

Ministère de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique

République du Mali

Université des Sciences, des Techniques et des Technologies
de Bamako (USTTB)

Un Peuple – Un But – Une Foi

Faculté de Médecine et d'Odontostomatologie
(FMOS)



Année Universitaire 2014/2015

N°...../2015

THESE

**Clairance parasitaire de l'artésunate+sulfadoxine-pyriméthamine
versus artéméther-luméfantrine chez les patients souffrant de
paludisme non compliqué à Banambani, au Mali**

Présentée et soutenue publiquement le 08/12/2015

Devant le jury de la Faculté de Médecine et d'Odontostomatologie

Par Monsieur Cheick Oumar Guindo

Pour l'obtention du grade de Docteur en Médecine (Diplôme d'Etat).

JURY :

Président : Pr Ogobara K. DOUMBO

Membres : Maitre de conférence agrégé Abdoulaye A. DJIMDE

Dr Mahamadou S. SISSOKO

Directeur de thèse : Maitre de conférence agrégé Mahamadou A. THERA

Codirecteur de thèse : Dr Karamoko I. NIARE

Ce travail a été financé par l'Organisation Mondiale de la Santé et la Fondation Mérieux

DEDICACES

- A ALLAH, Le tout Puissant, l'Omniscient, l'Omnipotent, le Clément

Pour Ta miséricorde, Ta bonté et Ta grâce qui m'ont accompagné tout au long de mon existence. Seigneur, merci pour tout ce qui arrive dans notre vie, particulièrement en ce jour béni où je m'appête à faire un pas décisif dans la vie.

Aujourd'hui j'ose vous demander une chose comme l'a fait le roi Salomon dans le temps : l'esprit, de celui d'un bon médecin qui saura appliquer la science qu'il a appris dans le plus grand respect des principes fondamentaux de la vie ;

Je Te prie Seigneur d'accepter, ce modeste travail en témoignage de ma reconnaissance et de ma foi. Fasse que je me souvienne toujours de Toi en toute circonstance et que mes derniers mots sur cette terre soient la prononciation de la « CHAHADA ». Amen !

- Au prophète Mohamed (SAW)

« Le Messager d'Allah est un excellent modèle [à suivre] ... » (S33-V21).

Ton exemple a donné un sens à ma vie .Que la paix et la grâce d'Allah soient sur toi oh Mohamed !

- A mon Père Mamadou Guindo

Le sage, le rigoureux, l'honnête, le religieux, merci pour ton soutien.

Tu as toujours souhaité que je sois un homme travailleur et assidu, par tes conseils aujourd'hui Dieu merci me voilà au terme de mes études médicales.

Je te rends hommage par ce modeste travail en guise de ma reconnaissance éternelle et de mon infini amour.

Puisse Dieu te protéger du mal, vous procurer santé, et une longue vie pleine de Bonheur.

Amen !

- A la mémoire de ma mère feuë Mariam Diaby

Toutes mes pensées en ce jour important de ma vie sont pour toi maman. Tu as été pour nous une mère exemplaire. Merci pour tout ce que tu nous as donné en commençant par la vie. Ton affection, tes conseils et ton dévouement pour la réussite de tes enfants n'ont jamais fait défaut, ce travail est le tien. Puisse ton âme reposer en paix. Amen !

- A mes grands parents

A vous qui n'avez pas eu la chance de voir ce jour car la mort vous a arraché à notre affection, j'implore Dieu le tout Puissant de vous pardonner et vous accepter dans son paradis en exauçant tous ces vœux que vous avez émis pour moi sur cette terre et pour l'au-delà.
Amen !

- A mes tontons et tantis

Vous qui, de près ou de loin, souhaitez toujours mon bonheur, ce travail est le fruit de votre accompagnement et de vos bénédictions qui n'ont jamais fait défaut.

Vous citez individuellement ou taire vos noms n'enlève rien à la marque de respect, de considération et d'estime que j'observe à votre égard.

- A toute ma famille (frères et sœurs, cousins et cousines, neveux et nièces)

Vous qui m'avez vu grandir et vous que j'ai vu naître, sachez que la cohésion de notre famille est le résultat de l'amour qui y règne. Soyez fiers de vous-mêmes et continuez sur la voie tracée par nos parents.

- A mes amis : Dr Mohamed dit Babilly Cissé, Dr Moussa Konaté, Dr Amara Konaté, Dr Lassine Dramé, Boubacar Diabaté, Mamadou Sériba Doumbia, Dr Bréhima Soumounou, Adama Traoré, Djakaridia Fofana, Dr Michel Komla Sossa

Veillez accepter l'expression de ma reconnaissance, ma profonde gratitude pour votre amitié sans faille, compréhension et encouragements.

Merci pour votre amitié fraternelle. Vous étiez toujours là aux moments difficiles comme aux moments de joie pour me soutenir, m'aider et m'écouter. Que Dieu vous protège et vous procure joie et bonheur et que notre amitié reste à jamais. Amen !

- Aux thésards et biologistes du MRTC, mes camarades: Bourama M Tangara, Amatigué Baba Zeguimé, Nana Houmama Cissé, Boureima Guindo, Fatoumata Ballo, Sékou Sissoko, Sirama Niaré, Fantalmoudou Tandina et à Dr Traoré Aminata Camara

Aucun mot ne saurait exprimer la joie qui m'anime depuis que je vous ai rencontré. Plus que des collègues, vous êtes pour moi des frères et sœurs. Je prie Dieu qu'il nous accorde longue vie pour réaliser nos rêves, tout en nous épargnant les méchancetés de la vie. Amen !

- Au Groupe " BATISSEURS "

Vous êtes la base de mon inspiration et la source de mes motivations. L'estime et la considération que vous manifestez à mon égard sont inestimables et me comblent de joie. Que Dieu vous bénisse. Amen !

- A l'association Santé plus commune VI "ASP CVI"

Vous m'avez donné l'opportunité d'exprimer mon leadership tout en me permettant d'apprendre et de renforcer aussi bien mes capacités que mon réseau d'amis. J'ose espérer coupler désormais mes autres occupations à celles de l'ASP CVI pour continuer à servir ma commune. A tous les membres de cette belle association, merci d'avoir accepté mon adhésion et de croire en moi.

- A toute la 4^{ème} promotion du numerus clausus "Promotion Feu Pr Anatole Tounkara"

J'ai été honoré de la confiance que vous m'avez portée en me nommant comme secrétaire général de cette promotion.

Chers Promotionnaires ce travail est aussi le vôtre.

- A mes enseignants

De l'école primaire à l'Université, vous avez tous contribué à notre formation en nous éduquant, en nous conseillant et en nous dispensant des enseignements de qualité qui ont porté ce fruit. Nous vous en serons toujours reconnaissants et soyez-en remerciés.

A toutes les victimes du paludisme et particulièrement ceux du Mali. Que vos âmes reposent en paix. Amen !

REMERCIEMENTS

- Au Malaria Research and Training Center/ Département d'épidémiologie des affections parasitaires (MRTC/ DEAP) des Facultés de Médecine et d'Odontostomatologie (FMOS) et de Pharmacie (FAPH) qui a assuré les moyens nécessaires pour la réalisation de ce travail
- A l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) pour avoir sponsoriser cette étude
- A toute la population de Banambani pour leur participation à cette étude

Hommages aux membres du jury

A notre maître et président du jury, Pr Ogobara K. DOUMBO :

- *Professeur titulaire de Parasitologie-Mycologie à la faculté de Médecine et d'Odontostomatologie (FMOS) et à la faculté de Pharmacie (FAPH)/USTTB,*
- *Médecin-chef du Département d'Epidémiologie des Affections Parasitaires (DEAP),*
- *Directeur du Pôle d'Excellence de Recherche (PER) sur le Paludisme, Malaria Research and Training Center (MRTC),*
- *Président du conseil de l'université de Ségou,*
- *Membre correspondant de l'Académie Nationale de Médecine de France,*
- *Membre honoraire « Alpha Omega Alpha Honor Medical Society » des Etats-Unis,*
- *Chevalier des palmes académiques du CAMES,*
- *Chevalier de l'ordre national du Mali.*

Cher maître, vous nous avez fait honneur en nous acceptant dans votre service. Nous avons beaucoup admiré vos qualités scientifiques et pédagogiques. Icône incontournable de la recherche, nous avons beaucoup appris à vos côtés. Soyez assuré cher maître, le témoignage de nos sincères remerciements et de notre profonde gratitude.

Que Dieu vous récompense pour tous vos bienfaits et vous garde aussi longtemps que possible auprès de nous. Amen !

A notre maître et membre du Jury, Maître de conférence agrégé Abdoulaye A. DJIMDE :

- *Maître de conférence Agrégé de Parasitologie-Mycologie à la FMOS et à la FAPH/USTTB,*
- *Responsable de l'Unité de Résistance aux Antipaludiques au Département d'Epidémiologie des Affections Parasitaires de la FMOS et de la FAPH de l'USTTB,*
- *Coordinateur du projet WANECAM/EDCTP.*

Cher maître, vos qualités humaines, votre rigueur dans la démarche scientifique et surtout votre sens élevé de la responsabilité font de vous un maître exemplaire. Ce talent de chercheur

chevronné et assidu que vous recelez vous a valu une renommée internationale dans le domaine de la recherche sur le paludisme.

Veillez accepter cher Maitre, nos sincères remerciements et nos plus hautes considérations.

A notre maître et membre du Jury, Dr Mahamadou S. SISSOKO :

- *Docteur en Médecine,*
- *Master en Santé Publique,*
- *Chargé de recherche au MRTC/DEAP de la faculté de Médecine et d'Odontostomatologie et de la faculté de Pharmacie.*

Cher maitre, nous avons apprécié votre simplicité, votre courtoisie, vos qualités intellectuelles et humaines. Vos critiques et suggestions ont été d'un apport inestimable dans la réalisation de ce document.

Veillez accepter cher maitre, l'expression de notre grande admiration.

A notre maître et directeur de thèse, Maitre de conférence agrégé Mahamadou

A. THERA :

- *Maitre de conférence Agrégé de Parasitologie-Mycologie à la faculté de Médecine et d'Odontostomatologie,*
- *Chercheur au MRTC/DEAP de la faculté de Médecine et d'Odontostomatologie et de la faculté de Pharmacie.*

Cher maître, nous sommes très sensibles à l'honneur que vous nous faites en acceptant de diriger ce travail malgré vos multiples sollicitations. L'immensité de vos connaissances scientifiques, votre rigueur dans le travail, votre humilité, votre amabilité font de vous un maître admiré et respecté de tous.

Nous vous prions d'accepter cher Maître, le témoignage de nos sentiments les plus distingués et les plus respectueux.

A notre maître et codirecteur de thèse, Dr Karamoko I. NIARE :

- *Docteur en Pharmacie,*
- *Master en Parasitologie-Entomologie médicale,*
- *Chercheur au MRTC/DEAP de la faculté de Médecine et d'Odontostomatologie et de la faculté de Pharmacie.*

Cher maître, nous avons été très marqués par votre esprit d'équipe, votre amabilité, et votre sens du travail bien fait. Nous gardons de vous l'image d'un homme de science rempli d'esprit de recherche. Vos conseils et suggestions nous ont permis d'améliorer la qualité de ce travail.

Cher maître, trouvez ici notre profonde reconnaissance.

Liste des tableaux

Tableau I: Politique de traitement du paludisme au Mali.	25
Tableau II: Les caractéristiques de base de l'échantillon d'étude.....	41
Tableau III: Paramètres de clairance parasitaire par bras de traitement.....	42

Liste des figures

Figure 1: Cycle biologique des plasmodies	22
Figure 2: Pieds d' <i>Artemisia annua</i>	25
Figure 3: Localisation du site d'étude sur la carte du Mali	34
Figure 4: Profil de l'étude dans les deux bras de traitement.	40
Figure 5: Distribution de la demi-vie de la clairance parasitaire.	42
Figure 6: Distribution des demi-vies de la clairance parasitaire selon les bras de traitement.	43
Figure 7: Distribution des demi-vies de la clairance parasitaire selon l'âge.....	44
Figure 8: Distribution des demi-vies de la clairance selon le sexe.	44

Liste des sigles et abréviations

ADN: Acide Désoxyribonucléique
AL: artéméter-luméfantine
AS/AQ: artésunate-amodiaquine
AS+SP: artésunate+sulfadoxine-pyriméthamine
CNRS: centre national de la recherche scientifique
CPS : Chimio-prévention saisonnière
CTA: combinaison thérapeutique à base d'artémisinine
DNDi: Drugs for Neglected Diseases initiative
EDSM V: 5^{ème} enquête démographique de santé au Mali
FAPH: Faculté de pharmacie
FMOS : Faculté de médecine et d'odontostomatologie
FMPOS: Faculté de médecine de pharmacie et d'odontostomatologie
ICAM-1: Intercellular adhesion molecule 1
MMV: Medicines for Malaria Venture
MRTC: Malaria Research and Training Center
NIAID: national institute of allergy and infectious diseases
NIH: national institutes of health
OMS: Organisation mondiale de la santé
P. cynomolgi: *Plasmodium cynomolgi*
P.falciparum: *Plasmodium falciparum*
P.knowlesi: *Plasmodium knowlesi*
P.malariae: *Plasmodium malariae*
P.ovale: *Plasmodium ovale*
P.vivax: *Plasmodium vivax*
PCE: Parasite clearance estimator
PCR: Polymerase chain reaction
PfATPase6: *Plasmodium falciparum* ATPase6 (gène)
Pfmdr1: *Plasmodium falciparum* multidrug resistant 1
PNLP: Programme national de lutte contre le paludisme
qPCR: quantitative Polymerase Chain Reaction
SMC: Seasonal malaria chemoprevention
TDR: Test de diagnostic rapide

TCTP: Translationally Controlled Tumor Protein

TNF: Tumor necrosis factor

USTTB: Université des Science, des Techniques et des Technologies de Bamako

WWARN: Worldwide Antimalarial Resistance Network

Table des matières

I. Introduction.....	13
II. Hypothèse de recherche.....	16
III. Objectifs	17
1. Objectif général	17
2. Objectifs spécifiques	17
IV. Généralités	18
1. Paludisme et agents pathogènes	18
1.1. Paludisme	18
1.2. Agents pathogènes.....	18
2. Cycle biologique	20
3. Physiopathologie	22
4. Traitement du paludisme au Mali.....	24
5. Dérivés de l'artémisinine.....	25
5.1. Mécanisme d'action	26
5.2. Mécanisme de résistance	26
5.3. Combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine.....	27
5.4. Situation actuelle de l'efficacité des CTA.....	30
6. Clairance parasitaire	31
V. Méthodologie.....	34
1. Site d'étude.....	34
2. Type et période d'étude	35
3. Population d'étude.....	35
4. Echantillonnage et taille de l'échantillon	35
5. Critères d'inclusion et de non inclusion	35
6. Equipe de suivi	36
7. Screening et procédure d'enrôlement.....	36
8. Suivi	37
9. Traitement	38
10. Considérations éthiques.....	38
11. Variables étudiées	38
11.1. La demi-vie de la clairance parasitaire.....	38
11.2. Le PC 95.....	39
11.3. Le taux de parasitémie négative à l'heure 24 et le taux de parasitémie positive à l'heure 60	39
12. Gestion et analyse des données	39
VI. Résultats	40

1. Diagramme de flux.....	40
2. Clairance parasitaire des sujets suivis aux heures H0, H8, H16, H24, H36, H48 et H60	42
3. Clairance parasitaire et âge	43
4. Clairance parasitaire et sexe	44
5. Clairance parasitaire et réponse thérapeutique.....	44
VII. Discussion.....	46
VIII. Conclusion.....	49
Références	51
Annexes	56

I. Introduction

Le paludisme demeure un problème majeur de santé publique dans le monde surtout en Afrique subsaharienne. C'est une maladie de la pauvreté. Le paludisme touche non seulement la santé de milliards d'individus à travers le monde mais affecte également l'économie des pays endémiques [1].

Globalement, on estime à 3,2 milliards le nombre de personnes à risque d'être infectées par le paludisme à travers le monde [2]. Selon les dernières estimations de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), 198 millions de cas de paludisme ont été enregistrés dans le monde en 2013 (marge d'incertitude de 124 à 283 millions) avec 584 000 de décès (marge d'incertitude 367 000 à 755 000) [2].

La région africaine de l'OMS est la plus touchée, où environ 90 % de tous les décès dûs au paludisme se sont produits [2]. Le paludisme frappe considérablement les enfants de moins de 5 ans qui constituaient 78 % de tous les cas de décès [2]. Les femmes enceintes sont aussi lourdement affectées par le paludisme. Les primigestes sont particulièrement plus affectées que les multigestes avec un risque d'anémie, d'accouchement prématuré et d'un faible poids à la naissance [3].

En Afrique, chaque minute un enfant meurt du paludisme. Dans les zones rurales pendant la saison de transmission du paludisme (l'hivernage), chaque enfant est susceptible de faire au moins un épisode de paludisme [4]. Les enfants qui se rétablissent après un accès palustre cérébral présentent des troubles de l'apprentissage et des incapacités consécutives aux lésions cérébrales [5].

Au Mali, le paludisme représente 42% des motifs de recours aux soins dans la population générale selon la 5^{ème} enquête démographique de santé au Mali (EDSM V) [6]. En 2012 selon le ministère de la santé, plus de 2 millions de cas de paludisme ont été enregistrés. Parmi ces cas il y a eu près d'un million et demi de cas de paludisme non compliqué et plus de 600 000 cas graves dont 1833 décès (EDSM V) [6].

Face à ce fléau qui pèse lourdement sur l'état de santé de la population et les économies des pays endémiques, plusieurs stratégies ont été développées avec comme objectif ultime

l'élimination du paludisme. En raison de la résistance des moustiques à la plupart des insecticides et au manque d'un vaccin efficace, la chimio-prévention et le traitement médicamenteux restent des options majeures de lutte contre le paludisme. Il est essentiel que les pays révisent leur politique nationale en matière de traitement antipaludique, ainsi que pour la prévention de l'infection palustre chez les voyageurs et dans les groupes vulnérables (enfants de moins de 5 ans et femmes enceintes) en tenant compte des évidences scientifiques.

L'utilisation à bon escient d'un antipaludique efficace permet de diminuer la durée de l'accès palustre, et de réduire le risque de décès. Dans les années 1990, la résistance aux médicaments antipaludiques disponibles tels que la chloroquine et la sulfadoxine-pyriméthamine avait diffusé dans la plupart des pays endémiques [7]. Ces résistances ont d'abord commencé en Asie du Sud-est avant de diffuser dans les autres parties du monde [7]. Elles ont provoqué une augmentation de la morbidité et de la mortalité palustre dans le monde. L'OMS a recommandé depuis 2001, l'utilisation des dérivés de l'artémisinine dans le traitement du paludisme non compliqué en zone d'endémie palustre. L'artémisinine fut extraite en Chine à partir d'*Artemisia annua* au début des années 1970 [8]. De nos jours, l'artémisinine et ses dérivés constituent des molécules très efficaces dans la prise en charge du paludisme [9]. Ils entraînent une clairance parasitaire plus rapide que tous les autres antipaludiques actuellement disponibles [7].

