

Ministère de l'enseignement supérieur et de la
recherche scientifique

République du Mali
Un Peuple-Un But-Une Foi

UNIVERSITE DES SCIENCES, DES
TECHNIQUES ET DES TECHNOLOGIES DE
BAMAKO



FACULTE DE PHARMACIE

ANNÉE UNIVERSITAIRE 2022-2023

N°.....

TITRE

EVALUATION DE L'ACTIVITE *IN-VITRO* DE LA
COMBINAISON GANAPLACIDE-CABAMIQUINE SUR
DES SOUCHES RESISTANTES ET SAUVAGES DE
PLASMODIUM FALCIPARUM AU GANAPLACIDE

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement le 27 / 03 / 2026 dans

la faculté de pharmacie par

M. Allaye SAGARA

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

JURY

Président : Pr Abdoulaye A. DJIMDE

Membres : MC Ousmane DEMBELE

: MC Karim TRAORE

Directeur : MC Laurent DEMBELE

LISTES DES ENSEIGNANTS

LISTE DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTE DE PHARMACIE

ANNEE UNIVERSITAIRE 2024-2025

ADMINISTRATION

Doyen : Sékou BAH, Professeur

Vice-doyen : Souleymane DAMA, Maître de Conférences

Secrétaire principal : Seydou COULIBALY, Administrateur Civil

Agent comptable : Ismaël CISSE, Contrôleur des Finances.

PROFESSEURS HONORAIRES

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Flabou	BOUGOUDOGO	Bactériologie-Virologie
2	Boubacar Sidiki	CISSE	Toxicologie
3	Bakary Mamadou	CISSE	Biochimie
4	Yaya	COULIBALY	Législation
5	Abdoulaye	DABO	Malacologie -Biologie animale
6	Daouda	DIALLO	Chimie Générale et Minérale
7	Mouctar	DIALLO	Parasitologie-mycologie
8	Souleymane	DIALLO	Bactériologie - Virologie
9	Amagana	DOLO	Parasitologie
10	Kaourou	DOUCOURE	Physiologie humaine
11	Lassana	DOUMBIA	Chimie minérale
12	Ousmane	DOUMBIA	Chimie thérapeutique
13	Boukassoum	HAÏDARA	Législation
14	Akory Ag	IKNANE	Santé publique/Nutrition
15	Gaoussou	KANOUTE	Chimie analytique
16	Alou A.	KEÏTA	Galénique
17	Ousmane	KOÏTA	Biologie moléculaire
18	Mamadou	KONE	Physiologie
19	Brehima	KOUMARE	Bactériologie/Virologie
20	Benoît Yaranga	KOUMARE	Chimie analytique/Bromatologie
21	Abdourahamane S.	MAÏGA	Parasitologie

22	Saïbou	MAÏGA	Législation
23	Ababacar I	MAÏGA	Toxicologie
24	Ousmane	TOURE	Santé publique/Environnementale
25	Mahamadou	TRAORE	Génétique
26	Sékou Fantamady	TRAORE	Zoologie

PROFESSEURS DECEDES

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Mahamadou	CISSE	Biologie
2	Drissa	DIALLO	Pharmacognosie
3	Moussa	HARAMA	Chimie analytique
4	Mamadou	KOUMARE	Pharmacognosie
5	Moussa	SANOGO	Gestion pharmaceutique
6	Elimane	MARIKO	Pharmacologie

DER : SCIENCES BIOLOGIQUES ET MEDICALES

1. PROFESSEUR/DIRECTEUR DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	GRADE	SPECIALITE
1	Mounirou	BABY	Professeur	Hématologie
2	Mahamadou	DIAKITE	Professeur	Immunologie-Génétique
3	Alassane	DICKO	Professeur	Santé Publique
4	Abdoulaye	DJIMDE	Professeur	Parasitologie-Mycologie
5	Aldjouma	GUINDO	Professeur	Hématologie. Chef de DER
6	Kassoum	KAYENTAO	Directeur de Recherche	Santé publiqu./Biostatistique
8	Issaka	SAGARA	Directeur de Recherche	Bio-statistique
9	Boubacar	TRAORE	Professeur	Parasitologie-Mycologie

2. MAITRE DE CONFERENCES/MAITRE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	GRADE	SPECIALITE
1	Cheick Amadou	COULIBALY	Maître de Recherche	Entomologie/parasitologie
2	Djibril Mamadou	COULIBALY	Maître de Conférences	Biochimie clinique
3	Djénéba Koumba	DABITAO	Maître de Conférences	Biologie moléculaire
4	Souleymane	DAMA	Maître de Conférences	Parasitologie -Mycologie
5	Antoine	DARA	Maître de Conférences	Biologie Moléculaire
6	Laurent	DEMBELE	Maître de Conférences	Biotechnologie Microbienne
7	Kléligui Casimir	DEMBELE	Maître de Conférences	Biochimie Clinique
8	Seidina S. A.	DIAKITE	Maître de Conférences	Immunologie
9	Fatou	DIAWARA	Maître de Conférences	Epidémiologie
10	Yaya	GOITA	Maître de Conférences	Biochimie Clinique
11	Ibrehima	GUINDO	Maître de Conférences	Bactériologie virologie
12	Aminatou	KONE	Maître de Conférences	Biologie moléculaire
13	Bourèma	KOURIBA	Maître de Conférences	Immunologie
14	Almoustapha I.	MAÏGA	Maître de Recherche	Bactériologie-Virologie
15	Mamoudou	MAÏGA	Maître de Conférences	Microbiologie
16	Amadou Birama	NIANGALY	Maître de Conférences	Parasitologie-Mycologie
17	Fanta	SANGHO	Maître de Conférences	Santé Publ/Santé comm
18	Yéya dit Sadio	SARRO	Maître de Conférences	Epidémiologie
19	Mahamadou S.	SISSOKO	Maître de Recherche	Bio-statistique

3. MAITRE ASSISTANT/CHARGE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	GRADE	SPECIALITE
1	Mohamed	AG BARAIKA	Maître-Assistant	Bactériologie-Virologie
2	Charles	ARAMA	Maître-Assistant	Immunologie
3	Boubacar Tiétiè	BISSAN	Maître-Assistant	Biologie clinique
4	Djénéba	COULIBALY	Maître-Assistant	Nutrition/Diététique
5	Seydou Sassou	COULIBALY	Maître-Assistant	Biochimie Clinique
6	Issa	DIARRA	Chargé de Recherche	Immunologie
7	Dinkorma	OUOLOGUEM	Maître-Assistant	Biologie Cellulaire

4. ASSISTANT/ATTACHE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	GRADE	SPECIALITE
1	Michel Emmanuel	COULIBALY	Attaché de Recherche	Entomologie/parasitologie
2	Abdallah Amadou	DIALLO	Attaché de Recherche	Entomologie/parasitologie
3	Bakary	FOFANA	Attaché de Recherche	Recherche clinique
4	Merepen dit Agnès	GUINDO	Assistant	Immunologie
5	Moussa Bamba	KANOUE	Attaché de Recherche	Bioinformatique
6	Falaye	KEÏTA	Attaché de Recherche	Santé publ./Santé Environ.
7	N'DeyeLallah Nina	KOITE	Assistant	Nutrition
8	Oumou	NIARE	Attaché de Recherche	Biologie appliquée
9	Zana Lamissa	SANOGO	Attaché de Recherche	Entomologie/parasitologie
10	Lamine	SOUMAORO	Attaché de Recherche	Entomologie/parasitologie
11	Aliou	TRAORE	Attaché de Recherche	Sciences biologiques appliq.
12	Djakaridia	TRAORE	Assistant	Hématologie

DER : SCIENCES PHARMACEUTIQUES

1. PROFESSEUR/DIRECTEUR DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	GRADE	SPECIALITE
1	Rokia	SANOGO	Professeur	Pharmacognosie

2. MAITRE DE CONFERENCES/MAITRE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	GRADE	SPECIALITE
1	Loséni	BENGALY	Maître de Conférences	Pharmacie hospitalière
2	Issa	COULIBALY	Maître de Conférences	Gestion
3	Adama	DENOU	Maître de Conférences	Pharmacognosie/ Chef de DER
4	Mahamane	HAIDARA	Maître de Conférences	Pharmacognosie
5	Adiaratou	TOGOLA	Maître de Conférences	Pharmacognosie

3. MAITRE ASSISTANT/CHARGE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	GRADE	SPECIALITE
1	Bakary Moussa	CISSE	Maître-Assistant	Galénique
2	Balla Fatogoma	COULIBALY	Maître-Assistant	Pharmacie hospitalière
3	Hamma Boubacar	MAÏGA	Maître-Assistant	Galénique
4	Aminata Tiéba	TRAORE	Maître-Assistant	Pharmacie hospitalière

4. ASSISTANT/ATTACHE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	GRADE	SPECIALITE
1	Seydou Lahaye	COULIBALY	Assistant	Gestion pharmaceutique
2	Daouda Lassine	DEMBELE	Assistant	Pharmacognosie
3	Sékou	DOUMBIA	Assistant	Pharmacognosie
3	Assitan	KALOGA	Assistant	Législation
5	Ahmed	MAÏGA	Assistant	Législation
6	Aïchata Ben Adam	MARIKO	Assistant	Galénique
7	Aboubacar	SANGHO	Assistant	Législation
8	Bourama	TRAORE	Assistant	Législation
9	Sylvestre	TRAORE	Assistant	Gestion pharmaceutique
10	Mohamed dit Sarmoye	TRAORE	Assistant	Pharmacie hospitalière

DER : SCIENCES DU MEDICAMENT

1. PROFESSEUR/DIRECTEUR DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	GRADE	SPECIALITE
1	Sékou	BAH	Professeur	Pharmacologie

2. MAITRE DE CONFERENCES/MAITRE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	GRADE	SPECIALITE
1	Dominique Patomo	ARAMA	Maître de Conférences	Pharmacie chimique
2	Mody	CISSE	Maître de Conférences	Chimie thérapeutique
3	Ousmane	DEMBELE	Maître de Conférences	Chimie thérapeutique
4	Tidiane	DIALLO	Maître de Conférences	Toxicologie/ Chef de DER
5	Madani	MARIKO	Maître de Conférences	Chimie Analytique
6	Hamadoun Abba	TOURE	Maître de Conférences	Bromatologie
7	Karim	TRAORE	Maître de Conférences	Pharmacologie

3. MAITRE ASSISTANT/CHARGE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	GRADE	SPECIALITE
1	Mahamadou	BALLO	Maître-Assistant	Pharmacologie
2	Dalané Bernadette	COULIBALY	Maître-Assistant	Chimie Ana/Bromatologie

4. ASSISTANT/ATTACHE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	GRADE	SPECIALITE
1	Blaise	DACKOUO	Assistant	Chimie Analytique
2	Aiguerou dit Abdoulaye	GUINDO	Assistant	Pharmacologie
3	Mohamed El Béchir	NACO	Assistant	Chimie analytique
4	Mohamed	TOURE	Assistant	Pharmacologie

DER : SCIENCES FONDAMENTALES

1. PROFESSEUR/DIRECTEUR DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	GRADE	SPECIALITE
-	-	-	-	-

2. MAITRE DE CONFERENCES/MAITRE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	GRADE	SPECIALITE
1	Mamadou Lamine	DIARRA	Maître de Conférences	Botaniqu-Biol.veg. Chef de DER
2	Boubacar	YALCOUYE	Maître de Conférences	Chimie organique

3. MAITRE ASSISTANT/CHARGE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	GRADE	SPECIALITE
1	Joseph Sékou B.	DEMBELE	Maître-Assistant	Biologie végétale
2	Modibo	DIALLO	Maître-Assistant	Génétique
3	Boureima	KELLY	Maître-Assistant	Physiologie médicale

4. ASSISTANT/ATTACHE DE RECHERCHE

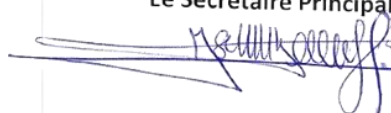
N°	PRENOMS	NOM	GRADE	SPECIALITE
1	Seydou Simbo	DIAKITE	Assistant	Chimie organique
2	Moussa	KONE	Assistant	Chimie Organique
3	Massiriba	KONE	Assistant	Biologie Entomologie

CHARGES DE COURS (VACATAIRES)

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Cheick Oumar	BAGAYOKO	Informatique
2	Babou	BAH	Anatomie
3	Souleymane	COULIBALY	Psychologie
4	Yacouba M	COULIBALY	Droit commercial
5	Moussa I	DIARRA	Biophysique
6	Mahamoudou	KONE	Droit et éthique
7	Oumar	SAMASSEKOU	Génétique
8	Modibo	SANGARE	Anglais
9	Satigui	SIDIBE	Pharmacie vétérinaire
10	Sidi Boula	SISSOKO	Histologie-embryologie
11	Fana	TANGARA	Mathématiques
12	Djénébou	TRAORE	Sémiologie et Pathologie médicale
13	Boubacar	ZIBEIROU	Physique

Bamako, le 7 octobre 2025

P/Le Doyen PO
Le Secrétaire Principal


Seydou COULIBALY
Administrateur Civil



DEDICACES ET REMERCIEMENTS

DEDICACES

✓ À Allah

Louange à Allah Seigneur des mondes, maitre du jour de la rétribution.....

Al hamdoulilah, Al hamdoulilah, Al hamdoulilah... Lequel donc des bienfaits de votre

Seigneur nierez-vous ? S55.V13

Je suis satisfait de toi comme Seigneur, Satisfait de l'islam comme religion, satisfait du

Prophète Muhammah SAW comme Prophète et messenger.

*Je me prosterne devant vous pour implorer votre miséricorde pour la vie d'ici-bas et surtout
pour la vie d'au-delà.*

*Je dédie cet ouvrage à mon père, M. **Mamadou** (paix à son âme), et à ma mère, Mme **Fatouma SAGARA**, dont le dévouement pour mon éducation a été considérable. Eux qui m'ont inscrit à l'école et qui ont suivi de près mon encadrement sans jamais céder au découragement. Vous avez été des parents que tout enfant désirerait avoir. C'est par vos qualités humaines, votre persévérance et votre courage que ce chemin a été parcouru. Grâce à l'éducation rigoureuse que vous m'avez donnée et aux sacrifices que vous avez consentis pour nous, j'ai pu franchir ces étapes ô combien importantes dans ma vie. Vos conseils, vos prières et votre soutien moral et matériel m'ont permis de tenir et de surmonter ces longues années d'études.*

*✓ À mon cher père, **Mamadou SAGARA***

Parti trop tôt, dont l'absence reste pour moi une douleur silencieuse de chaque jour : ton souvenir vit en moi comme une lumière qui guide mes pas. Ton amour, tes sacrifices et tes conseils demeurent gravés dans mon cœur et continuent de m'inspirer. Tu me manques profondément, mais je trouve du réconfort dans la certitude que tu serais fier de ce chemin parcouru. Qu'Allah, dans Sa grande miséricorde, t'accorde le repos éternel et fasse que ton âme repose en paix.

*✓ À ma mère bien-aimée, **Fatouma SAGARA***

Je rends hommage à ton immense courage et à ton amour infini. Je prie le Bon Dieu qu'Il t'accorde une bonne santé, une longue vie et la récompense de tous tes sacrifices.

Aucune dédicace ne saurait exprimer mes respects, ma reconnaissance et mon profond amour envers vous. Vous m'avez donné la vie, vous êtes mes modèles pour toujours. Ça n'a pas été toujours facile, mais la graine a germé.

✓ *À mes épouses, **Madina et Hawa SAGARA***

Votre présence à mes côtés a été un véritable réconfort dans les moments les plus difficiles. Je vous renouvelle ici l'expression de mon amour sincère et profond. Merci pour votre patience et votre soutien au fil des années. Que Dieu nous garde unis et nous accorde de partager cette vie et l'éternité ensemble. Amine.

✓ *À mes enfants, **Amadou et Souleymane SAGARA***

Votre présence apporte lumière et joie dans ma vie. Je prie Dieu qu'il vous accorde une longue vie, la santé, la réussite, ainsi que de fidèles frères et sœurs de bon-cœur pour vous accompagner tout au long de votre chemin. Amine.

✓ *À Mes Tontons, **Issa SAGARA et Professeur Seid El Moctar FOFANA***

Chers tontons, sans vous je ne serais pas là aujourd'hui. Vos idées ont toujours été les meilleures et vos conseils une boussole précieuse dans les moments de doute. Votre bravoure, votre détermination et votre sens du sacrifice ont été pour moi une source d'inspiration constante. Vous êtes des exemples de courage et de persévérance, et je suis fier d'avoir grandi sous l'influence de vos valeurs.

✓ *À mes Tantes, **Kadidiatou SAGARA, Binta GUINDO, Salimata SOW, Témélou TOGO***

Merci pour vos conseils et votre affection à mon égard. Trouvez dans cette œuvre l'expression de ma profonde gratitude et de toute ma reconnaissance. Votre soutien constant, vos encouragements et votre bienveillance ont été pour moi une source précieuse de force et d'inspiration tout au long de ce parcours. Même dans les moments les plus difficiles, votre présence et vos mots ont su m'apaiser et me guider. Je garderai toujours en mémoire votre générosité et votre amour, qui ont contribué à faire de moi la personne que je suis aujourd'hui.

✓ *À mes frères et sœurs, **Hamidou, Amadou, Aguibou, Abdramane, Mamoudou, Daouda, Yacouba, Youssouf, Illa, Ali, Aissata, Tata, Roukiatou, Binta, Madina, Hawa et Mariam***

Je vous adore au-delà des liens du sang et à jamais ; rien ne pourra jamais nous séparer, pas même les frontières du temps. Vous avez été pour moi des compagnons de vie, bâtis corps et

âme pour me soutenir dans chaque épreuve. Votre amour, vos encouragements et votre présence constante ont été des forces invisibles qui m'ont permis de persévérer. Que Dieu renforce nos liens de fraternité et continue de nous unir dans la joie, le respect et la solidarité.

Remerciements

- ✓ *À la famille SAGARA, FOFANA, SOW, DAMA, DJIMDE, NIANGALY, DARA, TOGO, BAMADIO, POUDIOUGO, SAYE, DOUGNON, DOLO, MINTA, KOURIBA, TAPILY.*
- ✓ *À mes amis Soumaïla TOGO, Allassane GUINDO, Djakaridia TOGO, Idrissa SAGARA, Nouh BAMADIO, Adama POUDIOUGO, Adama DJIMDE, Hama SAGARA*
- ✓ *À toute la population du village GOUROU-SONWON*
- ✓ *Au Doyen de la Faculté de Pharmacie Professeur Sekou BAH*
- ✓ *Au corps professoral de la Faculté de Pharmacie, pour la qualité de l'enseignement que nous avons reçu.*
- ✓ *Au personnel de PMRTC/DEAP, pour votre disponibilité et votre franche collaboration.*
- ✓ *À nos maîtres de PMRTC/DEAP, pour votre engagement et votre souci constant de formation de qualité.*
- ✓ *À l'équipe de l'unité de chimiorésistance du PMRTC/DEAP: Particulièrement aux Professeurs Abdoulaye DJIMDE, Pr. Laurent DEMBELE, Pr. Antoine DARA, Pr. Issaka SAGARA, Pr. Dinkorma OUOLOGUEM, Pr. Aminatou KONE, Pr. Souleymane DAMA, Pr. Amadou NIANGALY, aux Docteurs Mamadou TEKETE, Nianwalou DARA, Amadou BAMADIO, Aliou TRAORE, Bakary SIDIBE, Fatoumata I BALLO, Diagassan DOUMBIA, Sékou SISSOKO, Mohamed MAIGA, Djénébé DIALLO, Fatoumata Ousmane MAIGA, Issa TRAORE, Fanta SOGORE, Bassirou DIAKITE, Moussa DOUMBIA, Kadi DOUMBIA, Ousmane SOGONA, Fatalmoudou TANDINA, François DAOU, aux Mrs. Nouhoum SANOGO, Mohamed TOURE, Aly TAPILY, Ousmaela DIAKITE, et Mme Fatoumata DIALLO, Joel dit Amassagou DOUGNON.*
- ✓ *Aux internes Abdramane Salif KAMATE, Mandé SIDIBE, Aïchata DEMBELE, Amadou NIANGALY, Aminata DJIMDE, Alassane DILLO.*
- ✓ *Aux personnels du PMRTC/DEAP/MEDRU : Mme SISSOKO Daoulé DIALLO, Mme BATHILY Yaye dite Nah SISSOKO, Mlle Adama GUINDO, Mme OUEDRAOGO Mariam KOUYATE, Mr Ibrahim KAMATE, Mr Youssouf FANE.*

Merci pour le soutien dont vous avez fait preuve tout le long des travaux de cette thèse. Elle est la vôtre.

