Research Institute for Sustainable Development, Paris Descartes University, France; and ²Centre d'Etude et de Recherche sur le Paludisme Associé à la Grossesse et à l'Enfance, Cotonou, Benin

Background. There is a lack of data on the burden of malaria in the first trimester of pregnancy in Africa, mainly because pregnant women generally attend the maternity clinic late. Bed nets are rarely provided to women before the second trimester of pregnancy and intermittent preventive treatment with sulfadoxine-pyrimethamine is not recommended before the second trimester, leaving women insufficiently or not protected in early pregnancy.

Methods. To assess the burden of first trimester malaria, 387 women were followed up monthly from preconception to delivery. They were screened for malaria monthly from early pregnancy until delivery. A logistic multilevel model was used to assess maternal factors associated with malaria during the first trimester.

Results. The proportion of women with at least 1 microscopic malaria infection during the first trimester of pregnancy was 20.8%. Women infected with malaria preconception were more likely to be infected during the first trimester (adjusted odds ratio: 2.68; 95% confidence interval, 1.24–5.78). Early gestational age was also positively correlated with malaria infection.

Conclusions. Using a preconceptional study design, we showed that malaria was highly prevalent in early pregnancy. This calls for the assessment of new strategies that could protect women as soon as the first trimester.

Keywords: Malaria; first trimester; pregnancy; cohort; risk factors; Benin.

Despite substantial progress, malaria remains one of the major plagues for populations, particularly pregnant women, living in tropical and subtropical areas. In endemic areas, malaria threatens 125 million pregnancies each year, with sub-Saharan Africa accounting for 25% of this total burden [1]. Malaria in pregnancy caused by *Plasmodium falciparum* is associated with maternal and fetal anemia, stillbirth, preterm birth, and fetal growth restriction [2–7], these latter two contributing to low birth weight (LBW). LBW newborns have an increased risk of neonatal and infant mortality [8], with an estimated 11% of neonatal deaths attributable to LBW due to malaria in sub-Saharan Africa. In addition, malaria in pregnancy has been associated with an increased risk of infections during childhood [9, 10] and may have long-term consequences in adulthood [11].

In sub-Saharan Africa, preventive strategies against malaria in pregnancy recommended by the World Health Organization (WHO) are based on insecticide-treated nets (ITNs) and intermittent preventive treatment in pregnancy (IPTp) with

sulfadoxine-pyrimethamine [12]. These strategies are usually provided from the second trimester of pregnancy onwards because of the contraindication of sulfadoxine-pyrimethamine during the first trimester and the distribution of ITNs to pregnant women at their first antenatal care (ANC) visit at approximately 4–5 months of pregnancy [13]. Therefore, pregnant women may be insufficiently or not protected during the first trimester of pregnancy.

While the overall consequences of malaria in pregnancy on maternal and birth outcomes have been documented, the effect of malaria in early pregnancy—before IPTp administration—remains poorly explored [14–18]. Previous studies have shown that *Plasmodium falciparum* malaria infection was higher in early than in late pregnancy [19, 20]. However, most of the available studies were not specifically designed to assess malaria in early pregnancy and therefore women were generally recruited late in the first trimester (for a few) or early in the second trimester, which may have led to misclassification errors and underestimation of exposure. Nevertheless, all these studies showed that early malaria infections were associated with maternal anemia, fetal growth restriction, and LBW [20]. In other studies, malaria in the first trimester of pregnancy has been reported as an important risk factor for miscarriage in Southeast Asia [21].

The RETard de Croissance Intra-uterin et PALudisme (RECIPAL) project aimed to specifically assess the burden of malaria in the first trimester of pregnancy. For that purpose, a cohort of women followed from the preconception

Received 11 November 2017; editorial decision 28 December 2017; accepted 5 January 2018; published online January 8, 2018.

Correspondence: M. Accrombessi, MD, MERIT-UMR216/IRD, Faculté des Sciences Pharmaceutiques, Paris Descartes, 4 Avenue de l'Observatoire, 75006 Paris, France (accrombessimanfred@yahoo.fr).

The Journal of Infectious Diseases® 2018;217:1309–17

© The Author(s) 2018. Published by Oxford University Press for the Infectious Diseases Society of America. All rights reserved. For permissions, e-mail: journals.permissions@oup.com. DOI: 10.1093/infdis/jiy009

period to delivery was established. Data collected in 387 pregnant women were used to determine the prevalence of malaria during the first trimester of pregnancy and its associated risk factors.

METHODS

Ethics Statement

This study was approved by the Ethics Committee of the Institut des Sciences Biomédicales Appliquées in Benin. All medications given for malaria before conception or any acute diseases during pregnancy were paid by the project.

Study Site and Population

The RECIPAL study started in June 2014 and the women's follow-up was completed in August 2017. It was conducted in the districts of Sô-Ava and Abomey-Calavi located 25 km north of Cotonou, Benin. Abomey-Calavi is a semiurban area, while Sô-Ava is a rural lakeside area. In both settings, malaria is hyperendemic with a mean entomological inoculation rate of 2.05 ($\pm$ 1.3) infected anopheles bites/person/100 nights [22]. *P. falciparum* is the most common species of malaria parasite.

Our study population consisted of 387 out of a total of 411 pregnant women included and followed up in the RECIPAL study. All women were recruited before conception until getting pregnant, then for the whole duration of the pregnancy (Supplementary Figure S1). To be recruited, women had to meet the following criteria: negative urinary pregnancy test at inclusion, 18 to 45 years old, no current contraception, no previous fecundity issues, willingness to become pregnant, no planned travel for more than 2 months within the next 18 months, acceptance of RECIPAL protocol, and signed written informed consent.

Study Procedures

Preconceptional Follow-up

At inclusion, demographic, socioeconomic, and household characteristics were collected. On this occasion, microscopic malaria and urinary schistosomiasis screening, as well as hemoglobin (Hb) level determination, were performed. Subsequently, women were visited at home monthly. At these visits, the first day of last menstrual period (LMP) was recorded and a urinary pregnancy test (One-Step; International Holding, Germany) was performed. Anthropometric measurements, including height, weight, and mid-upper-arm circumference, were collected every 3 months. The collection of anthropometric measurements was performed according to standardized operating procedures [23]. ITN possession and use the night before the visit was collected at inclusion in the cohort.

Gestational Follow-up

Once the pregnancy was established, clinical, obstetrical, and anthropometric data (as before conception) were collected at each monthly ANC visit until delivery. Women received a new ITN at their first ANC visit; at each following visit, ITN use

the night before the visit was recorded. The first ultrasound scan for dating the pregnancy was performed between 9 and 13 weeks of gestation (wg). Ultrasound scans were performed with a portable ultrasound system (high-resolution ultrasound system, 5–2 MHz C60 abdominal probe; Sonosite M-TURBO, Washington State, USA) by 4 skilled medical gynecologists. A quality control was performed on 10% of the scans. The gestational age (GA) was estimated in days based on crown-rump length measurement using the Robinson's chart [24]. Following INTERGROWTH-21st methodology, GA estimation was based either on LMP if the difference between the 2 measurements (LMP/ultrasound) was less than 7 days or on ultrasound scan if the difference was >7 days [25]. Women were screened for malaria at each scheduled ANC visit using a thick blood smear (TBS). Hb level was determined at the second ANC visit at a mean of 12 wg. In addition, women were encouraged to attend the maternity clinic anytime outside the scheduled visits in case of symptoms. In cases of fever or symptoms suggestive of malaria, a TBS and a rapid diagnostic test (RDT) (*P. falciparum* + pan rapid test SD Bioline Ag, IDA Foundation, the Netherlands; Biosynex, France) were performed. Because of both active and passive surveillance for malaria during pregnancy, very few patient infections would have been undetected.

Before conception, women infected with malaria and urinary schistosomiasis were treated with artemether-lumefantrine (96/480 mg twice per day for 3 days) and praziquantel (single dose of 40 mg/kg), respectively. In cases of uncomplicated malaria during the first trimester, women were treated with oral quinine (10 mg/kg/8 hours for 7 days). In cases of severe malaria, intravenous artesunate was used until oral medication could be tolerated. Anemic pregnant women (Hb concentration < 110 g/L) were treated according to the severity of anemia: 200 mg oral ferrous sulfate and 10 mg of folic acid twice a day for moderate anemia (Hb level between 70 and 110 g/L); referral to the district tertiary hospital in case of severe anemia (Hb level < 70 g/L). According to the Beninese national guidelines, a kit including the first dose of sulfadoxine-pyrimethamine for IPTp and an ITN was given to each pregnant woman at the first ANC visit. As recommended, IPTp administration was systematically postponed to the second trimester when visits were earlier.

Laboratory Procedures

The Lambaréné technique was used to quantify parasitemia, with a detection threshold estimated to be 5 parasites/ μ L [26,27]. Hb level was measured with a HemoCue. Urinary schistosomiasis status was determined by the detection of *Schistosoma haematobium* eggs using a urine filtration technique (Nytrel filter).

Statistical Analysis

Malaria infection was defined as either a positive TBS or a positive RDT. Symptomatic malaria was defined as a positive TBS or

RDT associated with history of fever in the previous 24 hours or a measured axillary temperature $\geq 37.5^{\circ}\text{C}$. Because of the short half-life of quinine, we assumed that women had a “new infection” when it occurred more than 15 days after the previous one. The first trimester was defined as a GA ≤ 14 completed wg. GA was then classified according to the month of pregnancy (first month < 6 wg, second month 7–10 wg, and third month 11–14 wg).

We aimed to determine which of the following factors were associated with microscopic malaria infection during the first trimester of pregnancy: (1) sociodemographic characteristics: age, ethnicity, marital status, education level, and residence area; (2) clinical characteristics: gravidity, body mass index (BMI), short stature (height < 155 cm), anemia, and urinary schistosomiasis before conception; (3) GA and season at malaria screening during pregnancy, which were considered as time-dependent variables; (4) socioeconomic status; (5) household characteristics (number of inhabitants, possession of electricity, water sources, sanitation, and basic hygiene practices of household); and (6) malaria before conception. Prepregnancy BMI was classified a low (< 18.5 kg/m²), normal (18.5–24.9 kg/m²), and high (> 25 kg/m²), according to WHO classification. Socioeconomic status was approximated using a synthetic score

combining occupation and ownership of assets, which was then categorized according to the tertiles.

We used a logistic mixed model with a random intercept at the individual level assuming that successive malaria screenings during the first trimester in the same woman were correlated. The analysis was adjusted for the number of ANC visits (offset option), which varied between women according to GA at inclusion and possible censored follow-up due to migration, consent withdrawal, or miscarriage. In addition, because the woman’s susceptibility to malaria may differ depending on GA, with a higher capacity of the parasites to be selected by the placenta overtime [28], the analysis was adjusted for GA. For that purpose, GA squared was used due to the quadratic relationship between GA and the risk of malaria. Gravidity was included into all final models because it is an important factor influencing malaria susceptibility during pregnancy [19].

All variables with a *P* value below 0.2 in univariate analysis were included in the multivariate analysis. Then, the variables were eliminated step-by-step using the backward selection procedure. At this level, only variables for which the *P* value was less than 0.05 were kept. Stata version 13 for Windows (Stata Corp., College Station, TX) was used for all statistical analyses.

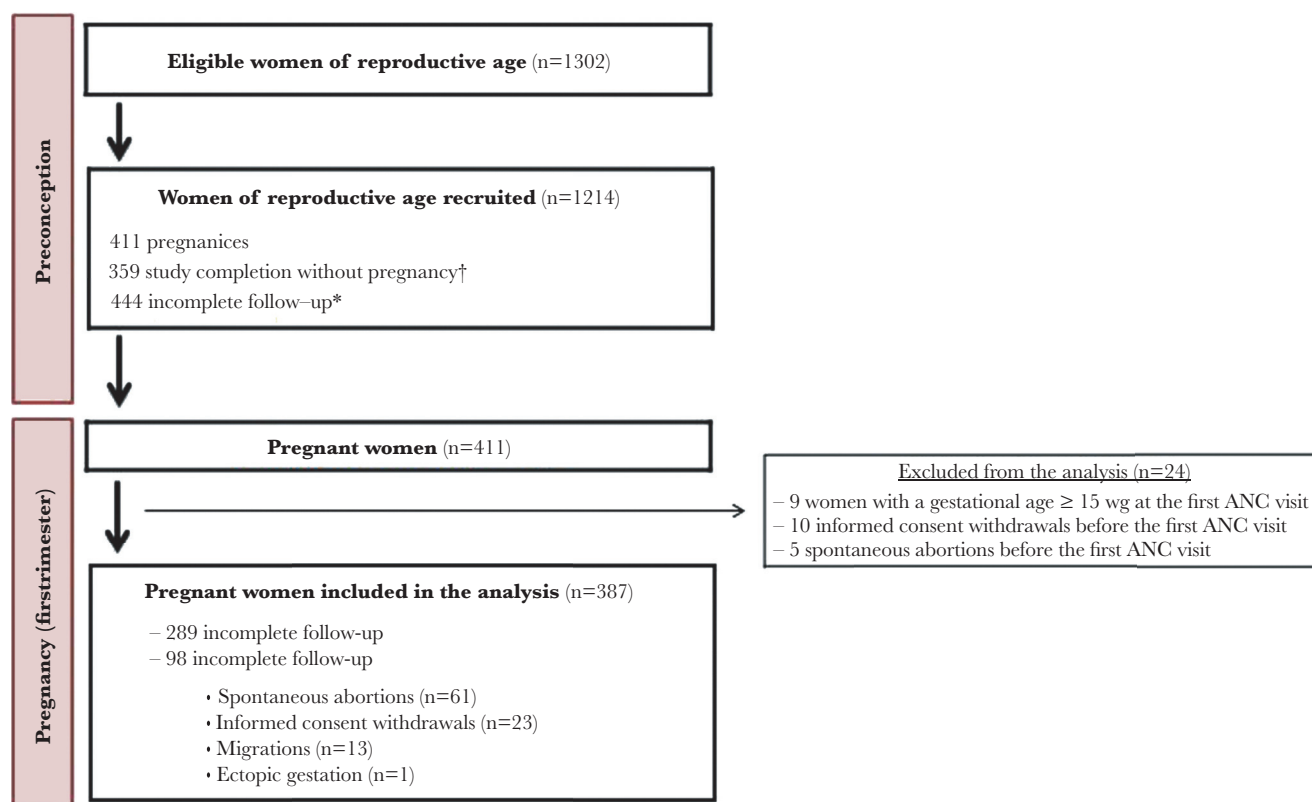


Figure 1. Flowchart diagram of the study. † Study completion: Follow-up from enrolment until the end of the study (24-month follow-up without pregnancy for women recruited before December 2014 or monthly follow-up without pregnancy for women recruited between December 2014 and December 2016), excluding consent withdrawal, migration, and lost to follow-up. * The main reasons were: consent withdrawal (272), migration (138), infertility issues (16), lost to follow-up (13), and others (5). Abbreviations: wg, weeks of gestation; ANC, antenatal care visit.

RESULTS

As presented in the flowchart (Figure 1), 1214 women of reproductive age were followed and 411 (33.8%) of them became pregnant. Twenty-four pregnant women were excluded, leaving 387 women for the present analysis. Of these 24 women, 9 had their first ANC visit after 15 wg, 10 withdrew their informed consent, and 5 had a miscarriage before the first ANC visit. Among the 387 women, 289 (74.7%) completed the first trimester follow-up, 61 (15.8%) had a miscarriage, 23 (5.9%) withdrew their informed consent, 13 (3.4%) migrated outside the study area, and 1 (0.2%) had an ectopic gestation before the end of the first trimester.

Table 1 presents the general characteristics of the 387 pregnant women. The median duration of follow-up before conception was 3.9 months (interquartile range [IQR]: 1.77–7.49). The women's mean age was 26.8 years and 7.8% were primigravidae. The prevalence of microscopic malaria infection before pregnancy was 6.3% (10.0% vs 5.9% in primi- and multigravidae, respectively, $P = .38$). The pregnancy was confirmed at a mean of 6.7 wg. The mean number of visits during the first trimester, including both scheduled and unscheduled visits, was 2.3 (range 1–6). During pregnancy, more than 97% of women declared they had slept under an ITN the night before the visit.

The proportion of women with at least 1 microscopic malaria infection during the first trimester of pregnancy, including both scheduled and unscheduled visits, was 20.8% (26.7% vs 20.3% in primi- and multigravidae, respectively, $P = .41$); 7.3% of these infections were symptomatic. During unscheduled visits, malaria was detected in 21.6% of women; 12.2% of these infections were symptomatic. The overall incidence rate of new malaria infections was 19.7 infections per 100 person-months (95% CI, 15.8–24.5). Twelve women (3.1%) had 2 or more malaria infections. Among infected women, the mean geometric parasite density was 599 (95% CI, 416–863) parasites/ μ L. Women were more likely to be infected with malaria during the first trimester than before pregnancy (21% vs 6.3%; Figure 2). This difference was also observed when restricting the comparison to women at their first ANC visit (11.7% vs 6.3%).

Among the women who were screened for malaria during the first, second, and third month of pregnancy, the prevalence of malaria infection was 16.7%, 9.2%, and 11.2%, respectively (Table 2). Figure 3 presents the risk estimates (odds) of malaria infection throughout the first trimester of pregnancy after adjustment for gravidity. We observed that the risk of infection decreased at the end of the first month of pregnancy, then it remained constant until the end of the first trimester. While this trend was observed in multigravidae, the risk of malaria infection seemed to start decreasing only at the end of the first trimester in primigravidae (Figure 2).

In univariate analysis, residence area, number of ANC visits, malaria before pregnancy, and GA were associated with malaria

Table 1. Sociodemographic and Clinical Characteristics of the 387 Women Followed During the First Trimester of Pregnancy, RECIPAL, 2014–2017

Characteristics		No. screened	%, mean* ($\pm$ SD), median (IQR)
Residence area	Akassato	99	25.6%
	Sô-Ava	288	74.4%
Duration of follow-up before pregnancy (months)	All participants	387	3.90 (IQR, 1.77–7.49)
Age (years)	All participants	387	26.8 ($\pm$ 5.1)
	< 23 y	83	21.4%
	23–30 y	227	58.7%
	> 30 y	77	19.9%
Ethnic group	Toffin	284	73.4%
	Fon	30	7.7%
	Aïzo	56	14.5%
	Others ^a	17	4.4%
Education	Illiterate	276	71.3%
Marital status	Polygamy	117	29.5%
	Monogamy	247	63.8%
	Cohabitation	26	6.7%
Gravidity	Multigravidae	357	92.2%
	Primigravidae	30	7.8%
Household density ^b	All participants	387	5.9 ($\pm$ 3.3)
	> 5	180	46.5%
ITN possession	Yes	380	98.2%
Prepregnancy BMI (kg/m ²)	All participants	387	23.0 ($\pm$ 4.3)
	< 18.5	39	10.1%
	18.5–25	249	64.3%
	$\geq$ 25	99	25.6%
Prepregnancy MUAC (< 23 cm)	Yes	25	6.5%
Short stature (height < 155 cm)	Yes	113	29.2%
Gestational age at the first ANC visit (weeks) ^c	All participants	387	6.7 ($\pm$ 2.1)
Number of ANC visits in the 1st trimester ^d	All participants	387	2.3 (range 1–6)

Abbreviations: IQR, interquartile range; ITN, insecticide-treated bed net; ANC visit, antenatal care visit; BMI, body mass index; MUAC, mid-upper-arm circumference; SD, standard deviation. *Arithmetic mean.

^aOther ethnic groups: Yoruba, Adja, Goun, Ahoussa, Cotafoin, Mahi, Sahoue.

^bHousehold density: number of people living in the household.

^cGestational age was estimated using ultrasound scan or last menstrual period.

^dIncluding both scheduled and unscheduled visits.

infection during the first trimester of pregnancy (Table 3). We did not find any association between malaria and maternal age, socioeconomic status, season, and use of ITN at the time of malaria screening. In multivariate analysis, women infected with malaria before pregnancy remained significantly more likely to be infected with malaria during the first trimester (adjusted odds ratio [aOR]: 2.68; 95% CI, 1.24–5.78). In addition, the risk of malaria during the first trimester decreased significantly over time when GA was considered as a quadratic function. We did not evidence a statistical significant association between gravidity and the risk of malaria, although primigravidae seemed to be more likely to be infected than multigravidae (Figure 2). When

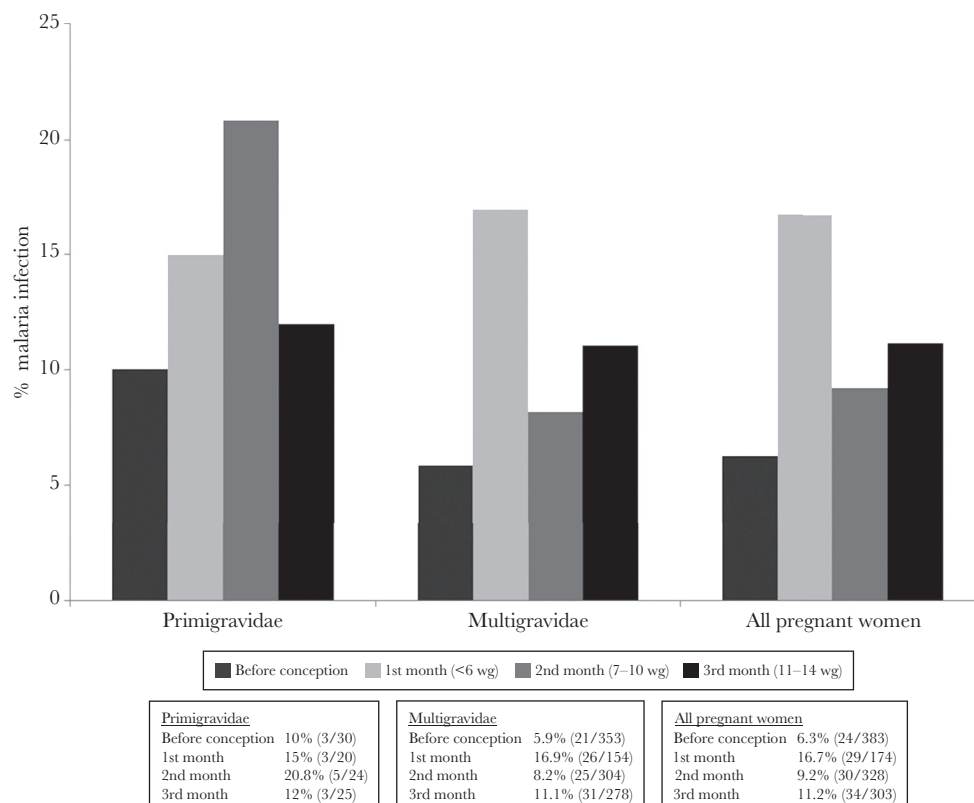


Figure 2. Prevalence of microscopic malaria infection before and during the first trimester of pregnancy according to gravidity. Abbreviation: wg, weeks of gestation.

stratifying the analysis on gravidity, we found that the risk of malaria infection decreased throughout the first trimester in multigravidae (aOR: 0.61; 95% CI, 0.38–0.96), but not in primigravidae (Supplementary Table S1). Finally, when restricting the analysis to women in their first ANC visit, early GA and malaria before conception remained significantly associated with malaria in the first trimester (data not shown).

DISCUSSION

Very little information on the burden of malaria in early pregnancy is currently available. We investigated malaria during the first trimester of pregnancy and its associated risk factors using a specifically designed study, in which women were recruited before conception. Prior studies of malaria in early pregnancy in sub-Saharan Africa countries have been limited by recruiting women late in the first trimester, which may have lead to misclassification errors (by categorizing some early infected women as noninfected) and underestimation of exposure [14–18]. We showed that malaria infection was highly prevalent in early pregnancy. Malaria before conception and early GA were the main related risk factors.

We found that women during the first trimester of pregnancy were more infected with malaria than before conception. As data collection started before conception, each woman served as her own control, limiting the influence of confounding variables. This result

was found regardless of gravidity. Malaria infection was highly incident during the first trimester (incidence rate of 19.7 infections per 100 person-months). This result is in accordance with previous publications [19, 29, 30], which suggested that malaria occurring at the time of placentation (around 12 wg) may be responsible for up to 70% of the total exposure to placental infection [29].

In our study, women infected with malaria before conception remained more likely to be infected with malaria during the first trimester of pregnancy. This association may partially be explained by the fact that these women had the same level of exposure to malaria during both periods. Another explanation may be that some of the infections detected in the first weeks of pregnancy were subpatent infections (ie, under level of detection of microscopy and RDT) present before conception. Because the proportion of microscopic infections was higher during pregnancy than before pregnancy, we assume that some of these prepregnancy infections were subpatent and that they became microscopic because of changes in women's physiology and immunity during early pregnancy [31, 32], making women more susceptible to infectious diseases [33]. In order to confirm this hypothesis, parasites detected in women infected both before conception and during the first trimester of pregnancy have been collected and will be checked for genotype similarity.

Malaria infections were particularly prevalent during the first month of pregnancy and then decreased later in the first

Table 2. Biological Characteristics of the 387 Women Before Conception and During the First Trimester of Pregnancy, RECIPAL, 2014–2017

Characteristics		No. screened	% (n) or mean (± SD)
Preconception			
Microscopic malaria infection	Yes	383	6.3% (24)
Hemoglobin level (g/dL) ^a	Mean	386	11.8 (± 1.4)
	Anemia	386	55.7% (215)
Urinary schistosomiasis infection ^b	Yes	220	26.8% (59)
First trimester of pregnancy			
Microscopic malaria infection	1st month (0–6 wg)	29/174	16.7%
	2nd month (7–10 wg)	30/328	9.2%
	3rd month (11–14 wg)	34/303	11.2%
Incidence rate of microscopic malaria infection ^c	100 persons-month	387	19.7 (15.8–24.5) ^d
Malaria infection	≥ 1 episode(s)	385	20.8% (80)
Clinical malaria ^e	≥ 1 episode(s)	385	7.3% (28)
Hemoglobin level (g/dL) ^a	Mean	276	11.5 (± 1.2)
	Anemia	276	35.9% (99)
HIV status	Negative	300	98.0% (294)
	Positive	300	2.0% (6)

Abbreviations: SD, standard deviation; wg, weeks of gestation.

^aAccording to the WHO classification, the threshold of anemia definition was 12 g/dL and 11 g/dL before pregnancy and during the first trimester, respectively. During the first trimester of pregnancy, hemoglobin level was performed at the second antenatal care visit around 12 wg.

^bSchistosomiasis screening was initiated 12 months after the beginning of the study.

^cIncidence rate = (new cases of malaria infection during the first trimester / persons-month at risk) × 100.

^d95% confidence interval.

^ePositive thick blood smear or rapid diagnostic test with an axillary temperature ≥ 37.5°C or history of fever in the last 24 hours.

trimester (16.7%, 9.2%, and 11.2% at < 6 wg, 7–10 wg, and 11–14 wg, respectively). We believe this finding is not due to confounding for the following reasons. First, because a small proportion of women had symptomatic cases and infections were detected actively, it is unlikely that the very early infections (<6 wg) were overrepresented because they were symptomatic. Second, the lower prevalence of infections late in the first trimester (7–14 wg) may be related to the treatment of infections earlier in the first trimester, despite the short half-life of quinine used as malaria treatment in the first trimester [34]. However, when restricting the analysis to women at their first ANC visit, a similar decrease in malaria infection risk with GA was observed. Moreover, at this visit, no women reported to have been treated for malaria since the last preconceptional visit. Finally, the lower prevalence of infection in women with advanced GA (11–14 wg) compared to women with early GA (< 6 wg) at the first ANC visit was not related to a more recent treatment against malaria. Indeed, these women had a longer duration of follow-up before conception, and therefore a higher

risk of new infection after initial treatment against malaria at enrolment. Of interest is the fact that the risk of malaria infection decreased throughout the first trimester in multigravidae. The susceptibility of women to malaria during pregnancy is related to the selection of specific parasites, which have the capacity to sequester within the placenta. With successive pregnancies, a pregnant woman develops increasing immunity to these parasites, allowing for a better control of infections [35]. VAR2CSA is the specific variant of *P. falciparum* proteins expressed on the surface of infected erythrocytes [36] that allows placenta sequestration. VAR2CSA-parasites have been detected as early as 7 wg [37]. In our study, multigravidae may have had the capacity to control infections due to VAR2CSA-parasites as early as 6 wg as compared to primigravidae, for whom malaria prevalence seemed to start decreasing only at the end of the first trimester.