Pour prévenir l'émergence de la résistance à ces molécules et protéger le peu de médicaments antipaludiques encore efficaces, les combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine (CTA) ont été développées et adoptées dans le traitement du paludisme non compliqué en zone d'endémie palustre. La disponibilité et l'utilisation des CTA a sensiblement réduit la morbidité et la mortalité globale du paludisme [10]. Ces gains, et les perspectives d'élimination du paludisme sont maintenant menacés par l'apparition de la résistance de *P. falciparum* à l'artémisinine et ses dérivés en Asie du Sud-est. La résistance à l'artémisinine et ses dérivés est caractérisée par un retard de clairance parasitaire sous traitement [11,12]. Le risque de propagation de cette résistance d'Asie du Sud-est vers les autres régions du monde comme cela avait été le cas auparavant avec la chloroquine et la sulfadoxine-pyriméthamine [13,14] est très préoccupant. La propagation possible de la résistance à l'artémisinine et ses dérivés vers l'Afrique subsaharienne mérite d'être attentivement surveillée.

L'OMS recommande actuellement aux pays d'endémie palustre de mener des études cliniques d'efficacité tous les 24 mois sur les sites sentinelles pour détecter précocement des changements éventuels dans l'efficacité thérapeutique des CTA [15]. Il est pertinent d'associer à ces études *in vivo*, la mesure de la clairance parasitaire par des mesures rapprochées de la parasitémie.

Les CTA sont officiellement sur le marché malien depuis 2004 et font l'objet d'une très large utilisation depuis 2006. Les populations parasitaires se trouvent depuis cette date sous la pression médicamenteuse des dérivés de l'artémisinine. Ainsi, la sélection de souches plasmodiales à clairance retardée (actuel phénotype de résistance en Asie du Sud-est) mérite d'être testée après plusieurs années d'utilisation des CTA au Mali. La politique nationale recommande l'utilisation de l'artéméther-luméfantrine (AL) et de l'artésunate-amodiaquine (AS+AQ) comme traitement de première ligne du paludisme non compliqué. Cependant, le Mali dispose d'un don important à travers la coopération chinoise de la combinaison l'artésunate+sulfadoxine-pyriméthamine (AS+SP) depuis 2010. Cette CTA est donc aussi utilisée en routine pour le traitement du paludisme non compliqué. La possibilité de la présence de souches plasmodiales ayant des phénotypes de retard de clairance parasitaire à cette CTA est aussi envisageable.

Nous nous sommes proposés dans cette étude de déterminer la clairance parasitaire microscopique de l'AS+SP et de l'AL chez les patients souffrant de paludisme non compliqué à *P. falciparum* dans un site sentinelle du MRTC/DEAP au Mali.

II. Hypothèse de recherche

Des phénotypes de retard de clairance parasitaire de *P. falciparum* aux CTA seraient sélectionnés par la mise à échelle de la politique TDR/CTA de l’OMS au Mali dont Banambani par le PNLP depuis 2006.

III. Objectifs

1. Objectif général

Evaluer le temps de la clairance parasitaire de l'artésunate+sulfadoxine-pyriméthamine *versus* artéméther-luméfantrine au cours de l'étude comparative *in vivo* OMS chez les patients souffrant de paludisme non compliqué à *P. falciparum* à Banambani, au Mali.

2. Objectifs spécifiques

- Déterminer la parasitémie aux heures 0, 8, 16, 24, 36, 48 et 60 par la microscopique chez les patients souffrant de paludisme non compliqué à *P. falciparum* traités par l'artésunate+sulfadoxine-pyriméthamine et l'artéméther-luméfantrine.
- Déterminer les demi-vies de clairance parasitaire dans les deux bras du traitement (AS+SP et AL).
- Comparer les demi-vies de clairance parasitaire entre les deux bras de traitement, les sexes et les tranches d'âge.
- Déterminer une éventuelle association entre la clairance parasitaire et les échecs thérapeutiques (clinique et parasitologique).

IV. Généralités

1. Paludisme et agents pathogènes

1.1. Paludisme

Le paludisme est une érythrocytopathie fébrile, hémolysante dû à la présence et à la multiplication dans les hépatocytes puis dans les érythrocytes d'un hématozoaire du genre *Plasmodium*, transmis à *Homo sapiens* par la femelle du moustique du genre *Anophèles* [16]. Il existe aussi d'autres moyens de contaminations que sont les voies sanguines (transfusion sanguine), la transplantation d'organe et la transmission fœto-maternelle [17,18]. Cinq espèces sont reconnues pathogènes pour l'Homme à savoir: *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium ovale* et *Plasmodium knowlesi*. L'espèce *Plasmodium ovale* est constituée de deux sous-espèces *P. o. wallikeri* et *P. o. curtisi*, toutes deux également pathogènes pour l'Homme. Une étude récente a rapporté l'évidence de cas d'infection humaine par *Plasmodium cynomolgi* [19].

1.2. Agents pathogènes

Ce sont des protozoaires Apicomplexa à tropisme hépatique puis érythrocytaire. Leur taxonomie est la suivante [20]:

Domaine: *Eukaryota*

Règne: Protistes

Sous-règne: Protozoaires

Super-phylum: *Alveolata*

Embranchement: *Apicomplexa*

Classe: *Aconoïdasida*

Ordre: *Haemosporida*

Famille: *Plasmodiidae*

Genre: *Plasmodium*

Espèces: *P. falciparum*, *P. malariae*, *P. vivax*, *P. ovale* et *P. knowlesi*.

Sous-espèces : *P. o. wallikeri*, *P. o. curtisi*.

Les différences entre les espèces pathogènes résident au niveau de leur capacité de multiplication durant la phase sanguine, la durée des cycles schizogoniques, la possibilité de

séquestration des globules rouges infectés dans la microcirculation vasculaire et de leurs préférences du type de globule rouge pour l'invasion (jeunes, adultes, âgés).

Plasmodium falciparum est endémique essentiellement en zone tropicale: Afrique, Asie du sud-est, Amérique du sud, et Océanie. Il a une période d'incubation hépatique de 7-12 jours. Il provoque une fièvre tierce maligne et donne des formes graves et mortelles dont les atteintes neurologiques [16]. Il est capable d'envahir les hématies quel que soit leur âge. Le cycle intra-érythrocytaire dure environ 36-48 heures. La taille des hématies parasitées est quasiment identique à celle des hématies non parasitées. A la microscopie, les parasites jeunes ont une forme en bague à chaton avec un anneau cytoplasmique mince appelés "rings"; les trophozoïtes âgés ont une forme en bague plus élargie voire déformée. On note des tâches jaune orangés en coup d'ongle à la surface de l'hématie parasitée appelées tâches de Maurer (Macules de formes et de dimensions inégales). Le polyparasitisme d'un GR est fréquent. La gamétocytogénèse dure 9-12 jours et les gamétocytes ont une forme caractéristique en banane avec un diamètre moyen d'à peu près de 10µm (d'où le nom d'espèce *falciparum*), un amas central de granulation nucléaire en rouge et de pigments en noir, les schizontes ont une forme de corps en rosace contenant 16-32 noyaux [21].

Plasmodium vivax est le plus répandu dans le monde. Il sévit en Asie du sud-est, Amérique du sud, Océanie et en Afrique sahélienne et de l'est. Il a une période d'incubation hépatique de 11-13 jours, il provoque une fièvre tierce bénigne et est responsable de recrudescence grâce aux formes dormantes dans le foie: hypnozoïtes. Dans le sang, il préfère envahir les réticulocytes pour engager une schizogonie de 48 heures. Il provoque la déformation irrégulière et l'augmentation considérable de la taille de la cellule hôte. A la microscopie, les rings ont une forme en bague avec un anneau cytoplasmique épais et un gros noyau ; les trophozoïtes âgés ont un cytoplasme digité ou fragmenté avec un gros noyau plus ou moins déformé et un pigment noir. On note des granulations de Schüffner dans l'hématie parasitée. La gamétocytogénèse dure 7-9 jours et les gamétocytes sont arrondis (10-12 µm) avec un cytoplasme bleu pâle ou mauve et de fins pigments noirs dispersés au Giemsa. Les schizontes sont volumineux (10-14µm) avec 12-24 noyaux fins et de pigments noirs fins plus ou moins dispersés [21]. Il a longtemps été associé à l'infestation des individus Duffy positif, mais actuellement il a été observé chez des individus Duffy négatif [22].

Plasmodium ovale sévit surtout en zone intertropicale africaine. Des études récentes ont montré l'existence de 2 sous-espèces sympatriques de *P. ovale* (*Plasmodium ovale curtisi* et

Plasmodium ovale wallikeri) [23], présentes en Afrique et en Asie, non distinguables par la microscopie [24]. Il a une période d'incubation hépatique de 15 jours. Il provoque une fièvre tierce bénigne et produit des hypnozoïtes. Il parasite les hématies jeunes pendant 48 heures en leur donnant une forme ovale et les hématies parasitées sont plus grande par rapport aux hématies saines. A la microscopie, les trophozoïtes jeunes ont une forme en bague avec un anneau cytoplasmique mince; les trophozoïtes âgés ont une forme régulière avec des granulations et de pigment noir. On note l'apparition précoce des granulations de Schüffner dans l'hématie parasitée (granulations volumineuses). La gamétocytogénèse est inférieure à 7 jours et les gamétocytes sont arrondis (7-8 μ m) avec un cytoplasme bleu pâle ou mauve et de fins pigments noirs peu abondants. Les schizontes ont une taille moyenne de 10 μ m, 8-12 noyaux volumineux et de gros pigments noirs plus ou moins dispersés [21].

Plasmodium malariae est endémique dans les climats tropicaux: Afrique, Asie du sud, Amérique du sud et Océanie. Il a une période d'incubation hépatique de 15-21 jours. Il provoque une fièvre quarte. Il préfère se développer dans les hématies âgées et la schizogonie intra-érythrocytaire dure environ 72 heures. Il est associé à des faibles parasitémies inframicroscopiques pouvant durer toute la vie [21]. A la microscopie, les trophozoïtes ont une disposition en plaque équatoriale de la cellule hôte; les trophozoïtes jeunes ont une forme en bague avec un anneau cytoplasmique épais et un gros noyau; les trophozoïtes âgés ont une forme en bague très épaisse ou forme en drapeau (rectangulaire) avec un gros pigment noir, les schizontes ont un aspect en rosace avec 12 noyaux [21].

Plasmodium knowlesi est génétiquement proche de *P. vivax*. Mais microscopiquement il peut poser un problème de diagnostic différentiel avec *P. malariae*. Les schizontes comportent 16 noyaux. Il a une période d'incubation hépatique de 5 jours. Il est responsable de fièvre quotidienne avec une schizogonie intra-érythrocytaire de 24 heures [21].

2. Cycle biologique

Les recherches entreprises ces dernières années pour la mise au point de nouveaux médicaments et de vaccins antipaludiques, ont considérablement enrichi la connaissance de la biologie du parasite. Ces recherches ont mis en évidence la complexité des relations hôtes-parasite. Les plasmodies sont des protozoaires intra-cellulaires. Le cycle biologique des plasmodies est complexe du fait de l'existence de plusieurs stades parasitaires et de diverses niches de multiplication [25]. Le cycle se déroule chez deux hôtes différents: l'anophèle (la

reproduction sexuée et la sporogonie) et l'Homme (les schizogonies hépatique et intra-érythrocytaire) [16]. Le cycle biologique des plasmodies est illustré par la figure 1.

L'infection de l'Homme est initiée par l'inoculation des sporozoïtes dans l'organisme par la piqûre de l'anophèle femelle au cours de son repas sanguin. Ces sporozoïtes restent pendant une trentaine de minutes maximum dans la peau, la lymphe et le sang. Beaucoup sont détruits par les macrophages mais certains parviennent à gagner les hépatocytes. Ils se transforment en trophozoïtes puis en schizontes pré-érythrocytaires donnant des mérontes ou plasmodes « corps bleus » (formes multinucléées) d'où le nom de *Plasmodium*. Après quelques jours de maturation, ces schizontes éclatent et libèrent dans le sang des milliers de mérozoïtes (10 000 à 30 000 mérozoïtes en fonction des espèces) en paquet : Mérosome. La schizogonie hépatique dure 5-21 jours selon les espèces. Dans les infections à *P. vivax* et *P. ovale*, des formes dormantes (les hypnozoïtes) peuvent être responsable de reviviscence schizogonique après plusieurs mois voir années.

Dans le sang, chaque mérozoïte pénètre dans le globule rouge et devient un trophozoïte qui grossit et forme un schizonte. Celui-ci éclate, libérant des mérozoïtes qui infestent de nouvelles hématies. Ces mérozoïtes se transforment en trophozoïtes puis en schizontes et le cycle intra-érythrocytaire continu. L'éclatement des schizontes toutes les 24 à 72 heures selon l'espèce, correspond à l'accès fébrile. Après plusieurs cycles endo-érythrocytaires, certains trophozoïtes se transforment en gamétocytes femelles et mâles.

Au cours de son repas sanguin sur un individu infecté, l'anophèle absorbe les éléments des différents stades parasitaires. Il digère les éléments asexués. Les gamétocytes sont libérés des globules rouges dans l'abdomen moyen de l'anophèle marquant le début du développement du cycle parasitaire [26]. La transformation des gamétocytes en gamètes (gamétogénèse) est favorisée par les conditions de l'estomac de l'anophèle: une température plus basse (entre 28 et 36°C), un pH plus basique (entre 7,7 et 8,4) et l'action de l'acide xanthurénique. Les gamétocytes femelles se transforment en macrogamètes (haploïde). Les gamétocytes mâles par exflagellation et division nucléaire se transforment en microgamètes (haploïde) [27]. La fécondation d'un macrogamète par un microgamète donne naissance à un zygote (diploïde) qui subit aussitôt une division méiotique. Le zygote se transforme en ookinète mobile. L'ookinète traverse durant environ 48 heures la membrane péritrophique et l'épithélium stomacal pour se loger dans la couche laminaire basale. A cet endroit l'ookinète se transforme en oocyste à l'intérieur duquel s'individualisent les sporozoïtes (haploïdes). A maturité

l'oocyste éclate et libère des milliers de sporozoïtes dans l'hémolymphe de l'anophèle. Ces sporozoïtes migrent dans la glande salivaire du moustique et subissent une maturation pour être infectant. Ils sont inoculés à l'Homme lors d'un repas sanguin et le cycle continu.

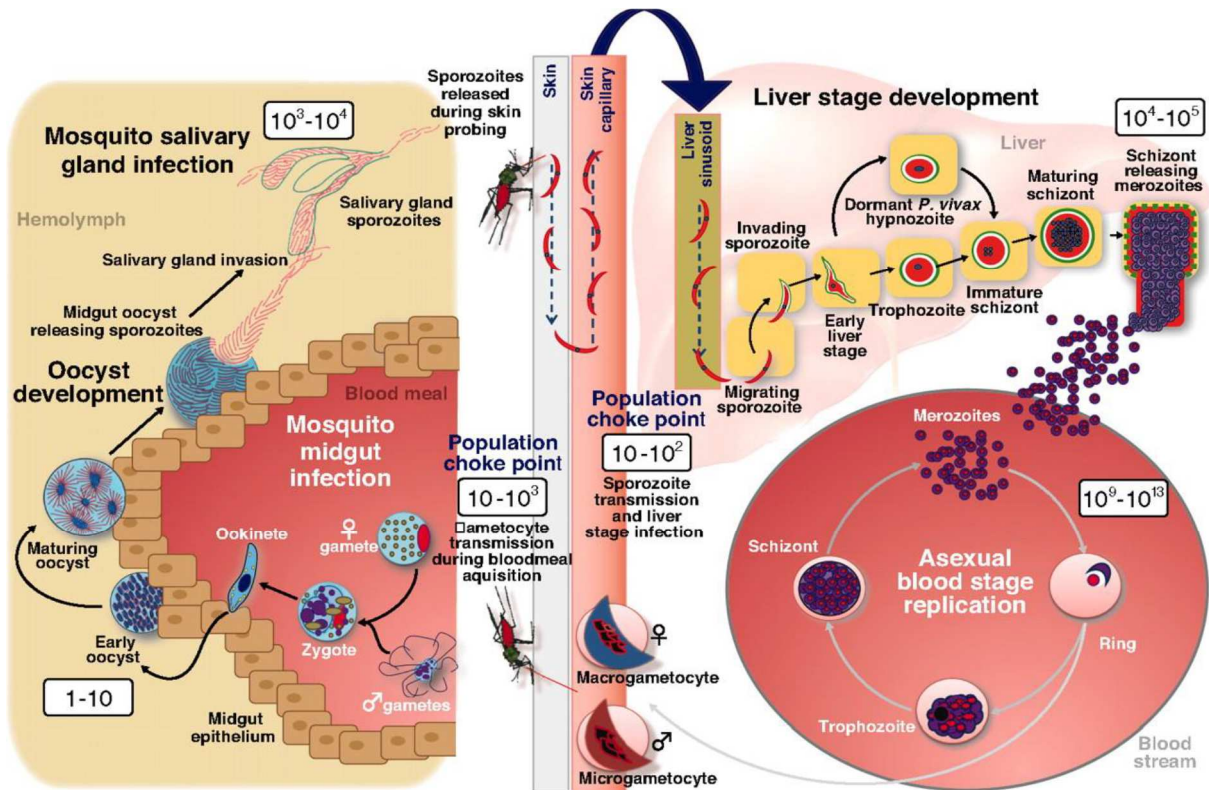


Figure 1: Cycle biologique des plasmodies (Source : Kappe et al. Science. 2010.328:862-866).

3. Physiopathologie

Les stades hépatiques et les gamétocytes ne donnent pas lieu à une manifestation clinique.

L'éclatement des globules rouges infectés et la libération de pyrogènes malariques ou endogènes provoquent la fièvre [28].

Dans le sang, les érythrocytes sont détruits par les parasites qu'ils hébergent. Quant aux hématies non parasitées, elles peuvent être agglutinées par le sérum de Coombs. Cette agglutination est favorisée par la présence d'immunoglobulines plasmatiques sur leur surface [29]. En présence de complément, ces érythrocytes opsonisés subissent l'hémolyse ou sont phagocytés par les macrophages. Cette hémolyse contribue à l'implantation de l'anémie [29]. L'hémoglobine libérée par l'hémolyse provoque une surcharge rénale et est partiellement

transformée dans le foie en bilirubine. L'excès est éliminé dans les urines (hémoglobinurie). L'hémolyse brutale et massive est la cause du syndrome appelé "fièvre bilieuse hémoglobinurique"[30].