✓ **Aux personnels du laboratoire Polyvalent-2**

Merci pour votre accueil chaleureux et votre contribution à la réalisation de ce travail.

✓ **A toute la quinzième promotion du numerus clausus de la faculté de pharmacie**

Merci pour ces merveilleux moments partagés ensemble. Mention spéciale à son responsable Mohamed Sidibé et à son président Issa Tieko Diabaté. Que l'âme de nos illustres camarades qui nous ont laissé durant le parcours repose en paix. Bonne continuation à tous !

✓ **Hommage à feu Professeur Ogobara K DOUMBO**

Cher Professeur, vous avez laissé un vide immense dans notre entreprise et dans nos cœurs. Même si nous n'avons pas eu la chance de bénéficier directement de votre formation, votre enseignement, votre rigueur et votre exemple continuent de nous inspirer chaque jour. Votre héritage restera inoubliable pour nous tous, et nul ne peut contrecarrer la volonté du Bon Dieu. Je suis certain que, de là où vous êtes, vous veillez sur notre équipe et guidez nos pas. Dors en paix, Cher Maître. Amine.

HOMMAGES AUX MEMBRES DU JURY

A NOTRE MAITRE ET PRESIDENT DU JURY

Professeur Abdoulaye A. DJIMDE

- **Professeur titulaire de Parasitologie-Mycologie à la FAPH ;**
- **Directeur du PMRTC ;**
- **Chef du MEDRU ;**
- **Président de l'AARAM ;**
- **Président du PDNA ;**
- **Directeur du programme DELGEME PLUS ;**
- **Membre de l'Académie Malienne des Sciences ;**
- **Membre de l'Académie Africaine des Sciences ;**
- **Membre du Conseil Scientifique Consultatif des Nations Unies.**

Homme de vision et de conviction, pédagogue hors pair.

Cher Maître, à la croisée de la recherche, de l'enseignement et de l'engagement social, vous demeurez un modèle : celui d'un savant qui unit la science à la conscience, la compétence à l'éthique, l'excellence à l'humilité.

C'est pour moi un honneur et un immense privilège de compter parmi vos étudiants. Que le Tout-Puissant vous accorde une longue vie, pleine de santé, de bonheur et de succès.
Amen !!

A NOTRE MAITRE ET JUGE

Professeur Ousmane DEMBELE

- **Maître de Conférences de Chimie Thérapeutique à la Faculté de Pharmacie ;**
- **Directeur Général adjoint au Laboratoire National de la Santé ;**
- **Membre du Comité d'Experts de l'OOAS pour le Contrôle Qualité ;**
- **Membre du Comité Technique du Forum Africain pour la Qualité Médicaments (AMQF) Président du Sous-comité Contrôle et Surveillance du Marché de l'AMQF.**

Cher Maître,

C'est un immense honneur pour nous d'avoir grandement profiter de votre expérience, de votre dévouement et de votre rigueur dans le travail. Nous ne pouvons manquer souligner ici, la facilité et la spontanéité avec laquelle vous avez accepté de siéger ce jury. Ce grand honneur que vous nous faites, nous offre l'opportunité de vous exprimer notre profonde admiration et notre vive gratitude.

A NOTRE MAITRE ET JUGE

Professeur Karim TRAORE

- **Maître de Conférences en Pharmacologie à l'Université des Sciences, des Techniques et de Technologies de Bamako (USTTB), Faculté de Pharmacie ;**
- **Master en Neuropharmacologie ;**
- **PhD en Pharmacologie ;**
- **Chercheur au Centre de Recherche et de Formation en Entomologie Médicale et des Maladies Infectieuses (IDMRTC) de l'USTTB.**

Cher maître,

Nous n'avons pas été surpris que vous ayez accepté de siéger dans ce jury, vu votre simplicité, votre dynamisme et votre disponibilité permanente pour la formation des étudiants. Veuillez trouver ici, cher maître, l'expression de notre reconnaissance et de nos sincères remerciements.

A NOTRE MAITRE ET DIRECTEUR DE THESE

Professeur Laurent DEMBELE

- **Maître de Conférences en Biotechnologie et Génie microbiologie à l'Université des Sciences, des Techniques et de Technologies de Bamako (USTTB), Faculté de Pharmacie ;**
- **Chercheur au PMRTC/MEDRU Parasitologie de l'USTTB ;**
- **Investigateur principal au MMV (Medicines for Malaria Venture).**

Cher maître,

Nous sommes très honorés de vous avoir comme directeur de thèse. Je tiens à vous témoigner ma reconnaissance et ma gratitude pour avoir accepté de diriger ce travail. Pour nous, vous êtes une référence dans le domaine de la formation et de la recherche. Merci pour votre soutien, votre patience, vos encouragements et votre optimisme sans faille. Votre gentillesse, votre disponibilité et votre rigueur scientifique m'ont été d'une aide précieuse. Nous vous prions de trouver ici, cher maître, le témoignage de notre profonde reconnaissance et de notre immense respect.

SIGLES ET ABREVIATIONS

LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS

ACD	:	Acide-Citrate-Dextrose
ACM	:	Albumax Culture Medium (milieu de culture à base d'Albumax)
ADN	:	Acide désoxyribo- nucléique
av.J.C	:	Avant Jésus christ
°C	:	Degré Celsius
CI50	:	Concentration inhibitrice médiane
CHMI	:	Controlled Human Malaria Infection, « infection palustre contrôlée chez l'homme » en français
CMI	:	Concentration minimale inhibitrice
CQ	:	Chloroquine
CPS	:	Chimio prévention du Paludisme Saisonnier
CTA	:	Combinaison Thérapeutique à base d'Artémisinine
DEAP	:	Département d'Épidémiologie des Affections Parasitaires
DHA	:	Dihydroartémisinine
<i>Dhfr</i>	:	Dihydro folate réductase
<i>dhps</i>	:	Dihydroptéroate synthétase
DI	:	Décilitre
DMSO	:	Diméthylsulfoxyde
DNTPs	:	Désoxy Nucléotide Triphosphates
DV	:	Dependent Variable « données expérimentales » en français
EDTA	:	Ethylène Diamine Tétra Acétate
EC₅₀	:	Concentration Efficace 50 %
FAPH	:	Faculté de Pharmacie
FBS	:	Fœtal Bovine Sérum
FMOS	:	Faculté de Médecine et d'Odontostomatologie
FM	:	Frottis Mince

G6PD	:	Glucose-6 Phosphate –Déshydrogénase
GE	:	Goutte Épaisse
GNF	:	Genomics Institute of the Novartis Research Foundation
GTS	:	Global technical strategy for malaria
GTP	:	Guanosine triphosphate
G	:	Gramme
HBSS	:	Hank's Balanced Salt Solution
Hg	:	Hémoglobine
HT	:	Hématocrite
INF-g	:	Interféron-gamma
IRBC	:	Infected Red Blood Cell, « Globules Rouges Infectés » en français
J	:	Jour
Kg	:	kilogramme
Km	:	Kilomètre
K76T	:	Lysine à la position 76 de la protéine est remplacée par la thréonine
KAF156	:	Ganaplace
L	:	litre
LAV	:	Lutte anti-vectorielle
LDH	:	Lactate Déshydrogénase
M5717	:	Cabamiquine
MEDRU	:	Molecular Epidemiology and Drug Resistance Unit « Unité d'Epidémiologie Moléculaire et de Chimiorésistance » en français
Mg	:	Milligramme
MgCl₂	:	Chlorure de Magnésium
ml	:	Millilitre
Mmol	:	Millimole
mmHg	:	Millimètre de mercure
MRTC	:	Malaria Research and Training Center, « Centre de Recherche et de Formation sur le Paludisme » en français

N86Y	:	Asparagine N à la position 86 de la protéine est remplacée par la Tyrosine Y
NaCl	:	Chlorure de Sodium
NaHCO₃	:	Bicarbonate de sodium
NONMEM	:	NONlinear Mixed Effects Modeling, « Modèle NON lineaire à Effets Mixtes » en français
ONG	:	Organisation Non Gouvernementale
OMS	:	Organisation Mondiale de la Santé
PCR	:	Polymerase Chain Reaction, « Réaction de Polymérisation en Chaîne » en français
<i>Pfact</i>	:	<i>Plasmodium falciparum</i> transporteur d'acetyl-coA ;
<i>P. falciparum</i>	:	<i>Plasmodium falciparum</i>
<i>PfATP4</i>	:	<i>Plasmodium falciparum</i> ATPase 4
<i>Pfcarl</i>	:	<i>Plasmodium falciparum</i> locus de résistance aux amines cycliques
<i>PfEMP1</i>	:	<i>Plasmodium falciparum</i> Erythrocyte Membrane Protein 1
<i>Pfugt</i>	:	<i>Plasmodium falciparum</i> transporteur UDP-galactose
PI4K	:	Phosphatidylinositol 4-Kinase
PKG	:	Protéine Kinase G
<i>P. malariae</i>	:	<i>Plasmodium malariae</i>
PNLP	:	Programme National de Lutte contre le Paludisme
PMRTC	:	Parasites and Microbes and Research Training Center, « Centre de Formation et de recherche sur les parasites et les Microbes » en français
PRQ	:	Primaquine
PRED	:	Prédiction du modèle
<i>P. ovale</i>	:	<i>Plasmodium ovale</i>
<i>P. o. curtisi</i>	:	<i>Plasmodium ovale curtisi</i>

<i>P. o. wallikeri</i>	:	<i>Plasmodium ovale wallikeri</i>
<i>P. vivax</i>	:	<i>Plasmodium vivax</i>
QBC	:	Quantitative Buffy Coat
RBC	:	Red Blood Cell, « Globules Rouges non Infectés » en français
RPMI	:	Roswell Park Memorial Institute medium
RPM	:	Revolution per Minute
SDRA	:	Syndrome de Détresse Respiratoire Aigue
Taq	:	Thermus aquaticus
TBA	:	Transmission blocking activity, « Activité de blocage de la transmission » en français
USTTB	:	Université des Sciences des Techniques et des Technologies de Bamako
UV	:	Ultra-Violet
µl	:	Microlitre
No	:	Population parasitaire initiale avant traitement
KG	:	Taux de croissance intrinsèque du parasite en absence d'effet médicamenteux

LISTE DES FIGURES :

Figure 1 : Distribution des vecteurs du paludisme au Mali	9
Figure 2 : Le cycle de vie de <i>P. falciparum</i> (61).....	11
Figure 3 : Structure chimique du Ganaplacide(156).....	31
Figure 4 : Évolution structurale du GNF179 vers le Ganaplacide (KAF156)(153)	34
Figure 5 : Structure de la Cabamiquine(169).....	35
Figure 6 : <i>In-vitro</i> procédure expérimentale de détermination de paramètres pharmacologiques de la combinaison Ganaplacide-Cabamiquine sur <i>P. falciparum</i>	51
Figure 7 : Principe de la cytométrie de flux pour la détection et la quantification des globules rouges infectés par <i>Plasmodium falciparum</i>	52
Figure 8 : Cinétique des effets du Ganaplacide en monothérapie sur la souche 3D7 sauvage de <i>P. falciparum</i> aux stades asexués sanguins en fonction du temps.	55
Figure 9 : Cinétique des effets du Cabamiquine en monothérapie et sur la souche 3D7 sauvage de <i>P. falciparum</i> aux stades asexués sanguins en fonction du temps.	56
Figure 10 : Cinétique des effets du Ganaplacide et de la Cabamiquine en combinaison, sur la souche 3D7 sauvage de <i>P. falciparum</i> aux stades asexués sanguins en fonction du temps.....	57
Figure 11 : Synergie pharmacodynamique bilatérale temps-effet du Ganaplacide et de la Cabamiquine sur la souche 3D7 sauvage de <i>P. falciparum</i> aux stades asexués sanguins en fonction du temps.....	58
Figure 12 : Dynamique de l'effet combiné du Ganaplacide et de la Cabamiquine sur la mortalité des parasites de <i>P. falciparum</i> (souche 3D7 sauvage) au cours du temps.	60
Figure 13 : Cinétique des effets du Ganaplacide en monothérapie sur la souche 3D7 résistante au Ganaplacide de <i>P. falciparum</i> aux stades asexués sanguins en fonction du temps.....	62
Figure 14 : Cinétique des effets du Cabamiquine en monothérapie sur la souche 3D7 résistante au Ganaplacide de <i>P. falciparum</i> aux stades asexués sanguins en fonction du temps.....	62
Figure 15 : Cinétique de la viabilité parasitaire sous Ganaplacide et Cabamiquine, administrés seuls ou en combinaison, chez la souche 3D7 résistante au Ganaplacide.	63
Figure 16 : Effet de potentialisation pharmacodynamique unidirectionnelle de la Cabamiquine sur le Ganaplacide chez les parasites de <i>P. falciparum</i> 3D7 résistants au Ganaplacide.	64

LISTE DES TABLEAUX :

Tableau I : le résumé des médicaments antipaludiques courants	27
Tableau II : Structure chimique des antipaludiques courants.....	29
Tableau III : Décalage des EC_{50} entre monothérapie et combinaison traduisant une synergie bilatérale du Ganaplacide et de la Cabamiquine sur la souche 3D7 sauvage de <i>P. falciparum</i>	59
Tableau IV : Les Paramètres estimés du modèle pharmacodynamique final décrivant l'effet combiné du Ganaplacide et de la Cabamiquine sur la souche 3D7 sauvage de <i>P. falciparum</i>	60
Tableau V : La Variations des valeurs EC_{50} (concentration nécessaire pour atteindre la moitié de cet effet maximal) estimés entre monothérapie et combinaison sur des souches résistantes au Ganaplacide (5x IC_{50} -GNF179-FS : <i>PfCARL</i>) indiquant la potentialisation du Ganaplacide par Cabamiquine.	65
Tableau VI : Les principaux paramètres estimés du modèle pharmacodynamique appliqué aux souches résistantes au Ganaplacide (<i>PfCARL</i>).	65
Tableau VII : Paramètres d'interaction pharmacodynamique (INT) liés à la modulation de l' EC_{50} entre le Ganaplacide et la Cabamiquine sur la souche 3D7 sauvage de <i>P. falciparum</i> .67	
Tableau VIII : Paramètres d'interaction pharmacodynamique (INT) liés à la modulation de l' EC_{50} entre le Ganaplacide et la Cabamiquine sur la souche 3D7 de <i>P. falciparum</i> résistante au Ganaplacide.....	68

TABLES DES MATIERES :

1. Introduction	1
2. Objectifs	5
2.1. Objectif général	5
2.2. Objectifs spécifiques	5
3. Généralités	7
3.1. Historique du paludisme	7
3.2. Épidémiologie	8
3.2.1. Le vecteur	8
3.2.2. Le parasite	9
3.3. Cycle biologique du <i>Plasmodium</i>	10
3.3.1. Cycle asexué chez l'homme (schizogonie)	10
3.3.1.1. Phase hépatique ou exo-érythrocytaire	10
3.3.1.2. La phase érythrocytaire et réplication asexuée	10
3.3.1.3. La phase érythrocytaire et la gamétocytogénèse	12
3.3.2. Cycle sexué chez le moustique (sporogonie)	12
3.4. Physiopathologie du paludisme	13
3.4.1. Accès palustre non compliqué	13
3.4.2. Neuropaludisme	13
3.5. Manifestations cliniques	14
3.5.1. Paludisme de primo-invasion	14
3.5.2. Accès de reviviscence	14
3.5.3. Paludisme viscéral évolutif	14
3.5.4. La fièvre bilieuse hémoglobinurique	14
3.5.5. Le neuropaludisme et les autres formes graves et compliquées	15
3.6. Diagnostic biologique	15
3.6.1. Diagnostic biologique indirect	16

3.6.2. Diagnostic biologique direct	16
3.6.2.1. Le prélèvement	16
3.6.2.2. Techniques de référence.....	16
3.6.2.3. Autres techniques	17
3.7. Culture de <i>Plasmodium</i>	18
3.8. Analyse des isobogrammes	19
3.9. Stratégies de lutte contre le paludisme	22
3.9.1. La prise en charge médicamenteuse du paludisme	22
3.9.1.1. Cas de paludisme non compliqué	22
3.9.1.2. Cas de paludisme compliqué.....	22
3.9.2. Prise en charge médicamenteuse du paludisme selon le Programme National de Lutte contre le Paludisme (PNLP) au Mali	23
3.9.3. Les mesures préventives.....	24
3.9.3.1. La prévention du paludisme pendant la grossesse.....	24
3.9.3.2. La chimio prévention du paludisme saisonnier.....	24
3.9.3.3. La lutte antivectorielle	24
3.9.3.4. Vaccin	24
3.10. Les antipaludiques	25
3.11. Nouvelles molécules antipaludiques.....	26
3.11.1. Le Ganaplacide, un schizonticide et gamétocytocide prometteur	31
3.11.1.1. Découverte du Ganaplacide	31
3.11.1.2. Biochimie du Ganaplacide.....	31
3.11.1.3. Mode d'action du Ganaplacide et résistance	32
3.11.1.4. Efficacité du Ganaplacide.....	32
3.11.1.5. Développement clinique du Ganaplacide.....	33
3.11.2. Les quinoléines-4-carboxamides (Cabamiquine).....	34
3.11.2.1. Découverte de la Cabamiquine	35

3.11.2.2. Biochimie de la Cabamiquine	35
3.11.2.3. Efficacité de la Cabamiquine	35
3.11.2.4. Mode d'action de la Cabamiquine.....	36
3.11.2.5. Mécanismes de résistance de la Cabamiquine.....	36
3.12. Les méthodes d'études de l'activité des antipaludiques	37
3.12.1. Test <i>in-vivo</i>	37
3.12.2. Tests <i>in-vitro</i>	37
3.12.3. Tests <i>ex-vivo</i>	39
3.13. La chimiorésistance.....	39
3.13.1. La définition de la chimiorésistance.....	39
3.13.2 La résistance aux antipaludéens et gènes moléculaires associés	40
3.13.2.1. Le gène <i>P. falciparum</i> chloroquine résistance transporter (<i>Pfcr</i>).....	40
3.13.2.2. Le gène <i>P. falciparum</i> multidrug résistance1 <i>Pfmdr1</i>	40
3.13.2.3. Le gène <i>P. falciparum</i> dihydroPtéroate synthétase (<i>Pfdhps</i>) / le gène <i>P. falciparum</i> dihydrofolate réductase (<i>Pfdhfr</i>)	41
3.13.2.4. Le gène <i>P. falciparum</i> kelch propeller 13 (<i>Pfk13</i>)	41
3.13.2.4.1. Implications cliniques des mutations <i>Pfk13</i>	42
4. Méthodes et matériels	45
4.1. Lieu d'étude et choix du site d'étude.....	45
4.2. Types et période de l'étude	45
4.3. Conditions de travail au laboratoire.....	45
4.4. Procédures de décongélation	46
4.4.1. Décongélation du parasite.....	46
4.4.1.1. Matériels et appareils.....	47
4.4.1.2. Procédure standard opératoire (SOP) du frottis mince (FM)	47
4.4.1.2.1. Principe	47
4.4.1.2.2. Confection frottis mince (FM).....	48

4.4.1.2.3. Séchage, fixation et coloration de frottis mince	48
4.4.1.2.4. Examen microscopique	48
4.4.1.2.5. Milieu de culture.....	49
4.5. Test <i>in-vitro</i> de l'efficacité de la Cabamiquine et du Ganaplacide sur une souche 3D7 résistante au Ganaplacide et sauvage de <i>P. falciparum</i> en monothérapie et en combinaison	49
4.5.1. Méthodologie expérimentale.....	49
4.5.2. Le principe de la cytométrie en flux.....	51
4.5.2. Modélisation mathématique	52
5. Résultats.....	55
5.1. Effet du Ganaplacide sur la souche 3D7 sauvage de <i>P. falciparum</i> aux stades asexués sanguins.....	55
5.2. Effet de la Cabamiquine sur la souche 3D7 sauvage de <i>P. falciparum</i> aux stades asexués sanguins	56
5.3. Effet de la combinaison Ganaplacide - Cabamiquine sur la souche 3D7 sauvage de <i>P. falciparum</i> aux stades asexués sanguins	57
5.4. Effet de la combinaison Ganaplacide - Cabamiquine sur la souche 3D7 résistante au Ganaplacide de <i>P. falciparum</i> aux stades asexués sanguins	61
5.5. Interactions pharmacodynamiques entre le Ganaplacide et la Cabamiquine sur les souches 3D7 sauvages et résistantes au Ganaplacide.....	66
6. Commentaires et discussion	70
6.1. Profils pharmacodynamiques en monothérapie.....	70
6.2. Interaction pharmacodynamique sur la souche sauvage 3D7.....	70
6.3. Potentialisation unidirectionnelle sur les souches résistantes au Ganaplacide.....	71
6.4. Comparaison avec les données disponibles dans la littérature	71
6.5. Pertinence clinique et implications thérapeutiques.....	72
6.6. Limites de l'étude	72
7. Conclusion et recommandations.....	74

7.1. Conclusion	74
7.2. Recommandations	74
8. Références bibliographiques	76
9. Annexes	ii

INTRODUCTION

1. Introduction

Le paludisme demeure la maladie parasitaire tropicale la plus importante dans le monde. Le terme *paludisme* ou *malaria* désigne une érythrocytopathie fébrile et hémolysante, causée par le développement et la multiplication d'un hématozoaire du genre *Plasmodium*, d'abord dans le foie, puis dans le sang. La transmission se fait principalement par la piqûre infectante d'un moustique du genre *Anopheles* lors de son repas sanguin. Seule la femelle, qui est hémaphage, est capable de transmettre la maladie (1). Cependant, d'autres modes de transmission, bien que plus rares, existent, notamment par voie sanguine (transfusion) (2) ou par transmission fœto-maternelle (3).

