

Ministère de l'Éducation  
Nationale

REPUBLIQUE DU MALI  
**UN PEUPLE - UN BUT - UNE FOI**



**U.S.T.T-B**

UNIVERSITE DES SCIENCES DES  
TECHNIQUES ET DES TECHNOLOGIES  
DE BAMAKO



**FACULTE DE PHARMACIE**

ANNEE UNIVERSITAIRE 2018-2019

N°.....

## THESE

**DETERMINATION DE LA DOSE TOLÉRABLE DE  
PRIMAQUINE CHEZ LES ENFANTS ET LES  
ADULTES DE SEXE MASCULIN ÂGES DE 5 A 50 ANS  
DÉFICIENTS EN G6PD SANS PALUDISME À  
OUELESSEBOUGOU AU MALI.**

Présentée et soutenue publiquement le 26/02/2019 devant la  
Faculté de Pharmacie

**Par : M. Sidi Mohamed NIAMBÉLÉ**

Pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie  
(Diplôme d'État)

JURY

**PRESIDENT:** Pr Amagana DOLO

**MEMBRES:** Pr Mohamed KEITA

Dr Abdoulaye Kassoum KONE

**CO-DIRECTEUR:** Dr Almahamoudou MAHAMAR

**DIRECTEUR:** Pr Alassane DICCO

## **DEDICACES**

*Je dédie ce travail*

**A Allah** : *le miséricordieux, il n'y a de Dieu que lui.*

*Et à son prophète Mohamed (paix et salut sur lui)*

*Merci de m'avoir permis de présenter ce travail, fruit de beaucoup d'années de courage et de patience.*

*Prière de m'accorder encore une bonne santé et une longue vie afin que je puisse continuer à apprendre et à servir le reste du monde.*

*Encore merci.*

**A mon père, Boumera Naby NIAMBELE**

*Vous qui vous est battu pour que moi, mes frères et sœurs ne soyons pas à la merci des autres. Vous qui vous est battu pour que nous gagnions le respect des autres ; Père ta mission est accomplie.*

*Vous avez été un Père exemplaire, courageux, généreux, sage, chez qui j'ai trouvé la bonne moralité, surtout la rigueur dans l'éducation et le travail, toujours le réconfort, les encouragements, particulièrement dans les moments pénibles. Homme humble et modeste, vous m'avez toujours dit de faire avec amour, honnêteté, loyauté et courage tout ce que j'entreprendrai dans la vie sans jamais abandonner quelque soient les circonstances. Mon admiration pour vous est sans limite. Que Dieu vous accorde longue vie et bonne santé. Amen !*

**A ma mère, Maïmouna DOUMBIA**

*Merci mère pour votre affection ; vos multiples actes de générosités et votre côté social que louent tous ceux qui vous ont connue me comble de fierté ; vous qui avez fait le courage tout le sens de votre vie. Ce travail vous honore en ce jour solennel. Notre seul vœu c'est qu'Allah vous donne longue vie et bonne santé pour continuer de nous couvrir de votre tendresse et de votre gentillesse. Qu'il récompense vos souffrances et inch'Allah nous ne vous décevrons pas. Trouvez ici chère mère l'expression de la profonde reconnaissance et de l'amour indéfectible de votre petit garçon chéri. Que Dieu vous accorde longue vie et bonne santé. Amen !*

**A mon grand-père, MAMOUROU NIAMBELE**

*Vous est à la fois un grand-père et un père pour moi. Les mots ne sauraient exprimer tout ce que j'ai sur le cœur aujourd'hui. Vous m'avez guidé, soutenu et encouragé en m'apprenant*

*l'amour, le respect et la loyauté. Je vous dis tout simplement merci pour votre éducation. Que Dieu vous garde encore longtemps en une aussi grande forme. Ce travail est le vôtre « N'fa ».*

***Au Docteur Kalifa DIARRA***

*Cher Kôrô, depuis mes débuts au sein de la faculté de pharmacie, tu as été et es resté un guide, un ami, et mon grand frère de tout instant. Par tes conseils, ton enthousiasme, ta disponibilité, ton sens élevé de la fraternité et du respect pour l'autre, tu as été un exemple dans les moments difficiles. La solidarité a été grande tant dans la compréhension que dans la disponibilité. Merci du fond du cœur pour la confiance et du soutien qui n'ont jamais fait défaut. En ce moment solennel je te dis merci pour tout. Ce travail est le tien. Qu'Allah raffermisse nos liens et te donne longue vie cher Kôrô. Amen !*

## REMERCIEMENTS

*J'adresse mes sincères remerciements :*

**A mon cher pays :** *Le Mali, Tu t'es occupé de mon éducation scolaire depuis le primaire jusqu'à l'université. Merci à toi pays de paix et d'hospitalité. Je prie Dieu de me donner l'opportunité de te rendre fier.*

**Au Professeur Alassane DICKO et au Docteur Almahamoudou MAHAMAR** qui ont bien voulu m'accepter dans leur équipe de recherche et de m'avoir proposé et diriger ce travail.

**Au corps professoral et à tous les enseignants de la FMOS et FAPH de l'Université des sciences, des techniques et des technologies de Bamako pour la qualité de l'enseignement reçu.**

**A M. Arouna SAMAKE et famille à Sénou**

*Mme SAMAKE Adjaratou SIDIBE, Abdrahamane SAMAKE, Mariam FOMBA SAMAKE, Mohamed SAMAKE, Bourama SAMAKE, Adja SAMAKE, etc... Il m'est particulièrement difficile de trouver les mots exacts pour vous dire merci. Votre simplicité, votre esprit de partage et de cohésion font de vous une famille admirable. Chacun de vous n'a ménagé aucun effort pour donner le meilleur de lui-même pour que nous puissions parvenir au bout de nos objectifs communs. Merci pour l'accueil chaleureux dont je suis l'objet. Recevez ici toute ma gratitude et mon profond respect.*

**A mon ONCLE, Amadou NIAMBELE**

*Merci pour tous vos soutiens pour que je puisse être là aujourd'hui. Longue vie à vous pour que nous puissions continuer à apprendre de vous.*

**A ma tante, Aminata DOUMBIA** merci pour votre soutien indéterminé et votre générosité à mon égard que Dieu vous bénisse et vous donne une longue vie.

**A tous mes autres ONCLES et TANTES** paternels, maternels pour leurs aides et leurs soutiens. Vous avez été toujours mes conseillers.

**A mes frères et sœurs :** Bourama, Salia, Ramata, Baboulay, Rokiatou, Sidi, Modibo, Djelika NIAMBELE Merci pour vos soutiens, qu'Allah raffermisse d'avantage notre fraternité.

**A mes cousins et cousines :**

Moussa, Hamed, Sidi, et Madou NIAMBELE, Minata, Djeneba, et Souleymane COULIBALY, Excellence Mamadou TRAORE «Presi» je tiens à vous remercier tous pour vos soutiens et vos actes de générosité à mon égard que Dieu vous accorde longue vie.

**A mon complice, ami, confident et compagnon de tous les jours Soumaila TRAORE**

Interne en pharmacie à INRSP service virologie à Bamako, tu as toujours été là dans les moments difficiles. Tu sais à quel point ta présence compte à mes yeux. Je sais aussi que tu peux compter sur moi, mon frère de tous les instants. Ce travail est le tien. Je te dis tout simplement merci.

**A mes amis et frères de la faculté :** Adama Diabe COULIBALY, Aboubacar Sidiki DIAMOUTENE, Abdoulaye DJIGIBA, Mohamed KEITA dit «momo», Mariam DIALLO, Yaya TRAORE, Ismaël TRAORE, Yaya Boubou TOGO, en réalité vous êtes à la fois des amis, des complices et surtout des frères pour moi. Chers frères, c'est l'occasion pour moi de vous témoigner toute ma reconnaissance et ma sympathie pour les nombreux moments passés ensemble.

**A mes camarades de la promotion N'Golo DIARRA**

Faisons en sorte que notre promotion soit de tous les combats pour rehausser encore davantage la recherche scientifique dans notre cher Mali qui nous a tant donné. Merci mille fois pour ces ambiances studieuses que nous avons entretenue ensemble.

**Au Dr Almahamoudou MAHAMAR**

Les mots me manquent aujourd'hui, car vous avez été pour moi un conseiller, et un maître admirable et que j'admire. Je ne cesserais jamais de vous remercier pour vos soutiens indéterminés et la bienveillance dont vous avez fait preuve à mon égard, je vous dis merci, que le bon dieu vous aide et remplisse votre vie de succès. Longue vie et santé à vous Docteur !

**Au Dr Oumar ATTAHER**

Votre rigueur scientifique, votre disponibilité, et votre souci du travail bien fait ont été d'un grand apport dans la réalisation de ce travail. Je vous remercie du fond du cœur pour les multiples conseils et encouragements reçus. Merci cher Kôro que Dieu vous bénisse. Longue vie et santé à vous Docteur !

**Au Dr Harouna SOUMARE**

*J'ai été ravi d'apprendre auprès de vous cher grand frère. Votre soutien moral, votre gentillesse et vos conseils ne m'ont jamais fait défaut. Ce travail est le vôtre. Que dieu vous accompagne dans vos projets de tous les jours. Amen*

**A l'équipe MRTC de Ouélessébougou**

*Dr Almahamoudou MAHAMAR, Dr Oumar ATTAHER, Dr Halimatou DIAWARA, Dr Djibrilla Issiaka TOURE, Dr Gaoussou SANTARA, Dr Sibiri SISSOKO, Dr Harouna Soumare, Dr Moussa TRAORE « GMT », Dr Koualy SANOGO, Dr Kalifa DIARRA, Dr Mamoudou SAMASSEKOU, Dr Mahamadou Almahamoudou MAÏGA, Dr Seydou TRAORE, Dr SOUMBOUNOU, M. Bakary Soumana DIARRA « BSD », Adama DEMBELE « noss », Sekouba KEITA, Adama SISSOKO, Idrissa SAMAKE, Moussa TRAORE « moutra », Ibrahima DIARRA, Ahamadou YOUSSEUF, Alhoussey DICKO, Madassa KEBE, Korotoumou DEMBELE, Aminata FANE, Wassa DOUMBIA et Saran SAMAKE.*

*Vous m'avez appris le travail en équipe, le travail sous pression mais aussi la joie de tous partagés, le respect des critiques et celui de l'autre.*

**Au personnel du CSCOM de Ouélessébougou**, *Merci pour votre accompagnement, disponibilité et franche collaboration.*

**A l'équipe MRTC de Bougouni et Koumantou** : *Dr Modibo DIARRA, Dr Amadou Tapily, Dr Mahamadou KAYA, Dr Mahamadou GORO, M. Ali TIAMA, M. Bah KOULARE, Interne Karim KONE, Interne DICKO, Interne Hama YALKOUYE. Je vous dis merci infiniment pour votre collaboration.*

**A tous les Thésards du MRTC-DEAP et particulièrement ceux de Ouélessébougou**: *Ahamadou YOUSSEUF, Interne DIARRA, interne MAGIRAGA, je vous dis merci infiniment pour votre complémentarité et votre sincère collaboration. Surtout courage et bonne chance car la réussite est au bout de l'effort.*

**A l'Association des étudiants ressortissant et sympathisant de la région de Sikasso (ADERS)** *pour leurs accompagnements et soutiens fraternels.*

**A l'Union des étudiants ressortissant et sympathisant du cercle de Bougouni (UERSB)** *pour leurs accompagnements et soutiens fraternels. Nous adressons nos sincères remerciements à tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à la réalisation de ce travail.*

## **A NOTRE MAÎTRE ET PRÉSIDENT DU JURY**

### **PROFESSEUR AMAGANA DOLO**

- **Professeur Titulaire de Parasitologie-Mycologie à la FAPH ;**
- **Directeur de l'École Doctorale des Sciences et des Technologies du Mali (EDSTM) ;**
- **Coordinateur du DES de biologie clinique à la Faculté de Pharmacie (FAPH) ;**
- **Enseignant-Chercheur à la FAPH (MRTC).**

Permettez-nous de vous remercier cher maître de la confiance que vous nous avez faite en acceptant de présider ce jury.

Nous avons beaucoup admiré vos immenses qualités humaines, sociales et scientifiques tout au long de ce travail et au-delà.

Trouvez ici, cher maître l'expression de notre profonde gratitude et de notre indéfectible disponibilité.

**A NOTRE MAÎTRE ET JUGE,**

**PROFESSEUR MOHAMED KEITA**

- **Spécialiste en Anesthésie-Réanimation ;**
- **Maître de conférences en anesthésie-réanimation à la FMOS ;**
- **Chargé de cours à l'Institut National de Formation en science de la santé (INFSS) ;**
- **Ancien coordinateur adjoint du PNLP ;**
- **Praticien hospitalier au CHU du Point-G.**

Cher maître,

Nous sommes très sensibles à l'honneur que vous nous faites en acceptant de siéger dans ce jury malgré vos multiples occupations, ce qui nous offre l'opportunité une fois de plus de vous exprimer, notre sincère remerciement.

Vos qualités humaines, scientifiques et sociales font de vous un maître respecté et admiré de tous. Permettez-nous cher maître de vous réitérer, l'expression de notre profonde gratitude et de notre profond respect.

## **A NOTRE MAÎTRE ET JUGE**

### **DOCTEUR ABDOULAYE KASSOUM KONE**

- **Maitre Assistant en Parasitologie-Mycologie ;**
- **PhD en Parasitologie et Entomologie Médicales ;**
- **Enseignant-chercheur à la FMOS (MRTC/DEAP).**

Cher maitre,

Nous nous réjouissons de votre présence au sein de ce jury. C'est un grand honneur que vous nous avez fait, en acceptant de juger ce travail malgré vos multiples occupations.

Merci pour vos recommandations et conseils prodigués qui ont été très appréciés. Permettez-nous cher maitre de vous adresser, l'expression de notre reconnaissance et de notre profond respect.

## **A NOTRE MAÎTRE ET CO-DIRECTEUR DE THÈSE**

### **DOCTEUR ALMAHAMOUDOU MAHAMAR**

- **Pharmacien chercheur au MRTC/DEAP ;**
- **Master en entomologie-parasitologie ;**
- **Doctorant en PhD.**

Cher maitre,

C'est un grand honneur pour nous, que vous ayez accepté de codiriger ce travail de thèse.

Votre amour du travail bien fait, votre rigueur scientifique, vos remarques et suggestions ont été d'un apport inestimable pour la réalisation de ce document. Nous avons apprécié vos qualités humaines, sociales et scientifiques tout au long de ce travail. Votre sens élevé du travail bien fait, votre disponibilité constante et surtout votre humanisme font de vous un maitre respecté et admiré.

Trouvez ici, cher maitre toute notre admiration ainsi que notre profond respect et attachement indéfectible.

**A NOTRE MAITRE ET DIRECTEUR DE THESE**

**PROFESSEUR ALASSANE DICKO**

- **Professeur titulaire en épidémiologie et santé publique ;**
- **Responsable du centre de recherche de Ouelessebougu ;**
- **Chef de l'Unité épidémiologie, Bio-statistique et gestion des données au Malaria research and training Center, Faculté de pharmacie, Faculté de Médecine et d'Odontostomatologie ;**
- **Directeur de programme de recherche à la Faculté de pharmacie et à la Faculté de Médecine et d'Odontostomatologie.**

Cher maitre,

Vous nous avez fait un immense honneur en nous acceptant dans votre équipe de recherche.

Nous vous remercions de la confiance que vous nous avez placée en nous proposant ce travail. Tout au long de ce travail nous avons apprécié vos grandes qualités scientifiques et humaines, vos enseignements et surtout votre sens élevé de la responsabilité et de la rigueur dans le travail. Vous nous avez cultivé l'esprit d'équipe, l'endurance, la persévérance, le travail bien fait et surtout la patience.

Que ce travail soit pour nous, le moyen de vous exprimer une fois de plus notre haute considération et indéfectible attachement.

## LISTE DES ABREVIATIONS

AHA	Anémie Hémolytique Aiguë
BPC	Bonnes Pratiques Cliniques
CE	Comité d'Éthique
CRF	Case Report Form
CTA	Combinaison Thérapeutique à base d'Artemisinine
ET	Écart-Type
EI	Événement Indésirable
DSMB	Data and Safety Monitoring Board
ERG	Expert Review Group (Groupe d'Experts pour la Revue)
G6PD	Glucose-6-Phosphate Déshydrogénase
G6PD-d	Déficiente en Glucose-6-Phosphate Déshydrogénase
G6PD-n	Non déficiente en Glucose-6-Phosphate Déshydrogénase
MDA	Administration de Masse des Médicaments.
MRTC	Malaria Research and Training Center
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
PI	Principal Investigateur
PQ	Primaquine
TP	Traitement Présomptif
GR	Globule Rouge
TDR	Test de Diagnostic Rapide
EIG	Évènement Indésirable Grave
DeT	Dépistage et Traitement
SNP	Polymorphisme Nucléotidique Simple
FDA	Food and drug Administration federal Agency
GSH	Glutathion
IRA	Insuffisance Rénale Aiguë
GE	Goutte Épaisse
FM	Frottis Mince
UCSF	Université de Californie en Sans-Francisco
FMOS	Faculté de Médecine et Odontostomatologie
FAPH	Faculté de Pharmacie
AMA	Apical Membran Antigène
ARN	Acide Ribonucléique
ADN	Acide Désoxyribonucléique

ADNc	Acide Désoxyribonucléique complémentaire
BNDA	Banque Nationale de Développement Agricole du Mali
CPN	Consultation Périnatale
CPS	Chimio prévention du Paludisme Saisonnier
CQ	Chloroquine
CSA	Chondroïtine Sulfate A
CSCom	Centre de Santé Communautaire
CSP	Circum Sporozoite Protein
CSRéf	Centre de Santé de Référence
EDM	Energie du Mali
EDSM	Enquête Démographique et de Sante du Mali
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
HRP	Histidine Rich Protein
ICAM	Intercellular Molecule Adhesion
ICH	International Conference on Harmonisation
LSA	Liver Stage Antigen
MetHb	Méthémoglobine
MILD	Moustiquaires Imprégnées d’Insecticide longue Durée
MSP	Mérozoïtes Surface Protein
MVI	Malaria Vaccine Initiative
OHVN	Office de la Haute Vallée du Niger
<i>P.f</i> EMP	<i>Plasmodium falciparum</i> Erythrocyte Membrane Protein
PID	Pulvérisation Intra Domiciliaire
PNLP	Programme National de Lutte contre le Paludisme
PRODESS	Programme de Développement Sanitaire et Social
QBC	Quantitative Buffy Coat
RESA	Ring Erythrocyte Surface Antigen
SOTELMA	Société de Télécommunication du Mali
SP	Sulfadoxine-Pyriméthamine
TPI	Traitement Préventif Intermittent
QT	Temps de Quick

## **LISTE DES FIGURES**

<b>Figure 1:</b> Cycle de développement du Plasmodium.....	13
<b>Figure 2:</b> Leucocyte mélanifère.....	14
<b>Figure 3 :</b> Structure chimique de la primaquine.....	35
<b>Figure 4:</b> Structure tridimensionnelle de la glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PD)...	43
<b>Figure 5:</b> Carte du Mali montrant Ouélessébougou.....	51
<b>Figure 6:</b> Interprétation visuelle des résultats qualitatives du TEST OSMMR-2000 G6PD.....	66
<b>Figure 7:</b> Diagramme de flux.....	74
<b>Figure 8 :</b> Variation du taux d'hémoglobine dans les différents groupes des adultes ayant reçu différentes doses (0,40 – 0,50 mg/kg) de primaquine.....	81
<b>Figure 9 :</b> Variation du taux d'hémoglobine dans les différents groupes chez des adolescents et des enfants ayant reçu (0,40 mg/kg) de primaquine.....	86

## **LISTE DES TABLEAUX**

<b>Tableau 1 :</b> Classification des antipaludiques.....	30
<b>Tableau 2 :</b> Classification OMS des variants enzymatiques de la G6PD en cinq classes.....	44
<b>Tableau 3 :</b> Groupes de traitement et la dose de primaquine dans la Partie I.....	55
<b>Tableau 4 :</b> Partie II, groupes inclus dans l'étude à âge de-escaladé.....	56
<b>Tableau 5 :</b> Calendrier de suivi et prélèvement des échantillons.....	59
<b>Tableau 6 :</b> caractéristiques de base des participants adultes, les statuts en G6PD et les groupes de traitement à l'inclusion.....	75
<b>Tableau 7 :</b> caractéristiques de base des participants de 11 à 17 ans et 5 à 10 ans, les statuts en G6PD et les groupes de traitement à l'inclusion.....	76
<b>Tableau 8 :</b> Variation du taux d'hémoglobine à J1, par groupe de traitement des adultes.....	77
<b>Tableau 9 :</b> Variation du taux d'hémoglobine à J3, par groupe de traitement des adultes.....	77
<b>Tableau 10 :</b> Variation du taux d'hémoglobine à J7, par groupe de traitement des adultes.....	78

<b>Tableau 11:</b> Variation du taux d'hémoglobine à J10, par groupe de traitement des adultes.....	78
<b>Tableau 12 :</b> Variation du taux d'hémoglobine à J14, par groupe de traitement des adultes.....	79
<b>Tableau 13 :</b> Variation du taux d'hémoglobine à J28, par groupe de traitement des adultes.....	79
<b>Tableau 14 :</b> Variation du taux d'hémoglobine entre le jour 0 et le Jour 10, par groupe de traitement des adultes.....	80
<b>Tableau 15 :</b> Variation du taux d'hémoglobine à J1, par groupe de traitement des adolescents (11- 18 ans) et des enfants (5-10 ans).....	82
<b>Tableau 16 :</b> Variation du taux d'hémoglobine à J3, par groupe de traitement des adolescents (11- 18 ans) et des enfants (5-10 ans).....	83
<b>Tableau 17:</b> Variation du taux d'hémoglobine à J7, par groupe de traitement des adolescents (11- 18 ans) et des enfants (5-10 ans).....	83
<b>Tableau 18:</b> Variation du taux d'hémoglobine à J10, par groupe de traitement des adolescents (11- 18 ans) et des enfants (5-10 ans).....	84
<b>Tableau 19:</b> Variation du taux d'hémoglobine à J14, par groupe de traitement des adolescents (11- 18 ans) et des enfants (5-10 ans).....	85
<b>Tableau 20:</b> Variation du taux d'hémoglobine à J28, par groupe de traitement des adolescents (11- 18 ans) et des enfants (5-10 ans).....	85
<b>Tableau 21 :</b> Variation du taux d'hémoglobine en moyenne entre J0 et J10, par groupe de traitement dans la partie II.....	85
<b>Tableau 22 :</b> Proportion des participants adultes qui ont eu au moins un événement indésirable (lié ou non au médicament) en fonction des groupes de traitement.....	87
<b>Tableau 23 :</b> Proportion des participants adolescents et enfants qui ont eu au moins un événement indésirable (lié ou non au médicament) en fonction des groupes de traitement...87	87
<b>Tableau 24:</b> Classification des EI par groupe de traitement en fonction de la gravité chez les adultes.....	88
<b>Tableau 25:</b> Classification des EI par groupe de traitement en fonction de la gravité chez les adolescents et enfants.....	88

## TABLE DES MATIERES

1. INTRODUCTION ET JUSTIFICATION DE L'ÉTUDE .....	1
1.1. Introduction.....	1
1.2. Justification de l'étude.....	2
2. OBJECTIFS DE L'ÉTUDE.....	6
2.1. Objectif général .....	6
2.2. Objectifs spécifiques.....	6
3. GÉNÉRALITÉS.....	7
3.1. Définition .....	7
3.2. Épidémiologie .....	7
3.2.1. Les vecteurs.....	8
3.2.2. Les parasites.....	9
3.2.3. Indices épidémiologiques .....	9
3.2.4. Cycle biologique .....	10
3.3. Physiopathologie du paludisme.....	14
3.3.1. Accès palustre simple .....	14
3.3.2. Accès palustre grave.....	15
3.3.3. Paludisme et immunité.....	16
3.4. Diagnostic.....	17
3.4.1. Diagnostic clinique.....	18
3.4.2. Diagnostic biologique .....	23

3.5.	Lutte	
	antipaludique .....	27
3.5.1.	Luttes Préventives.....	27
3.5.2.	Traitements.....	28
3.6.	Déficit en Glucose 6 phosphate déshydrogénase (G6PD)	
	.....	40
3.6.1.	Introduction.....	40
3.6.2.	Généralités.....	40
3.6.3.	Clinique.....	44
3.6.4.	Diagnostic.....	45
3.6.5.	Facteurs hémolysants.....	45
3.6.6.	Prise en charge.....	46
3.6.7.	Prévention.....	46
3.6.8.	Primaquine et déficience en G6PD: situation actuelle des connaissances.....	47
4.	MÉTHODOLOGIE.....	49
4.1.	Site de	
	l'étude.....	49
4.1.1.	Situation.....	49
4.1.2.	Population .....	49
4.1.3.	Activités socio-économiques et culturelles.....	50
4.1.4.	Climat et hydrographie.....	50
4.1.5.	Infrastructures et équipements .....	50
4.2.	Schéma de	
	l'étude.....	52
4.3.	Période	
	d'étude.....	52
4.4.	Population d'étude .....	
	.....	52
4.5.	Taille de	
	l'échantillon.....	52
4.6.	Visite et la durée du	
	suivi.....	52
4.7.	Critères	
	d'inclusion.....	52

4.8.	Critères de non inclusion.....	53
4.9.	Intervention .....	54
4.10.	Procédure de l'étude.....	56
4.10.1.	Organisation du travail.....	57
4.10.2.	Suivi des participants.....	58
4.11.	Paramètres mesurés.....	60
4.12.	Calcul de la taille de l'échantillon.....	70
4.13.	Gestion et analyse des données .....	71
4.14.	Considérations éthiques .....	71
5.	RÉSULTATS.....	73
5.1.	Les caractéristiques de base.....	73
5.2.	Variation en moyenne du taux d'hémoglobine pendant la période du suivi.....	77
5.3.	Les événements indésirables.....	87
5.3.1.	Proportion des participants qui ont eu au moins un événement indésirable (lié ou non au médicament) en fonction des groupes de traitement.....	87
5.3.2.	Classification des EI par groupe de traitement en fonction de la gravité.....	88
6.	COMMENTAIRE ET DISCUSSION.....	89
6.1.	Sur le plan méthodologique.....	89
6.2.	Sur le plan de la tolérance.....	90
7.	CONCLUSION .....	93
8.	RECOMMANDATIONS .....	93
9.	RÉFÉRENCE .....	94
10.	ANNEXE .....	101

## 1. INTRODUCTION ET JUSTIFICATION DE L'ETUDE

### 1.1. Introduction

Le paludisme est l'infection parasitaire la plus répandue dans le monde et constitue une véritable préoccupation de santé publique à l'échelle mondiale. Selon le rapport de l'organisation mondiale de la santé (OMS) sur le paludisme de 2018, près de la moitié de la population mondiale a été exposé au risque de contracter le paludisme en 2017 dans 91 pays, avec 219 millions de cas de paludisme dont 435 000 cas de décès. Grâce aux mesures de lutte en particulier la distribution massive de moustiquaires imprégnées d'insecticides à longue durée d'action, l'utilisation des tests de diagnostic rapide et des combinaisons thérapeutiques à base de dérivés d'artémisinine, les traitements présomptifs intermittents des femmes enceintes et des changements sociaux tels que l'urbanisation et le développement économique, le paludisme a régressé depuis 2010 dans toutes les régions du monde.

Entre 2010 et 2017, l'incidence du paludisme a reculé de 18% au niveau mondial et le taux de mortalité a baissé de 54% en Asie du sud-est, de 27% en Amérique, de 40% en Afrique et de 10 % en Méditerranée orientale. C'est toujours l'Afrique subsaharienne qui supporte la charge mondiale du paludisme, en 2017, 92% des cas de paludisme et 93% des décès sont survenus dans cette région (1). Aussi, le pourcentage d'infections palustres parmi la population à risque (les femmes enceintes et les enfants de moins de 5 ans) en Afrique subsaharienne, est passé de 13% en 2015 à 20 % en 2016 (2).

Si 41 % des enfants de moins de 5 ans, fiévreux ont reçu un médicament antipaludique, le paludisme demeure toujours un facteur majeur de mortalité chez les enfants de moins de cinq ans : les deux tiers (70%) des décès survenant dans cette tranche d'âge, un enfant mourant du paludisme toutes les deux minutes selon le même rapport.

Plusieurs espèces de protozoaires parasites du genre *Plasmodium* peuvent infecter l'homme dans des conditions naturelles: *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae*, *P. knowlesi* et *P. cynomolgi* (3). L'homme représente le seul réservoir connu de ces espèces parasites, à l'exception de *P. knowlesi* et *P. cynomolgi*, dont les hôtes naturels sont les macaques. Le paludisme est transmis par la piqûre infectante du moustique *Anophèles* ; une partie infime des infections mettent en jeu d'autres voies de transmission (par exemple, transfusion ou transmission congénitale).

Il existe environ 40 espèces de moustiques *Anophèles* dans le monde, dont certains prédominantes dans différentes régions.

Les principaux vecteurs du paludisme rencontrés au Mali sont les membres du complexe *Anopheles gambiae*, abondant surtout en saison pluvieuse, et *Anopheles funestus*, plus fréquent en saison sèche (4).

Au Mali, en 2017 selon les statistiques sanitaires ainsi que les rapports fournis par les agents de santé communautaire (ASC), le paludisme a constitué 32% des motifs de consultation dans la population générale. Environ 2.097.797 cas cliniques ont été enregistrés dans les structures de santé (5).

Les enfants de moins de cinq ans, les femmes enceintes, les populations déplacées constituent la frange la plus vulnérable.

Cependant, l'OMS recommande que le paludisme soit confirmé, pour tous les cas suspects, par un diagnostic basé sur la recherche des plasmodies (par microscopie ou test de diagnostic rapide) avant d'administrer un traitement. Au Mali en 2015, la prévalence du paludisme parmi les enfants de 6 à 59 mois a été mesurée par les deux techniques, la microscopie et le test de diagnostic rapide. Pour 32 % des enfants, les résultats au TDR se sont révélés positifs. Selon l'examen microscopique, la prévalence était de 36 % (6). Seulement 2 % des infections avaient été causé par des espèces autres que *P. falciparum* (*P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae* et *P. ovale*.). La prévalence de l'infection palustre dépend de la pluviométrie et de la température, variant de 7,2% (en zone du Sahel) à 83,5% (en zone soudanienne) (7).

## **1.2. Justification de l'étude**

Au cours de la dernière décennie, de grands progrès ont été accomplis dans la lutte contre le paludisme suite à la généralisation de l'accès et l'utilisation des combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine (CTA) et des moustiquaires imprégnées d'insecticides. Le succès des programmes de lutte contre le paludisme a entraîné la réduction de la mortalité liée au paludisme dans le monde de 26% de 2000 à 2010 (8) (9) et de 29% de 2010 à 2015 (10).

Cette baisse de l'endémicité a conduit à un appel à l'élimination du paludisme dans de nombreux pays du monde et certains en Afrique. L'élimination du paludisme est difficile car elle exige que l'ensemble du réservoir de parasites, à la fois chez les vecteurs et les hommes soit ciblé. Ainsi, il y a une recherche continue de nouveaux outils et stratégies qui ciblent chaque stade du cycle biologique complexe du parasite.