Par ailleurs, l'utilisation de l'hémoglobine par le parasite entraîne la précipitation dans son cytoplasme, de granules de pigment appelées hémozoïne [31]. Ce pigment accumulé dans le cytoplasme du schizonte est relargué dans le plasma lors de la libération des mérozoïtes. Il est phagocyté par les macrophages et les histiocytes (leucocytes mélanifères). L'hémosidérine de couleur jaune sombre provient de la transformation de l'hémoglobine et de l'hémozoïne par les histiocytes. Les thrombocytes, enfin, sont détruits par des mécanismes encore mal précisés [31].

L'augmentation du volume de la rate notée dans l'infection palustre est provoquée par l'hypertrophie de la pulpe blanche [32]. L'érythrophagocytose est accélérée par deux phénomènes: activation des macrophages et fixation d'immunoglobulines sur la paroi des érythrocytes, infectés ou non [32]. L'activité de phagocytose concerne aussi le pigment parasitaire et les débris cellulaires. On observe une rate congestive, de consistance molle. Sa rupture est aisée à cause de la fragilité augmentée de la capsule. Sa couleur rouge foncé, parfois brune est due à l'accumulation du pigment repris par les phagocytes [32].

L'hypertrophie des cellules de Kupffer chargées de la phagocytose des débris et des pigments arrive à obstruer les veines lobulaires [32]. L'hépatomégalie est légère et ne survient qu'à la longue chez les sujets qui ont fait des accès palustres à répétition.

La formation de complexes antigènes-anticorps et leur dépôt dans la membrane basale cause une surcharge du rein et une diminution de la capacité d'épuration de cet organe, déjà anormalement sollicité en cas d'hémolyse [33]. La thrombose des artérioles des glomérules rénaux, l'anoxie des cellules des tubes contournés et l'apparition de signes de glomérulonéphrite sont des phénomènes souvent observés. Une dégénérescence locale est possible, pouvant aboutir à la néphrose (complication fréquente pour *P. malariae*) [33]. Le blocage rénal par destruction massive de globules rouges est le danger principal de la fièvre bilieuse hémoglobinurique [30].

La schizogonie de *P. falciparum* dans les organes nobles (cerveau, placenta) est à l'origine de complications redoutables dont le paludisme cérébral [32]. Celle-ci se manifeste par des thromboses capillaires responsables de lésions vasculaires et hémorragiques, provoquant des

altérations dégénératives des cellules nerveuses, entourées d'infiltrats cellulaires. Plusieurs théories expliquent ces phénomènes:

- Les obstacles mécaniques sur la circulation micro-capillaire et veineuse à cause d'une déformabilité diminuée des érythrocytes parasités et de la formation de "rosettes" constituées d'un globule rouge parasité auquel adhèrent, par un mécanisme non élucidé (les antigènes et les immunoglobulines exposés à sa surface joueraient un rôle), des érythrocytes normaux [32]. Ces phénomènes causent une diminution du débit circulatoire et un coma métabolique réversible;
- L'adhérence immunologique de globules rouges parasités à l'endothélium vasculaire post-capillaires causant des ralentissements circulatoires importants [34]. Cette adhérence serait sous la dépendance de certaines protéines de surface des globules rouges parasités visibles au microscope électronique (protubérances ou "knobs"), des lymphocytes T CD4+, de certaines interleukines, en particulier du TNF, et de récepteurs endothéliaux du type ICAM-1[34].

4. Traitement du paludisme au Mali [35,36]

Au Mali, les CTA sont recommandées dans le traitement du paludisme non compliqué. L'artémisinine en première intention et la quinine en formes parentérales sont réservées pour le traitement des formes graves et compliquées. Le traitement préventif intermittent du paludisme est réservé aux femmes enceintes et la CPS aux enfants de moins de 5 ans. La stratégie de traitement du paludisme au Mali est illustrée par le tableau I.

Tableau I: Politique de traitement du paludisme au Mali.

Catégories	Traitement
Paludisme non compliqué	Artéméther-luméfantrine Artésunate-amodiaquine
Paludisme grave et compliqué	Artésunate injectable Artéméther injectable Quinine injectable
Traitement préventif intermittent	Sulfadoxine-pyriméthamine (chez les femmes enceintes) Amodiaquine + sulfadoxine-pyriméthamine (chez les enfants de moins de 5 ans en étape de mise en échelle)
Pré-transfert	Artéméther injectable Artésunate suppositoire Quinine injectable

Source : WHO, 2010.

5. Dérivés de l'artémisinine

L'artémisinine est un endopéroxyde sesquiterpène trioxane lactone. Elle a une formule brute de $C_{15}H_{23}O_5$ et possède une masse moléculaire de $282,3 \pm 0,015$. Le point de fusion est de $150 - 153^\circ C$ et la masse volumique de $1,24 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$. Elle est soluble dans la plus part des solvants apolaires mais faiblement soluble dans l'huile et dans l'eau. L'artémisinine est une substance naturelle isolée de la plante armoise annuelle *Artemisia annua* (voir figure 2). Elle possède des propriétés schizonticide érythrocytaire [37] et gamétocytocide [9] qui est la base principale des autres molécules de cette classe.



Figure 2: Pieds d'*Artemisia annua* (source: Yu *et al*, 2000).

5.1. Mécanisme d'action

Le mécanisme d'action de l'artémisinine et ses dérivés est très complexe. Il n'est pas parfaitement connu. L'artémisinine est une lactone sesquiterpénique portant un groupe peroxyde qui est la responsable de son activité antipaludique.

L'artémisinine réagit avec le fer des globules rouges pour créer des radicaux libres qui, à leur tour, détruisent la membrane du parasite entraînant leur mort [38]. À noter que la présence de toute substance protégeant des dommages radicalaires (antioxydant) pourrait contrarier son efficacité [38].

Les molécules d'hème présentes chez le parasite vont rompre la liaison endoperoxyde de l'artémisinine [39]. Ce parasite dont les trophozoïtes et les schizontes vivent à l'intérieur des érythrocytes se nourrit par digestion de l'hémoglobine. Celle-ci est importée dans les vacuoles digestives où elle sera dégradée. La libération des molécules d'hème contenues dans chaque molécule d'hémoglobine va faciliter la rupture de la partie endoperoxyde de l'artémisinine par une réaction de Fenton avec du Fe(II) [38]. Cette rupture conduit à la formation d'espèces réactives de l'oxygène sous forme de radicaux hydroxyles ou d'anions superoxydes qui vont détruire la membrane de la vacuole digestive du parasite et causer son autodigestion [38]. De plus, cette décomposition induite par les molécules d'hème va créer des radicaux du carbone. Ces composés extrêmement toxiques pour les cellules vont alkyler les molécules d'hème et les protéines du parasite pour finalement entraîner sa mort [40].

L'incubation de la dihydroartémisinine radioactive à des concentrations pharmacologiquement actives dans des érythrocytes infectés par *P. falciparum* révèle l'alkylation de protéines parasitaires spécifiques [41]. Parmi ces protéines parasitaires, la TCTP (Translationally Controlled Tumor Proteine) est alkylée *in vitro* en présence d'hème [41]. Par ailleurs, l'inhibition par l'artémisinine (à la concentration très élevée de 200 µM) de l'activité des cystéines protéases dans la vacuole digestive de la plasmodie a également été rapportée [41]. L'inhibition sélective par l'artémisinine de *PfATP6*, une ATPase calcium-dépendante a été aussi décrite [42].

5.2. Mécanisme de résistance

L'artémisinine et ses dérivés sont très utilisés depuis plusieurs années dans les pays d'endémie palustre. Leur utilisation en monothérapie est associée à de forts taux de

recrudescence à cause de leur courte demi-vie plasmatique [43]. Pour cette raison ils sont associés à d'autres molécules d'élimination plus lente.

En effet, le mécanisme clair et exact de la résistance parasitaire à l'artémisinine et dérivés n'est pas encore bien connu. Certains chercheurs pensent que cette résistance serait due à la présence des mutations sur le gène *PfATPase6* (*Plasmodium falciparum* ATPase6) et un changement du nombre de copie de *Pfmdr1* (*Plasmodium falciparum multidrug resistant1*) [44,45]. D'autres chercheurs ont évoqué le phénomène de quiescence pour expliquer cette résistance [46]. Ce phénomène de quiescence est observé au stade ring des plasmodies. Il résulterait d'une réponse naturelle des plasmodies face au stress provoqué par l'artémisinine et ses dérivés. Ainsi, au cours d'un traitement à l'artémisinine et ses dérivés, certains plasmodies au stade ring entrent dans un état de dormance jusqu'à la soustraction de la pression médicamenteuse et poursuivent ensuite leur développement normal.

Récemment, des chercheurs de l'Institut Pasteur de Paris, de l'Institut Pasteur du Cambodge, du CNRS (centre national de la recherche scientifique) et du NIAID/NIH (national institute of allergy and infectious diseases/ national institutes of health américain) ont identifié dans le génome du *P. falciparum* des mutations ponctuelles au niveau du domaine " hélice " du gène de la protéine kelch située sur le chromosome 13. Des mutations sur le gène kelch 13 propeller (K13) confèrent à *P. falciparum* la résistance à l'artémisinine et ses dérivés [47]. Grâce à une technique fine de génie génétique, ces chercheurs ont remplacé les séquences mutantes du gène K13 présentes chez des souches cambodgiennes résistantes à l'artémisinine et ses dérivés par des séquences sauvages. Ils ont observé que ces souches devenaient sensibles à l'antipaludique [47]. Inversement, l'introduction de diverses mutations dans des souches sensibles leur confère la capacité de résister à l'artémisinine et ses dérivés [47]. Ces travaux apportent la preuve que les mutations ponctuelles du gène *kelch13* pourraient être un bon marqueur de la résistance à l'artémisinine et ses dérivés.

5.3. Combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine (CTA)

Les CTA constituent actuellement les traitements de première intention du paludisme dans les pays endémiques. Le but est d'assurer un traitement efficace, court, abordable et bien toléré en retardant l'apparition et la diffusion de la résistance aux dérivés de l'artémisinine et aux molécules partenaires [48]. L'OMS a préconisé depuis 2001 l'utilisation des CTA [49]. Les

dérivés de l'artémisinine agissent rapidement et entraînent une réduction considérable de la charge parasitaire. Ce qui se traduit par une résolution rapide des manifestations cliniques. Ils possèderaient aussi une activité gamétocytocide capable de réduire le risque de transmission de la maladie [50]. La molécule partenaire assure le relais de la destruction des parasites dû à sa plus longue demi-vie [50].

Actuellement, il y a six CTA recommandées par l'OMS pour le traitement du paludisme non compliqué. Il s'agit de: l'artéméther-luméfantrine, l'artésunate-amodiaquine, l'artésunate-méfloquine, l'artésunate+sulfadoxine-pyriméthamine, la dihydroartémisinine-pipéraquine et l'artésunate-pyronaridine. Sauf l'artésunate+sulfadoxine-pyriméthamine, toutes les autres CTA recommandées existent actuellement en combinaisons fixes.

5.3.1. L'artéméther-luméfantrine

C'est une combinaison fixe de l'artéméther et de la luméfantrine le plus souvent sous forme de 20mg d'artéméther et 120mg de luméfantrine. Cette combinaison est utilisée dans un schéma de 6 doses administrées aux heures 0, 8, 24, 36, 48 et 60 [51]. Soit 1 comprimé par prise de 5 à <15kg, 2 comprimés par prise de 15 à <25kg, 3 comprimés par prise de 25 à <35kg et 4 comprimés par prise lorsque le poids \geq 35kg. La bonne tolérance et le coût relativement abordable ont fait de cette combinaison une option thérapeutique très appréciée. Cependant, la co-ingestion exigée de matières grasses qui permettent d'améliorer l'absorption de la luméfantrine et la fréquence d'administration complexe (2 doses/jour) de cette combinaison restent des obstacles. Une formulation pédiatrique (comprimés solubles) a été développée conjointement avec MMV (Medicines for Malaria Venture) et Novartis [52]. A cause de son bon index de sécurité, ce médicament peut-être avantageux pour un traitement à long cours chez la femme enceinte [53].

5.3.2. L'artésunate-amodiaquine

La formulation libre en blister composée de 50 mg d'artésunate et de 153 mg d'amodiaquine base a été mise au point. La coformulation de cette combinaison développée par l'organisme Drugs for Neglected Diseases initiative (DNDi) est également disponible. Les comprimés sont dosés à 25/67.5 mg, 50/135 mg ou 100/270mg d'artésunate et amodiaquine respectivement. Les doses thérapeutiques recommandées sont comprises entre 2-10mg/kg d'artésunate par jour et 7,5-15mg/kg d'amodiaquine par jour pendant 3 jours. L'artésunate-amodiaquine a été

démontré efficace dans les zones où le taux de guérison à 28 jours avec l'amodiaquine en monothérapie excède les 80% [54].

5.3.3. L'artésunate+sulfadoxine-pyriméthamine

Il s'agit d'une combinaison libre d'artésunate et de sulfadoxine-pyriméthamine conditionnés dans un même blister avec des comprimés d'artésunate dosés à 50 ou 100mg et des comprimés à 500 mg de sulfadoxine et 25 mg de pyriméthamine. La dose de traitement recommandé est de 4mg/kg d'artésunate par jour pendant 3 jours et de 25mg/kg de sulfadoxine et 1,25mg/kg de pyriméthamine en dose unique.

5.3.4. L'artésunate-méfloquine

L'artésunate-amodiaquine est une combinaison disponible sous forme de co-blister mais aussi sous forme de combinaison fixe. Cette combinaison a été d'abord largement utilisée en Asie du Sud-est et en Amérique du Sud. La posologie recommandée est de 4mg/kg d'artésunate et 25mg/kg de méfloquine par jour pendant 3 jours.

5.3.4. La dihydroartémisinine-pipéraquline

C'est une combinaison fixe composée de 40mg de dihydroartémisinine et de 320 mg de pipéraquline pour la forme comprimé. Il existe aussi la forme de suspension buvable de 60ml pour les nourrissons avec 90mg de dihydroartémisinine et 720mg de pipéraquline. La posologie est d'une seule prise par jour pendant 3 jours. Pour la forme pédiatrique, la posologie est de: 5ml/prise entre 3,5-5kg, 10ml/prise entre 5-9kg, 15ml/prise entre 9-12kg et 20ml/prise entre 12-17kg. Pour la forme comprimé, elle est de: 1 comprimé/prise entre 10-19,9kg, 2 comprimés/prise entre 20-39,9kg et 3 comprimés/prise à partir de 40kg. Elle fournit une longue protection contre la réinfection palustre plus que toutes les autres CTA à cause de la longue demi-vie de la pipéraquline (23jours).

5.3.5. L'artésunate-pyronaridine

C'est une combinaison fixe composée de 60mg d'artésunate et de 20mg de pyronaridine. Il existe aussi les formes comprimés contenant 180mg d'artésunate et 60mg de pyronaridine, les formes pédiatriques en sachet contenant 60mg d'artésunate et de 20mg de pyronaridine. La posologie est d'une prise par jour pendant 3 jours. Pour la forme pédiatrique, la posologie est

de: 1 sachet/prise entre 5-7kg, 2 sachets/prise entre 8-14kg, 3 sachets/prise entre 15-19kg et 4 sachets/prise entre 20-24kg. Pour la forme comprimé, elle est de: 1 comprimé/prise entre 15-23kg, 2 comprimés/prise entre 24-44kg, 3 comprimés/prise entre 45-64kg et 4 comprimés/prise à partir de 65kg. Elle est également employée pour traiter la phase sanguine de l'infection à *P. vivax*. Elle est mieux tolérée et plus efficace comparativement aux CTA classiques. C'est la première CTA à être approuvée par l'Agence Européenne des Médicaments et surtout pour le traitement du paludisme tant dû à *P. falciparum* qu'à *P. vivax*. Pour le moment, l'OMS recommande l'utilisation possible de ce médicament dans le traitement du paludisme non compliqué à *P. falciparum* au Cambodge où la résistance à la pipéraquline est apparue [55].

5.4. Situation actuelle de l'efficacité des CTA

L'artémisinine et ses dérivés sont les principaux constituants des CTA. Lorsqu'il y a un retard de clairance parasitaire chez les patients traités avec une CTA, les plasmodies sont plus exposées au médicament partenaire. Ceci augmente le risque de sélection de plasmodies résistantes à la molécule partenaire [56].

La résistance à l'artémisinine et ses dérivés a été rapportée dans la sous-région du Grand Mékong [7]. Le choix des CTA dans les différentes régions du monde dépend de l'efficacité du médicament partenaire [2].

Au Cambodge, la résistance clinique significative à l'artémisinine et ses dérivés a été identifiée en 2006 [56]. Cette résistance a eu comme conséquence, le changement de la stratégie de traitement dans les différentes parties de ce pays. La combinaison artésunate-méfloquine est adoptée comme traitement de première ligne dans certaines provinces du pays: Battambang, Oddar Meanchey, Pailin et Pursat [57]. La combinaison dihydroartémisinine-pipéraquline reste le traitement de première ligne dans le reste du Cambodge [57].

L'émergence de la résistance à l'artémisinine et ses dérivés dans le sud du Laos a été décrite en 2013 [56]. Il y a la présence de mutants K13 (principalement C580Y et R539T) dans les populations parasites de ce pays. Mais la combinaison artéméther-luméfantine y reste efficace [56].

En Birmanie, la résistance à l'artémisinine et ses dérivés a été détectée en 2008 [56]. Malgré cette résistance, les combinaisons artéméther-luméfantrine, artésunate-méfloquine et dihydroartémisinine-pipéraquline donnent des taux de guérison élevés dans cette localité [57]. Les taux d'échecs thérapeutiques $\geq 10\%$ après un traitement avec l'artésunate-méfloquine ont été observés en Thaïlande en 2008 [56]. Ces échecs thérapeutiques étaient surtout observés dans les localités de Kanchanaburi, Ranong, Tak et Ubonratchathani. Actuellement la combinaison artésunate-méfloquine y est utilisée comme traitement de première ligne [57].

Au Vietnam, le retard de clairance parasitaire a été détecté pour la première fois en 2009 après le traitement avec la dihydroartémisinine-pipéraquline dans le district de Bu Dang [56]. Mais cette combinaison garde son efficacité dans ce pays [57].

En Afrique, d'autres mutations K13 ont été signalés en République Démocratique du Congo et en Gambie en 2008 [56]; puis dans d'autres pays comme Madagascar, le Malawi, le Mali, le Togo et l'Ouganda [58,59]. A ce jour, ces mutations observées n'ont pas été associées à un retard de clairance parasitaire [56].

Malgré le retard de clairance parasitaire à l'artémisinine et ses dérivés dans certaines zones de la région du Grand Mékong, les CTA restent les traitements les plus efficaces contre le paludisme non compliqué à *P. falciparum* [2]. Actuellement, la majorité des patients avec une clairance parasitaire retardée est guérie à condition que le médicament partenaire soit efficace [56].