Il existe plus de 140 espèces de *Plasmodium* affectant diverses espèces animales, mais seulement cinq sont pathogènes pour l'être humain (4) : *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae* et *P. knowlesi*.

P. falciparum est l'espèce prédominante en Afrique subsaharienne (5), où elle est responsable de la majorité des décès liés au paludisme, notamment en raison des formes cliniques sévères telles que le neuropaludisme (6). Elle est également présente en Asie et en Amérique latine (7). Cette espèce est particulièrement préoccupante en raison de sa capacité à développer une résistance aux antipaludiques (8).

Selon le dernier rapport de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) publié en 2025, le nombre estimé de nouveaux cas de paludisme a atteint 282 millions dans 80 pays en 2024, contre 263 millions en 2023(9). Cette augmentation est principalement attribuée à l'Afrique. Le nombre total de décès dus au paludisme est passé de 597 000 en 2023 à 610 000 en 2024. En 2020, la pandémie de COVID-19 avait entraîné une hausse importante des décès, avec 55 000 morts supplémentaires (10). Depuis, une tendance à la baisse du taux de mortalité est observée, bien que les enfants de moins de cinq ans restent la population la plus vulnérable.

Selon le Programme National de la Lutte contre le Paludisme au Mali (PNLP-Mali), le Mali a enregistré environ 8,15 millions de cas et 14 328 décès dus au paludisme en 2023. Le pays représente 3,1 % des cas mondiaux et 2,4 % des décès (11).

En date de juin 2023, le Fonds mondial assurait 65 % du financement international des programmes de lutte contre le paludisme, avec un investissement cumulé de plus de 17,9 milliards de dollars US (12). En juin 2024, ce pourcentage était de 62 %, avec un financement total dépassant les 19,1 milliards de dollars (10).

Ces efforts ont permis une amélioration significative de la prévention et du traitement de la maladie, notamment grâce aux Combinaisons Thérapeutiques à base d'Artémisinine (CTA), à la distribution de moustiquaires imprégnées d'insecticide, à la chimio-prévention du paludisme saisonnier (CPS) et aux traitements préventifs intermittents.

Cependant, malgré ces avancées, la morbidité et la mortalité dans les pays endémiques restent encore élevées (10), cela est dû à la capacité d'adaptation du parasite grâce à des mutations ponctuelles sur certains gènes (13). C'est ainsi que certains antipaludiques, notamment la chloroquine, la Méfloquine, la Sulfadoxine-Pyriméthamine, ont perdu leur efficacité contre *P. falciparum* (14). La propagation de la résistance de *P. falciparum* aux traitements antipaludiques à travers le monde rend nécessaire la recherche de nouveaux médicaments antipaludiques dotés de mécanismes d'action innovants (15). Il est également crucial de développer des composés capables de cibler efficacement les gamétocytes, afin d'interrompre la transmission du parasite (16). Dans cette optique, de nouvelles classes de molécules, telles que les imidazolopipérazines (Ganaplacide) et d'autres composés à mécanisme innovant comme la Cabamiquine (inhibiteur du facteur d'élongation eEF2), ont démontré une forte activité antiplasmodiale *in-vitro* et *in-vivo* (17,18). Le Ganaplacide (KAF156), principal représentant des imidazolopipérazines, exerce son action en perturbant le trafic vésiculaire et la sécrétion des protéines au sein du parasite, entraînant une désorganisation du réseau endomembranaire et une expansion du réticulum endoplasmique (19,20). Développée par Novartis en collaboration avec Medicines for Malaria Venture (MMV), la combinaison Ganaplacide–Cabamiquine a progressé à travers les différentes phases du développement clinique. Les résultats favorables observés en termes d'efficacité et de profil de tolérance ont permis son évaluation en phase III, ouvrant ainsi la voie aux procédures réglementaires pour son enregistrement(21,22). Bien qu'il soit actif contre les souches résistantes à l'artémisinine (23,24), l'émergence de mutations dans les gènes *PfCARL*, *PfACT* et *PfUGT* observée chez des parasites exposés à son analogue GNF179 (31), souligne la nécessité de l'associer à des molécules à mécanismes d'action distincts afin de retarder l'apparition de résistances.

Dans cette perspective, la Cabamiquine représente une option prometteuse. Découverte par l'Université de Dundee en collaboration avec MMV, cette molécule, actuellement en phase II de développement clinique, agit en inhibant le facteur d'élongation eEF2, une protéine clé de la synthèse des protéines chez *P. falciparum* (25,26). Cette inhibition bloque la synthèse des protéines et ainsi la croissance parasitaire, conférant à la Cabamiquine une activité prolongée sur plusieurs stades du cycle érythrocytaire. Toutefois, des mutations du gène eEF2 (L755F,

E143V, Y186C) ont été associées à une résistance expérimentale au laboratoire (27–29), d'où l'intérêt de l'associer au Ganaplacide pour améliorer l'efficacité thérapeutique et retarder l'émergence rapide de résistances.

La combinaison Ganaplacide-Cabamiquine représente une nouvelle stratégie thérapeutique non basée sur l'Artémisinine visant à préserver l'efficacité individuelle de ces nouvelles molécules et à retarder l'émergence de résistances (30). Une étude récente (Gal IR et *al.*, 2025) n'a montré aucune interaction négative (additivité) entre ces deux composés sur le stade hépatique du parasite. Cependant, les interactions Ganaplacide-Cabamiquine au stade sanguin restent à explorer. Notre étude propose donc d'évaluer *in-vitro* l'impact de la combinaison Ganaplacide-Cabamiquine sur des souches *P. falciparum* 3D7 sensibles et résistantes au Ganaplacide, afin d'analyser leurs interactions pharmacodynamiques. Cette approche contribuera à établir les fondations précliniques nécessaires à la conception rationnelle de nouvelles combinaisons antipaludiques à forte barrière génétique. Ainsi, nous formulons l'hypothèse que la combinaison Ganaplacide-Cabamiquine pourrait être une stratégie avantageuse pour contourner le problème de résistance aux deux classes d'antipaludiques.

OBJECTIFS

2. Objectifs

2.1. Objectif général

Caractériser *in-vitro* la pharmacodynamie de la combinaison Ganaplacide-Cabamiquine sur des souches 3D7 de *P. falciparum* de type sauvage et résistantes au Ganaplacide.

2.2. Objectifs spécifiques

1. Quantifier l'effet antiplasmodial du Ganaplacide sur la souche de laboratoire 3D7 (*P. falciparum*) de type sauvage.
2. Quantifier l'effet antiplasmodial de la Cabamiquine sur la souche de laboratoire 3D7 (*P. falciparum*) de type sauvage.
3. Quantifier l'effet antiplasmodial de la combinaison Ganaplacide–Cabamiquine sur la souche de laboratoire 3D7 (*P. falciparum*) de type sauvage.
4. Mesurer l'efficacité de cette combinaison sur une souche 3D7 résistante au Ganaplacide.
5. Déterminer les interactions pharmacodynamiques entre le Ganaplacide et la Cabamiquine sur les souches 3D7 sauvages et résistantes au Ganaplacide.

GENERALITES

3. Généralités

3.1. Historique du paludisme

L'origine géographique du paludisme est controversée et se perd dans la nuit des temps. Il fait partie des plus vieilles affections de l'humanité et des indices suggèrent que l'homme préhistorique en était atteint(31). On trouve ainsi dans les anciens manuscrits chinois et égyptiens, de même que dans la littérature grecque et romaine, des témoignages relatifs aux fièvres épidémiques dont les signes ressemblent beaucoup à ceux du paludisme(32). Mais il a fallu attendre 1717 pour que Giovanni Lancisi attribue cette maladie aux émanations nocives des marais, d'où le nom malaria, de l'italien « malaria » ou air vicié ; puis enfin 1880 pour que Docteur Alphonse Laveran, un médecin de l'armée française(33), soit témoin de l'exflagellation d'un gamétocyte mâle lors de l'observation au microscope d'échantillons de sang de patients impaludés(34). Deux ans plus tard précisément en 1882 l'hypothèse de la transmission du paludisme par le moustique était déjà émise. Cette hypothèse fut confirmée en 1897 par Ronald Ross qui fit la découverte de l'importance du moustique dans le cycle de vie du paludisme aviaire et décrivit des kystes paludéens dans les parois de l'estomac d'*Anopheles*. En 1898, Grassi décrivit le cycle de transmission complet du parasite(35) et prouva que le paludisme observé chez l'homme est transmis par des moustiques du genre *Anopheles*(36). La nomenclature concernant les différents stades de développement du parasite sera publiée en 1900 par Schaudinn(37). L'agent pathogène a d'abord été nommé *Oscillare malariae* puis *Heamamoeba malaria*. Successivement, furent mis en évidence les espèces *P. vivax* (Grassi et Leletti, 1890) ; *P. malariae* (Laveran, 1891) et *P. ovale* (Stephens, 1922) et *P. falciparum* (Welch, 1897)(28). Les dégâts causés par le paludisme pendant la première guerre mondiale vont susciter la recherche et la mise à disposition des nouvelles molécules antipaludiques telles que les dérivés des amino-8-quinoléines, des amino-9-acridines et des amino-4-quinoléines dont la plus représentative est la chloroquine. La chloroquine sera ensuite largement utilisée aussi bien en traitement curatif qu'en prophylaxie jusqu'à ce que l'OMS ait lancé en 1950 un programme d'éradication du paludisme à l'échelle mondiale "le monde unit contre le paludisme"(39). C'est ainsi qu'il y a eu le développement de nombreux antipaludiques de synthèses dont les plus connus sont l'Amodiaquine, la Pyriméthamine, le Cycloguanil et le Proguanil. L'activité antiplasmodiale de l'extrait d'*Artemisia annua L.* dont le principe actif est l'Artémisinine a été mis en évidence en 1971(40). Malgré l'isolement de deux alcaloïdes fondamentaux des écorces de quinquina (Quinine et Cinchonine) en 1920 par Pelletier et Caventou(41), l'OMS met fin à son programme mondial d'éradication du paludisme à cause

de son échec, car l'enthousiasme thérapeutique était menacé dès le début des années 60 par des premiers cas de résistance à la Chloroquine. La Méfloquine et l'Halofantrine ont été découvertes par l'armée Américaine à la suite d'un vaste programme de criblage entrepris après l'échec du programme mondial d'éradication et des nombreux cas de paludisme parmi les troupes américains envoyées au Vietnam. Face aux résistances multiples de *Plasmodium* aux monothérapies, l'OMS a recommandé les CTA pour la prise en charge des cas du paludisme(42). Quelques années après la mise en œuvre de ces CTA, il a été observé dans la région du Pacifique occidental et dans la région de l'Asie du Sud-Est de l'OMS, une résistance partielle à l'Artémisinine et une résistance à un certain nombre de médicaments associés aux CTA ont été confirmés au Cambodge, en République démocratique populaire du Lao, au Myanmar, en Thaïlande et au Viet Nam grâce à des études menées entre 2001 et 2019(43).

3.2. Épidémiologie

3.2.1. Le vecteur

Le paludisme est transmis par des moustiques appartenant à l'embranchement des Arthropoda, à la classe des Insecta, à la sous-classe Pterygota, à l'ordre des Diptera, au sous-ordre des Nematocera, à la famille des Culicidae, à la sous-famille des Anophelinae et au genre *Anopheles*. Ce genre regroupe environ 480 espèces de moustiques dont 80 seulement sont capables de transmettre le paludisme ; 15 de celles-ci sont considérées comme vecteurs majeurs du paludisme(44). Au Mali, les espèces de moustique responsable de la transmission du paludisme sont :

- *Anopheles gambiae s.l*
- *Anopheles gambiae*
- *Anopheles coluzzii*
- *Anopheles arabiensis*
- *Anopheles funestus s.l*(45).

Les vecteurs du paludisme sont réparties entre les zones éco-climatiques selon quatre faciès épidémiologiques qui sont la zone désertique, la zone sahélienne, la zone soudanienne et la zone guinéenne (Figure 1).

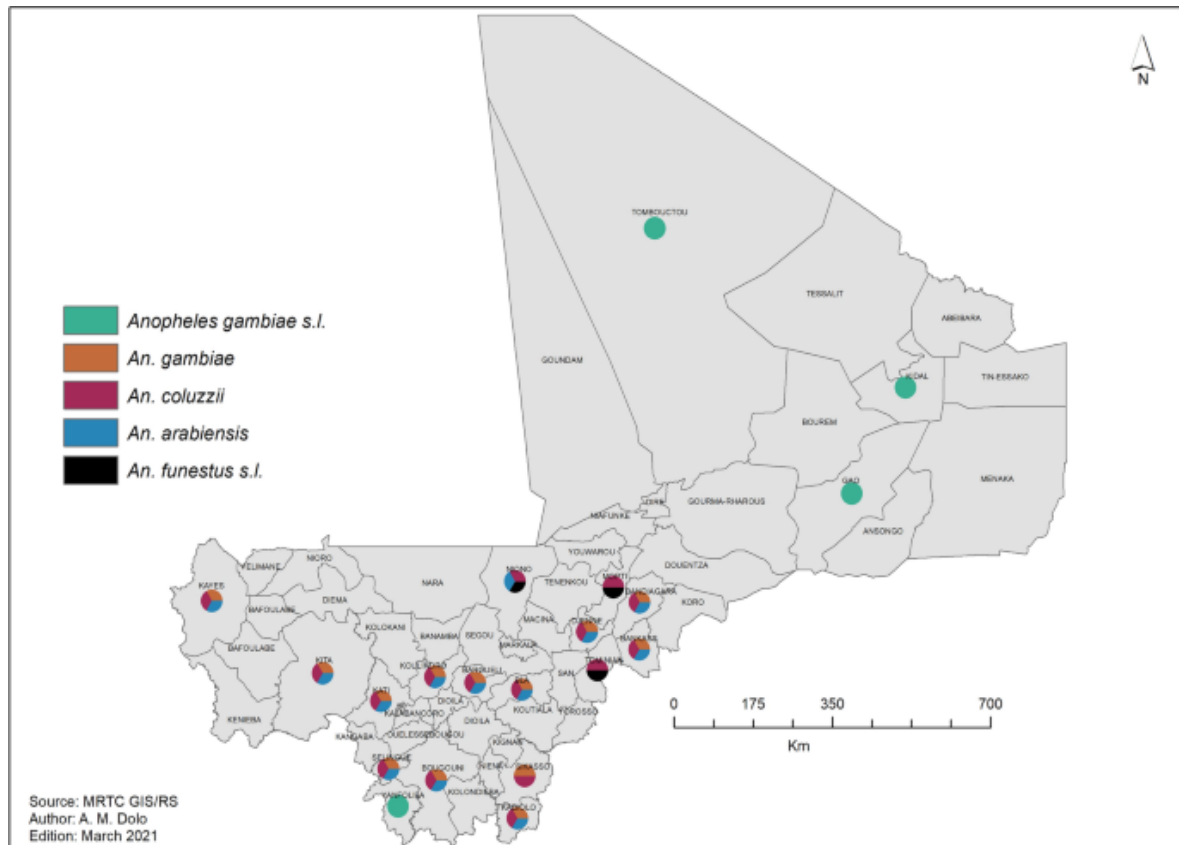


Figure 1 : Distribution des vecteurs du paludisme au Mali

Les schémas sectoriels montrent la présence de différentes espèces vectrices au Mali de 2010 à 2019 ; 2022(17)

3.2.2. Le parasite

Le paludisme est dû à un protozoaire appartenant à l'embranchement des Apicomplexa, à la classe des sporozoaires, à l'ordre des eucoccidies, à la famille des Plasmodiidae et au genre *Plasmodium*(46). Il existe de très nombreuses espèces de *Plasmodium* (plus de 140), touchant diverses espèces animales mais seulement six de ces espèces sont retrouvées aujourd'hui en pathologie humaine(47). Il s'agit de :

- *P. falciparum* : responsable de la fièvre tierce maligne, très fréquente en Afrique (98% des cas de paludisme en Afrique).
- P. vivax* : responsable de la fièvre tierce bénigne(48,49).
- P. ovale wallikeri* : responsable de la fièvre tierce bénigne(50).
- P. ovale curtisi* : responsable de la fièvre tierce bénigne(50).

–*P. malariae* : responsable de la fièvre quarte bénigne(51).

–*P. knwolesi* : responsable de la fièvre quarte(52).

Au Mali, les principales espèces rencontrées sont *P. falciparum* (plus de 85 % des parasites), *P. malariae* (10-15 %), *P. ovale* (1 %) et des cas de *P. vivax* ont été observés et documentés(53).

3.3. Cycle biologique du *Plasmodium*

Le cycle évolutif du *Plasmodium* se déroule chez deux hôtes :

- L'homme, hôte intermédiaire (vertébrés), où se déroule la multiplication asexuée ou schizogonie
- Le moustique *Anopheles*, l'hôte définitif, où a lieu la phase sexuée (figure 2)(54).