Un défi majeur dans l'élimination du paludisme est le ciblage des porteurs de parasites asymptomatiques. De nombreux experts estiment que les porteurs asymptomatiques de paludisme, qui peuvent constituer plus de 50% des personnes infectées par le paludisme, sont

largement responsables de la transmission (11). Les stratégies visant à mettre fin à la transmission du paludisme doivent donc viser les porteurs asymptomatiques.

Il y a deux stratégies prometteuses bloquant la transmission qui peuvent viser les porteurs asymptomatiques. Ces stratégies impliquent un traitement à base d'artémisinine (CTA) et la primaquine à travers les stratégies de 1) le dépistage et traitement (DeT) ou 2) le traitement présomptif (TP) (12).

Bien que le DeT et le TP s'efforcent d'atteindre le même objectif, les limitations actuelles conduisent à une nécessité de poursuivre les recherches. Une question clé pour ces stratégies est le schéma thérapeutique le plus efficace pouvant être utilisé pour bloquer la transmission du paludisme. Les CTA ne peuvent pas bloquer complètement la transmission du paludisme, car elles sont incapables de cibler les gamétocytes matures (Stade IV et V) qui sont responsables de la transmission des stades sexuelles (gamétocytes mâles et femelles) de l'homme aux moustiques. La primaquine, un 8-aminoquinoléine possède une activité gamétocytocide efficace pour éliminer les gamétocytes matures, pour cela l'ajout de la primaquine s'avère nécessaire, le seul médicament commercialisé capable d'éliminer les gamétocytes matures de *Plasmodium falciparum* permettrait une intervention efficace et durable (12).

La primaquine a été autorisée par la FDA comme un médicament antipaludique depuis 1952, et a été largement utilisé à la fois pour la prévention et le traitement du paludisme à *P. vivax* (13). Bien qu'un traitement de 14 jours à la primaquine était utilisé pour la cure radicale du paludisme à *P. vivax*, beaucoup d'intérêts se développent sur l'utilisation de la primaquine pour prévenir la transmission du paludisme à *P. falciparum* (8). Il est important de préciser que l'utilisation de la primaquine pour bloquer la transmission de *P. falciparum* ne nécessite qu'une dose unique, ce qui est mieux toléré que le régime de traitement de 14 jours requis pour la cure radicale du paludisme à *P. vivax* (13). Bien que la primaquine ait été autorisée et utilisée depuis plus de 60 ans, son administration répandue est entravée par des problèmes de tolérance.

Plus précisément, la primaquine est connue pour provoquer une hémolyse qui est dose dépendante chez les individus qui sont déficitaires en glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PD), une enzyme impliquée dans le métabolisme du glucose (14).

L'hémolyse est causée par le stress oxydatif induit par la primaquine dans les globules rouges, et peut varier en sévérité de l'hémolyse compensée, à l'anémie hémolytique aiguë (AHA) modérée, ou sévère, avec ou sans insuffisance rénale (13) (15).

Des lacunes actuelles dans la connaissance des effets indésirables de la primaquine à dose unique chez les individus déficients en G6PD empêchent son utilisation plus large.

Au Mali la fréquence du déficit en G6PD est de 14% chez les enfants (16). Elle est de 15,7% chez les hommes et de 4,5% chez les femmes maliennes (17).

Il y a un besoin urgent de définir l'intervalle de doses thérapeutiques de la primaquine, qui diffèrent selon les individus avec différentes variantes de déficit en G6PD. Il y a deux recommandations de l'OMS pour l'utilisation de la primaquine pour bloquer la transmission de *P. falciparum* qui devrait être sans danger. La première, publié en 1973, est l'utilisation d'une dose unique de 0,75 mg/kg de primaquine après utilisation des tests le dépistage du statut en G6PD pour éliminer les gamétocytes de *P. falciparum* (18). La deuxième, émise en Octobre 2012, a recommandé l'utilisation de 0,25 mg/kg dose unique de primaquine et une CTA sans tester obligatoirement le statut en G6PD. Cette dose unique faible de 0,25 mg/kg de primaquine est recommandée dans le cadre du traitement de tous les cas de *P. falciparum* dans les zones menacées par la résistance à l'artémisinine ou approchant l'élimination du paludisme. Cette dernière recommandation implique que l'OMS estime qu'une dose unique de 0,25 mg/kg de primaquine est sûre (bien tolérée) chez les individus G6PD-d. Toutefois, aucune des deux recommandations n'est faite avec la mention «Forte recommandation, évidence de haute qualité" qui accompagnent d'autres recommandations de l'OMS, parce qu'il existe peu de données (en particulier dans un format qui peut être utilisé pour les réglementations et les autorisations de mise sur le marché) suggérant leur sécurité et leur efficacité.

Malgré ces recommandations de l'OMS, les programmes en particulier en Afrique sont réticents sur une utilisation large de la primaquine en raison de la crainte des effets indésirables, en particulier l'hémolyse sévère chez les individus G6PD-d (19). Pour utiliser la primaquine, les risques sur des doses comprises entre 0,10 et 0,75 mg/kg doivent être bien définis (13).

Le potentiel qu'offre la primaquine comme bloqueur de transmission du paludisme à *P. falciparum* est largement reconnu, et pour apaiser les craintes qui entravent sa mise en œuvre des études de recherche ont été entreprises dans de nombreux pays. Actuellement, les deux principales lacunes dans les connaissances qui empêchent le déploiement généralisé de la primaquine à dose unique sont (19):

- Les préoccupations de sécurité chez les sujets G6PD-déficients.
- Un manque de clarté sur la dose optimale de primaquine pour le paludisme à *P. falciparum*.

Dans la pratique, la mise en œuvre de stratégies DeT ou TP conduira à l'administration de la primaquine aux personnes sans paludisme. Il est nécessaire d'établir le profil de tolérance de la primaquine seule chez les sujets sans paludisme.

Démontrer la tolérance de la primaquine chez les populations ayant un déficit en G6PD sans paludisme, est absolument essentiel. Vu que la tolérance de la primaquine chez les individus G6PD-d sans paludisme n'est pas comprise, nous proposons d'établir la dose unique la plus élevée et tolérée de la primaquine chez les individus G6PD-d sans paludisme au Mali.

Les preuves sont insuffisantes pour étayer l'innocuité ou l'efficacité de la recommandation de l'OMS d'utiliser une dose unique de 0,25 mg/kg de primaquine pour bloquer la transmission de *P. falciparum* sans tester le statut en G6PD.

Des études au Mali, au Burkina Faso, en Gambie, au Kenya et au Sénégal et en Thaïlande ont évaluées la tolérance et l'efficacité de la primaquine à faible dose chez les personnes atteintes de paludisme.

Cependant, l'infection du paludisme affecte les globules rouges chez les hôtes, et peut influencer sur la réponse hémolytique de la primaquine chez les individus G6PD-d. Par conséquent, avant que la primaquine puisse être utilisée en toute sécurité dans les campagnes DeT ou TP pour l'élimination du paludisme, nous proposons d'établir la dose unique tolérable la plus élevée de la primaquine jusqu'à 0,75 mg/kg chez les personnes sans paludisme à travers une étude d'ajustement de dose chez des sujets déficients en G6PD-d.

## **2. OBJECTIFS DE L'ETUDE**

### **2.1. Objectif général**

Évaluer la tolérance de différentes doses de primaquine chez les adultes, les adolescents et les enfants de sexe masculins déficients en G6PD.

### **2.2. Objectifs spécifiques**

- Déterminer l'effet d'une dose unique de primaquine sur la variation du taux d'hémoglobine chez les adultes masculins déficients en G6PD ;
- Déterminer l'effet de la primaquine en dose unique sur la variation du taux d'hémoglobine chez les adolescents et les enfants de sexe masculins déficients en G6PD ;
- Mesurer l'incidence, la fréquence des événements indésirables et la relation avec le médicament de l'étude chez les adultes, les adolescents et les enfants de sexe masculins déficients en G6PD.

### 3. GENERALITES

#### 3.1. Définition

Le paludisme ou malaria est une érythrocytopathie fébrile et hémolysante due à la présence et au développement dans le foie puis dans les hématies d'un hématozoaire du genre *Plasmodium*. Il est transmis à l'homme par la piqûre infestante d'un moustique femelle du genre *Anopheles*. Il existe quatre espèces de *Plasmodium* infectant habituellement l'homme, *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae* et *P. ovale*. Des cas de paludisme humain à *P. knowlesi* et de *P. cynomolg*, qui paludisme de singe ont été rapportés dans certaines zones d'Asie du Sud-est (20). Parmi ces espèces infectant l'homme le *P. falciparum* est l'espèce la plus courante et responsable d'une part importante de la mortalité liée à cette maladie en Afrique au sud du Sahara.

#### 3.2. Épidémiologie

Le paludisme sévit actuellement dans la ceinture de pauvreté du monde, mais l'impact de la maladie en termes de santé publique (mortalité, morbidité et impact socio-économique) varie considérablement d'une région à l'autre. La grande majorité des cas graves et mortels de paludisme (99 %) est due à *P. falciparum* et survient chez les enfants de moins de cinq ans (70 %) et les femmes enceintes, la plupart des cas (90 %) ont été enregistrés dans la région Afrique de l'OMS et en Inde, avec 92 % de décès liés à cette maladie (21).

En Afrique subsaharienne, la plupart des décès surviennent chez les enfants où chaque minute un enfant meurt du paludisme. Cette maladie est à l'origine de près de 303 000 décès d'enfants (0 à 5 ans) dans le monde (21).

En clinique, on estime à environ 2 épisodes de paludisme en moyenne par enfant (0-5 ans) et par saison de transmission (hivernage) (22).

Cette hétérogénéité du paludisme a très tôt imposé la nécessité d'une classification des zones où sévit la maladie en fonction du climat et de la végétation (Indices de Macdonald 1957) :

- Les zones de paludisme stable où la forte transmission entraîne une prémunition ;
- Les zones de paludisme instable où le caractère épisodique de la transmission ne permet pas le développement de la prémunition.
- Entre ces deux zones, il existe une strate de situations intermédiaires.

Au Mali il existe 5 faciès épidémiologiques de transmission du paludisme (23):

- la zone de transmission saisonnière longue de 4 à 6 mois (zone soudano-guinéenne) ;
- la zone de transmission saisonnière courte de 3 à 4 mois (zone sahélo-soudanienne) ;
- la zone de transmission sporadique voire épidémique (zone saharienne) correspondant aux régions du nord (Gao, Tombouctou et Kidal), certains districts des régions de Koulikoro (Nara) et de Kayes (Nioro, Yélimané, Diéma et Kayes) ;
- la zone de transmission bi ou plurimodale saisonnière du delta intérieur et des barrages (Sélingué, Manantali et Markala) ;
- la zone peu propice à l'impaludation particulièrement le milieu urbain comme Bamako.

La transmission se fait essentiellement en saison des pluies. Cette transmission continue même en saison sèche pour les zones irriguées (7).

### 3.2.1. Les vecteurs

Le paludisme humain est transmis par les anophèles femelles. A cet effet, l'épidémiologie du paludisme suit la distribution spatiale des anophèles vecteurs. En Afrique, dans les régions au sud du Sahara les vecteurs prédominants sont *Anopheles gambiae* et *An. funestus*. Le complexe *An. gambiae* comprend six espèces : *An. gambiae s.s.*, *An. aranbiensis*, *An. merus*, *An. melas*, *An. Quadrianulatus*, *An. bwambe* et *An. Culuzzi* (24) (25). Ces espèces du complexe *An. gambiae* sont morphologiquement identiques, mais présentent des caractéristiques biologiques, écologiques et génétiques très différentes qui se traduisent par un rôle vectoriel très contrasté. Le complexe regroupe ainsi deux des meilleurs vecteurs de *Plasmodium*, des espèces jouant un rôle local dans la transmission du paludisme à l'homme, et des espèces strictement zoophiles sans importance médicale.

Au Mali, sont présentes : *An. gambiae s.s.*, *An. aranbiensis* et *An. funestus*. L'espèce *An. Gambiae s.s.* est composée de trois formes chromosomiques : une paire de chromosomes sexuels et deux paires d'autosomes dénommés chromosomes 2 et 3. La distribution de ces différents arrangements chromosomiques ne se fait pas de manière aléatoire au sein des populations naturelles. Ainsi 5 « formes chromosomiques » correspondant à différents écotypes génétiquement isolés dans la nature ont été définies en Afrique de l'Ouest : les formes Forêt, Savane, Bamako, Bissau et Mopti qui contribuent toutes à la transmission du paludisme (25). Les six entités vectrices montrent des différences significatives de distributions géographiques et saisonnières de leurs fréquences relatives (26).

Au Mali, *An. gambiae s.s.* s'observe essentiellement dans les zones humides du Sud et au Nord, dans les zones d'inondation du fleuve Niger ; alors que *An. arabiensis* se rencontre dans

les zones plus sèches et éloignées des terres inondées. Les formes Bamako et Savane s'observent essentiellement en saison des pluies alors que la forme Mopti et *An. aranbiensis* se rencontrent aussi bien en saison des pluies qu'en saison sèche. Ces différents taxa coexistent souvent avec *An. funestus*, qui est responsable de la transmission pendant la saison sèche fraîche entretiennent un système de transmission par relais (27). Cette complexité du système vectoriel fait qu'au Mali, l'épidémiologie du paludisme diffère selon les régions géographiques (voir faciès de transmission ci-dessus).

### 3.2.2. Les parasites

Le *Plasmodium* se présente sous la forme d'un protozoaire très petit (1 à 2  $\mu\text{m}$  selon les formes). La coloration au May-Grünwald-Giems a montré qu'il est constitué d'un cytoplasme bleu pâle entourant une vacuole nutritive claire et contenant un noyau rouge et d'un pigment brun-doré ou noir (hémozoïne).

Ces protozoaires appartiennent à l'embranchement des Apicomplexa, à la classe des Aconoidasida, à l'ordre des Haemosporidae, à la famille des Plasmodiidae, au genre *Plasmodium* et on distingue cinq espèces plasmodiales inféodées à l'homme :

- *Plasmodium falciparum* : responsable de la fièvre tierce maligne, qui tue, très fréquente (98% des cas de paludisme en Afrique, 90 % à Madagascar et aux Comores), tropicale, résistante à la chloroquine, mais vite éteinte si le malade survit.

- *Plasmodium vivax* : responsable de la fièvre tierce bénigne. Il a une distribution plus étendue que *P. falciparum*, sauf en Afrique subsaharienne. Il n'est pas si anodin qu'on le dit : des formes graves, voire mortelles, ont été rapportées en Inde et en Amazonie.

- *Plasmodium ovale* : responsable de la fièvre tierce bénigne.

- *Plasmodium malariae* : responsable de la fièvre quarte bénigne.

Une cinquième espèce, *Plasmodium knowlesi*, responsable du paludisme du singe, a été retrouvée comme infection humaine à fièvre quarte dans quelques pays d'Asie du Sud-est. Attribuée au début à *P. malariae*, elle est due en fait à *P. knowlesi*. L'évolution est potentiellement grave et l'infection doit être traitée comme *P. falciparum* (28).

### 3.2.3. Indices épidémiologiques

Ils apprécient la fréquence et la distribution du paludisme au sein d'une population donnée. Ils permettent de définir différents niveaux de transmission et d'endémicité permettant ainsi d'adapter les stratégies de lutte contre le paludisme par rapport au biotope considéré.

### 3.2.3.1. Indices chez l'homme

- **Indice plasmodique (IP) :** C'est le pourcentage de sujets d'un groupe d'âge donné (2 à 9 ans) porteurs de formes asexuées dans le sang périphérique. Il permet de déterminer le niveau d'endémicité. Lorsque la maladie est connue dans la région et que le nombre de cas est attendu compte tenu du lieu, du temps et de la population considérée, on distingue 4 niveaux (pourcentage de la population) : moins de 25% : hypo-endémie ; de 25 à 50% : méso-endémie ; de 50 à 75% : hyper-endémie ; plus de 75% : holo-endémie.
- **Indice splénique :** C'est le pourcentage d'enfants entre 2 et 9 ans présentant une splénomégalie. Cet indice permet le classement en zones d'hypo-endémie (indice splénique de 0 à 19 %), en zones de méso-endémie (indice splénique de 20 à 49 %), en zones d'hyper-endémie (indice splénique de 50 à 75 %) et en zones d'holo-endémie (indice splénique supérieur à 75 %). Il n'est plus utilisé de nos jours.
- **Indice gaméocytaire :** Il représente le pourcentage de sujets porteurs de gaméocytes sanguins. Il indique la capacité d'une population humaine à infester les vecteurs et donc le risque d'infectivité d'une population donnée.

### 3.2.3.2. Indices chez le vecteur

L'importance du rôle des anophèles dans la transmission est évaluée par trois indices :

- **Indice sporozoïtique (IS) :** C'est le pourcentage d'anophèles porteurs de sporozoïtes dans les glandes salivaires.
- **Indice oocystique (IO) :** C'est le pourcentage d'anophèles porteurs d'oocystes dans la paroi de leur estomac. Cet indice n'est pas très fiable car l'évolution sporogonique peut avorter après la formation d'oocystes.
- **Taux d'inoculation entomologique (TIE) :**  
Le taux d'inoculation entomologique représente le nombre de piqûres infestantes pour l'homme et par unité de temps. Cette unité peut être exprimée en nuit, en mois ou en année selon les études entomologiques réalisées.

### 3.2.4. Cycle biologique

Le cycle parasitaire se divise en deux phases : la sporogonie chez le moustique et la schizogonie exo et endo-érythrocytaire chez l'homme.

#### ❖ Chez l'Anophèle femelle

- **La sporogonie ou cycle sexué**

En prenant son repas sanguin sur le sujet parasité l'anophèle femelle absorbe les trophozoïtes, les schizontes, les rosaces et les gaméocytes. Seuls les gaméocytes échappent à la digestion.

Rapidement, par expulsion d'un corpuscule chromatinien, le gamétoocyte femelle se transforme en macro-gamète ; chez le gamétoocyte mâle, la micro-gamétogénèse ou ex-flagellation est plus lente, son noyau se divise en donnant naissance à huit microgamètes mâles flagellés, d'environ 20µm, très mobiles qui vont rapidement à la rencontre des macrogamètes femelles. Par fertilisation et par la faveur d'un chimiotactisme positif, les gamètes mâles haploïdes fécondent les gamètes femelles non mobiles et également haploïdes. Il en résulte des zygotes diploïdes non mobiles qui se transforment en ookinètes diploïdes, mobiles et allongés au bout de 20 à 24 heures. Les ookinètes pénètrent l'épithélium stomacal pour se transformer à la surface en oocystes non mobiles et diploïdes. Les oocystes sont des éléments circulaires aux contours réguliers, qui se fixent sur la paroi de l'estomac du moustique. Les oocystes vont se former en sporocystes qui donneront plusieurs centaines de sporozoïtes. La taille de l'oocyste passe d'environ 8µm à environ 60-80µm pendant sa maturation. La maturation de l'oocyste (ou sporogonie) dure de 4 à 21 jours suivant les conditions climatiques pour *P. falciparum*. A maturité les oocystes éclatent et les sporozoïtes sont libérés dans l'hémolymphe, en 24 heures environ, la majorité d'entre eux vont migrer vers les glandes salivaires. Les sporozoïtes sont mobiles et survivent en général 2 à 3 semaines dans les glandes salivaires (maximum 2 mois). La survie des sporozoïtes dépend de l'adaptation : Anophèles/Plasmodium (29). Ces sporozoïtes, lors d'un prochain repas de sang du moustique sont inoculés à l'homme.

#### ❖ **Chez l'homme ou multiplication asexuée**

##### • **La schizogonie pré-érythrocytaire**

Au cours de la piqûre, un moustique infesté injecte dans un capillaire des sporozoïtes, formes infectantes contenues dans les glandes salivaires. Après 30 mn dans la peau, la lymphe et le sang périphérique, les sporozoïtes atteignent les hépatocytes et se transforment en trophozoïtes, qui s'y multiplient et forment des masses multi nucléées repoussant les noyaux de celles-ci vers la périphérie: schizontes ou corps bleus (40 à 100µm). Parallèlement apparaissent, dans l'hématie selon l'espèce plasmodiale, des granulations de Schüffner (*P. vivax*, *P. ovale*) ; de Maurer (*P. falciparum*) ou de Ziemann (*P. malaria*).

Les corps bleus après 7 à 15 jours de maturation, éclatent et libèrent des milliers de mérozoïtes dans le sang (10 000 à 30 000 mérozoïtes en fonction des espèces) qui peuvent infecter aussi chacun un autre hépatocyte. La schizogonie hépatique est unique dans le cycle, la cellule hépatique ne pouvant être infectée que par des sporozoïtes. Dans les infections à *P. vivax* et *P. ovale*, certains sporozoïtes intrahépatiques restent quiescents (hypnozoïtes) et sont responsables d'une schizogonie hépatique retardée, qui entraîne la libération dans le sang de

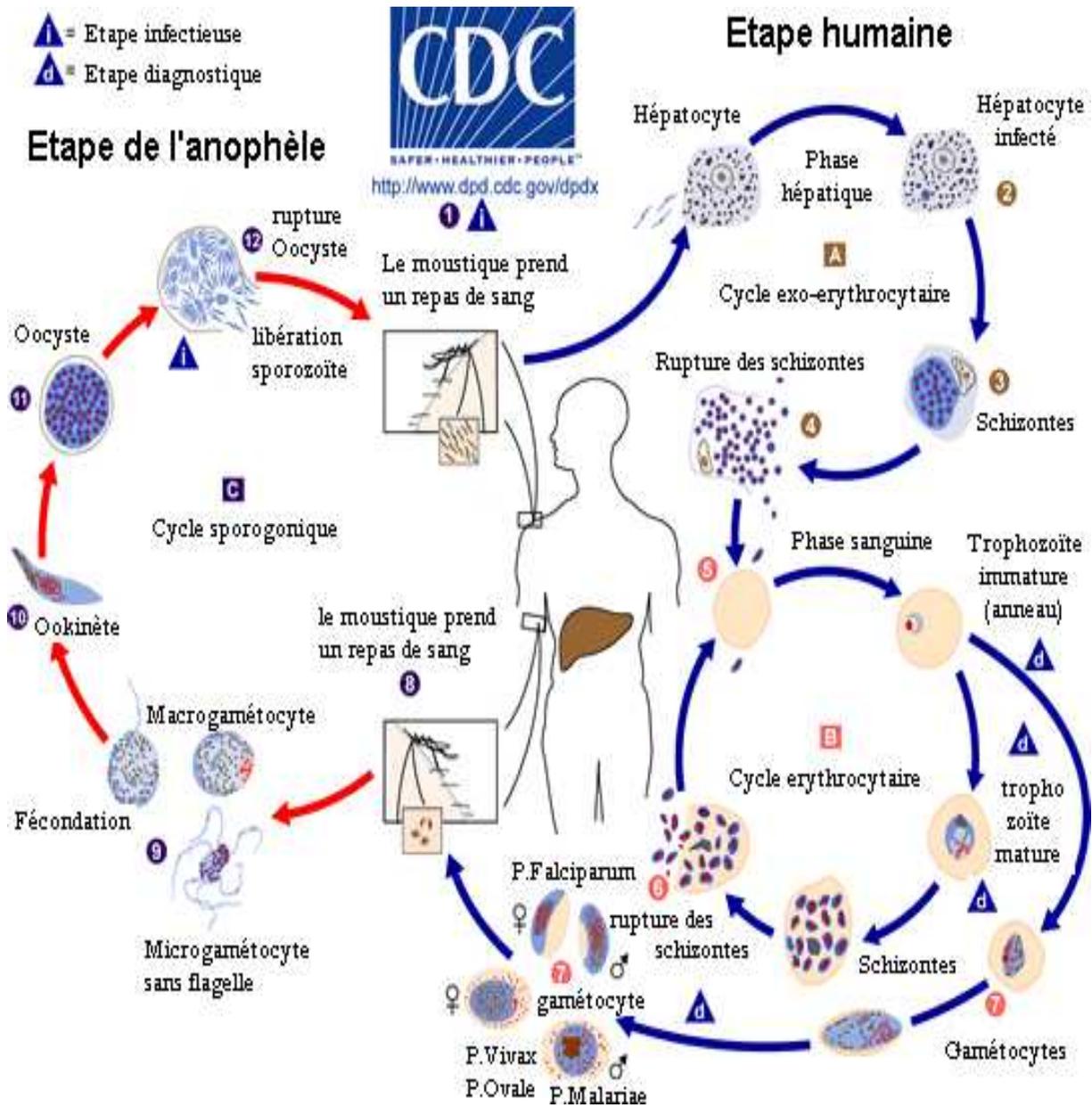
mérozoïtes plusieurs mois après la pique du moustique, expliquant ainsi les reviviscences tardives observées avec ces deux espèces.

- **Schizogonie érythrocytaire**

Certains mérozoïtes, par endocytose infectent les hématies et deviennent des trophozoïtes (2 à 3µm) possédant chacun une grosse vacuole nutritive qui repousse le noyau vers la périphérie. Ces trophozoïtes se multiplient pour donner des schizontes ou corps en rosace qui vont se charger de pigments malariques (hémozoïne) en 24, 48 ou 72 heures (en fonction de l'espèce). L'hémozoïne libérée, est phagocytée soit dans le sang par les polynucléaires neutrophiles ou par les monocytes, qui deviennent mélanofères ; soit par des histiocytes (Macrophages tissulaires) du foie (cellule de küpffer), ou la rate ou la moelle hématopoïétique.

D'autres schizontes s'éclate pour libérer des trophozoïtes dont certains réinfectent les hématies saines et conduit à la destruction des hématies hôte infectes et à la libération de 8 à 32 nouveaux mérozoïtes qui pénètrent dans de nouvelles hématies et débutent un nouveau cycle de réplication. Cette partie du cycle correspond à la phase clinique : la parasitemie s'élève, le sujet devient fébrile, c'est l'accès palustre. En l'absence de traitement, tous les parasites évoluent progressivement au même rythme (on dit qu'ils deviennent synchrones), tous les schizontes érythrocytaires arrivent à maturation au même moment, entraînant la destruction d'un grand nombre de globules rouges de manière périodique, toutes les 24 heures (pour *P. knowlesi*), 48 heures (fièvre tierce de *P. falciparum*, *P. vivax* ou *P. ovale*) ou toutes les 72 heures (fièvre quarte de *P. malariae*).

Après un certain nombre de cycles érythrocytaires, certains mérozoïtes subissent une maturation d'une dizaine de jours, accompagnée d'une différenciation sexuée : ils se transforment en gamétocytes à potentiel mâle ou femelle, qui vont rester en circulation dans le sang pendant 10 à 15 jours. Ce cycle asexué dure 10 à 40 jours selon la température extérieure et les espèces en cause (30).



**Figure 1 :** Cycle de développement du Plasmodium

**Source :** <http://www.cdc.gov/dpdx/>

### 3.3. Physiopathologie du paludisme

La physiopathologie du paludisme est encore imparfaitement connue mais les répercussions de l'infection palustre sur certains organes ont été bien décrites.

#### 3.3.1. Accès palustre simple

##### ❖ Le sang

La phase de schizogonie érythrocytaire entraîne une hémolyse responsable d'une anémie d'installation progressive grave chez les jeunes enfants et les femmes enceintes. L'hémoglobine libérée par l'hémolyse provoque une surcharge rénale et est partiellement transformée en bilirubine dans le foie. L'excès est éliminé dans les urines entraînant une hémoglobinurie. D'autre part l'utilisation de l'hémoglobine par le parasite amène la précipitation dans son cytoplasme de granules de pigment (hémozoïne), dont la libération lors de l'éclatement du globule rouge est en partie responsable de la fièvre. Le pigment, accumulé dans le cytoplasme du schizonte, est ré-largué dans le plasma lors de la libération des mérozoïtes. Il est alors phagocyté par les monocytes-macrophages et les polynucléaires neutrophiles (leucocytes mélanofères)



**Figure 2 :** Leucocyte mélanifère

**Source :** (31)

Les plaquettes sont séquestrées par des mécanismes, encore mal précises, probablement immunologiques.

La conséquence en est une thrombopénie, perturbation biologique fréquemment et précocement observée au cours d'un accès palustre.

#### ❖ La rate

La rate est hypertrophique, molle et congestive. Sa couleur caractéristique, rouge foncé, parfois brune est due à l'accumulation du pigment internalisé par les phagocytes. L'augmentation de volume est provoquée par l'hypertrophie de la pulpe blanche (lymphocytes, cellules réticulaires, macrophages). L'activité phagocytaire concerne les globules rouges parasites, les débris cellulaires, le pigment parasitaire.

Histologiquement, au cours du paludisme viscéral évolutif, la rate est énorme, fibro-congestive et foncée à la coupe avec une hyperplasie lymphoïde et histiocytaire mais les parasites y sont rares.

#### ❖ Le foie

La schizogonie exo-érythrocytaire ne produit aucune lésion inflammatoire. La destruction par les schizontes d'un certain nombre de cellules parenchymateuses passe inaperçue. On observe une hyperplasie des cellules de Kupffer chargées de la phagocytose des débris cellulaires et de l'hemozoin, associée à des dépôts d'hémosidérine. Ultérieurement les dépôts de pigment envahissent les espaces portes au sein d'infiltrats lympho-histiocytaires (31).

### 3.3.2. Accès palustre grave

Le neuropaludisme (accès pernicieux = «cérébral malaria» des anglo-saxons) et l'anémie, sont les complications majeures du paludisme à *P. falciparum*.

La pathogénie du paludisme grave est mieux comprise actuellement. Elle fait intervenir une adhérence des hématies parasitées à l'endothélium vasculaire et une cascade de cytokines. La cytoadhérence des hématies parasitées repose sur : les « knobs », véritables protubérances de la membrane de l'érythrocyte parasité. Ces protubérances contiennent des antigènes plasmodiaux dont certains sont spécifiques à *P. falciparum* : érythrocyte membrane protein 1(*P.f* EMP1), histidine rich protein (HRP) et protéine RESA (ring érythrocyte surface antigen), les récepteurs endothéliaux qui constituent des points d'attache de prédilection pour les érythrocytes infectés.

Plusieurs récepteurs ont été identifiés : l'ICAM-1 (intercellular molecule adhesion), la protéine CD-36, la thrombospondine, la sélectine-E, le VCAM-1 (vascular cell molecular adhesion) et la chondroïtine sulfate A (CSA) présente sur les syncytiotrophoblastes placentaires ; la cytoadhérence est amplifiée par le phénomène de rosettes (agglutination

d'hématies saines autour d'hématies parasitées). Ces rosettes peuvent obstruer des capillaires profonds et induire une séquestration.

Les cytokines participent à la pathogénie du paludisme. Le TNF-alpha (tumor necrosis factor) joue un rôle essentiel : secrète par les macrophages, il intervient dans la pathogénie de la fièvre et de l'œdème cérébral et son élévation est corrélée au pronostic. En fait, la sécrétion de TNF-alpha s'intègre dans une cascade d'autres cytokines : interleukines 1, 2, 3, 10, interféron gamma, GM-CSF, etc.

La physiopathologie du paludisme grave dépend de multiples facteurs :

- Parasitaires : virulence de la souche, capacité de cytoadhérence ;
- Humains : niveau de prémunition, facteurs génétiques ;
- Enfin, la rate, par ses capacités immunologiques et mécaniques de filtre joue un rôle important dans la régulation de la parasitémie et la sévérité de l'accès.