6. Clairance parasitaire

L'objectif d'un traitement antipaludique est la guérison clinique et parasitologique du patient. Une réduction considérable de la charge parasitaire est essentielle pour une résolution rapide des manifestations cliniques. Les CTA efficaces données à des doses correctes entraînent une baisse rapide de la densité parasitaire. La plupart des antipaludiques produisent des réductions de fractions de la parasitémie comprise entre 100 et 10 000 par cycle asexuée [11]. Le tracé graphique de l'évolution de la densité parasitaire en fonction du temps sous un traitement antipaludique détermine la courbe de clairance parasitaire. C'est une mesure importante de la réponse thérapeutique, en particulier dans l'évaluation de l'efficacité de l'artémisinine et ses dérivés, qui provoquent l'élimination rapide des parasites.

L'élimination d'une fraction fixe de la population de parasites dans chaque cycle asexué, est un processus qui est considéré comme l'inverse de la multiplication du parasite [50,61]. Elle peut être définie comme la vitesse à laquelle la parasitémie baisse. Elle dépend essentiellement de la précision de la microscopie et de la fréquence à laquelle les lames de goutte épaisse/frottis mince sont effectuées. La mesure de la parasitémie périphérique est faite sur une séquence rapprochée d'échantillons prélevés au cours du suivi des sujets. La fréquence des prélèvements sanguins varie en fonction des études. Toutefois, l'estimation microscopique précise de la densité parasitaire requiert une expertise spécifique. Des faux négatifs peuvent facilement être lus en particulier si le niveau de la parasitémie est bas. Lorsqu'il n'y a pas de retard de clairance parasitaire, la majorité des patients élimine leur parasite au cours des 48 premières heures du traitement [12,62]. Le temps de clairance parasitaire dépend de la parasitémie initiale. Il est aussi influencé par l'immunité et l'âge de l'hôte, la sensibilité du parasite et l'efficacité du médicament complémentaire [63]. Les paramètres de mesure de la clairance parasitaire sont le plus souvent: le temps nécessaire pour éliminer 95% de la parasitémie initiale (PC95), le rapport de la densité parasitaire entre l'admission et 48 heures après le traitement, la demi-vie de clairance parasitaire, le taux de sujets parasités au jour 2 ou 3. Cependant, une phase initiale de latence d'instabilité numérique précède souvent une baisse exponentielle régulière de la numération parasitaire après le début du traitement antipaludique. Ce décalage complique l'estimation du temps de clairance parasitaire, et peut influencer sur l'exactitude et la cohérence des résultats rapportés. Les variations de la parasitémie, en particulier pendant les premières heures de l'administration du médicament antipaludique sont influencées par la répartition par âge de la population parasitaire [64,65]. Si la majorité des parasites dans le sang périphérique sont très jeunes, alors il est probable que la schizogonie soit toujours en cours au moment de l'administration du médicament. Les hématies nouvellement parasitées apparaîtront dans la circulation sanguine peu après. Cela peut se traduire par une densité stable ou même une augmentation de la parasitémie périphérique malgré un traitement efficace.

Une évaluation plus détaillée de la courbe de la clairance parasitaire est nécessaire pour évaluer les réponses thérapeutiques *in vivo* à l'artémisinine et ses dérivés. La recherche est en cours pour définir les méthodes optimales et les valeurs de seuil, qui identifient la résistance à l'artémisinine et ses dérivés. La standardisation des méthodes d'évaluation de la résistance aux antipaludiques est un objectif primordial du réseau WWARN (Worldwide Antimalarial

Resistance Network). Ce réseau a développé un outil appelé l'estimateur de la clairance parasitaire (PCE, *parasite clearance estimator*), qui permet l'analyse des données d'une façon standardisée afin de comparer la clairance parasitaire chez les patients et entre les populations [66]. C'est une méthode cohérente, fiable et précise d'estimation de la clairance parasitaire [66]. Plusieurs paramètres de mesure de la clairance parasitaire sont calculées: la constante du taux de clairance, la demi-vie de la pente de clairance, les temps moyens pour éliminer respectivement 50, 90,95 et 99 % de la parasitémie initiale.

V. Méthodologie

1. Site d'étude

L'étude s'est déroulée dans le village de Banambani (voir figure 3) qui fait partie des villages d'essais cliniques du MRTC de Donéguébougou. Il est à 25km au Nord-Est de Bamako avec une population estimée environ à 2020 habitants (Révision du recensement, Février 2013). C'est une savane soudanienne située au bord d'une mare. Le climat est de type Soudano-guinéen. La transmission du paludisme est saisonnière, due à *Anophèles gambiae s.l* et *Anophèles funestus s.l*. La période de haute transmission correspond à la saison pluvieuse (Juin à Novembre). L'incidence palustre chez les enfants de moins de 5ans est de 2,1 épisodes par enfant par saison de transmission selon une étude menée par le MRTC en 1999 [Dicko. A et al AJTMH 2010]. Le taux d'inoculation entomologique est de 137 – 167 piqûres infectantes par an [Dicko. A et al AJTMH 2010].



Figure 3: Localisation du site d'étude sur la carte du Mali (source : MRTC/DEAP).

2. Type et période d'étude

L'étude principale était un essai *in vivo* de non-infériorité, randomisé contrôlé et ouvert comparant la CTA artésunate+sulfadoxine-pyriméthamine à celle de référence, l'artéméther-luméfantrine. Une sous cohorte nichée a été sélectionnée de façon aléatoire dans les deux bras pour déterminer les taux de clairance parasitaire.

L'étude s'est déroulée de 2010 à 2014. Cette thèse a concerné les données collectées de janvier à mars 2013 puis de juillet 2013 à février 2014.

3. Population d'étude

L'étude a concerné les sujets recrutés dans l'étude *in vivo* principale de Banambani âgés de 6 mois et plus.

4. Echantillonnage et taille de l'échantillon

L'allocation au bras de traitement se faisait en fonction de l'ordre d'arrivée du patient au centre. Nous avons fait un échantillonnage aléatoire systématique à partir des sujets recrutés dans l'essai *in vivo* principal de Banambani avec un pas de sondage de 6 pour recruter 45 sujets. Cette taille est considérée suffisante pour une étude exploratoire ($n > 30$, Test de Student).

5. Critères d'inclusion et de non inclusion

5.1. Critères d'inclusion

Les volontaires recrutés dans l'étude présentaient les critères suivants:

- Etre participant à l'étude *in vivo* principale à Banambani
- Avoir une parasitémie exclusivement à *Plasmodium falciparum* détectée par la microscopie
- Avoir une parasitémie comprise entre 1000-200000/ μ l
- Présenter une température axillaire supérieure ou égale à 37,5°C ou un antécédent de fièvre au cours des dernières 24 heures
- Etre capable de prendre des médicaments par voie orale
- Etre à mesure de respecter le protocole pendant la durée de l'étude et de respecter le calendrier de consultations
- Avoir donné son consentement ou assentiment libre et éclairé

5.2. Critères de non inclusion

N'étaient pas inclus dans l'étude les patients présentant les critères suivants:

- Avoir présenté des signes généraux de danger ou de signes graves du paludisme à *P. falciparum* selon les définitions de l'OMS (voir annexe 1)
- Avoir une infection mixte ou infection monospécifique par une autre espèce de *Plasmodium*, détectée par examen microscopique
- Présenter une malnutrition sévère (selon la définition, enfant dont la courbe de croissance se situe au-dessous de la courbe de -3 (valeur du Z score) qui présente un œdème symétrique touchant au moins les deux pieds et dont le périmètre brachial à mi-hauteur est < 110mm)
- Avoir un état fébrile dû à des maladies autres que le paludisme (par exemple la rougeole, infection aigüe des voies respiratoires basses, maladie diarrhéique grave avec déshydratation) ou d'autres maladies sous-jacentes chroniques ou graves connues (par exemple maladie cardiaque, rénale ou hépatique, VIH /sida)
- Etre sous un traitement régulier qui risquerait de gêner la pharmacocinétique antipaludique
- Avoir des antécédents d'hypersensibilité à l'un des médicaments testés ou utilisés comme traitement de remplacement, ou une contre-indication à ces médicaments
- Etre en état de grossesse
- Etre assignée à l'allaitement

6. Equipe de suivi

Le suivi des sujets était effectué par une équipe médicale du Malaria Research and Training Center (MRTC) basée à Banambani pendant la durée de l'étude. Cette équipe était placée sous la supervision des investigateurs principaux.

7. Screening et procédure d'enrôlement

Après l'obtention du consentement/assentiment libre et éclairé (voir annexe 6), tous les patients fébriles ou ayant connu une histoire de fièvre dans les dernières 24 heures étaient enregistrés. Un examen clinique suivi d'un interrogatoire était réalisé. Les données sociodémographiques, la température, le poids corporel et la taille de ces patients étaient notés. Les patients qui remplissaient les critères cliniques au cours de cette phase étaient prélevés au bout du doigt pour faire la goutte épaisse et le frottis mince. Ces examens

permettaient de faire le diagnostic parasitologique du paludisme et d'évaluer la parasitémie. Tous les patients impaludés présentant des parasitémies telles que indiquées dans les critères d'inclusion étaient retenus. L'ensemble du processus était documenté dans un cahier d'observation établi à cet effet.

8. Suivi

Un numéro personnel d'identification était attribué aux patients qui répondaient à tous les critères d'inclusions. Ils n'ont reçu le traitement qu'après avoir été bien édifié sur l'étude et donné librement leur consentement. Toutes les personnes qui n'ont pas voulu participer à l'étude étaient examinées, traitées et suivies par l'équipe médicale, conformément aux normes thérapeutiques en vigueur au Mali. Le calendrier de visite (voir annexe 4) était clairement expliqué et une carte de suivi comportant un numéro personnel d'identification était donnée au patient.

Le jour 0 était le jour où le patient recevait sa première dose de médicament. Tous les traitements antipaludiques étaient administrés par un membre de l'équipe médicale sous supervision. Les patients restaient en observation pendant au moins 30 mn après la prise du traitement pour s'assurer qu'ils ne vomissaient pas le médicament. Si les vomissements survenaient au cours de cette période, la dose complète était répétée. Si nécessaire, nous donnions au patient un traitement secondaire comme les antipyrétiques, et nous enregistrons le nom de ces médicaments dans son dossier personnel (voir annexe 3). Les patients qui présentaient des vomissements persistants étaient exclus de l'étude et recevaient le traitement approprié.

Le calendrier prévoyait une réévaluation clinique régulière. Des étalements de sang destinés à la numération des plasmodies étaient réalisés aux H0, H8, H16, H24, H36, H48, H60, aux J3, J7, J14, J21, J28 pour les patients suivis pour la clairance (voir annexe 4) et aux J0, J2, J3, J7, J14, J21, J28 pour les autres patients. Il était conseillé aux participants de revenir à n'importe quel moment au cours de la période de suivis si les symptômes réapparaissaient et de ne pas attendre la consultation prochaine. Les parents ou tuteurs étaient priés d'amener leurs enfants au centre de recherche à tout moment s'ils présentaient un signe quelconque de danger, s'ils étaient toujours malades ou si quelque chose leur semblait inquiétant. La réévaluation clinique était suffisamment approfondie pour garantir la sécurité des patients et permettait de déceler non seulement un éventuel échec thérapeutique (voir annexe 2), mais aussi d'éventuelles

réactions défavorables aux médicaments. En outre, des étalements de sang étaient réalisés chaque fois que le personnel clinique demandait une réévaluation parasitologique. Les participants qui ne revenaient pas aux jours 1 et 2 et auxquels il manquait donc une dose de traitement étaient définitivement retirés de l'étude.

9. Traitement

Les médicaments utilisés pour traiter les patients étaient les combinaisons artéméther (20mg)-luméfantrine (120mg) et artésunate (50 ou 100mg) +sulfadoxine (500mg)-pyriméthamine (25mg) sous forme de comprimés. L'AL utilisée était la spécialité Coartem® commercialisée par la firme Novartis®. L'AS+SP était la spécialité Artescope® manufacturée par Guilin Pharmaceutical Co., Ltd, China que nous avons obtenue auprès du Programme National de Lutte contre le Paludisme du Mali.

Les posologies adoptées étaient les suivantes:

- **Pour artésunate+sulfadoxine-pyriméthamine:** artésunate 4mg/kg à J0, J1 et J2 et 25mg/kg de sulfadoxine et 1,25mg/kg de pyriméthamine en dose unique à J0.
- **Pour artéméther-luméfantrine:** Deux prises quotidiennes, les doses ont été administrées à l'inclusion (H0) et aux heures H8, H16, H24, H36, H48 et H60. Pour sujets de 5 à <15kg, 1 comprimé était donné à chaque prise; pour 15 à <25kg, 2 comprimés; pour 25 à <35kg, 3 comprimés et pour ≥ 35 kg, 4 comprimés.

10. Considérations éthiques

Nous avons obtenu l'approbation des comités d'éthiques de la Faculté de médecine de pharmacie et d'odontostomatologie (FMPOS) et de l'organisation mondiale de la santé (OMS), après soumission du protocole. Sur le terrain, la communauté a été informée de tous les aspects de l'étude et nous avons obtenu une permission communautaire du déroulement de l'étude dans la localité. La participation à l'étude était entièrement volontaire. Les participants lettrés ont signé les fiches de consentement volontaire et ceux qui sont illettrés y ont apposé leur empreinte digitale (voir annexe 6). Pour les enfants mineurs, leurs parents ou leurs tuteurs ont signé. Les contenus des fiches de consentement ont été clairement et justement expliqués aux participants en langue bamanakan.

11. Variables étudiées

11.1. La demi-vie de la clairance parasitaire

Elle est obtenue par la formule suivante:

$T_{1/2} = \ln 2 / K = 0.692 / K$; où K est la constante du taux de clairance

$K = ((\ln P_0) - \ln(P_t)) / t$; où P_0 est la parasitémie initiale, P_t est la parasitémie à un temps donné et t est le temps.

11.2. Le PC 95

C'est le temps moyen pour pouvoir éliminer 95% de la parasitémie de base au cours du traitement.

11.3. Le taux de parasitémie négative à l'heure 24 et le taux de parasitémie positive à l'heure 60

Le taux de parasitémie négative à l'heure 24 est le pourcentage de patients ayant éliminé totalement leur parasitémie à l'heure 24. Le taux de parasitémie positive à l'heure 60 est le pourcentage de patient portant des parasites à l'heure 60.

12. Gestion et analyse des données

Les données ont été enregistrées dans des cahiers d'observation individuels lors du suivi. Nous avons procédé au contrôle de qualité de toutes les lames (voir annexe 5). Les données ont été ensuite saisies dans Microsoft® Excel (Microsoft Corporation, Washington). Ces données ont été analysées sur Excel, Graph Pad et sur le logiciel en ligne du Worldwide Antimalarial Resistance Network (WWARN) pour les calculs de la demi-vie de clairance parasitaire et du PC95 (<http://www.wwarn.org/fr>). L'approche méthodologique à la base de ce logiciel est illustrée dans l'annexe 7. Nous avons utilisé le test de Mann Whitney pour comparer les valeurs de la demi-vie de la clairance dans les différentes situations.

VI. Résultats

1. Diagramme de flux

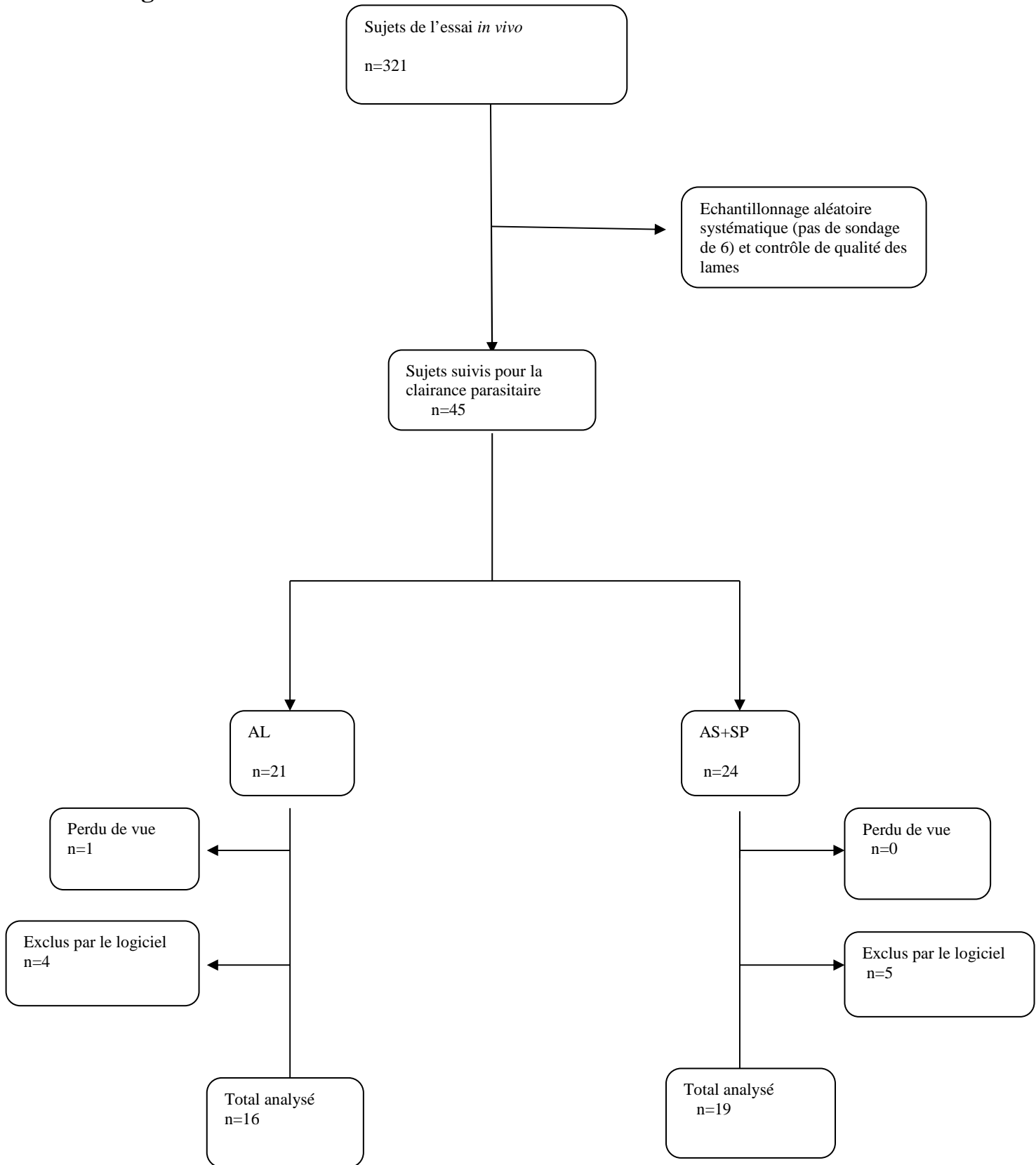


Figure 4: Profil de l'étude dans les deux bras de traitement.