We also reported an important proportion of miscarriages (15.8%) in our study, which was higher than previously reported in African studies [38]. This may be related to our study design (preconceptional follow-up of women), which allowed us to identify very early miscarriages.

We did not evidence any seasonal effect on malaria risk. That might be explained by the specific environmental conditions in the study area. Indeed, most women (74.4%) lived in Sô-Ava district, which is a permanent natural lake providing ideal breeding conditions for mosquitoes throughout the year.

A major strength, and originality, of this study is that women were recruited before conception and then followed up from the very beginning of pregnancy. This allowed the detection of the earliest malaria infections, in particular those occurring before and during placental development, which usually stay undiagnosed. Moreover, GA could be estimated accurately using ultrasound before 15 wg, allowing for the precise determination of the timing of malaria infections during pregnancy. Nevertheless, this study has some limitations that should be considered. First, we did not specifically assess the woman's level of exposure to malaria, which highly influences the risk of infection. However, the analysis was adjusted for malaria infection before conception, a suitable proxy for the woman's level of exposure to malaria. In addition, the analysis included only 30 (7.8%) primigravidae, who are more likely to be infected with malaria during pregnancy. This low proportion was due to the fact that RECIPAL was implemented following a study on primigravidae conducted in the same area, making an important proportion of eligible primigravidae unavailable for our study [39]. Although this may not lead to a selection bias, findings based on analyses stratified on gravidity should be taken with caution.

There is growing evidence that malaria in the first trimester of pregnancy is deleterious for both the fetus and the mother [20]. Early malaria infections have been suggested to impair placentation [40, 41], with possible chronic effects on fetal growth.

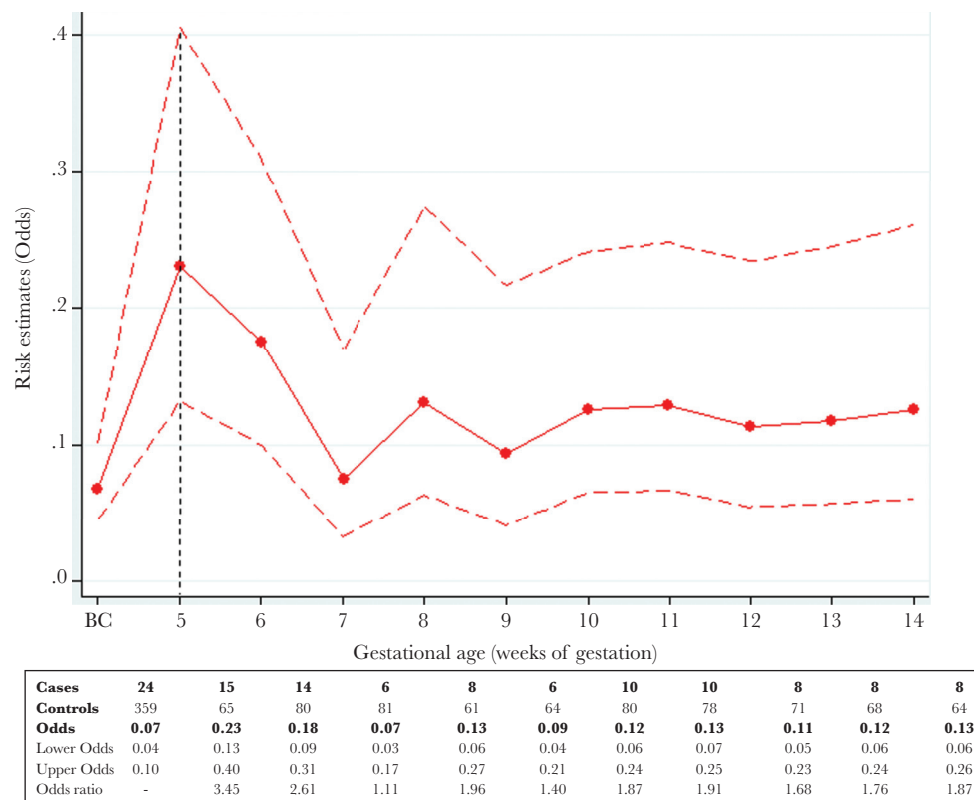


Figure 3. Variation in risk estimates (odds) of malaria infection during the first trimester of pregnancy after adjustment for gravidity. Risk of malaria infection (solid line) and its 95% confidence interval (dash lines). Abbreviation: BC, before conception.

Preventive strategies against malaria should clearly start from the first trimester of pregnancy. However, options are currently limited. As recommended later in pregnancy, prevention should rely on an integrated approach, combining safe drugs in the first trimester and antivectional strategies (ITNs, potentially associated with indoor residual spraying). Artemisinin-based combination therapies have been shown to be safe during the first trimester of pregnancy [42]. Dihydroartemisinin-piperaquine

is a well-tolerated, efficacious, and safe combination of drugs [42–44], which may be a good option for early IPTp. However, the challenge remains to access women in the first trimester of pregnancy. Hence, preconceptional strategies against malaria in pregnancy may be of clear interest. A vaccine against VAR2CSA-parasites, which could elicit protective immunity prior to pregnancy to best protect women during early pregnancy, may be proposed as a complementary strategy to those

Table 3. Factors Associated With Malaria Infection During the First Trimester of Pregnancy, RECIPAL, 2014–2017

Factors	Univariate analysis ^a		Multivariate analysis	
	OR (95% CI)	P value	aOR (95% CI)	P value
Gestational age (wg)	0.61 (0.39–0.93)	.02	0.64 (0.41–0.98)	.04
Gestational age squared (wg)	1.02 (1.00–1.05)	.04	1.02 (0.99–1.05)	.07
Prepregnancy malaria infection				
No	1		1	
Yes	3.09 (1.48–6.45)	.003	2.68 (1.24–5.78)	.01
Number of antenatal care visits ^b	1.28 (1.02–1.61)	.03		
Gravidity ^c				
Multigravidae	1		1	
Primigravidae	1.51 (0.70–3.25)	.29	1.22 (0.55–2.67)	.61
Residence area				
Akassato	1			
Sô-Ava	1.87 (0.99–3.53)	.05	–	–

Logistic multilevel model, N = 381. Random intercept at the individual level; analysis of 796 malaria screenings in 381 pregnant women.

Abbreviations: aOR, adjusted odds ratio; wg, weeks of gestation, CI, confidence interval; (–) nonsignificant in multivariate model.

^aMaternal age, education, ethnicity, marital status, household density, schistosomiasis infection, anemia, insecticide bed net use, prepregnancy body mass index, season at the time of malaria screening were not associated with malaria infection in univariate analysis.

^bThe number of antenatal care visits has been adjusted for the multivariate model using an “offset option.”

^cGravidity was included into the final model even if not significant in the univariate analysis.

already recommended during pregnancy. Such a vaccine is currently under evaluation [45].

Supplementary Data

Supplementary materials are available at *The Journal of Infectious Diseases* online. Consisting of data provided by the authors to benefit the reader, the posted materials are not copyedited and are the sole responsibility of the authors, so questions or comments should be addressed to the corresponding author.

Notes

Authors' contributions. A. M., M. C., and V. B. conceived and designed the study. A. M. and V. B. analyzed the data. A. M., E. Y., G. A., G. C., M. A., N. F., and V. B. contributed reagents/materials/analysis tools. A. M., M. C., and V. B. drafted and finalized the manuscript. The final manuscript was read and approved by all authors.

Acknowledgments. We are extremely grateful to all families who took part in this study, the midwives, nurses, and community health workers for recruiting and following them, and the whole RECIPAL team, including research scientists, engineers, technicians, and managers.

Financial support. This work was supported by the French Agence Nationale de la Recherche (grant number ANR-13-JSV1-0004, 2013) and the Fondation de France (grant number 00074147, 2017). M. A. was funded by the Réseau doctoral de l'Ecole des Hautes Etudes en Santé Publique for a PhD scholarship and received a prize from the Fondation des Treilles (<http://www.les-treilles.com/en/>).

Potential conflicts of interest. All authors: No reported conflicts of interest. All authors have submitted the ICMJE Form for Disclosure of Potential Conflicts of Interest. Conflicts that the editors consider relevant to the content of the manuscript have been disclosed.

References

1. Dellicour S, Tatem AJ, Guerra CA, Snow RW, ter Kuile FO. Quantifying the number of pregnancies at risk of malaria in 2007: a demographic study. *PLoS Med* **2010**; 7:e1000221.
2. Ouédraogo S, Koura GK, Bodeau-Livinec F, Accrombessi MM, Massougboji A, Cot M. Maternal anemia in pregnancy: assessing the effect of routine preventive measures in a malaria-endemic area. *Am J Trop Med Hyg* **2013**; 88:292–300.
3. Brabin BJ, Kalanda BF, Verhoeff FH, Chimsuku LH, Broadhead RL. Risk factors for fetal anaemia in a malarious area of Malawi. *Ann Trop Paediatr* **2004**; 24:311–21.
4. Rogawski ET, Chaluluka E, Molyneux ME, Feng G, Rogerson SJ, Meshnick SR. The effects of malaria and intermittent preventive treatment during pregnancy on fetal anemia in Malawi. *Clin Infect Dis* **2012**; 55:1096–102.
5. Lawn JE, Blencowe H, Waiswa P, et al. Stillbirths: Rates, risk factors, and acceleration towards 2030. *Lancet* **2016**; 387:587–603.
6. Steketee RW, Nahlen BL, Parise ME, Menendez C. The burden of malaria in pregnancy in malaria-endemic areas. *Am J Trop Med Hyg* **2001**; 64:28–35.
7. Briand V, Saal J, Ghafari C, et al. Fetal growth restriction is associated with malaria in pregnancy: a prospective longitudinal study in Benin. *J Infect Dis* **2016**; 214:417–25.
8. Katz J, Lee AC, Kozuki N, et al.; CHERG Small-for-Gestational-Age-Preterm Birth Working Group. Mortality risk in preterm and small-for-gestational-age infants in low-income and middle-income countries: a pooled country analysis. *Lancet* **2013**; 382:417–25.
9. Le Port A, Watier L, Cottrell G, et al. Infections in infants during the first 12 months of life: role of placental malaria and environmental factors. *PLoS One* **2011**; 6:e27516.
10. Rachas A, Le Port A, Cottrell G, et al. Placental malaria is associated with increased risk of nonmalaria infection during the first 18 months of life in a Beninese population. *Clin Infect Dis* **2012**; 55:672–8.
11. Longo S, Bollani L, Decembrino L, Di Comite A, Angelini M, Stronati M. Short-term and long-term sequelae in intra-uterine growth retardation (IUGR). *J Matern Fetal Neonatal Med* **2013**; 26:222–5.
12. WHO Malaria Policy Advisory Committee and Secretariat. Malaria Policy Advisory Committee to the WHO: conclusions and recommendations of eighth biannual meeting (September 2015). *Malar J* **2016**; 15:117.
13. Crawley J, Hill J, Yartey J, et al. From evidence to action? Challenges to policy change and programme delivery for malaria in pregnancy. *Lancet Infect Dis* **2007**; 7:145–55.
14. Cottrell G, Mary JY, Barro D, Cot M. The importance of the period of malarial infection during pregnancy on birth weight in tropical Africa. *Am J Trop Med Hyg* **2007**; 76:849–54.
15. Huynh BT, Fievet N, Gbaguidi G, et al. Influence of the timing of malaria infection during pregnancy on birth weight and on maternal anemia in Benin. *Am J Trop Med Hyg* **2011**; 85:214–20.
16. Valea I, Tinto H, Drabo MK, et al.; FSP/MISAME Study Group. An analysis of timing and frequency of malaria infection during pregnancy in relation to the risk of low birth weight, anaemia and perinatal mortality in Burkina Faso. *Malar J* **2012**; 11:71.
17. De Beaudrap P, Turyakira E, White LJ, et al. Impact of malaria during pregnancy on pregnancy outcomes in a Ugandan prospective cohort with intensive malaria screening and prompt treatment. *Malar J* **2013**; 12:139.
18. Kalilani-Phiri L, Thesing PC, Nyirenda OM, et al. Timing of malaria infection during pregnancy has characteristic

- maternal, infant and placental outcomes. *PLoS One* **2013**; 8:e74643.
19. Brabin BJ. An analysis of malaria in pregnancy in Africa. *Bull World Health Organ* **1983**; 61:1005–16.
 20. Huynh BT, Cottrell G, Cot M, Briand V. Burden of malaria in early pregnancy: a neglected problem? *Clin Infect Dis* **2015**; 60:598–604.
 21. McGready R, Lee SJ, Wiladphaingern J, et al. Adverse effects of falciparum and vivax malaria and the safety of antimalarial treatment in early pregnancy: a population-based study. *Lancet Infect Dis* **2012**; 12:388–96.
 22. Djènontin A, Bio-Bangana S, Moiroux N, et al. Culicidae diversity, malaria transmission and insecticide resistance alleles in malaria vectors in Ouidah-Kpomasse-Tori district from Benin (West Africa): A pre-intervention study. *Parasit Vectors* **2010**; 3:83.
 23. Lohman T, Roche A, Martorell R (eds). Anthropometric standardization reference manual. Champaign, IL: Human Kinetics, **1998**.
 24. Robinson HP, Fleming JE. A critical evaluation of sonar “crown-rump length” measurements. *Br J Obstet Gynaecol* **1975**; 82:702–10.
 25. Papageorgiou AT, Sarris I, Ioannou C, et al.; International Fetal and Newborn Growth Consortium for the 21st Century. Ultrasound methodology used to construct the fetal growth standards in the INTERGROWTH-21st Project. *BJOG* **2013**; 120 (Suppl 2):27–32, v.
 26. Planche T, Krishna S, Kombila M, et al. Comparison of methods for the rapid laboratory assessment of children with malaria. *Am J Trop Med Hyg* **2001**; 65:599–602.
 27. Swysen C, Vekemans J, Bruls M, et al.; Clinical Trials Partnership Committee. Development of standardized laboratory methods and quality processes for a phase III study of the RTS, S/AS01 candidate malaria vaccine. *Malar J* **2011**; 10:223.
 28. Rogerson SJ, Hviid L, Duffy PE, Leke RF, Taylor DW. Malaria in pregnancy: pathogenesis and immunity. *Lancet Infect Dis* **2007**; 7:105–17.
 29. Walker PG, Griffin JT, Cairns M, et al. A model of parity-dependent immunity to placental malaria. *Nat Commun* **2013**; 4:1609.
 30. Moore KA, Simpson JA, Wiladphaingern J, et al. Influence of the number and timing of malaria episodes during pregnancy on prematurity and small-for-gestational-age in an area of low transmission. *BMC Med* **2017**; 15:117.
 31. Mor G, Abrahams V. Immunology of implantation. In: Arici A, ed. *Immunology and allergy clinics*. Philadelphia: W.B. Saunders Company, **2002**:545–65.
 32. Mor G, Cardenas I, Abrahams V, Guller S. Inflammation and pregnancy: the role of the immune system at the implantation site. *Ann N Y Acad Sci* **2011**; 1221:80–7.
 33. Mor G, Cardenas I. The immune system in pregnancy: a unique complexity. *Am J Reprod Immunol* **2010**; 63:425–33.
 34. Luty AJ, Lell B, Schmidt-Ott R, et al. Interferon-gamma responses are associated with resistance to reinfection with *Plasmodium falciparum* in young African children. *J Infect Dis* **1999**; 179:980–8.
 35. Duffy PE, Fried M. Malaria during pregnancy: parasites, antibodies and chondroitin sulphate A. *Biochem Soc Trans* **1999**; 27:478–82.
 36. Fried M, Domingo GJ, Gowda CD, Mutabingwa TK, Duffy PE. *Plasmodium falciparum*: chondroitin sulfate A is the major receptor for adhesion of parasitized erythrocytes in the placenta. *Exp Parasitol* **2006**; 113:36–42.
 37. Doritchamou J, Bertin G, Moussiliou A, et al. First-trimester *Plasmodium falciparum* infections display a typical “placental” phenotype. *J Infect Dis* **2012**; 206:1911–9.
 38. Dellicour S, Aol G, Ouma P, et al. Weekly miscarriage rates in a community-based prospective cohort study in rural western Kenya. *BMJ Open* **2016**; 6:e011088.
 39. Gbédandé K, Fievet N, Viwami F, et al.; Multi-centre research paper. Clinical development of a VAR2CSA-based placental malaria vaccine PAMVAC: Quantifying vaccine antigen-specific memory B and T cell activity in Beninese primigravidae. *Vaccine* **2017**; 35:3474–81.
 40. Ome-Kaius M, Karl S, Wangnapi RA, et al. Effects of *Plasmodium falciparum* infection on umbilical artery resistance and intrafetal blood flow distribution: a Doppler ultrasound study from Papua New Guinea. *Malar J* **2017**; 16:35.
 41. Silver KL, Conroy AL, Leke RGF, et al. Circulating soluble endoglin levels in pregnant women in Cameroon and Malawi—associations with placental malaria and fetal growth restriction. *PLoS One* **2011**; 6:e24985.
 42. Moore KA, Simpson JA, Paw MK, et al. Safety of artemisinins in first trimester of prospectively followed pregnancies: an observational study. *Lancet Infect Dis* **2016**; 16:576–83.
 43. Rijken MJ, McGready R, Boel ME, et al. Dihydroartemisinin-piperaquine rescue treatment of multidrug-resistant *Plasmodium falciparum* malaria in pregnancy: a preliminary report. *Am J Trop Med Hyg* **2008**; 78:543–5.
 44. Pekyi D, Ampromfi AA, Tinto H, et al.; PREGACT Study Group. Four artemisinin-based treatments in African pregnant women with Malaria. *N Engl J Med* **2016**; 374:913–27.
 45. Tuikue-Ndam N, Deloron P. Developing vaccines to prevent malaria in pregnant women. *Expert Opin Biol Ther* **2015**; 15:1173–82.

5.2. Effets délétères des infections palustres microscopiques du 1^{er} trimestre de grossesse sur la santé de la mère et de l'enfant pendant la grossesse

5.2.1. Problématique de l'article 4

Nous avons précédemment montré que les infections palustres étaient fréquentes au cours du 1^{er} trimestre de la grossesse, période pendant laquelle les femmes enceintes sont très peu, voire non protégées contre le paludisme. Pourtant, des études ont suggéré que les infections palustres microscopiques survenant avant le 4^{ème} mois de grossesse avaient des effets délétères sur la santé de l'enfant et de la mère. Cependant, l'une des limites de ces études tient au recrutement tardif des femmes enceintes; la plupart des études n'ayant pas été spécifiquement conçues pour évaluer les conséquences des infections palustres précoces.

Le suivi pré-conceptionnel mis en place dans le cadre de la cohorte RECIPAL nous a permis d'identifier les infections palustres dès le 1^{er} trimestre, notamment celles survenant au cours de la placentation. Par ailleurs, nous avons pu estimer de façon précise l'âge gestationnel grâce à l'utilisation d'une échographie obstétricale précoce. Disposer d'un âge gestationnel précis est un élément essentiel lorsque l'on étudie l'effet des infections palustres en fonction de leur moment de survenue pendant la grossesse.

Dans ce quatrième article, nous nous sommes proposés d'étudier l'effet direct des infections palustres au 1^{er} trimestre de la grossesse sur les issues défavorables de grossesse, notamment le PPAG, la prématurité, le FPN et l'anémie maternelle, en prenant en compte la survenue d'infections palustres au 2^{ème} et 3^{ème} trimestre de la grossesse, grâce à l'utilisation de modèles d'équation structurelle (analyse en chemins ou path analysis).

5.2.2. Résumé des résultats de l'article 4

La proportion de femmes ayant présenté au moins une infection palustre pendant la grossesse était de 43,1%; 22,1% de ces infections étaient symptomatiques. La prévalence des infections palustres au 1^{er} trimestre était plus élevée qu'aux 2^{ème} et 3^{ème} trimestres de la grossesse (21,8% vs. 17,7% et 14,6%). Nous avons observé une diminution progressive du risque d'infection palustre tout au long de la grossesse (score de tendance, $P=0,002$), avec une diminution plus nette à partir du milieu du 3^{ème} trimestre. La prévalence des infections palustres placentaires était de 6,4%. Durant la grossesse, plus de 97% des femmes ont déclaré avoir dormi sous moustiquaire la veille de la visite. La proportion de femmes ayant reçu aucune, une, deux et trois doses de TPIg était respectivement de 3,7%, 19,5%, 62,9% et 13,9%. La 1^{ère}, 2^{ème} et 3^{ème} dose étaient administrées en moyenne à 23,3 ($\pm 4,8$) SA, 29,9 ($\pm 4,9$) SA et 34,4 ($\pm 3,7$) SA.

Plus de la moitié des femmes (58,1%) était anémiée en fin de grossesse. Les proportions d'enfants nés avec un FPN, prématurés ou présentant un PPAG, étaient respectivement de 9%, 8,9% et 20,4%.

Après prise en compte de la survenue d'infections palustres aux 2^{ème} et 3^{ème} trimestres de la grossesse ainsi que des différents co-facteurs pouvant influencer l'issue de la grossesse, nous avons observé un effet direct significatif de l'infection palustre au 1^{er} trimestre sur l'anémie maternelle en fin de grossesse (ORa: 2,25; IC 95%, 1,11–4,55). Cependant, aucune association statistiquement significative n'a été trouvée entre les infections palustres au 1^{er} trimestre de grossesse et la prématurité, le PPAG et le FPN.

Par ailleurs, nous avons observé que la proportion de FPN, de prématurité, de PPAG et d'anémie maternelle en fin de grossesse était plus importante parmi les femmes infectées à plusieurs reprises à partir du 1^{er} trimestre de la grossesse en comparaison aux femmes non infectées ou à

celles uniquement infectées à partir du 2ème trimestre. Cette tendance était significative pour le FPN (26,1% vs. 2%, $P=0.002$).

5.2.3. Article 4. Accrombessi et al. Soumis dans *The Clinical Infectious Disease Journal*

Title

Effects of Malaria in the First Trimester of Pregnancy on Poor Maternal and Birth Outcomes in Benin

Authors

Manfred Accrombessi,^{1,2*} Emmanuel Yovo,² Nadine Fievet,¹ Gilles Cottrell,¹ Gino Agbota,^{1,2} Agnès Gartner,³ Yves Martin-Prevel,³ Bertin Vianou,² Darius Sossou,² Nadia Fanou-Fogny,⁴ Diane Djossinou,^{3,4} Achille Massougbodji,² Michel Cot,¹ Valérie Briand¹

Affiliation

¹ UMR216-MERIT, French National Research Institute for Sustainable Development (IRD), Université Paris 5, Sorbonne Paris Cité, Paris, 75006, France.

² Centre d'Etude et de Recherche sur le Paludisme Associé à la Grossesse et à l'Enfance (CERPAGE), Cotonou, Benin.

³ UMR204-Nutripass, French National Research Institute for Sustainable Development (IRD), Université de Montpellier, SupAgro, Montpellier, France.

⁴ Ecole de Nutrition et des Sciences et Technologies Alimentaires (ENSTA), Faculté des Sciences Agronomiques, Université d'Abomey-Calavi, Benin

*Corresponding author

Manfred Accrombessi

MERIT-UMR216/IRD « Mother and child face to tropical infections »

Faculté des sciences pharmaceutiques Paris Descartes

4 avenue de l'Observatoire. 75006 Paris

08 BP 841 Cotonou, Benin

E-mail: accrombessimanfred@yahoo.fr

24 **Word count**

25 Abstract: 246/250; Full text: 3333/3000.

26 **Running title:** First trimester malaria infection (40 characters and spaces)

27 **Key points** (40-word summary of the article's main point)

28 Using data from a Beninese preconceptional cohort, microscopic malaria in the 1st trimester of
29 pregnancy had a direct and negative effect on maternal anaemia late in pregnancy. Repeated
30 infections starting in the 1st trimester tended to increase the risk of low birthweight.

31

32

33

34

35

36

37

38

39

40

41

Abstract

Background. In sub-Saharan Africa, malaria in the first half of pregnancy is harmful for both the mother and her fetus. However, malaria in the 1st trimester of pregnancy, when women are usually not protected against malaria, has been little investigated. For the first time, we assessed the effects of malaria in the 1st trimester on maternal and birth outcomes using a preconceptional study design.

Methods. From June 2014 to March 2017, 1214 women of reproductive age were recruited and followed monthly until 411 became pregnant. Pregnant women were then followed from 5-6 weeks of gestation until delivery. Path analysis was used to assess the direct effect (i.e., not mediated by malaria in the 2nd or 3rd trimester) of malaria in the 1st trimester on maternal anaemia and poor birth outcomes (preterm birth, small-for-gestational age and low birthweight). Also, the cumulative effect of infections during pregnancy on the same outcomes was evaluated.

Results. The prevalence of malaria infection in the 1st trimester was 21.8%. Malaria in the 1st trimester was significantly associated with maternal anaemia in the 3rd trimester (aOR: 2.25, 95% CI 1.11, 4.55). While malaria infections in the 1st trimester had no direct effect on birth outcomes, their association with infections later in pregnancy tended to increase the risk of low birthweight.

Conclusion. Malaria infections in the 1st trimester were highly prevalent and have deleterious effects on maternal anaemia. They highlight the need for additional preventive measures starting in early pregnancy, or even before conception.

Key words: Malaria infection, first trimester, maternal anaemia, poor birth outcomes, preconceptional cohort, Africa

Introduction

Over 125 million pregnancies are exposed to malaria each year, with sub-Saharan Africa (SSA) accounting for 25% of this total burden [1]. While the overall consequences of malaria in pregnancy on maternal and birth outcomes have been well documented [2], the influence of the timing of malaria infections during pregnancy, particularly the effect of infections in the first trimester remains poorly explored so far. However, this period may be critical for the fetus, since parasite sequestration into the placenta may occur as early as 8 weeks of gestation (wg) [3], with subsequent alterations of placental development and function [4–7]. Besides, women are not, or insufficiently, protected against malaria during this period since the recommended strategies—Intermittent Preventive Treatment (IPTp) with sulfadoxine-pyrimethamine (SP) and long lasting insecticide treated nets (LLITNs) [8]—are usually provided from the 2nd trimester.

Most available studies have shown deleterious effects of malaria in the first half of pregnancy on maternal and perinatal outcomes [9–12]. Among them, only a few assessed malaria in the first trimester specifically [13–17], with methodological limitations for some of them. Based on the largest cohort of women in Southeast Asia, malaria in the first trimester of pregnancy was found to be strongly associated with miscarriage [14], but not with other poor birth outcomes [15].

To assess the effect of malaria in the first trimester of pregnancy on maternal and birth outcomes, a prospective cohort of women followed from the preconception period to delivery was established as part of the “REtard de Croissance Intra-utérin et PALudisme” (RECIPAL). We evaluated the effect of malaria infections in the first trimester on preterm birth (PTB), small-birthweight-for-gestational age (SGA), low birthweight (LBW) and maternal anaemia in the third trimester of pregnancy.

Methods

Ethics Statement

This study was approved by the Ethics Committee of the “Institut des Sciences Biomédicales Appliquées” and the Ministry of Health in Benin. Before recruitment, the study was explained in the local language to the woman, and her voluntary consent was obtained.