### **3.3.3. Paludisme et immunité**

L'épidémiologie du paludisme est extrêmement variable d'une zone géographique à une autre. Cette hétérogénéité est sous la dépendance de nombreux facteurs comme la distribution des anophèles et leur capacité vectorielle, ainsi que les caractéristiques biologiques des parasites. Un autre facteur extrêmement important est le rôle de l'immunité. Même si le paludisme entraîne la mort d'un très grand nombre de personnes chaque année, la mortalité est faible par rapport au nombre présumé d'accès palustres survenant sur une même période. La réponse clinique à l'infection est extrêmement variable allant de l'infection asymptomatique à la survenue d'un accès grave pouvant entraîner la mort du patient.

#### **❖ Immunité contre le paludisme : notion de prémunition**

L'immunité contre le paludisme est complexe et soulève de nombreuses questions. Le paludisme stimule l'immunité innée et l'immunité adaptative (CD4 et CD8). C'est un état d'immunité relative ou prémunition : équilibre hôte-parasite après plusieurs années d'exposition si la transmission est constante, acquis progressivement en 5 à 10 ans au prix d'une mortalité infantile élevée. C'est une immunité labile, qui disparaît en 12 à 24 mois chez le sujet immun qui quitte la zone d'endémie, chez la femme enceinte au 2ème et 3ème trimestre de la grossesse et chez le splénectomisé.

L'acquisition lente et progressive de la prémunition est couplée avec l'acquisition d'anticorps protecteurs dont la spécificité reste inconnue. Ceci permet cependant de comprendre la fréquence du paludisme chez les femmes enceintes primipares : au niveau du placenta, les GR

parasités vont exprimer un nouveau variant antigénique Pf EMP1. Celui-ci étant inconnu du système immunitaire, l'immunité préexistante est inefficace.

Ce variant antigénique entraîne la sécrétion d'IgG spécifiques à la grossesse, anticorps apparaissant après 20 semaines d'aménorrhée chez les primipares et réapparaissant plus tôt chez les multipares, pour ensuite diminuer dans le post-partum.

Des facteurs génétiques confèrent une résistance, en particulier des facteurs de résistance érythrocytaires : modifications de la chaîne  $\beta$  de l'hémoglobine (HbS, HbC, HbE), modifications des taux de synthèse des chaînes de globine (thalassémies), modifications d'un enzyme érythrocytaire essentiel (G6PD), modifications des caractères de la membrane et du cytosquelette des érythrocytes (groupe sanguin Duffy, ovalocytose héréditaire).

En Afrique subsaharienne, il est admis que le paludisme est du à *P. falciparum* et à *P. ovale*, plus rarement à *P. malariae*, mais que les populations de cette région ne sont pas infectées par *P. vivax*, car ce paludisme nécessite la présence du sous-groupe Duffy sur les hématies, l'antigène Duffy étant le récepteur de *P. vivax*. Or, dans cette région, les africains sont majoritairement Duffy négatifs.

Cependant, une part croissante de patients d'Afrique et d'Amérique du sud est infectée par *P. vivax* bien que leurs globules rouges soient indemnes de la protéine de surface Duffy.

Le groupe sanguin O est protecteur contre *P. falciparum*, Ceci explique que ce groupe sanguin soit si commun dans les régions où sévit le paludisme (au Nigeria, plus de la moitié de la population appartient au groupe O, ce qui la protège du paludisme) (28).

### **3.4. Diagnostic**

L'OMS recommande que dans tous les cas présumés, le paludisme soit confirmé par un diagnostic basé sur la recherche des plasmodiums par microscopie ou test de diagnostic rapide (TDR) avant d'administrer un traitement.

#### **3.4.1. Diagnostic clinique**

##### **3.4.1.1. Paludisme simple ou paludisme non compliqué (PNC)**

Le paludisme simple se définit comme suit : paludisme asymptomatique sans signes de gravité ni d'éléments d'appréciation (cliniques ou biologiques) permettant d'affirmer un

dysfonctionnement des organes vitaux. Sur le plan clinique, la suspicion de paludisme repose donc principalement sur la présence d'un état fébrile ou d'antécédents de fièvre (32).

#### ✓ **Accès palustre de primo invasion à *P. falciparum***

C'est la forme clinique la plus souvent observée en France métropolitaine car elle atteint un sujet neuf, non immunisé, comme les voyageurs. En zone d'endémie elle est observée chez les jeunes enfants.

**Incubation** : Elle correspond à la durée de la phase hépatique (7 à 12 jours pour *P. falciparum*) et est totalement asymptomatique.

**Invasion** : Elle est marquée par l'apparition d'une fièvre brutale, continue, souvent accompagnée d'un malaise général avec myalgies, céphalées, et parfois troubles digestifs (anorexie, douleurs abdominales, nausées, vomissements et même parfois diarrhée). On parle «d'embarras gastrique fébrile». L'examen clinique est à ce stade souvent normal, le foie et la rate ne sont pas palpables. Ultérieurement le foie peut augmenter de volume et devenir un peu douloureux, la rate devient palpable au bout de quelques jours, les urines sont rares, foncées et peuvent contenir des protéines. On observe parfois un bouquet d'herpès labial.

Le tableau clinique est donc totalement non spécifique et le risque majeur est de « passer à côté du diagnostic ». Le malade peut, à tout moment et en quelques heures, évoluer de « l'accès simple » (c'est à dire non compliqué) vers un accès grave, d'évolution rapidement mortelle en l'absence d'une prise en charge adaptée. Au début de l'épisode, aucun argument épidémiologique, clinique ou biologique, ne permet de faire un pronostic et de savoir si un patient évoluera ou non vers un tableau grave.

#### ✓ **Accès palustre à fièvre périodique**

Cette forme clinique correspond à la description de la triade classique de l'accès palustre : « frissons, chaleur, sueurs » survenant tous les 2 ou 3 jours. En pratique elle n'est observée de manière typique que dans les infestations à *P. vivax*, *P. ovale* et *P. malariae*, faisant suite à un accès de primo invasion non traité, mais pouvant survenir longtemps après l'épisode fébrile initial. L'accès est souvent précédé d'une phase prodromique, toujours identique chez un même patient, qui associe lassitude et troubles digestifs.

L'accès débute classiquement le soir et dure une dizaine d'heures, associant successivement :

- **Un stade de frissons** : agité de frissons violents, le malade se blottit sous ses draps alors que sa température atteint 39°C. La rate augmente de volume, la tension artérielle diminue. Cette phase dure environ une heure.

- **Un stade de chaleur** : la température peut dépasser 40°C, la peau est sèche et brûlante et le malade rejette ses draps. Cette phase s'accompagne de céphalées et de douleurs abdominales ; elle dure 3 à 4 heures. La rate diminue de volume.
- **Un stade de sueurs** : ce sont des sueurs profuses qui baignent le malade. Le malade émet des urines foncées, la température s'effondre brusquement, avec même parfois une phase d'hypothermie. La tension artérielle remonte. Ce stade dure 2 à 4 heures et s'accompagne d'une sensation de bien-être, d'euphorie, concluant la crise. Cette crise typique correspond à la schizogonie érythrocytaire.

Le rythme des accès est donc fonction de l'espèce :

- Fièvre tierce avec clocher thermique survenant à J1, J3, J5... Elle correspond à une schizogonie de 48 heures. En pratique elle peut être régulière et correspondre à une infection par *P. vivax* ou *P. ovale* (fièvre tierce bénigne). Elle peut être irrégulière et faire suite à un accès de primo invasion à *P. falciparum* (fièvre tierce maligne). Dans ce dernier cas il faudra toujours redouter l'évolution, toujours possible, vers un accès grave.
- Fièvre quarte avec clocher thermique survenant à J1, J4, J7 ... Elle correspond à une schizogonie de 72 heures et elle est donc observée exclusivement au cours des infections à *P. malariae*.
- Fièvre quotidienne avec clocher thermique survenant toutes les 24 heures pour les rares accès dus à *P. knwolesi* ou, parfois, pour des infections par deux clones de *P. falciparum* décalés de 24 heures. Quelle que soit l'espèce en cause, la répétition des accès s'accompagne d'une anémie et d'une splénomégalie progressivement croissante. Cela explique que tout paludisme, même dû à une espèce autre que *P. falciparum*, peut à terme avoir des répercussions graves, notamment chez les enfants. La splénomégalie palustre peut rarement se compliquer de rupture, et exceptionnellement d'infarctus splénique.

#### 3.4.1.2. Le paludisme grave

On parle de paludisme grave chaque fois que l'on retrouve une parasitémie positive à *P. falciparum* associée à l'un des signes de gravité de paludisme de l'OMS (2002) :

- Hyperparasitémie : supérieure ou égale à 4% des hématies ;
- Anémie grave : taux d'hémoglobine inférieure à 5g/dl ;
- Oligurie : diurèse inférieure à 400 ml/jour ;
- Hypoglycémie : glycémie inférieure à 2,2 mmol/l ;

- Convulsions généralisées et répétées ;
- Œdème pulmonaire ;
- Collapsus cardio-vasculaire ;
- Syndrome hémorragique ;
- Hémoglobinurie ;
- Acidose sanguine : PH inférieur à 7,25.

#### **3.4.1.3. Autres formes cliniques**

##### **❖ L'accès pernicieux**

Encore appelé neuropaludisme, il est la première complication d'un paludisme grave à *P. falciparum* survenant chez le sujet non immun (enfants et adultes arrivés depuis peu en zone d'endémie). Le début peut être progressif ou brutal. L'accès pernicieux à début progressif est marqué par l'installation d'une fièvre irrégulière, d'un syndrome algique diffus, associé à des troubles digestifs. L'examen clinique peut déjà révéler une composante neurologique faisant évoquer l'évolution vers un paludisme grave. En pratique clinique : « tout malade présentant une atteinte de la conscience ou tout autre signe de dysfonctionnement cérébral au retour d'une zone d'endémie palustre doit être traité dans la plus grande urgence comme un neuropaludisme ». Le neuropaludisme à début brutal se traduit par une triade symptomatique (fièvre, coma, convulsions) à laquelle s'ajoute fréquemment une détresse respiratoire. Il est fréquent chez le jeune enfant en zone d'endémie (<5 ans) et peut entraîner la mort en quelques heures.

##### **❖ Le paludisme viscéral évolutif**

Ancienne cachexie palustre, il est dû à des infections palustres réputées chez l'enfant de 2 à 9 ans non encore prémunis vivant en zone d'endémie. Il se manifeste par une anémie avec dyspnée ; une volumineuse splénomégalie ; une cytopénie ; une fièvre modérée constante ; la recherche d'hématozoaire est positive par intermittence avec une parasitémie faible. Le titre des anticorps est très élevé (Immunoglobuline Gamma). L'enfant accuse un retard staturo-pondéral, un amaigrissement important et des troubles digestifs. La réponse au traitement est assez rapide avec une immunité relativement efficace. La rupture traumatique de la rate est la principale complication à craindre du fait de son développement important ainsi que l'infarctus splénique.

##### **❖ La fièvre bilieuse hémoglobinurique**

Il s'agit d'une réaction anaphylactique qui se traduit par une fièvre élevée plus une hémoglobinurie macroscopique (urines vin porto) due à une hémolyse intra vasculaire aiguë.

On note aussi un choc, une hypotension artérielle, un ictère, une anémie aiguë et une insuffisance rénale aiguë.

La pathologie est en rapport avec la prise intempestive de quinine en zone d'endémie de *P. falciparum* avec résurgence. Mais quelques cas ont été récemment signalés avec la méfloquine. Le bilan biologique sanguin confirme l'hémolyse massive : anémie et bilirubinémie. La parasitemie est faible ou même absente. En pareil cas, le traitement en urgence nécessite une épuration extra-rénale et se poursuit avec les dérivés de l'artémisinine.

#### ❖ Splénomégalie palustre hyper réactive (SPH)

Initialement décrit sous le nom de « Splénomégalie Tropicale Idiopathique », la SPH a surtout été décrite chez l'autochtone vivant en zone impaludée. A la différence du paludisme viscéral évolutif, elle s'observe plus volontiers chez l'adulte. Il s'agit d'une maladie des immuns-complexes provoquée par une réaction démesurée de la rate à la stimulation prolongée des phagocytes mononuclées par des complexes immuns circulants. Il en résulte une splénomégalie avec hypersplénisme entraînant une chute des 3 lignées sanguines et production d'IgG et IgM en quantité exagérée. La sérologie anti-malarique doit être fortement positive pour pouvoir retenir le diagnostic, qui face à une splénomégalie doit rester un diagnostic d'exclusion. L'évolution est favorable sous traitement antipaludique mais très lente.

#### ❖ Paludisme congénital

La réalité de l'infection transplacentaire du nouveau-né est admise, liée au passage de globules rouges parasités du placenta. Le paludisme congénital maladie est rare. Il apparaît après un délai variable de 5 à 60 jours après l'accouchement et le signe clinique constant est la fièvre (28).

Il est rare en zone d'endémie à cause des anticorps maternels transmis par la mère qui confèrent à l'enfant une certaine immunité. Les espèces les plus fréquemment rencontrées sont *P. falciparum* et *P. vivax* ; mais toutes les autres espèces peuvent être retrouvées. Le diagnostic ne sera affirmé qu'après avoir éliminé toute possibilité de contamination anophélienne (enfant né en Europe) ; identifié le parasite dans le sang du cordon après la naissance et retrouvé la même espèce plasmodiale chez la mère.

#### ❖ Paludisme transfusionnel

Le paludisme étant une maladie transmissible, la prévention n'est pas facile car la détection de *P. falciparum* dans un sang conservé à +4°C reste incertaine. Cette température ne détruit pas

le parasite or un à deux parasites par millimètre cube de sang, indétectables par frottis mince ou par goutte épaisse suffisent à transmettre la maladie.

Conduite à tenir :

- en pays tempéré, les donneurs contaminant sont récusés jusqu'à ce qu'ils soient négatifs.
- en zone d'endémie, le receveur est couvert systématiquement par une chimio prophylaxie.

Le paludisme transfusionnel se manifeste comme la forme typique mais sans rechute par l'absence d'hypnozoïtes dans le foie.

#### ❖ **Le paludisme accidentel**

Comme pour le sida et l'hépatite B, le risque de transmission accidentelle (très rare) au personnel soignant (par une aiguille souillée) ou à des malades (par l'utilisation du même matériel d'injection non stérile) ou même à des toxicomanes existe.

#### ❖ **Paludisme des aéroports**

Ce type de paludisme se voit dans les pays tempérés chez le personnel travaillant sur les sites d'aéroports internationaux. C'est pourquoi le règlement sanitaire international ordonne en zone impaludée, la désinsectisation des avions avant le décollage et à l'arrivée dans les zones où l'importation des vecteurs pourraient provoquer la transmission du paludisme.

### **3.4.2. Diagnostic biologique**

#### **3.4.2.1. Diagnostic direct**

#### ❖ **Les techniques microscopiques conventionnelles, frottis mince, goutte épaisse :**

Elles demeurent la référence. Elles nécessitent une méthodologie simple, mais précise et rigoureuse et un long apprentissage. La sensibilité est corrélée au temps d'observation (pour un frottis : lecture d'au moins 100 champs, en pratique 20 minutes).

#### • **Le Frottis mince (FM)**

Le frottis mince est utilisé dans le diagnostic d'urgence du paludisme. Une goutte de sang prélevée au bout du 3ème ou 4ème doigt est déposée à l'extrémité d'une lame porte-objet, une deuxième lame qu'on incline d'environ 45° est amenée au contact de cette goutte de sang, puis dans un mouvement régulier et ininterrompu, la lame inclinée entraîne derrière elle ce sang qui s'étale en couche uni stratifiée.

La préparation est d'abord fixée au méthanol absolu pendant quelques secondes avant d'être colorée au Giemsa. Ce frottis montre des parasites dont le cytoplasme est bleu et le noyau rouge. La lecture est faite au microscope optique à l'immersion à l'objectif 100. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'hématies parasitées. Les avantages de cette technique sont sa rapidité et la mise en évidence de l'espèce plasmodiale en cause. Cependant, le frottis mince ne permet pas de détecter les faibles parasitemie (moins de 200 parasites par  $\mu\text{l}$  de sang).

- **La Goutte épaisse (GE)**

C'est une technique de micro concentration sur lame. Une petite goutte de sang prélevée au 3ème ou 4ème doigt est déposée au milieu d'une lame porte-objet. Avec le bout d'une seconde lame, la goutte est uniformément étalée sur une surface de 1 à 1,5 cm de diamètre. Elle est colorée après séchage à la température ambiante au Giemsa dilué à 10% pendant 15 à 20 mn et lue au microscope à l'objectif 100 par un technicien spécialisé. Son principal avantage est le diagnostic de la maladie dans les cas de faibles parasitemie (10 à 20 parasites par  $\mu\text{l}$  de sang) ; Colorée au Giemsa, elle montre les parasites sans le repère de l'hématie. Les résultats sont exprimés en nombre de parasites par  $\mu\text{l}$  de sang. Elle permet également de déterminer la charge parasitaire et d'établir des indices épidémiologiques (l'indice plasmodique et l'indice gamétozytique). Il est à signaler que ces deux techniques (GE et FM) demandent un microscopiste bien expérimenté et une source de lumière sans oublier un temps d'exécution plus long (au moins 90 mn pour le résultat d'une Goutte épaisse et 15 à 20 mn pour celui d'un frottis mince).

- ❖ **La QBC (Quantitative Buffy Coat)**

C'est une méthode d'immunofluorescence directe. Le principe consiste à concentrer une petite quantité de sang par centrifugation dans un micro tube à hématocrite. Les globules rouges parasités se trouvent aussi à l'interface des leucocytes et des hématies saines. L'acridine orange, agent intercalant spécifique des acides nucléiques, contenu dans les noyaux fait apparaître le parasite avec une fluorescence verte ou jaune-orangée à l'intérieur de l'hématie. Elle est intéressante dans les formes pauci-parasitaires, dans la surveillance de l'évolution de l'infection. Son principal inconvénient est la difficulté d'établir un diagnostic d'espèce. En outre la nécessité d'avoir un microscope à fluorescence peut limiter les petites structures dans l'acquisition de cet appareil.

- ❖ **La détection des antigènes du paludisme par immuno-chromatographie : les tests de diagnostic rapide (TDR).**

Plusieurs TDR par immuno-chromatographie sont disponibles, classés en fonction du nombre d'antigènes détectés. La plupart, à l'exception de la série OptiMal, permettent la mise en évidence de l'HRP2 (Histidine Rich Protein 2), spécifique à *P. falciparum*.

La sensibilité et la spécificité revendiquées par les constructeurs de ces tests sont comparables.

(1) HRP2 : spécifique de *P. falciparum* (Malaria®, Palutop+4®)

(2) Pf-LDH : LDH spécifique de *P. falciparum* (OptiMAL Pf®1)

(3) Pan-LDH : LDH commune aux quatre espèces plasmodiales (Malaria®, Palutop+4®)

(4) Pv-LDH : LDH spécifique de *P. vivax* (Malaria®, Palutop+4®)

*p-LDH* : *Plasmodium lactate déshydrogénase*, *Pf* : *P. falciparum*, *Pv* : *P. vivax* ; *Pan-LDH* : commune aux quatre espèces plasmodiales.

Pour *P. falciparum*, la meilleure sensibilité est obtenue avec l'HRP2 (95%), sauf pour les souches amazoniennes (25 à 40% de souches non sécrétrices d'HRP2) et la meilleure spécificité avec la Pf-LDH (98%). La sensibilité de la Pv-LDH est de 76-100% pour *P. vivax* (28).

### **Les limites des TDR dans le diagnostic du paludisme**

Les TDR antigéniques sont simples d'utilisation, rapides et d'un apport précieux en poste isolé.

Cependant, les tests rapides ont des limites :

- les faux négatifs sont dus à une faible parasitémie de l'ordre de 100 parasites par  $\mu\text{L}$ , soit 0,002% d'hématies infectées. Or, il est fréquent de mettre en évidence en pathologie d'importation ou chez le voyageur non immun en zone d'endémie sous chimio prophylaxie non ou mal adaptée des parasitemie très faibles. Le résultat des TDR peut donc être faussement négatif.

- les faux positifs, moins bien connus, sont dus à une lecture trop tardive après le dépôt des réactifs, à la présence d'auto anticorps ou de facteur rhumatoïde à des taux élevés. De plus, la persistance de la circulation de l'HRP2 après disparition des parasites du sang circulant est trouvée jusqu'à 15 jours après négativité des tests microscopiques.

### **❖ Les techniques de biologie moléculaire**

La PCR (Polymerase Chain Reaction) fut inventée par K. Mullis en 1983 et brevetée en 1985.

Son principe repose sur l'utilisation de l'ADN polymérase, il s'agit d'une répllication in vitro de séquences spécifiques d'ADN. Cette méthode permet de générer à des dizaines de milliards d'exemplaires un fragment d'ADN particulier (la séquence d'intérêt, ADN d'intérêt ou ADN cible) à partir d'un extrait d'ADN (ADN matriciel). En effet, si la séquence d'intérêt est présente dans l'extrait d'ADN, il est possible de sélectivement la répliquer (on parle d'amplification) en très grande quantité. La puissance de la PCR repose sur le fait que la quantité d'ADN matriciel n'est pas, en théorie, un facteur limitant. On peut donc amplifier des séquences nucléotidiques à partir de quantités infinitésimales d'extrait d'ADN.

La PCR est donc une technique de purification ou de clonage. L'ADN extrait à partir d'un organisme ou d'un échantillon contenant de l'ADN d'origines diverses n'est pas directement analysable. Il contient une masse trop importante de séquences nucléotidiques. Il convient donc d'isoler, de purifier la ou les séquences qui présentent un intérêt, qu'il s'agisse de la séquence d'un gène ou de séquences non codantes (introns, transposons, mini ou microsatellites...).

À partir d'une telle masse de séquences que constitue l'ADN matriciel, la PCR peut donc sélectionner une ou plusieurs séquences déterminées et les amplifiées par répllication à des dizaines de milliards de copies. La réaction terminée, la quantité extrêmement faible d'ADN matriciel contenue dans l'échantillon PCR n'aura pas varié. En revanche, la quantité de la ou des séquences amplifiées (l'ADN d'intérêt) sera très grande. La PCR permet donc d'amplifier un signal à partir d'un bruit de fond, il s'agit donc bien d'une méthode de clonage moléculaire, et cloner revient à purifier.

#### **3.4.2.2. Diagnostic indirect**

##### **❖ Méthode sérologique**

Les différentes techniques utilisées sont :

- ✓ L'immunofluorescence indirecte,
- ✓ L'immunoélectrophorèse,
- ✓ **Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA)**

La méthode immuno-enzymatique ELISA (littéralement « dosage d'immuno- absorption par enzyme liée », c'est-à-dire dosage immuno-enzymatique sur support solide) est un examen de laboratoire. Cette méthode est principalement utilisée en immunologie pour détecter la présence d'un anticorps ou d'un antigène dans un échantillon. Ce test entre dans le cadre plus général des dosages immuno-enzymatique, dans lequel le dosage est couplé à une réaction

catalysée par une enzyme qui libère un composant coloré suivi par une spectrométrie. L'ELISA est une technique biochimique utilisant un ou deux anticorps. L'un de ceux-ci est spécifique à l'antigène, tandis que l'autre réagit aux complexes immuns (antigène-anticorps) et est couplé à une enzyme. Cet anticorps secondaire, responsable du nom de la technique, peut aussi causer l'émission d'un signal par un substrat chromogène ou fluorescence. L'ELISA pouvant être utilisé tant pour évaluer la présence d'un antigène que celle d'un anticorps dans un échantillon, c'est un outil efficace à la fois pour déterminer des concentrations sériques d'anticorps (comme pour le test du VIH ou le virus du Nil), que pour détecter la présence d'un antigène. Il a également trouvé des applications dans l'industrie alimentaire, pour détecter des allergènes alimentaires, comme le lait, les cacahuètes, les noix et les œufs. C'est un test simple, facile d'emploi et peu coûteux. Il est limité par la disponibilité en anticorps spécifique.

#### **3.4.2.3. Diagnostic différentiel**

Le diagnostic différentiel du paludisme se pose avec la babesiose.

Cependant il ne faudra pas confondre le paludisme grave avec d'autres infections graves qui peuvent le simuler ou y être associées :

- fièvre typhoïde ;
- méningococcémie ;
- toutes autres septicémies notamment à bacille à Gram négatif ;
- spirochètoses, typhus, fièvres hémorragiques virales ;
- méningo-encephalites

### **3.5. Lutte antipaludique**

La lutte antipaludique a été définie comme l'ensemble des mesures destinées à supprimer, ou tout au moins à réduire la morbidité et la mortalité liées au paludisme (OMS, 1974). Elle comporte des actions préventives et des actions curatives.

#### **3.5.1. Lutttes préventives**

##### **3.5.1.1. Lutte anti vectorielle**

Elle consiste en un ensemble de mesures comme :

- Aménagements de l'environnement destiné à diminuer le nombre de gîtes anophélienne,
- technique de l'insecte stérile : elle permet l'éradication ou la diminution d'une population d'insectes, les mâles irradiés par un rayonnement gamma (bombe au Cobalt 60) deviennent sexuellement stériles à cause de mutations dominantes au niveau du sperme.

- aspersions intra-domiciliaires d'insecticides à effet rémanent,
- moustiquaires imprégnées d'insecticides : outil majeur de prévention du paludisme au niveau communautaire, stratégie de lutte recommandée par l'OMS. Mais la résistance des vecteurs est préoccupante, et il est nécessaire de ré-imprégner régulièrement les moustiquaires pour maintenir leur efficacité. Actuellement, il y a un développement de moustiquaires imprégnées d'insecticides de longue durée d'action (MILDA) [Olyset®, Permanet®] avec une efficacité de 5 ans. Les mères sont au cœur de la prévention du paludisme de l'enfant : ce sont les mères les mieux informées qui utilisent le plus les moustiquaires imprégnées d'insecticides.

### 3.5.1.2. Chimio prophylaxie

#### ✚ **Traitement Préventif Intermittent (TPI) des femmes enceintes et des enfants des pays en développement**

Le traitement préventif intermittent (TPIp) consiste dans l'administration intermittente et systématique d'antipaludiques : amodiaquine ou sulfadoxine-pyriméthamine (SP) chez les femmes enceintes à titre prophylactique. La chimio prophylaxie est recommandée par l'OMS pendant la grossesse, associée aux moustiquaires imprégnées, dans les zones de haute transmission d'endémie palustre. SP est utilisé préférentiellement lors des visites prénatales (femmes enceintes ayant plus de 16 semaines d'aménorrhée). Il faut prescrire trois doses de TPIp séparées d'au moins un mois, trois comprimés de SP en prise unique. Efficacité largement prouvée, mais des résistances apparaissent.

Le traitement préventif intermittent chez les enfants (TPIe) réduit la prévalence de l'infection palustre. Dans les zones de forte transmission, 3 doses de SP sont recommandées en TPI en même temps que les vaccinations systématiques. De plus, en 2012, l'OMS a recommandé la chimiothérapie saisonnière comme stratégie complémentaire de prévention antipaludique pour le Sahel. Cette stratégie prévoit l'administration d'un traitement d'un mois d'amodiaquine et de SP à tous les enfants de moins de 5 ans pendant la saison de forte transmission.

#### ✚ **Vaccins anti palustres**

Un des buts de la Malaria Vaccine Initiative (MVI), sponsorisée par la Fondation Bill-et-Malinda Gates, est de développer un vaccin antipaludique pour la décennie 2010-2020.

**Le vaccin RTS, S/AS01** qui est le seul à avoir atteint la phase 3, empêche la survenue d'un grand nombre de cas de paludisme clinique pendant une période de 3 à 4 ans chez les jeunes nourrissons et les enfants lorsqu'il est administré avec ou sans une dose de rappel. Son

efficacité a été améliorée par l'administration d'une dose de rappel chez ces deux catégories d'âge.

En 2015, l'Agence européenne du médicament a rendu un avis favorable pour utiliser le vaccin RTS, S/AS01 (Mosquirix®) en Afrique, qui est un vaccin contre le paludisme et l'hépatite virale B, le «S» situé après la virgule désignant l'antigène HBs. Conformément à cette recommandation des essais sont en cours au Mali et au Burkina Faso.

### 3.5.2. Traitements

Les antipaludiques ou antipaludéens ou anti malariques sont des médicaments capables de prévenir ou de guérir le paludisme. Le traitement du paludisme implique des mesures complémentaires aussi bien que des médicaments spécifiques. Il repose sur l'utilisation de molécules antipaludiques qu'on peut classer selon leurs propriétés pharmacologiques, leurs propriétés chimiques, leur origine. Ces molécules sont utilisées en fonction du stade de la maladie, de la sensibilité du parasite et des différents stades devant lesquels se trouve le soignant. Il n'existe actuellement qu'un nombre limité d'antipaludiques. Compte tenu de la progression de la résistance aux antipaludiques dans de nombreuses régions endémiques, il devient de plus en plus difficile de traiter efficacement le paludisme.

La résistance médicamenteuse, selon l'OMS, est la capacité qu'un parasite a pour se multiplier ou pour survivre en présence d'une concentration de substance qui, normalement, détruit les parasites de la même espèce ou empêche leur multiplication. Cette résistance peut être partielle (amenant à augmenter les doses de médicament tolérées par l'hôte) ou complète (dépassant les doses maximales tolérées par l'hôte). Plusieurs classes de produits ont successivement vu le jour, avec chacune leurs avantages et leurs inconvénients. Dans leur grande majorité, ces produits sont uniquement actifs sur les formes sanguines (intra érythrocytaires asexuées) du parasite et n'ont d'activité ni sur les stades initiaux intra hépatiques), ni sur les gamétocytes sanguins (exceptés la primaquine et les autres amino-8-quinoléines). La prise en charge efficace des cas de paludisme est un élément fondamental de la lutte antipaludique en Afrique subsaharienne où, la plupart des infections paludéennes sont dues à *P. falciparum* et donc sont potentiellement mortelles (Greenwood et al. 2005). Le choix du traitement est basé sur la fréquence des cas de résistances dans la zone considérée, et sur l'importance d'éventuels effets indésirables provoqués par certains antipaludiques. On distingue les schizonticides, actifs sur les stades asexués intra-érythrocytaires et les gamétocytocides, actifs aussi bien sur les gamétocytes sanguins que sur les stades intra hépatiques (hypnozoïtes).