Nous avons recruté 45 sujets pour la clairance parasitaire à travers un échantillonnage aléatoire systématique (pas de sondage de 6). Le bras AS+SP comportait 24 sujets contre 21 pour le bras AL. Il n'y avait pas de sujet perdu de vue dans le bras AS+SP et 5 sujets n'ont pas présenté les critères d'analyse du logiciel PCE du WWARN (voir annexe 7). Pour le bras AL un cas de perdu de vu et 4 sujets exclus par le logiciel ont été observés.

Tableau II: Les caractéristiques de base de l'échantillon d'étude.

Groupe de traitement	AS+SP	AL
Nombre de sujet(N)	24	21
Age		
Médiane	7	6
Q ₁ -Q ₃	3,75-11,25	4-7
Minimum –Maximum	1,5-30	2-10
Tranches d'Age		
<5 ans % (n/N)	33,33% (8/24)	33,33% (7/21)
≤5 ans % (n/N)	66,67%(16/24)	66,67%(14/21)
Sexe ratio		
Masculin/Feminin	1,4	1,1
Taux d'hémoglobine	10,4	10,5
Médiane		
Q1-Q3	9,8-12,85	9,7-11
Minimum -Maximum	8,8-14,6	7,7-12,7

Q1: Premier quartile, Q3: Troisième quartile, AL: Artéméther-luméfantrine, AS+SP: Artésunate+sulfadoxine-pyriméthamine

La tranche d'âge ≥ 5 ans était plus élevée avec 66,67% pour chacun des deux bras. Le sexe ratio était en faveur du sexe masculin dans les deux bras de traitement avec respectivement 1,4 pour l'AS+SP et 1,1 pour l'AL. De manière générale, les caractéristiques biologiques et sociodémographiques des sujets à l'inclusion étaient similaires entre les deux bras de traitement.

2. Clairance parasitaire des sujets suivis aux heures H0, H8, H16, H24, H36, H48 et H60

Tableau III: Paramètres de clairance parasitaire par bras de traitement.

Caractéristiques	AS+SP	AL
Taille analysée	19	16
Demi-vie de la pente de clairance $T_{1/2}$ (heure)		
Médiane :	1,69	1,90
Q1-Q3	1,32 – 2,15	1,54-2,46
Clairance parasitaire de 95% PC95 (heure)		
Médiane :	14,68	17,53
Q1-Q3	10,96 – 20,57	10,76-22,60
Valeurs extrêmes :	Néant	Néant
Parasitémie positive à H24 % (n/N)	31,57 (6/19)	43,75(7/16)
Parasitémie positive à H60 (J3) % (n/N)	0,00 (0/19)	0,00(0/16)

Q1: Premier quartile, Q3: Troisième quartile, PC95: Temps nécessaire pour éliminer 95% de la parasitémie initiale, $T_{1/2}$: demi, AS+SP: Artésunate+sulfadoxine-pyriméthamine, AL: Artéméther-luméfantine

Nous remarquons sur ce tableau que la demi-vie médiane et le PC95 étaient respectivement de 1,69 heure et 14,68 heures pour l'AS+SP et de 1,90 heure et 17,53 heures pour l'AL. Le pourcentage des lames positives à H24 était respectivement de 31,57% pour l'AS+SP et de 43,75% pour l'AL. Aucune lame n'était positive à H60. Toutefois il n'y avait pas de différence statistiquement significative entre les demi-vies médiane de clairance parasitaire des deux bras (test de Mann Whitney, $p = 0,24$) et aucun d'eux ne renfermait une valeur extrême.

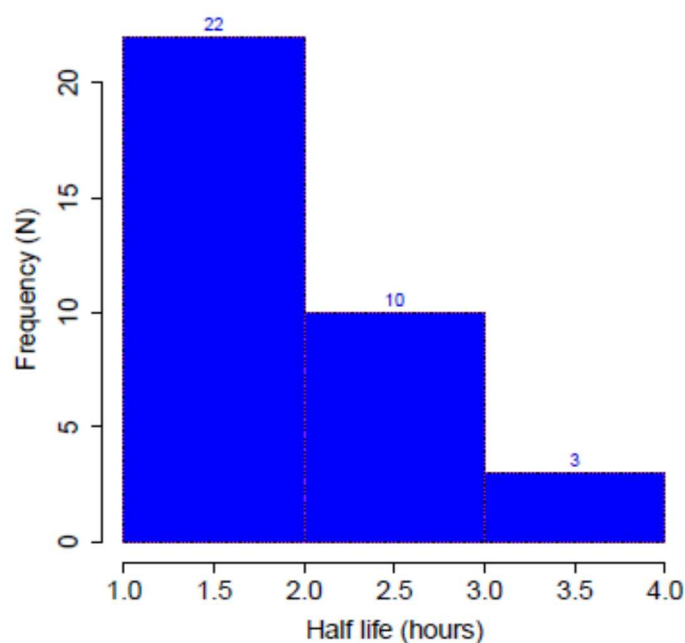
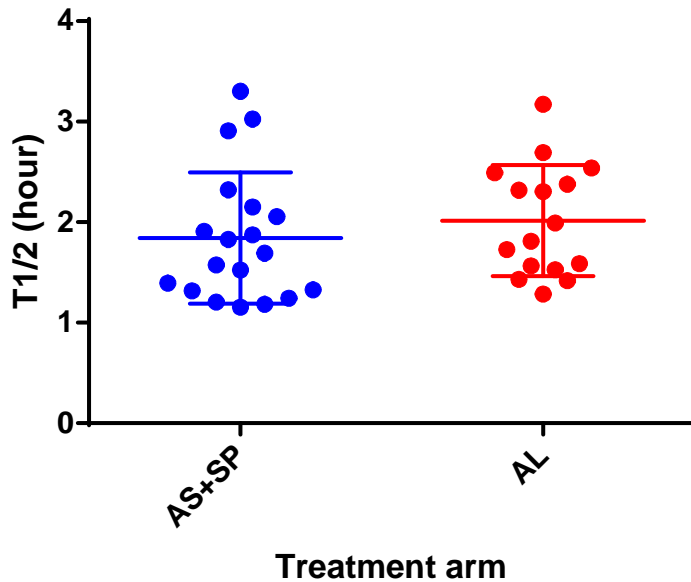


Figure 5: Distribution de la demi-vie de la clairance parasitaire.

Nous observons sur cet histogramme que la distribution de la demi-vie de la clairance parasitaire n'était pas normale. La distribution de la demi-vie de clairance parasitaire de la majorité de notre population d'étude (22 /35) se situait entre 1 et 2 heures.

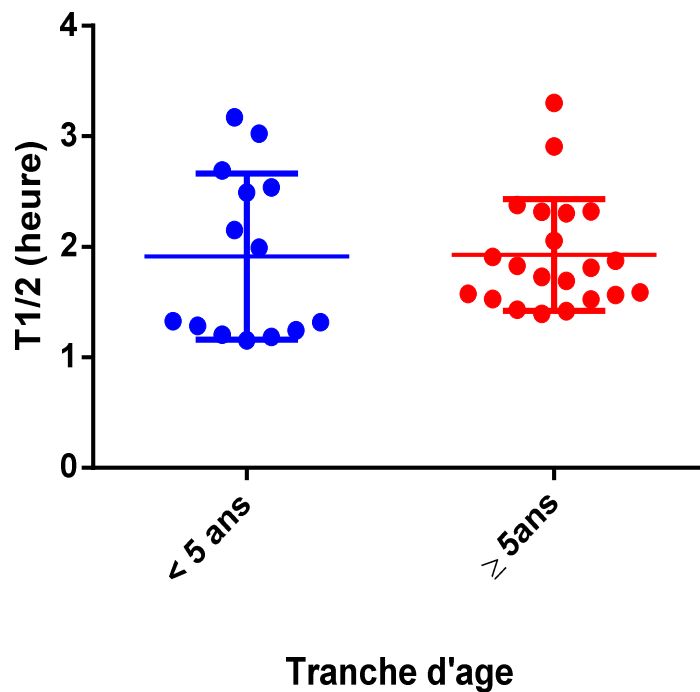


T_{1/2}: demi, AS+SP: Artésunate+sulfadoxine-pyriméthamine, AL: Artéméther-luméfantrine

Figure 6: Distribution des demi-vies de la clairance parasitaire selon les bras de traitement.

La distribution des demi-vies étaient similaires dans les deux bras de traitement. En faisant un test de Mann Whitney, nous n'avons trouvé aucune différence significative entre les demi-vies de la clairance parasitaire des deux combinaisons (p =0, 24)

3. Clairance parasitaire et âge

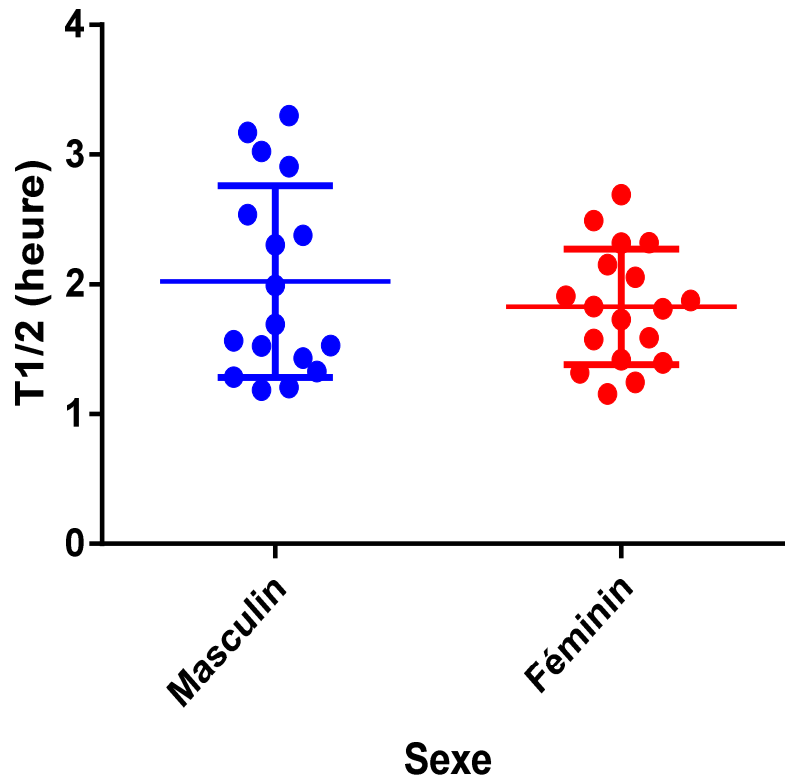


T_{1/2}: demi

Figure 7: Distribution des demi-vies de la clairance parasitaire selon l'âge.

Cette figure nous ne montre pas de différence significative dans la distribution des demi-vies de la clairance parasitaire entre les tranches d'âge de 0-5 ans et de 5 ans et plus (test de Mann Whitney, $p=0,49$).

4. Clairance parasitaire et sexe



T_{1/2}: demi

Figure 8: Distribution des demi-vies de la clairance selon le sexe.

Cette figure nous montre la distribution des demi-vies dans les deux sexes. Aucune différence significative n'a pu être observée après comparaison (test de Mann Whitney, $p=0,70$).

5. Clairance parasitaire et réponse thérapeutique

Avant la correction moléculaire, 10,52% des sujets ont fait un échec thérapeutique dans le bras AS+SP et 50% dans le bras AL. Il n'y a pas de différence significative entre ces sujets et ceux qui n'ont pas fait d'échec thérapeutique avant la correction moléculaire ($p\text{-value}=0,14$).

Nous n'avons pas trouvé d'échec thérapeutique après la correction moléculaire dans les deux bras de traitement.

VII. Discussion

1. Méthodologie

L'étude principale a été un essai *in vivo* de non-infériorité, randomisé contrôlé et ouvert comparant la CTA artésunate+sulfadoxine-pyriméthamine à celle de référence, l'artéméther-luméfántrine. Une sous cohorte a été sélectionnée de façon aléatoire dans les deux bras pour déterminer les taux de clairance parasitaire.

L'étude a porté sur 45 sujets volontaires avec 24 sujets pour le bras AS+SP et 21 sujets pour le bras AL.

Les sujets âgés de 6 mois et plus résidant à Banambani constituaient la population cible. Le choix de Banambani relève de l'endémicité intense du paludisme dans cette localité. La transmission du paludisme est saisonnière à Banambani, due à *Anophèles gambiae s.l* et *Anophèles funestus s.l*. La période de haute transmission correspond à la saison pluvieuse (Juin à Novembre). Cette étude nous a permis d'adopter le protocole de suivi de 28 jours de l'OMS. Il est mieux indiqué pour surveiller les répartitions tardives de la parasitémie et ou des manifestations cliniques.

L'administration des médicaments au centre de santé était effectuée afin d'assurer une meilleure adhérence au traitement.

Les études sur les combinaisons à base de dérivés d'artémisinine effectuées au Kenya, Sénégal, Gabon en 1999-2000 [54], en Gambie en 1996 [67], au Mali en 2011[68] ont toutes utilisé le protocole de 28 jours de l'OMS. Toutes ces études étaient randomisées. Cependant, la taille de notre échantillon d'étude était relativement faible.

2. Clairance parasitaire de sujets suivis aux heures H0, H8, H16, H24, H36, H48 et H60

Nous avons trouvé que les demi-vies médianes de la clairance parasitaire dans les deux bras de traitement étaient courtes et comparables ($p=0,24$), soit 1,69 heure pour le bras AS+SP et de 1,90 heure pour le bras AL. Le temps nécessaire pour éliminer 95% de la parasitémie initiale était rapide dans les deux bras de traitement avec 14,68 heures pour le bras AS +SP et 17,53 heures pour le bras AL. Toute la population de notre étude avait éliminé leur parasitémie à 60 heures de traitement. Cela prouve l'efficacité similaire des médicaments utilisés dans notre étude. Ces résultats sont comparables à ceux observés dans l'étude de l'artésunate en monothérapie par voie orale à Bougoula-Hameau au Mali, où la demi-vie

médiane de la clairance parasitaire était de 2,07 heures, les sujets avaient éliminés 95% de leur parasitémie initiale en 16,9 heures et aucune lame n'était positive à H60 du suivi [68]. Nos résultats sont aussi comparables à ceux observés avec les dérivés de l'artémisinine dans la République Démocratique du Congo, où la demi-vie médiane de la clairance parasitaire était de 2,2 heures pour AL et 1,9 heure pour l'artésunate en monothérapie [7]. Les résultats de notre étude concordent avec ceux observés dans l'étude de combinaison à base d'artémisinine au Kenya, Sénégal, Gabon avec AS/AQ [54], en Gambie avec AL [67] où 100% des malades avaient des parasitémies négatives à 60 heures du traitement. L'élimination rapide de la masse parasitaire pourrait s'expliquer par la rapidité de l'action des dérivés de l'artémisinine et la sensibilité des souches plasmodiales dans ces différentes zones. Nos résultats ne concordent pas avec ceux obtenus avec les dérivés de l'artémisinine à la frontière Thaïlando-Cambodgienne, où la demi-vie médiane de la clairance parasitaire était de 7 heures [7] et 68% des sujets avaient une parasitémie à la 72^{ème} heure du suivi à l'Est de la Thaïlande [7]. Les résultats observés dans notre étude ne sont pas également similaires à ceux observés dans une autre étude réalisée dans l'Ouest du Cambodge où les demi-vies médianes de la clairance parasitaire chez les souches portant les mutations C580Y, R539T, Y493H étaient respectivement de 7,19 heures, 6,64 heures et 6,28 heures [47]. En outre, dans deux autres études du Cambodge et de la Thaïlande, les proportions de sujets parasités à l'heure 72 étaient respectivement de 55% et 8% [12]. Cette différence pourrait s'expliquer par la présence de populations parasitaires résistantes en Asie du Sud-est.

3. Clairance parasitaire et âge

Nous n'avons pas trouvé d'association entre l'âge et la clairance parasitaire avec les deux combinaisons de notre étude ($p=0,49$). Ce résultat n'est pas similaire à celui observé dans l'étude de Bougoula-Hameau [68], où la clairance parasitaire était corrélée à l'âge. Notre résultat ne concorde pas non plus avec ceux trouvés dans les études réalisées au Kenya et en Inde [7], à Pailin et à Wang Pha [12] utilisant l'artésunate en monothérapie par voie orale. Cette différence pourrait s'expliquer par la taille relativement faible de notre échantillon d'étude, l'action des molécules partenaires dans notre étude et l'utilisation de l'estimateur de la clairance parasitaire comme outil de mesure dans notre étude.

4. Clairance parasitaire et sexe

Nous n'avons pas trouvé de différence significative dans la distribution des demi-vies de la clairance parasitaire entre les deux sexes ($p= 0,70$). Ce résultat concorde avec celui trouvé dans l'étude menée à Bougoula-Hameau au Mali en 2011 [68].

5. Clairance parasitaire et réponse thérapeutique

Aucun des sujets de notre étude n'a présenté un échec thérapeutique après la correction moléculaire. Ce résultat est comparable à celui observé dans l'étude de Bougoula-Hameau où le taux de guérison avec l'artésunate en monothérapie était de 100% après la correction moléculaire chez les sujets suivis pour la clairance parasitaire [68]. La sensibilité des souches plasmodiales aux dérivés de l'artémisinine et l'efficacité des CTA au Mali pourrait justifier ce résultat. Par contre les études réalisées en Asie du Sud-est montrent des échecs thérapeutiques plus fréquents avec les dérivés de l'artémisinine [7, 12, 69]. Cette différence pourrait s'expliquer par la résistance de *P. falciparum* aux dérivés de l'artémisinine dans cette zone.

VIII. Conclusion

Au terme de notre étude, les résultats ont montré que les clairances parasitaires de l'AS+SP et de l'AL étaient rapides et similaires. Aucun sujet parasité n'a été constaté à 60 heures du traitement. Notre étude montre que les deux CTA de notre étude (AS+SP et AL) demeurent toujours efficaces au Mali.

IX. Recommandations

Aux chercheurs et bailleurs de fonds

- Continuer à effectuer des études de suivi de la clairance parasitaire des CTA dans le but de surveiller l'efficacité des CTA.

Aux autorités sanitaires et au PNLP

- Explorer sur une taille d'échantillon plus grande du potentiel de l'AS+SP dans le contexte de toutes les autres interventions contre le paludisme, notamment le traitement préventif intermittent chez les femmes enceintes (TPIp).