Study design

The study methodology has been widely described elsewhere [18]. Briefly, women of reproductive age (WRAs) were recruited at community level and followed monthly for a maximum period of 24 months until becoming pregnant. The subsample of women who became pregnant was then followed up monthly at the study health facilities from early pregnancy to delivery. The study started in June 2014 and the women's follow-up was completed in August 2017. It was conducted in the districts of Sô-Ava and Abomey-Calavi, South Benin. In both settings, malaria is hyperendemic [19], and *P. falciparum* is the most common species.

Preconceptional follow-up

At enrolment, demographic, and socioeconomic characteristics, as well as reproductive history and anthropometric measurements were collected. Malaria screening using a thick blood smear (TBS) and haemoglobin (Hb) level determination were performed. Women were then visited at home monthly, where the first day of last menstrual period (LMP) was recorded and a urinary pregnancy test was performed.

Gestational follow-up

As soon as the pregnancy was confirmed, clinical, obstetrical, and anthropometric data were collected monthly until delivery. Pregnant women received a new LLITN at their first antenatal care (ANC) visit; its use was recorded at each following visit. Each month, malaria screening

was performed using a TBS; proteinuria, glycosuria and urinary infection were detected using a urine dipstick test. A venous blood sample was collected in the first and third trimesters for Hb determination. The first ultrasound scan (US) for dating the pregnancy was performed between 9–13 wg. The final gestational age (GA) estimation was based either on LMP or first US following INTERGROWTH-21st methodology [20]. In case of fever or symptoms suggestive of malaria, a TBS and a rapid diagnostic test (RDT) were performed.

At delivery, newborns were weighed within 1 hour after birth on an electronic digital scale with an accuracy of 2g (SECA, Germany). Malaria screening was performed on maternal, placental and cord blood using TBS.

In case of uncomplicated malaria, women were treated with oral quinine in the first trimester and artemether-lumefantrine in the 2nd and 3rd trimesters. In case of severe malaria, intravenous artesunate was used until oral medication could be tolerated. Anaemic pregnant women were treated with oral ferrous sulfate or transfused according to the intensity of anaemia. As recommended, IPTp administration was scheduled from the second trimester onward. All medications given for any acute diseases during pregnancy were in charge of the project.

Laboratory procedures

The Lambaréné technique was used to quantify parasitaemia, with a detection threshold estimated to be 5 parasites/ μ L. Slides were read by 2 qualified microscopists [21]. Hb level was measured with a HemoCue[®].

Statistical analysis

Our main objective was to evaluate the effect of malaria depending on the timing of infections during pregnancy on maternal and birth outcomes. The primary outcomes were: LBW (birthweight <2500 g), PTB (GA at birth <37 wg), SGA (birthweight <10th percentile of

birthweight for GA using INTERGROWTH-21st charts [22]), and maternal anaemia in the third trimester (Hb concentration ≤ 110 g/L). The secondary outcome was a composite of PTB, LBW, SGA, or stillbirth.

Malaria infection was defined as either a positive TBS or a positive RDT. The exposure of women to malaria was analyzed in two different ways: (i) the occurrence of at least of one malaria infection in each trimester of pregnancy (≤ 14 wg, 15-27 wg, and ≥ 28 wg, for the 1st, 2nd and 3rd trimester, respectively); and (ii) a composite variable including both the timing and number of malaria infections during pregnancy (women not infected during the whole pregnancy, women infected at least once in the 1st trimester but not later on, women infected both in the 1st trimester and in the 2nd or 3rd trimester, and women infected at least once in the 2nd or 3rd trimester but not in the 1st trimester).

First, we studied the association between each maternal and birth outcome and the occurrence of malaria in the 1st, 2nd, and 3rd trimesters using path analysis regressions. Path analysis allowed us to take into account the chronology of malaria infections during pregnancy in order to assess both the direct and indirect effect (i.e., mediated by malaria in the 2nd and 3rd trimester) of malaria in the 1st trimester. The following potential confounding factors were considered: maternal sociodemographic, medical conditions and obstetrical complications during pregnancy, nutritional status before and during pregnancy, number of ANC visits, number of IPTp intakes and use of LLITN, and rainy season at delivery. Women were classified as underweight (body mass index (BMI) before conception < 18.5 kg/m²), having a normal weight (BMI between 18.5-24.9 kg/m²), overweight (BMI between 25-29.9 kg/m²) or obese (BMI ≥ 30 kg/m²). Gestational weight gain was considered inadequate when below 12.5 kg, 11.5 kg, 7 kg and 5 kg in underweight, normal, overweight and obese women, respectively [23]. Variables were eliminated step-by-step using the backward selection procedure. Only variables for which the *P* value was less than 0.05 were kept.

Secondly, we assessed the cumulative effect of malaria infections during pregnancy using the composite variable. The proportion of maternal and birth outcomes was compared between the four groups of women using Khi2 (or Fisher's exact) test.

Stata version 13 for Windows (Stata Corp., College Station, TX) was used for all statistical analyses.

Results

As presented in the flowchart (Figure 1), 1214 WRAs were recruited; 411 (33.8%) of them became pregnant, 359 (29.6%) completed the preconceptional follow-up without conceiving and 444 women (36.6%) did not complete it. Among the 411 pregnant women, 273 (66.4%) completed the follow-up until delivery; most of the remaining women had either a miscarriage (17.5%), or withdrew their consent (11.2%). Age, gravidity, education, and socioeconomic status were similar between women who completed (n=273) and those who did not complete (n=138) the follow-up until delivery.

Women's characteristics and malaria infection before and during pregnancy

Table 1 presents the general characteristics of the 273 pregnant women. The median duration of follow-up before conception was 3.9 months. The women's mean age was 26.8 years and 21.3% were primi- or secundigravidae. More than half of women (57.2%) were anemic before conception and 32.4% had an abnormal BMI. The prevalence of malaria infection before conception was 5.9%.

The pregnancy was confirmed at a mean of 7.1 wg. Women benefited from a mean of 8.9 scheduled ANC visits. Fifty-eight percent were anemic in the 3rd trimester of pregnancy. The proportion of women with at least one malaria infection, including both scheduled and unscheduled visits was 43.1%; 22.1% of these infections were symptomatic. Fourteen women

(14.7%) had two or more malaria infections during pregnancy. Among infected women, the geometric mean parasite density was 757 (range: 12–138,600) parasites/ μ L. Women were more likely to be infected with malaria in early pregnancy compared to before conception (Figure 2). The prevalence of malaria infection during the 1st trimester was higher than in the 2nd and the 3rd trimester of pregnancy (21.8% vs. 17.7%, and 14.6%, respectively). The risk of malaria infection decreased regularly from the 1st trimester to the end of pregnancy, with a more pronounced decrease from the middle of the third trimester of pregnancy (Figure 2; score test for trend of odds, $P=0.002$). The proportion of women with malaria infection in the 1st trimester only, malaria infection in the 1st trimester associated with infections in the 2nd or 3rd trimester, and infection in the 2nd or 3rd trimester only were 12.7%, 9.2%, and 21.5%, respectively. Placental malaria was detected in 6.4% of women.

During pregnancy, more than 97% of women declared having slept under an ITN the night before the visit; 62.9% and 13.9% of women received two and three doses of SP-IPTp, respectively. The 1st, the 2nd and the 3rd dose of SP-IPT were administered at a mean of 23.3 ($\pm$ 4.8) wg, 29.9 ($\pm$ 4.9) wg, and 34.4 ($\pm$ 3.7) wg, respectively.

The prevalence of PTB, SGA, and LBW were 8.9%, 20.4% and 9%, respectively. The stillbirth rate was 19.5 per 1000 live births. Overall, 29.7% of newborns presented at least one poor birth outcome (Table 2).

Effect of malaria on maternal and birth outcomes

Placental malaria was significantly associated with LBW (adjusted odds ratio [aOR]: 5.29; 95% CI, 1.42–19.7). Moreover, the prevalence of LBW was significantly higher among women with several malaria infections during pregnancy compared to non-infected women (30% vs. 10.8%, $P=0.01$).

Using path models adjusted for potential confounders, we showed a significant direct effect of malaria in the 1st trimester of pregnancy on maternal anaemia in the 3rd trimester (aOR: 2.25; 95% CI, 1.11–4.55) (Table 3). No direct effect of malaria in the 1st trimester was found on PTB, SGA and LBW. Besides, we did not evidence any direct effect of malaria neither in the 2nd nor in the 3rd trimester except for SGA, which was unexpectedly lower in women infected in the 3rd trimester of pregnancy.

Figure 3 presents the crude association between malarial infections according to their timing and number during pregnancy and adverse pregnancy outcomes. We observed that the proportion of PTB, SGA, LBW, poor birth outcome, and maternal anaemia was the highest among women with several infections starting in the 1st trimester of pregnancy. This trend was significant for LBW (Fisher exact test, P=0.002).

Others factors associated with maternal and birth outcomes

A low maternal age, living in Sô-Ava district, being illiterate, a low socioeconomic status, a low pre-pregnancy BMI, a low gestational weight gain, a short stature, a short birth interval, primi or secundigravidity, and a low number of IPTp doses were also significantly associated with a higher risk of poor maternal and birth outcomes (Supplementary Table S1, S2).

Discussion

To our knowledge, this is the first study which assessed the effect of malaria in the 1st trimester on maternal and birth outcomes in SSA using a specific study design. Women's follow-up from the preconception period allowed us to detect the earliest malaria infections during pregnancy. Also, GA could be estimated by early ultrasound scan and the timing of malaria infections was accurately determined. Moreover, unlike previous studies, we used path analysis for assessing

the direct effect of malaria in the 1st trimester on pregnancy outcomes, independently of its indirect effect mediated by malaria in the 2nd and 3rd trimesters.

In the present study, we confirmed that microscopic malaria was highly prevalent in the 1st trimester of pregnancy compared to the preconception period, most infections occurring before 6 wg [24]. The proportion of women infected with malaria was highest in the 1st trimester and then decreased as the pregnancy progressed. This result has already been reported elsewhere in SSA [25,26] and in Southeast Asia [15]. In our study, the decrease in malaria prevalence from the middle of the 2nd trimester is probably explained by the administration of IPTp. It is noteworthy that malaria decrease started far earlier than IPTp administration. A first explanation is the high proportion of LLITN use from the first ANC visit. In a previous analysis, we had shown that LLITN use in the 1st trimester was associated with a decreased risk of malaria infection [27]. A second explanation is that monthly malaria screening and immediate treatment of infected women probably contributed to the reduction of malaria prevalence all along the pregnancy. Finally, one cannot exclude that women could better control pregnancy-associated parasites as the pregnancy evolved [7,28].

We found a significant direct effect of malaria in the 1st trimester of pregnancy on maternal anaemia in the third trimester. This result is in accordance with a previous study in the same area, which showed a higher risk of anaemia at delivery in women infected with malaria before 4 months of pregnancy [10]. Women infected both in the 1st trimester and later in pregnancy had the highest risk of anaemia in late pregnancy, suggesting a cumulative effect of malaria throughout pregnancy.

Our hypothesis that malaria in the 1st trimester of pregnancy had an independent effect on birth outcomes was based on previous studies that reported a higher risk of LBW and foetal growth restriction [9–12], as well as impaired placentation [29,30] in women infected before 4-5

months of pregnancy. There are few studies which have specifically assessed the effect of malaria in the 1st trimester of pregnancy. In these studies, no association was found between malarial infections in the 1st trimester and SGA, PTB or LBW [14–17], but only in one of them [14], a strong association was shown with miscarriage. However, in most studies women were recruited late in the 1st trimester or early in the 2nd trimester with potential misclassifications (by categorizing women infected in early pregnancy as non-infected). Additionally, women attending their first ANC visit early may have had particular characteristics such as a high education level or economic status [31,32], leading to selection bias.

In our study, we also did not evidence any direct effect of microscopic malaria in the 1st trimester on poor birth outcomes. However, these infections appeared to contribute to the cumulative effect of malaria during pregnancy on birth outcomes. Indeed, women infected both in the 1st trimester and in the 2nd or 3rd trimester of pregnancy had a significantly higher risk of LBW compared to women infected in the 2nd and 3rd trimester only. This result is in accordance with previous findings emphasizing the cumulative effect of microscopic malaria infections [33,34].

Our study presents some limitations that should be considered. First, the analysis included only 20 (7.3%) primigravidae, who are the most likely to have poor birth outcomes related to malaria. Secondly, regular screening and treatment of infected women may have contributed to reducing the burden of malaria in early pregnancy and its effects on birth outcomes.

During RECIPAL follow-up, women were also screened monthly for submicroscopic infections using Polymerase Chain Reaction which have been suggested to be associated with adverse pregnancy outcomes [35–37]. Additional analyses are currently ongoing to assess the effect of submicroscopic infections, particularly those occurring in the 1st trimester.

IPTp with SP and LLITN are efficacious strategies to prevent malaria in pregnancy, but they are still under implemented. In this study, only 14% of women received the three IPTp doses as recommended in Benin and IPTp was generally administered late during pregnancy. Our results suggest a cumulative effect of malaria infections starting in the first trimester of pregnancy on pregnancy outcomes. These results argue in favour of starting preventive strategies against malaria from the very beginning of pregnancy. The assessment of new safe drugs that could be administered in the 1st trimester is warranted. Also, pre-conceptional strategies such a vaccine against VAR2CSA-parasites [38] or drug-related strategies administered before conception may be of clear interest for reducing the prevalence of malaria infections in the 1st trimester.

Conflict of interest.

None declared

Financial support

This work was supported by the French Agence Nationale de la Recherche [[ANR-13-JSV1-0004](#), grant 2013] and the Fondation Simone Beer under the auspices of the Fondation de France [00074147, grant 2017].

Authors contributions.

A.M., M.C., and V.B. conceived and designed the study. A.M. and V.B. analyzed the data. A.M., E.Y., G.A., G.C., M.A., N.F., and V.B. contributed reagents/materials/analysis tools. A.M., M.C., and V.B. drafted and finalized the manuscript. The final manuscript was read and approved by all authors.

Acknowledgments

We are extremely grateful to all families who took part in this study, the midwives, nurses and community-health workers for recruiting and following them, and the whole RECIPAL team, including research scientists, engineers, technicians, managers. MA was funded by the Réseau doctoral de l'Ecole des Hautes Etudes en Santé Publique (EHESP) for PhD scholarship and received a prize from the Fondation des Treilles (<http://www.les-treilles.com/en/>).

References

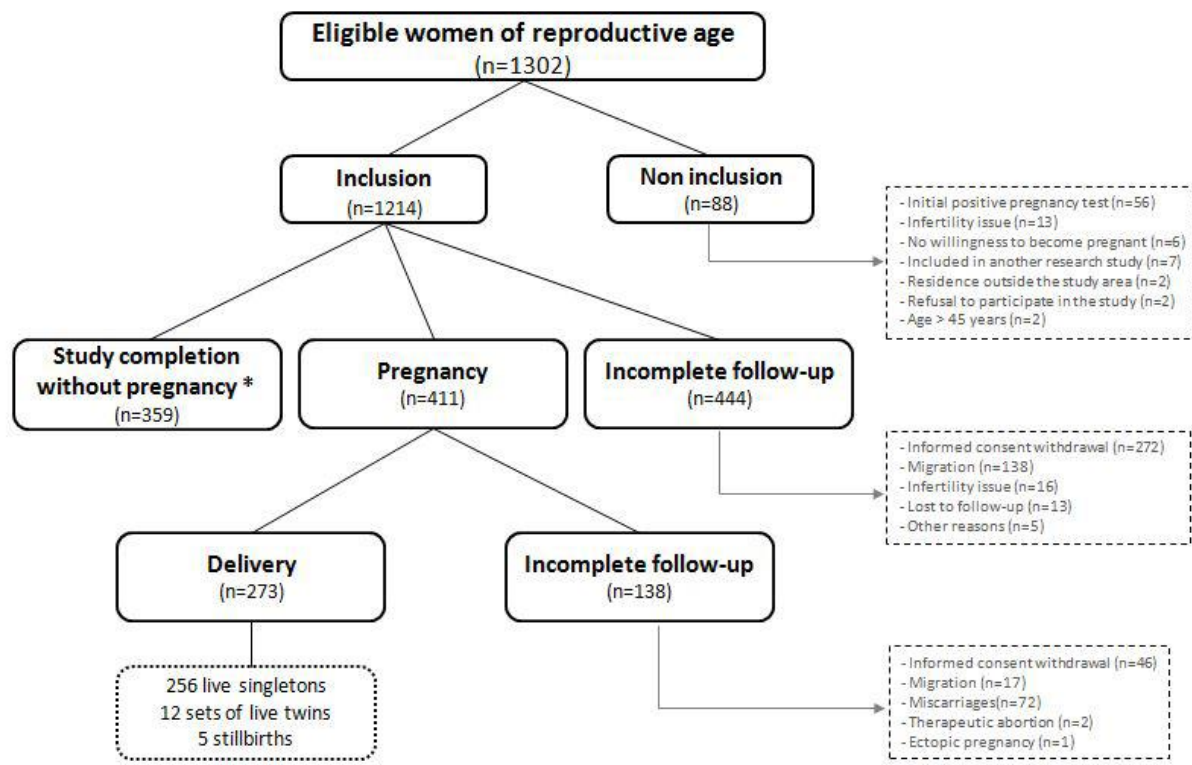
1. Dellicour S, Tatem AJ, Guerra CA, Snow RW, Kuile FO ter. Quantifying the number of pregnancies at risk of malaria in 2007: a demographic study. *PLoS Med.* **2010**; 7(1):e1000221.
2. Desai M, Cot M. Epidemiology of Malaria During Pregnancy: Burden and Impact of *Plasmodium falciparum* Malaria on Maternal and Infant Health. In: Hommel M, Kremsner PG, editors. *Encycl Malar*. New York, NY: Springer New York; 2014. p. 1–13. Available from: https://doi.org/10.1007/978-1-4614-8757-9_62-1
3. Doritchamou J, Bertin G, Moussiliou A, et al. First-trimester *Plasmodium falciparum* infections display a typical “placental” phenotype. *J Infect Dis.* **2012**; 206(12):1911–1919.
4. Griffin JB, Lokomba V, Landis SH, et al. *Plasmodium falciparum* parasitaemia in the first half of pregnancy, uterine and umbilical artery blood flow, and foetal growth: a longitudinal Doppler ultrasound study. *Malar J.* **2012**; 11:319.
5. Ome-Kaius M, Karl S, Wangnapi RA, et al. Effects of *Plasmodium falciparum* infection on umbilical artery resistance and intrafetal blood flow distribution: a Doppler ultrasound study from Papua New Guinea. *Malar J.* **2017**; 16(1):35.
6. Uneke CJ. Impact of Placental *Plasmodium falciparum* Malaria on Pregnancy and Perinatal Outcome in Sub-Saharan Africa. *Yale J Biol Med.* **2007**; 80(2):39–50.
7. Rogerson SJ, Desai M, Mayor A, Sicuri E, Taylor SM, Eijk AM van. Burden, pathology, and costs of malaria in pregnancy: new developments for an old problem. *Lancet Infect Dis.* **2018**; 18(4):e107–e118.
8. Crawley J, Hill J, Yartey J, et al. From evidence to action? Challenges to policy change and programme delivery for malaria in pregnancy. *Lancet Infect Dis.* **2007**; 7(2):145–155.

- 324 9. Cottrell G, Mary J-Y, Barro D, Cot M. The importance of the period of malarial
325 infection during pregnancy on birth weight in tropical Africa. *Am J Trop Med Hyg.* **2007**;
326 76(5):849–854.
- 327 10. Huynh B-T, Fievet N, Gbaguidi G, et al. Influence of the timing of malaria infection
328 during pregnancy on birth weight and on maternal anemia in Benin. *Am J Trop Med Hyg.* **2011**;
329 85(2):214–220.
- 330 11. Valea I, Tinto H, Drabo MK, et al. An analysis of timing and frequency of malaria
331 infection during pregnancy in relation to the risk of low birth weight, anaemia and perinatal
332 mortality in Burkina Faso. *Malar J.* **2012**; 11:71.
- 333 12. Schmiegelow C, Matondo S, Minja DTR, et al. Plasmodium falciparum Infection Early
334 in Pregnancy has Profound Consequences for Fetal Growth. *J Infect Dis.* **2017**; 216(12):1601–
335 1610.
- 336 13. Huynh B-T, Cottrell G, Cot M, Briand V. Burden of malaria in early pregnancy: a
337 neglected problem? *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* **2015**; 60(4):598–604.
- 338 14. McGready R, Lee S, Wiladphaingern J, et al. Adverse effects of falciparum and vivax
339 malaria and the safety of antimalarial treatment in early pregnancy: a population-based study.
340 *Lancet Infect Dis.* **2012**; 12(5):388–396.
- 341 15. Moore KA, Simpson JA, Wiladphaingern J, et al. Influence of the number and timing
342 of malaria episodes during pregnancy on prematurity and small-for-gestational-age in an area
343 of low transmission. *BMC Med.* **2017**; 15(1):117.
- 344 16. De Beaudrap P, Turyakira E, White LJ, et al. Impact of malaria during pregnancy on
345 pregnancy outcomes in a Ugandan prospective cohort with intensive malaria screening and
346 prompt treatment. *Malar J.* **2013**; 12:139.
- 347 17. Kalilani-Phiri L, Thesing PC, Nyirenda OM, et al. Timing of malaria infection during
348 pregnancy has characteristic maternal, infant and placental outcomes. *PloS One.* **2013**;
349 8(9):e74643.
- 350 18. Accrombessi M, Yovo E, Cottrell G, et al. Cohort profile: effect of malaria in early
351 pregnancy on fetal growth in Benin (RECIPAL preconceptional cohort). *BMJ Open.* **2018**;
352 8(1):e019014.

19. Djènontin A, Bio-Bangana S, Moiroux N, et al. Culicidae diversity, malaria transmission and insecticide resistance alleles in malaria vectors in Ouidah-Kpomasse-Tori district from Benin (West Africa): A pre-intervention study. *Parasit Vectors*. **2010**; 3:83.
20. Papageorghiou AT, Sarris I, Ioannou C, et al. Ultrasound methodology used to construct the fetal growth standards in the INTERGROWTH-21st Project. *BJOG Int J Obstet Gynaecol*. **2013**; 120 Suppl 2:27–32, v.
21. Swysen C, Bruls M, Oyakhirome S, et al. Development of standardized laboratory methods and quality processes for a phase III study of the RTS, S/AS01 candidate malaria vaccine. *Malar J*. **2011**; 10:223.
22. Papageorghiou AT, Ohuma EO, Altman DG, et al. International standards for fetal growth based on serial ultrasound measurements: the Fetal Growth Longitudinal Study of the INTERGROWTH-21st Project. *The Lancet*. **2014**; 384(9946):869–879.
23. Gilmore LA, Redman LM. Weight gain in pregnancy and application of the 2009 IOM guidelines: toward a uniform approach. *Obes Silver Spring Md*. **2015**; 23(3):507–511.
24. Accrombessi M, Fievet N, Yovo E, et al. Prevalence and associated risk factors of malaria in the first trimester of pregnancy: a pre-conceptional cohort study in Benin. *J Infect Dis*. **2018**; 217(8):1309-1317.
25. Zhou A, Megnekou R, Leke R, et al. Prevalence of *Plasmodium falciparum* infection in pregnant Cameroonian women. *Am J Trop Med Hyg*. **2002**; 67(6):566–570.
26. Tuikue Ndam N, Tornyigah B, Dossou AY, et al. Persistent *Plasmodium falciparum* infection in women with an intent to become pregnant is a risk factor for pregnancy-associated malaria. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. **2018**; [Epub ahead of print].
27. Hounkonnou C, Djènontin A, Egbinola S, et al. Impact of the use and efficacy of long lasting insecticidal net on malaria infection during the first trimester of pregnancy - a pre-conceptional cohort study in southern Benin. *BMC Public Health*. **2018**; 18(1):683.
28. Fowkes FJI, McGready R, Cross NJ, et al. New insights into acquisition, boosting, and longevity of immunity to malaria in pregnant women. *J Infect Dis*. **2012**; 206(10):1612–1621.
29. Silver KL, Conroy AL, Leke RGF, et al. Circulating soluble endoglin levels in pregnant women in Cameroon and Malawi--associations with placental malaria and fetal growth restriction. *PloS One*. **2011**; 6(9):e24985.

30. Dorman EK, Shulman CE, Kingdom J, et al. Impaired uteroplacental blood flow in pregnancies complicated by falciparum malaria. *Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol*. **2002**; 19(2):165–170.
31. Ndidi EP, Oseremen IG. Reasons Given by Pregnant Women for Late Initiation of Antenatal Care in the Niger Delta, Nigeria. *Ghana Med J*. **2010**; 44(2):47–51.
32. Banke-Thomas OE, Banke-Thomas AO, Ameh CA. Factors influencing utilisation of maternal health services by adolescent mothers in Low-and middle-income countries: a systematic review. *BMC Pregnancy Childbirth*. **2017**; 17(1):65.
33. Briand V, Saal J, Ghafari C, et al. Fetal Growth Restriction Is Associated With Malaria in Pregnancy: A Prospective Longitudinal Study in Benin. *J Infect Dis*. **2016**; 214(3):417–425.
34. Rijken MJ, Papageorgiou AT, Thiptharakun S, et al. Ultrasound evidence of early fetal growth restriction after maternal malaria infection. *PloS One*. **2012**; 7(2):e31411.
35. Adegnik AA, Verweij JJ, Agnandji ST, et al. Microscopic and sub-microscopic *Plasmodium falciparum* infection, but not inflammation caused by infection, is associated with low birth weight. *Am J Trop Med Hyg*. **2006**; 75(5):798–803.
36. Mohammed AH, Salih MM, Elhassan EM, et al. Submicroscopic *Plasmodium falciparum* malaria and low birth weight in an area of unstable malaria transmission in Central Sudan. *Malar J*. **2013**; 12:172.
37. Cottrell G, Moussiliou A, Luty AJF, et al. Submicroscopic *Plasmodium falciparum* Infections Are Associated With Maternal Anemia, Premature Births, and Low Birth Weight. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. **2015**; 60(10):1481-8.
38. Tuikue-Ndam N, Deloron P. Developing vaccines to prevent malaria in pregnant women. *Expert Opin Biol Ther*. **2015**; 15(8):1173–1182.