**Tableau 1** : Classification des antipaludiques

Origines	Dérivés	Molécules	Action	Sites d'action
Antipaludiques Naturels	Alcaloïdes	Quinine, quinidine, cinchonine	Schizonticides	Vacuole digestive
	Quinghaosu	Artémisinine, Artéméther, Artésunate	Schizonticides	Vacuole digestive
Antipaludiques de synthèse	Amino-4 Quinoléines	Chloroquine, Amodiaquine	Schizonticides	Vacuole digestive
	Aryl-AminoAlcools	Méfloquine, Halofantrine	Schizonticides	Vacuole digestive
	Antifoliques et Antifoliniques	Sulfadoxine, Pyriméthamine	Schizonticides	Cytoplasme
	Naphtoquinones	Atovaquone	Schizonticides	Mitochondrie
	Antibiotiques	Cyclines, Macrolides,	Schizonticides	Ribosome
	<b><u>Amino-8-quinoléines</u></b>	<b><u>PRIMAQUINE,</u></b> Tafénoquines, Quinocides, Bulaquines,	<b><u>Gamétocytocides</u></b>  <u>s</u>	<b><u>Mitochondrie</u></b>

		Pamaquines, Plasmocides		
--	--	----------------------------	--	--

### 3.5.2.1. Amino-4-quinoléines (amodiaquine, chloroquine)

Ce sont des molécules de synthèse les plus largement distribuées. Cette classe est représentée par l'amodiaquine et la chloroquine. La chloroquine qui est assurément l'un des produits ayant été le plus utilisé au monde au cours de ces cinquante dernières années (33). La large diffusion de la résistance de *P. falciparum* à la chloroquine est hélas devenue un facteur limitant son emploi. La chloroquine a une marge thérapeutique très faible et ses effets toxiques sont très liés à la dose ingérée. Le diazépam est un antidote spécifique de la chloroquine. La chloroquine a peu de contre-indications qui sont surtout limitées aux patients allergiques ou ayant eu une dose exagérée lors d'une utilisation antérieure.

L'amodiaquine a été délaissée à cause de sa grande toxicité quand elle est utilisée en prophylaxie. Ces molécules, hélas, restent la référence thérapeutique de l'accès palustre simple pour la majorité des pays d'Afrique de l'ouest dont le Mali (la chloroquine reste efficace sur certaines souches de *P. falciparum* au Mali). Son remplacement soit par l'association artéméther plus luméfantine (CoArtem®) ou soit par l'association artésunate plus amodiaquine (Arsucam®, Asaq®) a été validé en juin 2007 (34) bien qu'ayant été proposé depuis 2004.

### 3.5.2.2. Amino-Alcools (quinine, méfloquine, halofantrine)

Alcaloïde naturel du *quinquina*, la quinine est la plus ancienne et la plus utilisée de ces amino-alcools. Ses propriétés pharmacologiques et en particulier la possibilité de l'administrer par voie intraveineuse ou intra rectale en font le médicament de choix lors du traitement du paludisme grave, d'autant plus qu'il existe peu de résistances à ce produit (celles-ci sont surtout présentes en Asie). Aux doses thérapeutiques (25 mg/kg/j de quinine base en 3 prises pendant 5 à 7 jours), les effets secondaires sont limités (troubles auditifs avec bourdonnements d'oreilles, vertiges, etc.) mais les surdosages entraînent rapidement des troubles cardiaques graves (35). L'ototoxicité est un effet adverse très connu de la quinine. L'hypoglycémie est un effet adverse significatif affectant plus de 10% de patients traités pour paludisme sévère avec la quinine, induite par une hypersécrétion d'insuline. Ce phénomène est exagéré en cas de grossesse. La plus sérieuse toxicité de l'halofantrine est cardiaque (35). L'utilisation de la méfloquine et de l'halofantrine, qui avait suscité, au moment de la mise sur

le marché de celles-ci, de grands espoirs pour le traitement des accès simples à *P. falciparum* chimio-résistant, a dû être nuancée du fait de leur coût et du recensement progressif d'effets secondaires. L'halofantrine garde l'intérêt d'une assez bonne tolérance et de sa durée de traitement complet qui, en 12 heures (trois prises de 8mg/kg espacées de 6 heures, sans dépasser 2 comprimés à chaque prise), permet une bonne observance bien meilleure que les traitements sur plusieurs jours. La luméfántrine, apparenté à l'halofantrine, est exclusivement utilisé en association à l'artéméther (Co-Artéméther, Riamet® dans les pays développés et CoArtem® dans les pays en voie de développement) dans le traitement du paludisme simple.

### **3.5.2.3. Antifoliques et antifoliniques**

Tous ces produits agissent sur la synthèse des acides nucléiques des plasmodies. Même s'ils sont parfois utilisés seuls, leur efficacité modérée (voire nulle sur *P. vivax* pour les sulfamides), associée à des effets secondaires parfois graves (agranulocytose, anémie, leucopénie, épidermolyse...) et à la sélection rapide de souches résistantes font qu'ils doivent être utilisés en association.

### **3.5.2.4. Antibiotiques (cyclines, macrolides)**

Juste après leur découverte dans les années 1940, les antibiotiques ont été évalués pour leur activité antipaludique. En dehors de leur utilisation comme antipaludiques, les antibiotiques sont co-administrés dans beaucoup de régions pour traiter la co-infection bactérienne, en prenant en compte que les infections bactériennes sont les complications majeures du paludisme (36), (37), (38). Les antibiotiques (tétracycline et doxycycline) sont utilisés en combinaison avec la quinine ou l'artésunate dans les régions de multirésistance médicamenteuse (39).

### **3.5.2.5. Dérivés de l'artémisinine**

Utilisés en médecine traditionnelle en Chine depuis plusieurs centaines d'années, ces extraits de la plante *Artemisia annua* n'ont que récemment rejoint l'arsenal des médicaments antipaludiques commercialisés. Ces produits incluant l'artésunate, l'artémisinine, la dihydroartémisinine, l'artéméther et l'artééther ont fait l'objet d'études scientifiques assez complètes ayant permis d'identifier une nouvelle classe d'antiparasitaires de type peroxyde, qui n'a pas encore suscité de résistance. Plus rapides qu'aucun autre antipaludique sur la disparition des parasites du sang et ne possédant que peu d'effets secondaires, ils sont d'une

grande utilité dans le traitement des formes graves où l'artéméther fait jeu égal avec la quinine, surtout dans les zones de multi-résistances de *P. falciparum*. Mais leur élimination très rapide (demi-vie de quelques heures) impose des traitements longs ou des associations, sous peine d'observer un taux de rechutes important. Les données chez l'homme montrent que l'utilisation courte des dérivés de l'artémisinine seuls ou en combinaison est associée à une neurotoxicité. Des déficits neurologiques mineurs chez un nombre limité de patients traités après infection palustre ont été décrits (40). Ces dérivés semblent être également bien tolérés lors de leur utilisation pendant la grossesse. Ils constituent le traitement de choix du paludisme grave chez la femme enceinte à cause de leur efficacité, de leur meilleure tolérance et aussi de leur facilité d'administration par rapport à la quinine (41). Les seules contre-indications des dérivés de l'artémisinine concernent l'allergie et le premier trimestre de grossesse. Actuellement, l'OMS recommande d'utiliser ces dérivés de l'artémisinine en association à un autre médicament antipaludique afin de limiter ou décaler la survenue de souches résistantes à ces dérivés. Ces dérivés de l'artéméther trouvent surtout leurs intérêts dans le traitement du paludisme sévère, notamment dans les cas associés à une anémie sévère (42). Ils constituent également le traitement de choix de l'accès palustre simple en association et grâce à leur action sur les gamétocytes (42).

#### ●Associations d'antipaludiques

Comme dans la prise en charge des affections bactériennes, l'association de plusieurs molécules antipaludiques vise à améliorer l'efficacité du traitement, dans certains cas par synergie potentialisatrice, en rendant de toute façon hautement improbable l'émergence de résistance.

Idéalement, le régime thérapeutique doit être sûr et bien toléré (pas d'effets secondaires sérieux, ni d'évènements fatals adverses), stable (pas de problème de stockage en terme d'humidité et de température), efficace (taux de guérison au moins égal à 75-90%), pouvant être administré par voie orale, rectale ou parentérale (régime utilisable en toute circonstance), disponible en monodose (pour minimiser l'inobservance du traitement), possibilité d'administration par des illettrés à domicile, ou à défaut un régime simple court ( $\leq 3$  jours), efficace contre tous les stades de développement du parasite (l'effet gamétocytocide pourrait réduire la transmission si le médicament est utilisé à large spectre), non susceptible d'induire la résistance (le médicament doit en tout cas minimiser le développement ou le taux d'acquisition de la résistance par les parasites) et accessible à tous (coût et disponibilité géographique). L'association artéméther-luméfantrine (CoArtem®) est recommandée comme médicament de première intention en Afrique. Dans un essai randomisé contrôlé, il a été

démontré que les enfants traités avec six doses de CoArtem<sup>©</sup> avaient une prévalence de gamétocytémie réduite (7.9%, n = 406), un portage de gamétocytes de faible durée, et infectaient faiblement les moustiques comparés aux enfants traités par l'association chloroquine plus SP ou la prévalence était de 48.8% (n = 91) (43). Probablement à cause de la faible gamétocytémie, aucun enfant du groupe traité avec le CoArtem<sup>©</sup> n'était infectieux pour les moustiques à J7 post-thérapeutique, tandis que ceux traités avec la chloroquine plus SP étaient infectieux pour les moustiques (37%). La même étude a démontré que le CoArtem<sup>©</sup> avait une action spécifique contre le développement des gamétocytes en plus de son action sur les formes asexuées.

- **L'association dihydroartémisinine-pipéraquline (Artekin<sup>®</sup>)**

Cette association donne de meilleurs résultats comparée à celle de l'artésunate-amodiaquine. Elle vient d'être validée par l'OMS dans le traitement de l'accès palustre simple même dans les co-infections (*P. falciparum*, *P. vivax*) dans la prophylaxie post traitement (prévention des rechutes ou des réinfections (44). Cette combinaison à dose fixe a constamment démontré une efficacité supérieure à 95% dans le traitement du paludisme à *P. falciparum* multi-résistant. Bien que structurellement proche de la chloroquine, les études in-vitro ont démontré que la pipéraquline est hautement efficace sur les souches de *P. falciparum* chloroquino-résistants (43) et la combinaison dihydroartémisinine-pipéraquline retient certainement à la fois la très grande efficacité et un effet prophylactique post-traitement dans les zones où il existe une forte prévalence de *P. falciparum* chloroquino-résistants et démontre également une efficacité supérieure à l'association artésunate-méfloquine (45).

#### **3.5.2.6. Amino-8-quinoléines**

Cette classe de produits est la seule réellement active sur les formes hépatiques (schizontes et hypnozoïtes) et les formes sexuées du parasite (gamétocytes). Malheureusement la seule molécule actuellement disponible (qui est la primaquine) est trop toxique pour être utilisée à large échelle, surtout en Afrique où elle provoque des hémolyses chez les sujets déficitaires en glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PD).

#### **🚩 LA PRIMAQUINE**

La primaquine (Primaquine<sup>®</sup>) est le seul médicament disponible qui «efface» les gamétocytes de *P. falciparum* matures chez l'homme, empêchant ainsi la transmission de l'hématozoaire aux moustiques. L'hémolyse due à la primaquine est dose-dépendante chez les déficitaires en G6PD.

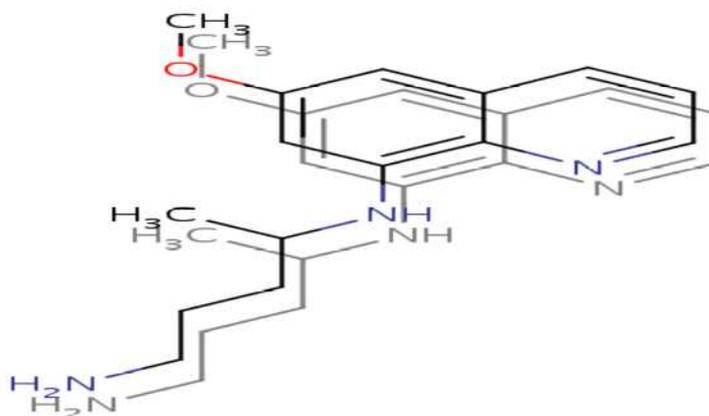
#### **❖ Histoire**

La primaquine est une molécule connue depuis les années 1950. Elle fait partie de la famille des Amino-8-quinoléine. Mise au point pendant la guerre de Corée par les Américains, ses modalités d'emploi historique répondaient à un souci d'efficacité et de tolérance pour le traitement des vétérans en prophylaxie terminale. Il s'agissait d'administrer 15 mg/jour pendant 14 jours à des sujets sains au retour de zone d'endémie, afin d'éviter la survenue de la première reviviscence (l'accès de primo invasion peut-être masqué par la chimio prophylaxie). Ce protocole de 15 mg/jour pendant 14 jours peut également être utilisé en cure radicale (prophylaxie secondaire) après traitement de l'accès de reviviscence : on y fait souvent référence dans les publications sous le nom de « traitement standard ». Ainsi la primaquine a été jugée efficace et bien tolérée en prophylaxie terminale au retour de Corée et en traitement standard, en l'absence de contre-indication. La recherche du déficit en G6PD n'était pas réalisée systématiquement à cette occasion, ce qui a provoqué de nombreux cas d'anémies hémolytiques, parfois sévères (46).

#### ❖ Structure

Poids moléculaire : 259,4

Formule chimique : C<sub>15</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub>O



**Figure**

**3** : Structure chimique de la primaquine

**Source** : <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/primaquine>

#### ❖ Pharmacologie

La primaquine, une Amino-8-quinoléine, est un agent anti-protozoaire très actif contre les formes exo-érythrocytaires de *P. vivax* et de *P. ovale*, et contre les formes exo-érythrocytaires primaires de *P. vivax* et de *P. ovale*. La primaquine est aussi très active contre les gamétocytes des plasmodies, surtout *P. falciparum* (47).

La primaquine est rapidement absorbée dans le tractus gastro-intestinal. La biodisponibilité de 96 % est augmentée en cas de prise alimentaire concomitante. Le pic plasmatique survient entre 1h et 3h chez le sujet sain comme chez le sujet impaludé. La primaquine traverse la barrière placentaire. Son volume de distribution est de 280 litre quelle que soit la dose absorbée. Le premier passage hépatique est peu important. La concentration maximale varie de manière linéaire en fonction de la dose quotidienne ingérée et sa demi-vie d'élimination rapportée est d'environ 3 à 6 heures (48).

La primaquine est largement distribuée dans les tissus de l'organisme. Elle est rapidement métabolisée dans le foie. Son principal métabolite est la carboxyprimaquine, qui peut s'accumuler dans le plasma lors d'administrations répétées. La 5-hydroxyprimaquine et la 5-hydroxy-6-déméthylprimaquine ont toutes deux une activité antipaludique et induisent la formation de méthémoglobine. L'élimination se fait par voie rénale.

#### ❖ Mécanisme par rapport au cycle

La primaquine est active contre le paludisme sur les formes tissulaires hépatiques (schizontes primaires pendant l'incubation ou hypnozoïtes), sur les formes sexuées circulantes (gamétocytes), et pour *P. vivax* et *P. ovale* sur les formes asexuées circulantes (schizontes, trophozoïtes).

#### ❖ Mode d'action

Son mécanisme d'action est encore peu connu. Elle agit par altération des membranes mitochondriales du *Plasmodium* (46).

#### ❖ Indications

La primaquine est utilisée pour un traitement radical (élimination complète) des deux espèces de *Plasmodium* présentant des formes latentes (*P. vivax* et *P. ovale*). En général, *P. vivax* des zones tropicales requiert un dosage élevé de primaquine (30 mg/kg/jour) alors que *P. vivax* des zones tempérées (15 mg/kg/jour). Le traitement standard est de 14 jours bien que souvent un traitement de 21 jours soit nécessaire. Le schéma de 5 jours est insuffisant (46). L'OMS dans ses directives actuelles pour le traitement du paludisme à *P. falciparum* non compliqué fait deux recommandations pour l'utilisation de la primaquine pour bloquer la transmission de *P. falciparum* qui devrait être sans danger. La première, publié en 1973, est l'utilisation d'une dose unique de 0,75 mg/kg de primaquine après utilisation des tests de dépistage du statut en G6PD pour éliminer les gamétocytes de *P. falciparum* (32). La deuxième, émise en Octobre 2012, a recommandé l'utilisation de 0,25 mg/kg dose unique de primaquine en association à une CTA sans tester obligatoirement le statut en G6PD.

❖ **Les contre-indications absolues**

La Primaquine est contre-indiquée :

- o Chez le patient présentant une hypersensibilité à la primaquine, à ses ingrédients ou à tout composant du contenant. Pour voir une liste complète des excipients, (voir ci-dessous).
- o Chez le patient gravement malade, souffrant d'une maladie généralisée caractérisée par une tendance à la granulocytopenie, comme l'arthrite rhumatoïde et le lupus érythémateux.
- o Chez le patient recevant également d'autres médicaments potentiellement hémolytiques ou des dépresseurs des éléments myéloïdes de la moelle osseuse.
- o La quinacrine semble potentialiser la toxicité des composés antipaludéens de structure voisine de celle de la primaquine. Par conséquent, l'utilisation de la quinacrine est contre-indiquée chez le patient recevant de la primaquine. De même, il ne faut pas administrer de la primaquine au patient qui a récemment reçu de la quinacrine, car la toxicité en sera accrue.
- o Chez le patient présentant un déficit sévère en glucose-6-phosphate-déshydrogénase (G6PD).
- o Chez la femme enceinte.

❖ **Les contre-indications relatives**

En prenant la Primaquine, vous pourriez ressentir d'autres effets secondaires :

- o Rythme cardiaque irrégulier,
- o Nausées,
- o Vomissements,
- o Brûlures d'estomac,
- o Maux de ventre,
- o Urine foncée,
- o Problèmes sanguins comme la leucopénie (diminution du nombre de globules blancs) qui pourrait aggraver une infection ou une méthémoglobinémie (diminution de la

capacité du sang à transporter l'oxygène) et des symptômes comme un essoufflement, de la confusion, une sensation de tête légère, et de la fatigue,

- o Étourdissements,
- o Éruption cutanée, démangeaison (47).

#### ❖ Posologie

La primaquine est recommandée dans la cure radicale du paludisme à *P. vivax* ou à *P. ovale* (pour la prévention de la rechute du paludisme à *P. vivax* ou à *P. ovale*), ou après un traitement suppressif au phosphate de chloroquine dans une région où le paludisme à *P. vivax* ou à *P. ovale* est à l'état endémique et pour bloquer la transmission de *P. falciparum*.

Le patient subissant un accès de paludisme à *P. vivax* ou à *P. ovale* ou dont les globules rouges sont infestés de parasites doit d'abord recevoir un traitement par un schizontocide sanguin pour détruire rapidement les parasites érythrocytaires et mettre fin à l'accès du paludisme. Il faut ensuite lui administrer du phosphate de primaquine pour éradiquer les parasites exo-érythrocytaires. Lorsque la primaquine est indiquée pour la prévention d'une primo-infection retardée ou d'une rechute de paludisme à *P. vivax* ou à *P. ovale* chez la personne ayant quittée une région où ces espèces plasmodiales sont endémiques, on débute généralement l'administration de cet agent soit durant les deux dernières semaines d'un traitement à la chloroquine ou à un autre agent antipaludéen approprié, soit immédiatement à la suite de ce genre de traitement.

Le statut G-6-PD des patients doit être utilisé pour guider l'administration de primaquine pour la prévention de la rechute.

- Adultes : 1 comprimé (15 mg de primaquine base) par jour pendant 14 jours.

En cas de déficit en glucose-6-phosphate- déshydrogénase (G6PD) léger ou modéré : 0,75 mg/kg de primaquine base une fois par semaine pendant 8 semaines

- Enfants : 0,39 mg de primaquine base par kg par jour pendant 14 jours.

En cas de déficit en glucose-6-phosphate-déshydrogénase (G6PD) léger ou modéré : 0,75 mg/kg de primaquine base une fois par semaine pendant 8 semaines.

NOTE : Dans la cure radicale du paludisme dû à certaines souches de *Plasmodium vivax*, des doses plus élevées ou un traitement plus long peuvent être nécessaires pour contrer la résistance.

Prendre la primaquine après un repas peut atténuer les douleurs ou les crampes abdominales associées à l'ingestion de ce médicament (47).

### ❖ **Présentation de la PRIMAQUINE® Sanofi**

Un comprimé pelliculé de forme convexe arrondie, de couleur rose, portant les caractères stylisés W et P97 à l'encre noire sur un côté et ne portant aucune marque sur l'autre côté.

- Les ingrédients de la PRIMAQUINE® Sanofi
  - ✓ Ingrédients médicinaux : phosphate de primaquine USP 26,3 mg (équivalent à la base de primaquine 15 mg).
  - ✓ Ingrédients non-médicinaux : cire de carnauba, cellulose (microcristalline), lactose, magnésium stéarate, Opacode Encre noire S-1-177003 (contient glaçure de gomme-laque, propylène glycol, N-butyle de l'alcool; oxyde de fer noir; éthanol et méthanol), Opadry blanc YS-1-7443 (contient l'hypromellose; le polyéthylène glycol 400; le dioxyde de titane; et polysorbate 80), polyéthylène le glycol 400, l'oxyde de fer rouge, l'amidon et le talc. Sans gluten et sans tartrazine (47).

### ❖ **Stabilité et conservation**

Conserver à une température se situant entre 15 et 30 °C.

Garder hors de la portée et de la vue des enfants.

### ❖ **Interactions médicamenteuses**

On prendra soin d'éviter les médicaments susceptibles d'accroître le risque d'hémolyse ou de dépression médullaire osseuse.

MISES EN GARDE, SURDOSAGE.

### ❖ **Surdosage**

- Symptômes Crampes abdominales, vomissements, jaunisse, douleurs épigastriques à type de brûlure, troubles du système nerveux central et du système cardio-vasculaire, y compris arythmie cardiaque et allongement de l'intervalle QT, cyanose, méthémoglobinémie, leucopénie ou leucocytose modérée, et anémie. Les changements les plus frappants sont la granulocytopénie et l'anémie hémolytique aiguë chez le patient présentant un déficit en G6PD. L'hémolyse aiguë survient souvent, mais disparaît généralement à l'arrêt du traitement par la primaquine.

- **Traitement** La prise en charge du surdosage doit comprendre des tentatives appropriées pour évacuer la primaquine de l'estomac par vomissements ou lavage gastrique et le maintien des fonctions respiratoire et cardio-vasculaire. On peut administrer du lactate de sodium par voie i.v. pour contrer l'effet dépressur de la primaquine sur le cœur. L'entraînement électrosystolique peut être nécessaire. Du chlorure d'ammonium en doses allant jusqu'à 12 g par jour peut être donné, par voie orale, pour augmenter l'excrétion urinaire. Il faut traiter la méthémoglobinémie symptomatique à l'aide de 1 à 2 mg de bleu de méthylène par kg (47).

### **3.6. Déficit en Glucose 6 Phosphate Déshydrogénase (G6PD-d)**

#### **3.6.1. Introduction**

Le déficit en G6PD est l'enzymopathie héréditaire la plus répandue dans le monde avec 420 millions de sujets atteints. Particulièrement fréquent dans les pays méditerranéens, en Afrique et en Asie tropicales, ce déficit peut être rencontré partout en raison des mouvements de population.

Quelques chiffres :

- population noire : la fréquence est de 20% en Afrique, de 12% chez les afro-américains, de 8% chez les noirs au Brésil,
- population méditerranéenne : en Sardaigne, la fréquence varie de 35% à faible altitude à 3% au-dessus de 600 mètres, en Grèce, 20 à 30% dans les basses terres,
- population asiatique : 14% au Cambodge, 5% en Chine du Sud, 2,5% en Inde (28).

Cette forte prévalence pourrait en fait être liée à un avantage sélectif conféré aux porteurs vis-à-vis du paludisme grave (49).

Plusieurs hypothèses ont été avancées, sans conclusion définitive.

Le parasite *Plasmodium falciparum* serait incapable de se développer dans les globules rouges déficients en G6PD (50). La diminution des mécanismes cellulaires de défense antioxydants serait responsable d'une augmentation de la phagocytose des globules rouges dès les premiers stades de maturation du parasite (51).

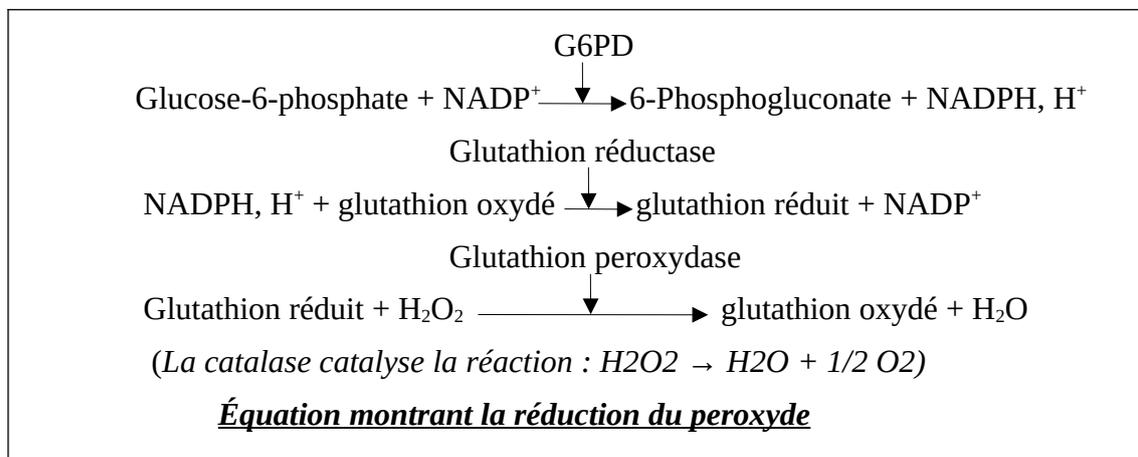
#### **3.6.2. Généralités**

Le déficit enzymatique a été découvert dans les années 1950 suite à des études menées sur le pouvoir hémolysant de la primaquine, un antipaludéen de synthèse (52). Des études au chrome-51 avaient permis de démontrer qu'une hémolyse corpusculaire se produisait lorsque des globules rouges provenant de sujets sensibles étaient injectés à des sujets normaux

recevant de la primaquine, à la différence des globules rouges normaux injectés à des sujets sensibles à la primaquine. Les globules rouges pathologiques présentaient une diminution de leur glutathion (GSH) réduit après stress oxydatif (53).

Tout au long de sa vie, le globule rouge est soumis à des agents oxydants menaçant l'intégrité de sa membrane et de l'hémoglobine.

Des agents oxydants tels que l'oxygène (O<sub>2</sub>) ou le peroxyde (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) sont produits suite au contact avec certains xénobiotiques ou organismes infectieux, voire même à l'occasion de l'interaction répétée entre l'oxygène O<sub>2</sub> et hémoglobine. La lutte contre ces agents oxydants se fait grâce au glutathion (GSH). Les cellules normales régénèrent leur (GSH) réduit par l'action de la GSH réductase qui utilise du nicotinamide adénine di-nucléotide phosphate réduite (NADPH). La G6PD permet, au sein de la voie des pentoses, la synthèse de la NADPH nécessaire à la régénération du GSH. La NADPH contribue également au maintien de l'hémoglobine sous une forme fonctionnelle (Fe<sup>2+</sup>) grâce à la méthémoglobine réductase. Cependant, contrairement aux cellules des autres tissus qui possèdent de nombreuses voies de régénération de la NADPH, les globules rouges sont totalement dépendantes de la G6PD pour le faire. C'est pourquoi, le déficit en G6PD s'exprime essentiellement dans les globules rouges.



Le déficit en G6PD est transmis génétiquement sur le mode récessif, lié au chromosome X. Le gène de la G6PD est localisé sur le chromosome Xq28. La transmission est donc liée au sexe : les hommes hémizyotes sont toujours symptomatiques, les femmes, qui transmettent l'anomalie, sont en général indemnes. Toutefois, le diagnostic peut être symptomatique chez les femmes, soit homozygotes, soit hétérozygotes en fonction de l'inactivation de l'un ou l'autre, ou des deux chromosomes. Les formes homozygotes sont rares : 20% des femmes afro-américaines sont hétérozygotes et 1% seulement sont homozygotes. La maladie, chez les

femmes homozygotes, a la même traduction que chez les hommes. La crise hémolytique aiguë due à ce déficit nécessite l'intervention d'un agent hémolysant médicamenteux, alimentaire ou infectieux (28).

La G6PD normale existe sous deux formes principales : le variant B, ubiquitaire, et le variant A, qui se reconnaît par une mobilité électrophorétique plus grande vers l'anode.

Le clonage de l'ADNc de l'enzyme dans les années 1980 a permis de déterminer la structure du gène et de préciser la séquence de la protéine (54)(55). Le gène compte 13 exons et code pour une protéine de 514 acides aminés (56). L'analyse de la protéine, a permis de confirmer que la forme A<sup>+</sup> dérive de la forme B<sup>+</sup> par le remplacement d'une Asparagine par un acide Aspartique ce qui augmente la charge négative de la protéine-enzyme et rend compte de la migration électrophorétique plus anodique de la forme A (57). Tous les mutants présentent une mutation unique dans la séquence des acides aminés du variant B<sup>+</sup>, à l'exception du variant A<sup>-</sup> : celui-ci possède en effet à la fois la mutation caractéristique du variant A<sup>+</sup> et une mutation supplémentaire Valine-Méthionine. Le variant A<sup>-</sup> dérive donc à l'origine sur une population du variant A<sup>+</sup>.

La fréquence de la G6PD A<sup>-</sup> est d'environ 20% dans les populations noires africaines. La variante méditerranéenne de la G6PD B<sup>-</sup> est présente dans le pourtour méditerranéen, le Proche et le Moyen-Orient où elle touche 10 à 25% de la population. Dans le sud-est asiatique, les variants Mahidol, Canton, Viangelian et Kalping sont prédominants et 10 à 15% de la population est déficitaire (28).

La majorité des mutations découvertes entraînent un déficit en G6PD du globule rouge en réduisant la stabilité de l'enzyme. Ces mutations touchent principalement la zone d'interface nécessaire pour former le dimère ou la zone d'interaction de l'enzyme avec le nicotinamide adénine di-nucléotide phosphate réduite (NADPH).



**Tableau 2 :** Classification OMS des variants enzymatiques de la G6PD en cinq classes.

Type	Intensité du déficit	Activité enzymatique	Expression clinique	Variants G6PD fréquents
Classe I	Sévère	<10% de l'activité normale	Hémolyse chronique	Rare
Classe II	Sévère	10%	Hémolyse intermittente	G6PD B - ou méditerranéen, Mahidol, Canton
Classe III	Modéré	10 à 60%	Hémolyse suite à un Stress oxydatif	G6PD A-
Classe IV	Absence de déficit	60 à 150%	Absence	G6PD B - G6PD A -
Classe V	Activité accrue	> 150%	Absence	Rare

### 3.6.3. Clinique

La gravité du déficit en G6PD est due au risque d'hémolyse aiguë intra-vasculaire lors de l'absorption de certains médicaments, de certains aliments et/ou à l'occasion d'infections. Les principales manifestations cliniques de la crise hémolytique aiguë sont les urines rouges porto ou coca-cola, l'oligo-anurie, la pâleur cutanéomuqueuse, la fièvre, les douleurs abdominales et/ou lombaires, l'ictère ou le sub-ictère. La splénomégalie est inconstante. L'intensité de l'hémolyse varie avec le facteur hémolysant, le type génétique du déficit. C'est dans la classe II que le tableau clinique est le plus sévère. Les principales complications de l'hémolyse aiguë sont le choc septique et l'insuffisance rénale aiguë (IRA) due à une tubulo-néphrite aiguë.

Le déficit en G6PD peut également provoquer une anémie hémolytique chronique (déficit de classe I).

L'évolution chronique est émaillée de poussées hémolytiques aiguës. Les complications habituelles des hémolyses chroniques sont rapportées : lithiase biliaire, hémosidérose, etc....