Références

1. World Health Organisation. Comité d'expert du paludisme : vingtième rapport. Genève; 2000.
2. World Health Organization. World malaria report 2014. Geneva; 2014.
3. Brabin B.J, Hakimi M, and Pelletier D. An analysis of anemia and pregnancy-related maternal mortality. *J.Nutr.* 2001. **131**: 604-614.
4. Greenwood B. Progress in malaria control in endemic areas. *Travel medicine and infectious disease*.2008. **6**:173-176.
5. Murphy S.C and Breman J.G. Gaps in the childhood malaria burden in Africa: Cerebral malaria, neurological sequelae, anemia, respiratory distress, hypoglycaemia, and complications of pregnancy. *Am J Trop Med and Hyg* .2001.**64**:57-56.
6. Institut National de la Statistique. Enquête démographique de santé du Mali. Bamako; 2014.
7. Ashley E.A, Dhorda M, Fairhurst R.M, *et al.* Spread of Artemisinin Resistance in *Plasmodium falciparum* Malaria. *N Engl J Med*.2014.**371**:411-423.
8. Liao F. Discovery of Artemisinin. *Molecules*. 2009.**14** : 5362-5366.
9. Balint G.A. Artemisinin and its derivatives: an important new class of antimalarial agents. *Pharmacol. Ther.* 2001. **90**: 261-265.
10. Bhattarai A, Ali A.S, Kachur S.P, *et al.* Impact of artemisinin-based combination therapy and insecticide-treated nets on malaria burden in Zanzibar. *PLoS Med* .2007.**4**:309.
11. Noedl H, Se Y, Schaefer K, *et al.* Evidence of artemisinin-resistant malaria in western Cambodia. *N Engl J Med* .2008.**359**:2619-2620.
12. Dondorp A.M, Nosten F, Yi P, *et al.* Artemisinin resistance in *Plasmodium falciparum* malaria. *N Engl J Med* .2009.**361**:455-467.
13. Mita T, Meera V, Jun O, *et al.* Limited geographical origin and global spread of sulfadoxine resistant dhps alleles in *Plasmodium falciparum* populations. *J. Infect. Dis.* 2011.**204**:1980-1988.
14. Roper C, Pearce R, Nair S, *et al.* Intercontinental spread of pyriméthamine resistant malaria.*Science*.2004.**305**: 1124.
15. World Health Organization. Global Plan for Artemisinin Resistance Containment. Geneva; 2011.

16. Gentilini M, Duflo B. Maladies parasitaires : paludisme. In: *Médecine Tropicale*. Paris : Flammarion-Médecine Sciences, 5^e éd.1993.p 928.
17. Carne B, Kenmogne D, Copin N, and Mbitsi A. Indices plasmodiques et charges parasitaires chez des donneurs de sang à Brazaville CONGO. *Ann.Soc.Belge Med Trop*. 1993.**73**:179-187.
18. Durie H and Habu M. Paludisme congénital. *Med Trop*. 1992.**52**:175-178.
19. Thuy H.T, Shamilah H, Marta L, *et al*. First case of a naturally acquired human infection with *Plasmodium cynomolgi*. *Malaria Journal*.2014.**13**:68.
20. NCBI taxonomy browser (*Plasmodium*). Available at <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=5820>
21. Tulane University course of Medical Protozoology (TRMD 607): Distinguishing *Plasmodium* species. Jan 2009, chapter 15, PD 60-67. Available at http://www.tulane.edu/~wiser/protozoology/notes/pl_sp.html
22. Liu W, Li Y, Shaw K.S, *et al*. African origin of the malaria parasite *Plasmodium vivax*. *Nat Commun*.2014.**5**:3346.
23. Colin J. S, Naowarat T, Debbie N, *et al*. Two non recombining sympatric forms of the human malaria parasite *plasmodium ovale* occur globally. *The Journal of Infectious Diseases*. 2010. **201**:1544-1550.
24. Mary C.O, Martha B, Martina B, *et al*. *Plasmodium ovale curtisi* and *Plasmodium ovale wallikeri* circulate simultaneously in African communities. *International Journal for Parasitology*.2011.**41**: 677–683.
25. Dzikowski R, Templeton T.J, and Deitsch K. Variant antigen gene expression in malaria. *Cell Microbiol*. 2006. **8**: 1371-1381.
26. Fiona A, Yan-Hong T, Angelika St, *et al*. Malaria parasite colonisation of the mosquito midgut – Placing the *Plasmodium* ookinete centre stage. *Int. J. Parasitol*.2012.**42**: 519-527.
27. Bricaire F, Wolff M, and Charmot G. Paludisme. Paris : Editions Techniques - Encycl. Med. Chir. Thérapeutique. 25064 A 10, 11 – 1990.p 12.
28. Miller L.H, Baruch D.I, Marsh K, and Doumbo O.K. The pathogenic basis of malaria. *Nature*.2002.**42**: 251-256.
29. Looareesuwan S, Wilairatana P, Viravan C, *et al*. Reduced erythrocyte survival following clearance of malarial parasitaemia in thai patients.*Bul. J. haematol* .1997.**67**:473-478.

30. Warrell D A. Path physiology of severe *falciparum* malaria in man. *Parasitology* .1987.**94**:53-76.
31. Clarck I.A, Alleva L.M, Mills A.L, and Cowden W.B. Pathogenesis of malaria and clinically similar conditions. *Clin.microbiol.Rev.* 2004.**17**: 509-539.
32. Warrell D.A, Theakston R. D,Phillips R. E, *et al.* Severe and complicated malaria.*Trans. R. Soc. Trop. Med. And hyg.*1990.**84**:301-308.
33. Sitprija V. Nephropathy in *falciparum* malaria. *Kidney internation* .1988.**34**:867-877.
34. Adam C, Geniteau M, Gougerot-Pocidallo M, *et al.* Cryoglobuline, circulating immune-complexes and complement activation in cerebral malaria.*Infect.Immun.*1981. **31**: 530-535.
35. Ministère de la Santé. Politique nationale de lutte contre le paludisme du Mali. Bamako.2009.
36. World Health Organization. WHO policy recommendation: seasonal malaria chemoprevention (SMC) for *Plasmodium falciparum* malaria control in high seasonal transmission area of the Sahel sub-region in Africa. Geneva; 2012.
37. Bouchaud O, Le Bras J, Regnier B, *et al.* Paludisme : dans Médicaments anti-infectieux de Carbon C.1^{ère} édition. Paris: *Flammarion Medecine-Sciences.*1995, p506.
38. Robert A, Benoit V.F, Claparols C, and Meunier B. The antimalarial drug artemisinin alkylates heme in infected mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2005. **102**: 13676-13680.
39. Asawamahasakda W, Ittarat I, Pu Y.M, and Ziffer H. Reaction of antimalarial endoperoxides with specific parasite proteins. *Antimicrob.Agents Chemother.*1994.**38**: 1854-1858.
40. Meshnick S.R, Little B and Yang Y.Z. Alkylation of proteins by artemisinin. *Biochem. Pharm.*1994.**48**: 569-573.
41. Bhisutthibhan J, Pan X.Q, Hossler P.A, *et al.* The *Plasmodium falciparum* translationally controlled tumor protein homolog and its reaction with the antimalarial drug artemisinin. *J. Biol. Chem.*1998. **273**:16192-16198.
42. Eckstein L.U, Webb R.J, van Goethem I.D.A, *et al.* Artemisinins target the SERCA of *Plasmodium falciparum*. *Nature.*2003.**424**: 957-961.
43. Xiao S.H, Yao J.M, Utzinger J, *et al.* Selection and reversal of *Plasmodium berghei* resistance in the mouse model following repeated high doses of artemether. *Parasitol. Res.*2004.**92**:215-219.

44. Ittarat W, Pickard A.L, Rattanasinganchan P, *et al.* Recrudescence in artesunate-treated patients with *falciparum* malaria is dependent on parasite burden not on parasite factors. *Am. J. Trop.Med.Hyg.*2003.**68**:147-162.
45. Pickard A.L, Wernsdorfer W.H, and Meshnick S.R. Epidemiology of drug resistant malaria. *Lancet Infect Dis.*2002.**2**:209-218.
46. Cheng Q, Kyle D.E, and Gatton M.L. Artemisinin resistance in *Plasmodium falciparum*: a process linked to dormancy? *Int. J. Parasitol. Drugs Drug Resist.*2012.**2**: 249-255.
47. Frédéric A, Benoit W, Chanaki A, *et al.* A molecular marker of artemisinin-resistant *Plasmodium falciparum* malaria. *Naure.*2014.**505**:50-55.
48. Price R.N, Nosten F, Luxemburger C, *et al.* Effects of artemisinin derivatives on malaria transmissibility. *Lancet.* 1996.**347**: 1654-1658.
49. World Health organisation. Les combinaisons thérapeutiques antipaludiques. Rapport d'une consultation technique de l'OMS. Genève; 2001.
50. Bousema J.T, Schneider P, Gouagna L.C, *et al.* Moderate effect of artemisinin-based combinaison therapy on transmission of *Plasmodium falciparum*. *J Infect Dis.* 2006.**193**:1151-1159.
51. Van Vugt M, Wilairatana P, Gemperli B *et al.*Efficacy of six doses or artemether-benflumetol in the treatment of multi-drug resistant *falciparum* malaria.*Am. J. Trop. Med. Hyg.*1999.**60**: 936–942.
52. Piero Olliaro and Philippe Brasseur. Malaria therapeutics biomedical research. *Bull. Acad. Natle Méd.*2007.**191**: 1285-1292.
53. McGready R, Stepniewska K, Lindegardh N, *et al.* The pharmacokinetics of artemether and lumefantrine in pregnant women with uncomplicated *falciparum* malaria. *Eur. J. Clin. Pharmacol.*2006.**62**: 1021-1031.
54. Adjuik M, Agnamey P, Babiker A, *et al.* Amodiaquine-artesunate versus amodiaquine for uncomplicated *Plasmodium falciparum* malaria in African children: a randomised, multi-central trial. *Lancet.*2002.**359**: 1365-1372.
55. World Health Organization. Update on artemisinin resistance. Geneva; 2012.
56. World Health Organization. Status report on artemisinin resistance. Geneva; 2014.
57. World Health Organization. Global report on antimalarial efficacy and drug resistance: 2000-2010. Geneva; 2011.

58. Taylor SM, Parobek CM, DeConti DK, *et al.* Absence of putative artemisinin resistance mutations among *Plasmodium falciparum* in Sub-Saharan Africa: a molecular epidemiologic study. *J Infect Dis.*2015.**211**:680-688.
59. Kamau E, Campino S, Amenga-Etego L, *et al.* K13-Propeller Polymorphisms in *Plasmodium falciparum* Parasites from Sub-Saharan Africa. *J Infect Dis.*2015.**211**:1352-1355.
60. White N.J. Assessment of the pharmacodynamic properties of antimalarial drugs *in vivo*. *Antimicrob Agents Chemother* .1997.**41**:1413-1422.
61. White N.J, Pongtavornpinyo W, Maude R.J, *et al.* Hyperparasitaemia and low dosing are an important source of anti-malarial drug resistance. *Malar J.*2009.**8**:253.
62. Gadalla N.B, Elzaki S.E, Mukhtar E, *et al.* Dynamics of pfcr1 alleles CVMNK and CVIET in chloroquine-treated Sudanese patients infected with *Plasmodium falciparum*. *Malaria Journal.*2010.**9**:74.
63. Khalid B.B, Rachel L.H, Alice C.E, *et al.* Measuring the efficacy of anti-malarial drugs *in vivo*: quantitative PCR measurement of parasite clearance. *Malaria Journal* .2010.**9**:312.
64. Silamut K, and White N.J. Relation of the stage of parasite development in the peripheral blood to prognosis in severe *falciparum* malaria. *Trans R Soc Trop Med Hyg.*1993.**87**:436-443.
65. White N.J, Chapman D, and Watt G. The effects of multiplication and synchronicity on the vascular distribution of parasites in *falciparum* malaria. *Trans R Soc Trop Med Hyg.*1992.**86**:590-597.
66. Jennifer A.F, Philippe J.G, Nicholas J.W, *et al.* Standardizing the measurement of parasite clearance in *falciparum* malaria: the parasite clearance estimator.*Malaria Journal.*2011.**10**:339.
67. Von S.L, Jawara M, Coleman R, *et al.* Parasitémie et gamétoctémie après traitement à la chloroquine, à la sulfadoxine-pyriméthamine, à l'association artesunate+SP chez les enfants atteints d'accès palustre simple en Gambie.*Trop Med Int Health* .2001.**6**:92-98.
68. Amelia W. M, Bakary F, Issaka S, *et al.* No Evidence of Delayed Parasite Clearance after Oral Artesunate Treatment of Uncomplicated *Falciparum* Malaria in Mali. *Am. J. Trop.Med.Hyg.*2012. **87**: 23-28.
69. Miotto O, Almagro-Garcia J, Manske M, *et al.* Multiple populations of artemisinin resistant *Plasmodium falciparum* in Cambodia. *Nat Genet.* 2013.**45**:648-655.

Annexes

Annexe 1: Critères de gravité du paludisme selon l'OMS

Trouble de la conscience (score de Glasgow <15 et >9)
Convulsions répétées (> 1/ 24 heures)
Prostration
Syndrome de détresse respiratoire
Ictère (clinique)
Acidose métabolique (bicarbonates plasmatiques < 15 mmol/L)
Anémie grave (Hb< 5g/dl ou Ht< 15%)
Hyperparasitémie (> 4% chez le sujet non immun ou > 20% chez le sujet immun)
Hypoglycémie (< 2,2 mmol/L)
Hémoglobinurie macroscopique
Insuffisance rénale -Adulte : diurèse< 400 mL /24h ou créatininémie > 265 µmol/L - Enfant : diurèse < 12mL/kg/24h ou créatininémie élevée pour l'âge
Collapsus circulatoire (TAS <50 mm Hg avant 5 ans, TAS < 80 mm Hg après 5 ans)
Hémorragie anormale
Oedème pulmonaire (radiologique)

Annexe 2: Classification des réponses thérapeutiques

1. Echec thérapeutique précoce

- Signe de danger ou paludisme grave aux jours 1,2 ou 3 avec parasitémie
- Parasitémie au jour 2 plus élevée que celle du jour 0 quelque soit la température axillaire
- Parasitémie au jour 3 avec température axillaire $\geq 37,5^{\circ}\text{C}$
- Parasitémie au jour 3 $\geq 25\%$ de celle du jour 0

2. Echec clinique tardif

- Signes de dangers ou paludisme sévère avec parasitémie entre les jours 4 et 28 (42 ou 63) chez les patients qui n'avaient au préalable présenté aucun critère d'échec thérapeutique précoce
- Parasitémie entre les jours 4 et 28 (42 ou 63) avec une température axillaire $\geq 37,5^{\circ}\text{C}$ chez les patients qui n'avaient au préalable présenté aucun critère d'échec thérapeutique précoce

3. Echec parasitologique tardif

- Parasitémie entre les jours 7 et 28 (42 ou 63) avec une température axillaire $< 37,5^{\circ}\text{C}$ chez les patients qui n'avaient au préalable présenté aucun critère d'échec thérapeutique précoce ou d'échec clinique tardif

4. Réponse clinique et parasitologique adéquate

- Absence de parasitémie au jour 28 (42 ou 63) quelque soit la température axillaire chez les patients qui n'avaient au préalable présenté aucun critère d'échec thérapeutique précoce, d'échec clinique tardif ni d'échec parasitologique tardif

Annexe 3: Fiche d'enregistrement du patient

Site d'étude:.....		
Nom:.....	Prénom:.....	Sexe (M /F)
Numéro d'étude: ____/	Numéro d'identification: ____.	
Age (mois):.....	Poids(Kg): ____	Taille (cm): ____
Age (année):.....		
Ethnie:.....	Nom de la mère:.....	
Adresse (domicile):.....		
Début de la maladie (jour):	si oui à spécifier:.....	
Médicaments antipaludiques: Oui/Non		

Annexe 4: Calendrier de suivi des patients

Examen Physique		Numéro d'étude:							
Jour de Visite	0	1	2	3	7	14	21	28	VI
Date	__/__/__	__/__/__	__/__/__	__/__/__	__/__/__	__/__/__	__/__/__	__/__/__	__/__/__
Temp Axillaire	.-.-	.-.-	.-.-	.-.-	.-.-	.-.-	.-.-	.-.-	.-.-
Déshydratation	O N	O N	O N	O N	O N	O N	O N	O N	O N
Malnutrition	O N	O N	O N	O N	O N	O N	O N	O N	O N
Anémie/pâleur	O N	O N	O N	O N	O N	O N	O N	O N	O N
Icteur/Jaunice	O N	O N	O N	O N	O N	O N	O N	O N	O N
Détrèsse Resp	O N	O N	O N	O N	O N	O N	O N	O N	O N
Examen anormal du poumon	O N	O N	O N	O N	O N	O N	O N	O N	O N
Splénomégalie	0 1 2 3 4 5	0 1 2 3 4 5	0 1 2 3 4 5	0 1 2 3 4 5	0 1 2 3 4 5	0 1 2 3 4 5	0 1 2 3 4 5	0 1 2 3 4 5	0 1 2 3 4 5
Initial									

Tests de laboratoire												
Jour de suivi	H0 (J0)	H8	H16	H24 (J1)	H36	H48 (J2)	H60 (J3)	J7	J14	J21	J28	VI
Date de visite	___/___	___/___	___/___	___/___	___/___	___/___	___/___	___/___	___/___	___/___	___/___	___/___
Heure de visite	.-.-	.-.-	.-.-	.-.-	.-.-	.-.-	.-.-	.-.-	.-.-	.-.-	.-.-	.-.-
Confettis PCR	O N	O N	O N	O N	O N	ON	ON	O N	O N	O N	O N	ON
Prélèv. veineux	ON	ON	ON	ON	ON	ON	ON	ON	ON	ON	ON	ON
<i>P. falciparum</i>												
<i>G.falciparum</i>												
<i>P. malariae</i>												
<i>P. ovale</i>												
HGB g/dl	.-.-								.-.-		.-.-	.-.-
Initial												

Evaluation générale : ETP ECT EPT RCPA
Initial...

Perdu de vue : O ou N si oui les raisons :

Annexe 5: Contrôle de qualité des gouttes épaisses

Les parasitémies ont été évaluées par la goutte épaisse à travers le décompte des formes asexuées sur ≥ 300 leucocytes. En effet, le quotient de la division du nombre des formes asexuées par les 300 leucocytes ou plus était multiplié par 7500 pour estimer la parasitémie en nombre de formes asexuées par microlitre de sang. Les frottis minces servaient pour confirmer la mono-infection exclusive à *P. falciparum* au jour 0 ou l'apparition d'autres espèces de plasmodie durant les suivis. A la fin de la phase de terrain de l'étude, tous les frottis minces/gouttes épaisses ont été relus par un lecteur indépendant et expérimenté. La troisième lecture était envisagée par un autre microscopiste certifié et expérimenté pour arbitrer entre les deux premiers lecteurs à chaque fois qu'il y avait une discordance qualitative ou quantitative. La discordance qualitative était constatée lorsque le deuxième lecteur trouvait une autre espèce de plasmodie. La discordance quantitative était calculée en divisant la différence des deux parasitémies par leur moyenne. La troisième lecture était ordonnée quand la discordance dépassait 25% (discordance significative) pour les parasitémies de 1-999/ μ l et 50% (discordance significative) pour les parasitémies $\geq 1000/\mu$ l. Ainsi, en absence de discordance, la moyenne des deux lectures était retenue pour les analyses. Par contre, avec les cas de discordance quantitative significative, la moyenne entre la troisième lecture et la plus proche des deux autres lectures était adoptée. Par ailleurs, toute présence d'une autre espèce de plasmodie au jour 0 et toute parasitémie en dehors de 1000 – 200000/ μ l confirmées par le troisième lecteur permettait d'écarter ces cas des analyses.