411



412

413 **Figure 1.** Study profile

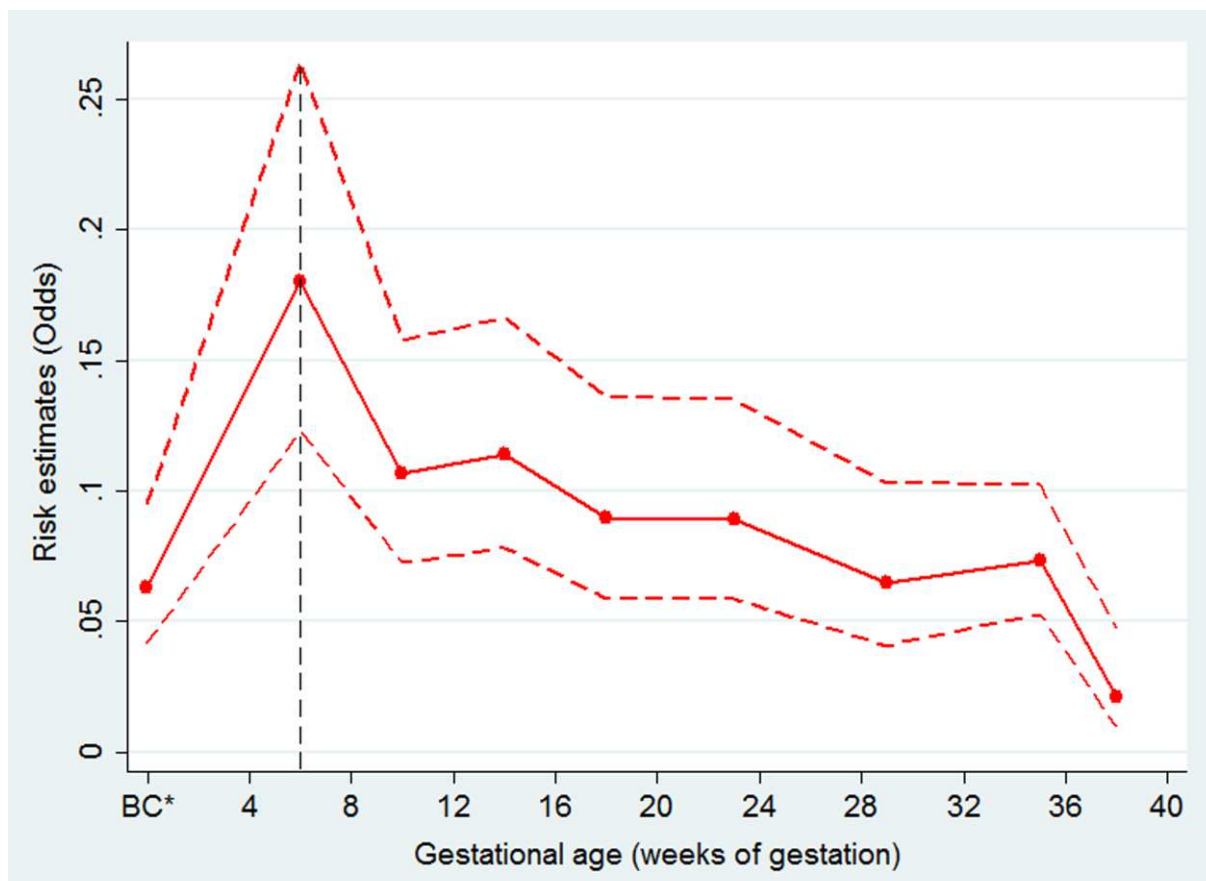
414 * Study completion: follow-up from enrolment until the end of the study (24-month follow-up
415 without pregnancy for women recruited before December 2014 or monthly follow-up without
416 pregnancy for women recruited between December 2014 and December 2016), excluding
417 consent withdrawal, migration and lost to follow-up.

418

419

420

421



Gestational age	BC	6	10	14	18	23	29	35	38
Cases	24	31	28	30	24	24	19	38	6
Controls	382	172	262	263	268	270	293	517	285
Odds	0.06	0.18	0.11	0.11	0.09	0.08	0.06	0.07	0.02
Lower odds	0.04	0.12	0.07	0.08	0.06	0.06	0.04	0.05	0.01
Upper odds	0.09	0.26	0.16	0.17	0.14	0.13	0.10	0.10	0.04
Odds ratio	1	2.87	1.70	1.81	1.42	1.41	1.93	1.17	0.33

Figure 2. Variation in risk estimates (odds) of malaria throughout the pregnancy. Risk of malaria infection (solid line) and its 95% confidence interval (dash lines).

Abbreviation: BC, before conception.

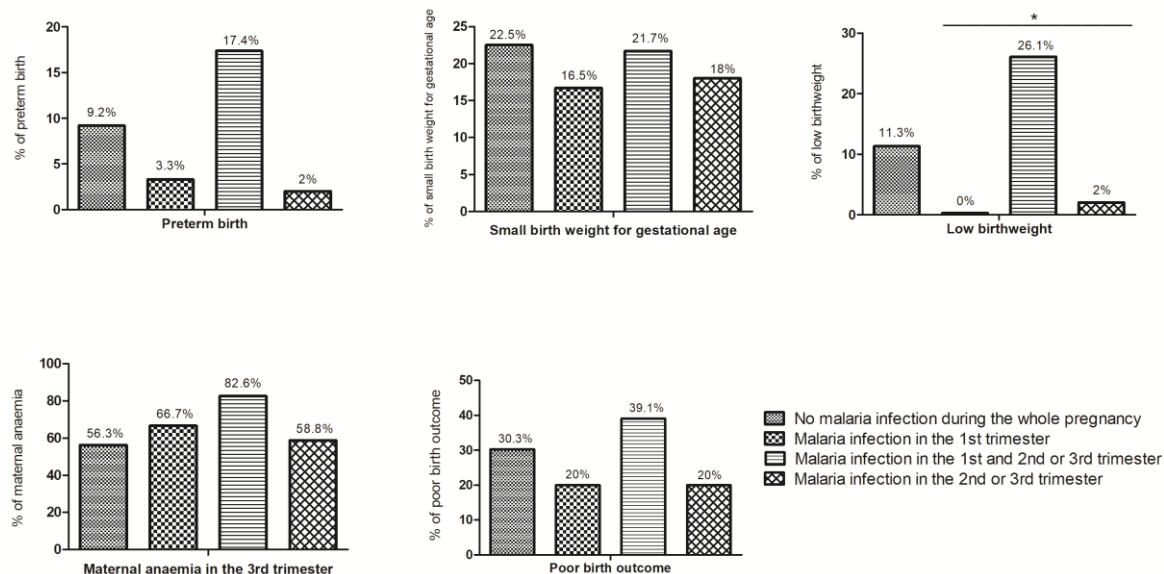


Figure 3. Prevalence of poor maternal and birth outcomes according to both the timing and number of microscopic malaria infections during pregnancy (women not infected during the whole pregnancy, women infected at least once in the 1st trimester but not later on, women infected both in the 1st trimester and in the 2nd or 3rd trimester, and women infected at least once in the 2nd or 3rd trimester but not in the 1st trimester). Women infected at least once in the 1st trimester but not later on (12.7%, 33/260), women infected both in the 1st trimester and in the 2nd or 3rd trimester (9.2%, 24/260), women infected at least once in the 2nd or 3rd trimester but not in the 1st trimester (21.5%, 56/260). The statistical significance of differences between groups was determined using the non-parametric fisher exact test.; * Significant association ($P \leq 0.05$)

Table 1. General characteristics of the 273 pregnant women included in the analysis. RECIPAL cohort, Southern Benin, 2014-2017

Characteristics		Mean [#] (± SD) or %
Duration of follow-up before conception (months)	All participants	3.90 (IQR, 1.77-7.49)
Age (years)	All participants	26.8 (± 4.9)
	< 23 y	20.2%
	23-30 y	60.3%
	> 30 y	14.5%
Ethnic group	Toffin	74.3%
	Fon	7.7%
	Aïzo	12.9%
	Others ^a	5.1%
Education	Illiterate	71.7%
Socioeconomic status*	Low	34.1%
	Mild	40.6%
	High	25.3%
Gravidity	1	7.4%
	2	13.9%
	≥3	78.7%
ITN possession	Yes	97.1%
Pre-pregnancy BMI (kg/m ²)	All participants	22.8 (± 4.2)
	< 18.5	9.2%
	18.5-25	67.6%
	≥ 25	23.2%
Anaemia before conception	Yes	57.2%
Gestational age at the first ANC visit (weeks) ^b	All participants	7.1 (± 2.6)
Number of ANC visits during pregnancy ^c	All participants	8.9 (± 1.8)
Number of unscheduled ANC visits	All participants	2.1 (± 1.3)
Number of IPTpdoses	All participants	1.8 (± 0.7)
	0	3.7%
	1	19.5%
	2	62.9%
	≥ 3	13.9%
HIV status	Positive	1.5%
Anaemia in the 3 rd trimester of pregnancy	Yes	58.1%
Anaemia during pregnancy	≥ 1 episode(s)	69.5%
Inappropriate gestational weight gain	Yes	59.9%
Gestational hypertension	≥ 1 episode(s)	2.6%
Short stature (height < 155 cm)	Yes	27.7%
Malaria infection before conception	Yes	5.9%
Malaria infection during pregnancy	≥ 1 episode(s)	43.1%
	1 st trimester	21.8%
	2 nd trimester	17.7%
	3 rd trimester	14.6%
Clinical malaria infection during pregnancy ^d	≥ 1 episode(s)	22.1%
Placental malaria infection	Yes	6.4%

Abbreviations: SD, standard deviation; IQR, interquartile range; ITN, insecticide-treated bed net; BMI, body mass index; ANC visit, antenatal care visit.

[#] Arithmetic mean

* Socioeconomic status was approximated using a synthetic score combining occupation and ownerships of assets, which was then categorized according to the tertiles.

^aOther ethnic groups: Yoruba, Adja, Goun, Ahoussa, Cotafofon, Mahi, Sahoue

^b Gestational age was estimated using ultrasound scan or last menstrual period

^c Including both scheduled and unscheduled visits

^dPositive thick blood smear or rapid diagnostic test with an axillary temperature ≥ 37.5°C or history of fever in the last 24 hours

Table 2. Characteristics at birth of the 273 newborns* included in the analysis. RECIPAL cohort, Southern Benin, 2014-2017

Characteristics		Mean [#] (± SD) or %
Gender	Male	52.9%
Stillbirth	Per 1000 live births	19.5
Preterm birth (< 37 weeks) [£]	Yes	8.9%
Small birthweight for gestational age ^{‡ †}	Yes	20.4%
Birthweight (g) [‡]		3028.7 (± 414.2)
	< 2500	9.0%
Birth length (cm)		48.3 (± 2.6)
Birth head circumference (cm)		34.0 (± 1.5)
Positive thick blood smear in cord blood	Yes	0.9%
Poor birth outcome ^{‡ §}	Yes	29.7%

* Low birthweight and small birthweight for gestational age (N=256), preterm birth (N=268), poor birth outcome (N=273)

Arithmetic mean.

£ Twins included

‡ Stillbirths and twins were excluded for estimating the prevalence of low birthweight and small birthweight for gestational age.

† Small birthweight for gestational age: < 10th percentile of birthweight for gestational age using INTERGROWTH-21st charts.

§ Stillbirth, preterm birth, small birthweight for gestational age or low birthweight.

Table 3. Effect of malaria according to the timing of infections during pregnancy on maternal anaemia and poor birth outcomes. Multivariate analysis using path analysis*

Microscopic malaria infection	% of maternal anaemia ^{&#}	Univariate analysis			Multivariate analysis		
		OR	95% CI	<i>P</i>	aOR	95% CI	<i>P</i>
1 st trimester of pregnancy							
No (N= 204)	54.9	1			1		
Yes (N= 58)	74.1	2.35	(1.23, 4.51)	0.01	2.25	(1.11, 4.55)	0.02
2 nd trimester of pregnancy							
No (N = 220)	57.3	1			1		
Yes (N = 47)	63.8	1.32	(0.69, 2.53)	0.41	1.01	(0.49, 2.03)	0.99
3 rd trimester of pregnancy							
No (N = 227)	56.8	1			1		
Yes (N = 38)	71.1	1.86	(0.88, 3.94)	0.10	1.44	(0.65, 3.19)	0.37
Microscopic malaria infection	% of preterm birth [†]	OR	95% CI	<i>P</i>	aOR	95% CI	<i>P</i>
1 st trimester of pregnancy							
No (N= 204)	8.3	1			1		
Yes (N= 58)	10.3	1.27	(0.48, 3.38)	0.63	0.93	(0.34, 2.56)	0.90
2 nd trimester of pregnancy							
No (N= 220)	9.1	1			1		
Yes (N= 47)	8.5	0.93	(0.30, 2.86)	0.90	0.77	(0.24, 2.46)	0.66
3 rd trimester of pregnancy							
No (N= 227)	9.2	1			1		
Yes (N=38)	7.9	0.84	(0.24, 2.97)	0.79	0.60	(0.16, 2.21)	0.44
Microscopic malaria infection	% of SGA [‡]	OR	95% CI	<i>P</i>	aOR	95% CI	<i>P</i>
1 st trimester of pregnancy							
No (N= 196)	21	1			1		
Yes (N= 54)	18.5	0.85	(0.40, 1.84)	0.67	0.72	(0.31, 1.66)	0.43
2 nd trimester of pregnancy							
No (N= 212)	19.4	1			1		
Yes (N= 43)	25.6	1.42	(0.66, 3.96)	0.36	1.35	(0.58, 3.1)	0.48
3 rd trimester of pregnancy							
No (N= 215)	22.8	1			1		
Yes (N= 38)	8.1	0.30	(0.09, 1.01)	0.06	0.24	(0.06, 0.86)	0.03

Table 3.Effect of malaria according to the timing of infections during pregnancy on maternal anaemia and poor birth outcomes. Multivariate analysis using path analysis* (Continued)

Microscopic malaria infection	% of low birthweight [§]	Univariate analysis			Multivariate analysis		
		OR	95% CI	<i>P</i>	aOR	95% CI	<i>P</i>
1 st trimester of pregnancy							
No (N= 196)	8.7	1			1		
Yes (N= 54)	11.1	1.30	(0.49, 3.50)	0.59	1.10	(0.39, 3.08)	0.87
2 nd trimester of pregnancy							
No (N= 212)	9.0	1			1		
Yes (N= 43)	9.3	1.03	(0.33, 3.21)	0.95	0.79	(0.24, 2.62)	0.70
3 rd trimester of pregnancy							
No (N= 215)	9.3	1			1		
Yes (N= 38)	8.1	0.86	(0.24, 3.05)	0.82	0.63	(0.17, 2.39)	0.49
Microscopic malaria infection	% of poor birth outcome ^{£\$}	OR	95% CI	<i>P</i>	aOR	95% CI	<i>P</i>
1 st trimester of pregnancy							
No (N= 208)	21.6	1			1		
Yes (N= 58)	21.1	0.97	(0.50, 1.87)	0.93	0.83	(0.41, 1.68)	0.61
2 nd trimester of pregnancy							
No (N= 223)	15.8	1			1		
Yes (N= 48)	20.5	1.38	(0.70, 2.71)	0.35	1.24	(0.61, 2.56)	0.55
3 rd trimester of pregnancy							
No (N= 228)	17.0	1			1		
Yes (N= 39)	9.2	0.49	(0.20, 1.18)	0.11	0.44	(0.18, 1.09)	0.08

Abbreviations: OR, odds ratio; aOR, adjusted odds ratio; CI, confidence interval; SGA, small birthweight for gestational age

* Influence of the timing of malaria infections was assessed on 256 pregnant women for low birthweight and SGA; on 268 pregnant women for preterm birth and maternal anaemia and on 273 pregnant women for poor birth outcome. The multivariate analysis was adjusted for the number of antenatal care visits using an "offset option". Reference class is absence of malaria infection.

& Maternal anaemia in the 3rd trimester of pregnancy was defined as an haemoglobin level < 110 g/L ; it was assessed at a mean of 33 weeks of gestation (range 24.2-40.4)

Adjusted for maternal age, education, residence area, gravidity, household density, birth interval, number of antenatal care visits, anaemia in the 1st trimester of pregnancy and socioeconomic status.

† Adjusted for residence area, socioeconomic status, maternal nutritional status, urinary infection and number of IPTp intakes.

‡ Adjusted for residence area, maternal age, marital status, education, maternal short stature, birth interval, maternal anaemia and number of antenatal care visits.

§ Adjusted for maternal age, gravidity, birth interval, pre-pregnancy body mass index, inappropriate gestational weight gain, newborn's sex and number of antenatal care visits

£ Adjusted for residence area, maternal age, birth interval, maternal short stature, maternal anaemia, number of IPTp doses and number of antenatal care visits

\$ Stillbirth, preterm birth, SGA (using INTERGROWTH-21st charts) or low birthweight.

Supplementary Table S1. Additional analysis. Logistic regression on maternal and sociodemographic factors associated with maternal anaemia in the 3rd trimester of pregnancy (N=273)

Factors	% of maternal anaemia [*]	Univariate analysis			Multivariate analysis [‡]		
		OR	95% CI	P	aOR	95% CI	P
Maternal age (years)							
	23-30	1			1		
	< 23	3.37	1.65-6.87	0.003	3.48	1.62-7.47	0.006
	> 30	1.47	0.78-2.76		1.37	0.68-3.74	
Residence area							
	Akassato	1					
	Sô-Ava	2.34	1.34-4.09	0.003			
Education level							
	Literate	1			1		
	Illiterate	1.79	1.04-3.05	0.03	1.82	1.01-3.31	0.05
Gravidity							
	Multigravidae	1					
	Primigravidae	2.28	0.80-6.45	0.12			
Birth interval							
	> 12 months (in multigravidae)	1					
	0-12 months (in multigravidae)	0.92	0.45-1.85	0.10			
	No previous pregnancy (primigravidae)	2.56	1.05-6.23				
Socioeconomic status							
	High	1					
	Middle	1.21	0.66-2.23	0.05			
	Low	2.13	1.13-4.02				
Household density*							
	< 5	1					
	≥ 5	1.65	1.01-2.70	0.05			
Anaemia in the 1 st trimester of pregnancy							
	No	1			1		
	Yes	3.75	2.21-6.36	<0.001	3.63	2.09-6.30	<0.001

Supplementary Table S1. (Continued)

Factors	% of maternal anaemia ^{&}	Univariate analysis			Multivariate analysis		
		OR	95% CI	P	aOR	95% CI	P
Malaria during pregnancy	No	1			1		
	≥ 1 episode(s)	2.03	1.22-3.35	0.01	1.94	1.11-3.37	0.02
Timing of malaria infections	No infection	1					
	In the 1 st trimester only	1.92	0.86-4.33	0.05			
	In the 2 nd or 3 rd trimester only	1.22	0.65-2.29				
	In the 1 st trimester and 2 nd or 3 rd trimester	4.18	1.36-12.8				

Abbreviations: OR, odds ratio; aOR, adjusted odds ratio; CI, confidence interval; Mo, months

£ Final model after backward selection procedure

* Household density: number of people living in the household

& Maternal anaemia in the 3rd trimester of pregnancy was defined as an haemoglobin level < 110 g/L

Supplementary Table S2. Additional analysis. Logistic regression on maternal and gestational factors associated with low birthweight (N=256)

Factors		% of LBW	Univariate analysis			Multivariate analysis		
			OR	95% CI	P	aOR	95% CI	P
Maternal age (years)	23-30	7.2%	1					
	< 23	17.0%	2.62	1.02-6.74	0.08			
	> 30	6.0%	0.82	0.22-3.05				
Gravidity	Multigravidae	8.1%	1					
	Primigravidae	20.0%	2.84	0.86-9.35	0.09			
Birth interval	> 12 months (in multigravidae)	6.8%	1			1		
	0-12 months (in multigravidae)	8.6%	1.28	0.35-4.76	0.02	1.24	0.25-6.09	0.04
	No previous pregnancy (primigravidae)	24.1%	4.36	1.57-12.1		4.17	1.33-13.0	
Prepregnancy BMI (kg/m ²)	18.5-25	9.7%	1					
	≤ 18.5	18.2%	2.06	0.63-6.81	0.13			
	≥ 25	3.4%	0.33	0.07-1.48				
Inappropriate gestational weight gain	< 5	5.1%	1					
	≥ 5	11.4%	2.37	0.85-6.59	0.10			
Gender	Male	6.6%	1					
	Female	26.7%	5.12	1.44-18.1	0.01			
Placental malaria	No	6.6%	1			1		
	Yes	26.7%	5.12	1.44-18.1	0.01	5.29	1.42-19.7	0.01
Timing of malaria infection	None	11.3%	1					
	In the 1 st trimester only	-	-	-				
	In the 2 nd or 3 rd trimester only	2.0%	0.17	0.02-1.24	0.02			
	In the 1 st trimester and 2 nd or 3 rd trimester	26.1%	2.78	0.96-8.07				

Abbreviations: OR, odds ratio; aOR, adjusted odds ratio; CI, confidence interval; Mo, months; BMI, body mass index

- No case of LBW among women infected in the first trimester only

VI. DISCUSSION

Les objectifs de ce travail de thèse étaient, d'une part d'étudier l'ampleur des infections palustres aux différents trimestres de la grossesse en s'intéressant plus particulièrement aux infections du 1^{er} trimestre et, d'autre part, d'évaluer les conséquences des infections du début de la grossesse sur l'anémie maternelle et les issues de grossesse.

Le RCIU demeure un problème majeur de santé publique dans les pays à ressources limitées, plus particulièrement les pays de l'ASS, de par son ampleur et sa forte contribution à la morbidité et à la mortalité périnatale et infantile.^{129,229} En région d'endémie palustre, et particulièrement en Afrique tropicale, le paludisme associé à la grossesse constitue encore l'une des principales causes de RCIU.^{76,112}

Nous discuterons, dans un premier temps, des principaux résultats observés, à savoir la fréquence des infections palustres aux différents trimestres de la grossesse et leur contribution respective dans la survenue des issues défavorables de la grossesse, notamment le RCIU. Ensuite, nous présenterons les points forts, l'importance des données collectées dans le cadre du projet RECIPAL et les limites de l'étude. Et pour finir, nous proposerons des voies de réflexion plus générales sur l'amélioration des mesures préventives contre le paludisme pendant la grossesse et l'évaluation du RCIU en Afrique.

6.1. Discussion proprement dite des principaux résultats

6.1.1. Prévalence et dynamique des infections palustres aux différents trimestres de la grossesse

Dans notre étude, nous avons observé que les infections palustres étaient plus fréquentes au 1^{er} trimestre de la grossesse par rapport aux 2^{ème} et 3^{ème} trimestres de la grossesse. Les infections palustres du 1^{er} trimestre de grossesse étaient plus fréquentes avant la 6 SA et prédites par les infections pré-conceptionnelles. Brabin *et al.* avaient déjà estimé en 1983, par des modélisations mathématiques, que le pic des infections palustres pendant la grossesse survenaient entre 13 et

16 SA.¹⁴ Ces résultats ont récemment été confirmés en appliquant un modèle mathématique plus sophistiqué qui a montré que, sous TPIg, les infections palustres qui survenaient au moment de la placentation (~ 12 SA) étaient responsables d'environ 70% du risque d'infection placentaire.^{175,230} Dans une étude récente, conduite dans le sud du Bénin auprès de femmes enceintes recrutées à l'hôpital, Briand *et al.* ont observé que 26,8% des femmes enceintes avaient présenté au moins un épisode d'infection palustre avant 26 SA.⁷¹ A leur inclusion dans l'étude à 17 SA en médiane, 17% des femmes étaient infectées. Ces résultats témoignent de l'importance de l'exposition précoce au paludisme des femmes au cours de la grossesse au Bénin,^{71,231,232} comme dans d'autres pays africains ayant des niveaux semblables de transmission palustre.^{19,21} Il a été récemment suggéré qu'une proportion élevée d'infections palustres au début de la grossesse correspondait à des infections acquises avant la conception,^{175,232} expliquant la prévalence particulièrement importante des infections au début de la grossesse. Ces résultats sont étayés par un certain nombre de caractéristiques bien connues de l'épidémiologie du paludisme dans les zones à forte transmission tels que la prévalence élevée d'infections asymptomatiques chez les femmes en âge de procréer²³³ qui deviennent secondairement symptomatiques du fait des modifications physiologiques de la grossesse. Par ailleurs, le faible taux d'utilisation de MIILD chez les jeunes femmes en particulier avant leur première grossesse, du fait de la distribution tardive des MIILD par l'intermédiaire des consultations prénatales,^{233,234} explique également cette forte prévalence du paludisme au 1^{er} trimestre de grossesse.

Nous avons également observé que le risque de survenue d'infection palustre augmentait significativement de la période pré-conceptionnelle au début de la grossesse. Le risque d'infection palustre diminuait ensuite progressivement au cours de la grossesse, avec une diminution significative au milieu du 3^{ème} trimestre. Des résultats similaires ont été rapportés dans d'autres pays d'ASS,^{14,121,232,235} mais aussi en Asie du Sud-est, où la transmission palustre

est plus faible.²³⁶⁻²³⁸ Les stratégies de prévention appliquées au cours de la grossesse et l'immunité spécifique à la grossesse expliquent en partie les différences observées dans la dynamique des infections palustres pendant la grossesse. En effet, le moment d'administration du TPIg est l'un des principaux facteurs influençant la distribution des infections palustres pendant la grossesse.²³⁹ En plus de son effet curatif, on attribue au TPIg un effet prophylactique post-traitement de plusieurs semaines. Huynh *et al.* avaient précédemment démontré que trois doses de TPIg, avec une première dose délivrée précocement, permettraient de couvrir de manière optimale la grossesse à partir du 2^{ème} trimestre.²⁴⁰ Pendant la grossesse au cours de notre étude, l'administration du TPIg a été relativement tardive (1^{ère} dose à 23,3 SA, 2^{ème} dose à 29,9 SA et la 3^{ème} dose à 34,4 SA en moyenne). Ce qui peut expliquer la diminution nette de la fréquence des infections au 3^{ème} trimestre de façon concomitante à l'administration de la 2^{ème} et 3^{ème} dose de TPIg. Ces résultats confirment aussi l'efficacité de la SP pour prévenir les infections palustres, alors que l'émergence des cas de résistances parasitaires à la SP apparaissent déjà.^{241,242} Par ailleurs, toutes les femmes de la cohorte RECIPAL ont reçu une MIILD dès le début de la grossesse (~ 7 SA). Nous avons montré sur cette cohorte qu'une bonne utilisation de la moustiquaire augmentait le délai d'apparition du premier épisode d'infection palustre au 1^{er} trimestre de la grossesse, confirmant ainsi l'efficacité des moustiquaires pour protéger la femme au cours de la grossesse.²⁴³ Il est important de notifier que nous ne nous sommes pas substitués à l'équipe soignante des différentes maternités impliquées dans l'étude pour la distribution du TPIg. Par ailleurs, l'immunité spécifique aux parasites VAR2CSA que développent les femmes au cours de la grossesse joue un rôle probablement primordial dans la dynamique des infections à *P. falciparum* pendant la grossesse.^{244,245} En effet, dans notre étude, le risque d'infection palustre était plus important chez les primigestes dès le 1^{er} trimestre de la grossesse. Le risque d'infection palustre chez les multigestes diminuait dès la 6 SA contrairement aux primigestes chez qui le risque ne commençait à diminuer qu'à la fin du

1^{er} trimestre; confortant ainsi cette hypothèse d'immunité spécifique aux parasites VAR2CSA acquise lors de grossesses successives.

6.1.2. Conséquences des infections palustres aux différents trimestres de la grossesse sur l'anémie maternelle et les issues défavorables de grossesse

La rareté des études évaluant la prévalence et l'impact des infections palustres du début de la grossesse tient principalement au fait qu'il est difficile de recruter des femmes au 1^{er} trimestre, mais aussi de dater la grossesse avec précision.

Dans la cohorte RECIPAL, les femmes infectées au 1^{er} trimestre étaient significativement plus à risque d'anémie en fin de grossesse. Nous n'avons pas observé d'effet direct de l'infection palustre au 1^{er} trimestre de la grossesse sur le FPN, le PPAG et la prématurité. Cependant, ces issues défavorables de grossesse, notamment l'existence d'un FPN, étaient plus fréquentes chez les femmes infectées à plusieurs reprises à partir du 1^{er} trimestre de grossesse par rapport aux femmes non infectées ou infectées uniquement au 2^{ème}/3^{ème} trimestre.

Dans les zones de forte transmission palustre, l'anémie est la principale conséquence clinique du paludisme gestationnel pour la mère. L'anémie maternelle contribue à la survenue d'un petit poids de naissance et d'un RCIU,²⁴⁶ et lorsqu'elle est sévère, peut conduire à des décès maternels. Dans notre étude, nous avons observé un effet direct significatif du paludisme au cours du 1^{er} trimestre sur l'anémie maternelle en fin de grossesse. Des résultats similaires ont été rapportés par une étude réalisée dans le sud du Bénin, qui avait mis en évidence un risque élevé d'anémie à l'accouchement chez les femmes infectées par le paludisme avant 4 mois de grossesse.¹⁸ Aucun effet direct du paludisme au cours du 2^{ème} ou 3^{ème} trimestre de la grossesse sur l'anémie maternelle n'a été observé. Les femmes infectées au 1^{er} trimestre et plus tard dans la grossesse présentaient un risque plus élevé d'anémie en fin de grossesse, ce qui suggère un effet cumulatif des infections tout au long de la grossesse.