Chez le nouveau-né, en raison de l'immaturation fonctionnelle du foie, il existe un risque d'ictère nucléaire (jaunisse néonatale) pouvant mettre en jeu le pronostic vital.

#### **3.6.4. Diagnostic**

Les principales données biologiques sont l'hémoglobinurie, l'anémie, le taux bas d'activité du G6PD. Pendant l'épisode hémolytique, la dénaturation oxydative de l'Hb apparaît sous forme de petites masses collées à la membrane, visibles après coloration spéciale (bleu de crésyl ou cristal violet) : ce sont les corps de Heinz. Le diagnostic de l'activité enzymatique se fait sur sang veineux avec anticoagulant (en général EDTA)

L'activité enzymatique est de 7 à 10 UI/g d'hémoglobine dans les globules rouges normaux. Le taux d'activité du G6PD peut être paradoxalement élevé pendant la crise hémolytique aiguë. En effet, les cellules jeunes ont un stock plus important d'enzyme et le résultat du dosage au décours d'une hémolyse est plus élevé qu'en situation normale.

Il faut donc faire le dosage pendant la crise et trois mois après l'hémolyse. L'analyse de l'ADN permet de caractériser le défaut responsable du déficit et de prédire le degré de sévérité clinique encouru par le patient. Une électrophorèse de l'hémoglobine est faite systématiquement, les hémoglobinoses étant souvent associées en zone tropicale, en particulier en Afrique subsaharienne (maladie drépanocytaire) ou en Asie (Hémoglobinoase E) au déficit en G6PD (28).

#### **3.6.5. Facteurs hémolysants**

Ce sont des médicaments, des infections ou des aliments.

##### **3.6.5.1. Médicaments :**

- **Médicaments contre-indiqués**

Acide nalidixique, dapsonne, nitrofurantoïne, noramidopyrine, sulfadiazine (voie orale), sulfaguanidine, sulfaméthoxazole, ulfasalazine, triméthoprime,

- **Médicaments déconseillés**

Chloroquine, ciprofloxacine, lévofloxacins, norfloxacine, spiramycine, sulfadiazine,

- **Médicaments dont l'utilisation est possible après analyse des données disponibles** (littérature et pharmacovigilance): Chloramphénicol (OPH), ciprofloxacine (OPH et auriculaire), colchicine, isoniazide, méfloquine, norfloxacine (OPH), ofloxacine (OPH et auriculaire), phénylbutazone, phénitoïne, proguanil, pyriméthamine, quinidine, streptomycine, thiamphénicol.

- **Médicaments déconseillés** (sauf situation particulière)

Hydroxychloroquine, ofloxacine, pefloxacins, quinine, sulfadoxine

- **Médicaments déconseillés à posologie élevée**

Acide acétylsalicylique, acide ascorbique, paracétamol

### 3.6.5.2. Infections

L'infection est une cause d'hémolyse chez le sujet déficient en G6PD : l'infection à *Escherichia coli*, à *streptocoque β-hémolytique*, aux *rickettsioses* et à l'hépatites virales.

### 3.6.5.3. Favisme

L'ingestion de fèves est responsable de crises aiguës sévères ou favisme, en particuliers chez les sujets méditerranéens. De même, le Henné peut induire chez les porteurs d'un déficit en G6PD une hémolyse lors d'une exposition cutanée, lorsqu'il est utilisé comme cosmétique, ou d'une exposition digestive lorsqu'il est utilisé comme abortif.

### 3.6.6. Prise en charge

La prise en charge dépend des facteurs ayant provoqué l'hémolyse. L'arrêt du facteur déclenchant est impératif. Le recours aux transfusions de culots globulaires est fréquent. L'atteinte rénale nécessite l'épuration extra rénale ou, à défaut, une diurèse forcée au furosémide.

### 3.6.7. Prévention

Il faut éviter de prescrire des médicaments susceptibles de déclencher des crises hémolytiques et éviter l'ingestion de fèves.

En pratique, il faut :

- rechercher un déficit en G6PD devant toute anémie hémolytique aiguë,
- hospitaliser toute suspicion de crise hémolytique aiguë, vu le risque de choc et la fréquence de l'IRA,
- remettre une liste de produits hémolysants confirmés ou suspects,
- étudier le pouvoir hémolysant éventuel de tout nouveau médicament, avant d'affirmer qu'il peut être prescrit en toute sécurité à un déficient en G6PD.

Le dosage systématique de la G6PD à la naissance est indiqué si la fréquence des ictères néonataux, associés au déficit en G6PD, est prouvée dans une région donnée.

L'importance des parents dans l'éducation des enfants avec un déficit en G6PD est soulignée, ils peuvent prévenir les épisodes d'hémolyse déclenchée par certains médicaments ou aliments, le relais étant pris par les enfants eux-mêmes quand ils deviennent capables de le faire.

### **3.6.8. Primaquine et déficience en G6PD, situation actuelle des connaissances:**

Beaucoup de facteurs affectent le degré d'hémolyse induit par la primaquine : 1) le degré de G6PD-d, 2) la dose de primaquine, 3) l'âge de la personne recevant la dose, et 4) le phénotype au moment du dosage (58).

Les connaissances actuelles de chacun de ces facteurs sont décrites ci-dessous :

Le degré de déficit en G6PD dépend d'un certain nombre de facteurs, y compris le sexe de l'individu, la variante génétique de G6PD-d, et l'âge relatif des globules rouges circulant chez l'hôte. Le G6PD-d est un trait génétique lié au sexe. Le gène G6PD est situé sur le chromosome X, mettant les hommes en hémizygotés et les femmes homozygotés au plus grand risque d'effets hémolytiques de déficience enzymatique. Bien qu'il existe des centaines de variantes de G6PD-d, trois variantes principales sont les plus bien étudiées. Citées de moins à plus sévère, sont : 1) la variante africaine A-, 2) la variante Mahidol et 3) la variante méditerranéenne (15).

En plus du sexe et de la génétique, le degré d'activité de l'enzyme est également affecté par l'âge relatif de la population des globules rouges, comme les jeunes hématies (réticulocytes) maintiennent un niveau d'activité plus élevé en G6PD que les globules rouges âgées (59).

Il y a des spéculations en-cours que l'âge moyen des globules rouges peut être affecté par l'infection à *P. falciparum*. Cela peut affecter les résultats de sécurité de la primaquine chez les individus G6PDd, comme les globules rouges âgés G6PD-d sont plus sensibles à l'hémolyse induite par la primaquine que les jeunes globules rouges (59).

La toxicité de la primaquine chez les individus G6PD-d est dose-dépendante, les doses les plus élevées étant plus susceptibles d'inciter des événements indésirables (60) (61). Des études d'observationnelles ont également montré que AHA est plus dangereux chez les enfants que chez les adultes (8).

## **4. METHODOLOGIE**

### **4.1. Site de l'étude**

L'étude s'est déroulée dans la commune rurale de Ouélessébougou. L'actuelle commune de Ouélessébougou a été créée sur une vieille contrée. Cette contrée de Ouélessébougou a été créée au 18ème siècle (vers 1700) par un cultivateur du nom de Wéressé. A l'origine elle n'était qu'un simple hameau de culture en bordure du marigot qui le traverse d'Ouest en Est. Avec les déformations linguistiques ce nom est devenu Wélessé d'où l'appellation : Ouélessébougou «la case de Wélessé».

#### **4.1.1. Situation**

Ouélessébougou est le nom d'une région subsaharienne au Mali, en Afrique de l'Ouest. Située dans la partie sud-ouest du pays, à environ 80 km de Bamako sur la route nationale N°7 (RN-7), la commune rurale de Ouélessébougou compte 44 villages couvrant environ 1.118 kilomètres carrés. Elle est limitée au Nord par la commune de Dialakoroba, au Sud par la commune de Kéléya, à l'Est par la commune de Sanankoro Djitoumou et à l'Ouest par la commune de Faraba.

Son relief est dominé par de petites élévations de faible altitude ne dépassant pas 100 m et des plateaux latéritiques.

#### **4.1.2. Population**

La Commune rurale de Ouélessébougou compte environ 50.335 habitants (enquête RGPH, 2009) à dominance jeune. Le taux de natalité est élevé et le taux de mortalité l'est moins grâce à l'action dynamique des services de santé. Un Centre de Sante de Référence et quatre CSCOMs concourant pour l'atteinte des objectifs du PRODESS. La population est composée de : Bamanans et Manikas en majorité. Il y a aussi des Korokos, des Dogons, des Mossis, des Peulhs. Ces différentes ethnies vivent en parfaite harmonie avec les Bamanans autochtones qu'ils appellent «Diatiguis». Les principales religions pratiquées sont l'Islam, le Christianisme et l'Animisme avec un taux de 90% de musulmans, 2% de protestants ,7% de catholiques et 1% d'animistes.

#### **4.1.3. Activités socio-économiques et culturelles**

L'agriculture et l'élevage constituent les principales activités. L'artisanat et le commerce sont également développés. La pêche est pratiquée le long du fleuve Niger. Elle est l'activité principale des Bozos, des Somonos et d'autres ethnies riveraines du fleuve.

#### **4.1.4. Climat et hydrographie**

Le climat est de type soudanais. Deux saisons déterminent son climat : la saison sèche Novembre pour finir Juin avec des températures variant entre 30 et 38° C ; la saison pluvieuse qui s'étend de Juin à Octobre avec des précipitations atteignant 1.000 mm en moyenne. Les parties Ouest et Sud de cette commune sont irriguées par le fleuve Niger et son affluent le Sankarani. Il existe également de nombreux marigots généralement secs en saison sèche.

#### **4.1.5. Infrastructures et équipements**

Sur le plan administratif on peut citer entre autres : la sous-préfecture, la Mairie, la Gendarmerie Nationale, la Douane, la Poste, l'Energie du Mali (EDM), la société malienne de gestion de l'eau potable (SOMAGEP), la Banque Nationale de Développement Agricole du Mali (BNDA), l'Office de la Haute Vallée du Niger (OHVN), les sociétés de télécommunication: SOTELMA-Malitel et Orange-Mali et le Tribunal de Justice de Paix à Compétence Étendue.

La commune compte aujourd'hui 32 écoles publiques dont 16 premiers cycles, six seconds cycles, 16 écoles communautaires, quatre écoles privées, trois medersas et une école de santé privée en plus de trois lycées dont un public dans le village même de Ouélésébougou.

Sur le plan sanitaire, le district sanitaire de la commune rurale de Ouélésébougou compte 16 aires de santé. La ville de Ouélésébougou comporte un Centre de Santé de Référence (CSRéf), un Centre de Santé Communautaire (CSCoM), trois cliniques privées et deux officines de Pharmacie.

Les activités de l'étude se sont déroulées au Centre de Santé Communautaire (CSCoM) central de Ouélésébougou hébergeant le centre de recherche du MRTC qui mène depuis 2006 des études sur le paludisme et d'autres maladies infectieuses. Situé dans la zone administrative de la ville, le CSCoM est composé d'un bloc comprenant : un bureau de consultations externes, une salle de dépôt de vente des médicaments, une salle de soins, une salle d'observation, deux salles de garde, une salle d'accouchement, deux salles de CPN, deux blocs réservés aux activités du centre de recherche MRTC, un bloc de quatre WC et une toilette, une buanderie, un incinérateur. Le CSCoM est dirigé par un docteur en médecine qui travaille en étroite collaboration avec une sage-femme, une infirmière obstétricienne, trois

matrones, une technicienne de santé, un aide-soignant vaccinateur, un gérant du dépôt de vente des médicaments essentiels, un manœuvre et un gardien.

Le Centre de Recherche en Santé de Ouélessébougou du MRTC a été initié en 2008 avec deux essais clinique sur financement de GSK et la Fondation de Bill et Melinda en collaboration avec l'Ecole d'Hygiène et de Santé Publique de Londres (London School of Hygiène and Tropical Médecine). Le centre conduit la recherche sur différents aspects du paludisme y compris l'épidémiologie, l'immunologie du paludisme ainsi que les essais cliniques sur les médicaments, des vaccins et stratégies de lutte contre le paludisme en collaboration avec diverses institutions comme GSK, LSHTM, NIAID/NIH, Sanaria, l'Université de Californie à San Francisco aux USA, Médecins Sans Frontières en France etc..

L'équipe est composé de médecins, de pharmaciens, des biologistes, des sages-femmes des infirmiers, des gestionnaires de données et des étudiants et stagiaires ainsi que du personnel de soutien (chauffeurs, guides, manœuvres, gardiens, etc..) résidents sur le site. L'équipe travaille en étroite collaboration avec le centre de santé communautaire et le centre de santé du district de Ouélessébougou.

La transmission du paludisme à Ouélessébougou est endémique et saisonnière. Le paludisme constitue la première cause de consultations. Le taux d'incidence des accès palustres était de deux épisodes par enfant et par an, la prévalence du paludisme à *P. falciparum* était de 50% chez les enfants âgés de moins de 5 ans au cours de la saison de transmission 2014 **(13)**.



**Figure 5** : Carte du Mali montrant Ouélessébougou

**Source** : [http://www.wikiwand.com/fr/Kati\\_\(ville\)](http://www.wikiwand.com/fr/Kati_(ville))

#### **4.2. Schéma de l'étude**

C'était une étude ouverte, de phase 2, d'ajustement de dose. La dose initiale de primaquine était 0,40 mg/kg chez les adultes, les adolescents et les enfants. Chez les adultes les groupes de traitement ultérieur étaient sélectionnés en fonction de la survenue d'événements indésirables dans le groupe recevant la dose précédente dans la partie I. Une fois la dose de primaquine tolérable la plus élevée chez les individus qui ont un déficit en G6PD (G6PD-d) était établie, un groupe témoin d'hommes sans paludisme non déficitaires en G6PD était enrôlé et évalué pour cette même dose et moins 0,10 mg/kg de cette dose était administrée en âges de-escaladé chez les adolescents et les enfants.

#### **4.3. Période d'étude**

Notre étude s'est déroulée sur deux périodes distinctes : du 13 Août au 19 décembre 2015 (Partie I) et du 12 mai 2016 au 10 janvier 2017 (Partie II).

#### **4.4. Population d'étude**

L'étude a concerné les enfants et les adultes de 5 à 50 ans de sexe masculin sans infection du paludisme à la goutte épaisse dans le district de Ouelessebougu. La majorité des participants à l'étude était déficients en G6PD.

#### **4.5. Taille de l'échantillon**

Dans cette étude 7 participants par groupe de dose étaient enrôlés. Au total, l'étude enrôla 28 participants par parties, soit 56 participants au total.

#### **4.6. Visite et la durée du suivi**

Chaque participant a été suivi pendant 28 jours. Les participants ont été évalués pour l'hémolyse et les événements indésirables aux jours 1 à 10, 14, et 28 suivant la prise de leur dose de primaquine.

#### **4.7. Critères d'inclusion**

Était inclus dans notre étude :

- Les enfants et les adultes âgés de 5 à 50 ans ;
- Capacité à prendre un médicament par voie orale ;
- Consentement ou assentiment éclairé ;
- Accepter et être capables de participer à l'étude pendant 28 jours ;

Pour les participants G6PD-d :

G6PD-d était défini par tests de diagnostic rapide Carestart 3 ou le test qualitatif OSMMR2000 G6PD ;

G6PD-n était défini par tests de diagnostic rapide Carestart 3 ou le test qualitatif OSMMR2000 G6PD.

#### **4.8. Critères de non inclusion**

N'étaient pas inclus dans notre étude toutes les personnes qui présentaient :

- Anémie modérée à sévère (Hb <10 g/dL) ;
- Personnes avec un test VIH positif qui était connu ;
- Personnes avec un test d'hépatite B positif qui était connu ;
- Allergie qui était connue au médicament de l'étude ;
- Utilisation des médicaments (contre la tuberculose, le VIH, ou des Infection palustre à la goutte épaisse) ;
- médicaments qui avaient un potentiel hémolytique chez les individus G6PD-d y compris les sulfamides, la dapsonne, la nitrofurantoïne, l'acide nalidixique, la ciprofloxacine, le bleu de méthylène, le bleu de toluidine, le phénazopyridine, et le cotrimoxazole) ;
- Personne qui n'était pas disposée à s'abstenir de consommer des produits contenant du pamplemousse les 72 heures précédant le début du traitement jusqu'à la fin de l'étude ;
- Avaient utilisés des antipaludiques dans les 2 semaines avant le contact avec l'équipe de l'étude tel que rapporté par le patient ;
- Avaient des antécédents de transfusion de sang ou un saignement > 500 ml dans les 3 derniers mois, tel que rapporté par le patient ;
- Avaient des Antécédents déclarés de forte consommation d'alcool (> 14 unités par semaine, chaque unité équivaut à 10 g d'alcool (1 verre de vin ou une bouteille de bière ou un coup de spiritueux distillés), dans les 6 mois de l'étude tel que rapporté par le patient ;
- Utilisation déclarée de drogues illicites (cannabis, héroïne, cocaïne, méthamphétamine) ou la dépendance dans les 6 mois de l'étude, tels que rapportés par le patient ;
- Les participants qui vomissaient dans l'heure qui suit l'administration de primaquine (étaient retirés de l'analyse et ne comptaient pas pour la taille totale de l'échantillon, ils étaient suivis comme toute autre personne enrôlée) ;

- La personne qui avait déjà participé à cette étude.

#### **4.9. Intervention**

Il s'agissait d'une étude de phase 2 à doses adaptatives de primaquine chez des participants déficitaires en G6PD sans paludisme au Mali. Le médicament de l'étude était la primaquine (PQ) dosé à 15 mg.

L'étude phase 2 comportait deux parties (I et II).

La partie I était une étude d'ajustement de la faible dose de primaquine pour la tolérance chez les sujets masculins âges de 18 à 50 ans G6PD-d sans paludisme au Mali.

La partie II était une étude à âge de-escaladé où une dose de 0,40 mg/kg a été administrée aux participants de sexe masculin sans paludisme âges de 5 à 17 ans.

Plus de détails sur la **partie I** et la **partie II** :

##### **Partie I :**

Des groupes de 7 adultes volontaires masculins déficitaires en G6PD ont été traités avec des doses croissantes de primaquine, à commencer par une dose de 0,40 mg/kg. Pour déterminer la tolérance, dans les groupes successifs, nous avons augmentée progressivement la dose de primaquine (PQ) sans dépasser la dose standard de 0,75 mg/kg dans l'étude.

Parce que l'hémolyse, si elle se produit, aura lieu dans les 4 premiers jours avec un taux d'hémoglobine qui atteindra le niveau le plus bas vers le jour 7 (62).

Le critère principal de jugement de l'étude a été la variation du taux d'hémoglobine entre les jours 0 et 10. Avant toute augmentation de dose une réunion entre les principaux investigateurs (PIs) et le DSMB avait eu lieu. La décision d'augmenter la dose était fonction de la survenu ou non d'un des éléments suivants définis comme événement indésirable sévère hémolytique lié à la primaquine,

- i) Deux participants ou plus avec une hémolyse aiguë entraînant une baisse du taux d'hémoglobine de plus de 30% ;
- ii) N'importe quel symptômes nécessitant une transfusion de sang ;
- iii) N'importe quel autre effet indésirable grave y compris une insuffisance rénale aiguë et la mort, liés au médicament de l'étude jusqu'au jour 10 ;
- iv) Tout autre critère supplémentaires d'événements indésirables graves décidés par le DSMB à une réunion de planification.

La décision concernant une augmentation de la dose a été prise sur la base d'une revue de toutes les données antérieures recueillies dans le groupe précédent.

Nous avons enrôlé un maximum de trois groupes d'intervention comprenant 7 personnes G6PD-déficient par groupe (21 personnes au total). Nous avons débutés avec une dose de 0,40 mg/kg de primaquine dans le premier groupe (A).

En fonction des résultats du groupe A, la dose suivant pour le groupe B a été choisie après 10 jours de suivi, la dose pour le groupe C a été choisie sur ces mêmes bases. La dose a augmentée de 0,05 mg/kg d'un groupe à un autre de façon progressive.

Une fois la dose maximale tolérée chez les adultes G6PD-d identifiée, un quatrième groupe de 7 personnes adultes G6PD-normal (Groupe témoins) de sexe masculin, apparié en fonction de l'âge, avais été enrôlé et testé avec la même dose que dans le groupe C (28 participants au total).

**Tableau 3 :** Groupes de traitement et la dose de primaquine dans la Partie I

<b>Groupes de traitement</b>	<b>Instructions pour les enrôlements</b>	<b>G6PD déficient</b>	<b>G6PD normal</b>	<b>Dose de primaquine</b>
Groupe A	Enrôler au 1 <sup>er</sup> groupe	7	0	0,40 mg /kg
Groupe B	Enrôler une fois le groupe 1 était complété	7	0	0,45 mg /kg
Groupe C	Enrôler une fois le groupe 2 était complété.	7	0	0,50 mg/kg
Groupe Témoin	Enrôler comme dernier groupe	0	7	0,50 mg /kg

L'évaluation de la sécurité pour chaque groupe était systématique avec une surveillance de l'hémolyse et le recueil de données de la tolérance aux jours (0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 14, et 28).

## **Partie II :**

Dans la deuxième partie de l'étude, une dose de 0,40 mg/kg de primaquine, a été testé en âge de-escaladé chez les adolescents et les enfants de 5 à 17 ans avec ou sans déficit en G6PD.

Le choix de cette dose était d'être prudent dans le but d'assurer absolument la sécurité des enfants participants à l'étude.

Nous avons inclus deux groupes de 7 participants G6PD-d, et deux groupes de 7 participants G6PD-n soit 28 participants au total dans cette partie.

**Tableau 4 :** Partie II, groupes inclus dans l'étude d'âge de-escaladé

<b>Groupe et Dose de traitement</b>	<b>Tranche d'âge (année, inclus)</b>
Groupe E : G6PD-d (0.40 mg/kg)	11- 17
Groupe Témoin : G6PD-n (0.40 mg/kg)	11- 17
Groupe G : G6PD-d (0.40 mg/kg)	5- 10
Groupe Témoin : G6PD-n (0.40 mg/kg)	5- 10

Après inclusion du groupe E et son Témoin (11- 17 ans) et la réalisation d'au moins 14 jours de suivi pour chaque participants inclus, le DSMB s'est réuni pour examiner les données, et pris une décision conjointement avec les PIs de poursuivre avec l'inclusions du groupes G et son Témoin (5- 10 ans). La condition pour l'inclusion des groupes d'âge de 5- 10 ans nécessitait que le DSMB et les PIs de l'étude conviennent de poursuivre l'inclusion de ce groupe d'âge (5- 10 ans), aussi bien que tous les critères décrits dans la partie I de l'étude soient réunis.

La partie II de l'étude utilisait aussi les mêmes critères de jugement que ceux de la première partie.

#### **4.10. Procédures de l'étude**

Les volontaires intéressés à participer à l'étude donnaient d'abord leur consentement éclairé écrit, ensuite ils subissaient chacun un examen clinique et un prélèvement de sang en vue d'une goutte épaisse pour le diagnostic du paludisme, le dosage de l'activité G6PD et le taux d'hémoglobine. Ceux qui avaient un examen clinique normal, l'absence de parasites à la goutte épaisse/frottis mince, un taux d'hémoglobine supérieur ou égale à 10 g/dL, activité G6PD déficitaires ou normale sans aucun critère de non éligibilité, ont été enrôlé dans l'étude selon le groupe de traitement.

##### **4.10.1. Organisation du travail**

Le travail était organisé autour des trois postes suivants :

###### **4.10.1.1. Poste clinique**

**Procédure de consentement** : Les procédures de consentement ont varié en fonction de l'âge des participants. Les participants âgés de 18 ans et plus ont donné leur consentement éclairé. Pour les participants de moins de 18 ans, nous avons demandé le consentement parental. En plus du consentement parental, l'assentiment a été cherché pour les participants âgés de 11-17 ans. La procédure de consentement éclairé écrit a été menée en Français ou dans une langue que le sujet comprenait (Bambara pour la quasi-totalité de nos participants). Le document de consentement éclairé était utilisé pour expliquer les risques et les avantages de la participation à l'étude au participant et s'il avait moins de 18 ans, son parent en des termes simples était informé avant que le sujet ne soit inclus dans l'étude. Un consentement éclairé écrit était obtenu de chaque sujet avant son enrôlement dans l'étude. Le formulaire de consentement éclairé était signé et daté personnellement par le participant ou son parent et l'investigateur qui a donné les informations du consentement. Une copie originale du formulaire de consentement éclairé signé était gardée dans le dossier du participant et une autre lui était remise. Un participant qui ne savait ni lire ni écrire apposait l'empreinte de son doigt à la place de la signature, en outre, un témoin indépendant avait signé le formulaire de consentement pour attester que les renseignements contenus dans ce formulaire ont été transmis oralement au participant.

**Examens cliniques pour inclusion et suivi** : Des médecins et des étudiants en année de thèse de médecine formaient l'équipe du poste clinique. Une fois le consentement obtenu, les volontaires étaient enregistrés et recevaient automatiquement une carte avec un numéro, le nom, le prénom et leur statut de G6PD pour le screening puis passaient un examen clinique complet. Après le screening un numéro d'inclusion était attribué aux participants éligibles par ordre d'inclusion. Ils étaient ensuite reçus au poste clinique pour les visites de routine et en cas de visite imprévue. Une prescription médicamenteuse était faite (en plus des médicaments de l'étude) à chaque fois que cela était nécessaire. Du poste clinique, les participants consentants ou inclus étaient orientés vers le poste de prélèvement.

#### **4.10.1.2. Poste de prélèvement**

Il était composé de biologistes, d'étudiants en médecine ou en pharmacie en année de thèse. Après vérification et identification le participant était prélevé pour une goutte épaisse, le dosage du taux d'hémoglobine et du statut en G6PD le jour de l'enrôlement (jour 0). Ils étaient prélevés pour le taux d'hémoglobine et la GE pour les visites de suivi aux jours 1, 2, 3,

4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 14 et 28. A chaque visite imprévue un prélèvement était fait si cela était nécessaire.

#### 4.10.1.3. Poste d'administration du médicament de l'étude

Ce poste était assuré par un pharmacien et son assistant. Tous les traitements ont été administrés au centre de santé de Ouélessébougou. La primaquine était administrée oralement en une prise unique le premier jour (J0) en fonction du poids par le personnel désigné à cet effet après un repas pour prévenir les douleurs et les crampes abdominales. Les comprimés dosés à 15 mg étaient dissouts dans 15 ml d'eau potable et administrés en fonction du poids conformément au mode opératoire normalisé (MON) d'administration de la primaquine.

Les participants qui vomissaient dans l'heure qui suivait l'administration de la primaquine (étaient retirés de l'analyse et ne comptaient pas pour la taille totale de l'échantillon, ils étaient suivis comme toute autre personne enrôlée). Le pharmacien et son assistant désignés pour l'attribution des traitements complétaient la liste en inscrivant dans chaque fiche de traitement le numéro d'inclusion, le groupe d'identification du patient, ainsi que la dose exacte du produit administré.

#### 4.10.2. Suivi des participants

Les participants étaient suivis pendant 28 jours avec des visites de suivi selon le tableau ci-dessous. Chez les participants adultes, des échantillons de sang étaient prélevés 6 fois au cours des 8 premières heures, et 1 fois à chaque visite plus tard. Chez les participants de moins de 18 ans, les échantillons de sang étaient prélevés 13 fois en 12 visites.

**Tableau 5 :** Calendrier de suivi et prélèvement des échantillons

TEST	0	H1	H2	H4	H6	H8	H24	J2 - 9	J10	J14	J28
------	---	----	----	----	----	----	-----	-----------	-----	-----	-----

Papier buvard (0,01 ml) pour le genotypage du G6PD	V										
Goutte épaisse pour paludisme (0,01 ml)	V						V	C	C	C	C
Hémoglobine (0,01 ml)	V						V	C	C	C	C
Lame pour morphologie (0,01 ml) (réticulocytes)	V						V	C	C	C	C
Volume de sang total (ml) (seulement les adultes)	94	4	0,5	4,5	0,5	4,0	4,05	0,03	0,03 u 0,53**	0,03	0,03
Volume de sang total (ml) (seulement les enfants)	6,5	4	0,5	4,5	0,5	4,0	4,05	0,03	0,03 u 0,53**	0,03	0,03
Inspection visuelle des urines	U						U	U	U	U	U
Mesure non-invasive méthémoglobine	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI

(NI = non-invasive, V = échantillon de sang veineux, C = capillaire).

\* Pris quotidiennement \*\* Ne sera prise que si le taux d'hémoglobine de la personne s'abaisse à un niveau  $\geq$  30% du niveau de base entre le jour 0 et 7 (inclus).

#### 4.11. Paramètres mesurés

##### 4.11.1. Test qualitatif de G6PD

Tous les sujets ont eu une évaluation qualitative de l'activité de la G6PD mesurée en utilisant un test de diagnostic (Carestart 3). Ce test était réalisé systématiquement lors du dépistage (screening).

#### ❖ **Test rapide CARESTART 3 de G6PD**

Ce test est un test enzymatique chromatographique qualitatif, basée sur la réduction de nitro-tétrazolium.

- Matériels et Réactifs

Le kit du test contient :

- Bandelette (puits de tampon, puits d'échantillon, une fenêtre de résultat)
- Une pipette
- 1 flacon de solution de tampon (liquide prêt à l'emploi).
- Tampon d'alcool
- Lancettes

Autres matériels nécessaires :

- Boite de sécurité
- Gants
- Poubelle
- Marqueur
- Crayon de papier
- Chronomètre.



- **Procédures et consignes de sécurité**

- Considérez tous les échantillons de patients comme capable de transmettre des agents infectieux. Prendre les précautions nécessaires telles que le port des gants, des lunettes de sécurité et blouses lors de la collecte, du traitement et de l'élimination des échantillons du participant.
- Éliminer tous les échantillons et les matériels utilisés, conformément aux lignes directrices applicables locales et/ ou les règlements.

- **Spécification**

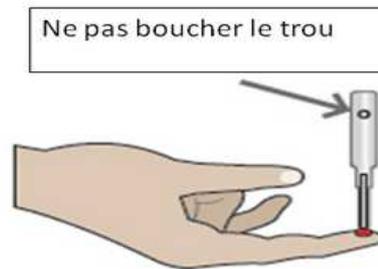
- **Type de test** : Test qualitatif de "Point of care"
- **Méthode de dosage** : Méthode visuelle de coloration par ressuage
- **Interprétation** : Normale ou carencé
- **Échantillon** : Sang total
- **Volume de l'échantillon** : 2 $\mu$ l
- **Chronométrage** : 10 minutes
- **Contenu du kit** : 25 ou 50 tests/paquet
- **Autres spécificités** : Facile à manipuler. Large gamme de température de dosage (18-32°C), conservation à température ambiante

- **Procédure proprement dite du test**

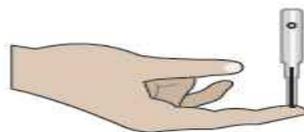
Nettoyer le bout du doigt avec un tampon alcoolisé.

Piquer avec une lancette et jeter immédiatement la lancette dans la boîte de sécurité.

Essuyer la première goutte de sang à l'aide d'un tampon sec puis prélever une goutte de sang à l'aide de la pipette (voir figure ci-dessous).



- 1- Tenir avec douceur le bas de la pipette et faire toucher le sang avec la tête ouverte du tube capillaire. (Attention : Ne pas boucher le trou !)



- 2- Laisser couler le sang dans le tube capillaire.