Annexe 6: Formulaire de consentement

Formulaire de consentement éclairé pour les enfants ou les mineurs

Le présent formulaire est destiné aux parents ou tuteurs d'enfants qui viennent en consultation au centre de santé et ont été invités à participer à une étude intitulée: Essai in vivo de la sensibilité de *P. falciparum* à la combinaison AS/SP en zones sous pression thérapeutique par des dérivés d'artémisinine et étude de phénotypes parasitaires et de marqueurs moléculaires de résistance au Mali.

Nom de l'investigateur principal: _____

Nom de l'organisation: _____

Nom du sponsor : _____

Intitulé de la proposition et de la version: _____

Le présent formulaire comporte deux parties:

I. Information générale (ayant pour objet de vous communiquer des informations sur l'étude menée)

II. Certificat de consentement (à signer, si vous acceptez de participer à l'étude)

Il vous sera remis un exemplaire du formulaire intégral de consentement éclairé.

Partie I. Information générale

Je m'appelle et je travaille pour l'Université des Sciences, Techniques et Technologies de Bamako. Nous menons actuellement une étude sur le traitement du paludisme. Le paludisme est une maladie dangereuse, qui peut toutefois être traitée par des médicaments. Le but de l'étude est de confirmer que le médicament, qui se nomme Artésunate/SP (ARTECOSPE®), est toujours efficace pour soigner le paludisme.

Nous invitons votre enfant à participer à cette étude.

Je vais vous donner des informations et inviter votre enfant à participer à cette étude de surveillance. Avant de prendre votre décision, vous pouvez parler avec toute personne avec laquelle vous vous sentez à l'aise. Certains mots vous paraîtront peut-être difficiles à comprendre. N'hésitez pas à m'interrompre pendant la présentation et je prendrai le temps de vous donner des explications. Si vous avez d'autres questions ultérieurement, vous pourrez me les poser ou demander au docteur chargé de l'étude ou au personnel.

La participation de votre enfant à l'étude est entièrement volontaire. Si vous ne souhaitez pas que votre enfant y participe il continuera à bénéficier de tous les services du centre de santé.

Et il en sera de même si vous donnez votre consentement aujourd'hui mais décidez ultérieurement de changer d'avis et de vous retirer.

Vous recevrez au hasard, soit de l'artéméther-luméfantine ou de l'artésunate plus sulfadoxine-pyriméthamine. La durée de traitement est de 3 jours pour chacun de ces médicaments. Les médicaments d'étude sont recommandés par le Ministère de la Santé pour le traitement de paludisme non compliqué au Mali. Le Ministère fait des études de façon régulière pour vérifier qu'ils conservent leur efficacité. On sait que ces médicaments sont très efficaces, mais vous devez savoir qu'ils peuvent avoir des effets secondaires mineurs: Les effets secondaires peu rares liés à la prise de ces médicaments sont : les maux de tête, nausées, vomissements, carence en folate. De très rares cas de réactions cutanées sévères telles que le syndrome de Stevens Jonson, érythème polymorphe, érythrodermie bulleuse avec épidermolyse ont été rapportés avec la sulfadoxine-pyriméthamine. Cependant, pris en dose unique, la sulfadoxine-pyriméthamine est bien tolérée.

Les dérivés de l'artémisinine (l'artésunate et l'artéméther) sont des médicaments recommandés par l'OMS et le Ministère de la Santé pour le traitement du paludisme. Cependant, dans quelques rares cas, de légères modifications biologiques peuvent survenir : baisse du nombre de réticulocytes et une augmentation légère et transitoire des transaminases. En général, ces modifications ne donnent pas lieu à des manifestations cliniques. Les dérivés de l'artémisinine sont parmi les antipaludiques les mieux tolérés.

Si nous constatons que le médicament n'est plus efficace, nous utiliserons un médicament dit « de secours ». Il s'appelle la quinine et est administrée sur 7 jours.

Au cours du suivi, on prélèvera 7 fois, une fois à chaque visite, un petit peu de sang au bout du doigt de votre enfant. Il ressentira peut-être une légère douleur ou aurez peut-être une légère appréhension lorsque l'on vous piquera le doigt. La douleur devrait disparaître en une journée. Le sang sera recueilli sur une lame ou un petit morceau de papier. Les prélèvements sanguins seront utilisés pour étudier le paludisme dans le sang. L'examen des prélèvements sera réalisé après l'étude et n'aura pas d'incidence sur la réussite du traitement. Votre sang servira uniquement à cela.

L'étude durera 28 jours. Pendant cette période, vous devrez venir au centre de santé une heure par jour, pendant 7 jours. Au bout d'un mois, l'étude sera terminée. A chaque consultation, un médecin vous examinera.

Aujourd'hui, nous effectuerons un prélèvement de sang qui sera analysé. Après les tests, vous recevrez la première dose de traitement.

A la 2^e consultation, vous recevrez la deuxième dose de traitement.

A la 3^e consultation, vous recevrez la troisième dose de traitement et un prélèvement sanguin sera effectué.

Aux 4^e, 5^e, 6^e, 7^e, 8^e consultations, un prélèvement de sang sera effectué si vous n'êtes pas suivi pour la clairance ; Aux H0, H8, H16, H24, H36, H48, H60, J7, J14, J21, J28 si vous êtes suivi pour la clairance.

Le médicament peut avoir certains effets indésirables ou inattendus ; toutefois, nous vous suivrons étroitement et surveillerons ces effets, s'il y a lieu, ainsi que tout autre problème. Nous vous donnerons un numéro de téléphone où vous pourrez nous joindre si vous remarquez quelque chose d'inhabituel ou si vous avez des préoccupations ou des questions. Vous pourrez également vous rendre au centre de santé à n'importe quel moment et demander à voir le médecin ou appeler l'investigateur principal le Dr Antoine Dara au 00223 76 28 73 42 ou le Professeur Ogobara Doumbo au 00223 2022 81 09. Si enfant a des effets secondaires, nous pourrions utiliser un autre médicament, qui sera gratuit et aidera à réduire les symptômes ou les réactions, ou nous pourrions interrompre l'un des médicaments ou plusieurs d'entre eux. Si cela est nécessaire, nous en discuterons ensemble. Vous serez toujours consulté avant de passer à l'étape suivante.

Si vous décidez que votre enfant participe à l'étude, toutes les maladies liées au paludisme ou au traitement antipaludique seront traitées gratuitement. Votre participation nous aidera à vérifier que le médicament est toujours efficace, ce qui sera utile à la société et aux générations futures. Vos frais de déplacement seront remboursés.

Nous ne communiquerons à personne l'identité des patients participant à l'étude. Les informations que nous recueillons dans le cadre de l'étude resteront confidentielles. Toute information vous concernant sera accompagnée non pas de votre nom, mais d'un numéro. Seuls les membres de l'équipe de recherche sauront quel est votre numéro, et cette information ne sera pas accessible.

Les résultats issus de cette seront publiés. Les informations confidentielles ne seront pas communiquées. La présente proposition a été examinée et approuvée par le comité d'éthique de la Faculté de médecine de pharmacie et d'odontostomatologie de l'Université des Sciences, Techniques et Technologies de Bamako. Cette commission a pour tâche de vérifier que les participants à l'étude bénéficient d'une protection. Si vous souhaitez des informations supplémentaires sur la commission d'examen institutionnelle, vous pouvez joindre: Marouf Keita

Mobiles : (223) 66.72.20.22 / (223) 73.05.50.84

Email : mmaroufkeita@yahoo.fr

ou le secrétaire permanent du comité d'éthique le Dr Idrissa Ahmadou CISSE

Tél. : (223) 20.22.52.77 poste 113

Fax : (223) 20.22.96.59

Mob. (223) 76.13.20.11

Email : idicisse@hotmail.com

Partie II. Certificat de consentement

J'ai été invité à faire participer mon enfant à une étude portant sur un médicament utilisé pour traiter le paludisme.

J'ai lu les informations qui précèdent ou elles m'ont été lues. J'ai eu l'occasion de poser des questions et il a été répondu de façon satisfaisante à toutes les questions que j'ai posées. Je consens librement à ce que mon enfant participe à l'étude.

Nom du participant:

Nom du père ou de la mère, ou du tuteur:

Signature du père ou de la mère, ou du tuteur:

Date:

(jour/mois/année)

Signature du témoin: (La signature d'un témoin et l'empreinte digitale du père ou de la mère du participant, ou de son tuteur, ne sont nécessaires que si ces derniers ne savent pas lire et écrire. Dans ce cas, le certificat doit être signé par un témoin sachant lire et écrire. Si cela est possible, cette personne devrait être choisie par le père ou la mère du participant, ou son tuteur, et ne devrait avoir aucun lien avec l'équipe de recherche.)

J'atteste que le formulaire de consentement a été lu fidèlement au père ou à la mère du participant potentiel, ou à son tuteur, qui ont eu la possibilité de poser des questions. Je confirme qu'ils ont donné leur libre consentement.

Nom du témoin: _____ et empreinte digitale du père ou de la mère/du tuteur :

Signature du témoin:

Date:

(jour/mois/année)



Signature de l'investigateur:

J'ai lu fidèlement le formulaire de consentement au père ou à la mère du participant potentiel, ou à son tuteur, ou atteste que le texte de ce formulaire leur a été lu fidèlement et qu'ils ont eu la possibilité de poser des questions. Je confirme qu'ils ont donné leur libre consentement.

Nom de l'investigateur:

Signature de l'investigateur:

Date:

(jour/mois/année)

Une copie du présent formulaire de consentement éclairé a été remise au père ou à la mère du participant, ou à son tuteur. _____ (paraphe de l'investigateur principal/de l'assistant).

Un formulaire d'assentiment sera _____ ou ne sera pas _____ complété.

Formulaire d'assentiment éclairé

Le présent formulaire est destiné aux enfants âgés de 12 à 18 ans de sexe masculin qui viennent en consultation au centre de santé (indiquer le nom du site sentinelle) et ont été invités à participer à une étude visant à évaluer l'efficacité de (nom du (des) médicament(s) antipaludique(s) ou de l' (des) association(s) médicamenteuse(s)) pour le traitement du paludisme à *P. falciparum* non compliqué.

Nom de l'investigateur principal: _____

Nom de l'organisation: _____

Nom du sponsor: _____

Intitulé de la proposition et de la version: _____

Le présent formulaire comporte deux parties:

I. Information générale (ayant pour objet de vous communiquer des informations sur l'étude menée)

II. Certificat d'assentiment (à signer, si vous acceptez de participer à l'étude)

Il vous sera remis un exemplaire du formulaire intégral d'assentiment éclairé.

Partie I. Information générale

Je m'appelle et je travaille pour l'Université des Sciences, Techniques et Technologies de Bamako. Nous menons actuellement une étude sur le traitement du paludisme. Le paludisme est une maladie dangereuse, qui peut toutefois être traitée par des médicaments. Le but de l'étude est de confirmer que le médicament, qui se nomme Artésunate/SP (ARTECOSPE®), est toujours efficace pour soigner le paludisme.

Nous vous invitons à participer à cette étude.

Je vais vous donner des informations et vous inviter à participer à l'étude. Vous pouvez choisir si vous souhaitez ou non y participer. Nous avons discuté de l'étude avec votre père et votre mère, ou l'un d'entre eux, ou votre tuteur, qui savent que nous vous demandons également votre accord. Si vous décidez d'y participer, ceux-ci devront également donner leur

accord. Si vous ne souhaitez pas y prendre part, vous n'êtes pas obligé de le faire, même si vos parents y ont consenti. C'est votre choix. Si vous décidez de ne pas participer à l'étude, rien ne changera ; cet établissement reste votre centre de santé. Même si vous dites « oui » maintenant, vous pourrez changer d'avis plus tard, sans aucun problème. Vous pouvez parler de tout ce qui figure sur ce formulaire avec vos parents ou vos amis, ou toute autre personne avec laquelle vous vous sentez à l'aise. Certains mots vous paraîtront peut-être difficiles à comprendre, ou peut-être voudrez-vous avoir davantage de précisions sur certains points car ils vous intéressent ou vous préoccupent. N'hésitez pas à m'interrompre à n'importe quel moment et je prendrai le temps de vous donner des explications.

Personne conduisant l'entretien: Je me suis assuré auprès de l'enfant qu'il comprend que la participation est volontaire. _____ (paraphe)

Vous recevrez au hasard, soit de l'artéméther-luméfantrine ou de l'artésunate plus sulfadoxine-pyriméthamine. La durée de traitement est de 3 jours pour chacun de ces médicaments. Les médicaments d'étude sont recommandés par le Ministère de la Santé pour le traitement de paludisme non compliqué au Mali. Le Ministère fait des études de façon régulière pour vérifier qu'ils conservent leur efficacité. On sait que ces médicaments sont très efficaces, mais vous devez savoir qu'ils peuvent avoir des effets secondaires mineurs : Les effets secondaires peu rares liés à la prise de ces médicaments sont : les maux de tête, nausées, vomissements, carence en folate. De très rares cas de réactions cutanées sévères telles que le syndrome de Stevens Jonson, érythème polymorphe, érythrodermie bulleuse avec épidermolyse ont été rapportés avec la sulfadoxine-pyriméthamine. Cependant, pris en dose unique, la sulfadoxine-pyriméthamine est bien tolérée.

Les dérivés de l'artémisinine (l'artésunate et l'artéméther) sont des médicaments recommandés par l'OMS et le Ministère de la Santé pour le traitement du paludisme. Cependant, dans quelques rares cas, de légères modifications biologiques peuvent survenir : baisse du nombre de réticulocytes et une augmentation légère et transitoire des transaminases. En général, ces modifications ne donnent pas lieu à des manifestations cliniques. Les dérivés de l'artémisinine sont parmi les antipaludiques les mieux tolérés.

Au cours du suivi, on vous prélèvera, 7 fois, une fois à chaque visite si vous n'êtes pas suivi pour la clairance, aux H0, H8, H16, H24, H36, H48, H60, J7, J14, J21, J28 si vous êtes suivi pour la clairance, un petit peu de sang au bout du doigt. Vous ressentirez peut-être une légère douleur ou aurez peut-être une légère appréhension lorsque l'on vous piquera le doigt. La douleur devrait disparaître en une journée. Le sang sera recueilli sur une lame ou un petit morceau de papier. Les prélèvements sanguins seront utilisés pour étudier le paludisme dans

vosre sang. L'examen des prélèvements sera réalisé après l'étude et n'aura pas d'incidence sur la réussite du traitement. Votre sang servira uniquement à cela.

L'étude durera 28 jours. Pendant cette période, vous devrez venir au centre de santé une heure par jour, pendant 7 jours. Au bout d'un mois, l'étude sera terminée.

Personne conduisant l'entretien: Je me suis assuré auprès de l'enfant qu'il comprend bien le déroulement des tests. _____ (paraphe)

Le médicament peut avoir des effets indésirables ou des effets que nous ne connaissons par aujourd'hui; toutefois, nous vous suivrons étroitement et surveillerons tout effet indésirable, s'il y a lieu, ou tout autre problème. S'il vous arrive quelque chose d'inhabituel, nous avons besoin de le savoir, et vous ne devez pas hésiter à nous appeler à n'importe quel moment pour nous faire part de vos préoccupations ou de vos questions. Si vous tombez malade ou si vous avez des préoccupations ou des questions entre les consultations programmées, vous devrez m'en informer ou en parler à l'infirmière. Il n'est pas nécessaire d'attendre la consultation suivante. Nous avons aussi donné des indications à vos parents sur ce qu'il convient de faire si vous vous blessez ou si vous êtes malade pendant la durée de l'étude.

Personne conduisant l'entretien: Je me suis assuré auprès de l'enfant qu'il comprend les risques ou l'inconfort éventuel. _____ (paraphe)

Si vous décidez de participer à l'étude, toutes les maladies liées au paludisme ou au traitement antipaludique seront traitées gratuitement. Votre participation nous aidera à vérifier que le médicament est toujours efficace, ce qui sera utile à la société et aux générations futures.

Personne conduisant l'entretien: Je me suis assuré auprès de l'enfant qu'il comprend quels sont les avantages de l'étude. _____ (paraphe)

Comme vous habitez assez loin du centre de santé, nous donnerons à vos parents ou à votre tuteur suffisamment d'argent pour qu'il puisse régler le trajet aller-retour et pour (autres dépenses raisonnables).

Nous ne dirons à personne que vous participez à l'étude et aucune information vous concernant ne sera communiquée à des personnes extérieures. Les informations recueillies à votre sujet dans le cadre de l'étude seront rangées et personne ne pourra les voir, à l'exception des membres de l'équipe de recherche. Toute information vous concernant sera accompagnée non pas de votre nom, mais d'un numéro. Seuls les membres de l'équipe de recherche sauront quel est votre numéro, et cette information ne sera pas accessible.

Lorsque la recherche sera terminée, je m'assiérai avec vous, votre père et votre mère, ou l'un d'entre eux, ou avec votre tuteur, pour vous dire ce que nous avons appris. Je vous donnerai également un document avec les résultats. Par la suite, nous parlerons de l'étude et de ce que

nous avons constaté à un plus grand nombre de personnes, de scientifiques et autres personnes intéressées. Pour cela nous établirons des rapports que nous ferons connaître, avec les données qu'ils contiennent, et nous nous rendrons à des réunions avec des personnes qui sont intéressées par les travaux que nous menons. Si vous choisissez de participer à l'étude, je vous donnerai également une copie de ce document. Vous pourrez demander à vos parents de la garder si vous le souhaitez.

Vous pouvez me poser des questions, soit maintenant soit plus tard. Vous pouvez aussi poser des questions à l'infirmière. J'ai préparé un numéro et une adresse où vous pouvez nous joindre, ou, si vous vous trouvez à proximité, vous pourrez venir nous voir. Si vous souhaitez parler à une autre personne que vous connaissez, comme votre maître, votre docteur ou votre tante, cela ne pose aucun problème.

Partie II. Certificat d'assentiment

J'ai été invité à participer à une étude sur l'efficacité d'un médicament antipaludique.

J'ai lu les informations présentées ici (ou ces informations m'ont été lues) et je les comprends.