L'absence d'association statistiquement significative entre le paludisme au 1^{er} trimestre de la grossesse et le FPN, le PPAG et la prématurité va contre l'hypothèse émise au début de ce travail, à savoir un effet indépendant des infections du 1^{er} trimestre sur l'issue de la grossesse. Toutefois, nous discuterons plus tard dans le paragraphe des limites spécifiques de l'étude, des facteurs qui pourraient aussi avoir contribué à l'absence d'association directe entre infections précoces et issues de la grossesse. Cela s'expliquerait en partie par le suivi optimal proposé aux femmes dans le cadre de la cohorte RECIPAL, différente par sa conception des autres enquêtes ayant recrutées au niveau des maternités.

Pour conclure, nous n'avons pas pu mettre en évidence un effet direct des infections du début de la grossesse sur les différentes issues défavorables de la grossesse (FPN, PPAG, prématurité). Cependant, nous avons montré que les infections palustres du 1^{er} trimestre étaient fréquentes et contribuaient à l'effet cumulé des infections au cours de la grossesse, à l'origine notamment de la survenue du FPN. Par ailleurs, elles étaient associées à un risque augmenté d'anémie maternelle en fin de grossesse. Aucun effet direct du paludisme au 2^{ème} et au 3^{ème} trimestre sur les issues de grossesse n'a été observé à l'exception du PPAG, qui était de manière inattendue plus faible chez les femmes infectées au 3^{ème} trimestre.

6.1.3. Fréquence et déterminants des fausses couches spontanées

Les fausses couches spontanées sont considérées comme l'issue défavorable la plus fréquente au cours de la grossesse.²⁴⁷ Il existe très peu de données sur les fausses couches spontanées en ASS. Les quelques études réalisées sont uniquement basées sur des registres hospitaliers.^{248,249} Cela conduit le plus souvent à sous-estimer le nombre de fausses couches car les registres ne recensent que les femmes ayant avorté à l'hôpital. De plus, en zone rurale, il est fréquent que les femmes avortent en dehors du milieu hospitalier avec l'aide d'une matrone. De façon générale, les études épidémiologiques sur les fausses couches spontanées sont difficiles à mettre

en place et apportent des résultats peu robustes pour les raisons suivantes: (i) les fausses couches spontanées ne sont pas systématiquement documentées car les femmes ont tendance à ne pas les rapporter lors des entretiens d'enquête,²⁵⁰ et les épisodes sont rarement enregistrés dans les registres hospitaliers;²⁵¹ (ii) de nombreuses fausses couches spontanées se produisent chez les femmes bien avant qu'elles ne réalisent elles-mêmes qu'elles sont enceintes et les signes cliniques de fausse couche se manifestent tardivement, le plus souvent par des menstrues abondantes; (iii) les fausses couches spontanées font souvent l'objet d'études cas-témoins, qui sont sensibles au biais de sélection (en raison de l'exclusion des avortements spontanés précoces) et au biais de mémoire (en raison de l'évaluation rétrospective des déterminants associés aux avortements).²⁵²

Le suivi pré-conceptionnel de la cohorte RECIPAL nous a permis d'objectiver les fausses couches précoces survenues au début de la grossesse. La prévalence des fausses couches dans notre étude était de 17,5%. Les fausses couches sont survenues en moyenne à 9 SA. La majorité des fausses couches (50,7%) sont survenues avant la fin du premier mois de grossesse (<6 SA). L'étude des déterminants maternels, socioéconomiques et démographiques associés à la survenue d'une fausse couche est en cours. En particulier, nous avons observé que la proportion de fausses couches était élevée parmi les femmes infectées au 1^{er} trimestre en comparaison aux femmes non infectées (20,9% vs. 16,5%).

6.2. Forces de l'étude

L'étude RECIPAL représente une cohorte unique dans le domaine du paludisme gestationnel, combinant des informations cliniques, nutritionnelles, biologiques et échographiques détaillées collectées de façon rigoureuse sur une cohorte de 411 femmes enceintes recrutées depuis la période pré-conceptionnelle en population générale et suivies jusqu'à l'accouchement.

Le suivi mensuel des femmes dans la période pré-conceptionnelle nous a permis d'identifier les femmes enceintes au début de leur grossesse et de détecter les infections palustres du début de la grossesse. Grâce au dépistage systématique des infections palustres au cours des visites prénatales mensuelles, ainsi qu'en cas de symptômes évocateurs de paludisme, il est probable que très peu d'infections n'aient pas été détectées.

Contrairement aux études précédentes, nous avons utilisé des modèles d'équation structurelle (analyse en chemins ou path analysis) pour évaluer l'association entre les infections palustres au 1^{er} trimestre et les issues défavorables de la grossesse. L'analyse en chemins est une méthode affinée permettant de prendre en compte la chronologie de survenue d'un évènement. Elle nous a permis d'évaluer l'effet direct et indirect (c'est-à-dire, modifié par les infections palustres au 2^{ème} et 3^{ème} trimestres) du paludisme au cours du 1^{er} trimestre sur les issues de grossesse.

Nous avons également pu estimer de façon précise l'âge gestationnel des femmes enceintes par une échographie précoce réalisée avant 14 SA. Ainsi, la prématurité et le RCIU ont été évalués avec précision grâce à l'estimation correcte de l'AG et le suivi longitudinal de la croissance fœtale par des échographies rapprochées. Le recrutement des femmes en population générale nous a aussi permis de minimiser le biais de sélection inhérent aux études hospitalières, dans la mesure où les femmes enceintes recrutées à l'hôpital sont rarement représentatives des femmes enceintes de la zone d'étude.^{12,253} Par ailleurs, il a été montré dans plusieurs études que les femmes consultant très tôt dans les centres de santé constituaient un échantillon encore plus sélectionné en terme de caractéristiques socioéconomiques et de profil de risque.^{254–256}

Dans le cadre de l'étude RECIPAL, nous avons collecté des données sur un large éventail de facteurs maternels et environnementaux pouvant influencer la croissance fœtale. En particulier, le statut nutritionnel maternel –avant et pendant la grossesse– a été évalué de façon précise. En plus de l'indice de masse corporelle, du périmètre brachial et des plis cutanés, la composition

corporelle a été évaluée par bio-impédancemétrie avant et pendant la grossesse de façon à prendre en compte les variations diététiques alimentaires liées à la grossesse. Par ailleurs, nous avons documenté de façon précise les troubles hypertensifs liés à la grossesse. En effet, nous avons pu identifier les femmes présentant une hypertension gestationnelle sur la base des critères suivant : (i) chiffres tensionnels normaux avant 20 SA, (ii) chiffres tensionnels supérieurs ou égaux à 140 et/ou 90 mmHg après 20SA (hypertension artérielle chronique éliminée); confirmés après 30 min de repos (hypertension artérielle labile éliminée) et (iii) protéinurie négative. Enfin, les infections urinaires ont été dépistées par bandelette urinaire dès le début de la grossesse et ce chaque mois.

De façon plus générale, cette étude nous a également fourni des informations essentielles sur: la fertilité et ses déterminants, encore très peu évalués en ASS; et l'exposition des femmes à certains métaux lourds, dont on connaît les effets délétères sur l'issue de la grossesse. Ces résultats n'ont pas été présentés dans le cadre de ce mémoire mais ont donné lieu à un article accepté pour publication. Enfin, les contraintes logistiques et éthiques rencontrées lors de la mise en place de cette étude, et rapportées dans ce mémoire, pourront aider au développement des futures cohortes pré-conceptionnelles en ASS.

6.3. Limites de l'étude

La cohorte RECIPAL est l'une des premières études en ASS dans le domaine du paludisme gestationnel ayant proposé un suivi des femmes depuis la période pré-conceptionnelle jusqu'à l'accouchement. Cependant, elle présente certaines limites à prendre en considération. Ces limites ne remettent pas en cause la validité des résultats annoncés mais apportent des éléments utiles pour la mise en place des futures cohortes pré-conceptionnelles en Afrique.

6.3.1. Limites spécifiques à l'étude

Dans notre étude, la surveillance du paludisme pendant la grossesse était très précoce et rapprochée (dépistage mensuel systématique en CPN et en cas de symptômes lors des consultations d'urgence). De plus, pour des raisons éthiques, les femmes infectées par le paludisme lors des CPN étaient traitées immédiatement par des antimalariques efficaces (quinine au 1^{er} trimestre, et CTA au 2^{ème} et 3^{ème} trimestre), et cela dès le début de la grossesse (~7 SA). Les femmes ont également reçu la MIILD très tôt au cours de la grossesse, dès la première CPN à 7 SA en moyenne. Elles étaient également prises en charge pour d'autres pathologies que le paludisme, que ces pathologies aient été dépistées dans le cadre du projet ou pas. Tous les frais de CPN et de traitement étaient à la charge du projet. Globalement, les femmes ont été mieux suivies (monitorage échographique et nutritionnel régulier) et ont reçu plus fréquemment deux ou trois doses de TPIg par rapport aux femmes enceintes au Bénin (76,8% ayant reçu au moins 2 doses de SP vs. 39% en population générale). Ces conditions optimales de suivi ne reflètent pas les conditions réelles de suivi anténatal des femmes enceintes en ASS. Cela aurait pu entraîner une sous-estimation de l'effet des infections palustres du 1^{er} trimestre sur les issues défavorables de la grossesse.

En raison des contraintes liées à la conception de l'étude (longue durée du suivi pré-conceptionnel entraînant une lassitude des femmes) et des réalités socioculturelles africaines (rumeurs sur la collecte de sang, suspicion quant à l'existence de soins médicaux fournis gratuitement), une proportion non négligeable des femmes en âge de procréer (22 %) ont retiré leur consentement éclairé avant la fin du suivi pré-conceptionnel. Cela a pu influencer la validité externe de certains de nos résultats propres aux femmes en âge de procréer. Pendant la grossesse, il y a eu une proportion importante (17,5 %) de fausses couches spontanées, ce qui a contribué à l'attrition de la cohorte finale. Par ailleurs, en raison de contraintes financières, le suivi de la cohorte a été interrompu plus tôt qu'initialement prévu. Ainsi, nous avons pu recruter

411 femmes enceintes, alors que nous avions estimé que 510 femmes enceintes devaient être suivies pour mettre en évidence une association statistiquement significative entre le paludisme au 1^{er} trimestre et les issues défavorables de la grossesse. Les résultats à l'accouchement n'ont pu être évalués que chez 68 % des femmes, entraînant un éventuel manque de puissance pour mettre en évidence une relation entre infections palustres du 1^{er} trimestre et issues défavorables de grossesse.

Enfin, seules 107 (8%) nulligestes ont été incluses dans la cohorte initiale. La raison principale est que l'étude RECIPAL a été mise en œuvre dans la même zone et peu de temps après l'étude PlacMalVac (Placental Malaria Vaccine, coordination UMR216, financement Union Européenne) dont le design était comparable au projet RECIPAL mais visait à recruter uniquement des nulligestes. En effet, cette étude avait pour objectif final d'évaluer les réponses immunitaires en début de grossesse de femmes primigestes pour aider à concevoir un essai vaccinal de phase I contre le paludisme gestationnel.²⁵⁷ Les deux études ont été menées simultanément pendant plusieurs mois et les femmes déjà incluses dans l'étude PlacMalVac ne pouvaient plus être enrôlées dans le projet RECIPAL. Les primigestes étant sous-représentées dans notre étude, la morbidité liée à la gestité a également pu être sous-estimée. Or, il est reconnu que la primigestité est un facteur de risque important de retard de croissance intra-utérin.^{15,71,72,75,258}

6.3.2. Limites non spécifiques à l'étude (indicateurs de la croissance fœtale en Afrique)

En ASS, comme dans la plupart des pays en développement, les études sur la croissance fœtale se heurtent à des problèmes méthodologiques en lien avec l'imprécision de la date de début de la grossesse et l'absence de courbes de référence adaptées aux populations africaines.

6.3.2.1. Estimation de l'âge gestationnel et du poids fœtal

L'évaluation de la croissance fœtale nécessite une estimation précise de l'AG. Ce dernier peut être estimé par diverses méthodes comprenant l'estimation échographique,²⁵⁹ l'estimation clinique postnatale (par exemple le score de Ballard ou de Dubowitz),²⁶⁰ l'estimation à partir de la DDR^{259,261} ou de la hauteur utérine (hauteur symphysio-fundique).⁴⁴

La hauteur utérine n'est pas une mesure précise car elle estime l'AG avec un écart-type de 2 semaines.⁴⁴ Cette imprécision est liée à la grande variabilité entre les opérateurs. En ce qui concerne la date des dernières règles, elle est souvent sujette au biais de mémorisation. Sa précision dépend également de la régularité de la période menstruelle, qui est rapportée comme irrégulière, et donc incertaine chez 10% à 45% des femmes.^{259,262} Par conséquent, l'estimation à partir des mesures échographiques est considérée comme la méthode la plus précise.^{261,263}

Dans notre étude, l'AG a été estimé en suivant les recommandations du projet INTERGROWTH-21st;²²² elle reposait sur la comparaison de l'AG estimé par une échographie de datation réalisée avant 14 SA et par la date des dernières règles. L'estimation échographique était privilégiée en cas de discordance avec la DDR de plus de 7 jours. La DDR avait été recueillie de façon systématique par nos enquêteurs lors des visites pré-conceptionnelles mensuelles, permettant de limiter le biais de mémoire.

L'AG basé sur l'échographie est le plus souvent estimé à partir de la mesure de la longueur crânio-caudale (LCC), plus rarement à partir du périmètre crânien (PC) ou du diamètre bipariétal (DBP) en utilisant les courbes de référence standard.^{221,264,265} La LCC est l'indicateur utilisé au 1^{er} trimestre alors que le PC et le DBP sont utilisés à partir du 2^{ème} trimestre jusqu'à 22-24 SA.^{44,261} La LCC peut cependant être influencée par l'âge maternel et l'appartenance ethnique,³⁵ et le DBP par la parité.⁵⁴

Le poids fœtal est estimé en utilisant des équations combinant différentes mesures anthropométriques fœtales. Le plus souvent, ce sont le PC, le DBP, la circonférence abdominale (CA) et la longueur fémorale (LF) qui sont utilisés pour estimer le poids fœtal.²⁹ La combinaison d'au moins deux mesures biométriques, incluant de préférence la CA, doit être donc prise en compte pour augmenter la précision de l'estimation du poids fœtal.²⁶⁶

6.3.2.2. *Courbes de croissance fœtale utilisée*

Très peu de courbes de poids fœtal ont été développées en Afrique, avec pour conséquence l'utilisation préférentielle des courbes de poids à la naissance. Cependant, ces dernières manquent de sensibilité pour dépister les enfants ayant un RCIU aux AG précoces.³⁰ En effet, le RCIU représente un important facteur de risque de prématurité. La proportion de fœtus souffrant d'un RCIU augmente avec la diminution de l'AG (corrélation négative).²⁶⁷ Ainsi, l'utilisation du poids de naissance de ces enfants prématurés comme seuil pour déterminer si les enfants présentent un RCIU aux AG précoces conduit à sous-estimer la proportion de RCIU. De plus, la majorité des courbes de référence de poids à la naissance ont été établies dans les pays développés sur des populations ayant des caractéristiques anthropométriques, socio-économiques, ethniques et nutritionnelles très différentes de celles des populations africaines.

A ce jour, il existe très peu de courbes de référence spécifiques aux populations africaines, rendant le diagnostic de PPAG et de RCIU difficile. Parmi les courbes qui sont actuellement disponibles, il existe principalement des courbes basées sur le poids de naissance.^{47-49,51,268} Les courbes de poids *in utero* sont plus rares.^{52,53,55,72} Des courbes mixtes combinant plusieurs paramètres de biométrie fœtale, sans la mesure du poids du fœtus, sont également disponibles.⁵⁶⁻⁵⁸ Cependant, la plupart de ces courbes construites dans les pays en développement présentent des limites: (i) elles ont été construites sur de petits effectifs, la courbe la plus importante ayant été établie par Kalanda *et al.* sur une population de 1400

femmes enceintes;⁵¹ (ii) l'AG a essentiellement été évalué par la date des dernières règles, souvent rapportée de façon imprécise; (iii) les femmes enceintes présentant des pathologies ont rarement été exclues. Ces différentes courbes ne sont pas utilisées en pratique clinique pour établir le diagnostic de retard de croissance, mais le plus souvent à l'occasion de programmes de recherche. En pratique clinique, le RCIU est souvent défini comme un poids de naissance < 2500 g chez un enfant né à terme.

Plus récemment, de nouvelles courbes de croissance fœtale internationales ont été développées par l'OMS et le projet INTERGROWTH-21st.^{28,29,269} Ces courbes ont été construites à partir des données collectées lors de deux études de cohorte multicentriques et multiethniques. Ces études partaient du postulat que la croissance fœtale était similaire dans toutes les populations, à partir du moment où l'état de santé et l'état nutritionnel des mères ainsi que les conditions environnementales étaient comparables.^{270,271} Alors que le projet INTERGROWTH-21st recommande l'utilisation de ses courbes dans tous les pays, des ajustements selon le pays, qui restent à préciser, sont nécessaires selon l'OMS. Dans notre étude, nous avons utilisé les courbes INTERGROWTH-21st car elles présentent l'avantage de proposer des données complètes et homogènes, utilisables pour le suivi pré et postnatal. Par ailleurs, sur le plan méthodologique, les mesures échographiques étaient réalisées par deux échographistes en aveugle de leur résultat et sur un échantillon de plus grande taille que celui de l'étude de l'OMS. Cependant, la pertinence de l'utilisation des courbes INTERGROWTH-21st fait actuellement débat, notamment en France. Une étude descriptive et comparative des courbes OMS et INTERGROWTH-21st pour évaluer la croissance fœtale des enfants de la cohorte RECIPAL est en cours.

6.4. Recommandations pour l'amélioration de la prévention du paludisme associé à la grossesse et du retard de croissance intra-utérin

L'amélioration de la prévention du paludisme associé à la grossesse, et par conséquent du RCIU, passe par l'évaluation en cours de nouvelles mesures préventives (vaccin, nouvelles molécules pour le TPIg) et le renforcement de l'approche intégrée associant TPIg, lutte anti-vectorielle (utilisation de la MIILD) et traitement adéquat des cas de paludisme pendant la grossesse. Au regard de nos résultats, démontrant la fréquence des infections palustres précoces, leur rôle dans la survenue d'une anémie maternelle et leur contribution à la survenue d'un FPN, nous suggérons les recommandations suivantes pour améliorer la prévention du PG et du RCIU.

- *Distribuer plus précocement les MIILD, avant grossesse, en ciblant particulièrement les nulligestes.*

Dans notre étude, nous avons observé que les primigestes étaient plus à risque d'infection palustre dès le 1^{er} trimestre de la grossesse et qu'une bonne utilisation des MIILD, physiquement intègres et bio-efficaces, était associée à augmentation du délai de survenue de la première infection palustre au cours du 1^{er} trimestre.²⁴³ En se basant sur ces résultats et en prenant en compte le coût financier, la distribution de MIILD en milieu communautaire ciblant les nulligestes en âge de procréer pourrait avoir un impact significatif sur la diminution des infections palustres en début de grossesse. Même s'il existe des campagnes de distributions de MIILD en population générale au Bénin, il faut souligner que ces campagnes ne ciblent pas spécifiquement les femmes en âge de procréer. Des études précédentes avaient déjà souligné la pertinence de la distribution de la MIILD en communauté pour la réduction du paludisme associé à la grossesse.^{272,273} Cette recommandation viendrait en complément de la recommandation actuelle consistant à donner une MIILD aux femmes enceintes dès la première CPN. Toutefois, des études évaluant l'efficacité d'une stratégie combinant la distribution communautaire de MIILD ciblée sur les nulligestes associée à la distribution de MIILD pendant la grossesse sur les indicateurs de santé périnatale comme le FPN, sont nécessaires.

- *Réexaminer les politiques d'administration du TPIg en prenant en compte le 1^{er} trimestre de grossesse*

Le TPIg-SP est encore une des principales stratégies efficaces contre le paludisme associé à la grossesse.¹¹³ Toutefois, celle-ci présente comme limite de ne pas pouvoir être administrée au 1^{er} trimestre de la grossesse compte tenu du potentiel risque tératogène de la SP. Face à l'augmentation des résistances parasitaires à la SP,^{274,275} l'adoption d'une molécule alternative pour le TPIg devient urgente. A ce jour, de nombreuses molécules ont été évaluées pour le TPIg.²⁷⁶⁻²⁷⁹ Plusieurs études ont suggéré que les combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine (CTA) étaient sans danger pour le fœtus au début de la grossesse.²⁸⁰⁻²⁸² La dihydroartémisinine-pipéraquine (DHA-PQ) est l'une des combinaisons les plus prometteuses car elle est bien tolérée, sans effets indésirables majeurs, et pourrait être administrée au 1^{er} trimestre de la grossesse.^{281,283} La DHA-PQ est déjà recommandée par l'OMS pour le traitement des accès palustres au 2^{ème} et 3^{ème} trimestre de la grossesse. Elle est actuellement évaluée comme alternative à la SP pour le TPIg à partir du 2^{ème} trimestre.^{112,284} Les résultats issus de ces essais cliniques sont nécessaires avant une éventuelle adoption par l'OMS de la DHA-PQ lorsque le TPIg-SP ne s'avérera plus suffisamment efficace. Par ailleurs, l'OMS est en train d'évaluer l'innocuité et l'efficacité de la DHA-PQ au 1^{er} trimestre de la grossesse pour le traitement des accès palustres. Son administration à visée préventive dès le 1^{er} trimestre est encore débattue. De plus, l'administration du TPIg à cette période pose la question du faible recours des femmes à la maternité avant 4 mois de grossesse. La distribution du TPIg en communauté pourrait améliorer l'administration précoce du TPIg.²⁸⁵

Le nombre de doses de SP et l'espacement entre chaque dose administrée sont également des facteurs déterminants dans l'efficacité du TPIg.^{198,231,240} Depuis 2015, l'OMS recommande l'administration d'une dose de SP à chaque CPN pour le TPI, avec la première dose le plus tôt possible à partir du 2^{ème} trimestre de la grossesse.¹⁷⁸ Cependant, cette recommandation peine à

être mise en place dans la plupart des pays de l'ASS.^{186,286} Dans notre étude, seules 14% des femmes suivies avaient reçu au moins 3 doses de TPIg. Les facteurs clés, qui ont été identifiés comme influençant la couverture du TPIg en Afrique sont le niveau d'éducation de la femme, son niveau socio-économique, son rang gestationnel (meilleure couverture chez les multigestes), le nombre et l'espacement des CPNs.²⁸⁷ En rendant les CPNs gratuites, cela pourrait permettre d'augmenter le recours aux CPNs. Des efforts supplémentaires doivent être faits par les autorités politiques et sanitaires pour rendre les CPN accessibles aux parturientes notamment dans les zones rurales, éviter les problèmes de rupture de SP dans les formations sanitaires, et sensibiliser davantage les agents de santé sur l'importance du TPIg.

- *Redéfinir les priorités pour l'élaboration du vaccin contre le paludisme gestationnel*

L'élaboration d'un vaccin contre le paludisme placentaire est l'une des stratégies qui devrait permettre de contrôler les conséquences de la maladie. Des études vaccinales portant sur le variant VAR2CSA sont actuellement en cours d'évaluation et sont prometteuses.^{112,207,210} Mais elles sont toutes encore à des phases précoces (phase I ou IIb pour les plus avancées).

Ces vaccins nécessitent d'être étudiés avec attention tant sur un plan clinique (efficacité et innocuité) que socio-anthropologique (acceptabilité). En effet, on peut se demander si un tel vaccin basé sur le variant VAR2CSA spécifique au paludisme placentaire, sera efficace pour prévenir les infections du début de la grossesse survenant avant la mise en place du placenta. Des études récentes ont suggéré que ces infections du début de la grossesse étaient présentes avant la conception à un niveau subi-microscopique et qu'elles se manifestaient en cours de la grossesse en raison des modifications physiologiques et hormonales liées à la grossesse.²³² Les infections palustres les plus précoces pourraient donc ne pas être VAR2CSA spécifiques et répondre à la vaccination.

- *Evaluer la pertinence de la stratégie « dépistage et traitement des infections palustres » dès le 1^{er} trimestre*

Le dépistage systématique et traitement des femmes infectées pendant la grossesse est une stratégie alternative qui a été évaluée dans des études multicentriques au cours de ces dernières années.²⁸⁸⁻²⁹⁰ Elle utilise des TDR pour dépister le paludisme au cours des CPNs et un traitement par les CTA en cas d'infection. L'avantage principal de cette stratégie est d'éviter un traitement inutile à des femmes en bonne santé. D'où aussi l'intérêt de l'appliquer à des zones où la transmission serait plus faible. Cependant, les résultats sont peu encourageants, notamment pour la prévention des FPN et autres événements morbides chez l'enfant (moins efficace que le TPIg-SP, absence d'effet prophylactique, risque de mauvaise observance et coût élevé).^{291,292}

- *Rendre l'échographie obstétricale accessible pour le monitoring de la croissance fœtale*

L'échographie obstétricale occupe une place primordiale dans l'évaluation de la croissance fœtale et dans l'amélioration des indicateurs de santé reproductive.²⁹³ Elle est de plus en plus acceptée par les femmes enceintes en ASS. L'un des rôles importants de l'échographie obstétricale est la datation de la grossesse. Elle permet une estimation précise de l'AG lorsqu'elle est réalisée précocement et dans de bonnes conditions. L'introduction d'un programme d'échographie prénatale à faible coût en zone rurale pourrait augmenter le nombre de femmes enceintes comme cela a été récemment démontré en Ouganda.²⁹⁴ Par ailleurs, la réalisation des échographies dans les hôpitaux de zone par du personnel non-médical mérite d'être mieux évaluée. Une formation en échographie auprès des agents de santé (sages-femmes, infirmières) en milieu rural pourrait permettre de mieux dépister et prendre en charge les cas de RCIU.²⁹⁵

- *Adopter l'utilisation d'une courbe de référence internationale adaptée aux populations de l'ASS pour une uniformisation de la définition du RCIU*

S'il existe de nombreuses courbes de référence de poids à la naissance, la majorité d'entre elles ont été établies dans les pays industrialisés sur des populations dont les caractéristiques anthropométriques, socio-économiques, ethniques et nutritionnelles –qui modifient le poids moyen des nouveau-nés– sont très différentes de celles des populations africaines. Une définition consensuelle du RCIU en Afrique est justifiée et nécessaire. L'utilisation plus large de l'échographie obstétricale, comme le recommande l'OMS,²⁹⁶ ainsi que des normes internationales pour la croissance fœtale (projets INTERGROWTH-21st et OMS) adaptées aux populations africaines contribueront à mieux dépister et prendre en charge les enfants présentant un RCIU.

VII. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Nos travaux ont montré que les infections palustres microscopiques étaient plus fréquentes au 1^{er} trimestre par rapport aux 2^{ème} et 3^{ème} trimestres de la grossesse, et que ces infections précoces survenaient chez près d'un quart des femmes au cours des deux premiers mois de grossesse. Nous avons mis en évidence que les infections palustres au 1^{er} trimestre de la grossesse avaient un effet direct statistiquement significatif sur le risque d'anémie maternelle en fin de grossesse. Cependant, aucun effet direct de ces infections sur le FPN, le PPAG et la prématurité n'a été retrouvé. Il en est de même pour les infections survenant aux 2^{ème} et 3^{ème} trimestres de la grossesse. Toutefois, nous avons observé que les femmes ayant eu plusieurs infections palustres débutant au 1^{er} trimestre étaient plus à risque de FPN que les femmes non infectées pendant toute la grossesse ou infectées uniquement aux 2^{ème}/3^{ème} trimestres. Ces résultats sont donc en faveur de l'administration des mesures préventives contre le paludisme dès le début de la grossesse, voire avant la grossesse. La prévention du paludisme associé à la grossesse doit reposer sur une approche intégrée combinant des mesures anti-vectorielles et médicamenteuses.