- 3- Boucher et presser le trou pour laisser couler le sang dans le puits d'échantillon. Ajouter 2 gouttes du tampon de l'essai (100µl) directement après dans le puits de tampon.



- 4- Lire le résultat dans 10 minutes

- Interprétation des résultats du test

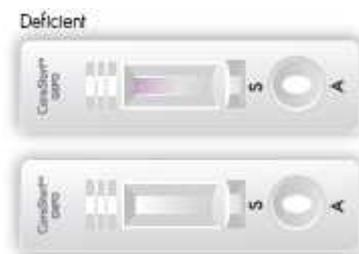
## **NORMAL**

**Une couleur violette distincte apparaît dans la zone de lecture en 10 mn.**



## **DEFICIENT**

**Aucun changement de couleur ou faible trait violet apparaît dans la zone de lecture en 10 mn (Le résultat de limite indique Déficient.)**



## **NON VALIDE**

**Pas de migration ou migration incomplet de sang dans la zone de lecture**



### ❖ Test OSMMR-2000G6PD

Le test OSMMR-2000 G6PD a été utilisé pour une évaluation qualitative de l'activité de la G6PD. Du sang frais était nécessaire pour la réalisation de ce test pour le screening.

#### • Principe

Le test G-6-PD utilise le glucose-6-phosphate déshydrogénase, qui en présence de NADP, catalyse l'oxydation du glucose-6-phosphate en 6-phosphogluconate. La NADPH produit va réagir avec un réactif coloré, dans lequel un sel de tétrazolium se réduit produisant une couleur distincte. Cette couleur produite est mesurée par colorimétrie à 550 nm (500-570 nm) et est directement proportionnelle à la concentration en G6PD présent dans l'échantillon.

#### • Matériels et réactifs

- R1 : 10 flacons de cinq essais, (réactif lyophilisé).
- R2 : 1 flacon de 40 ml de G-6-PD tampon d'élution (liquide prêt à l'emploi).
- R3 : 2 flacons de 40 ml chacun de réactif coloré.
- R4 : 1 flacon de 8 ml de couleur d'appoint.
- Tubes à essai.
- Pipettes.
- Embouts.

#### • Procédures et consignes de sécurité

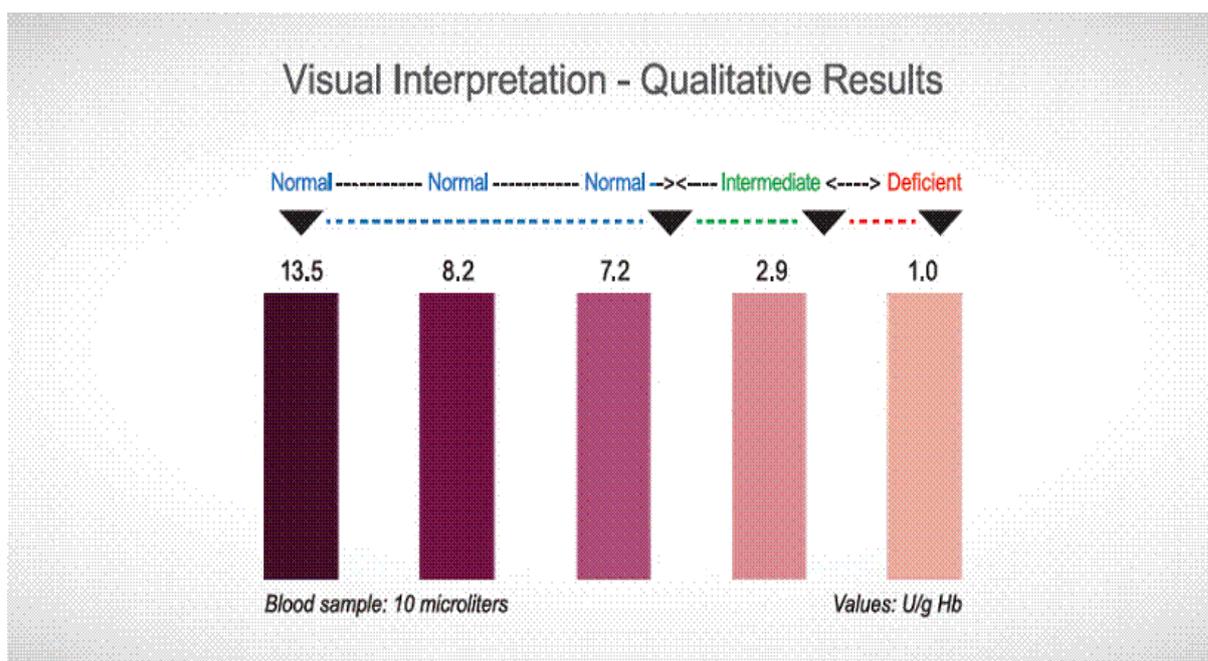
- Considérez tous les échantillons de patients comme capable de transmettre des agents infectieux. Prendre les précautions nécessaires telles que des gants, des lunettes de sécurité et vêtements de laboratoire lors de la collecte, le traitement et l'élimination des échantillons du patient.
- Éliminer tous les échantillons et les matériaux utilisés, conformément aux lignes directrices applicables locales et / ou les règlements.

#### • Procédure proprement dite du test

1. Reconstituer le réactif R1 lyophilisé en ajoutant 3 ml de G-6-PD Élution Buffer R2 dans le flacon R1. Mélanger doucement en retournant plusieurs fois le flacon.
2. Préparer un tube à essai pour chaque échantillon de sang et ajouter 0,6 ml de R1 reconstitué.
3. Ajouter 10  $\mu$ l de sang dans le tube à essai et mélanger soigneusement de façon à suspendre totalement les érythrocytes.
4. Prendre un tube supplémentaire et ajouter 10  $\mu$ l de G-6-PD contrôle normal (CAT. No : 403-100) et 0,6 ml de R1 reconstitué.
5. Option facultative : Prendre un autre tube supplémentaire et ajouter 10  $\mu$ l de G-6-PD contrôle déficient (CAT. No : 403-101) et 0,6 ml de R1 reconstitué.
6. Ajouter 1,2 ml du réactif colorant R3 et 120  $\mu$ L du réactif d'appoint R4 dans chaque tube à essai contenant R1 reconstitué plus l'échantillon, le contrôle normal ou le contrôle déficient. Agiter doucement et laisser reposer à la température ambiante (24°C) pendant 3 minutes.

**Pour l'interprétation visuelle (qualitative) suivre la démarche suivante**

- a) Observer la couleur initiale du flacon R1 reconstitué plus l'échantillon.
- b) Laisser reposer à la température ambiante pendant 15 minutes
- c) Observer le changement de couleur dans le flacon R1 reconstitué plus l'échantillon et le comparer avec la gamme de couleurs ci-dessous.
- d) Interprétation visuelle des résultats :
  - Déficient : pas de changement de couleur (rouge jaunâtre)
  - Intermédiaire : léger changement de couleur (jaune rouge au violet)
  - Normal : changement de couleur (violet foncé)



**Figure 6 :** Interprétation visuelle –résultats qualitatifs du TEST OSMMR-2000 G6PD

#### 4.11.2. Test semi-quantitatif de G6PD

##### Pour la quantification au spectrophotomètre

- Transférer la quantité totale de chaque tube dans une cuvette et procéder à la lecture au spectrophotomètre
- Lire et enregistrer l'absorbance (A) des TEST à 550 nm. Ça c'est l'absorbance **INITIAL A** (si vous utilisez un incubateur ou un bain marie, remettre les cuvettes dedans après lecture)
- Exactement 10 mn plus tard, lire encore et enregistrer l'absorbance à 550 nm. Ça c'est l'absorbance **FINALE A**
- Pour la normalisation de l'hémoglobine, lire une absorbance additionnelle à 405 nm
- Pour déterminer l'activité G6PD, referez-vous à la section des calculs

##### Calcul des résultats directement exprimées en UI / g Hb

La formule suivante exprime les résultats directement en UI/g Hb (Brevet Grec # 1003227; Brevets internationale en instance)

$$(dOdsample\ 550\ nm/min)/(dOdcontrol\ 550nm/min)$$

$$\frac{\text{dODsample}_{405\text{nm}}}{\text{ODcontrol}_{405\text{nm}}} \times \text{Valeur Contrôle} = \text{G6PD UI/g Hb}$$

- **dODsample** est la variation de la densité optique (par minute) pour l'échantillon, 550 nm est la longueur d'onde à laquelle la densité optique a été mesurée en mode cinétique,
- **dODcontrol** est la variation de la densité optique (par minute) du control Normal mesuré en mode cinétiques et à une longueur d'onde particulière (550 nm),
- **ODsample** est la densité optique mesurée pour l'échantillon une fois à une longueur d'onde particulière (405 nm), et
- **ODcontrol** est la densité optique du control mesurée une fois à une longueur d'onde particulière (405 nm), 405 nm est la longueur d'onde à laquelle une lecture de l'hémoglobine contenue peut être prise,
- **la valeur du control** déterminée par la variation de la densité optique (par minute) du control mesurée en mode cinétique à 550 nm divisé par la densité optique du témoin à 405 nm soit  $(\text{dODcontrol}_{550\text{nm}}/\text{min})/\text{ODcontrol}_{405\text{nm}}$

[R&D DIAGNOSTICS LTD® INSTRUCTIONS FOR USE (PACKAGE INSERT), *OSMMR2000-D G-6-PD KIT*].

#### 4.11.3. Goutte épaisse et frottis mince

Des gouttes épaisses et frottis minces étaient réalisés régulièrement pour le comptage de parasites et examinés au dépistage pour écarter le paludisme. Les lames de goutte épaisse et frottis minces étaient colorés au Giemsa et examinés au microscope à un grossissement de 100x. La goutte épaisse était considérée comme négative si aucun parasite n'était observé après l'examen de 100 champs.

#### 4.11.4. Taux d'hémoglobine

Les taux d'hémoglobine étaient également mesurés régulièrement tout au long de l'étude en utilisant le système HemoCue (Hemocue AB, Angelholm, Suède).

#### 4.11.5. Évènements indésirables (EI)

La définition réglementaire d'un événement indésirable est tout événement médical, clinique ou biologique qui survient chez un patient après son inclusion dans l'étude et l'administration du traitement, que cet événement soit relié à la prise du traitement ou non (définition ICH). L'événement en question doit être absent avant la prise du traitement, ou avoir augmenté en intensité depuis la prise du traitement. Tous les événements indésirables cliniques ou biologiques survenus pendant le suivi de 28 jours ont été décrits par les investigateurs dans une fiche de déclaration spécifique qui figurait dans le cahier d'observation. Les informations suivantes ont été collectées :

- Date de début de l'événement
- Nature de l'événement
- Gravité, gradée sur une échelle de 1 à 4
- S'il s'agissait ou pas d'un événement indésirable grave
- Imputabilité au médicament de l'étude (PQ)
- Évolution de l'événement (guérison complète, guérison avec séquelles, décès, toujours en cours, inconnue)
- Action entreprise concernant la PQ (arrêt définitif, interruption temporaire, changement de dose), et prise en charge complémentaire (hospitalisation, traitements complémentaires...)
- Date de fin de l'événement

#### ✚ **Echelle de sévérité des événements indésirables**

La sévérité de l'événement indésirable était gradée de 1 à 4 selon l'échelle présentée ci-après.

- [1] Léger : Perception d'une gêne légère qui ne perturbe pas la vie quotidienne
- [2] Modéré : Gêne qui perturbe modérément les activités habituelles
- [3] Intense : Gêne importante, avec impossibilité de travailler ou de mener ses activités habituelles (une hospitalisation peut s'avérer nécessaire)
- [4] Menace vitale ou séquelles permanentes

#### ✚ **Imputabilité aux traitements à l'étude**

Devant chaque événement indésirable, l'investigateur devrait se prononcer sur le lien avec le traitement à l'étude.

La causalité d'un événement indésirable au traitement a été évaluée selon l'échelle suivante :

[1] **Non lié.** L'événement est clairement lié à d'autres facteurs comme une pathologie intercurrente, un traitement adjuvant, ou un événement extérieur à l'étude (par exemple, accident de la voie publique...).

[2] **Peu probablement lié.** L'événement est très probablement lié à d'autres facteurs, mais on ne peut pas exclure formellement qu'il soit lié à l'administration du traitement

[3] **Possiblement lié.** L'événement :

- Survient après l'administration du traitement, selon une chronologie compatible
- **Et/ou** est un effet secondaire connu du médicament.
- **Mais** aurait aussi pu être causé par d'autres facteurs existants (pathologie intercurrente, traitement adjuvant, événement extérieur)

[4] **Probablement lié.** L'événement :

- Survient après l'administration du traitement, selon une chronologie compatible
- **Et/ou** est un effet secondaire connu du médicament
- **Et** n'a pas pu être causé par d'autres facteurs existants (pathologie intercurrente, traitement adjuvant, événement extérieur).

[5] **Certainement lié.** L'événement:

- Survient après l'administration du traitement, selon une chronologie compatible
- **Et/ou** est un effet secondaire connu du médicament
- **Et** n'a pas pu être causé par d'autres facteurs existants (pathologie intercurrente, traitement adjuvant, événement extérieur)
- **Et** survient immédiatement après l'administration du traitement, **ou** s'améliore à l'arrêt du traitement.

[6] **Inconnu.** Il n'y a pas assez d'éléments cliniques ou biologiques pour établir le lien de causalité.

#### ✚ Événements indésirables graves (EIG)

La définition réglementaire des événements indésirables graves regroupaient tout événement survenant en cours d'étude, qui :

- entraîne la mort

- met en danger la vie
- provoque ou prolonge une hospitalisation
- provoque une incapacité ou un handicap important ou durable
- se traduit par une anomalie ou une malformation congénitale
- ou nécessite une intervention ou un traitement correcteur (le plus souvent en hospitalisation) pour éviter les complications énumérées ci-dessus.

Les événements du grade 4 de sévérité sont des EIG, ainsi que certains événements de grade inférieur (notamment ceux nécessitant l'hospitalisation du patient).

Les EI ont été évaluées activement lors des visites de suivi (les jours 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 14 et 28) et passivement à travers la disponibilité des cliniciens de l'étude 24h/24h et 7j /7j par semaine pendant toute la période de suivi. Les EI ont été classés par ordre de gravité (légère, modérée, sévère en intensité et grave) et leur relation avec les médicaments de l'étude a été établie selon le jugement des cliniciens. En outre, la durée des EI, les mesures prises et les résultats des tous les EI ont été enregistrés.

#### **4.12. Calcul de la taille de l'échantillon**

L'objectif principal de cette étude exploratoire, de dose-adaptative était de déterminer une dose élevée tolérée de primaquine. Un total de 7 sujets par groupe a été choisi pour limiter le nombre de participants tout en fournissant un échantillon assez large pour détecter les risques importants d'hémolyse. Il était reconnu que vu la petite taille de l'échantillon de chaque groupe de dose dans cette étude, il serait difficile de détecter de petites différences de changement du taux d'hémoglobine comme statistiquement significatives. Une taille d'échantillon de 7 par groupe nous a permis de détecter 15% ou plus de baisse de l'hémoglobine chez la personne, par rapport à l'hypothèse nulle d'absence de baisse aussi significative au niveau de 0,05, en tenant compte d'une variabilité modérée de changement des valeurs des taux d'hémoglobine.

#### **4.13. Gestion et analyse des données**

Toutes les données ont été saisies et stockées dans une base de donnée sécurisée et protégée par mots de passe. Les données qui étaient collectées sur des supports papiers ont été doublement saisies. Elles ont été analysées avec le logiciel Stata version 14.

L'analyse des EIs et les variations du taux d'hémoglobine après le traitement ont été limitées aux participants dont le statut en G6PD avait été confirmé par la spectrophotométrie semi-quantitative. La taille de notre échantillon d'étude nous a permis de calculer la moyenne du changement du taux d'hémoglobine pour chaque participant et ainsi détecter une baisse de

30% ou plus du taux d'hémoglobine chez les G6PD-d par rapport au témoin G6PD-n et la proportion de participants avec un niveau d'hémoglobine  $\leq 7$  g/dl au cours du suivi. Nous avons utilisés le test paramétrique de student ou (ttest) pour voir s'il y avait une différence significative dans la variation du taux d'hémoglobine chez les sujets déficitaires et non déficitaires en G6PD ayant reçu la dose la plus élevée tolérée.

Les données sur les EIs étaient résumées en utilisant les fréquences d'événements observés, la gravité, et la proportion de participants présentant au moins un événement, pour chaque groupe de traitement. Aucun test statistique formel n'a été effectué. Pour les groupes de dose la plus élevée tolérée, les analyses sommaires des EIs était stratifiés selon le statut en G6PD.

#### **4.14. Considérations éthiques**

Cette recherche a été conduite en conformité avec le protocole, les bonnes pratiques cliniques (BPC) et toutes les exigences réglementaires applicables. Une copie du protocole, du formulaire de consentement éclairé et tout autre document qui devait être remis aux participants de l'étude ont été approuvés par les comités d'éthique (CE) de la FMOS et FAPH et de l'Université de Californie en Sans-Francisco (UCSF). Le consentement éclairé a été obtenu pour tous les participants. Les investigateurs ont veillé à ce que l'anonymat des sujets soit respecté. Les participants ne sont pas identifiés dans aucun rapport rendu public de cette étude. Tous les enregistrements sont gardés confidentiels dans les mesures prévues par les lois et règlements en vigueur. Les moniteurs de l'étude et d'autres représentants autorisés des autorités réglementaires ont inspecté tous les documents et registres qui étaient gardés par l'investigateur.

Un Comité de surveillance des données et de sécurité (DSMB) a été créé et s'est réuni avant le début de l'étude pour se mettre d'accord sur les critères d'arrêt en ce qui concerne la sécurité et l'efficacité.

Le DSMB devait être informé de tout événement indésirable grave dans les 48 heures après que le personnel de l'étude ait été mis au courant. L'étude a été monitorée par l'Agence Africaine de Recherche en Santé Humaine (AARSH) de Dakar, au Sénégal (<http://www.aarsh.com/>).

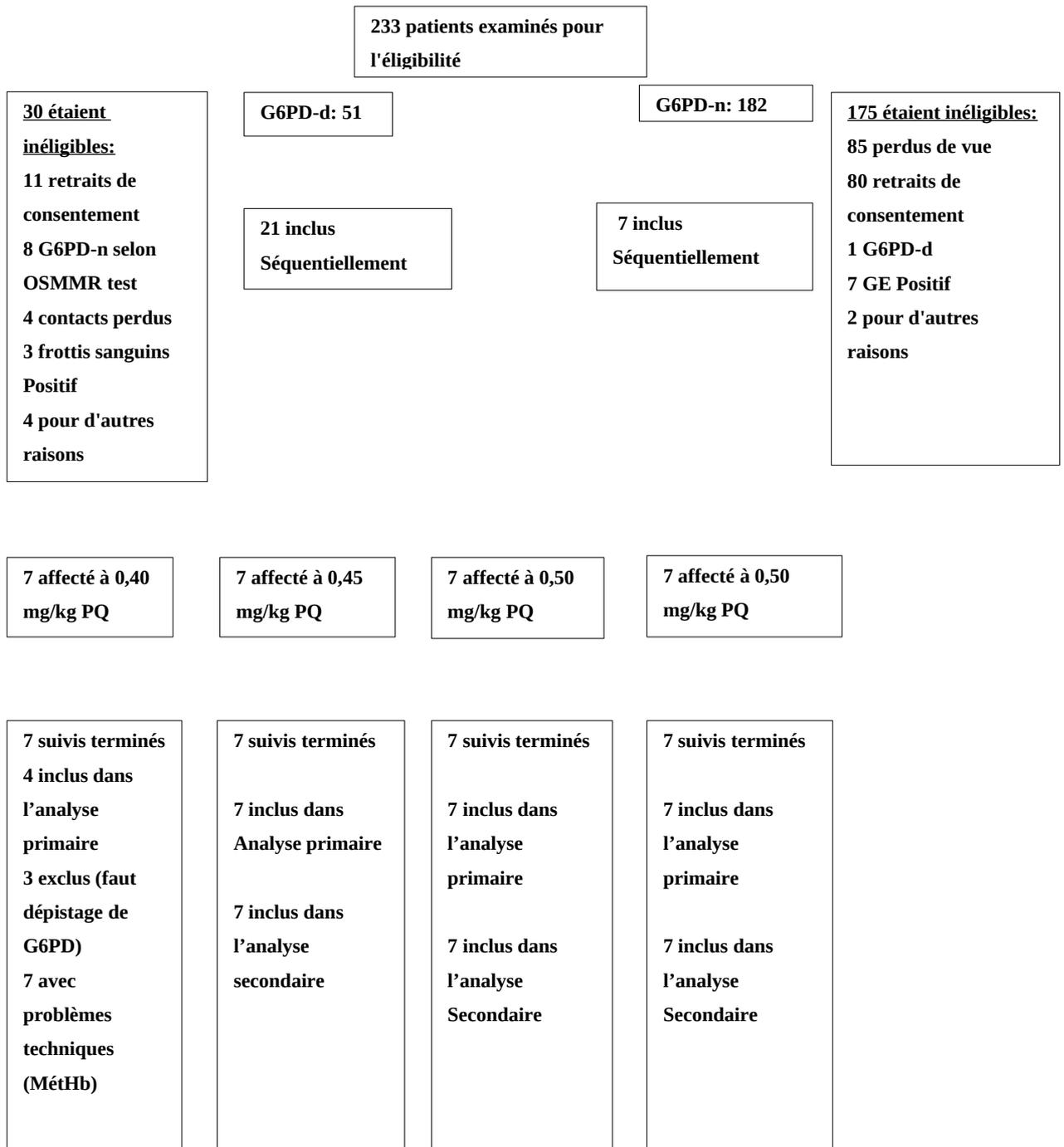


## 5. RESULTATS

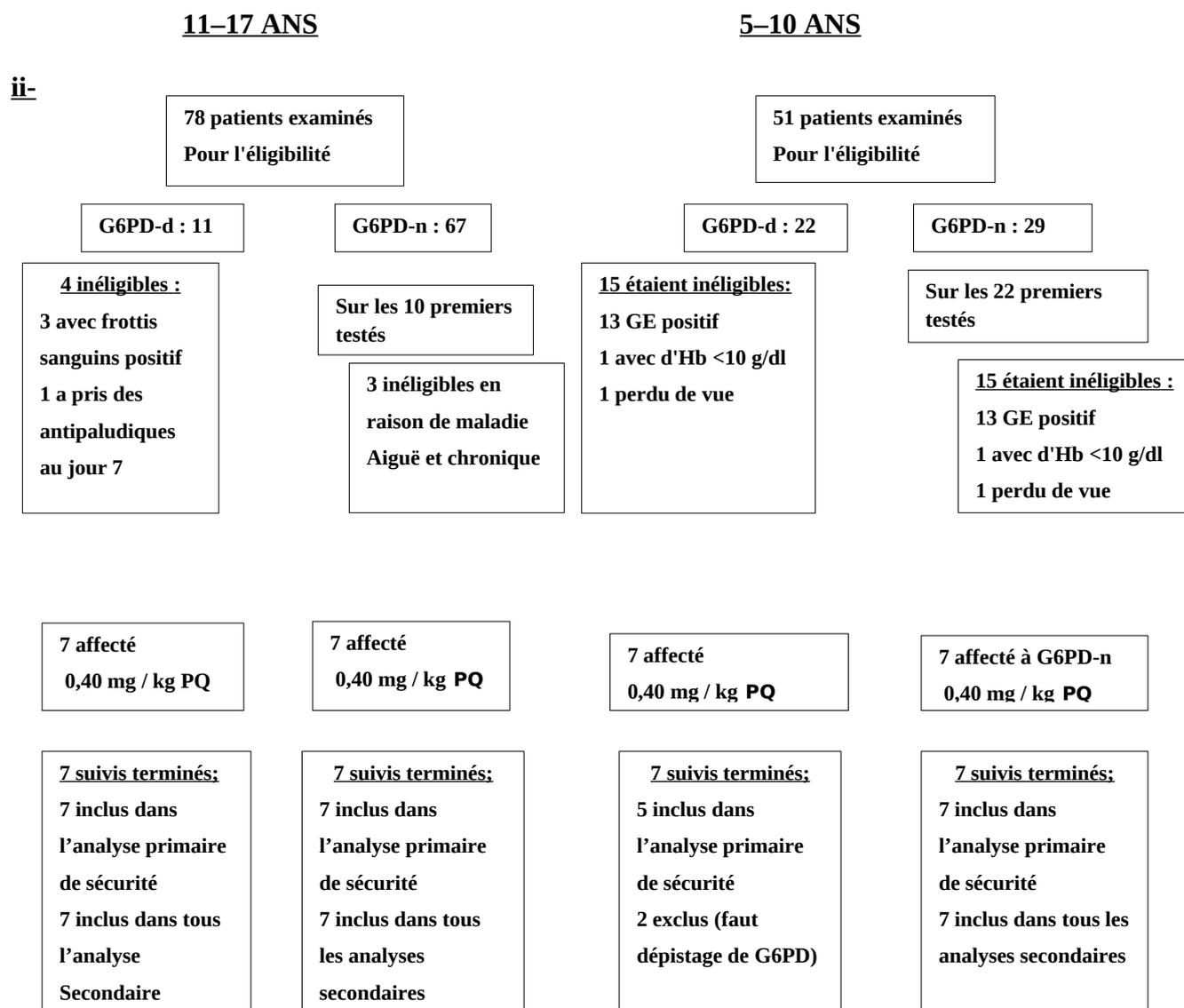
### 5.1. Les caractéristiques de base

#### Partie I : Ajustement de la dose de PQ chez les Adultes

i-



#### Partie II : Age escaladé chez les garçons avant reçu 0.40 mg de PO



**Figure 7 :** Diagramme des caractéristiques à l'enrôlement

Dans la partie I, entre le 13 août et le 19 décembre 2015 (Figure 6 A), au totale 233 sujets ont été dépistés. 28 personnes âgées de 18-50 ans ont été incluses dont respectivement 7 dans les groupes A, B, C (0,40 mg/kg, 0,45 mg/kg et 0,50 mg/kg) les G6PD-d et 7 dans le groupe témoin G6PD-n (0,50 mg/kg).

Les 3 premières personnes incluses dans le groupe A (0,40 mg/kg, G6PD-d) étaient G6PD-n selon la spectrophotométrie semi-quantitative et ont été exclus des analyses (Figure 6 i).

Dans la partie II, entre le 12 mai 2016 et le 10 janvier 2017 (Figure 6 ii), 14 garçons de 11-17 ans ont été inclus dans les groupes (E et Témoin) respectivement G6PD-d et G6PD-n et 14 garçons de 5-10 ans ont été inclus dans les groupes (F et Témoin) respectivement G6PD-d et G6PD-n de 7 personnes par groupe.

Deux personnes incluses dans le groupe F (G6PD-d) des enfants (5-10 ans) ont été exclus des analyses car (G6PD-n selon la spectrophotométrie semi-quantitative (Figure 6 B)).

**Tableau 6** : caractéristiques de base des participants adultes (18-50 ans), les statuts en G6PD et les groupes de traitement à l'inclusion.

<b>Groupe de traitement</b>	<b>Groupe A 0,40 mg/kg n=4</b>	<b>Groupe B 0,45 mg/kg n=7</b>	<b>Groupe C 0,50 mg/kg n=7</b>	<b>Groupe Témoin 0,50 mg/kg n=7</b>
<b>Age (année):</b>				
moyen	28,50	35,57	36,86	37,43
mim - max	18 - 50	26 - 50	25 - 47	28 - 43
<b>Poids (kg) :</b>				
moyen	55,80	60,50	62,86	69,96
mim - max	44,20 - 70,10	52- 74,40	56,80 - 68,50	59 - 83
<b>Taux d'Hb (g/dl):</b>				
moyen	13,78	15,30	15,06	15,01
mim - max	12 - 15,10	14,40 - 17,50	13,60 - 16,20	13,60-16,50
<b>Statut G6PD</b>	déficient	Déficient	déficient	Normal
<b>Dose de PQ (mg/kg)</b>	0,40	0,45	0,50	0,50

Dans le groupe A (G6PD-d ; 0,40 mg/kg), la moyenne d'âge était de 28,5 ans et de 36,8 ans dans le groupe C (G6PD-d; 0,50 mg/kg), par contre le groupe témoin (G6PD-n; 0,50 mg/kg) avait une moyenne d'âge de 37,43 ans.

Le poids moyen dans le groupe A (G6PD-d ; 0,40 mg/kg), était de 55,8 kg et de 62,8 kg dans le groupe C (G6PD-d; 0,50 mg/kg), cependant il était de 69,9 kg dans le groupe témoin (G6PD-n; 0,50 mg/kg).

Le taux d'hémoglobine moyen était de 13,78 g/dl dans le groupe A (G6PD-d ; 0,40 mg/kg), et de 15,3 g/dl dans le groupe B (G6PD-d ; 0,45 mg/kg), cependant elle était de 15,01 g/dl dans le groupe témoin (G6PD-n; 0,50 mg/kg).

**Tableau 7** : caractéristique de base des participants de 11 à 17 ans et 5 à 10 ans, les statuts en G6PD et les groupes de traitement à l'inclusion

**11-17 Ans**

**5-10 Ans**

<b>Groupe de traitement</b>	<b>Groupe E</b> n=7	<b>Groupe Témoin</b> n=7	<b>Groupe G</b> n=5	<b>Groupe Témoin</b> n=7
<b>Age (année):</b>				
moyen	13,43	13,29	6,60	7,29
mim -max	11 – 16	11 – 17	5 - 8	5 – 9
<b>Poids (kg) :</b>				
moyen	35,43	35	19,66	22,73
mim -max	29 - 44	25 – 48	16,60 - 23,90	17,60 -29,10
<b>Taux d’Hb (g/dl):</b>				
moyen	12,66	13,04	11,66	11,93
mim - max	12,10 - 13	11,60 - 14,20	10,80 - 14,20	10,20 - 14,50
<b>Statut G6PD</b>	déficient	Normal	déficient	Normal
<b>Dose de PQ (mg/kg)</b>	0,40	0,40	0,40	0,40

Chez les adolescents (11-17 ans), la moyenne d’âge était de 13,43 ans et 13,29 ans respectivement dans les groupes G6PD-d et G6PD-n. Chez les enfants (5-10 ans), la moyenne d’âge dans les groupes G6PD-d et G6PD-n était respectivement de 6,6 ans et 7,2 ans.

Le Poids moyen chez les adolescents était de 35,4 kg dans le groupe G6PD-d alors qu’elle était de 35 kg dans le groupe témoin. Chez les enfants ce poids moyen était de 19,6 kg dans le groupe G6PD-d et de 22,7 dans le groupe témoin.

Le taux d’hémoglobine moyen chez les adolescents (11-17 ans), était respectivement de 12,6 g/dl dans le groupe G6PD-d et de 13,04 g/dl dans le groupe G6PD-n.

Chez les enfants (5-10 ans), Le taux d’hémoglobine moyen dans les groupes G6PD-d et G6PD-n était de 11,6 g/dl et 11,9g/dl respectivement.