3.3.1. Cycle asexué chez l'homme (schizogonie)

3.3.1.1. Phase hépatique ou exo-érythrocytaire

Cette phase commence chez l'homme par l'inoculation des sporozoïtes contenus dans la glande salivaire de l'*Anopheles* femelle infestée lors du repas sanguin. La survie des sporozoïtes dépend de leur capacité à migrer sur des distances considérables et différents tissus de plusieurs micromètres en quelques minutes pour finalement atteindre une cellule hépatique parenchymateuse, la cellule cible appropriée où se transforme et se réplique le parasite(55). Une fois à destination, les sporozoïtes pénètrent l'hépatocyte par invagination et établissent la vacuole parasitophore. La vacuole parasitophore protège le parasite du cytosol de l'érythrocyte. Les sporozoïtes se transforment en trophozoïtes qui se divisent pour former des schizontes hépatiques. Après 12 jours environ, le schizonte éclate et libère des mérozoïtes qui migreront via la voie sanguine vers les hématies amorçant ainsi la phase érythrocytaire(56). Lors de l'infection par *P. ovale* et *P. vivax*, une partie des sporozoïtes hépatiques reste sous forme quiescente non nucléée dans les hépatocytes, appelées hypnozoïtes(57–59). Ces formes sont à l'origine des rechutes observées lors d'infections par ces deux espèces.

3.3.1.2. La phase érythrocytaire et réplication asexuée

Cette phase commence par l'invasion des érythrocytes par les mérozoïtes hépatiques libérés dans le sang. Après l'infestation de l'hématie, le parasite, entouré d'une vacuole parasitophore, se développe en anneau, puis en trophozoïte. A l'intérieur de l'hématie, le parasite se multiplie de façon asexuée conduisant à la formation de schizontes érythrocytaires(60).

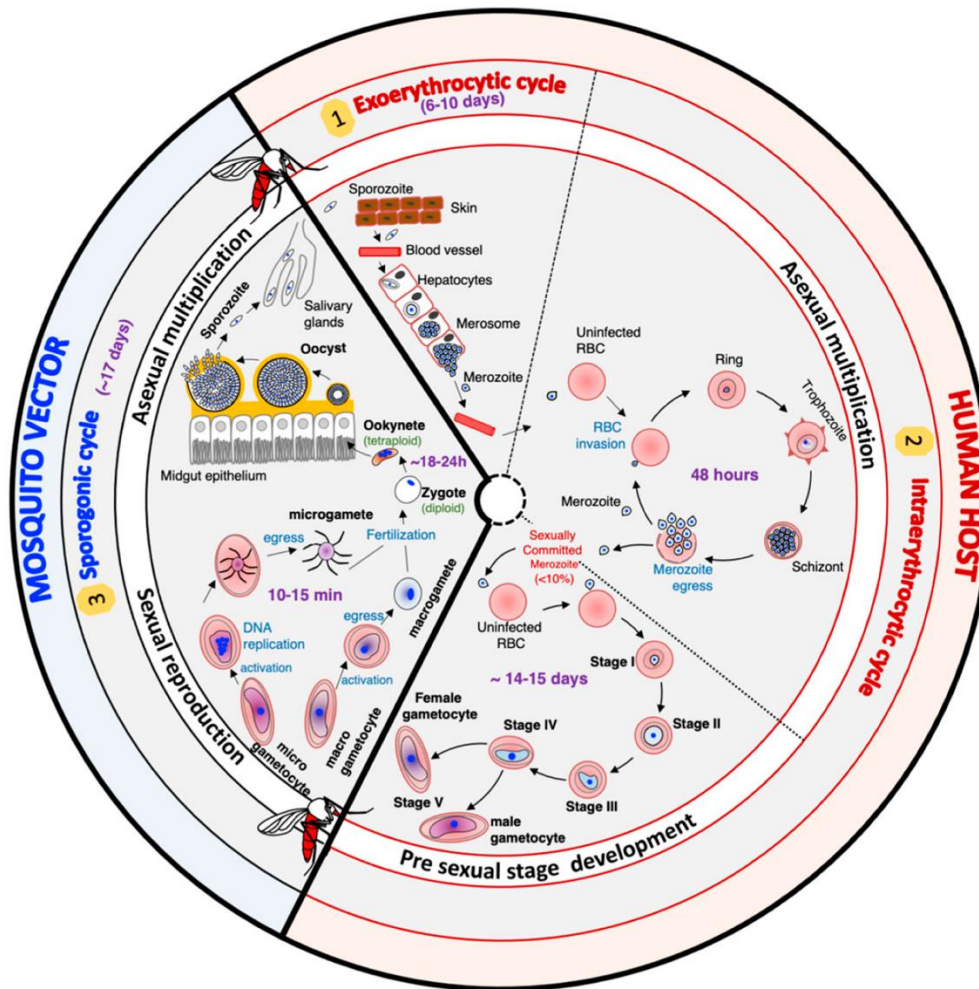


Figure 2 : Le cycle de vie de *P. falciparum*(61)

La rupture de la membrane de l'hématie par le schizonte mature (stade en rosette) libère 8 à 32 mérozoïtes dans le sang. Ces mérozoïtes infectent de nouvelles hématies (dans un délai de 15 à 30 mn) réalisant ainsi un nouveau cycle schizogonique érythrocytaire (qui dure 48 heures chez *P. falciparum*, *P. ovale* et *P. vivax*, et 72 heures chez *P. malariae*)(62). Les signes pathologiques de la maladie sont généralement détectés au cours de la schizogonie érythrocytaire : l'éclatement des globules rouges contenant les schizontes matures libère outre les mérozoïtes, de l'hémozoïne (pigment malarique provenant de la dégradation de l'hémoglobine) et des substances toxiques inductrices des accès fébriles caractéristiques de la maladie. Certains mérozoïtes se développent en trophozoïtes qui se différencient en gamétocytes mâles et femelles (formes sexuées du parasite) qui sont les seules formes infectieuses pour le moustique. Ces gamétocytes n'entraînent aucun symptôme et leur durée de vie dans la circulation sanguine est estimée à 3-4 semaines(63).

3.3.1.3. La phase érythrocytaire et la gamétocytogénèse

Les gamétocytes sont des stades observés dans la circulation sanguine chez l'homme. Les gamètes proprement dits sont observés chez le moustique et résultent de l'activation des gamétocytes ingérés lors du repas sanguin. La morphologie des gamétocytes varie selon les espèces de *Plasmodium*. Alors que les gamétocytes matures de *P. ovale*, *P. malariae*, *P. vivax* et *P. knowlesi* possèdent une forme ronde à ovale, *P. falciparum* adopte une forme de croissant ou de falciforme à maturité(64). Le nom *P. falciparum* fait référence à la forme en croissant ou falciforme des stades matures de ses gamétocytes(65). Au cours de son développement, le gamétocyte de *P. falciparum* passe par 5 stades morphologiquement distincts (I – V). Les premières observations sur la morphologie des gamétocytes de *P. falciparum* ont été faites dans les années 1950, et ont permis de définir les cinq stades de développement. Plus tard, en utilisant des approches de microscopie optique et électronique, les formes et les temps d'apparition des différents stades ont été déterminés. Des études ont montré que les stades I-IV sont séquestrés dans la moelle osseuse, tandis que les stades V circulent dans les vaisseaux sanguins périphériques. Le gamétocyte de stade I a une forme arrondie, semblable au jeune trophozoïte asexué. Au stade II tardif, le parasite commence à s'allonger en forme de D. Les gamétocytes de stade III adoptent une forme déformant légèrement le globule rouge en raison de l'allongement supplémentaire du parasite. Au stade IV, il est possible de distinguer les gamétocytes mâles et femelles. Les deux sexes ont un format mince et allongé avec des extrémités pointues. Dans les gamétocytes mâles, le pigment a tendance à être dispersé tandis que chez la femelle, il est plus dense. Le gamétocyte de stade V est le plus distinct de tous les stades en raison de la forme en croissant ou falciforme(66).

3.3.2. Cycle sexué chez le moustique (sporogonie)

Lors de son repas sanguin chez un sujet infecté, le moustique ingère les gamétocytes mâles et femelles du *Plasmodium* qui sont infectieux pour lui. Une fois dans le tube digestif du moustique, les gamétocytes se différencient rapidement en microgamètes mâles flagellés mobiles et macrogamètes femelles. La fertilisation de la macrogamète par un microgamète, pour donner un zygote, est réalisée dans les minutes suivant l'exflagellation. Ce zygote évolue en ookinète mobile qui traverse la paroi de l'estomac du moustique et forme sur sa face externe un oocyste(67). Ce dernier se développe en quelques jours et donne des nombreux sporozoïtes. Ces sporozoïtes migrent alors jusqu'à la cavité sécrétoire et, finalement, au conduit salivaire. Ils sont alors prêts à être injectés à l'homme lors d'un nouveau repas sanguin(68).

3.4. Physiopathologie du paludisme

3.4.1. Accès palustre non compliqué

La schizogonie intra-hépatique entraîne une destruction des cellules hépatiques(69). Cependant, cette destruction des cellules parenchymateuses du foie est cliniquement asymptomatique. On observe une prolifération des cellules de Küpffer responsables de la phagocytose des débris cellulaires et du pigment malarique. Ultérieurement le dépôt de ces débris entraîne une hépatomégalie(70). Lorsque la densité parasitaire atteint un certain seuil, les pigments malariques (hémozoïnes), libérés après la destruction des hématies par les trophozoïtes, agissent sur le centre bulbaire de la thermorégulation. La synchronisation progressive du cycle intraérythrocytaire entraîne la libération régulière et répétée des pigments malariques, d'où la périodicité de l'accès palustre. La splénomégalie survient à la suite d'une hyperactivité du système phagocytaire mononucléé chargés de débarrasser l'organisme des pigments malariques et des débris érythrocytaires.

3.4.2. Neuropaludisme

La séquestration des formes matures de *P. falciparum* au niveau du cerveau et d'autres organes tels que le cœur, la rate, les poumons, et le placenta, les reins explique en partie la gravité du paludisme(71). Cette séquestration se fait après interaction entre la protéine 1 de la membrane érythrocytaire appelée *PfEMP1* (*P. falciparum* Erythrocyte Membrane Protein 1) et les différents récepteurs présents à la surface de l'endothélium vasculaire(72). Ce phénomène est appelé cytoadhérence des globules rouges parasités. Cependant d'autres hypothèses ont été évoquées pour expliquer la physiopathologie du paludisme grave (73,74):

- Sécrétion de cytokines pro-inflammatoires : INF- γ et TN
- Augmentation de la perméabilité de la barrière méningée entraînant une fuite du liquide céphalorachidien et un œdème cérébral
- Coagulation intravasculaire disséminé
- Phénomène immuno-pathologique avec dépôt de complexes immuns

Quel que soit le mécanisme, le ralentissement du flux capillaire intracérébral provoque l'anoxie, voire tardivement une ischémie responsable d'une hémorragie périvasculaire et de lésion de la substance blanche qui ne sont pas sans séquelles.

3.5. Manifestations cliniques

Les manifestations cliniques du paludisme sont exclusivement liées à la schizogonie intraérythrocytaire (68). Les principaux signes, que sont la fièvre, l'anémie et le sub-ictère, sont dus à l'éclatement des hématies et des rosaces avec libération du pigment malarique (75,76). L'expression et la gravité de la maladie dépendent du parasite (espèce *Plasmodiale* et densité parasitaire) et de l'état de prémunition de l'individu. Selon le cas, il est possible de distinguer le paludisme de primo-invasion, l'accès de reviviscence, l'accès pernicieux ou neuropaludisme, le paludisme viscéral évolutif et la fièvre bilieuse hémoglobininurique.

3.5.1. Paludisme de primo-invasion

Il est caractérisé par une fièvre allant de 39°C à 40°C qui s'accompagne de myalgie et de céphalée brutale. Cette fièvre diminue d'intensité (frisson et sueur) après quelque temps. Ces signes sont souvent associés à de petits troubles digestifs de type « embarras gastrique » (nausée, vomissement et/ou diarrhée)(77). Les signes traduisant l'hémolyse apparaissent souvent de façon différée : pâleur, sub-ictère, hépato-splénomégalie.

3.5.2. Accès de reviviscence

On observe ce type d'accès palustre avec l'acquisition d'un certain degré d'immunité et il correspond aux crises schizogoniques, toutes les 48 heures (*P. falciparum*, *P. ovale*, *P. vivax*) ou toutes les 72 heures (*P. malariae*), caractérisées par : un grand frisson inaugural, une fièvre à 40°C durant quelques heures puis de sueurs profuses(78). La périodicité manque souvent en raison d'un polyparasitisme. Seule la fièvre tierce à *P. falciparum* est susceptible d'évoluer vers un paludisme cérébral.

3.5.3. Paludisme viscéral évolutif

Ce cas de paludisme est rencontré dans des zones d'endémie chez les sujets jeunes insuffisamment ou non prémunis et qui ont été soumis à une chimioprophylaxie incorrecte. La splénomégalie en est le signe majeur associée à une hépatomégalie. Les signes généraux (fièvre intermittente, asthénie, retard staturo-pondéral) et l'anémie (pâleur, ictère) sont très variables, allant d'une forme peu symptomatique à une forme qui pourrait se confondre avec une leucémie(79).

3.5.4. La fièvre bilieuse hémoglobininurique

En général elle survient chez des sujets en zone d'endémie avec des antécédents d'accès palustres et observant une prophylaxie et/ ou des traitements intermittents par des amino-alcools(80) . Plus récemment, la fièvre bilieuse hémoglobininurique a été rapportée après

l'administration de l'Halofantrine. Le début est brutal avec une hémolyse intra vasculaire chez le patient après un traitement aux sels de Quinine (81). Il y a la présence de douleur intense en barre au niveau de la ceinture pelvienne, une oligurie avec des urines particulièrement rouges et foncées. La parasitémie est faible et indétectable par les techniques classiques, goutte épaisse (GE) et frottis mince (FM). Cette forme nécessite une réanimation (82).

3.5.5. Le neuropaludisme et les autres formes graves et compliquées

C'est le paludisme des sujets non immun comme nourrisson, femme enceinte, enfant et migrants venant d'une zone non impaludée. Ces formes sont propres au *P. falciparum* et sans traitement ils peuvent conduire à la mort au bout de 72 heures (71). L'OMS a établi des critères afin de poser le diagnostic du paludisme grave et compliqué permettant ainsi une meilleure prise en charge(83). Il s'agit de la présence des formes asexuées de *P. falciparum* dans le sang, associée à l'un des signes suivants :

- Neuropaludisme
- Troubles de la conscience
- Convulsions répétées
- Prostration : extrême faiblesse (incapacité de se tenir droit)
- Vomissements itératifs
- Syndrome de détresse respiratoire
- Ictère clinique
- Acidose métabolique : bicarbonates plasmatiques $< 5\text{g/dl}$, hémocrite (Ht) $< 2,2\text{ mmol/L}$
- Hémoglobininurie macroscopique
- Insuffisance rénale : diurèse $< 400\text{ ml/ 24h}$ ou créatinémie $> 265\mu\text{M}$ chez l'adulte ; diurèse $< 12\text{ ml/ kg/ 24h}$ ou créatinémie élevée pour l'âge chez l'enfant
- Collapsus circulatoire : Tension Artérielle Systolique $< 50\text{ mmHg}$ avant 5 ans, TAS $< 80\text{ mmHg}$ après 5 ans
- Hémorragie anormale
- Œdème pulmonaire (radiologique).

3.6. Diagnostic biologique

Après un diagnostic clinique, le diagnostic biologique est indispensable dans la confirmation d'un cas de paludisme car il permet de réduire l'utilisation d'antipaludiques dans le traitement

injustifié pour des fièvres non palustres(12). En effet la recherche d'un diagnostic précoce et d'un traitement efficace sont des actions mises en œuvre par des programmes de lutte contre le paludisme. Ce diagnostic du paludisme comprend les techniques de diagnostic indirect et direct(84).

3.6.1. Diagnostic biologique indirect

Le principe est basé sur la recherche d'anticorps dans le sérum du malade. Les techniques sont indicatives d'une infection antérieure (persistance des anticorps même après l'infection) et présente(85). Ces techniques incluent : les tests de diagnostic rapide (tests immuno-chromatographiques), l'immunofluorescence indirecte, l'hémagglutination passive et le test Elisa(86).

3.6.2. Diagnostic biologique direct

C'est un diagnostic d'urgence qui repose sur la mise en évidence des formes érythrocytaires de Plasmodium sur un prélèvement de sang périphérique. Le résultat doit être obtenu dans un délai maximal de 2 heures avec un contact direct entre le médecin prescripteur et le biologiste(87).

3.6.2.1. Le prélèvement

Le plus simple est de recueillir, sur une lame porte-objet de microscope, une ou deux gouttes de sang par piqûre au doigt (face latérale de l'annulaire), au lobe de l'oreille ou au talon (chez l'enfant) et de confectionner immédiatement les étalements (frottis minces et/ou goutte épaisse)(88).

3.6.2.2. Techniques de référence

➤ Goutte épaisse

Cette technique très ancienne réalise une micro-concentration, et reste la méthode de référence. Elle consiste à examiner environ 10 µl de sang après hémolyse des globules rouges et coloration selon la méthode de Giemsa. C'est une excellente technique mais de réalisation un peu délicate et qui nécessite une bonne expérience pour la lecture. Le diagnostic d'espèce n'est pas toujours possible. Le nombre de parasites pour 200 leucocytes doit être compté la formule utiliser est (Nombre de parasites comptés x 8000 leucocytes/µl et le tout divisé par le nombre de leucocytes comptés)(84).

$$\text{Nombre de trophozoïte}(\mu\text{l}) = \frac{\text{Nombre de trophozoïte comptés} \times 8000}{\text{Nombre leucocytes comptés}}$$

➤ Frottis mince

La lame est colorée selon la méthode de May-Grünwald-Giemsa ou par du Giemsa après fixation à l'alcool. Les parasites, colorés en rouge (noyau) et bleu (cytoplasme) sont retrouvés à l'intérieur des globules rouges (pas d'hémolyse dans cette technique). Le diagnostic positif et le diagnostic d'espèce s'en trouvent facilités. C'est une technique qui permet l'étude morphologique des hématozoaires. Le diagnostic différentiel entre les espèces plasmodiales reste toujours un défi même pour un lecteur qualifié. La sensibilité du frottis mince est entre 100-200 hématies parasitées/ μl ; 50 parasites par μl (84).

3.6.2.3. Autres techniques

Pour tenter de simplifier et d'améliorer le diagnostic biologique du paludisme, d'autres techniques ont été développées dont les tests rapides par immunochromatographie sur bandelette, le quantitative Buffy Coat (QBC) et les techniques moléculaires(89).

➤ Tests de diagnostic rapide immunochromatographiques

Le principe de ces tests est la détection de protéines spécifiques de *Plasmodium* (antigènes HRP-2 ou enzymes pLDH, aldolase), en chromatographie sur un support solide. Certains de ces tests permettent maintenant d'affirmer un diagnostic positif (présence de *Plasmodium*) et d'orienter le diagnostic d'espèce : *P. falciparum* et/ou autre espèce. Ces tests rapides, très simples d'utilisation et conditionnés en emballages unitaires, sont très pratiques et ont une bonne sensibilité (surtout pour *P. falciparum* s'ils détectent l'antigène HRP-2) mais ne permettent pas de mesurer la parasitémie et restent positifs, pour certains, plusieurs jours après la disparition des Plasmodies du sang. L'utilisation de ces tests rapides dans les algorithmes de prise en charge du paludisme est recommandée lorsque l'examen microscopique n'est pas possible(90).

➤ QBC Malaria® (Quantitative Buffy Coat)

Il s'agit d'une technique basée sur une centrifugation en tube capillaire et un marquage non spécifique des parasites par un fluorochrome (acridine orange). Il s'agit d'une technique de concentration, très facile à maîtriser, donnant une sensibilité équivalente à celle de la goutte

épaisse (mais ne permettant pas un diagnostic d'espèce). En revanche elle nécessite un matériel spécifique. Sa commercialisation a été arrêtée(91).