A l'issue de cette thèse, un certain nombre de questions se posent à nous.

Cette étude est-elle pertinente?

A notre avis oui, l'étude RECIPAL est pertinente. Nos travaux restent assez exploratoires et apportent des informations utiles à la compréhension du paludisme gestationnel, notamment sur la survenue des infections du 1^{er} trimestre, jusque-là très peu étudiées, et la dynamique des infections palustres tout au long de la grossesse. Par ailleurs, l'expérience acquise au cours de l'étude RECIPAL aidera à la mise en place de futures études pré-conceptionnelles en Afrique.

Le recrutement d'un effectif plus important (i.e., conforme aux prévisions originelles) aurait-il amélioré la puissance de façon significative ?

L'effectif final des femmes à l'accouchement, qui s'est avéré inférieur à celui estimé en début d'étude, a très probablement influencé la puissance de certaines de nos analyses. Cependant, le

suivi optimal et la prise en charge adéquate des infections palustres et autres pathologies aiguës au cours de la grossesse ont certainement aussi influencé nos résultats, en diminuant le profil à risque des femmes. Le RCIU est un événement multifactoriel et montrer un effet du paludisme, lorsque l'on a pris en compte de façon adaptée et simultanée d'autres facteurs de risque importants comme la malnutrition maternelle et l'HTAG, est compliqué.

Quelles sont les perspectives futures ?

La dernière femme enceinte de la cohorte RECIPAL a accouché en septembre 2017. Nous n'avons pu terminer le nettoyage des bases de données qu'en janvier 2018. Cela ne nous a pas permis d'effectuer une analyse approfondie de l'impact des infections palustres précoces sur la croissance fœtale évaluée *in utero* en évaluant des paramètres spécifiques tels le poids fœtal et les autres paramètres de biométrie fœtale et anomalies du flux sanguin utéro-placentaire. Ces analyses nous permettront de mieux comprendre la physiopathologie des infections palustres sur la perfusion utéro-placentaire et le développement du fœtus *in utero*. Actuellement, nous effectuons d'autres analyses pour évaluer les conséquences des infections palustres survenant aux différents trimestres de la grossesse, notamment celles du 1^{er} trimestre, sur la croissance fœtale évaluée de façon longitudinale *in-utero*.

Pendant le suivi RECIPAL, les femmes ont également fait l'objet d'un dépistage mensuel des infections palustres sub-microscopiques par PCR réalisé en temps réel (RTq-PCR). Les résultats de la PCR n'étaient pas disponibles pendant l'étude et les femmes n'étaient donc pas traitées en conséquence. Des analyses sont actuellement en cours pour évaluer l'effet délétère de ces infections sub-microscopiques aux différents trimestres de la grossesse, en particulier au cours du 1^{er} trimestre, sur les issues de grossesse. En effet, plusieurs études ont suggéré que les infections sub-microscopiques étaient associées à un risque augmenté de FPN, de prématurité et d'anémie maternelle.^{117,297} Il est aussi prévu un génotypage des souches parasitaires détectées

avant conception et au 1^{er} trimestre de la grossesse chez une même femme, afin de déterminer si les infections précoces de la grossesse étaient déjà présentes avant la grossesse à un niveau sub-microscopique. Etant le médecin qui a coordonné et géré les données de l'étude RECIPAL, nous apporterons mon appui en épidémiologie et biostatistique aux doctorants et chercheurs qui s'occuperont de ces analyses spécifiques.

Plusieurs indicateurs anthropométriques et alimentaires ont été mesurés chez la femme pendant mais aussi avant la grossesse, ce qui est relativement unique en ASS. Ces données permettront d'évaluer le rôle modificateur du statut nutritionnel sur l'effet du paludisme sur la croissance fœtale. Les études actuelles apportent des résultats discordants à ce sujet.^{298,299}

Enfin, dans le cadre du projet ancillaire SEPSIS (coordination UMR 216-9198, financement bioMérieux), consistant au suivi des enfants RECIPAL durant les 3 premiers mois de vie, nous aurons l'occasion d'évaluer l'effet des infections palustres aux différents trimestres de la grossesse sur la santé périnatale et néonatale et le développement de la réponse immunitaire de l'enfant. En termes de santé publique, les résultats de ces analyses seront utiles pour mieux comprendre les mécanismes expliquant l'effet délétère du paludisme pendant la grossesse, notamment les infections du 1^{er} trimestre, sur la santé de l'enfant.

VIII. REFERENCES

- 1 World Health Organization. World malaria report 2017. Geneva. WHO 2017.
- 2 White NJ, Pukrittayakamee S, Hien TT, Faiz MA, Mokuolu OA, Dondorp AM. Malaria. *Lancet (London, England)* 2014;383:723–735.
- 3 Phillips MA, Burrows JN, Manyando C, van Huijsduijnen RH, Van Voorhis WC, Wells TNC. Malaria. *Nature Reviews. Disease Primers* 2017;3:17050.
- 4 Singh B, Kim Sung L, Matusop A, Radhakrishnan A, Shamsul SSG, Cox-Singh J, et al. A large focus of naturally acquired Plasmodium knowlesi infections in human beings. *Lancet (London, England)* 2004;363:1017–1024.
- 5 Diagne N, Rogier C, Cisse B, Trape JF. Incidence of clinical malaria in pregnant women exposed to intense perennial transmission. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 1997;91:166–170.
- 6 Steketee RW, Nahlen BL, Parise ME, Menendez C. The burden of malaria in pregnancy in malaria-endemic areas. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 2001;64:28–35.
- 7 Nosten F, Rogerson SJ, Beeson JG, McGready R, Mutabingwa TK, Brabin B. Malaria in pregnancy and the endemicity spectrum: what can we learn? *Trends in Parasitology* 2004;20:425–432.
- 8 Pearson RD. Parasites, pregnancy, prolactin and pandemics? *Trends in Parasitology* 2005;21:555–556; author reply 556–557.
- 9 Rogerson SJ, Hviid L, Duffy PE, Leke RFG, Taylor DW. Malaria in pregnancy: pathogenesis and immunity. *The Lancet. Infectious Diseases* 2007;7:105–117.
- 10 Lindsay S, Ansell J, Selman C, Cox V, Hamilton K, Walraven G. Effect of pregnancy on exposure to malaria mosquitoes. *Lancet (London, England)* 2000;355:1972.
- 11 Salanti A, Dahlbäck M, Turner L, Nielsen MA, Barfod L, Magistrado P, et al. Evidence for the involvement of VAR2CSA in pregnancy-associated malaria. *The Journal of Experimental Medicine* 2004;200:1197–1203.
- 12 Desai M, ter Kuile FO, Nosten F, McGready R, Asamoah K, Brabin B, et al. Epidemiology and burden of malaria in pregnancy. *The Lancet. Infectious Diseases* 2007;7:93–104.
- 13 McCormick MC. The contribution of low birth weight to infant mortality and childhood morbidity. *The New England Journal of Medicine* 1985;312:82–90.
- 14 Brabin BJ. An analysis of malaria in pregnancy in Africa. *Bulletin of the World Health Organization* 1983;61:1005–1016.
- 15 Steketee RW, Wirima JJ, Hightower AW, Slutsker L, Heymann DL, Breman JG. The effect of malaria and malaria prevention in pregnancy on offspring birthweight, prematurity, and intrauterine growth retardation in rural Malawi. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 1996;55:33–41.
- 16 Rogerson SJ, Chaluluka E, Kanjala M, Mkundika P, Mhango C, Molyneux ME. Intermittent sulfadoxine-pyrimethamine in pregnancy: effectiveness against malaria morbidity in Blantyre, Malawi, in 1997–99. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 2000;94:549–553.
- 17 Cottrell G, Mary J-Y, Barro D, Cot M. The importance of the period of malarial infection during pregnancy on birth weight in tropical Africa. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 2007;76:849–854.

- 18 Huynh B-T, Fievet N, Gbaguidi G, Dechavanne S, Borgella S, Guézo-Mévo B, et al. Influence of the timing of malaria infection during pregnancy on birth weight and on maternal anemia in Benin. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 2011;85:214–220.
- 19 Valea I, Tinto H, Drabo MK, Huybregts L, Sorgho H, Ouedraogo J-B, et al. An analysis of timing and frequency of malaria infection during pregnancy in relation to the risk of low birth weight, anaemia and perinatal mortality in Burkina Faso. *Malaria Journal* 2012;11:71.
- 20 De Beaudrap P, Turyakira E, White LJ, Nabasumba C, Tumwebaze B, Muehlenbachs A, et al. Impact of malaria during pregnancy on pregnancy outcomes in a Ugandan prospective cohort with intensive malaria screening and prompt treatment. *Malaria Journal* 2013;12:139.
- 21 Kalilani-Phiri L, Thesing PC, Nyirenda OM, Mawindo P, Madanitsa M, Membe G, et al. Timing of malaria infection during pregnancy has characteristic maternal, infant and placental outcomes. *PloS One* 2013;8:e74643.
- 22 Huynh B-T, Cottrell G, Cot M, Briand V. Burden of malaria in early pregnancy: a neglected problem? *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America* 2015;60:598–604.
- 23 Schmiegelow C, Matondo S, Minja DTR, Resende M, Pehrson C, Nielsen BB, et al. Plasmodium falciparum Infection Early in Pregnancy has Profound Consequences for Fetal Growth. *The Journal of Infectious Diseases* 2017;216:1601–1610.
- 24 Carrera JM, Mandruzzato GP, Maeda K. Ultrasound and Fetal growth. 2001. The Parthenon Publishing Group Inc. 2001.
- 25 Mullis P-E, Tonella P. Regulation of fetal growth: consequences and impact of being born small. *Best Practice & Research. Clinical Endocrinology & Metabolism* 2008;22:173–190.
- 26 Owen P, Donnet ML, Ogston SA, Christie AD, Howie PW, Patel NB. Standards for ultrasound fetal growth velocity. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology* 1996;103:60–69.
- 27 Schmiegelow C, Minja D, Oesterholt M, Pehrson C, Suhre HE, Boström S, et al. Malaria and fetal growth alterations in the 3(rd) trimester of pregnancy: a longitudinal ultrasound study. *PloS One* 2013;8:e53794.
- 28 Papageorgiou AT, Ohuma EO, Altman DG, Todros T, Ismail LC, Lambert A, et al. International standards for fetal growth based on serial ultrasound measurements: the Fetal Growth Longitudinal Study of the INTERGROWTH-21st Project. *The Lancet* 2014;384:869–879.
- 29 Kiserud T, Piaggio G, Carroli G, Widmer M, Carvalho J, Neerup Jensen L, et al. The World Health Organization Fetal Growth Charts: A Multinational Longitudinal Study of Ultrasound Biometric Measurements and Estimated Fetal Weight. *PLoS medicine* 2017;14:e1002220.
- 30 Le Meaux J-P, Tsatsaris T. Le retard de croissance intra-utérin. Aspects cliniques et fondamentaux. 1ère édition. *Elsevier Masson* 2012;1:3–7.
- 31 Hay WW, Thureen PJ, Anderson MS. Intrauterine Growth Restriction. *NeoReviews* 2001;2:129e – 138.
- 32 Chatelain P. Children born with intra-uterine growth retardation (IUGR) or small for gestational age (SGA): long term growth and metabolic consequences. *Endocrine Regulations* 2000;34:33–36.
- 33 Figueras F, Gardosi J. Intrauterine growth restriction: new concepts in antenatal surveillance, diagnosis, and management. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 2011;204:288–300.

- 34 Hemachandra AH, Klebanoff MA. Use of serial ultrasound to identify periods of fetal growth restriction in relation to neonatal anthropometry. *American Journal of Human Biology: The Official Journal of the Human Biology Council* 2006;18:791–797.
- 35 Mook-Kanamori DO, Steegers EAP, Eilers PH, Raat H, Hofman A, Jaddoe VWV. Risk factors and outcomes associated with first-trimester fetal growth restriction. *JAMA* 2010;303:527–534.
- 36 Gaillard R, Steegers EA, de Jongste JC, Hofman A, Jaddoe VW. Tracking of fetal growth characteristics during different trimesters and the risks of adverse birth outcomes. *International Journal of Epidemiology* 2014;43:1140–1153.
- 37 Haram K, Sjøteland E, Bukowski R. Intrauterine growth restriction. *International Journal of Gynecology & Obstetrics* 2006;93:5–12.
- 38 Bachmann LM, Khan KS, Ogah J, Owen P. Multivariable analysis of tests for the diagnosis of intrauterine growth restriction. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology: The Official Journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* 2003;21:370–374.
- 39 Owen P, Khan KS. Fetal growth velocity in the prediction of intrauterine growth retardation in a low risk population. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology* 1998;105:536–540.
- 40 Owen P, Ogah J, Bachmann LM, Khan KS. Prediction of intrauterine growth restriction with customised estimated fetal weight centiles. *BJOG: an international journal of obstetrics and gynaecology* 2003;110:411–415.
- 41 Chang TC, Robson SC, Spencer JA, Gallivan S. Identification of fetal growth retardation: comparison of Doppler waveform indices and serial ultrasound measurements of abdominal circumference and fetal weight. *Obstetrics and Gynecology* 1993;82:230–236.
- 42 Bernstein IM, Blake K, Wall B, Badger GJ. Evidence that normal fetal growth can be noncontinuous. *Obstetrical & Gynecological Survey* 1996;51:213–214.
- 43 Lampl M, Jeanty P. Timing is everything: a reconsideration of fetal growth velocity patterns identifies the importance of individual and sex differences. *American Journal of Human Biology: The Official Journal of the Human Biology Council* 2003;15:667–680.
- 44 Ott WJ. Sonographic diagnosis of fetal growth restriction. *Clinical Obstetrics and Gynecology* 2006;49:295–307.
- 45 Zhang J, Merialdi M, Platt LD, Kramer MS. Defining normal and abnormal fetal growth: promises and challenges. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 2010;202:522–528.
- 46 Mayer C, Joseph KS. Fetal growth: a review of terms, concepts and issues relevant to obstetrics. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology: The Official Journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* 2013;41:136–145.
- 47 Alihonou E, Azandegbe N, Perrin R, Hekpazo A, Laleye H. [Epidemiologic approach to intrauterine growth retardation in the People's Republic of Benin]. *Revue Francaise De Gynecologie Et D'obstetrique* 1987;82:253–257.
- 48 Olowe SA. Standards of intrauterine growth for an African population at sea level. *The Journal of Pediatrics* 1981;99:489–495.
- 49 Munjanja SP, Masona D, Masvikeni S. Fetal biparietal diameter and head circumference measurements: results of a longitudinal study in Zimbabwe. *International Journal of Gynecology & Obstetrics* 1988;26:223–228.
- 50 Osinusi BO. Ultrasound measurement of foetal head to abdomen circumference ratio in pregnant Nigerians. *African Journal of Medicine and Medical Sciences* 1989;18:39–41.

- 51 Kalanda BF, van Buuren S, Verhoeff FH, Brabin BJ. Anthropometry of Malawian live births between 35 and 41 weeks of gestation. *Annals of Human Biology* 2005;32:639–649.
- 52 Cissé R, Ouédraogo A, Tapsoba T, Lougué C, Ouédraogo CM, Ouattara T, et al. [Ultrasound foetal biometry in the town of Ouagadougou, Burkina Faso. Report of a cohort of 126 pregnant women]. *Journal De Radiologie* 2000;81:509–515.
- 53 Landis SH, Ananth CV, Lokomba V, Hartmann KE, Thorp JM, Horton A, et al. Ultrasound-derived fetal size nomogram for a sub-Saharan African population: a longitudinal study. *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* 2009;34:379–386.
- 54 Salpou D, Kiserud T, Rasmussen S, Johnsen SL. Fetal age assessment based on 2nd trimester ultrasound in Africa and the effect of ethnicity. *BMC pregnancy and childbirth* 2008;8:48.
- 55 Schmiegelow C, Scheike T, Oesterholt M, Minja D, Pehrson C, Magistrado P, et al. Development of a fetal weight chart using serial trans-abdominal ultrasound in an East African population: a longitudinal observational study. *PloS One* 2012;7:e44773.
- 56 Ayangade SO, Okonofua FE. Normal growth of the fetal biparietal diameter in an African population. *International Journal of Gynaecology and Obstetrics: The Official Organ of the International Federation of Gynaecology and Obstetrics* 1986;24:35–42.
- 57 Okupe RF, Coker OO, Gbajumo SA. Assessment of fetal biparietal diameter during normal pregnancy by ultrasound in Nigerian women. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology* 1984;91:629–632.
- 58 Okonofua FE, Ayangade SO, Ajibulu OA. Ultrasound measurement of fetal abdominal circumference and the ratio of biparietal diameter to transverse abdominal diameter in a mixed Nigerian population. *International Journal of Gynaecology and Obstetrics: The Official Organ of the International Federation of Gynaecology and Obstetrics* 1988;27:1–6.
- 59 Wilcox AJ. On the importance--and the unimportance--of birthweight. *International Journal of Epidemiology* 2001;30:1233–1241.
- 60 Kramer MS. Determinants of low birth weight: methodological assessment and meta-analysis. *Bulletin of the World Health Organization* 1987;65:663–737.
- 61 Kramer MS. The epidemiology of adverse pregnancy outcomes: an overview. *The Journal of Nutrition* 2003;133:1592S-1596S.
- 62 Salafia CM, Charles AK, Maas EM. Placenta and fetal growth restriction. *Clinical Obstetrics and Gynecology* 2006;49:236–256.
- 63 Hendrix N, Berghella V. Non-placental causes of intrauterine growth restriction. *Seminars in Perinatology* 2008;32:161–165.
- 64 Bernstein PS, Divon MY. Etiologies of fetal growth restriction. *Clinical Obstetrics and Gynecology* 1997;40:723–729.
- 65 Olusanya BO, Solanke OA. Perinatal Outcomes Associated with Maternal Hypertensive Disorders of Pregnancy in a Developing Country. *Hypertension in Pregnancy* 2012;31:120–130.
- 66 Duley L. The global impact of pre-eclampsia and eclampsia. *Seminars in Perinatology* 2009;33:130–137.
- 67 Mehta S, Manji KP, Young AM, Brown ER, Chasela C, Taha TE, et al. Nutritional indicators of adverse pregnancy outcomes and mother-to-child transmission of HIV among HIV-infected women. *The American Journal of Clinical Nutrition* 2008;87:1639–1649.

- 68 Mahajan S, Aalinkeel R, Shah P, Singh S, Gupta N, Kochupillai N. Nutritional anaemia dysregulates endocrine control of fetal growth. *The British Journal of Nutrition* 2008;100:408–417.
- 69 Geelhoed D, Agadzi F, Visser L, Ablordeppey E, Asare K, O'Rourke P, et al. Maternal and fetal outcome after severe anemia in pregnancy in rural Ghana. *Acta Obstetrica Et Gynecologica Scandinavica* 2006;85:49–55.
- 70 Sullivan AD, Nyirenda T, Cullinan T, Taylor T, Harlow SD, James SA, et al. Malaria Infection during Pregnancy: Intrauterine Growth Retardation and Preterm Delivery in Malawi. *The Journal of Infectious Diseases* 1999;179:1580–1583.
- 71 Briand V, Saal J, Ghafari C, Huynh B-T, Fievet N, Schmiegelow C, et al. Fetal Growth Restriction Is Associated With Malaria in Pregnancy: A Prospective Longitudinal Study in Benin. *The Journal of Infectious Diseases* 2016;214:417–425.
- 72 Verhoeff FH. b, Brabin BJ. c, Van Buuren S., Chimsuku L. e, Kazembe P., Wit JM., et al. An analysis of intra-uterine growth retardation in rural Malawi. *European Journal of Clinical Nutrition* 2001;55:682–689.
- 73 Castetbon K, Ladner J, Leroy V, Chauliac M, Karita E, De Clercq A, et al. Low birthweight in infants born to African HIV-infected women: relationship with maternal body weight during pregnancy: Pregnancy and HIV Study Group (EGE). *Journal of Tropical Pediatrics* 1999;45:152–157.
- 74 Parekh N, Ribaud H, Souda S, Chen J, Mmalane M, Powis K, et al. Risk factors for very preterm delivery and delivery of very-small-for-gestational-age infants among HIV-exposed and HIV-unexposed infants in Botswana. *International Journal of Gynaecology and Obstetrics: The Official Organ of the International Federation of Gynaecology and Obstetrics* 2011;115:20–25.
- 75 Ndirangu J, Newell M-L, Bland RM, Thorne C. Maternal HIV infection associated with small-for-gestational age infants but not preterm births: evidence from rural South Africa. *Human Reproduction (Oxford, England)* 2012;27:1846–1856.
- 76 Accrombessi M, Zeitlin J, Massougboji A, Cot M, Briand V. What Do We Know about Risk Factors for Fetal Growth Restriction in Africa at the Time of Sustainable Development Goals? A Scoping Review. *Paediatric and Perinatal Epidemiology* 2018;32:184–196.
- 77 Hinderaker SG, Olsen BE, Bergsjø PB, Gasheka P, Lie RT, Havnen J, et al. Avoidable stillbirths and neonatal deaths in rural Tanzania. *BJOG: an international journal of obstetrics and gynaecology* 2003;110:616–623.
- 78 Ibrahim SA, Babiker AG, Amin IK, Omer MI, Rushwan H. Factors associated with high risk of perinatal and neonatal mortality: an interim report on a prospective community-based study in rural Sudan. *Paediatric and Perinatal Epidemiology* 1994;8:193–204.
- 79 Matendo RM, Engmann CM, Ditekemena JD, Gado J, Tshetu A, McClure EM, et al. Challenge of reducing perinatal mortality in rural Congo: findings of a prospective, population-based study. *Journal of Health, Population, and Nutrition* 2011;29:532–540.
- 80 Pulver LS, Guest-Warnick G, Stoddard GJ, Byington CL, Young PC. Weight for gestational age affects the mortality of late preterm infants. *Pediatrics* 2009;123:e1072-1077.
- 81 Marchant T, Willey B, Katz J, Clarke S, Kariuki S, Kuile F ter, et al. Neonatal Mortality Risk Associated with Preterm Birth in East Africa, Adjusted by Weight for Gestational Age: Individual Participant Level Meta-Analysis. . Editor: Bhutta ZA: *PLoS Medicine* 2012;9:e1001292.

- 82 de Jong CL, Francis A, van Geijn HP, Gardosi J. Fetal growth rate and adverse perinatal events. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology: The Official Journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* 1999;13:86–89.
- 83 Clausson B, Gardosi J, Francis A, Cnattingius S. Perinatal outcome in SGA births defined by customised versus population-based birthweight standards. *BJOG: an international journal of obstetrics and gynaecology* 2001;108:830–834.
- 84 Christensen DL, Kapur A, Bygbjerg IC. Physiological adaption to maternal malaria and other adverse exposure: low birth weight, functional capacity, and possible metabolic disease in adult life. *International Journal of Gynaecology and Obstetrics: The Official Organ of the International Federation of Gynaecology and Obstetrics* 2011;115 Suppl 1:S16-19.
- 85 Barker DJP, Osmond C, Kajantie E, Eriksson JG. Growth and chronic disease: findings in the Helsinki Birth Cohort. *Annals of Human Biology* 2009;36:445–458.
- 86 Arksey H, O'Malley L. Scoping studies: towards a methodological framework. *International Journal of Social Research Methodology* 2005;8:19–32.
- 87 Karunaweera ND, Grau GE, Gamage P, Carter R, Mendis KN. Dynamics of fever and serum levels of tumor necrosis factor are closely associated during clinical paroxysms in *Plasmodium vivax* malaria. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1992;89:3200–3203.
- 88 Vijaykumar M, Naik RS, Gowda DC. *Plasmodium falciparum* glycosylphosphatidylinositol-induced TNF- α secretion by macrophages is mediated without membrane insertion or endocytosis. *The Journal of Biological Chemistry* 2001;276:6909–6912.
- 89 Wijesekera SK, Carter R, Rathnayaka L, Mendis KN. A malaria parasite toxin associated with *Plasmodium vivax* paroxysms. *Clinical and Experimental Immunology* 1996;104:221–227.
- 90 Baker DA. Malaria gametocytogenesis. *Molecular and Biochemical Parasitology* 2010;172:57–65.
- 91 Bartoloni A, Zammarchi L. Clinical aspects of uncomplicated and severe malaria. *Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases* 2012;4:e2012026.
- 92 Lamikanra AA, Brown D, Potocnik A, Casals-Pascual C, Langhorne J, Roberts DJ. Malarial anemia: of mice and men. *Blood* 2007;110:18–28.
- 93 Bruce-Chwatt L. Essential Malariology - 2nd Edition. London. :1985.
- 94 Mirdha BR, Samantaray JC, Mishra B. Laboratory diagnosis of malaria. *Journal of Clinical Pathology* 1997;50:356.
- 95 Makler MT, Palmer CJ, Ager AL. A review of practical techniques for the diagnosis of malaria. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* 1998;92:419–433.
- 96 Abba K, Deeks JJ, Olliaro P, Naing C-M, Jackson SM, Takwoingi Y, et al. Rapid diagnostic tests for diagnosing uncomplicated *P. falciparum* malaria in endemic countries. *The Cochrane Database of Systematic Reviews* 2011:CD008122.
- 97 Pattanasin S, Proux S, Chompasuk D, Luwiradaj K, Jacquier P, Looareesuwan S, et al. Evaluation of a new *Plasmodium lactate* dehydrogenase assay (OptiMAL-IT) for the detection of malaria. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 2003;97:672–674.

- 98 World Health Organization. Malaria Rapid Diagnostic Test Performance: Results of WHO Product Testing of Malaria RDTs: Round 3 (2010–2011). Geneva, Switzerland: World Health Organization: 2011.
- 99 Aubouy A, Dechavanne S, Dassey R, Massougboji A. [Value of rapid tests for diagnosis of malaria in Benin]. *Medecine Tropicale: Revue Du Corps De Sante Colonial* 2010;70:485–489.
- 100 Mens PF, Schoone GJ, Kager PA, Schallig HDFH. Detection and identification of human Plasmodium species with real-time quantitative nucleic acid sequence-based amplification. *Malaria Journal* 2006;5:80.
- 101 Gaye O, Laughlin M, Diallo S. Etude comparative de cinq méthodes de diagnostic biologique du paludisme: la goutte épaisse, la méthode QBC, la sonde à ADN, la PCR et le Parasight F Test. *Médecine d'Afrique Noire* 1998;45:244–258.
- 102 Snounou G, Viriyakosol S, Zhu XP, Jarra W, Pinheiro L, do Rosario VE, et al. High sensitivity of detection of human malaria parasites by the use of nested polymerase chain reaction. *Molecular and Biochemical Parasitology* 1993;61:315–320.
- 103 Hopkins H, González IJ, Polley SD, Angutoko P, Ategeka J, Asimwe C, et al. Highly sensitive detection of malaria parasitemia in a malaria-endemic setting: performance of a new loop-mediated isothermal amplification kit in a remote clinic in Uganda. *The Journal of Infectious Diseases* 2013;208:645–652.
- 104 Polley SD, González IJ, Mohamed D, Daly R, Bowers K, Watson J, et al. Clinical evaluation of a loop-mediated amplification kit for diagnosis of imported malaria. *The Journal of Infectious Diseases* 2013;208:637–644.
- 105 World Health Organization. Trends in maternal mortality: 1990 to 2015: estimates by WHO, UNICEF, UNFPA, World Bank Group and the United Nations Population Division. Geneva: World Health Organization. WHO 2015.
- 106 World Health Organization. Evaluating the quality of care for severe pregnancy complications. The WHO near-miss approach for maternal health. WHO 2011:1–29.
- 107 World Health Organization. World Health Report 2005 - Make every mother and child count. WHO 2005.
- 108 Alkema L, Chou D, Hogan D, Zhang S, Moller A-B, Gemmill A, et al. Global, regional, and national levels and trends in maternal mortality between 1990 and 2015, with scenario-based projections to 2030: a systematic analysis by the UN Maternal Mortality Estimation Inter-Agency Group. *The Lancet* 2016;387:462–474.
- 109 World Health Organization. Levels and trends in child mortality report 2017. Estimates developed by UN Inter-agency Group for Child Mortality Estimation. WHO 2017.
- 110 Victora CG, Requejo JH, Barros AJD, Berman P, Bhutta Z, Boerma T, et al. Countdown to 2015: a decade of tracking progress for maternal, newborn, and child survival. *Lancet (London, England)* 2016;387:2049–2059.
- 111 Guyatt HL, Snow RW. Malaria in pregnancy as an indirect cause of infant mortality in sub-Saharan Africa. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 2001;95:569–576.
- 112 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. *The Lancet. Infectious Diseases* 2018;18:e107–e118.