## 5.2. Variation en moyenne du taux d’hémoglobine pendant la période du suivi

### PARTIE I : Variation du taux d’hémoglobine chez les adultes pendant les jours (J) de suivi

**Tableau 8** : Variation du taux d’hémoglobine à J1 par groupe de traitement des adultes

Variation du taux d'hémoglobine (g/dl)	n	% de variation (Moyenne)	IC 95%	p
<b>Groupe Témoin</b> (G6PD-n - 0,50 mg/kg)	7	-1,69	-5,16 – 1,79	–
<b>Groupe A</b> (G6PD-d - 0,40 mg/kg)	4	-8,41	-18,45 – 1,63	0,05
<b>Groupe B</b> (G6PD-d - 0,45 mg/kg)	7	-3,22	-7,54 – 1,09	0,51
<b>Groupe C</b> (G6PD-d - 0,50 mg/kg)	7	-3,38	-6,75 – -0,02	0,41

A J1 la plus grande variation en % moyenne du taux d'Hb était -8,41% (IC 95%, -18,45 – 1,63) dans le groupe A (G6PD-d; 0,40 mg/kg) alors qu'elle était de -1,69% (IC 95%, -5,16 – 1,79) dans le groupe Témoin (G6PD-n - 0,50 mg/kg) **p = 0,05**.

**Tableau 9:** Variation du taux d'hémoglobine à J3, par groupe de traitement des adultes

Variation du taux d'hémoglobine (g/dl)	n	% de variation (Moyenne)	IC à 95%	p
<b>Groupe Témoin</b> (G6PD-n et 0,50 mg/kg)	7	-1,24	-7,44 – 4,96	–
<b>Groupe A</b> (G6PD-d et 0,40 mg/kg)	4	-6,82	-23,90 – 10,25	0,31
<b>Groupe B</b> (G6PD-d et 0,45 mg/kg)	7	-3,78	-9,26 – 1,70	0,47
<b>Groupe C</b> (G6PD-d et 0,50 mg/kg)	7	-3,55	-7,41 – 0,29	0,45

A J3 la plus grande variation en % moyenne du taux d'Hb était -6,82% (IC95%, -23,90 – 10,25) observée dans le groupe A (G6PD-d - 0,40 mg/kg) alors qu'elle était de -1,24% (IC95%, -7,44 – 4,96%) dans le groupe Témoin (G6PD-n - 0,50 mg/kg) **p= 0,31**.

**Tableau 10 :** Variation du taux d'hémoglobine à J7, par groupe de traitement des adultes

Variation du taux d'hémoglobine (g/dl)	n	% de variation (Moyenne)	IC a 95%	p
<b>Groupe Témoin</b> (G6PD-n et 0,50 mg/kg)	7	-2,13	-8,10 – 3,84	–
<b>Groupe A</b>				

<b>(G6PD-d et 0,40 mg/kg)</b>	4	-7,53	-19,17 – 4,11	0,23
<b>Groupe B</b>				
<b>(G6PD-d et 0,45 mg/kg)</b>	7	-4,61	-10,91 – 1,68	0,50
<b>Groupe C</b>				
<b>(G6PD-d et 0,50 mg/kg)</b>	7	-3,77	-9,77 – 2,24	0,64

A J7, la plus grande variation en % moyenne du taux d'Hb était de -7,53% (IC95%, -19,17 – 4,11) observée dans le groupe A (G6PD-d - 0,40 mg/kg) alors qu'elle était de -2,13% (IC95%, -8,10 – 3,84%) dans le groupe Témoin (G6PD-n - 0,50 mg/kg) **p= 0,23**.

**Tableau 11** : Variation du taux d'hémoglobine à J10, par groupe de traitement des adultes

Variation du taux d'hémoglobine (g/dl)	n	% de variation (Moyenne)	IC a 95%	p
<b>Groupe Témoin</b>				
<b>(G6PD-n et 0,50 mg/kg)</b>	7	-4,25	-10,45 – 1,95	–
<b>Groupe A</b>				
<b>(G6PD-d et 0,40 mg/kg)</b>	4	- 9,77	-27,10 – 7,56	0,32
<b>Groupe B</b>				
<b>(G6PD-d et 0,45 mg/kg)</b>	7	-3,87	-10,20 – 2,44	0,91
<b>Groupe C</b>				
<b>(G6PD-d et 0,50 mg/kg)</b>	7	-6,25	-10,59 – -1,91	0,53

A J10, la plus grande variation en % moyenne du taux d'Hb était de - 9,77% (IC95%, -27,10 – 7,56%) observée dans le groupe A (G6PD-d - 0,40 mg/kg), alors que dans le groupe contrôle (G6PD-n - 0,50 mg/kg) elle était de -4,25% (IC95%, -10,45 – 1,95%), **p= 0,32**.

**Tableau 12** : Variation du taux d'hémoglobine à J14, par groupe de traitement des adultes

Variation du taux d'hémoglobine (g/dl)	n	% de variation (Moyenne)	IC a 95%	p
<b>Groupe Témoin</b>				
<b>(G6PD-n et 0,50 mg/kg)</b>	7	-1,62	-6,29 – 3,04	–
<b>Groupe A</b>				
<b>(G6PD-d et 0,40 mg/kg)</b>	4	-5,96	-28,78 – 16,87	0,47

<b>Groupe B</b> (G6PD-d et 0,45 mg/kg)	7	-4,30	-9,71 - 1,10	0,38
<b>Groupe C</b> (G6PD-d et 0,50 mg/kg)	7	-3,65	-9,58 - 2,28	0,52

A J14, la plus grande variation en % moyenne du taux d'Hb était -5,96% (IC95%, -28,78 - 16,87%) observée dans le groupe A (G6PD-d - 0,40 mg/kg) alors qu'elle était de -1,62% (IC95%, -6,29 - 3,04%) dans le groupe Témoin (G6PD-n - 0,50 mg/kg) **p= 0,47**.

**Tableau 13** : Variation du taux d'hémoglobine à J28, par groupe de traitement des adultes

Variation du taux d'hémoglobine (g/dl)	n	% de variation (Moyenne)	IC 95%	p
<b>Groupe Témoin</b> (G6PD-n et 0,50 mg/kg)	7	-2,49	-6,88 - 1,91	–
<b>Groupe A</b> (G6PD-d et 0,40 mg/kg)	4	-1,00	-19,41 - 17,41	0,77
<b>Groupe B</b> (G6PD-d et 0,45 mg/kg)	7	-2,33	-9,00 - 4,33	0,96
<b>Groupe C</b> (G6PD-d et 0,50 mg/kg)	7	-0,75	-6,67 - 5,16	0,58

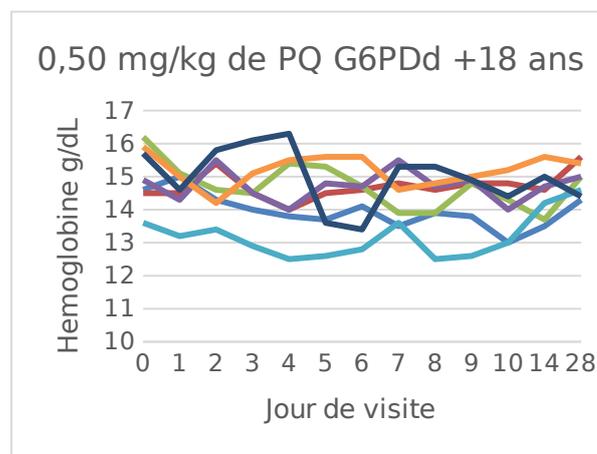
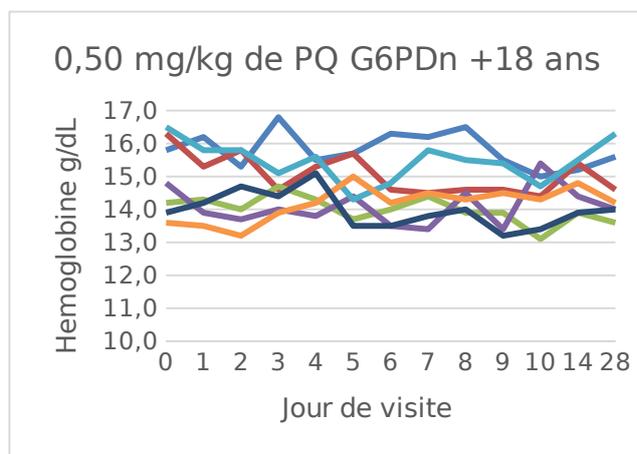
A J28, la plus grande variation en % moyenne du taux d'Hb était -2,49% (IC95%, -6,88 - 1,91%) observée dans le groupe Témoin (G6PD-n - 0,50 mg/kg), par contre dans le groupe B (G6PD-d - 0,45 mg/kg) elle était de -2,33% (IC 95%, -9,00 - 4,33) **p= 0,96**.

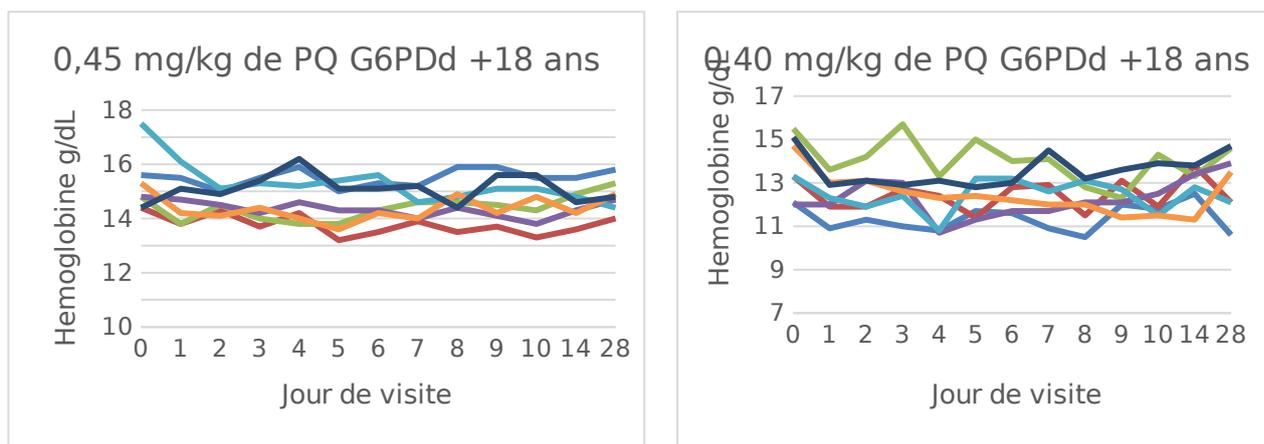
**Tableau 14** : Variation du taux d'hémoglobine entre le jour 0 et le Jour 10, par groupe de traitement des adultes

Variation du taux d'hémoglobine (g/dl)	n	% de variation (Moyenne)	IC 95%	p
<b>Groupe Témoin</b> (G6PD-n et 0,50 mg/kg)	7	-7.89	-11.4 - -4.37	–
<b>Groupe A</b> (G6PD-d et 0,40 mg/kg)	4	-16.8	-24.7- -8.93	< 0.01

<b>Groupe B</b> <b>(G6PD-d et 0,45 mg/kg)</b>	7	-7.63	-12.5- -2.75	0.66
<b>Groupe C</b> <b>(G6PD-d et 0,50 mg/kg)</b>	7	-9.72	-13.5- -5.90	0.32

Entre J0 et J10, la plus grande variation en % moyenne du taux d'Hb était de -16,8% (IC95%, -24.7- -8.93%,) observée dans le groupe A (G6PD-d - 0,40 mg/kg), par contre dans le groupe témoin (G6PD-n - 0,50 mg/kg) elle était de -7,89% (IC 95%, -9,00 - 4,33), **p < 0.01**





Legende : Chaque couleur signifie la variation du taux d’hémoglobine d’un individu suivi sur 28 jours selon son groupe de traitement.

**Figure 8** : Variation du taux d’hémoglobine dans les différents groupes de traitement des adultes entre le jour 0 à 28.

**Partie II : Variation du taux d’hémoglobine chez les Adolescents-Enfants (5-17 ans) pendant les jours de suivi**

**(Adolescents-Enfants)**

**Tableau 15**: Variation du taux d’hémoglobine à J1, par groupe de traitement dans la partie II

Variation du taux d’hémoglobine (g/dl)	n	% de variation (Moyenne)	IC a 95%	p
<b>Age 11-17 ans</b>				

<b>Groupe Témoin</b>				
<b>(G6PD-n et 0,40 mg/kg)</b>	7	-0,15	-4,58 – 4,27	–
<b>Groupe E</b>				
<b>(G6PD-d et 0,40 mg/kg)</b>	7	-1,75	-8,48 – 4,98	0,64
<b>Age 5-10 ans</b>				
<b>Groupe Témoin</b>				
<b>(G6PD-n et 0,40 mg/kg)</b>	7	0,10	-7,97 – 8,18	–
<b>Groupe G</b>				
<b>(G6PD-d et 0,40 mg/kg)</b>	5	0,05	-5,96 – 6,06	0,99

Chez les adolescents (11-17 ans), à J1 la plus grande variation en % moyenne du taux d'Hb était de -1,75% (IC 95%, -8,48 – 4,98) dans le groupe G6PD-d ( 0,40 mg/kg), alors qu' elle était de -0,15% (IC 95, -4,58 – 4,27%) dans le groupe témoin G6PD-n (0,40 mg/kg) **p= 0,64**.

**Tableau 16 :** Variation du taux d'hémoglobine à J3, par groupe de traitement dans la partie II

Variation du taux d'hémoglobine (g/dl)	n	% de variation (Moyenne)	IC 95%	p
<b>Age 11-17 ans</b>				
<b>Groupe Témoin</b>				
<b>(G6PD-n et 0,40 mg/kg)</b>	7	0,63	-7,91 – 2,87	–
<b>Groupe E</b>				
<b>(G6PD-d et 0,40 mg/kg)</b>	7	-2,52	-7,91 – 2,87	0,43
<b>Age 5-10 ans</b>				
<b>Groupe Témoin</b>				
<b>(G6PD-n et 0,40 mg/kg)</b>	7	3,85	-4,08 – 11,78	–

<b>Groupe G</b>				
<b>(G6PD-d et 0,40 mg/kg)</b>	5	1,00	-3,77 – 5,77	0,51

A J3 la plus grande diminution en % moyenne du taux d'Hb était de -2,52% (IC 95%, -7,91 – 2,87) dans le groupe E (G6PD-d - 0,40 mg/kg), alors qu'elle était de 0,63% (IC 95%, -7,91 – 2,87) dans le groupe témoin (G6PD-n - 0,40 mg/kg, 11-17 ans), **p= 0,43**.

**Tableau 17 :** Variation du taux d'hémoglobine à J7, par groupe de traitement dans la partie II

Variation du taux d'hémoglobine (g/dl)	n	% de variation (Moyenne)	IC a 95%	p
<b>Age 11-17 ans</b>				
<b>Groupe Témoin (G6PD-n 0,40 mg/kg)</b>	7	0,31	-3,69 – 4,31	–
<b>Groupe E (G6PD-d et 0,40 mg/kg)</b>	7	-6,89	-10,47 – -3,30	0,01
<b>Age 5-10 ans</b>				
<b>Groupe Témoin (G6PD-n et 0,40 mg/kg)</b>	7	4,46	-3,01 – 11,93	–
<b>Groupe G (G6PD-d et 0,40 mg/kg)</b>	5	0,02	-13,22 – 13,26	0,43

A J7 la plus grande diminution en % moyenne du taux d'Hb était de -6,89% (IC 95%, -10,47 – -3,30) dans le groupe E (G6PD-d - 0,40 mg/kg) alors qu'elle était de 0,31% (IC 95, -3,69 – 4,31) dans le groupe témoin (G6PD-n - 0,40 mg/kg, 11-17 ans), **p= 0,01**.

**Tableau 18:** Variation du taux d'hémoglobine à J10, par groupe de traitement dans la partie II

Variation du taux d'hémoglobine (g/dl)	n	% de variation (Moyenne)	IC 95%	p
<b>Age 11-17 ans</b>				
<b>Groupe Témoin (G6PD-n 0,40 mg/kg)</b>	7	0,79	-2,77 – 4,36	–
<b>Groupe E (G6PD-d et 0,40 mg/kg)</b>	7	-7,82	-9,88 – -5,75	< 0,01
<b>Age 5-10 ans</b>				
<b>Groupe Témoin (G6PD-n et 0,40 mg/kg)</b>	7	2,95	-4,47 – 10,38	–

<b>Groupe G (G6PD-d et 0,40 mg/kg)</b>	5	-2,54	-14,58 – 9,50	0,31
--------------------------------------------	---	-------	---------------	------

A J10 la plus grande diminution en % moyenne du taux d'Hb était de -7,82% (IC 95%, -9,88 – -5,75) dans le groupe E (G6PD-d - 0,40 mg/kg, alors qu'elle était de 0,79% (IC 95%, -2,77 – 4,36) dans le groupe témoin (G6PD-n - 0,40 mg/kg) pour les 11-17 ans **p < 0,01**.

**Tableau 19:** Variation du taux d'hémoglobine à J14, par groupe de traitement dans la partie II

Variation du taux d'hémoglobine (g/dl)	n	% de variation (Moyenne)	IC 95%	p
<b>Age 11-17 ans</b>				
<b>Groupe Témoin (G6PD-n et 0,40 mg/kg)</b>	7	-0,81	-5,45 – 3,84	–
<b>Groupe E (G6PD-d et 0,40 mg/kg)</b>	7	-2,83	-8,42 – 2,75	0,51
<b>Age 5-10 ans</b>				
<b>Groupe Témoin (G6PD-n et 0,40 mg/kg)</b>	7	-0,09	-8,34 – 8,17	–
<b>Groupe G (G6PD-d et 0,40 mg/kg)</b>	5	-1,34	-16,28 – 13,60	0,84

A J14 la plus grande diminution en % moyenne du taux d'Hb était de -2,83% (IC 95%, -8,42% – -2,75) dans le groupe E (G6PD-d; 0,40 mg/kg), alors qu'elle était de -0,81% (IC 95%, -5,45% – 3,84) dans le groupe témoin (G6PD-n; 0,40 mg/kg) pour les 11-17 ans **p= 0,51**.

**Tableau 20:** Variation du taux d'hémoglobine à J28, par groupe de traitement dans la partie II

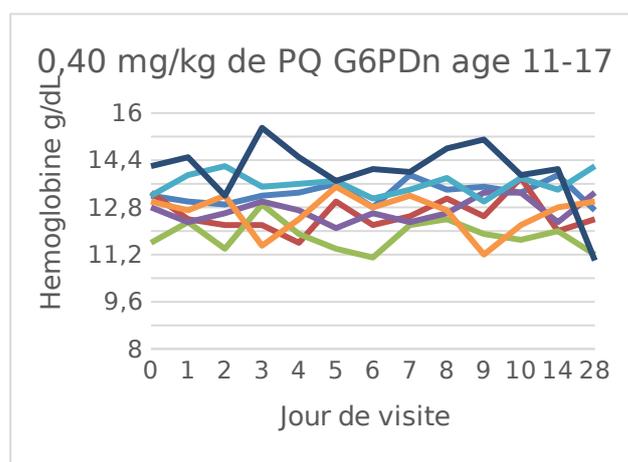
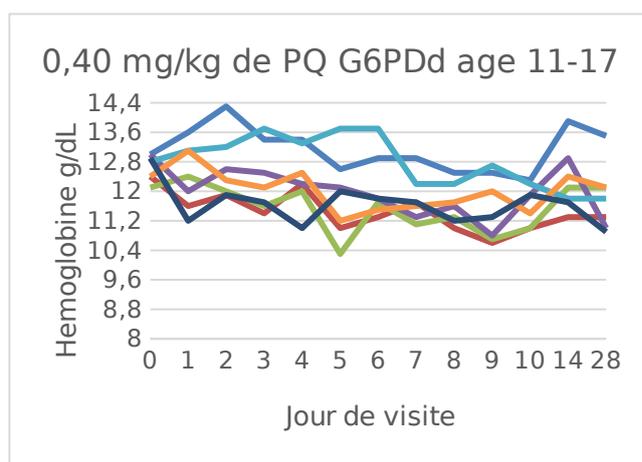
Variation du taux d'hémoglobine (g/dl)	n	% de variation (Moyenne)	IC 95%	p
<b>Age 11-17 ans</b>				
<b>Groupe Témoin (G6PD-n et 0,40 mg/kg)</b>	7	-3,58	-12,54 – 5,38	–
<b>Groupe E (G6PD-d et 0,40 mg/kg)</b>	7	-6,59	-13,48 – 0,30	0,53
<b>Age 5-10 ans</b>				
<b>Groupe Témoin (G6PD-n et 0,40 mg/kg)</b>	7	5,10	-10,28 – 20,50	–
<b>Groupe G (G6PD-d et 0,40 mg/kg)</b>	5	-0,75	-21,17 – 19,67	0,56

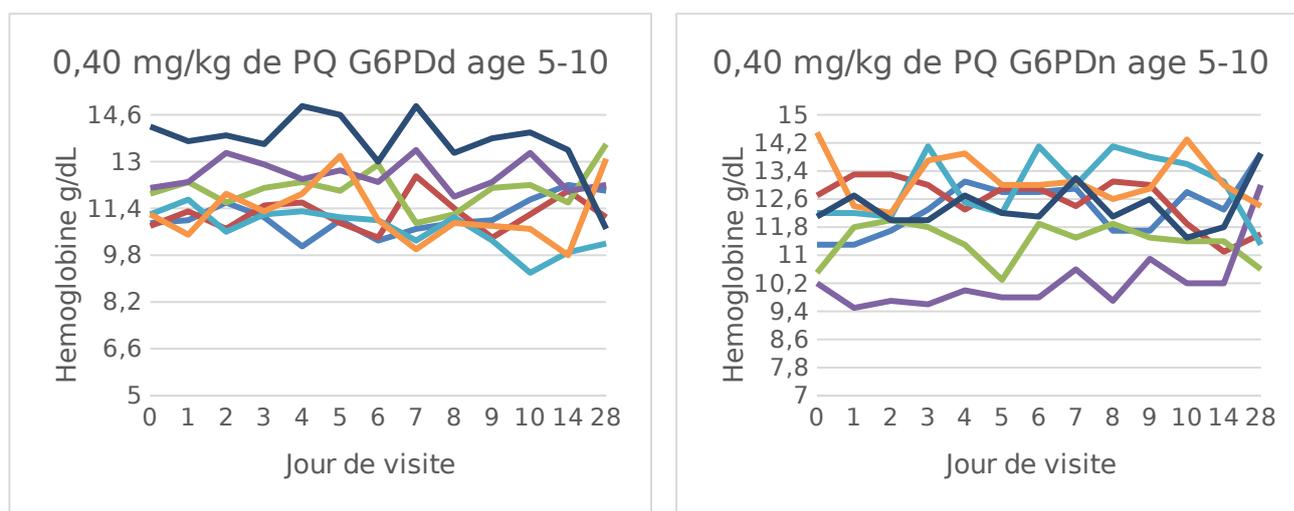
A J28 la plus grande diminution en % moyenne du taux d'Hb était de -6,59% (IC 95%, -13,48 - 0,30) dans le groupe E (G6PD-d - 0,40 mg/kg), alors qu' elle était de -3,58% (IC 95-12,54 - 5,38) dans le groupe témoin (G6PD-n - 0,40 mg/kg) pour les 11-17 ans **p= 0,53**.

**Tableau 21** : Variation du taux d'hémoglobine en moyenne entre J0 et J10, par groupe de traitement dans la partie II

Variation du taux d'hémoglobine (g/dl)	n	% de variation (Moyenne)	IC a 95%	P
<b>Age 11-17 ans</b>				
<b>Groupe Témoin (G6PD-n et 0,40 mg/kg)</b>	7	-6.86	-11.3– -2.46	–
<b>Groupe E (G6PD-d et 0,40 mg/kg)</b>	7	-11.5	-16.1– -6.96	0,07
<b>Age 5-10 ans</b>				
<b>Groupe Témoin (G6PD-n et 0,40 mg/kg)</b>	7	-5.24	-10.2– -.252	–
<b>Groupe G (G6PD-d et 0,40 mg/kg)</b>	5	-9.61	-16.1– -3.08	0,19

Entre J0 et J10, la plus grande diminution en % moyenne du taux d'hémoglobine était de - 11.5 % (IC 95%, -16.1– -6.96) dans le groupe E (G6PD-d - 0,40 mg/kg), alors qu'elle était de -6.86 % (IC 95-11.3– -2.46) dans le groupe témoin (G6PD-n ; 0,40 mg/kg) des adolescents 11-17 ans **p= 0,07**





Legende : Chaque couleur signifie la variation du taux d'hémoglobine d'un individu suivi sur 28 jours selon son groupe de traitement.

**Figure 9** : Variation du taux d'hémoglobine dans les différents groupes des adolescents (11-17 ans) et des enfants (5-10 ans) entre J0 à J28.

### 5.3. Les événements indésirables

#### 5.3.1. Proportion des participants qui ont eu au moins un événement indésirable (lié ou non au médicament) en fonction des groupes de traitement.

**Tableau 22** : Proportion des participants adultes qui ont eu au moins un événement indésirable (lié ou non au médicament) en fonction des groupes de traitement.

	G6PD-d			G6PD-n
<b>Partie 1</b>	<b>0.40 mg/kg</b>	<b>0.45 mg/kg</b>	<b>0.50 mg/kg</b>	<b>(0.50 mg/kg)</b>
	<b>(n=4)</b>	<b>(n=7)</b>	<b>(n=7)</b>	<b>(n=7)</b>
	<b>Groupe A</b>	<b>Groupe B</b>	<b>Groupe C</b>	<b>Témoin</b>

<b>Participants avec EI</b>	4	4	2	2
<b>Tous types EI</b>	4	8	2	2
<b>Proportion avec EI (%)</b>	100	57	29	29
<b>Nombre total EI liés à la PQ</b>	0	0	0	0

Dans la partie I, 100% des participants du groupe A G6PD-déficient ont présentés au moins un événement indésirable contre 29% dans le groupe témoin G6PD-normal.

**Tableau 23** : Proportion des participants adolescents et enfants qui ont eu au moins un événement indésirable (lié ou non au médicament) en fonction des groupes de traitement

<b>Partie 2</b>	<b>11-17 ans</b>		<b>5-10 ans</b>	
	G6PD-d (n=7) Groupe E	G6PD-n (n=7) Témoin	G6PD-d (n=5) Groupe G	G6PD-n (n=7) Témoin
<b>Participants avec EI</b>	3	1	2	6
<b>Tous types EI</b>	4	1	8	18
<b>Proportion avec EI (%)</b>	43	14	40	86
<b>Nombre total EI liés</b>	1	0	1	2

Dans la partie II, 86% des enfants de 5-10 ans G6PD-normal ont présentés au moins un événement indésirable contre 40% dans le groupe 5-10 ans G6PD-déficient.

### 5.3.2. Classification des EI par groupe de traitement en fonction de la gravité.

**Tableau 24** : Classification des EI par groupe de traitement en fonction de la gravité chez les adultes.

<b>Partie I</b>	<b>G6PD-d</b>			<b>G6PD-n</b>
	<b>0.40 mg/kg (n=4)</b>	<b>0.45 mg/kg (n=7)</b>	<b>0.50 mg/kg (n=7)</b>	<b>(0.50 mg/kg) (n=7)</b>
<b>Léger</b>	4	8	2	2
<b>Modéré</b>	0	0	1	0

<b>Grave</b>	0	0	0	0
--------------	---	---	---	---

Chez les adultes de 18-50 ans, 16 cas au total d'événement indésirable de type léger et 1 cas de type modère ont été enregistrés. Aucun cas d'événement indésirable grave (EIG).

**Tableau 25** : Classification des EI par groupe de traitement en fonction de la gravité chez les adolescents et les enfants.

<b>Partie II</b>	<b>11-17 ans</b>		<b>5-10 ans</b>	
	<b>G6PD-d (n=7)</b>	<b>G6PD-n (n=7)</b>	<b>G6PD-d (n=5)</b>	<b>G6PD-n (n=7)</b>
<b>Léger</b>	3	1	8	18
<b>Modéré</b>	1	0	0	0
<b>Grave</b>	0	0	0	0

Dans la partie II (11-17 ans et 5-10 ans), 30 cas au total d'événements indésirables de type léger et 1 cas de type modère ont été enregistrés ; aucun cas EIG.

## 6. Commentaires et discussion

### 6.1. Sur le plan méthodologique

Au cours de la dernière décennie, de grands progrès ont été accomplis dans la lutte contre le paludisme suite à la généralisation de l'accès et l'utilisation des combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine (CTA) et la mise à échelle des stratégies de prévention : la distribution des moustiquaires imprégnées d'insecticides et la chimio prévention du paludisme saisonnier.

Le succès des programmes de lutte contre le paludisme a entraîné la réduction de la mortalité liée au paludisme dans le monde de 26% de 2000 à 2010 (8) (9) et de 29% de 2010 à 2015 (21).

Cette baisse de l'endémicité a conduit à un appel à l'élimination du paludisme dans de nombreux pays du monde et certains en Afrique. Ainsi, il y a une recherche continue de nouveaux outils et stratégies qui ciblent chaque stade du cycle biologique complexe du parasite.

L'une de ces stratégies recommandée par l'OMS est l'utilisation combinée des CTA avec de la primaquine. La primaquine, possède une activité gamétocytoicide efficace pour éliminer les gamétocytes matures du paludisme, pour cela l'ajout de la primaquine s'avère nécessaire.

C'est aussi le seul médicament commercialisé capable d'éliminer les gamétocytes matures de *Plasmodium falciparum*, ce qui permettrait une intervention efficace et durable (12).

Il ya deux recommandations de l'OMS pour l'utilisation de la primaquine pour bloquer la transmission de *P. falciparum* qui devrait être sans danger. La première, publiée en 1973, est l'utilisation d'une dose unique de 0,75 mg/kg de primaquine avec des tests en G6PD pour éliminer les gamétocytes de *P. falciparum* (32). La deuxième, émise en Octobre 2012, a recommandé l'utilisation d'une dose unique de 0,25 mg/kg de primaquine et une CTA sans tester obligatoirement le statut en G6PD. Cette dose unique faible de 0,25 mg/kg de primaquine est recommandée dans le cadre du traitement de tous les cas de *P. falciparum* dans les zones menacées par la résistance à l'artémisinine ou approchant l'élimination du paludisme.

Notre étude était un essai phase 2 à doses adaptatives de primaquine chez des participants adultes déficitaires en G6PD sans paludisme de sexe masculin et à âges de-escaladé chez les adolescents et les enfants de sexe masculin sans paludisme au Mali.

Le médicament de l'étude était la primaquine (PQ) dosé à 15 mg.

Notre étude a été conduite en deux parties de 28 participants tous de sexe masculin.

**La partie I**, était une étude d'ajustement de dose de primaquine composée de 4 groupes (A, B, C, et témoin) où nous avons administré successivement 0,40 mg/kg, 0,45 mg/kg, et 0,50 mg/kg respectivement au groupe A, B, et C déficients en G6PD et 0,50 mg/kg au dernier groupe témoin G6PD-normal pour évaluer la tolérance de la primaquine chez les hommes âgés de 18 à 50 ans sans paludisme au Mali.

**La partie II**, était une étude à âge de-escaladé où une dose de 0,40 mg/kg à été administrée aux adolescents de sexe masculin sans paludisme âgés de 11 à 17 ans repartis en 2 groupes (E et témoin) respectivement G6PD-d et G6PD-n et aux enfants de 5 à 10 ans repartis en 2 groupes (G et témoin) respectivement G6PD-d et G6PD-n.