Il a été répondu à mes questions et je sais que je pourrai poser des questions plus tard si je le souhaite. J'accepte de participer à l'étude. _____ (paraphe)

Ou je ne souhaite pas participer à l'étude et je n'ai pas signé l'assentiment ci-dessous. _____ (paraphe)

Signature de l'enfant (uniquement si l'enfant donne son assentiment):

Nom de l'enfant:

Signature de l'enfant:

Date:

(jour/mois/année)

Signature du témoin: (La signature d'un témoin et l'empreinte digitale de l'enfant ne sont nécessaires que si l'enfant ne sait pas lire et écrire. Dans ce cas, le certificat doit être signé par un témoin sachant lire et écrire. Si cela est possible, cette personne devrait être choisie par le participant et ne devrait avoir aucun lien avec l'équipe de recherche.)

J'atteste que le formulaire d'assentiment a été lu fidèlement au participant potentiel, qui a eu la possibilité de poser des questions. Je confirme que le participant a donné son libre consentement.

Nom du témoin:

et empreinte digitale de l'enfant ou du mineur:

Signature du témoin:

Date:

(jour/mois/année)

Signature de l'investigateur:

J'ai lu fidèlement le formulaire d'assentiment au participant potentiel, ou atteste que le texte de ce formulaire a été lu fidèlement audit participant, qui a eu la possibilité de poser des questions. Je confirme que le participant a donné son libre consentement.

Nom de l'investigateur: _____

Signature de l'investigateur: _____

Date: _____

(jour/mois/année)

Une copie du présent formulaire d'assentiment a été remise au participant. _____ (paraphe de l'investigateur principal ou de l'assistant).

Formulaire de consentement éclairé pour les adultes

Le présent formulaire est destiné aux adultes de plus de 18 ans qui viennent en consultation au centre de santé et ont été invités à participer à une étude intitulée: Essai in vivo de la sensibilité de *P. falciparum* à la combinaison AS/SP en zones sous pression thérapeutique par des dérivés d'artémisinine et étude de phénotypes parasitaires et de marqueurs moléculaires de résistance au Mali.

Nom de l'investigateur principal: _____

Nom de l'organisation: _____

Nom du sponsor: _____

Intitulé de la proposition et de la version: _____

Le présent formulaire comporte deux parties:

I. Information générale (ayant pour objet de vous communiquer des informations sur l'étude menée)

II. Certificat de consentement (à signer, si vous acceptez de participer à l'étude)

Il vous sera remis un exemplaire du formulaire intégral de consentement éclairé.

Partie I. Information générale

Je m'appelle et je travaille pour l'Université des Sciences, Techniques et Technologies de Bamako. Nous menons actuellement une étude sur le traitement du paludisme. Le paludisme est une maladie dangereuse, qui peut toutefois être traitée par des médicaments. Le but de l'étude est de confirmer que le médicament, qui se nomme Artésunate/SP (ARTECOSPE®), est toujours efficace pour soigner le paludisme.

Nous invitons tous les adultes et les enfants âgés de plus de six mois qui habitent dans la région à participer à cette étude.

Je vais vous donner des informations et vous inviter à participer à cette étude de surveillance. Avant de prendre votre décision, vous pouvez parler avec toute personne avec laquelle vous vous sentez à l'aise. Certains mots vous paraîtront peut-être difficiles à comprendre. N'hésitez pas à m'interrompre pendant la présentation et je prendrai le temps de vous donner des explications. Si vous avez d'autres questions ultérieurement, vous pourrez me les poser ou demander au docteur chargé de l'étude ou au personnel.

Votre participation à l'étude est entièrement volontaire. Si vous ne souhaitez pas y participer, vous continuerez à bénéficier de tous les services du centre de santé. Et il en sera de même si vous donnez votre consentement aujourd'hui mais décidez ultérieurement de changer d'avis et de vous retirer.

Vous recevrez au hasard, soit de l'artéméther-luméfantrine ou de l'artésunate plus sulfadoxine-pyriméthamine. La durée de traitement est de 3 jours pour chacun de ces médicaments. Les médicaments d'étude sont recommandés par le Ministère de la Santé pour le traitement de paludisme non compliqué au Mali. Le Ministère fait des études de façon régulière pour vérifier qu'ils conservent leur efficacité. On sait que ces médicaments sont très efficaces, mais vous devez savoir qu'ils peuvent avoir des effets secondaires mineurs : Les effets secondaires peu rares liés à la prise de ces médicaments sont : les maux de tête, nausées, vomissements, carence en folate. De très rares cas de réactions cutanées sévères telles que le syndrome de Stevens Jonson, érythème polymorphe, érythrodermie bulleuse avec épidermolyse ont été rapportés avec la sulfadoxine-pyriméthamine. Cependant, pris en dose unique, la sulfadoxine-pyriméthamine est bien tolérée.

Les dérivés de l'artémisinine (l'artésunate et l'artéméther) sont des médicaments recommandés par l'OMS et le Ministère de la Santé pour le traitement du paludisme. Cependant, dans quelques rares cas, de légères modifications biologiques peuvent survenir : baisse du nombre de réticulocytes et une augmentation légère et transitoire des transaminases. En général, ces modifications ne donnent pas lieu à des manifestations cliniques. Les dérivés de l'artémisinine sont parmi les antipaludiques les mieux tolérés.

Si nous constatons que le médicament n'est plus efficace, nous utiliserons un médicament dit « de secours ». Il s'appelle la quinine et est administrée sur 7 jours.

Au cours du suivi, on vous prélèvera 7 fois, une fois à chaque visite, un petit peu de sang au bout du doigt. Vous ressentirez peut-être une légère douleur ou aurez peut-être une légère appréhension lorsque l'on vous piquera le doigt. La douleur devrait disparaître en une journée.

Le sang sera recueilli sur une lame ou un petit morceau de papier. Les prélèvements sanguins seront utilisés pour étudier le paludisme dans votre sang. L'examen des prélèvements sera réalisé après l'étude et n'aura pas d'incidence sur la réussite du traitement. Votre sang servira uniquement à cela.

L'étude durera 28 jours. Pendant cette période, vous devrez venir au centre de santé une heure par jour, pendant 7 jours. Au bout d'un mois, l'étude sera terminée. A chaque consultation, un médecin vous examinera.

Aujourd'hui, nous effectuerons un prélèvement de sang qui sera analysé. Après les tests, vous recevrez la première dose de traitement.

A la 2^e consultation, vous recevrez la deuxième dose de traitement.

A la 3^e consultation, vous recevrez la troisième dose de traitement et un prélèvement sanguin sera effectué.

Aux 4^e, 5^e, 6^e, 7^e, 8^e consultations, un prélèvement de sang sera effectué si vous n'êtes pas suivi pour la clairance ; Aux H0, H8, H16, H24, H36, H48, H60, J7, J14, J21, J28 si vous êtes suivi pour la clairance.

Vous ne pouvez pas participer à cette étude, si vous êtes enceinte. Si vous êtes une femme en âge de procréer, nous vous demanderons un échantillon d'urine avant le début l'étude et au jour 28 de suivi afin de vérifier si vous êtes enceinte. Si vous tombez enceinte après avoir commencé cette étude clinique nous vous demanderons de vous faire suivre par un médecin tout au long de votre grossesse et le personnel médical vérifiera la santé de votre enfant après sa naissance.

Si vous êtes une femme en âge de procréer, nous vous recommandons de prendre d'utiliser des méthodes de contraception efficace, car ces médicaments ne sont pas recommandés pendant le premier trimestre de grossesse. Notre équipe vous aidera pour avoir accès à ces méthodes si vous le désirez.

Le médicament peut avoir certains effets indésirables ou inattendus; toutefois, nous vous suivrons étroitement et surveillerons ces effets, s'il y a lieu, ainsi que tout autre problème. Nous vous donnerons un numéro de téléphone où vous pourrez nous joindre si vous remarquez quelque chose d'inhabituel ou si vous avez des préoccupations ou des questions. Vous pourrez également vous rendre au centre de santé à n'importe quel moment et demander à voir le médecin ou appeler l'investigateur principal le Dr Antoine Dara au 00223 76 28 73 42 ou le Professeur Ogobara Doumbo au 00223 2022 81 09. Si vous avez des effets secondaires, nous pourrions utiliser un autre médicament, qui sera gratuit et aidera à réduire

les symptômes ou les réactions, ou nous pourrions interrompre l'un des médicaments ou plusieurs d'entre eux. Si cela est nécessaire, nous en discuterons ensemble. Vous serez toujours consulté avant de passer à l'étape suivante.

Si vous décidez de participer à l'étude, toutes les maladies liées au paludisme ou au traitement antipaludique seront traitées gratuitement. Votre participation nous aidera à vérifier que le médicament est toujours efficace, ce qui sera utile à la société et aux générations futures. Vos frais de déplacement seront remboursés.

Nous ne communiquerons à personne l'identité des patients participant à l'étude. Les informations que nous recueillons dans le cadre de l'étude resteront confidentielles. Toute information vous concernant sera accompagnée non pas de votre nom, mais d'un numéro. Seuls les membres de l'équipe de recherche sauront quel est votre numéro, et cette information ne sera pas accessible.

Les résultats issus de cette seront publiés. Les informations confidentielles ne seront pas communiquées. La présente proposition a été examinée et approuvée par le comité d'éthique de la Faculté de médecine de pharmacie et d'odontostomatologie de l'Université des Sciences, Techniques et Technologies de Bamako. Cette commission a pour tâche de vérifier que les participants à l'étude bénéficient d'une protection. Si vous souhaitez des informations supplémentaires sur la commission d'examen institutionnelle, vous pouvez joindre : Marouf Keita

Mobiles : (223) 66.72.20.22 / (223) 73.05.50.84

Email : mmaroufkeita@yahoo.fr

ou le secrétaire permanent du comité d'éthique le Dr Idrissa Ahmadou CISSE

Tél. : (223) 20.22.52.77 poste 113

Fax : (223) 20.22.96.59

Mob. (223) 76.13.20.11

Email : idicisse@hotmail.com

Partie II. Certificat de consentement

J'ai été invité à participer à une étude portant sur un médicament utilisé pour traiter le paludisme.

J'ai lu les informations qui précèdent ou elles m'ont été lues. J'ai eu l'occasion de poser des questions et il a été répondu de façon satisfaisante à toutes les questions que j'ai posées. Je consens librement à participer à l'étude.

Nom du participant:

Signature du participant:

Date:

(jour/mois/année)

Signature du témoin: (La signature d'un témoin et l'empreinte digitale du patient ne sont nécessaires que si le patient ne sait pas lire et écrire. Dans ce cas, le certificat doit être signé par un témoin sachant lire et écrire. Si cela est possible, cette personne devrait être choisie par le participant et ne devrait avoir aucun lien avec l'équipe de recherche.)

J'atteste que le formulaire de consentement a été lu fidèlement au participant potentiel, qui a eu la possibilité de poser des questions. Je confirme que le participant a donné son libre consentement.

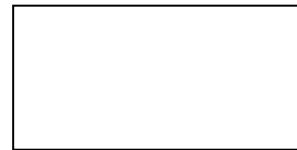
Nom du témoin:

et empreinte digitale du participant:

Signature du témoin:

Date:

(jour/mois/année)



Signature de l'investigateur:

J'ai lu fidèlement le formulaire de consentement au participant potentiel, ou atteste que le texte de ce formulaire a été lu fidèlement audit participant, qui a eu la possibilité de poser des questions. Je confirme que le participant a donné son libre consentement.

Nom de l'investigateur:

Signature de l'investigateur:

Date:

(jour/mois/année)

Une copie du présent formulaire de consentement éclairé a été remise au participant.

_____ (paraphe de l'investigateur principal ou de l'assistant)

Annexe 7: Méthodes de mesure du réseau WWARN

WWARN's PCE estimates several measures of parasite clearance for each individual patient, based on the linear part of the \log_e parasitaemia-time profile. The tool also identifies lag phase, tail and outlier observations. See Glossary for explanation of terms.

Figure 2 illustrates how parasite clearance estimates may be affected by these factors, underlining the importance of a consistent, reliable method to identify and accommodate them.

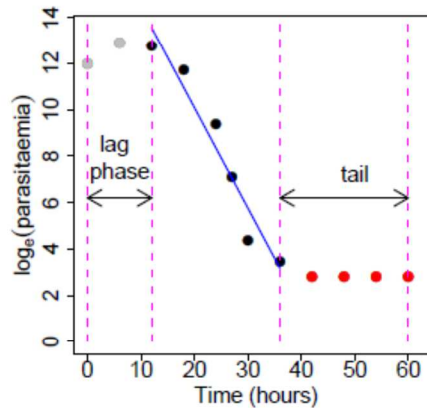


Figure 2: Stylised graph showing the effect of lag phase and tail exclusion on the calculation of the clearance rate constant.

The parasite clearance measures are estimated by a four-stage process:

1. Data cleaning: data relating to the outliers and the tail are removed.
2. Model fitting: the curve of \log_e parasite count versus time is described mathematically by a polynomial model. Tobit regression models are used to account for parasitaemias below the level of detection. For details of tobit regression see Tobin, J. (1958). "Estimation of relationships of limited dependent variables." *Econometrica* 26: 24-36.
3. Lag phase identification from the mathematical model.
4. Clearance rate estimation: if a lag phase is not identified, the clearance rate constant is estimated as the absolute value of the slope of the linear regression model fitted to all data. If a lag phase is identified, the clearance rate constant is estimated as the absolute value of the slope from the linear part of the predicted profile.

Fiche signalétique

Nom: GUINDO

Prénom: Cheick Oumar

Nationalité: Malienne

Titre: Clairance parasitaire de l'artésunate+ sulfadoxine-pyriméthamine versus artéméther-luméfantrine chez les patients souffrant de paludisme non compliqué à Banambani, au Mali.

Date de soutenance: 08/12/ 2015.

Ville de soutenance: Bamako.

Lieu de dépôt: Bibliothèque de la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odontostomatologie. BP 1805-Mali.

Secteur d'intérêt: Parasitologie, Epidémiologie, Chimiorésistance, Pharmacologie.

Résumé:

L'apparition de la résistance de *P. falciparum* à l'artémisinine et ses dérivés en Asie du Sud-est est très préoccupante. Cette résistance est caractérisée par un retard de clairance parasitaire sous traitement. Sa propagation possible vers l'Afrique subsaharienne mérite d'être attentivement surveillée. Nous nous sommes proposé d'évaluer la clairance parasitaire microscopique de deux CTA: artésunate+sulfadoxine-pyriméthamine (AS+SP) et artéméther-luméfantrine (AL) à Banambani, au Mali.

Nous avons mené un essai *in vivo* randomisé contrôlé et ouvert de 2010 à 2014. Cette thèse a porté sur 45 sujets qui ont été tirés à travers un échantillonnage aléatoire systématique avec un pas de sondage de 6 pendant janvier – mars 2013 et juillet 2013 – février 2014. Les sujets âgés de 6 mois et plus, souffrant de paludisme non compliqué à *P. falciparum* étaient traités avec l'AS+SP et l'AL et suivi pendant 28 jours. Les gouttes épaisses effectuées aux heures 0, 8, 16, 24, 36, 48 et 60 ont fait l'objet d'évaluation du temps de clairance parasitaire par le logiciel *Parasite Clearance Estimator*.

Nous avons trouvé que les demi-vies médianes de la clairance parasitaire des deux bras de traitement étaient courtes et comparables (test de Mann Whitney, $p = 0,24$), soit 1,69 heure pour le bras AS+SP et de 1,9 heure pour le bras AL. Le temps nécessaire pour éliminer 95% de la parasitémie initiale était rapide dans les deux combinaisons avec 14,68 heures pour la combinaison AS+SP et 17,53 heures pour la combinaison AL. Nous n'avons pas observé de lien statistiquement significatif entre la demi-vie de la clairance parasitaire et l'âge ($p = 0,49$) ni le sexe ($p = 0,70$). Aucun des sujets suivis pour l'évaluation de la clairance parasitaire n'a présenté un échec thérapeutique après la correction moléculaire.

Notre étude n'a pas montré un retard de clairance parasitaire des CTA qui demeurent encore efficaces au Mali.

Mots clés: Clairance parasitaire, AS+SP vs AL, Paludisme non compliqué, *P. falciparum*, Mali.

Specification sheet

Name: GUINDO

First name: Cheick Oumar

Nationality: Mali.

Title: Parasite clearance of artesunate+sulfadoxine-pyrimethamine versus artemether-lumefantrine in patients presenting uncomplicated *falciparum* malaria in Banambani, Mali.

Date of thesis defense: 08/12/ 2015.

City of graduation: Bamako.

Deposition: Library of the Faculty of Medicine and Odontostomatology, and Faculty of Pharmacy. BP 1805-Mali.

Subject area: Parasitology, Epidemiology, Drug resistance, Pharmacology.

Abstract:

Spread of artemisinin resistance in Southeastern Asia is very worrying. This resistance is characterized by a delay with parasite clearance in patients treated with arteminins. The possible spread or emergence of artemisinin resistance in sub-Saharan Africa should be carefully monitored. We planned in this study to evaluate the microscopic parasite clearance of two arteminin-based combination therapies (ACTs): artesunate+sulfadoxine-pyrimethamine (AS+SP) and artemether-lumefantrine (AL) in the village of Banambani (Mali).

We conducted a randomized, controlled open *in vivo* study, from 2010 to 2014. This work included 45 subjects who were selected through a systematic sampling by including every 6th patient among those recruited in main *in vivo study*. These patients were included from January to March 2013 and from July 2013 to February 2014. These patients were aged 6 months and older and presented uncomplicated *falciparum* malaria. They were treated with AS+SP and AL and followed for 28 days. Thick/thin smears were performed at hours 0, 8, 16, 24, 36, 48 and 60 to follow the parasitemias. Parasite clearance times were measured using the online parasite clearance estimator software.

We found that the parasite clearance half-lives of the both treatments were short and comparable (Mann-Whitney test, $p = 0.24$), with 1.69 hour for AS+SP and 1.9 hour for AL. The time required to clear 95% of the initial parasitaemia was fast in the two combinations with 14.68 hours for AS+SP and 17.53 hours for AL. We observed no significant relationship between the half-life of parasite clearance and neither age ($p = 0.49$) nor sex ($p = 0.70$). None of the subjects followed for the evaluation of parasite clearance has failed treatment considering PCR-correction.

Our study showed no delay with parasite clearance of ACTs which still remained efficacious in Mali.

Keywords: Parasite clearance, AS+SP vs AL, Uncomplicated malaria, *P. falciparum*, Mali.

SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des maîtres de cette faculté, de mes chers condisciples, devant l'effigie d'Hippocrate, je promets et je jure, au nom de l'être suprême, d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la médecine.

Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Je ne participerai à aucun partage clandestin d'honoraires.

Admis à l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Je ne permettrai pas que des considérations de religion, de nation, de race, viennent s'interposer entre mon devoir et mon patient.

Je garderai le respect absolu de la vie humaine dès la conception.

Même sous la menace, je n'admettrai pas de faire usage de mes connaissances médicales contre les lois de l'humanité.

Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses, que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes condisciples si j'y manque.

Je le jure.