➤ Place de la biologie moléculaire (PCR)

Des techniques de biologie moléculaire ont été développées pour le diagnostic du paludisme. La PCR est une technique de biologie moléculaire permettant d'obtenir *in-vitro* un grand nombre de segments d'ADN identiques, à partir d'une séquence initiale(92). Il s'agit d'amplifier un fragment d'ADN extrait à partir du sang ou tout autre prélèvement biologique infecté par le parasite en utilisant des amorces spécifiques. La détection de l'ADN parasitaire par la technique de PCR est l'une des approches les plus sensibles pour diagnostiquer le paludisme, en plus de la PCR conventionnelle et la PCR quantitative à temps réel (qPCR), la technique LAMP (Loop-mediated isothermal amplification) permet d'établir le diagnostic du paludisme de façon précise, mais le coût élevé limite leur utilisation(58). La PCR demande une longue procédure, des équipements et des réactifs spécialisés et coûteux(93).

3.7. Culture de *Plasmodium*

La culture cellulaire est une technique de laboratoire permettant de faire vivre *in-vitro* des cellules, d'en modifier les propriétés ou d'augmenter leur nombre, afin d'en disposer en grande quantité pour ce qu'on veut en faire. Il s'agit d'obtenir un type de cellule vivante, de trouver un moyen de le faire survivre dans les conditions artificielles du laboratoire, au mieux de la faire proliférer, tout en maintenant des conditions de stress acceptables. C'est de maintenir les globules rouge parasités et non parasités dans un milieu propice à la croissance et à la multiplication du parasite(94). La culture continue de *P. falciparum* est souvent considérée comme un moyen de parvenir à une fin, cette fin étant de sonder la biologie du parasite en question, et finalement la découverte de médicaments contre le paludisme(95). La culture est une exigence fondamentale pour la recherche sur le paludisme lorsque les objectifs principaux utilisent des parasites à des stades viables du cycle de vie. Six espèces de parasites du paludisme : *P. falciparum*, *P. knowlesi*, *P. vivax*, *P. ovale curtisi* et *P. ovale wallikeri*, et *P. malariae* peuvent infecter les humains, cependant *P. falciparum* est la seule espèce pour laquelle la culture de tous les stades du cycle de vie, ont été établies pour permettre tous les aspects de la recherche tels que le dépistage des médicaments(96). Les efforts de culture *in-vitro* de *Plasmodium* sont compliqués car chaque espèce a son propre cycle de vie et son propre ensemble de paramètres physiologiques, métaboliques et nutritionnels(97). Comme alternative à la culture *in-vitro* continue, une culture *ex-vivo* soutenant des recherches importantes telles

que les tests de sensibilité aux médicaments, a également été développée. Les cultures *ex-vivo* sont développées en utilisant des isolats de *Plasmodium* fraîchement récoltés sur le terrain ou cryopréservés, qui subissent des modifications dans certain cas une fois en culture et compliquent ainsi la poursuite de recherches précises sur cette espèce cultivée *ex-vivo*. Ainsi, il devient difficile d'étudier un stade spécifique, si les parasites cultivés *ex-vivo* ne se développent pas correctement. Des tentatives inlassables ont toutefois permis de mettre au point des méthodes de culture *ex-vivo* améliorées pour la deuxième espèce la plus répandue, *P. vivax*. Elle était un grand problème car cette espèce n'infecte que les globule rouge jeune(98). Cette culture *ex-vivo* fournit actuellement des données utiles sur *P. vivax*, telles que sa sensibilité aux médicaments antipaludiques, sa pathobiologie et ses mécanismes d'invasion(97). Alors que les combinaisons thérapeutiques à base d'Artémisinine ont permis de réduire de manière significative la transmission, la morbidité et la mortalité de *P. falciparum*, la prolifération et transmission persistante de *P. malariae* sont largement signalées(99). *P. malariae* est très répandu dans les régions où le paludisme est endémique, comme l'Amazonie(100) et l'Afrique subsaharienne(101). *P. malariae* peut provoquer une infection chronique potentiellement mortelle, une anémie grave comme décrite chez *falciparum* qui est le plus mortel, avec un impact socio-économique négatif important(102). En 2021, L. Dembélé et ses collaborateurs ont mis au point une méthode de culture pour contribuer au dépistage de nouveaux médicaments antipaludiques contre *P. malariae* et permettre d'étudier et de comprendre sa biologie, comme son mécanisme d'invasion et ses marqueurs de résistance aux médicaments(103).

3.8. Analyse des isobogrammes

L'analyse des isobogrammes aussi connue sous le nom de méthode des contours est une méthode classique utilisée dans des essais de la détermination des interactions médicamenteuses. En 1953 Loewe propose l'analyse issue des isobogrammes, (Gessner et al., 1970) sur la combinaison d'éthanol et d'hydrate de choral à cette époque leurs résultats n'ont pas attiré l'attention avant l'année 1992. L'application du modèle d'additivité de Loewe en 1992 à l'ajustement de la dose qui produit 50 % de l'effet maximal du médicament (ED_{50}), de leurs intervalles de confiance 95% et de leurs variances par les chercheurs (Fei et Jisheng 1998) et à la méthode d'analyse graphique des contours la plus utilisée aujourd'hui a montré que cette méthode est désormais largement utilisée dans les expériences pharmacologiques et les pratique clinique(104).

➤ Principe d'analyse des isobogrammes

Le principe de cette méthode est de satisfaire la relation dose-effet(105), et la valeur ED_{50} est généralement calculée à l'aide des méthodes de Dixon-Mood (Yingxiu et al., 2014 ; Wenkai et al., 2016) et de probit (Xuejun et al., 2016 ; Hongxin et al., 2017 ; Hongwei et al., 2018)(106).

❖ Cytométrie en flux

La cytométrie en flux est une technologie qui permet de mesurer simultanément puis d'analyser de multiples caractéristiques physiques de particules uniques, généralement des cellules, lorsqu'elles s'écoulent dans un flux de fluide à travers un faisceau de lumière(107).

➤ Principe et Fonctionnement

Les cytomètres en flux utilisent des lasers comme sources de lumière pour produire des signaux lumineux diffusés et fluorescents qui sont lus par des détecteurs tels que des photodiodes ou des tubes photomultiplicateurs(108). Il est composé de trois systèmes principaux : fluidique, optique et électronique(109).

- Le système fluidique transporte les particules dans un flux vers le faisceau laser pour l'interrogation.
- Le système optique se compose de lasers pour éclairer les particules dans le flux d'échantillons et de filtres optiques pour diriger les signaux lumineux résultants vers le système d'analyse et de filtres optiques pour diriger les signaux lumineux résultants vers les détecteurs appropriés.
- Le système électronique convertit les signaux lumineux détectés en signaux électroniques qui peuvent être traités par l'ordinateur.

Pour certains instruments équipés d'une fonction triage, le système électronique est également capable d'initier des décisions de triage pour charger et dévier les particules.

Dans le cytomètre en flux, les particules sont transportées vers l'interception du laser dans un flux de fluide. Toute particule ou cellule en suspension d'une taille comprise entre 0,2 et 150 micromètres peut être analysée(110).

Les cellules provenant de tissus solides doivent être désagrégées avant l'analyse. La partie du flux de fluide où se trouvent les particules s'appelle le noyau de l'échantillon. Lorsque les particules passent à travers l'intercepteur laser, elles diffusent la lumière laser. Toute molécule fluorescente présente sur la particule deviennent fluorescents. La lumière diffusée et fluorescente est collectée par des lentilles positionnées de manière appropriée. Une

combinaison de séparateurs de faisceaux et de filtres dirige la lumière diffusée et fluorescente vers les détecteurs appropriés(111). Les détecteurs produisent des signaux électroniques proportionnels aux signaux optiques qui les frappent. Des données en mode liste sont collectées pour chaque particule ou événement. Les caractéristiques ou paramètres de chaque événement sont basés sur ses propriétés de diffusion. Les données sont collectées et stockées dans l'ordinateur.

➤ Application

La cytométrie en flux est un outil puissant qui a des applications dans de multiples disciplines telles que :

- Immunologie,
- Biologie moléculaire,
- Virologie,
- Surveillance des maladies infectieuses,
- Biologie du cancer,
- Tri des cellules(112)...

➤ Interprétation d'un résultat de cytométrie en flux, analyse des cellules en fonction de différents paramètres :

Ces paramètres peuvent être soit la taille, granulosité, des couleurs.

❖ **Taille → FSC (Forward Scatter) :** C'est le signal de diffusion vers l'avant ($0-10^\circ$), plus la cellule est grande, plus le signal FSC est élevé.

FSC bas → Globules rouges non infectés ou infectés très précocement.

FSC modérément élevé → Globules rouges infectés stade trophozoïte.

FSC plus élevé → Globules rouges infectés stade schizonte (plus volumineux et complexes)

❖ **Granulosité / complexité interne → SSC (Side Scatter) :** C'est le signal de diffusion latérale (90°), reflète la complexité interne de la cellule (contenu granulaire, noyau plissé, organites intracellulaires) et plus la cellule est granuleuse ou riche en structures internes, plus le signal SSC est élevé.

FL1-H représente le SYBR green et qui mesure la quantité d'ADN parasitaire permettant de voir que les globules rouges parasités (croissance). La granulosité de tous les globules rouges parasités et non parasité est visualisé par FSC-H. La viabilité du parasite est mesurée à la FL4-H (représente le Mitotracker) en utilisant un marquage des mitochondries avec un Mitotracker rouge vif. Ainsi les deux fenêtres (F1, F2) contiennent des globules rouges parasités (GRP) et non parasités alors que les deux fenêtres (F3, F4) ne contiennent que globules rouges non parasités et peuvent représenter le control négatif de l'invasion, infection et développent parasitaire.

❖ NONMEM

Le logiciel NONMEM (*NONlinear Mixed Effects Modeling*), développé initialement par Sheiner et Beal dans les années 1970, est aujourd'hui un outil de référence pour l'analyse de données pharmacocinétiques et pharmacodynamiques(113,114). Il permet de modéliser des données longitudinales en tenant compte à la fois du comportement moyen d'une population (effets fixes) et de la variabilité individuelle (effets aléatoires)(115,116). Cet outil est largement utilisé dans la recherche biomédicale et dans le domaine du développement de nouveaux médicaments(117).

3.9. Stratégies de lutte contre le paludisme

3.9.1. La prise en charge médicamenteuse du paludisme

3.9.1.1. Cas de paludisme non compliqué

Les cas de paludisme sont pris en charge au niveau des structures sanitaires conformément aux recommandations en vigueur. L'Organisation mondiale de la Santé (OMS) recommande l'utilisation des Combinaisons Thérapeutiques à base d'Artémisinine (CTA) pour le traitement du paludisme non compliqué, chaque fois que l'administration par voie orale est possible. Par ailleurs, l'OMS préconise de confirmer le diagnostic clinique du paludisme par un examen biologique, notamment par microscopie ou par test de diagnostic rapide (TDR), lorsque les capacités techniques le permettent, avant l'instauration du traitement(118).

3.9.1.2. Cas de paludisme compliqué

L'Organisation mondiale de la Santé (OMS) recommande l'administration d'artésunate par voie intraveineuse comme traitement de première intention des cas de paludisme grave (compliqué)(118). En cas d'indisponibilité de l'artésunate, l'utilisation de l'artéméter par voie intramusculaire est recommandée, de préférence à la quinine.

3.9.2. Prise en charge médicamenteuse du paludisme selon le Programme National de Lutte contre le Paludisme (PNLP) au Mali

Le paludisme simple, ou non compliqué, se définit par l'apparition de fièvre ou de symptômes compatibles avec le paludisme, sans signes de gravité ni atteinte d'organe vital. Le diagnostic doit être confirmé par un test de diagnostic rapide (TDR) ou un frottis sanguin. La prise en charge repose sur l'administration d'une thérapie combinée à base d'artémisinine (ACT), telle que l'Artésunate-Amodiaquine (ASAQ), l'Artéméther-Luméfantrine (AL), Artésunate-Méfloquine (ASMQ), Artésunate-Pyronaridine (ASPY), Artésunate-Sulfadoxine-Pyriméthamine (ASSP), Dihydroartémisinine-Pipéraquine (DHAP) sur une durée de trois jours(119). Les soins complémentaires incluent le traitement symptomatique de la fièvre par du paracétamol (l'aspirine étant à éviter chez l'enfant), le maintien de l'hydratation et de la nutrition, ainsi que la surveillance attentive des signes de gravité tels que vomissements persistants, convulsions, asthénie ou jaunisse, avec orientation immédiate vers un centre de soins si ces signes apparaissent.

Le paludisme grave, ou sévère, ou compliqué se caractérise par une infection à *Plasmodium falciparum* accompagnée de signes de gravité, tels que le coma, des convulsions répétées, une anémie sévère ($Hb < 5 \text{ g/dL}$), une hypoglycémie, une insuffisance rénale ou hépatique, ou une détresse respiratoire. Sa prise en charge nécessite une hospitalisation obligatoire. Le traitement recommandé consiste en l'administration d'artésunate par voie intraveineuse ou intramusculaire pendant au moins vingt-quatre heures, suivi d'un relais par ACT oral dès que l'état du patient s'améliore et qu'il peut avaler. En l'absence d'artésunate, la quinine intraveineuse peut être utilisée, avec une surveillance rapprochée de la glycémie et de la fonction cardiaque. Les soins de support comprennent la correction des hypoglycémies et des désordres électrolytiques, la transfusion sanguine en cas d'anémie sévère, ainsi que la gestion des convulsions et des complications respiratoires. Une surveillance constante de l'état général et des signes vitaux est indispensable jusqu'à stabilisation du patient(119).

Le gouvernement du Mali s'est engagé à assurer gratuitement le traitement de l'accès palustre chez les enfants de moins de 5 ans et les femmes enceintes tout en fournissant les formations sanitaires en TDR (Test de Diagnostic Rapide) et en CTA(91).

3.9.3. Les mesures préventives

Le traitement préventif intermittent (TPI), la chimio prévention du paludisme saisonnier (CPS) et la lutte anti-vectorielle (LAV) constituent les mesures de prévention du paludisme au Mali(120).

3.9.3.1. La prévention du paludisme pendant la grossesse

Le traitement préventif intermittent (TPI) avec la Sulfadoxine-Pyriméthamine est recommandé pour prévenir le paludisme pendant la grossesse. Ce traitement est administré gratuitement à raison d'une cure supervisée par mois entre le 4ème et le 8ème mois de la grossesse. Chaque cure est composée d'une prise unique de 3 comprimés de Sulfadoxine (500mg) et Pyriméthamine (25mg) chacun(121).

3.9.3.2. La chimio prévention du paludisme saisonnier

La CPS est une nouvelle stratégie pour le contrôle du paludisme chez les enfants impliquant l'administration mensuelle de Sulfadoxine-Pyriméthamine + Amodiaquine (SPAQ) pour la prévention du paludisme(122). Elle est plus adaptée à des zones où le paludisme est saisonnier avec une transmission intense pendant trois ou quatre mois de l'année. Cette CPS concerne les pays (en majorité Africains) qui répondent à ces critères et pour lesquels la SP et l'AQ conservent leur efficacité contre *P. falciparum*. SP+AQ a ainsi une chimioprophylaxie d'environ quatre semaines, la protection diminue ensuite rapidement nécessitant un renouvellement du traitement chaque mois(118).

3.9.3.3. La lutte antivectorielle

Le Mali a adopté les méthodes de lutte antivectorielle pouvant être utilisées au niveau individuel et communautaire pour protéger contre les piqures de moustiques(123).

Il s'agit de :

- La promotion des moustiquaires imprégnées d'insecticide
- Le traitement ciblé des gîtes larvaires
- La pulvérisation intra-domiciliaire
- La promotion de l'hygiène et de l'assainissement.

3.9.3.4. Vaccin

Un vaccin efficace contre le paludisme serait le meilleur outil pour pallier les phénomènes de résistance contre les médicaments et surtout d'éradiquer le paludisme. De nombreux candidats

vaccins sont à l'étude(124). Malgré la réalisation de plusieurs essais vaccinaux, aucun vaccin d'excellents résultats de protection n'a été mis sur le marché. En revanche, on compte un candidat vaccin en phase III des essais cliniques depuis 2012, il est actif sur les formes pré-érythrocytaires(125). Le développement d'un vaccin contre le paludisme est entravé par des difficultés telles que la complexité du parasite et de son cycle de vie, une très grande variation antigénique et une compréhension limitée des interactions entre *P. falciparum* et le système immunitaire de l'hôte humain. Dans l'infection par *P. falciparum*, le développement d'un vaccin est possible parce que l'infection induit une immunité clinique. Dans les zones hyper-endémiques à *P. falciparum*, l'immunité contre le paludisme sévère est acquise dès la petite enfance, alors que l'immunité contre une maladie bénigne n'est pas acquise avant la fin de l'adolescence(90). Différents vaccins contre le paludisme sont testés chez l'Homme(127). Ainsi, quatre catégories de vaccins sont en phase d'essai contre le paludisme : des vaccins anti-stade pré-érythrocytaire, des vaccins anti-stade érythrocytaire, des vaccins bloquant la transmission, des vaccins bloquant la cytoadhérence des hématies parasitées(128). Après des décennies de recherche, un vaccin contre le paludisme (RTS, S/AS01) a reçu un avis positif de l'agence européenne des médicaments en vertu de l'article 58 en 2015 et plus récemment, le vaccin R21/Matrix-M a également été approuvé pour une utilisation contre le paludisme (75,128–132).

3.10. Les antipaludiques

La classification pharmacologique des antipaludiques se fait selon le stade du parasite sur lequel ils agissent(133). On distingue principalement :

❖ Les schizonticides sanguins

Ils agissent sur les formes asexuées sanguines responsables des symptômes cliniques du paludisme. Ils sont utilisés pour le traitement curatif mais n'empêchent pas toujours la transmission.(134). Les schizonticides comprennent les amino-4 quinoléines (ex. Chloroquine, Amodiaquine), les amino-alcools (ex. Quinine, Méfloquine, Luméfantrine), les antifoliniques (Proguanil et Pyriméthamine) et les antifoliques (Sulfadoxine, dapsone), la Pyronaridine et les sesquiterpènes lactones (Artémisinine et dérivés)(135).

❖ Les gamétocytocides

Ils n'ont pas d'action forte sur les schizontes mais ont un intérêt sur le plan collectif car ils peuvent empêcher la transmission. Ils comprennent les amino-8 quinoléines (ex. Primaquine, Tafénoquine)(136,137).

❖ Les antibiotiques à activité antipaludique

Certains antibiotiques ont une activité antipaludique modérée et sont utilisés en association pour améliorer l'efficacité du traitement. La famille des tétracyclines (Doxycycline) ou des macrolides (Erythromycine) utilisés en association avec les schizonticides (en général la Quinine) permettent de renforcer l'activité antipaludique(138,139) et les lincosamides (Clindamycine).

3.11. Nouvelles molécules antipaludiques

Bien que des combinaisons de médicaments à base d'Artémisinine soient disponibles pour traiter le paludisme, les cas d'échecs des traitements rapportés en Asie du Sud-Est soulèvent des inquiétudes quant à la propagation de la résistance aux CTA en Afrique. Au Rwanda, dans une étude publiée en août 2020 dans le journal Nature Médecine il est rapporté les premiers cas de résistance de *P. falciparum* à l'Artémisinine(19). Heureusement, il y a de l'espoir à l'horizon car plusieurs nouveaux candidats médicaments antipaludiques sont en cours d'essais cliniques ainsi que d'autres cibles médicamenteuses prometteuses sont en cours d'étude.