- 113 Desai M, Hill J, Fernandes S, Walker P, Pell C, Gutman J, et al. Prevention of malaria in pregnancy. *The Lancet. Infectious Diseases* 2018;18:e119–e132.
- 114 Dellicour S, Tatem AJ, Guerra CA, Snow RW, ter Kuile FO. Quantifying the number of pregnancies at risk of malaria in 2007: a demographic study. *PLoS medicine* 2010;7:e1000221.
- 115 Cot M, Deloron P. Malaria prevention strategies. *British Medical Bulletin* 2003;67:137–148.
- 116 Okell LC, Ghani AC, Lyons E, Drakeley CJ. Submicroscopic infection in *Plasmodium falciparum*-endemic populations: a systematic review and meta-analysis. *The Journal of Infectious Diseases* 2009;200:1509–1517.
- 117 Cottrell G, Moussiliou A, Luty AJF, Cot M, Fievet N, Massougbedji A, et al. Submicroscopic *Plasmodium falciparum* Infections Are Associated With Maternal Anemia, Premature Births, and Low Birth Weight. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America* 2015;60:1481–1488.
- 118 Accrombessi M, Yovo E, Cottrell G, Agbota G, Gartner A, Martin-Prevel Y, et al. Cohort profile: effect of malaria in early pregnancy on fetal growth in Benin (RECIPAL preconceptional cohort). *BMJ open* 2018;8:e019014.
- 119 McGregor IA. Epidemiology, malaria and pregnancy. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 1984;33:517–525.
- 120 Duffy PE. *Plasmodium* in the placenta: parasites, parity, protection, prevention and possibly preeclampsia. *Parasitology* 2007;134:1877–1881.
- 121 Zhou A, Megnekou R, Leke R, Fogako J, Metenou S, Trock B, et al. Prevalence of *Plasmodium falciparum* infection in pregnant Cameroonian women. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 2002;67:566–570.
- 122 Saute F, Menendez C, Mayor A, Aponte J, Gomez-Olive X, Dgedge M, et al. Malaria in pregnancy in rural Mozambique: the role of parity, submicroscopic and multiple *Plasmodium falciparum* infections. *Tropical medicine & international health: TM & IH* 2002;7:19–28.
- 123 Shulman CE, Graham WJ, Jilo H, Lowe BS, New L, Obiero J, et al. Malaria is an important cause of anaemia in primigravidae: evidence from a district hospital in coastal Kenya. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 1996;90:535–539.
- 124 Ouma P, van Eijk AM, Hamel MJ, Parise M, Ayisi JG, Otieno K, et al. Malaria and anaemia among pregnant women at first antenatal clinic visit in Kisumu, western Kenya. *Tropical medicine & international health: TM & IH* 2007;12:1515–1523.
- 125 Kalilani L, Mofolo I, Chaponda M, Rogerson SJ, Meshnick SR. The effect of timing and frequency of *Plasmodium falciparum* infection during pregnancy on the risk of low birth weight and maternal anemia. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 2010;104:416–422.
- 126 Ouédraogo S, Bodeau-Livinec F, Briand V, Huynh B-T, Koura GK, Accrombessi MMK, et al. Malaria and gravidity interact to modify maternal haemoglobin concentrations during pregnancy. *Malaria Journal* 2012;11:348.
- 127 Takem EN, D'Alessandro U. Malaria in pregnancy. *Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases* 2013;5:e2013010.
- 128 World Health Organization. International Classification of diseases. 1975 Revision, Volume 1. Geneva, Switzerland: WHO.1977.

- 129 Lawn JE, Cousens S, Zupan J, Lancet Neonatal Survival Steering Team. 4 million neonatal deaths: when? Where? Why? *Lancet (London, England)* 2005;365:891–900.
- 130 Menendez C, Ordi J, Ismail MR, Ventura PJ, Aponte JJ, Kahigwa E, et al. The impact of placental malaria on gestational age and birth weight. *The Journal of Infectious Diseases* 2000;181:1740–1745.
- 131 van Geertruyden J-P, Thomas F, Erhart A, D'Alessandro U. The contribution of malaria in pregnancy to perinatal mortality. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 2004;71:35–40.
- 132 Okoko BJ, Ota MO, Yamuah LK, Idiong D, Mkpanam SN, Avieka A, et al. Influence of placental malaria infection on foetal outcome in the Gambia: twenty years after Ian McGregor. *Journal of Health, Population, and Nutrition* 2002;20:4–11.
- 133 Bardají A, Sigauque B, Sanz S, Maixenchs M, Ordi J, Aponte JJ, et al. Impact of malaria at the end of pregnancy on infant mortality and morbidity. *The Journal of Infectious Diseases* 2011;203:691–699.
- 134 Cornet M, Le Hesran JY, Fievet N, Cot M, Personne P, Gounoue R, et al. Prevalence of and risk factors for anemia in young children in southern Cameroon. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 1998;58:606–611.
- 135 van Eijk AM, Ayisi JG, Ter Kuile FO, Misore AO, Otieno JA, Kolczak MS, et al. Malaria and human immunodeficiency virus infection as risk factors for anemia in infants in Kisumu, western Kenya. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 2002;67:44–53.
- 136 Accrombessi M, Ouédraogo S, Agbota GC, Gonzalez R, Massougboji A, Menéndez C, et al. Malaria in Pregnancy Is a Predictor of Infant Haemoglobin Concentrations during the First Year of Life in Benin, West Africa. *PloS One* 2015;10:e0129510.
- 137 Le Hesran JY, Cot M, Personne P, Fievet N, Dubois B, Beyemé M, et al. Maternal placental infection with *Plasmodium falciparum* and malaria morbidity during the first 2 years of life. *American Journal of Epidemiology* 1997;146:826–831.
- 138 Mutabingwa TK, Bolla MC, Li J-L, Domingo GJ, Li X, Fried M, et al. Maternal Malaria and Gravidity Interact to Modify Infant Susceptibility to Malaria. *PLoS Medicine* 2005;2.
- 139 Schwarz NG, Adegnika AA, Breitling LP, Gabor J, Agnandji ST, Newman RD, et al. Placental malaria increases malaria risk in the first 30 months of life. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America* 2008;47:1017–1025.
- 140 Le Port A, Watier L, Cottrell G, Ouédraogo S, Dechavanne C, Pierrat C, et al. Infections in Infants during the First 12 Months of Life: Role of Placental Malaria and Environmental Factors. *PLoS ONE* 2011;6:e27516.
- 141 Rachas A, Port AL, Cottrell G, Guerra J, Choudat I, Bouscaillou J, et al. Placental Malaria is Associated With Increased Risk of Nonmalaria Infection During the First 18 Months of Life in a Beninese Population. *Clinical Infectious Diseases* 2012;55:672–678.
- 142 Luxemburger C, Ricci F, Nosten F, Raimond D, Bathet S, White NJ. The epidemiology of severe malaria in an area of low transmission in Thailand. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 1997;91:256–262.
- 143 Mor G, Cardenas I. The immune system in pregnancy: a unique complexity. *American Journal of Reproductive Immunology (New York, N.Y.: 1989)* 2010;63:425–433.

- 144 Mor G, Cardenas I, Abrahams V, Guller S. Inflammation and pregnancy: the role of the immune system at the implantation site. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2011;1221:80–87.
- 145 Dimasuay KG, Aitken EH, Rosario F, Njie M, Glazier J, Rogerson SJ, et al. Inhibition of placental mTOR signaling provides a link between placental malaria and reduced birthweight. *BMC medicine* 2017;15:1.
- 146 Dimasuay KG, Gong L, Rosario F, McBryde E, Spelman T, Glazier J, et al. Impaired placental autophagy in placental malaria. *PloS One* 2017;12:e0187291.
- 147 Staalsoe T, Shulman CE, Bulmer JN, Kawuondo K, Marsh K, Hviid L. Variant surface antigen-specific IgG and protection against clinical consequences of pregnancy-associated *Plasmodium falciparum* malaria. *Lancet (London, England)* 2004;363:283–289.
- 148 Bulmer JN, Rasheed FN, Francis N, Morrison L, Greenwood BM. Placental malaria. I. Pathological classification. *Histopathology* 1993;22:211–218.
- 149 Falade CO, Tongo OO, Ogunkunle OO, Orimadegun AE. Effects of malaria in pregnancy on newborn anthropometry. *Journal of Infection in Developing Countries* 2010;4:448–453.
- 150 Meuris S, Piko BB, Eerens P, Vanbellinghen AM, Dramaix M, Hennart P. Gestational malaria: assessment of its consequences on fetal growth. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 1993;48:603–609.
- 151 McGregor IA, Wilson ME, Billewicz WZ. Malaria infection of the placenta in The Gambia, West Africa; its incidence and relationship to stillbirth, birthweight and placental weight. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 1983;77:232–244.
- 152 Kalanda BF, van Buuren S, Verhoeff FH, Brabin BJ. Anthropometry of fetal growth in rural Malawi in relation to maternal malaria and HIV status. *Archives of Disease in Childhood. Fetal and Neonatal Edition* 2005;90:F161-165.
- 153 Ayoola OO, Gemmell I, Omotade OO, Adeyanju OA, Cruickshank JK, Clayton PE. Maternal malaria, birth size and blood pressure in Nigerian newborns: insights into the developmental origins of hypertension from the Ibadan growth cohort. *PloS One* 2011;6:e24548.
- 154 Rijken MJ, Papageorgiou AT, Thiptharakun S, Kiricharoen S, Dwell SLM, Wiladphaingern J, et al. Ultrasound Evidence of Early Fetal Growth Restriction after Maternal Malaria Infection. . Editor: Hviid L: *PLoS ONE* 2012;7:e31411.
- 155 Umbers AJ, Aitken EH, Rogerson SJ. Malaria in pregnancy: small babies, big problem. *Trends in Parasitology* 2011;27:168–175.
- 156 Rogerson SJ, Boeuf P. New approaches to pathogenesis of malaria in pregnancy. *Parasitology* 2007;134:1883–1893.
- 157 Muehlenbachs A, Mutabingwa TK, Edmonds S, Fried M, Duffy PE. Hypertension and maternal-fetal conflict during placental malaria. *PLoS medicine* 2006;3:e446.
- 158 Rijken MJ, Moroski WE, Kiricharoen S, Karunkonkowitz N, Stevenson G, Ohuma EO, et al. Effect of malaria on placental volume measured using three-dimensional ultrasound: a pilot study. *Malaria Journal* 2012;11:5.
- 159 Dorman EK, Shulman CE, Kingdom J, Bulmer JN, Mwendwa J, Peshu N, et al. Impaired uteroplacental blood flow in pregnancies complicated by *falciparum* malaria. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology: The Official Journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* 2002;19:165–170.

- 160 McClure EM, Meshnick SR, Lazebnik N, Mungai P, King CL, Hudgens M, et al. A cohort study of Plasmodium falciparum malaria in pregnancy and associations with uteroplacental blood flow and fetal anthropometrics in Kenya. *International Journal of Gynaecology and Obstetrics: The Official Organ of the International Federation of Gynaecology and Obstetrics* 2014;126:78–82.
- 161 Ome-Kaius M, Karl S, Wangnapi RA, Bolnga JW, Mola G, Walker J, et al. Effects of Plasmodium falciparum infection on umbilical artery resistance and intrafetal blood flow distribution: a Doppler ultrasound study from Papua New Guinea. *Malaria Journal* 2017;16:35.
- 162 Rogerson SJ, Pollina E, Getachew A, Tadesse E, Lema VM, Molyneux ME. Placental monocyte infiltrates in response to Plasmodium falciparum malaria infection and their association with adverse pregnancy outcomes. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 2003;68:115–119.
- 163 Crocker IP, Tanner OM, Myers JE, Bulmer JN, Walraven G, Baker PN. Syncytiotrophoblast degradation and the pathophysiology of the malaria-infected placenta. *Placenta* 2004;25:273–282.
- 164 Umbers AJ, Boeuf P, Clapham C, Staniscic DI, Baiwog F, Mueller I, et al. Placental malaria-associated inflammation disturbs the insulin-like growth factor axis of fetal growth regulation. *The Journal of Infectious Diseases* 2011;203:561–569.
- 165 Arbeille P, Carles G, Bousquet F, Body G, Lansac J. Fetal cerebral and umbilical artery blood flow changes during pregnancy complicated by malaria. *Journal of Ultrasound in Medicine: Official Journal of the American Institute of Ultrasound in Medicine* 1998;17:223–229.
- 166 Watson-Jones D, Weiss HA, Chagalucha JM, Todd J, Gumodoka B, Bulmer J, et al. Adverse birth outcomes in United Republic of Tanzania--impact and prevention of maternal risk factors. *Bulletin of the World Health Organization* 2007;85:9–18.
- 167 McGready R, Lee SJ, Wiladphaingern J, Ashley EA, Rijken MJ, Boel M, et al. Adverse effects of falciparum and vivax malaria and the safety of antimalarial treatment in early pregnancy: a population-based study. *The Lancet. Infectious Diseases* 2012;12:388–396.
- 168 Kalanda BF. b, Verhoeff FH., Chimsuku L. b, Harper G., Brabin BJ. c. Adverse birth outcomes in a malarious area. *Epidemiology and Infection* 2006;134:659–666.
- 169 Menéndez C, Bardají A, Sigauque B, Sanz S, Aponte JJ, Mabunda S, et al. Malaria prevention with IPTp during pregnancy reduces neonatal mortality. *PloS One* 2010;5:e9438.
- 170 Eisele TP, Larsen DA, Anglewicz PA, Keating J, Yukich J, Bennett A, et al. Malaria prevention in pregnancy, birthweight, and neonatal mortality: a meta-analysis of 32 national cross-sectional datasets in Africa. *The Lancet. Infectious Diseases* 2012;12:942–949.
- 171 Walther B, Miles DJC, Crozier S, Waight P, Palmero MS, Ojuola O, et al. Placental malaria is associated with reduced early life weight development of affected children independent of low birth weight. *Malaria Journal* 2010;9:16.
- 172 Kalanda BF, van Buuren S, Verhoeff FH, Brabin BJ. Catch-up growth in Malawian babies, a longitudinal study of normal and low birthweight babies born in a malarious endemic area. *Early Human Development* 2005;81:841–850.
- 173 Griffin JB, Lokomba V, Landis SH, Thorp JM, Herring AH, Tshetu AK, et al. Plasmodium falciparum parasitaemia in the first half of pregnancy, uterine and umbilical artery blood flow, and foetal growth: a longitudinal Doppler ultrasound study. *Malaria Journal* 2012;11:319.

- 174 Crawley J, Hill J, Yartey J, Robalo M, Serufulira A, Ba-Nguz A, et al. From evidence to action? Challenges to policy change and programme delivery for malaria in pregnancy. *The Lancet. Infectious Diseases* 2007;7:145–155.
- 175 Walker PGT, Griffin JT, Cairns M, Rogerson SJ, van Eijk AM, ter Kuile F, et al. A model of parity-dependent immunity to placental malaria. *Nature Communications* 2013;4:1609.
- 176 World Health Organization. Malaria in pregnancy. Guidelines for measuring key monitoring and evaluation indicators., in Geneva, Switzerland: WHO 2007.
- 177 World Health Organization. A Strategic Framework for Malaria Prevention and Control during Pregnancy in the Africa Region. Brazzaville: WHO Regional Office for Africa, 2004. AFR/MAL/04/01. WHO 2004.
- 178 WHO Malaria Policy Advisory Committee and Secretariat. Malaria Policy Advisory Committee to the WHO: conclusions and recommendations of eighth biannual meeting (September 2015). *Malaria Journal* 2016;15:117.
- 179 Kunte R, Kunwar R. WHO Guidelines for the treatment of malaria. *Medical Journal, Armed Forces India* 2011;67:376.
- 180 Reyburn H. New WHO guidelines for the treatment of malaria. *BMJ (Clinical research ed.)* 2010;340:c2637.
- 181 World Health Organization. Guidelines for the treatment of malaria, second edition, in Geneva, Switzerland. WHO 2010.
- 182 Gamble C, Ekwaru JP, ter Kuile FO. Insecticide-treated nets for preventing malaria in pregnancy. *The Cochrane Database of Systematic Reviews* 2006:CD003755.
- 183 Gamble C, Ekwaru PJ, Garner P, ter Kuile FO. Insecticide-treated nets for the prevention of malaria in pregnancy: a systematic review of randomised controlled trials. *PLoS medicine* 2007;4:e107.
- 184 Kabanywany AM, Macarthur JR, Stolk WA, Habbema JDF, Mshinda H, Bloland PB, et al. Malaria in pregnant women in an area with sustained high coverage of insecticide-treated bed nets. *Malaria Journal* 2008;7:133.
- 185 Miller JM, Korenromp EL, Nahlen BL, W Steketee R. Estimating the number of insecticide-treated nets required by African households to reach continent-wide malaria coverage targets. *JAMA* 2007;297:2241–2250.
- 186 van Eijk AM, Hill J, Larsen DA, Webster J, Steketee RW, Eisele TP, et al. Coverage of intermittent preventive treatment and insecticide-treated nets for the control of malaria during pregnancy in sub-Saharan Africa: a synthesis and meta-analysis of national survey data, 2009–11. *The Lancet. Infectious Diseases* 2013;13:1029–1042.
- 187 World Health Organization. WHO Expert Committee on Malaria. Eighteenth report. Geneva, (WHO Technical Report Series, No. 735). WHO 1986.
- 188 World Health Organization. WHO Expert Committee on Malaria. Twentieth report. Geneva, (WHO Technical Report Series, No. 892). WHO 2000.
- 189 Schultz LJ, Steketee RW, Macheso A, Kazembe P, Chitsulo L, Wirima JJ. The efficacy of antimalarial regimens containing sulfadoxine-pyrimethamine and/or chloroquine in preventing peripheral and placental *Plasmodium falciparum* infection among pregnant women in Malawi. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 1994;51:515–522.

- 190 Briand V, Denoeud L, Massougbdji A, Cot M. Efficacy of intermittent preventive treatment versus chloroquine prophylaxis to prevent malaria during pregnancy in Benin. *The Journal of Infectious Diseases* 2008;198:594–601.
- 191 Hommerich L, von Oertzen C, Bedu-Addo G, Holmberg V, Acquah PA, Eggelte TA, et al. Decline of placental malaria in southern Ghana after the implementation of intermittent preventive treatment in pregnancy. *Malaria Journal* 2007;6:144.
- 192 Kayentao K, Kodio M, Newman RD, Maiga H, Doumtabe D, Ongoiba A, et al. Comparison of intermittent preventive treatment with chemoprophylaxis for the prevention of malaria during pregnancy in Mali. *The Journal of Infectious Diseases* 2005;191:109–116.
- 193 Sirima SB, Cotte AH, Konaté A, Moran AC, Asamoah K, Bougouma EC, et al. Malaria prevention during pregnancy: assessing the disease burden one year after implementing a program of intermittent preventive treatment in Koupela District, Burkina Faso. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 2006;75:205–211.
- 194 Tukur IU, Thacher TD, Sagay AS, Madaki JKA. A comparison of sulfadoxine-pyrimethamine with chloroquine and pyrimethamine for prevention of malaria in pregnant Nigerian women. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 2007;76:1019–1023.
- 195 Shulman CE, Dorman EK, Cutts F, Kawuondo K, Bulmer JN, Peshu N, et al. Intermittent sulphadoxine-pyrimethamine to prevent severe anaemia secondary to malaria in pregnancy: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet (London, England)* 1999;353:632–636.
- 196 Njagi JK, Magnussen P, Estambale B, Ouma J, Mugo B. Prevention of anaemia in pregnancy using insecticide-treated bednets and sulfadoxine-pyrimethamine in a highly malarious area of Kenya: a randomized controlled trial. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 2003;97:277–282.
- 197 Van Eijk AM. b e, De Cock KM. b h, Ayisi JG. e, Rosen DH. e, Otieno JA. f, Nahlen BL. d i, et al. Pregnancy interval and delivery outcome among HIV-seropositive and HIV-seronegative women in Kisumu, Kenya. *Tropical Medicine and International Health* 2004;9:15–24.
- 198 Kayentao K, Garner P, van Eijk AM, Naidoo I, Roper C, Mulokozi A, et al. Intermittent preventive therapy for malaria during pregnancy using 2 vs 3 or more doses of sulfadoxine-pyrimethamine and risk of low birth weight in Africa: systematic review and meta-analysis. *JAMA* 2013;309:594–604.
- 199 Parise ME, Ayisi JG, Nahlen BL, Schultz LJ, Roberts JM, Misore A, et al. Efficacy of sulfadoxine-pyrimethamine for prevention of placental malaria in an area of Kenya with a high prevalence of malaria and human immunodeficiency virus infection. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 1998;59:813–822.
- 200 Ramharther M, Schuster K, Bouyou-Akotet MK, Adegnika AA, Schmits K, Mombo-Ngoma G, et al. Malaria in pregnancy before and after the implementation of a national IPTp program in Gabon. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 2007;77:418–422.
- 201 d’Almeida TCDA, Agboton-Zoumenou M-A, Garcia A, Massougbdji A, Briand V, Imorou Y, et al. Field evaluation of the intermittent preventive treatment of malaria during pregnancy (IPTp) in Benin: evolution of the coverage rate since its implementation. *Parasites & Vectors* 2011;4:108.
- 202 Schaefer C, Peters PW. Intrauterine diethyltoluamide exposure and fetal outcome. *Reproductive Toxicology (Elmsford, N.Y.)* 1992;6:175–176.
- 203 Goodyer L, Behrens RH. Short report: The safety and toxicity of insect repellents. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 1998;59:323–324.

- 204 McGready R, Hamilton KA, Simpson JA, Cho T, Luxemburger C, Edwards R, et al. Safety of the insect repellent N,N-diethyl-M-toluamide (DEET) in pregnancy. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 2001;65:285–289.
- 205 Pehrson C, Heno KK, Adams Y, Resende M, Mathiesen L, Soegaard M, et al. Comparison of functional assays used in the clinical development of a placental malaria vaccine. *Vaccine* 2017;35:610–618.
- 206 Fried M, Duffy PE. Designing a VAR2CSA-based vaccine to prevent placental malaria. *Vaccine* 2015;33:7483–7488.
- 207 Tuikue-Ndam N, Deloron P. Developing vaccines to prevent malaria in pregnant women. *Expert Opinion on Biological Therapy* 2015;15:1173–1182.
- 208 Tuikue Ndam NG, Salanti A, Le-Hesran J-Y, Cottrell G, Fievet N, Turner L, et al. Dynamics of anti-VAR2CSA immunoglobulin G response in a cohort of senegalese pregnant women. *The Journal of Infectious Diseases* 2006;193:713–720.
- 209 Duffy PE, Fried M. Antibodies that inhibit Plasmodium falciparum adhesion to chondroitin sulfate A are associated with increased birth weight and the gestational age of newborns. *Infection and Immunity* 2003;71:6620–6623.
- 210 Pehrson C, Salanti A, Theander TG, Nielsen MA. Pre-clinical and clinical development of the first placental malaria vaccine. *Expert Review of Vaccines* 2017;16:613–624.
- 211 Hernández-Díaz S, Werler MM, Walker AM, Mitchell AA. Folic acid antagonists during pregnancy and the risk of birth defects. *The New England Journal of Medicine* 2000;343:1608–1614.
- 212 Doritchamou J, Bertin G, Moussiliou A, Bigey P, Viwami F, Ezinmegnon S, et al. First-trimester Plasmodium falciparum infections display a typical “placental” phenotype. *The Journal of Infectious Diseases* 2012;206:1911–1919.
- 213 Système National d’Information et de Gestion Sanitaires, Ministère de la Santé du Bénin. Annuaire des Statistiques Sanitaires 2013. 2014.
- 214 Ministère de la Santé du Bénin, Programme National de Lutte contre le Paludisme. Rapport annuel d’activités 2014.2015.
- 215 Institut National de la Statistique et de l’Analyse Economique. Institut National de la Statistique et de l’Analyse Economique (INSAE) et ICF International, 2013. Enquête Démographique et de Santé du Bénin 2011-2012. Calverton, Maryland, USA: INSAE et ICF International. 2013.
- 216 Akogbeto M, Modiano D, Bosman A. Malaria transmission in the lagoon area of Cotonou, Benin. *Parassitologia* 1992;34:147–154.
- 217 Djènontin A, Bio-Bangana S, Moiroux N, Henry M-C, Bousari O, Chabi J, et al. Culicidae diversity, malaria transmission and insecticide resistance alleles in malaria vectors in Ouidah-Kpomasse-Tori district from Benin (West Africa): A pre-intervention study. *Parasites & Vectors* 2010;3:83.
- 218 Unger HW, Ome-Kaius M, Karl S, Singirok D, Siba P, Walker J, et al. Factors associated with ultrasound-aided detection of suboptimal fetal growth in a malaria-endemic area in Papua New Guinea. *BMC pregnancy and childbirth* 2015;15:83.
- 219 Dansou J, Adekunle AO, Arowojolu AO. Factors associated with antenatal care services utilisation patterns amongst reproductive age women in Benin Republic: An analysis of 2011/2012 benin republic’s demographic and health survey data. *The Nigerian Postgraduate Medical Journal* 2017;24:67–74.