Tous les participants étaient de sexe masculin. Ceci pour éviter le risque chez les femmes en cas de grossesse non diagnostiquée par les tests usuels et les difficultés de compréhension et d'acceptabilité de mise sous contraception efficace au cas où elles devaient y participer.

Le critère principal de jugement de notre étude était la variation du taux hémoglobine entre le Jour 0 avant administration et 10 jours après l'administration de la primaquine. Ce schéma d'étude nous garantissait une meilleure comparabilité entre groupes de traitements et entre sujets déficients et non déficients.

Au total 25 participants ont été inclus dans l'analyse pour la partie I. Les trois premières personnes du groupe A (G6PD déficient, 0,40 mg/kg) classées comme G6PD-déficient (par le test de dépistage qualitatif) étaient G6PD-normal (selon la spectrophotométrie semi-quantitative) et les données ont été toutes exclues de l'analyse.

Dans la partie II au total 26 participants ont été inclus dans l'analyse. Deux enfants du groupe G (G6PD déficient, 5-10 ans) classées comme G6PD-déficient (par le test de dépistage qualitatif) étaient G6PD-normal (selon la spectrophotométrie semi-quantitative) et les données ont été toutes exclues de l'analyse.

## **6.2. Sur le plan de la tolérance**

Cette étude a montré qu'une dose unique de PQ aussi élevée que 0,50 mg/kg était bien tolérée chez les adultes G6PD-déficient de même qu'une dose unique de 0,40 mg/kg était bien tolérée chez les adultes, les adolescents et les enfants déficients en G6PD au Mali. Notre étude est la première à étudier la sécurité de la PQ à des doses supérieures à 0,40 mg/kg chez les individus G6PD-déficients sans paludisme dans le contexte Africain.

### **Partie I**

Au total sur les 28 jours de suivi dans la partie I, nous avons observé que les plus fortes diminutions en moyenne du taux d'Hb 8,41%; 6,82%; 7,53%; 9,77% et 5,96% respectivement aux jours 1, 3, 7, 10, et 14 avaient été observées dans le groupe A G6PD-d (0,40 mg/kg).

Au jour 28, la plus grande diminution du taux d'hémoglobine 2,49% avait été observée dans le groupe témoin G6PD-normal (0,50 mg/kg) ce qui était comparable à celle observée dans le groupe B G6PD-déficient (0,50 mg/kg) où on avait une diminution de 2,33% du taux d'Hb  $p= 0,96$ .

Entre les jours 0 et 10, la plus forte diminution en moyenne du taux d'hémoglobine dans la partie I était 16.8% observée dans le groupe A G6PD-d (0,40 mg/kg). Dans ce groupe, la plus grande diminution 23% du taux d'hémoglobine entre les jours 0 et 10 avait été observée chez un participant. Il s'agissait d'un homme déficient en G6DP, son taux hémoglobine à l'inclusion était de 14,7 g/dl et de 11,3 g/dl 9 jours plus tard. Cet homme était positif à *P. falciparum* dès le départ après PCR, positif à la GE les jours 1, 3 à 7 et avait un paludisme

symptomatique diagnostiqué aux jours 6 à 9 après avoir reçu la PQ. Au jour 28, le taux d'Hb de ce participant était de 13,5 g/dl.

## Partie II

Au total sur les 28 jours de suivi dans la partie II, nous avons observé qu'en moyenne les plus fortes diminutions aux jours 1, 3, 7, 10, 14 et 28 du taux d'hémoglobine respectivement 1,75% ; 2,52% ; 6,89%, 7,82% ; 2,83% et 6,59 avaient été observée dans le groupe E (0,40 mg/kg, 11-17 ans G6PD-d).

Entre les jours 0 et 10, la plus forte diminution en moyenne du taux d'hémoglobine était 11,7% observée dans le groupe E G6PD-d (0,40 mg/kg, 11-17 ans) ce qui était comparable en moyenne à celle observée dans le groupe témoin G6PD-n (0,40 mg/kg, 11-17 ans) qui était de 6,86%  $p = 0,07$  sur la même période de suivi.

Le taux d'hémoglobine le plus bas enregistré au cours du suivi 9,2 g/dl avait été observé chez un garçon G6PD-d de 6 ans, son taux d'hémoglobine au départ était à 11,2 g/dl. Il était négatif à la goutte épaisse, et son taux d'Hb au jour 28 était de 10,6 g/dl.

Cette étude est la première à étudier la sécurité de PQ à des doses  $\geq 0.40$  mg/kg chez les individus G6PD-d sans paludisme. Au cours des 28 jours de suivi, aucun participant n'a eu une baisse de plus 30% du taux d'Hb ni aucune réduction cliniquement significative du taux d'hémoglobine.

Un total de 24 participants (47%) avaient un EI pendant le suivi ; la plupart des EI (44 sur 46 soit 96%) étaient légers, dont 4 étaient considérés comme liés à la PQ.

Tous les effets indésirables ont été résolus pendant le suivi de l'étude, et aucun n'a abouti à l'arrêt de la participation à l'étude ni laisser de séquelle. Leurs fréquences étaient comparables chez les sujets déficients et non déficients. La fréquence et l'intensité n'ont pas augmenté avec la variation de la dose.

Il y avait aucun cas d'hémolyse aiguë, d'EIG, de symptômes ou de signes d'insuffisance rénale aiguë, d'anémie hémolytique, d'hémoglobinurie, ou méthémoglobinémie observés.

D'autres études sur la sécurité de la PQ à ce jour ont été réalisées,

au Sénégal selon la recommandation de l'OMS, une dose de 0,25 mg/kg de primaquine a été administrée avec la luméfantine, la dihydroartémisinine-pipéraquine et l'artésunate-amodiaquine à 54 patients phénotypiquement G6PD-d atteint de paludisme (63). En Tanzanie, une dose de 0,25 mg/kg de primaquine a été administrée avec de l'artémether-luméfantine à 33 patients phénotypiquement G6PD-d atteints de paludisme (64); à la

frontière entre la Thaïlande et le Myanmar, une dose de 0,25 mg/kg de primaquine administrée avec de la dihydroartémisinine-pipéraquline à 124 individus phénotypiquement G6PD-d dans une campagne d'administration massive de médicaments (65). Au Burkina Faso les doses 0,25 et 0,40 mg/kg de PQ associées à la dihydroartémisinine ont été administrées à des patients asymptomatiques G6PD-d avec le paludisme âgés de 18 à 50 ans (66).

Toutes ces études ont démontrées l'innocuité de la primaquine à des doses inférieures ou égale à 0,40 mg/kg. Cependant, comme l'infection parasitaire au paludisme peut réduire la concentration d'hémoglobine, notre étude à examiner l'effet isolé de la PQ chez des personnes sans paludisme à des doses de 0,40 mg/kg, 0,45 mg/kg et 0,50 mg/kg chez des hommes G6PD-déficients conformément à la recommandation de l'OMS au Mali.

Les principales limites de cette étude étaient une petite taille d'échantillon, l'exclusion des femmes, les précautions éthiques visant à assurer la sécurité des participants vulnérables qui étaient anémiques à l'inclusion.

## 7. CONCLUSION

Notre étude a trouvé qu'une dose unique de PQ aussi élevée que 0,50 mg/kg était bien tolérée chez les adultes atteints de G6PD-d et qu'une dose de 0,40 mg/kg a été bien tolérée chez les adultes, les adolescents et les enfants déficients en G6PD au Mali.

La recommandation d'augmenter la limite supérieure de la gamme de dose thérapeutique à 0,40 mg/kg en Afrique subsaharienne est soutenue par cette étude lorsqu'elle est utilisée chez les adultes, les adolescents et les enfants de sexes masculins.

Des doses de PQ comprises entre 0,40 et 0,50 mg/kg ont été bien tolérées chez les adultes et 0,40 mg/kg bien tolérée chez les adolescents et les enfants de sexe masculin déficients en G6PD au Mali.

## 8. RECOMMANDATIONS

Au terme de cette étude nous formulons les recommandations suivantes:

### **Aux chercheurs et aux autorités sanitaires**

- De conduire des études pour déterminer la gamme de doses thérapeutiques pour une utilisation de masse de la primaquine.
- De mener des études pour déterminer la dose tolérable de primaquine chez les sujets de sexes féminins non déficientes en G6PD sans grossesse en Afrique subsaharienne.
- D'évaluer la tolérance d'une dose unique de 0,40 mg/kg à 0,50 mg/kg de primaquine à large échelle chez les sujets masculins déficients en G6PD sans parasite de paludisme en Afrique subsaharienne.
- **Aux firmes pharmaceutiques**
- D'améliorer la présentation de la primaquine pour un dosage précis en traitement de masse y compris chez les enfants.

## 9. REFERENCES

1. OMS | Le rapport 2018 [Internet]. WHO. [cité 1 déc 2018]. Disponible sur: <http://www.who.int/malaria/media/world-malaria-report-2018/fr/>
2. OMS | Rapport sur le paludisme dans le monde 2017 [Internet]. [cité 5 août 2018]. Disponible sur: <http://www.who.int/malaria/publications/world-malaria-report-2017/report/fr/>
3. Thuy h T, Shamila H, Marta L, Adela I J, Norparina I, José M R. First case of a naturally acquired human infection with Plasmodium cynomolgi | Malaria Journal | Full Text [Internet]. [cité 12 janv 2019]. Disponible sur: <https://malariajournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/1475-2875-13-68>
4. Touré et al. Bio-écologie des anophèles (DIPTERA-CULICIDEA) dans une zone rurale de savane soudanienne au Mali; Incidence sur la transmission du paludisme et de la filariose de bancroft (Village de Banambani, arrondissement de Kati). [Thèse de 3e cycle Entomologie: Bamako, Mali]. Centre Pédagogique Supérieur de Bamako; 1979.
5. MESSAGE DU MSHP A L'OCCASION E LA CELEBRATION DE LA JOURNEE MONDIALE DE LUTTE CONTRE LE PALUDISME [Internet]. [cité 12 janv 2019]. Disponible sur: <http://www.sante.gov.ml/index.php/actualites/item/3115-message-du-mshp-a-l-occasion-e-la-celebration-de-la-journee-mondiale-de-lutte-contre-le-paludisme>
6. Enquête sur les indicateurs du paludisme au mali (EIPM) en 2015 [Internet]. [cité 31 juill 2018]. Disponible sur: <https://www.dhsprogram.com/pubs/pdf/MIS24/MIS24.pdf>
7. (Dumbo O, Sangaré. O, Touré Y. Paludisme dans le Sahel : exemple du Mali. Mal. Trop. Transm. , Ed. AUPELF- UREF.2002-2003 12). Mal Trop Transm. Ed. AUPELF- UREF. 2003 2002;12.
8. WHO Evidence Review Group: primaquine\_single\_dose\_pf\_erg\_meeting\_report\_aug2012.pdf [Internet]. [cité 31 juill 2018]. Disponible sur: [http://www.who.int/malaria/mpac/sep2012/primaquine\\_single\\_dose\\_pf\\_erg\\_meeting\\_report\\_aug2012.pdf?ua=1](http://www.who.int/malaria/mpac/sep2012/primaquine_single_dose_pf_erg_meeting_report_aug2012.pdf?ua=1)
9. Cotter C, Sturrock HJ, Hsiang MS, Liu J, Phillips AA, Hwang J, et al. The changing epidemiology of malaria elimination: new strategies for new challenges. The Lancet. sept 2013;382(9895):900-11.
10. OMS. WORLD MALARIA REPORT. 2016.
11. Okell LC, Bousema T, Griffin JT, Ouédraogo AL, Ghani AC, Drakeley CJ. Factors determining the occurrence of submicroscopic malaria infections and their relevance for control. Nat Commun. 2012;3:1237.
12. Bousema T, Drakeley C. Epidemiology and infectivity of Plasmodium falciparum and Plasmodium vivax gametocytes in relation to malaria control and elimination. Clin Microbiol Rev. avr 2011;24(2):377-410.

13. White NJ. Primaquine to prevent transmission of falciparum malaria. *Lancet Infect Dis.* févr 2013;13(2):175-81.
14. Cappellini MD, Fiorelli G. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *The Lancet.* 5 janv 2008;371(9606):64-74.
15. Howes RE, Battle KE, Satyagraha AW, Baird JK, Hay SI. G6PD deficiency: global distribution, genetic variants and primaquine therapy. *Adv Parasitol.* 2013;81:133-201.
16. Guindo A, Traore K, Diakite S, Wellems TE, Doumbo OK, Diallo DA. An evaluation of concurrent G6PD (A-) deficiency and sickle cell trait in Malian populations of children with severe or uncomplicated *P. falciparum* malaria. *Am J Hematol.* sept 2011;86(9):795-6.
17. Duflo B, Diallo A, Toure K, Soula G. [Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in Mali. Epidemiology and pathological aspects]. *Bull Soc Pathol Exot Filiales.* juin 1979;72(3):258-64.
18. Guidelines for the Treatment of Malaria - 2nd Edition [Internet]. [cité 1 août 2018]. Disponible sur: <http://apps.who.int/medicinedocs/en/d/Js19105en/>
19. Newman,M ; Rooney,L ; Kandula,D ; Implementation of low dose primaquine as a gametocytocide in sub-Saharan Africa [Internet]. [cité 1 août 2018]. Disponible sur: <http://globalhealthsciences.ucsf.edu.s116768.gridserver.com/sites/default/files/content/ghg/mei-primaquine-report.pdf>
20. Bronner U, Divis PCS, Färnert A, Singh B. Swedish traveller with Plasmodium knowlesi malaria after visiting Malaysian Borneo. *Malar J.* 16 janv 2009;8:15.
21. WHO. WHO | World Malaria Report 2016 [Internet]. WHO. [cité 1 août 2018]. Disponible sur: <http://www.who.int/malaria/publications/world-malaria-report-2016/report/en/>
22. Dicko A, Sagara I, Diemert D, Sogoba M, Niambele MB, Dao A, et al. Year-to-year variation in the age-specific incidence of clinical malaria in two potential vaccine testing sites in Mali with different levels of malaria transmission intensity. *Am J Trop Med Hyg.* déc 2007;77(6):1028-33.
23. Doumbo O. Epidémiologie du paludisme au Mali : étude de la chloroquinorésistance, essai de stratégie de contrôle basée sur l'utilisation de rideaux imprégnés de perméthrine associée au traitement systématique des accès fébriles [Internet]. Montpellier 2; 1992 [cité 1 août 2018]. Disponible sur: <http://www.theses.fr/1992MON20039>
24. Toure Y. Génétique, écologie et capacité vectorielle des membres du complexe anophèle gambiae sl au Mali [These]. [Mali]: Aix-Marseille III; 1985.
25. Lehmann T, Diabate A. The molecular forms of *Anopheles gambiae*: A phenotypic perspective [Internet]. [cité 12 janv 2019]. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2731232/>

26. Touré YT, Petrarca V, Traoré SF, Coulibaly A, Maïga HM, Sankaré O, et al. Ecological genetic studies in the chromosomal form Mopti of *Anopheles gambiae* s.str. in Mali, west Africa. *Genetica*. 1994;94(2-3):213-23.
27. Traoré S. Etude du comportement et de la contribution à la transmission du palu des membres du complexe *Anophèles gambiae* à Banambani [Thèse de Doctorat]. [Mali]: ISFRA-Bamako; 1989.
28. Aubry P, Gaüzère. B-A. Paludisme Actualités 2017 Professeur Pierre Aubry, Docteur Bernard-Alex Gaüzère. Mise à jour le 09/11/ PDF [Internet]. 2017 [cité 1 août 2018]. Disponible sur: <https://docplayer.fr/67766197-Paludisme-actualites-2017-professeur-pierre-aubry-docteur-bernard-alex-gauzere-mise-a-jour-le-09-11-2017.html>
29. Dao A. Etude comparative des paramètres entomologiques de la transmission du paludisme dans différents villages de la préfecture de Kati En zone de savane soudanienne au Mali. [M.S. thesis.]. [Mali]: University of Bamako, Mali,; 2003.
30. Encyclopédie médico-chirurgicale Tome 48-507-A-10. Cycle évolutif du *Plasmodium*. In: Encyclopédie médico-chirurgicale.
31. Université Médicale Virtuelle Francophone; Association Française des Enseignants de Parasitologie et Mycologie (ANOFEL) ,Université Médicale Virtuelle Francophone. 2014 paludisme [Internet]. [cité 1 août 2018]. Disponible sur: <http://campus.cerimes.fr/parasitologie/enseignement/paludisme/site/html/cours.pdf>
32. World Health Organization,. Lignes directrices pour le traitement du paludisme - 2e édition [Internet]. WHO Library Cataloguing-in-Publication Data; 2010 [cité 1 août 2018]. Disponible sur: <http://apps.who.int/medicinedocs/en/d/Js19105en/>
33. Foley M, Tilley L. Quinoline antimalarials: mechanisms of action and resistance and prospects for new agents. *Pharmacol Ther*. juill 1998;79(1):55-87.
34. Ministère de santé et de l'Hygiene public M. Circulaire 06-1774 Retrait de la chloroquine.txt [Internet]. [cité 5 août 2018]. Disponible sur: [http://mail.cnom.sante.gov.ml/index.php?option=com\\_content&task=view&id=320&Itemid=87](http://mail.cnom.sante.gov.ml/index.php?option=com_content&task=view&id=320&Itemid=87)
35. White NJ. Cardiotoxicity of antimalarial drugs. *Lancet Infect Dis*. août 2007;7(8):549-58.
36. Esimone CO, Adikwu MU, Nwafor SV, Okoli CO, Ndu OO, Nwoke OI. In vitro antimicrobial interactions of arthemeter with some 4-quinolones. *Boll Chim Farm*. oct 2002;141(5):385-8.
37. Berkley J, Mwarumba S, Bramham K, Lowe B, Marsh K. Bacteraemia complicating severe malaria in children. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. juin 1999;93(3):283-6.
38. Akinyemi KO, Bamiro BS, Coker AO. Salmonellosis in Lagos, Nigeria: Incidence of *Plasmodium falciparum*-associated Co-infection, Patterns of Antimicrobial Resistance, and

- Emergence of Reduced Susceptibility to Fluoroquinolones. *J Health Popul Nutr.* sept 2007;25(3):351-8.
39. Colwell EJ, Hickman RL, Kosakal S. Quinine-tetracycline and quinine-bactrim treatment of acute falciparum malaria in Thailand. *Ann Trop Med Parasitol.* juin 1973;67(2):125-32.
40. Taylor WRJ, White NJ. Antimalarial drug toxicity: a review. *Drug Saf.* 2004;27(1):25-61.
41. Ward SA, Sevene EJP, Hastings IM, Nosten F, McGready R. Antimalarial drugs and pregnancy: safety, pharmacokinetics, and pharmacovigilance. *Lancet Infect Dis.* févr 2007;7(2):136-44.
42. Sutherland CJ, Ord R, Dunyo S, Jawara M, Drakeley CJ, Alexander N, et al. Reduction of malaria transmission to Anopheles mosquitoes with a six-dose regimen of co-artemether. *PLoS Med.* avr 2005;2(4):e92.
43. Woodrow CJ, Haynes RK, Krishna S. Artemisinins. *Postgrad Med J.* févr 2005;81(952):71-8.
44. Hasugian AR, Purba HLE, Kenangalem E, Wuwung RM, Ebsworth EP, Maristela R, et al. Dihydroartemisinin-piperaquine versus artesunate-amodiaquine: superior efficacy and posttreatment prophylaxis against multidrug-resistant Plasmodium falciparum and Plasmodium vivax malaria. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 15 avr 2007;44(8):1067-74.
45. Smithuis F, Kyaw MK, Phe O, Aye KZ, Htet L, Barends M, et al. Efficacy and effectiveness of dihydroartemisinin-piperaquine versus artesunate-mefloquine in falciparum malaria: an open-label randomised comparison. *Lancet Lond Engl.* 24 2006;367(9528):2075-85.
46. Chauvin V. Cure radicale de primaquine dans les accès de reviviscence a plasmodium vivax et plasmodium ovale. [Thèse de médecine]. [France]: Université PARIS VAL-DE-MARNE Faculté de Médecine de Créteil; 2009.
47. sanofi-aventis Canada Inc. 2905, place Louis-R.-Renaud Laval (Québec) H7V 0A3 No de contrôle de la préparation :196046 www.sanofi.ca, . Renseignements thérapeutiques incluant les renseignements pour les patients sur les médicaments pr primaquine®. 2017.
48. Myat-Phone K, Myint O, Myint L, Thaw Z, Kyin-Hla A, Nwe-Nwe Y. Emergence of chloroquine-resistant Plasmodium vivax in Myanmar (Burma). *Trans R Soc Trop Med Hyg.* déc 1993;87(6):687.
49. Lell B, May J, Schmidt-Ott RJ, Lehman LG, Luckner D, Greve B, et al. The role of red blood cell polymorphisms in resistance and susceptibility to malaria. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* avr 1999;28(4):794-9.

50. Roth EF, Raventos-Suarez C, Rinaldi A, Nagel RL. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency inhibits in vitro growth of *Plasmodium falciparum*. *Proc Natl Acad Sci U S A*. janv 1983;80(1):298-9.
51. Cappadoro M, Giribaldi G, O'Brien E, Turrini F, Mannu F, Ulliers D, et al. Early phagocytosis of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD)-deficient erythrocytes parasitized by *Plasmodium falciparum* may explain malaria protection in G6PD deficiency. *Blood*. 1 oct 1998;92(7):2527-34.
52. Alving AS, Carson PE, Flanagan CL, Ickes CE. Enzymatic deficiency in primaquine-sensitive erythrocytes. *Science*. 14 sept 1956;124(3220):484-5.
53. Beutler E, Robson M, Bittenwieser E. The Mechanism of Glutathione Destruction and Protection in Drug-Sensitive and Non-Sensitive Erythrocytes. *In Vitro Studies*. *J Clin Invest*. avr 1957;36(4):617-28.
54. Persico MG, Viglietto G, Martini G, Toniolo D, Paonessa G, Moscatelli C, et al. Isolation of human glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) cDNA clones: primary structure of the protein and unusual 5' non-coding region. *Nucleic Acids Res*. 25 mars 1986;14(6):2511-22.
55. Vulliamy TJ, D'Urso M, Battistuzzi G, Estrada M, Foulkes NS, Martini G, et al. Diverse point mutations in the human glucose-6-phosphate dehydrogenase gene cause enzyme deficiency and mild or severe hemolytic anemia. *Proc Natl Acad Sci U S A*. juill 1988;85(14):5171-5.
56. Mason PJ, Bautista JM, Gilsanz F. G6PD deficiency: the genotype-phenotype association. *Blood Rev*. sept 2007;21(5):267-83.
57. Yoshida A. A SINGLE AMINO ACID SUBSTITUTION (ASPARAGINE TO ASPARTIC ACID) BETWEEN NORMAL (B+) AND THE COMMON NEGRO VARIANT (A+) OF HUMAN GLUCOSE-6-PHOSPHATE DEHYDROGENASE\*. *Proc Natl Acad Sci U S A*. mars 1967;57(3):835-40.
58. ASTMH meeting presentation. 2013.pdf [Internet]. [cité 1 août 2018]. Disponible sur: <http://www.malariaeradication.org/sites/www.malariaeradication.org/files/attachments/resources/ASTMH%20Abstract%20book%202013.pdf>
59. Luzzatto L. Glucose 6-phosphate dehydrogenase deficiency: from genotype to phenotype. *Haematologica*. oct 2006;91(10):1303-6.
60. Beutler E. G6PD deficiency. *Blood*. 1 déc 1994;84(11):3613-36.
61. Cappellini MD, Fiorelli G. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *The Lancet*. 5 janv 2008;371(9606):64-74.
62. Dern RJ, Beutler E, Alving AS. The hemolytic effect of primaquine. II. The natural course of the hemolytic anemia and the mechanism of its self-limited character. *J Lab Clin Med*. août 1954;44(2):171-6.

63. Tine RC, Sylla K, Faye BT, Poirot E, Fall FB, Sow D, et al. Safety and Efficacy of Adding a Single Low Dose of Primaquine to the Treatment of Adult Patients With *Plasmodium falciparum* Malaria in Senegal, to Reduce Gametocyte Carriage: A Randomized Controlled Trial. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 15 2017;65(4):535-43.
64. Mwaiswelo R, Ngasala BE, Jovel I, Gosling R, Premji Z, Poirot E, et al. Safety of a single low-dose of primaquine in addition to standard artemether-lumefantrine regimen for treatment of acute uncomplicated *Plasmodium falciparum* malaria in Tanzania. *Malar J.* 10 juin 2016;15(1):316.
65. Bancone G, Chowwiwat N, Somsakchaicharoen R, Poodpanya L, Moo PK, Gornsawun G, et al. Single Low Dose Primaquine (0.25mg/kg) Does Not Cause Clinically Significant Haemolysis in G6PD Deficient Subjects. *PLOS ONE.* 24 mars 2016;11(3):e0151898.
66. Bastiaens GJH, Tiono AB, Okebe J, Pett HE, Coulibaly SA, Gonçalves BP, et al. Safety of single low-dose primaquine in glucose-6-phosphate dehydrogenase deficient *falciparum*-infected African males: Two open-label, randomized, safety trials. *PloS One.* 2018;13(1):e0190272.

## 10. ANNEXES

### FICHE SIGNALÉTIQUE

**Nom :** NIAMBELE

**Prenom :** Sidi Mohamed

**Nationalité:** Malienne

**Année académique :** 2018-2019

**Secteur d'intérêt:** Santé Publique, Épidémiologie et Parasitologie.

**Date de soutenance :** 26/02/2019

**Directeur de thèse:** Prof. Alassane DICKO

**Tel:** +223 62514746

**Email:** niamblemahamed22@gmail.com

**Titre:** Détermination de la dose tolérable de primaquine chez les enfants et les adultes de sexe masculin âges de 5 à 50 ans déficients en g6pd sans paludisme à Ouelessebougu au mali.

**Lieu de dépôt:** Bibliothèque de la Faculté de Pharmacie (FAPH).

## **RESUME**

**Contexte:** L'Organisation mondiale de la santé recommande l'utilisation d'une dose unique de 0,25 mg / kg de primaquine pour réduire la transmission du paludisme à *Plasmodium falciparum*. Cependant, une dose de 0,4-0,5 mg/kg est plus efficace pour tuer les gamétocytes, mais des données de sécurité sont nécessaires pour déterminer la dose maximale tolérable chez les individus déficients en glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PD). Cette étude a évalué la tolérance à des doses plus élevées de primaquine chez les enfants et les adultes déficients en G6PD âgés de 5 à 50 ans sans paludisme.

**Méthodes:** Nous avons mené un essai ouvert, non randomisé, d'ajustement de dose, de l'innocuité de trois doses uniques de primaquine chez des participants de sexe masculin présentant un déficit en G6PD au Mali, suivi d'une évaluation de l'innocuité chez les adolescents (homme) âgé de 11 à 17 ans présentant un déficit en G6PD et des enfants âgés de 5 à 10 ans, comparés au groupe témoin constitué d'individus normaux atteints de G6PD. Le critère principal de jugement de l'étude était une réduction en pourcentage des taux d'hémoglobine dans les 10 jours suivant le traitement.

**Résultats:** Cinquante et un participants ont été inclus dans l'analyse. Les adultes déficients en G6PD ont reçu l'une des 3 doses (0,40, 0,45 ou 0,50 mg / kg) de primaquine. Les groupes des déficients en G6PD âgés de 5 à 17 ans ont reçu 0,40 mg / kg de primaquine. Il n'y avait pas d'hémolyse cliniquement significative et d'événements graves considérés comme liés au médicament de l'étude. Le pourcentage moyen de variation de l'hémoglobine entre les jours 0 et 10 était de -9,7% (intervalle de confiance à 95% [IC], -13,5% à -5,90%) chez les adultes déficients en G6PD recevant 0,50 mg / kg de primaquine. Le pourcentage d'hémoglobine chez les garçons âgés de 11 à 17 ans présentant un déficit en G6PD était de -11,5% (IC à 95%: -6,96% à 16,1%) et de -9,61% (IC à 95%, -7,59% à -13,9%) chez les garçons âgés présentant un déficit en G6PD âgés de 5 à 10 ans. La concentration d'hémoglobine la plus basse à tout moment de l'étude était de 92 g/L.

**Conclusion.** Des doses de primaquine (PQ) comprises entre 0,40 et 0,50 mg/kg ont été bien tolérées chez les mâles déficients en G6PD au Mali.

**Mots clé:** Primaquine, *P. falciparum*, déficit en G6PD, hémolyse, tolérance, Sécurité, Mali.

**Surnames :** NIAMBELE

**Name:** Sidi Mohamed

**Nationality:** Malian

**Academic year:** 2018-2019

**Focus areas:** Public Health, Epidemiology and Parasitology

**Date of sustenance:** 26/02/2019

**Director of thesis:** Prof. Alassane DICKO

**Tel:** +223 62514746

**Email:** niamblemahamed22@gmail.com

**Title:** Determining a tolerable dose of primaquine in G6PD-deficient children and adults of 5 to 50 year-old males without malaria in Mali.

**Place of deposit:** Library of the Faculty of Pharmacy (FAPH).

**ABSTRACT**

**Context:** The World Health Organization recommends using a single dose of 0.25 mg/kg primaquine to reduce transmission of *Plasmodium falciparum* malaria. However, a dose of 0.4-0.5 mg/kg is more efficacious in killing gametocytes, but safety data is needed to determine the highest tolerable dose in glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) deficient individuals. This study evaluated tolerability to higher doses of primaquine in G6PD deficient children and adults 5-50 years old without malaria.

**Methods:** We conducted a non-randomized, open-label dose adjustment trial of the safety of three single doses of primaquine in male participants with G6PD deficiency in Mali, followed by a safety assessment in G6PD-deficient adolescent (male) aged 11-17 years and children (male) aged 5-10 years, compared with the control group of G6PD-normal individuals. The main study outcome was percent reduction in hemoglobin levels within 10 days of treatment.

**Results:** Fifty one participants were included in the analysis. G6PD deficient adults received one of the 3 doses (0.40, 0.45 or 0.50 mg / kg) of primaquine. The group of G6PD deficient aged 5-17 years received 0.40 mg / kg of primaquine. There were no clinically significant hemolysis and serious events considered to be drug-related in the study. The mean percent change in hemoglobin between days 0 and 10 was -9.7% (95% confidence interval [CI], -13.5% to -5.90%) in G6PD-deficient adults receiving 0.50 mg / kg of primaquine. Percent hemoglobin change in G6PD-deficient aged 11-17 years was -11.5% (95% CI -6.96% - 16.1%) and -9.61% (95% CI, -7.59% to -13.9%) in G6PD-deficient boys aged 5 to 10 years. The lowest hemoglobin concentration at any time in the study was 92 g/L.

**Conclusion:** Primaquine (PQ) doses between 0.40 and 0.50 mg / kg were well tolerated in G6PD deficient males in Mali.

**Key Words:** Primaquine, *P. falciparum*, G6PD deficiency, hemolysis, tolerance, safety, Mali

### SERMENT DE GALIEN

- Je jure en présence des maîtres de cette Faculté, des conseillers de l'ordre des Pharmaciens et de mes chers condisciples.
- D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;
- D'exercer dans l'intérêt de la santé publique ma profession, avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement
- De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine. En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.
- Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

**Je le jure !**