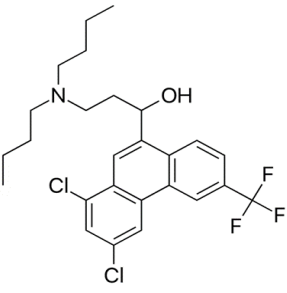
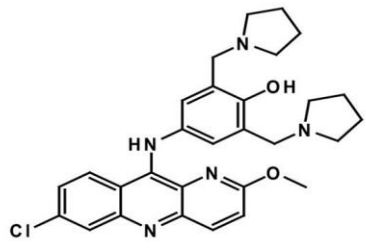
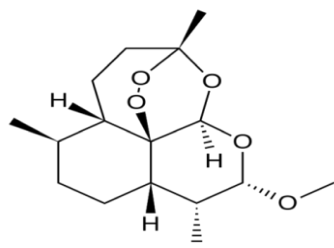
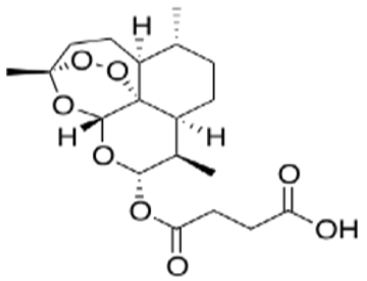
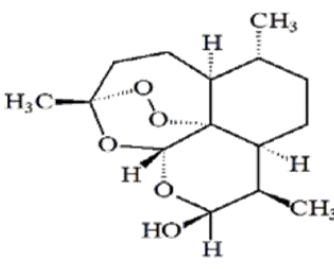
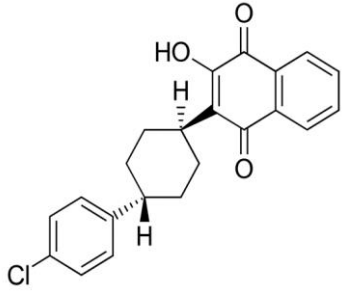
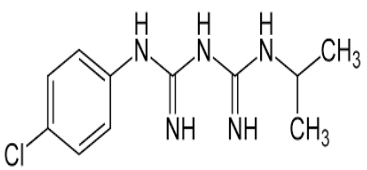
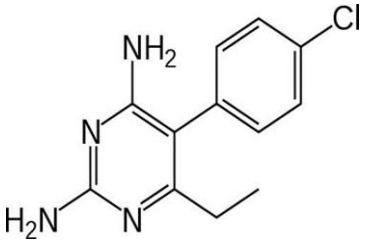
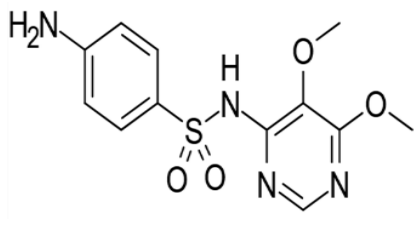
Tableau I : le résumé des médicaments antipaludiques courants

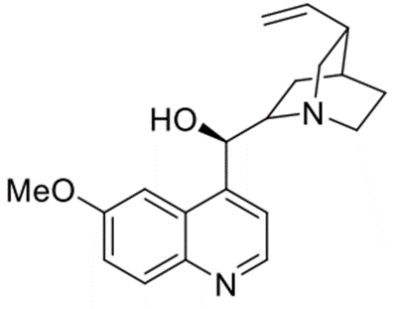
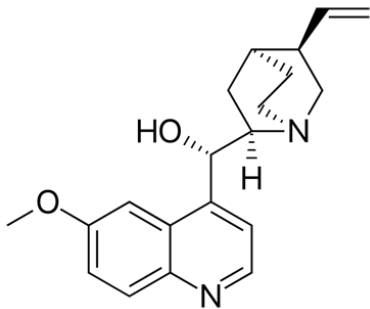
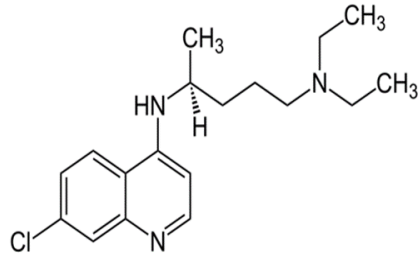
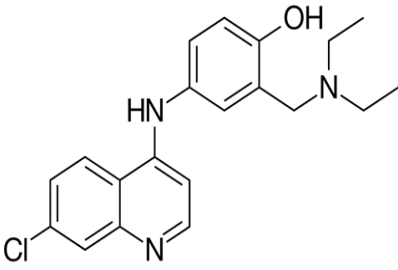
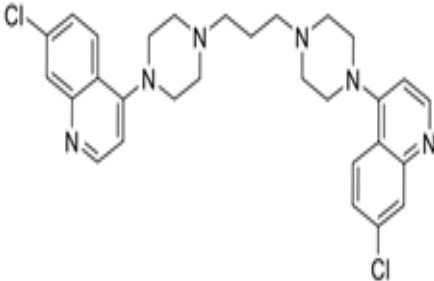
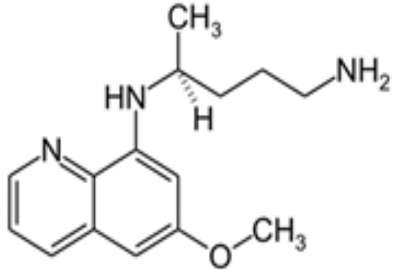
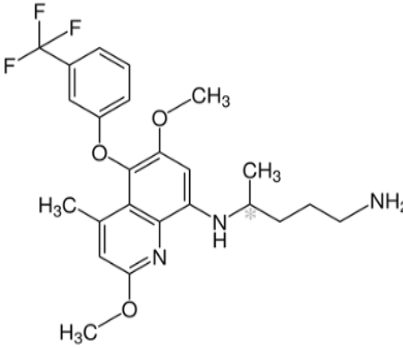
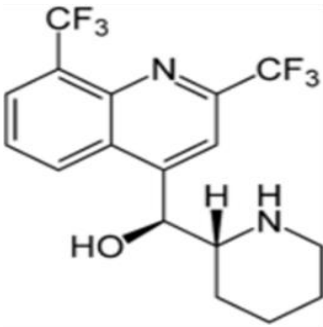
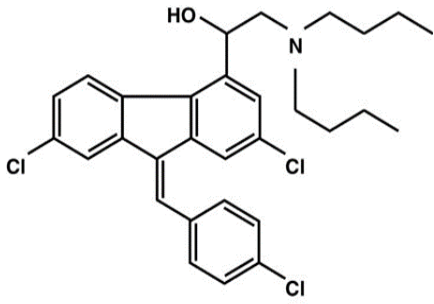
Classe	Catégorie	Médicament (année de développement)	Utilisation thérapeutique	Effets secondaires	Mécanisme d'action	Réf
Dérivés de la quinoléine	Alcaloïdes de quinquina	Quinine et Quinidine (1820)	Traitement de <i>P. falciparum</i> et du paludisme grave	Hypoglycémie Cinchonisme (acouphènes, surdité, troubles visuels, céphalées, dysphorie, nausées, vomissements), hypotension	Le mécanisme d'action de ces antipaludiques en grande majorité n'est clairement élucidé. Mécanisme de détoxification de l'hème du parasite bloque et le cycle au niveau des mérozoïtes. Inhibition des transporteurs exocytose et la dégradation de l'hémoglobine à partir des vacuoles digestives du parasite.	(140)
	4-aminoquinolines	Chloroquine (1940)	Pour les cas de paludisme non <i>falciparum</i>	S'accumulent dans la rétine et tissus riches en mélanine		(141)
		Amodiaquine (1948)	Médicament partenaire des CTA	Hépatotoxicité, myélotoxicité, agranulocytose		(142)
		Piperaquine (1960)	Médicament partenaire des CTA (Dihydroartémisinine + Piperaquine)	Céphalées légères, vertiges, nausées, douleurs abdominales, vomissements		(143)
	8-Aminoquinolines	Primaquine (1950)	Guérison radicale et prophylaxie De <i>P. vivax</i> et <i>P. ovale</i> ; gamétocytocide pour <i>P. falciparum</i>	Anémie hémolytique en cas de déficit en G6PD		(144)
		Tafenoquine (1978)	Guérison radicale et prophylaxie de <i>P. vivax</i> et <i>P. ovale</i> ; Gamétocytocide pour <i>P. falciparum</i>			
	Quinoléine- méthanol	Méfloquine (1970)	Prophylaxie et médicament partenaire des CTA pour traiter <i>P. falciparum</i>	Dépression, troubles psychotiques, cauchemars		(142)
	Aryl-amino-alcool	Luméfantrine (1976)	Utilisée en combinaison avec l'artéméther dans les CTA	Céphalées, anorexie, vertiges, asthénie (en association avec l'artéméther)	Inhibition de la biocristallisation de l'hème (formation de l'hémozoïne) dans la vacuole digestive de <i>P. falciparum</i>	(145)
		Halofantrine (1980)	Traitement du paludisme à <i>P. falciparum</i>	Toxicité cardiaque		
	Dérivés de la benzonaphthyridine	Pyronaridine (1970)	Combinaison avec l'artésunate dans les CTA	Douleurs abdominales, vomissements, céphalées, vertiges, perte d'appétit, palpitations, modifications transitoires de l'ECG	Inhibition de la formation de l'hémozoïne et inhibition de la topoisomérase II de l'ADN parasitaire	(146)

EVALUATION DE L'ACTIVITE IN-VITRO DE LA COMBINAISON GANAPLACIDE-CABAMIQUINE SUR DES SOUCHES RESISTANTES ET SAUVAGES DE PLASMODIUM FALCIPARUM AU GANAPLACIDE

Artémisinines	Sesquiterpènes lactones endoperoxydes	Artéméther	Utilisé en combinaison thérapeutique à base d'artémisinine (CTA)	Excellent profil de sécurité ; peut provoquer des nausées, vomissements, douleurs abdominales, prurit et fièvre	Le pont endoperoxyde intramoléculaire, en présence du fer ferreux (Fe^{2+}) de l'hème, génère des radicaux libres toxiques qui détruisent le parasite	(147)
		Artésunate	CTA ; traitement du paludisme grave			
		Dihydroartémisinine	Traitement du paludisme à <i>P. falciparum</i> , y compris les formes résistantes à la chloroquine			
Naphtoquinones	Hydroxynaph-toquinone	Atovaquone (1991)	Combinée au Proguanil pour traiter <i>P. falciparum</i>	Diarrhée, vomissements, céphalées, éruptions cutanées, fièvre	Inhibition du transport des électrons au niveau du complexe cytochrome bc1 mitochondrial, entraînant une inhibition de la synthèse d'ATP	(148)
Anti-folates	Diaminopyrimidine	Pyriméthamine (1950)	Utilisé uniquement en combinaison avec un sulfamide ou la dapsone pour le traitement du <i>P. falciparum</i>	Nausées, éruptions cutanées, anémie mégaloblastique, granulocytopénie	Inhibition de la dihydrofolate réductase (DHFR) et de la dihydropteroate synthase (DHPS) bloquant la synthèse de l'ADN parasite	(149)
	Sulfonamides	Sulfadoxine (1960)	Traitement du paludisme non compliqué à <i>P. falciparum</i> (en association)	Dermatite exfoliative, syndrome de Stevens-Johnson		
	Biguanides	Proguanil (Chloroguanide) (1945)	Traitement des parasites résistants à la chloroquine ; associer avec de l'artésunate comme CTA	Alopécie, ulcérations buccales, nausées, irritation gastrique	Inhibiteur d'acide dihydrofolique en acide tétrahydrofolique en se liant à la dihydrofolate réductase (DHFR) après transformation en cycloguanil.	
Antibiotiques	Tétracyclines	Doxycycline et Tétracycline	Associées à la quinine pour traiter <i>P. falciparum</i> en cas de résistance	Toxicité cutanée, troubles gastro-intestinaux	Inhibition de la sous-unité ribosomale 30S du parasite	(150)
	Lincosamides	Clindamycine	Associée à la quinine dans le traitement du paludisme non compliqué à <i>P. falciparum</i>	Troubles digestifs	Inhibition de la sous-unité ribosomale 50S, bloquant la synthèse protéique	(151)
	Macrolides	Azithromycine		Troubles digestifs	Inhibition de la synthèse protéique parasite (sous-unité 50S)	

Tableau II : Structure chimique des antipaludiques courants

 C₂₆H₃₀ C₁₂F₃NO	 C₂₉H₃₂ClN₅O₂	 C₁₆H₂₆O₅
Halofantrine : 3-(dibutylamino)-1-[1,3-di -chloro-6-(trifluoromethyl) -9-phenanthrenyl] -1-propanol.	Pyronaridyne : 4-[(7-chloro-2-methoxybenzo[b][1,5]naphtyridin-10-yl) amino]-2,6-bis [(pyrrolidin-1- yl)methyl]phenol	Artémether : decahydro-10-methoxy-3,6,9-trimethyl-3,12-epoxy-12H-pyrano(4,3-j) -1,2-benzodioxepine.
 C₁₉H₂₈O₈	 C₁₅H₂₄O₅	 C₂₂H₁₉ClO₃
Artésunate : octahydro-3,6,9-trimethyl-3,12-epoxy-12H-pyrano[4,3-j]-1,2-benzodioxepin-10(3H)-one	Dihydroartémisinine : decahydro-3,6,9-trimethyl-3,12-epoxy-12H-pyrano[4,3-j] -1,2-benzodioxepin-10-ol	Atovaquone : trans-2-[4-(4-chlorophényl) cyclohexyl]-3-hydroxy-1,4-naphtalene-dione
 C₁₁H₁₆ClN₅	 C₁₂H₁₃ClN₄	 C₁₂H₁₄N₄O₄
Proguanil : 1-[amino-(4-chloroanilino)-methylidene]-2-propan-2-ylguanidine; hydrochloride	Pyriméthamine : 5-(4-chlorophenyl)-6-ethyl-2,4-pyrimidine-diamine	Sulfadoxine : 4-amino-N-(5,6-dimethoxypyrimidin-4-yl) benzene sulfonamide.

 C₂₀H₂₄N₂O₂	 C₂₀H₂₄N₂O₂	 C₁₈H₂₆ClN₃
Quinine: (R)-[(2S,4S,5R)-5-ethenyl-1-azabicyclo[2.2.2]-octan-2-yl]-(6-methoxyquinolin-4-yl)methanol	Quinidine: (S)-[(2R,4S,5R)-5-ethenyl-1-azabicyclo[2.2.2]-octan-2-yl]-(6-methoxyquinolin-4-yl)methanol	Chloroquine: N-(7-chloro -quinolin-4-yl) - N, N-diethyl-pentane-1,4-diamine
 C₂₀H₂₂ClN₃O	 C₃₁H₃₆Cl₂N₆	 C₁₅H₂₁N₃O
Amodiaquine: 4-[(7-chloro -quinolin-4-yl) amino] -2-[(diethylamino) methyl] phenol.	Piperaquine : 4,4'-(Penta -methylenedi-4,1-piperazinediyl) bis-7-chloroquinoline	Primaquine : N4-(6-methoxy-quinolin-8-yl) pentane-1,4-diamine
 C₂₄H₂₈F₃N₃	 C₁₇H₁₆F₆N₂O	 C₃₀H₃₂Cl₃N
Tafenoquine : N-[2,6-dimethoxy-4-methyl-5-[3-(trifluorométhyl)phenoxy] quinolin-8-yl] pentane-1,4-diamine	Méfloquine : [2,8-bis(trifluorométhyl)quino-lin-4-yl]-piperidin-2-ylmethanol	Luméfántrine : 2-(dibutylamino)-1-[(9Z)-2,7-dichloro-9-[(4-chlorophenyl) méthylidene]fluoren-4-yl] ethanol

3.11.1. Le Ganaplacide, un schizonticide et gamétocytocide prometteur

Le Ganaplacide est un composé de la classe des imidazolopipérazines(152). Son efficacité sur les sporozoïtes, les formes asexuées et les gamétocytes a été démontrée lors d'études *in-vitro* et d'études cliniques. Dans cette partie, nous aborderons sa découverte, sa biochimie, son efficacité sur les différents stades parasitaires, son développement clinique, son mode d'action et les mécanismes de résistance(153).

3.11.1.1. Découverte du Ganaplacide

Le Ganaplacide a été découvert par Novartis en 2008 à la suite de criblage à haut débit de près de 2 millions de molécules en utilisant le test phénotypique de croissance parasitaire des formes asexuées (SYBR Green assay) (D. Plouffe et al., 2008)(154). Des études d'optimisation ultérieures dont les analyses "relation structure-activité (RSA)" ont conduit à une molécule hautement active sur les stades asexués et gamétocytaires de *P. falciparum* et *P. vivax* y compris les clones multirésistants (Nagle et al., 2012; D. Plouffe et al., 2008 ; T. Wu et al., 2011)(155).

3.11.1.2. Biochimie du Ganaplacide

Le nom chimique du Ganaplacide est le 2-amino-1-[3-(4-fluoroanilino) -2-(4-fluorophenyl) -8,8-diméthyl-5,6-dihydroimidazo[1,2-a] pyrazin-7-yl] éthanone. Cette molécule de familles des imidazolopipérazines possède une masse moléculaire de 411,4 g/mol et sa formule chimique est C₂₂H₂₃F₂N₅O.

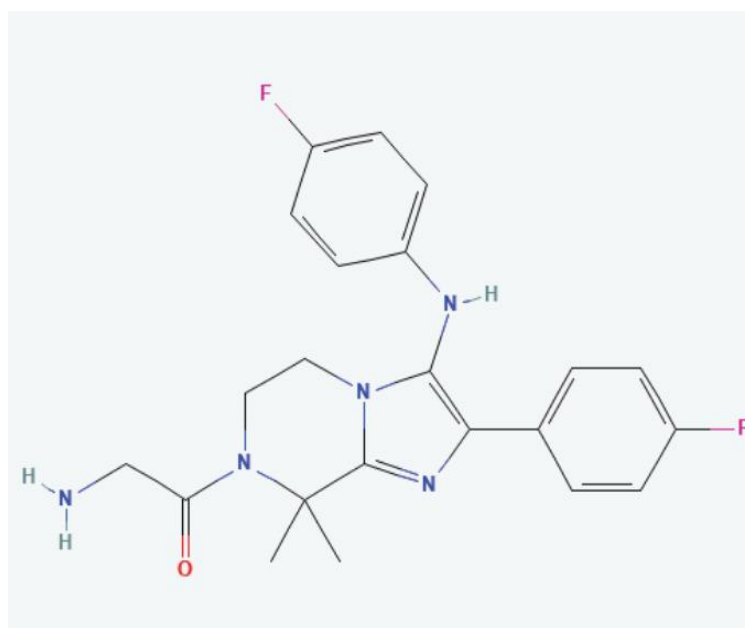


Figure 3 : Structure chimique du Ganaplacide(156)

Les imidazolopipérazines, sont constituées d'un groupe imidazole fusionné à un groupe pipérazine. Leur structure particulière est différente de celle des antipaludiques existants comme les aminoquinolines (Chloroquine, Primaquine) ou les endo-peroxydes (Artémisinine). Et cette structure joue un rôle important dans leur efficacité comme l'indiquent les études RSA (Nagle et al., 2012 ; T. Wu et al., 2011)(157).

3.11.1.3. Mode d'action du Ganaplacide et résistance

Le mode d'action précis du Ganaplacide n'est pas entièrement compris, mais certaines propositions des mécanismes impactés ont été rapportées. Dans une étude récente réalisée sur le mode d'action du GNF179 (analogue du Ganaplacide) en utilisant des approches biochimiques, il a été suggéré qu'elle interfère avec le processus de maturation et de transport des protéines dans le réticulum endoplasmique (LaMonte et al., 2020)(158). Par ailleurs, lorsqu'on localise le GNF179 dans le parasite, on remarque qu'elle colocalise avec le réticulum endoplasmique (ER). Ces résultats viennent appuyer les connaissances sur les possibles voies ciblées par le Ganaplacide(19,153).

En effet, des études génomiques de sélection de résistance ont identifié des modifications dans les gènes codant pour trois transporteurs transmembranaires localisés dans le RE : le transporteur de l'amine cyclique (*PfCARL*), le transporteur de l'UDP-galactose (*PfUGT*) et le transporteur de l'acétyl CoA (*PfACT*) (Kuhlen et al., 2014 ; LaMonte et al., 2020 ; Lim et al., 2016). Ces trois protéines sont potentiellement impliquées dans le processus de maturation des protéines. L'orthologue de *PfCARL* chez la levure serait impliqué dans la préservation des polypeptides contre la dégradation. Le *PfACT* semble intervenir indirectement dans le repliement des protéines alors que le *PfUGT* est potentiellement impliqué dans l'importation de sucres dans le RE(18). L'inhibition des protéines orthologues de *PfUGT* chez les vers et les plantes induit un stress du RE (LaMonte et al., 2020; Lim et al., 2016)(159).