- 220 Planche T, Krishna S, Kombila M, Engel K, Faucher JF, Ngou-Milama E, et al. Comparison of methods for the rapid laboratory assessment of children with malaria. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 2001;65:599–602.
- 221 Robinson HP, Fleming JE. A critical evaluation of sonar “crown-rump length” measurements. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology* 1975;82:702–710.
- 222 Papageorgiou AT, Sarris I, Ioannou C, Todros T, Carvalho M, Pilu G, et al. Ultrasound methodology used to construct the fetal growth standards in the INTERGROWTH-21st Project. *BJOG: an international journal of obstetrics and gynaecology* 2013;120 Suppl 2:27–32, v.
- 223 Lohman T, Roche A, Martorell R. Anthropometric Standardisation Reference Manual. Champaign, IL: Human Kinetics. 1998.
- 224 Gibson R, Gibson RS. Principles of nutritional assessment (second edition). Oxford, UK: Oxford University Press; 2005. 2005.
- 225 Swysen C, Vekemans J, Bruls M, Oyakhirome S, Drakeley C, Kremsner P, et al. Development of standardized laboratory methods and quality processes for a phase III study of the RTS, S/AS01 candidate malaria vaccine. *Malaria Journal* 2011;10:223.
- 226 Hofmann N, Mwingira F, Shekalaghe S, Robinson LJ, Mueller I, Felger I. Ultra-sensitive detection of *Plasmodium falciparum* by amplification of multi-copy subtelomeric targets. *PLoS medicine* 2015;12:e1001788.
- 227 Abudu EK, Inyang-Etoh EC, Eziagu UB. Pregnant women perception of placenta donation for biomedical research- experience at a Nigerian Tertiary Health Care Institution. *Savannah Journal of Medical Research and Practice* 2015;4:8–14.
- 228 Herlihy JM, Shaikh A, Mazimba A, Gagne N, Grogan C, Mpamba C, et al. Local Perceptions, Cultural Beliefs and Practices That Shape Umbilical Cord Care: A Qualitative Study in Southern Province, Zambia. *PLoS ONE* 2013;8.
- 229 GBD 2015 Child Mortality Collaborators. Global, regional, national, and selected subnational levels of stillbirths, neonatal, infant, and under-5 mortality, 1980-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet (London, England)* 2016;388:1725–1774.
- 230 Walker PGT, ter Kuile FO, Garske T, Menendez C, Ghani AC. Estimated risk of placental infection and low birthweight attributable to *Plasmodium falciparum* malaria in Africa in 2010: a modelling study. *The Lancet. Global Health* 2014;2:e460-467.
- 231 Ouédraogo S, Koura GK, Bodeau-Livinec F, Accrombessi MMK, Massougbdji A, Cot M. Maternal anemia in pregnancy: assessing the effect of routine preventive measures in a malaria-endemic area. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 2013;88:292–300.
- 232 Tuikue Ndam N, Tornyigah B, Dossou AY, Escriou G, Nielsen MA, Salanti A, et al. Persistent *Plasmodium falciparum* infection in women with an intent to become pregnant is a risk factor for pregnancy-associated malaria. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America* 2018.
- 233 Pullan RL, Bukirwa H, Staedke SG, Snow RW, Brooker S. *Plasmodium* infection and its risk factors in eastern Uganda. *Malaria Journal* 2010;9:2.
- 234 Singh M, Brown G, Rogerson SJ. Ownership and use of insecticide-treated nets during pregnancy in sub-Saharan Africa: a review. *Malaria Journal* 2013;12:268.
- 235 Coulibaly SO, Gies S, D’Alessandro U. Malaria burden among pregnant women living in the rural district of Boromo, Burkina Faso. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 2007;77:56–60.

- 236 Nosten F, ter Kuile F, Maelankirri L, Decludt B, White NJ. Malaria during pregnancy in an area of unstable endemicity. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 1991;85:424–429.
- 237 Singh N, Mehra RK, Srivastava N. Malaria during pregnancy and infancy, in an area of intense malaria transmission in central India. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* 2001;95:19–29.
- 238 Moore KA, Simpson JA, Wiladphaingern J, Min AM, Pimanpanarak M, Paw MK, et al. Influence of the number and timing of malaria episodes during pregnancy on prematurity and small-for-gestational-age in an area of low transmission. *BMC medicine* 2017;15:117.
- 239 Cohee LM, Kalilani-Phiri L, Mawindo P, Joshi S, Adams M, Kenefic L, et al. Parasite dynamics in the peripheral blood and the placenta during pregnancy-associated malaria infection. *Malaria Journal* 2016;15:483.
- 240 Huynh B-T, Fievet N, Briand V, Borgella S, Massougbdji A, Deloron P, et al. Consequences of gestational malaria on birth weight: finding the best timeframe for intermittent preventive treatment administration. *PloS One* 2012;7:e35342.
- 241 Faucher J-F, Aubouy A, Adeothy A, Cottrell G, Doritchamou J, Gourmel B, et al. Comparison of sulfadoxine-pyrimethamine, unsupervised artemether-lumefantrine, and unsupervised artesunate-amodiaquine fixed-dose formulation for uncomplicated plasmodium falciparum malaria in Benin: a randomized effectiveness noninferiority trial. *The Journal of Infectious Diseases* 2009;200:57–65.
- 242 Ogouyèmi-Hounto A, Ndam NT, Kinde Gazard D, d’Almeida S, Koussihoude L, Ollo E, et al. Prevalence of the molecular marker of Plasmodium falciparum resistance to chloroquine and sulphadoxine/pyrimethamine in Benin seven years after the change of malaria treatment policy. *Malaria Journal* 2013;12:147.
- 243 Hounkonnou C, Djènontin A, Egbinola S, Houngbegnon P, Bouraima A, Soares C, et al. Impact of the use and efficacy of long lasting insecticidal net on malaria infection during the first trimester of pregnancy - a pre-conceptional cohort study in southern Benin. *BMC public health* 2018;18:683.
- 244 Guitard J, Andersen P, Ermont C, Gnidehou S, Fievet N, Lund O, et al. Plasmodium falciparum population dynamics in a cohort of pregnant women in Senegal. *Malaria Journal* 2010;9:165.
- 245 Doritchamou J, Sossou-tchatcha S, Cottrell G, Moussiliou A, Houngbeme CH, Massougbdji A, et al. Dynamics in the Cytoadherence Phenotypes of Plasmodium falciparum Infected Erythrocytes Isolated during Pregnancy. *PLOS ONE* 2014;9:e98577.
- 246 Xiong X, Buekens P, Alexander S, Demianczuk N, Wollast E. Anemia during pregnancy and birth outcome: a meta-analysis. *American Journal of Perinatology* 2000;17:137–146.
- 247 Wilcox AJ, Weinberg CR, O’Connor JF, Baird DD, Schlatterer JP, Canfield RE, et al. Incidence of early loss of pregnancy. *The New England Journal of Medicine* 1988;319:189–194.
- 248 Goyaux N, Calvez T, Yace-Soumah F, Welfens-Ekra C, Faye O, De Bernis L, et al. Complications obstétricales du premier trimestre en Afrique de l’Ouest. *J Gynecol Obstet Biol Reprod* 1998;27:702–707.
- 249 Cisse CT, Faye KG, Moreau JC. [First-trimester abortion at University Hospital Center in Dakar, Senegal: utility of manual vacuum aspiration]. *Médecine Tropicale: Revue Du Corps De Santé Colonial* 2007;67:163–166.

- 250 Jones RK, Kost K. Underreporting of induced and spontaneous abortion in the United States: an analysis of the 2002 National Survey of Family Growth. *Studies in Family Planning* 2007;38:187–197.
- 251 Wilcox AJ. Fertility and pregnancy: an epidemiologic perspectives. New york, NY: Oxford University Press.2010.
- 252 Weinberg CR, Wilcox AJ. Methodological issues in reproductive epidemiology. In: Rothman KJ, Greenland S, Lash T, eds.Modern epidemiology. 3rd ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins, 2008.2008.
- 253 Cottrell G, Briand V, Cot M. Interest and limits of cohort studies in pregnant women. *The Lancet. Infectious Diseases* 2007;7:763–764.
- 254 Banke-Thomas OE, Banke-Thomas AO, Ameh CA. Factors influencing utilisation of maternal health services by adolescent mothers in Low-and middle-income countries: a systematic review. *BMC pregnancy and childbirth* 2017;17:65.
- 255 Simkhada B, Teijlingen ER van, Porter M, Simkhada P. Factors affecting the utilization of antenatal care in developing countries: systematic review of the literature. *Journal of Advanced Nursing* 2008;61:244–260.
- 256 Sinyange N, Sitali L, Jacobs C, Musonda P, Michelo C. Factors associated with late antenatal care booking: population based observations from the 2007 Zambia demographic and health survey. *The Pan African Medical Journal* 2016;25.
- 257 Gbédandé K, Fievet N, Viwami F, Ezinmegnon S, Issifou S, Chippaux J-P, et al. Clinical development of a VAR2CSA-based placental malaria vaccine PAMVAC: Quantifying vaccine antigen-specific memory B & T cell activity in Beninese primigravidae. *Vaccine* 2017;35:3474–3481.
- 258 Padonou G, Le Port A, Cottrell G, Guerra J, Choudat I, Rachas A, et al. Prematurity, intrauterine growth retardation and low birth weight: risk factors in a malaria-endemic area in southern Benin. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 2014;108:77–83.
- 259 Verburg BO, Steegers E a. P, De Ridder M, Snijders RJM, Smith E, Hofman A, et al. New charts for ultrasound dating of pregnancy and assessment of fetal growth: longitudinal data from a population-based cohort study. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology* 2008;31:388–396.
- 260 Sunjoh F, Njamnshi AK, Tietche F, Kago I. Assessment of gestational age in the Cameroonian newborn infant: a comparison of four scoring methods. *Journal of Tropical Pediatrics* 2004;50:285–291.
- 261 Tunón K, Eik-Nes SH, Grøttum P. A comparison between ultrasound and a reliable last menstrual period as predictors of the day of delivery in 15,000 examinations. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology* 1996;8:178–185.
- 262 Butt K, Lim K, DIAGNOSTIC IMAGING COMMITTEE. Determination of gestational age by ultrasound. *Journal of obstetrics and gynaecology Canada*2014;36:171–181.
- 263 Obstetrics and Gynecology. Committee Opinion No. 700 Summary: Methods for Estimating the Due Date. 2017;129:967–968.
- 264 Hadlock FP, Shah YP, Kanon DJ, Lindsey JV. Fetal crown-rump length: reevaluation of relation to menstrual age (5-18 weeks) with high-resolution real-time US. *Radiology* 1992;182:501–505.

- 265 Chitty LS, Altman DG, Henderson A, Campbell S. Charts of fetal size: 2. Head measurements. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology* 1994;101:35–43.
- 266 Nahum GG, Stanislaw H. Ultrasonographic prediction of term birth weight: how accurate is it? *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 2003;188:566–574.
- 267 Marsál K, Persson PH, Larsen T, Lilja H, Selbing A, Sultan B. Intrauterine growth curves based on ultrasonically estimated foetal weights. *Acta Paediatrica (Oslo, Norway: 1992)* 1996;85:843–848.
- 268 Osinusi BO, Okubanjo OA. Ultrasonic foetal head circumference as a means of assessing gestational age in Nigerians. *West African Journal of Medicine* 1990;9:22–25.
- 269 Stirnemann J, Villar J, Salomon LJ, Ohuma E, Ruyan P, Altman DG, et al. International estimated fetal weight standards of the INTERGROWTH-21st Project. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology* 2017;49:478–486.
- 270 Villar J, Altman DG, Purwar M, Noble JA, Knight HE, Ruyan P, et al. The objectives, design and implementation of the INTERGROWTH-21st Project. *BJOG: an international journal of obstetrics and gynaecology* 2013;120 Suppl 2:9–26, v.
- 271 Merialdi M, Widmer M, Gülmezoglu AM, Abdel-Aleem H, Bega G, Benachi A, et al. WHO multicentre study for the development of growth standards from fetal life to childhood: the fetal component. *BMC pregnancy and childbirth* 2014;14:157.
- 272 ter Kuile FO, Terlouw DJ, Phillips-Howard PA, Hawley WA, Friedman JF, Kariuki SK, et al. Reduction of malaria during pregnancy by permethrin-treated bed nets in an area of intense perennial malaria transmission in western Kenya. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 2003;68:50–60.
- 273 Salam RA, Das JK, Lassi ZS, Bhutta ZA. Impact of community-based interventions for the prevention and control of malaria on intervention coverage and health outcomes for the prevention and control of malaria. *Infectious Diseases of Poverty* 2014;3:25.
- 274 ter Kuile FO, van Eijk AM, Filler SJ. Effect of sulfadoxine-pyrimethamine resistance on the efficacy of intermittent preventive therapy for malaria control during pregnancy: a systematic review. *JAMA* 2007;297:2603–2616.
- 275 Abdul-Ghani R, Farag HF, Allam AF. Sulfadoxine-pyrimethamine resistance in *Plasmodium falciparum*: a zoomed image at the molecular level within a geographic context. *Acta Tropica* 2013;125:163–190.
- 276 González R, Mombo-Ngoma G, Ouédraogo S, Kakolwa MA, Abdulla S, Accrombessi M, et al. Intermittent Preventive Treatment of Malaria in Pregnancy with Mefloquine in HIV-Negative Women: A Multicentre Randomized Controlled Trial. *PLoS Medicine* 2014;11.
- 277 PREGACT Study Group, Pekyi D, Ampromfi AA, Tinto H, Traoré-Coulibaly M, Tahita MC, et al. Four Artemisinin-Based Treatments in African Pregnant Women with Malaria. *The New England Journal of Medicine* 2016;374:913–927.
- 278 Rijken MJ, McGready R, Boel ME, Barends M, Proux S, Pimanpanarak M, et al. Dihydroartemisinin-piperaquine rescue treatment of multidrug-resistant *Plasmodium falciparum* malaria in pregnancy: a preliminary report. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 2008;78:543–545.
- 279 Briand V, Bottero J, Noël H, Masse V, Cordel H, Guerra J, et al. Intermittent treatment for the prevention of malaria during pregnancy in Benin: a randomized, open-label equivalence trial

comparing sulfadoxine-pyrimethamine with mefloquine. *The Journal of Infectious Diseases* 2009;200:991–1001.

- 280 Dellicour S, Brasseur P, Thorn P, Gaye O, Olliaro P, Badiane M, et al. Probabilistic record linkage for monitoring the safety of artemisinin-based combination therapy in the first trimester of pregnancy in Senegal. *Drug Safety* 2013;36:505–513.
- 281 Moore KA, Simpson JA, Paw MK, Pimanpanarak M, Wiladphaingern J, Rijken MJ, et al. Safety of artemisinins in first trimester of prospectively followed pregnancies: an observational study. *The Lancet. Infectious Diseases* 2016;16:576–583.
- 282 Dellicour S, Sevene E, McGready R, Tinto H, Mosha D, Manyando C, et al. First-trimester artemisinin derivatives and quinine treatments and the risk of adverse pregnancy outcomes in Africa and Asia: A meta-analysis of observational studies. *PLoS medicine* 2017;14:e1002290.
- 283 Benjamin JM, Moore BR, Salman S, Page-Sharp M, Tawat S, Yadi G, et al. Population pharmacokinetics, tolerability, and safety of dihydroartemisinin-piperaquine and sulfadoxine-pyrimethamine-piperaquine in pregnant and nonpregnant Papua New Guinean women. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2015;59:4260–4271.
- 284 Kakuru A, Jagannathan P, Muhindo MK, Natureeba P, Awori P, Nakalembe M, et al. Dihydroartemisinin-Piperaquine for the Prevention of Malaria in Pregnancy. *The New England Journal of Medicine* 2016;374:928–939.
- 285 TIPTOP. Advancing Prevention of Malaria in Pregnancy. <https://www.tiptopmalaria.org/> (last accessed July 2018).
- 286 Thiam S, Kimotho V, Gatonga P. Why are IPTp coverage targets so elusive in sub-Saharan Africa? A systematic review of health system barriers. *Malaria Journal* 2013;12:353.
- 287 Hill J, Hoyt J, van Eijk AM, D’Mello-Guyett L, Ter Kuile FO, Steketee R, et al. Factors affecting the delivery, access, and use of interventions to prevent malaria in pregnancy in sub-Saharan Africa: a systematic review and meta-analysis. *PLoS medicine* 2013;10:e1001488.
- 288 Tagbor H, Cairns M, Bojang K, Coulibaly SO, Kayentao K, Williams J, et al. A Non-Inferiority, Individually Randomized Trial of Intermittent Screening and Treatment versus Intermittent Preventive Treatment in the Control of Malaria in Pregnancy. *PLOS ONE* 2015;10:e0132247.
- 289 Hill J, Hoyt J, Achieng F, Ouma P, L’lanziva A, Kariuki S, et al. User and Provider Acceptability of Intermittent Screening and Treatment and Intermittent Preventive Treatment with Dihydroartemisinin-Piperaquine to Prevent Malaria in Pregnancy in Western Kenya. *PloS One* 2016;11:e0150259.
- 290 Fernandes S, Sicuri E, Halimatou D, Akazili J, Boiang K, Chandramohan D, et al. Cost effectiveness of intermittent screening followed by treatment versus intermittent preventive treatment during pregnancy in West Africa: analysis and modelling of results from a non-inferiority trial. *Malaria Journal* 2016;15:493.
- 291 Madanitsa M, Kalilani L, Mwapasa V, van Eijk AM, Khairallah C, Ali D, et al. Scheduled Intermittent Screening with Rapid Diagnostic Tests and Treatment with Dihydroartemisinin-Piperaquine versus Intermittent Preventive Therapy with Sulfadoxine-Pyrimethamine for Malaria in Pregnancy in Malawi: An Open-Label Randomized Controlled Trial. *PLoS medicine* 2016;13:e1002124.
- 292 Desai M, Gutman J, L’lanziva A, Otieno K, Juma E, Kariuki S, et al. Intermittent screening and treatment or intermittent preventive treatment with dihydroartemisinin–piperaquine versus intermittent preventive treatment with sulfadoxine–pyrimethamine for the control of malaria

during pregnancy in western Kenya: an open-label, three-group, randomised controlled superiority trial. *The Lancet* 2015;386:2507–2519.

- 293 Nardoza LMM, Caetano ACR, Zamarian ACP, Mazzola JB, Silva CP, Marçal VMG, et al. Fetal growth restriction: current knowledge. *Archives of Gynecology and Obstetrics* 2017;295:1061–1077.
- 294 Ross AB, DeStigter KK, Coutinho A, Souza S, Mwatha A, Matovu A, et al. Ancillary benefits of antenatal ultrasound: an association between the introduction of a low-cost ultrasound program and an increase in the numbers of women receiving recommended antenatal treatments. *BMC pregnancy and childbirth* 2014;14:424.
- 295 Greenwold N, Wallace S, Prost A, Jauniaux E. Implementing an obstetric ultrasound training program in rural Africa. *International Journal of Gynaecology and Obstetrics* 2014;124:274–277.
- 296 World Health Organization. WHO recommendations on antenatal care for a positive pregnancy experience. 2016.
- 297 Mohammed AH, Salih MM, Elhassan EM, Mohammed AA, Elzaki SE, El-Sayed BB, et al. Submicroscopic Plasmodium falciparum malaria and low birth weight in an area of unstable malaria transmission in Central Sudan. *Malaria Journal* 2013;12:172.
- 298 Unger HW, Cates JE, Gutman J, Briand V, Fievet N, Valea I, et al. Maternal Malaria and Malnutrition (M3) initiative, a pooled birth cohort of 13 pregnancy studies in Africa and the Western Pacific. *BMJ open* 2016;6:e012697.
- 299 Cates JE, Unger HW, Briand V, Fievet N, Valea I, Tinto H, et al. Malaria, malnutrition, and birthweight: A meta-analysis using individual participant data. *PLoS medicine* 2017;14:e1002373.

IX. ANNEXES

Annexe 1. Autres publications réalisées au cours de la thèse

1. González R, Mombo-Ngoma G, Ouédraogo S, Kakolwa MA, Abdulla S, Accrombessi M, Aponte JJ, Akerey-Diop D, Basra A, Briand V, Capan M, Cot M, Kabanywany AM, Kleine C, Kremsner PG, Macete E, Mackanga JR, Massougbdji A, Mayor A, Nhacolo A, Pahlavan G, Ramharter M, Rupérez M, Sevene E, Vala A, Zoleko-Manego R, Menéndez C. Intermittent preventive treatment of malaria in pregnancy with mefloquine in HIV-negative women: a multicentre randomized controlled trial. *PLoS Med.* 2014 Sep 23;11(9):e1001733. doi: 10.1371/journal.pmed.1001733. eCollection 2014 Sep. Impact factor: 11.67
2. Accrombessi M, Ouédraogo S, Agbota GC, Gonzalez R, Massougbdji A, Menéndez C, Cot M. Malaria in Pregnancy Is a Predictor of Infant Haemoglobin Concentrations during the First Year of Life in Benin, West Africa. *PLoS One.* 2015 Jun 8;10(6):e0129510. doi: 10.1371/journal.pone.0129510. eCollection 2015. Impact factor: 2.77
3. Mireku MO, Davidson LL, Koura GK, Ouédraogo S, Boivin MJ, Xiong X, Accrombessi M, Massougbdji A, Cot M, Bodeau-Livinec F. Prenatal Hemoglobin Levels and Early Cognitive and Motor Functions of One-Year-Old Children. *Pediatrics* 2015 Jul;136(1):e76-83. doi: 10.1542/peds.2015-0491. Epub 2015 Jun 8. Impact factor: 5.51
4. Moya-Alvarez V, Cottrell G, Ouédraogo S, Accrombessi M, Massougbdji A, Cot M. Does Iron Increase the Risk of Malaria in Pregnancy? *Open Forum Infectious Diseases* 2015 Mar 20;2(2):ofv038. doi: 10.1093/ofid/ofv038. eCollection 2015 Apr. Impact factor: 3.24
5. Rupérez M, González R, Mombo-Ngoma G, Kabanywany AM, Sevene E, Ouédraogo S, Kakolwa MA, Vala A, Accrombessi M, Briand V, Aponte JJ, Manego Zoleko R, Adegnika AA, Cot M, Kremsner PG, Massougbdji A, Abdulla S, Ramharter M, Macete E, Menéndez C. Mortality, Morbidity, and Developmental Outcomes in Infants Born to Women Who Received

Either Mefloquine or Sulfadoxine-Pyrimethamine as Intermittent Preventive Treatment of Malaria in Pregnancy: A Cohort Study. *PLoS Med.* 2016 Feb 23;13(2):e1001964. doi: 10.1371/journal.pmed.1001964. eCollection 2016 Feb. Impact factor: 11.67

6. Moya-Alvarez V, Cottrell G, Ouédraogo S, Accrombessi M, Massougbodgi A, Cot M. High Iron Levels Are Associated with Increased Malaria Risk in Infants during the First Year of Life in Benin. *Am J Trop Med Hyg.* 2017;97(2):497-503. doi:10.4269/ajtmh.16-0001. Impact factor: 2.56

7. Moya-Alvarez V, Ouédraogo S, Accrombessi M, Cot M. High folate levels are not associated with increased malaria risk but with reduced anemia rates in the context of high-dosed folate supplements and intermittent preventive treatment against malaria in pregnancy with sulphadoxine-pyrimethamine in Benin. *Trop Med Int Health TM IH.* April 2018. doi:10.1111/tmi.13064. Impact factor: 2.54

8. Rada S, Gamper J, González R, Mombo-Ngoma G, Ouédraogo S, Kakolwa MA, Zoleko-Manego R, Sevene E, Kabanywany AM, Accrombessi M, Briand V, Cot M, Vala A, Kremsner PG, Abdulla S, Massougbodgi A, Nhacolo A, Aponte JJ, Macete E, Menéndez C, Ramharter M.. Concordance of Three Alternative Gestational Age Assessments for Pregnant Women from Four African Countries: A Secondary Analysis of the MIPPAD Trial. *Plos One* 2018 13(8):e0199243. doi: 10.1371/journal.pone.0199243. eCollection 2018. Impact factor: 2.77

9. Agbota G, Accrombessi M, Cottrell G, PrévelYM, Milet J, Ouédraogo S, Courtin D, Massougbodji A, Garcia A, Cot M, Briand V. Increased risk of malaria infection during the first two years of life in the Small-for-Gestational Age infants: A longitudinal study in Benin. (Manuscrit en préparation).

Annexe 2. Autres communications orales et posters réalisés pendant la thèse

1. Accrombessi M, Gilles Cottrell, Nadine Fievet, Yves Martin-Prével, Achille Massougbodji, Michel Cot, Valérie Briand. Survenue du Paludisme pendant la Grossesse et Retard de Croissance Intra-Utérin en Afrique. Congrès de l'Ecole Doctorale Pierre Louis de Santé Publique Epidémiologie et Sciences de l'Information Biomédicale. Saint Malo (France), 20-22 Octobre 2014 (poster).
2. Accrombessi M, Ouédraogo S, Agbota G, González R, Massougbodji A., Menéndez C, Cot M. Impact du paludisme pendant la grossesse sur le taux d'hémoglobine de l'enfant durant la première année de vie au Bénin. Symposium international, Intégration de la lutte contre les maladies parasitaires en Afrique Subsaharienne. Cotonou, 12-14 Mars 2015 (communication orale).
3. Accrombessi M, Emmanuel Yovo, Gilles Cottrell, Nadine Fievet, Achille Massougbodji, Michel Cot, Valérie Briand. Facteurs de risques des infections palustres du premier trimestre de la grossesse au Bénin. Congrès de l'Ecole Doctorale Pierre Louis de Santé Publique Epidémiologie et Sciences de l'Information Biomédicale. Saint Malo (France), 19-21 Octobre 2015 (poster).
4. Accrombessi M, Emmanuel Yovo, Gilles Cottrell, Nadine Fievet, Achille Massougbodji, Michel Cot, Valérie Briand. Facteurs influençant la survenue des infections palustres au premier trimestre de la grossesse au Bénin. Septième Rencontres scientifiques du réseau doctoral de l'Ecole des Hautes Etudes de Santé Publique (EHESP). Paris (France), 22-23 Mars 2016 (poster).
5. Accrombessi M, Emmanuel Yovo, Gilles Cottrell, Nadine Fievet, Achille Massougbodji, Michel Cot, Valérie Briand. Effets des infections palustres du 1^{er} trimestre de grossesse sur la

santé du nouveau-né au Bénin. Congrès de l'Ecole Doctorale Pierre Louis de Santé Publique Epidémiologie et Sciences de l'Information Biomédicale. Saint Malo (France), 24-26 Octobre 2016 (poster).

6. Djossinou D, Yétongnon K, Nonvide H, Accrombessi M, Hounkpatin W, Madodel Y, Briand V, Gartner A, Fanou Fogny N, Martin-Prevel Y. Diet characteristics of women of reproductive age in So-Ava District, Southern Benin. 7th Africa Nutritional Epidemiology Conference, Marrakesh, Morocco, 9-14 October 2016 (poster)

7. Djossinou D, Yétongnon K, Nonvide H, Accrombessi M, Hounkpatin W, Madodel Y, Briand V, Gartner A, Fanou Fogny N, Martin-Prevel Y. Nutritional value of foods consumed by women of reproductive age in so-ava commune, Southern Benin. 7th Africa Nutritional Epidemiology Conference, Marrakesh, Morocco, 9-14 October 2016 (poster)

8. Accrombessi M, Michel Cot, Valérie Briand. Effets des infections palustres du 1er trimestre de grossesse sur la santé du nouveau-né au Bénin, une étude de cohorte pré-conceptionnelle. Huitième Rencontres scientifiques du réseau doctoral de l'Ecole des Hautes Etudes de Santé Publique (EHESP). Paris (France), 14-15 Mars 2017 (communication orale).

9. Agbota G, Ezinmegnon S, Accrombessi M, Ahouayito U, Ladekpo R, Gbedande K, Massougboji A, Ganee L, Yougueros J, Pachot A, Tissieres P, Fievet N, Briand V. Malaria in pregnancy is associated with non-malaria fever during the first three months of life in a Beninese infant population. 7th Multilateral Initiative on malaria (MIM), Pan Africa Malaria Conference, Dakar, Senegal, 15-20 April 2018 (communication orale)

Annexe 3. Composition équipe RECIPAL

L'équipe RECIPAL était constituée de 64 personnes dont 29 permanents et 35 temporaires. L'équipe était répartie comme suit: 1 investigateur principal, 1 médecin coordinateur, 1 médecin superviseur, 5 infirmiers/sages-femmes, 4 relais communautaires, 1 barreur pour la barque RECIPAL, 4 médecins gynécologues, 2 agents de saisie, 2 ingénieurs de laboratoire, 1 biologiste-immunologique sénior, 2 médecins nutritionnistes séniors, 2 superviseurs ingénieurs agronomes, 2 agents enquêteurs spécifiques au volet nutrition du projet et 35 pisteurs utilisés à temps partiel.



Annexe 4. Photos sensibilisation et site d'étude RECIPAL