3.11.1.4. Efficacité du Ganaplacide

Les études *in-vitro* de chimio-sensibilité ont montré que le Ganaplacide est efficace sur les formes hépatocytaires, les formes asexuées et les formes sexuées du parasite. L'étude de Kuhlen et al est l'une de ces études qui a exploré l'efficacité du Ganaplacide sur diverses variables. L'étude a montré une activité schizonticide du Ganaplacide avec une concentration inhibitrice moyenne (CI₅₀) allant de 6 à 17,4 nM contre les souches sensibles et résistantes de *P. falciparum*. Les CI₅₀ étaient d'environ 6 nM pour le clone résistant W2, et *Plasmodium berghei*.

En outre, le Ganaplacide a démontré une activité schizonticide contre les souches de *P. vivax* et *P. falciparum* potentiellement résistantes provenant de régions endémiques(160,161).

Par ailleurs, le Ganaplacide a inhibé la maturation et la viabilité des gamétocytes chez les moustiques, ce qui indique des propriétés potentielles de blocage de la transmission. Le Ganaplacide s'est montrée efficace sur les gamétocytes âgés et bloque la transmission. L'étude révèle que le Ganaplacide inhibe la maturation des formes hépatocytaires (Kuhlen et al., 2014 ; Nagle et al., 2012 ; T. Wu et al., 2011). Le Ganaplacide peut servir ainsi d'agent prophylactique puisqu'il protège contre la maturation des sporozoïtes lorsqu'il est administré avant l'infection. En effet, lorsqu'on administre une dose de 10mg/Kg du Ganaplacide à une souris, 2h avant infection par les sporozoïtes, l'on observe une action protectrice qui est due à l'inhibition de la maturation des sporozoïtes.

3.11.1.5. Développement clinique du Ganaplacide

Plusieurs études cliniques du Ganaplacide comprenant des essais de phases I et II sur le traitement du paludisme non compliqué ont été réalisées(23). Les résultats concluants obtenus au regard de l'efficacité, la sécurité, la tolérance et les propriétés pharmacocinétique du Ganaplacide (Kublin et al., 2020; Ogutu et al., 2023; White et al., 2016) ont conduit Novartis et Medicines for Malaria Venture (MMV) à valider en novembre 2022 la décision de passer à l'étude clinique de phase III (*Novartis and Medicines for Malaria Venture announce decision to move to Phase 3 study for novel Ganaplacide/Lumefantrine-SDF combination in adults and children with malaria*, 2022)(162). Ceci marque la première fois en deux décennies qu'un nouveau composé antipaludique atteint ce stade (Chen & Ishengoma, 2023 ; Ogutu et al., 2023).

Une première étude clinique contrôlée randomisée en double aveugle a été menée pour évaluer la sécurité, la tolérance et les propriétés pharmacocinétiques du ganaplacide chez 70 hommes adultes(163). L'impact de l'alimentation sur l'absorption a été également évalué. L'étude a porté sur différentes concentrations et dosages, un groupe recevant une dose unique de 10 à 1200 mg et un autre groupe recevant des doses multiples avec des concentrations allant de 60 à 600 mg. Les résultats pharmacocinétiques ont montré que le Ganaplacide pouvait être administrée soit en dose unique, soit en doses multiples, avec une bonne tolérance et des effets secondaires minimes tels que maux de tête, diarrhée, douleurs abdominales et vertiges.

Par la suite, une étude de phase II a été menée en Asie chez les personnes infectées par *P. vivax* d'une part et *P. falciparum* d'autre part(164). L'efficacité d'une dose unique de 800 mg et d'une

multidose de 400mg pendant trois jours a été évaluée. Le Ganaplacide a montré son efficacité sur *P. vivax* et *P. falciparum* avec une demi-vie de 44 +/- 8,9 h. La durée de la clearance parasitaire moyenne a été de 45 h pour le traitement en dose multiple et de 49 h pour la dose unique chez les patients infectés par *P. falciparum*(164).

Le GNF179 comparé au Ganaplacide (KAF156) :

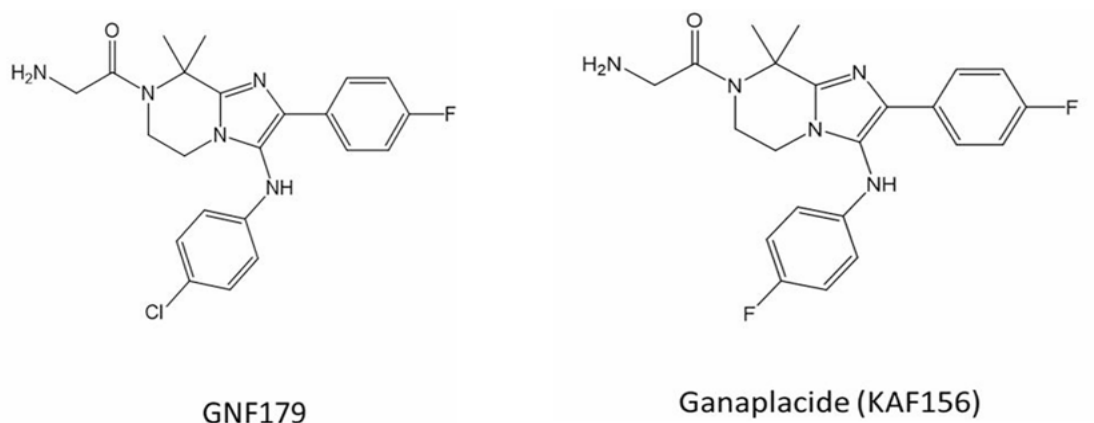


Figure 4 : Évolution structurale du GNF179 vers le Ganaplacide (KAF156)(153)

Le Ganaplacide est principalement métabolisé par les enzymes du cytochrome P450, notamment CYP3A4, qui catalyse des réactions de phase I (principalement des oxydations), permettant la formation de métabolites facilitant l'élimination du médicament.(165).

3.11.2. Les quinoléines-4-carboxamides (Cabamiquine)

La Cabamiquine (M5717) est un puissant et nouvel agent antipaludique agissant à plusieurs étapes du cycle de vie du parasite *Plasmodium*(30). La Cabamiquine a un profil de sécurité acceptable et de bonnes propriétés pharmacocinétiques. Il a comme cible moléculaire le facteur d'élongation de la traduction 2 (eEF2). Le facteur eEF2 est responsable de la translocation du GTP du ribosome le long de l'ARN messenger et est essentiel à la synthèse des protéines(166). Cette molécule a montré une excellente activité contre les parasites *P. falciparum* 3D7. De plus, il était plus puissant que l'artésunate dans des essais *ex-vivo* contre une gamme d'isolats cliniques de *P. falciparum* et de *P. vivax* recueillies auprès de patients atteints de paludisme au sud de la Papouasie(167).

3.11.2.1. Découverte de la Cabamiquine

La Cabamiquine (anciennement DDD107498) a été découverte dans le cadre d'un programme de recherche collaboratif entre Drug Discovery Unit de l'Université de Dundee et MMV (Medicines for Malaria Venture) visant à identifier de nouveaux antipaludiques actifs contre les souches résistantes de *P. falciparum*. Elle a été identifiée par criblage de composés ciblant des protéines essentielles du parasite(168).

3.11.2.2. Biochimie de la Cabamiquine

Le nom chimique de la Cabamiquine est le 6-fluoro-2-[4-(4-méthylmorpholinyl) phenyl]-N-(1-éthylpyrrolidin-2-yl)quinoline-4-carboxamide et sa formule brute est C₂₇H₃₁FN₄O₂.

Cabamiquine (M5717) :

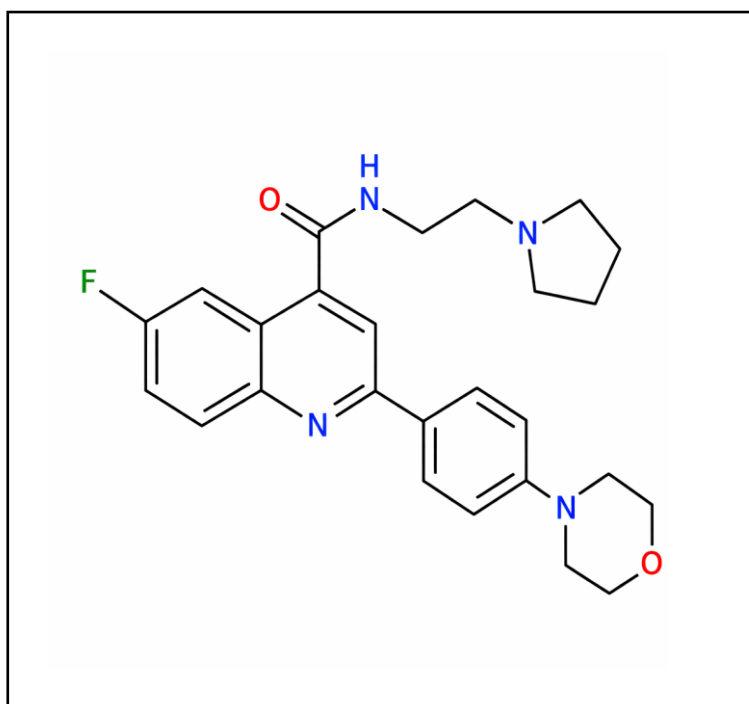


Figure 5 : Structure de la Cabamiquine(169)

3.11.2.3. Efficacité de la Cabamiquine

Les tests *in-vitro* montrent que la Cabamiquine a un EC₅₀ dans la gamme nanomolaire (nM), ce qui indique une activité élevée contre les parasites *P. falciparum* sensibles et résistants aux autres antipaludiques classiques. Les études montrent une inhibition complète des stades schizontes sanguins en 48 à 72 heures(170).

Son effet pharmacologique se caractérise par une inhibition rapide, concentration-dépendante de la multiplication parasitaire, traduite par une clairance parasitaire notable. Un profil pharmacocinétique caractérisé par une biotransformation principalement assurée par l'isoenzyme CYP3A4, qui constitue la principale voie métabolique impliquée dans son élimination. Les données disponibles suggèrent une contribution limitée et probablement mineure des autres isoenzymes du cytochrome P450. Par ailleurs, sa longue demi-vie d'élimination associée à une administration en dose unique confère à cette molécule un avantage thérapeutique potentiel, favorisant son utilisation dans des stratégies de traitement combiné ou en prophylaxie à dose unique(25).

Dans les modèles murins infectés par *Plasmodium* (tests *in-vivo*), la Cabamiquine montre une réduction significative de la parasitémie après une seule dose orale. Les essais cliniques de phase I et II ont rapporté une bonne tolérance et un profil de sécurité favorable(28).

- Une activité préventive et curative contre le paludisme à *P. falciparum*.
- La posologie unique peut éradiquer le parasite chez la majorité des participants infectés.

3.11.2.4. Mode d'action de la Cabamiquine

Le mode d'action de la Cabamiquine repose sur l'inhibition ciblée du facteur d'élongation eucaryote 2 de *Plasmodium falciparum* (*PfeEF2*), une protéine essentielle intervenant dans le processus de translocation du ribosome lors de la traduction des protéines parasitaires. L'inhibition de cette cible moléculaire validée entraîne une altération de la synthèse protéique, provoquant ainsi un arrêt du développement parasitaire et la mort du parasite.

3.11.2.5. Mécanismes de résistance de la Cabamiquine

Concernant les mécanismes de résistance, des études expérimentales basées sur la pression de sélection médicamenteuse ont permis d'identifier des mutations non synonymes dans le gène codant *PfeEF2*, suggérant un mécanisme potentiel de diminution de la sensibilité lié à des modifications conformationnelles de la cible pharmacologique. Ces mutations pourraient réduire l'affinité de la Cabamiquine pour *PfeEF2*, constituant ainsi un mécanisme adaptatif du parasite. L'ensemble de ces données confirme que *PfeEF2* représente à la fois une cible thérapeutique critique et un marqueur moléculaire potentiel de surveillance de l'émergence de la résistance à la Cabamiquine.

3.12. Les méthodes d'études de l'activité des antipaludiques

L'efficacité des antipaludiques est évaluée par la méthode standardisée de l'OMS pour l'espèce *P. falciparum*. Il s'agit des épreuves d'évaluation *in-vitro* et *in-vivo*.

3.12.1. Test *in-vivo*

Ce type de test consiste à contrôler la parasitémie au bout d'un temps donné, chez un sujet atteint de paludisme à qui l'on a administré la dose recommandée de l'antipaludique à tester. L'efficacité des schémas thérapeutiques est directement évaluée avec les tests de l'OMS. Ces tests proposent des suivis de 28 jours pour la Chloroquine et l'Amodiaquine, 42 jours pour la Luméfántrine-Artéméthér (Coartem®), la Sulfadoxine-Pyriméthamine et le test de 63 jours pour la Méfloquine et la Dihydroartémisinine-Pipéraquine(171). Le test standard de l'OMS de 28 jours recommande de réévaluer les paramètres clinique et parasitologique aux jours 1, 2, 3, 7, 14, 21 et 28 après inclusion.

Avantages du test *in-vivo*

- Adhésion facile de la population au protocole d'étude car elle y trouve un intérêt médical immédiat ;
- Réalisation plus simple et aisée (même par un agent de santé de base) ;
- Détermination du niveau de la résistance afin d'adopter un schéma thérapeutique adéquat.

Inconvénients du test *in-vivo*

- Interprétation difficile des résultats liée aux troubles du métabolisme du médicament, au niveau immunitaire du malade, et aux troubles d'absorption du médicament ;
- Longue durée pour le diagnostic de la résistance.

3.12.2. Tests *in-vitro*

Ils consistent à mesurer l'inhibition de la maturation en schizonte des parasites isolés chez un sujet, en présence des doses croissantes d'un antipaludique donné. Après le macro-test mis au point par l'OMS et vite abandonné, ce sont les micro-tests qui sont actuellement utilisés. On distingue :

❖ Tests optiques

Le micro-test OMS et le semi-micro-test de Le Bras ont été mis au point à la fin des années 70 afin d'évaluer la sensibilité de *P. falciparum* à certains médicaments. Ils sont basés sur la capacité des doses croissantes d'antipaludiques testés à empêcher la maturation des

trophozoïtes de *P. falciparum* en schizontes, lorsque le prélèvement sanguin est mis en culture dans du milieu RPMI (Roosevelt Park Memorial Institute) et incubé à 37°C, en présence du CO₂ et de l'O₂, pendant 24 à 48 heures. Les résultats s'expriment en concentration minimale inhibitrice (CMI), pour le micro-test OMS, et en concentration inhibitrice 50% (CI₅₀) OU 90% (CI₉₀) pour le semi-micro-test.

❖ Tests isotopiques

Ce sont des modifications, respectivement, du micro-test OMS et du semi-micro-test optique par l'adjonction dans chaque cupule d'un radio-isotope, l'hypoxanthine tritiée. La maturation des parasites est révélée par l'incorporation du radio-isotope dans le noyau des parasites. La mesure de la radioactivité se fait après 42 à 48 heures d'incubation, à l'aide d'un compteur à scintillation. Les résultats sont donnés en coups par minute (CPM) et l'activité du médicament est exprimée en CI₅₀ ou en CI₉₀.

❖ Le Micro-test de Mark II et le test de Makler

Sont basés respectivement sur la quantification microscopique des schizontes et sur la mesure de l'activité enzymatique de la lactate déshydrogénase (LDH). Pour les deux approches, les parasites sont cultivés en présence des antipaludiques à étudier.

❖ Le test du Ring Stage Survival Assay (RSA) développé pour l'évaluation de la résistance des parasites à l'Artémisinine et ses dérivés(172).

Avantages des tests *in-vitro*

- La possibilité de tester plusieurs antipaludiques sur les mêmes souches plasmodiales à la fois ;
- La possibilité de faire un diagnostic beaucoup plus précoce de la résistance ;
- Pas de problème de biodisponibilité ni de troubles du métabolisme des médicaments ;
- Pas de problème de disponibilité des patients.

Inconvénients des tests *in-vitro*

- Nécessité d'un matériel lourd et d'un personnel qualifié ;
- Conditions rigoureuses de prélèvement et de culture des parasites très difficile sur le terrain (risque de contamination) ;
- Difficulté de cultiver certaines souches sauvages de terrain ;
- Incapacité de déterminer les échecs thérapeutiques.

3.12.3. Tests *ex-vivo*

Ils consistent à mesurer l'effet d'un antipaludique sur des souches de parasites prélevés chez des sujets infectés. La source du parasite diffère le test *ex vivo* du test *in-vitro* (utilisant des parasites de laboratoire). Souvent, certains isolats sont d'abord adaptés en culture continue au laboratoire avant de passer au test proprement dit(173). Ainsi, après la collecte des parasites, ce sont les mêmes tests *in-vitro* cités ci-dessus qui sont adaptés aux différentes expériences lors des essais *ex-vivo*.

3.13. La chimiorésistance

3.13.1. La définition de la chimiorésistance

L'OMS a défini la chimiorésistance comme l'aptitude d'un microorganisme à survivre ou à se reproduire malgré l'administration et l'absorption d'un médicament employé à des doses égales ou supérieures aux doses ordinairement recommandées mais comprises dans les limites de tolérance du sujet(174).

La résistance de *P. falciparum* aux antipaludiques est un phénomène réel sur tous les continents. De nombreuses études ont été menées pour expliquer le mécanisme de la résistance. Un parasite résistant est celui qui présente un ou plusieurs mutation(s) génétique(s) au niveau de son ADN (selon les médicaments). Ces mutations génétiques sont des anomalies qui se produisent lors de la réplication de l'ADN chromosomique ou mitochondriale du parasite. Comme chez les bactéries, les principaux mécanismes de la résistance pourraient être dus :

- Soit à l'inactivation enzymatique ou à la dégradation des médicaments.
- Soit à une altération du site de fixation du médicament.
- Soit à une inhibition de l'entrée du médicament.
- Soit à un reflux actif du médicament au niveau de son site d'action.

Les variants issus d'erreurs de réplication de l'ADN, sont d'autant plus fréquents que la multiplication asexuée est rapide et que les systèmes enzymatiques de réparation de l'ADN sont imparfaits. Il y a sélection de plasmodies mutantes lorsque la concentration de l'antipaludique est suffisante pour inhiber la multiplication des Plasmodies sensibles mais insuffisante pour bloquer celle des mutants, phénomène désignée sous le nom de « sélection médicamenteuse ». Donc le médicament administré à un sujet porteur de parasites trouve déjà présents dans l'organisme de celui-ci des parasites, soit préalablement mutés (résistants) soit non mutés (sensibles)(175).

3.13.2 La résistance aux antipaludéens et gènes moléculaires associés

La résistance aux antipaludéens se produirait dans les zones de faible ou de haute transmission de paludisme. En effet, la résistance s'est développée en premier dans les zones de faible transmission (Thaïlande et Brésil) et elle reste actuellement plus fréquente dans ces zones que dans celles de transmission plus élevée, s'appuyant sur l'hypothèse de la faible transmission.

Les résistances concernent des degrés variables de la plupart des antipaludéens actuels sur le marché compliquant le traitement du paludisme. Les médicaments sont moins efficaces en raison de modifications d'ordre génétique apparues chez le parasite. Cependant des marqueurs moléculaires y sont impliqués dans ces phénomènes de résistance.

3.13.2.1. Le gène *P. falciparum* chloroquine résistance transporter (*Pfcr*)

Certaines études de terrain ont trouvé une association entre les mutations *Pfmdr1* et la résistance de *plasmodium falciparum* à la Chloroquine. Une étude menée depuis 2000 a montré que le *Pfcr*, un gène à 13 exons, a été identifié près de cg2 sur le chromosome 7, et code pour *Pfcr*, une protéine membranaire de transport vacuolaire(176).

L'équipe de Wellem's a montré qu'une mutation de ce gène codant pour une protéine trans-membranaire (*Pfcr*) de la vacuole digestive de *P. falciparum* est responsable de la résistance à la Chloroquine. En Amérique du sud, cette résistance est associée à d'autres variants "*Pfcr*" porteurs de plusieurs mutations. Toutefois, les variants "*Pfcr*" de ces trois régions ont en commun, deux mutations spécifiques (*K76T* et *A220S*)(177).

La mutation sur le codon 76 (Thr→Lys) de *Pfcr* est essentielle dans la résistance à la chloroquine. La mutation Thr76Lys est associée à une résistance absolue à la chloroquine *in vitro*. De nombreuses études cliniques réalisées dans diverses zones géographiques ont confirmé l'association entre la mutation *Thr76Lys* et la résistance à la Chloroquine notamment en Afrique, au Mali, au Cameroun, au Soudan, et au Mozambique, en Asie, au Laos et en Thaïlande, ainsi qu'en Amérique du Sud, au Brésil.

Jusqu'à nos jours il n'y a pas de marqueur moléculaire pour l'Amodiaquine. On pense que des variations alléliques sur le *Pfcr* et sur le *Pfmdr1* auraient une relation avec une élévation de résistance à l'Amodiaquine.

3.13.2.2. Le gène *P. falciparum* multidrug résistance1 *Pfmdr1*

Des homologues du gène *mdr*, responsables de la multirésistance des cellules cancéreuses aux médicaments anti-cancéreux ont été découverts chez *P. falciparum* et nommés *Pfmdr1* et

Pfmdr2.

Le *Pfmdr2* est localisé sur le chromosome 14 de *P. falciparum*. De nombreuses études ont montré qu'il n'était pas impliqué dans la résistance à la Chloroquine. Ce gène ne présente pratiquement aucune variation entre les parasites sensibles et ceux résistants.

En revanche des variations dans le nombre de copies du gène *Pfmdr1*, le gène correspondant situé sur le chromosome 5 du parasite, associées ou non avec des mutations ponctuelles, ont été initialement considérées dans la chloroquino-résistance. Des mutations ponctuelles de *Pfmdr1* sont liées à la chloroquino-résistance dans certaines études de terrain, et certains auteurs ont trouvé le contraire. Le gène *Pfmdr1* code pour une protéine de perméabilité d'un poids moléculaire de 170kD. Comme les homologues des cellules cancéreuses, cette protéine serait impliquée dans le transport trans-membranaire de la chloroquine et d'autres molécules (178). Une mutation au niveau du *Pfmdr1* Asn-Tyr en position 86 pourrait contribuer à la chloroquino-résistance. Ce marqueur est mêlé dans la résistance des molécules suivantes : Méfloquine, Chloroquine, Quinine(179).

3.13.2.3. Le gène *P. falciparum* dihydroPtéroate synthétase (*Pfdhps*) / le gène *P. falciparum* dihydrofolate réductase (*Pfdhfr*)

La Pyriméthamine se lie et inhibe la dihydrofolate réductase (Dhfr), et les sulfamides agissent sur la dihydroptéroate synthase (Dhps). L'association de la Pyriméthamine et de la Sulfadoxine donne une action synergique contre *P. falciparum*. La résistance à la Sulfadoxine-Pyriméthamine est apparue à la frontière entre la Thaïlande et le Cambodge dans le milieu des années 60. En Afrique, la sensibilité de la Sulfadoxine-Pyriméthamine a commencée à baisser dans les années 1980. Cette résistance s'est répandue plus rapidement à l'Est qu'à l'Ouest du continent. La résistance *in-vitro* à la Sulfadoxine-Pyriméthamine a été reportée dans plusieurs pays d'Afrique subsaharienne, variant de 13 à 30 %. De toutes les résistances aux antipaludéens, la base moléculaire de la résistance à la Sulfadoxine-Pyriméthamine est la mieux caractérisée. Les mutations spécifiques de *P. falciparum* qui conduisent à la résistance à la Pyriméthamine et à la Sulfadoxine ont été identifiées. Une triple mutation *Pfdhfr* est la présence simultanée de la substitution de Asn108 plus Ile-51 et Arg-59 (DHFR 108N + 59R + 51I) et une double mutation *Pfdhps* (A437G + K540E)(180).

3.13.2.4. Le gène *P. falciparum* kelch propeller 13 (*Pfk13*)

Le gène *Pfk13* (PF3D7_1343700) est localisé sur le chromosome 13, en position 43700, et code pour une protéine de 726 acides aminés à partir d'un génome de 2181 pb. La protéine K13

présente une structure en hélice et possède, dans son domaine carboxy-terminal, six motifs Kelch répétitifs impliqués dans diverses fonctions cellulaires, telles que la régulation du stress oxydatif et la dégradation des protéines ubiquitinées, rappelant les protéines KEAP1 et KLHL12/KLHL2.

Des études expérimentales et épidémiologiques ont montré que certaines mutations non synonymes dans le domaine Kelch de *Pfk13* sont associées à une augmentation de la demi-vie de clairance parasitaire après traitement par les dérivés d'Artémisinine, en particulier au Cambodge et dans d'autres régions d'Asie du Sud-Est (ex. C580Y, R539T, Y493H, I543T, F446I)(181). Par exemple, les parasites porteurs de la mutation C580Y présentent une clairance parasitaire significativement retardée, ce qui constitue un indicateur robuste de résistance aux Artémisinines. Ces mutations peuvent modifier la fonction de la protéine K13, permettant au parasite de survivre plus longtemps malgré l'exposition au médicament.

Cependant, d'autres études, notamment dans certaines populations africaines, n'ont pas trouvé d'association significative entre certains polymorphismes de *Pfk13* et la résistance aux dérivés d'Artémisinine(182). Ces observations suggèrent que la résistance peut être influencée par des mécanismes multigéniques ou contextuels, et que toutes les variations de *Pfk13* ne confèrent pas nécessairement un retard de clairance parasitaire.

3.13.2.4.1. Implications cliniques des mutations *Pfk13*

Les mutations de *Pfk13* entraînent des conséquences directes sur la prise en charge clinique du paludisme :

Efficacité du traitement : Les mutations réduisent l'efficacité des dérivés d'Artémisinine et des Combinaisons Thérapeutiques à base d'Artémisinine (CTA), favorisant la survie parasitaire malgré le traitement.

Persistance de la parasitémie : Elles provoquent un retard de la clairance parasitaire, avec une présence prolongée du parasite dans le sang, augmentant le risque de transmission et de rechute.

Évolution future de la résistance : La propagation des mutations représente un risque évolutif, pouvant conduire à des souches plus résistantes et à une diminution de l'efficacité des traitements actuels.

Nécessité de modifier les protocoles thérapeutiques : Dans les zones où la résistance est confirmée, il peut être nécessaire de réviser les recommandations nationales et internationales, en introduisant de nouvelles combinaisons thérapeutiques ou des molécules alternatives.

Décès : Une résistance non détectée ou non prise en charge peut entraîner des issues fatales, notamment chez les enfants et les femmes enceintes. La surveillance moléculaire de *Pfk13* est donc cruciale pour prévenir la morbidité et la mortalité liées au paludisme.

En résumé, le gène *Pfk13* constitue un marqueur moléculaire central pour la surveillance de la résistance à l'Artémisinine, et son suivi est essentiel pour adapter la stratégie thérapeutique et limiter la propagation des souches résistantes.

METHODOLOGIE

4. Méthodes et matériels

4.1. Lieu d'étude et choix du site d'étude

Le PMRTC/MEDRU, est un grand laboratoire de recherche au Mali situé en commune III de Bamako.

Le MEDRU fait partie du PMRTC/DEAP et leurs missions principales portent sur :

- Recherche et développement de médicaments et vaccins (181,183–190)
- Résistance aux médicaments
- Biologie Cellulaire
- Ecritures scientifiques et valorisation de la recherche
- Formation

Les laboratoires MEDRU conduisent leurs activités dans les locaux du PMRTC/DEAP et sur différents sites d'études répartis sur tout le territoire du Mali. La présence permanente de l'équipe de recherche et un centre équipé pour répondre aux besoins des études entomologiques et la conservation des échantillons pour des expérimentations *ex-vivo* et *in-vitro* d'où la nécessité de choisir ce site.

4.2. Types et période de l'étude

Une étude expérimentale *in-vitro* réalisée au sein de l'Unité d'Epidémiologie Moléculaire et de Chimiorésistance (*Molecular Epidemiology and Drug Resistance Unit*) (MEDRU) du Centre de Formation et de recherche sur les parasites et les Microbes (*Parasites and Microbes Research Training Center*, PMRTC), Faculté de Pharmacie, Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB).

La période de travail s'est étendue de Novembre 2023 à Juillet 2025.

L'étude a porté sur l'évaluation de l'activité de la combinaison Ganaplace–Cabamiquine sur des souches de *P. falciparum* sensibles et résistantes, cultivées dans des conditions standardisées.

4.3. Conditions de travail au laboratoire

Nous avons mené nos travaux conformément aux bonnes pratiques de laboratoire, telles qu'énoncées dans les conventions internationales. Ce travail n'utilise que des parasites de laboratoires *P. falciparum* 3D7 et tout le travail est fait au laboratoire sans besoin de parasites ni de patients de terrain. Ainsi, ceci ne nécessite pas d'approbation éthique.

4.4. Procédures de décongélation

La décongélation consiste à ramener des parasites cryoconservés à des conditions de culture viables, afin de reprendre leur croissance *in-vitro*.

4.4.1. Décongélation du parasite

Les procédures de décongélation du parasite comprennent :

- ❖ Décongeler le tube à 37°C pendant 1 à 2 minutes
- ❖ Transférer l'échantillon de parasite dans un tube de 50 ml
- ❖ Mesurer le volume
- ❖ Ajouter (0,1 x volume mesurer) volume de NaCl 12% goutte par goutte en agitant
- ❖ Laisser à la température ambiante pendant 5 minutes
- ❖ Ajouter (10 x volume mesurer) volume de NaCl 1,6% goutte par goutte en agitant
- ❖ Centrifuger à 170 g à 20° pendant 5 minutes
- ❖ Aspirer le surnageant
- ❖ Ajouter (10 x volume mesurer) volume de NaCl 0,9% goutte par goutte en agitant
- ❖ Centrifuger à 170 g à 20° pendant 5 minutes
- ❖ Aspirer le surnageant
- ❖ Suspendre les globules parasités dans du milieu complet (milieu de culture) plus quelque microlitre de sang non infecté (RBC).

➤ Souches de *P. falciparum* utilisées

Cette étude a été réalisée sur deux souches de *P. falciparum* : la souche de référence 3D7 (souche sauvage) et une souche résistante au Ganaplacide.

➤ Souche sauvage *P. falciparum* 3D7

La souche 3D7 est une souche de référence de *P. falciparum* largement utilisée dans les études d'évaluation de l'activité des antipaludiques. Elle dérive de la souche NF54, isolée initialement chez un patient d'origine africaine, et son génome a été entièrement séquencé, ce qui en fait une souche de référence dans les études sur *P. falciparum*.

Dans cette étude, la souche 3D7 a été utilisée comme contrôle sensible afin de comparer l'activité du ganaplacide seul et en combinaison avec la Cabamiquine.

🚦 Sur le plan phénotypique, la souche 3D7 présente :

- ✓ Une bonne capacité de croissance *in-vitro*
- ✓ Un cycle érythrocytaire d'environ 48 heures
- ✓ Une sensibilité aux antipaludiques de référence
- ✓ Une morphologie parasitaire normale aux différents stades intra-érythrocytaires

✚ Sur le plan génotypique,

Cette souche ne présente pas de mutations connues associées à la résistance aux nouvelles molécules étudiées dans ce travail.

➤ Souche résistante au Ganaplacide

La souche résistante utilisée dans cette étude a été obtenue par sélection sous pression médicamenteuse par exposition progressive des parasites à des concentrations croissantes de Ganaplacide jusqu'à l'obtention d'un phénotype stable de résistance.

✚ La résistance a été confirmée par :

- ✓ Une augmentation des valeurs d'IC₅₀ par rapport à la souche 3D7
- ✓ La capacité des parasites à se multiplier en présence du médicament

✚ Sur le plan phénotypique, la souche résistante présente :

- ✓ Une diminution de la sensibilité au Ganaplacide
- ✓ Une adaptation à la pression médicamenteuse
- ✓ Parfois une modification de la vitesse de croissance parasitaire

✚ Sur le plan moléculaire :

La résistance au Ganaplacide est souvent associée à des mutations dans certains gènes candidats impliqués dans les mécanismes de résistance, notamment *PfCARL* (*P. falciparum* Cyclic Amine Resistance Locus) ou *PfACT* (*Acetyl-CoA transporter*) selon les données de la littérature.

4.4.1.1. Matériels et appareils

La hotte, l'incubateur, les pipettes sérologiques, milieu de culture, aspirateur, porte filtre, Blouse, gants stériles, lame porte objet dégraissée à usage unique, alcool à 70°, poubelle, Giemsa à 10%, bacs de coloration, éprouvette graduée, râteliers, eau désionisée, crayon à papier, chronomètre, huile à immersion, compteur manuel, papier hygiénique, microscope optique binoculaire, une machine à calculer, une table de lecture et une chaise.

4.4.1.2. Procédure standard opératoire (SOP) du frottis mince (FM)

Application du frottis mince ici pour la confirmation et l'identification de *P. falciparum*.

4.4.1.2.1. Principe

Le frottis mince est utilisé pour l'examen morphologique plus détaillé et pour déterminer les espèces de parasites, mais dans notre contexte pour déterminer la parasitémie. Elle consiste à étaler de façon homogène une goutte de sang sur une lame porte objet.

4.4.1.2.2. Confection frottis mince (FM)

- Glisser le bord du frottoir jusqu'à ce qu'elle touche la goutte de sang, laisser fuser
- Etaler d'un coup sec et régulier en respectant un angle de 45° avant d'atteindre l'extrémité gauche et droite. Tout le sang doit être étalé avant d'atteindre l'autre extrémité de la lame.
- La queue du FM à couche monocellulaire doit être régulière et non striée.

4.4.1.2.3. Séchage, fixation et coloration de frottis mince

Le séchage après étalement du frottis mince sur la lame, fixer le frottis mince en la lame dans le méthanol pendant 3 à 5 secondes et laisser sécher encore le frottis mince sur une surface plane.

- Recouvrir le frottis avec une solution de Giemsa à 10% pendant 10-15 minutes pour la coloration rapide ou de Giemsa à 3% pendant 30 minutes pour la coloration longue classique.
- Rincer doucement la lame sous un filet d'eau distillée ou du robinet dans l'évier
- Laisser sécher le frottis à l'air libre au moins pendant 1h au minimum ou utiliser un séchoir
- Le pH du colorant doit être légèrement alcalin ($\text{pH} = 7,2 - 7,4$), une coloration acide pourrait empêcher la mise en évidence des parasites.

4.4.1.2.4. Examen microscopique

- Pour la lecture, ajouter une goutte de l'huile d'immersion sur le frottis mince (vers la queue) puis lire avec l'objectif $\times 100$; sélectionner une zone dans laquelle les globules rouges sont bien étalés sans exposition des uns sur des autres.
- Examiner la queue ou les bords du frottis et identifier les espèces de parasites en notant les caractéristiques suivantes :
 - ❖ La forme du trophozoïte
 - ❖ Le nombre de trophozoïtes dans le globule rouge
 - ❖ La taille du globule rouge infecté
 - ❖ Le nombre de mérozoïtes par schizontes
 - ❖ La forme du gamétocyte
 - ❖ Et autres parasites dans les globules rouges infectés.

Compter le nombre total de globules rouges ainsi que le nombre de globules rouges infectés dans au moins cinq champs microscopiques. Calculer le pourcentage de globules rouges infectés. Déterminer le nombre relatif de parasites en fonction du nombre de leucocytes.

Exprimer le résultat soit en « nombre de parasites par champ microscopique », soit en « pourcentage d'hématies infectées ».

4.4.1.2.5. Milieu de culture

Le milieu de culture (RPMI-Complet) doit reproduire aussi fidèlement que possible les conditions de l'environnement que les cellules trouvaient *in-vivo*.

Il doit donc être à la fois :

- Vecteur d'éléments nutritifs,
- Contribuer au maintien des conditions physico-chimiques telles que pH et osmolarité
- Et permettre la prolifération des cellules (divisions cellulaires).

La composition du milieu de culture (RPMI-Complet) est la suivante :

- Quantité suffisante d'eau stérile pour 1 litre,
- 10,43g de la poudre du RPMI 1640 + L-glutamine (INV-31800022),
- 2,5g de NaHCO₃,
- 5,96g de l'HEPES (25 mM),
- 5g d'AlbuMax® I (INV-11020021),
- 1ml de l'Hypoxanthine (100 µM),
- 2,5 ml de la Gentamicine (10mg/ml),

4.5. Test *in-vitro* de l'efficacité de la Cabamiquine et du Ganaplacide sur une souche 3D7 résistante au Ganaplacide et sauvage de *P. falciparum* en monothérapie et en combinaison

4.5.1. Méthodologie expérimentale

Les érythrocytes humains infectés par *P. falciparum* ont été maintenus en culture *in vitro* dans un milieu RPMI 1640 complet, préparé selon les conditions standard. Deux souches de parasites ont été utilisées dans cette étude : la souche 3D7 sauvage et une souche résistante au Ganaplacide. Les parasites ont été synchronisés au stade anneau avant l'initiation des expériences. Pour l'ensemble des essais, la parasitémie initiale a été ajustée à 0,5 % et l'hématocrite à 2 % avant la mise en plaque (Figure 6).

Les cultures parasitaires ont été distribuées dans des microplaques de 96 puits, chaque puits recevant un volume identique de suspension globulaire infectée. Les deux composés antipaludiques évalués étaient la Cabamiquine et le Ganaplacide. Chaque médicament a été préparé individuellement à partir d'une solution mère à 10 µM. Les solutions de travail ont été

préparées à des concentrations doubles ($2\times$) par rapport aux concentrations finales souhaitées. Lors de la mise en plaque, 60 μL de solution médicamenteuse ($2\times$) ont été ajoutés à 60 μL de suspension globulaire parasitée, permettant d'obtenir les concentrations finales ($1\times$) prévues dans chaque puits, pour un volume final de 120 μL (Figure 6).

La Cabamiquine a été testée aux concentrations finales de 1, 3, 5 et 10 nM, tandis que le Ganaplacide a été évalué aux concentrations finales de 1, 3, 5, 10, 20, 40, 100 et 200 nM. Les essais ont été réalisés en monothérapie pour chaque composé ainsi qu'en combinaison, selon un design matriciel de type checkerboard ou damier (Figure 6). Ce dispositif expérimental a été appliqué de manière identique aux deux souches de *P. falciparum*, à savoir la souche 3D7 sauvage et la souche résistante au Ganaplacide, afin de permettre une comparaison des réponses pharmacodynamiques dans les deux contextes parasitaires. Chaque condition expérimentale a été réalisée en répliquats techniques, incluant des puits contrôles non traités.

Après l'ajout des traitements, les plaques ont été incubées à 37 °C sous une atmosphère contrôlée contenant 5 % de CO_2 . La durée totale d'incubation était de 72 heures, avec des acquisitions réalisées à 24, 48, et 72 heures afin de suivre l'évolution temporelle de la croissance parasitaire. À chaque point temporel, la viabilité parasitaire a été évaluée par une double coloration au SYBR Green et au MitoTracker (Figure 6). Les plaques ont ensuite été analysées par cytométrie en flux à l'aide d'un Accuri C6.

Les données issues de la cytométrie en flux ont été exportées au format Excel et utilisées comme jeu de données pour les analyses ultérieures de modélisation mathématique, incluant l'estimation des paramètres pharmacodynamiques et l'évaluation des interactions médicamenteuses (Figure 6).

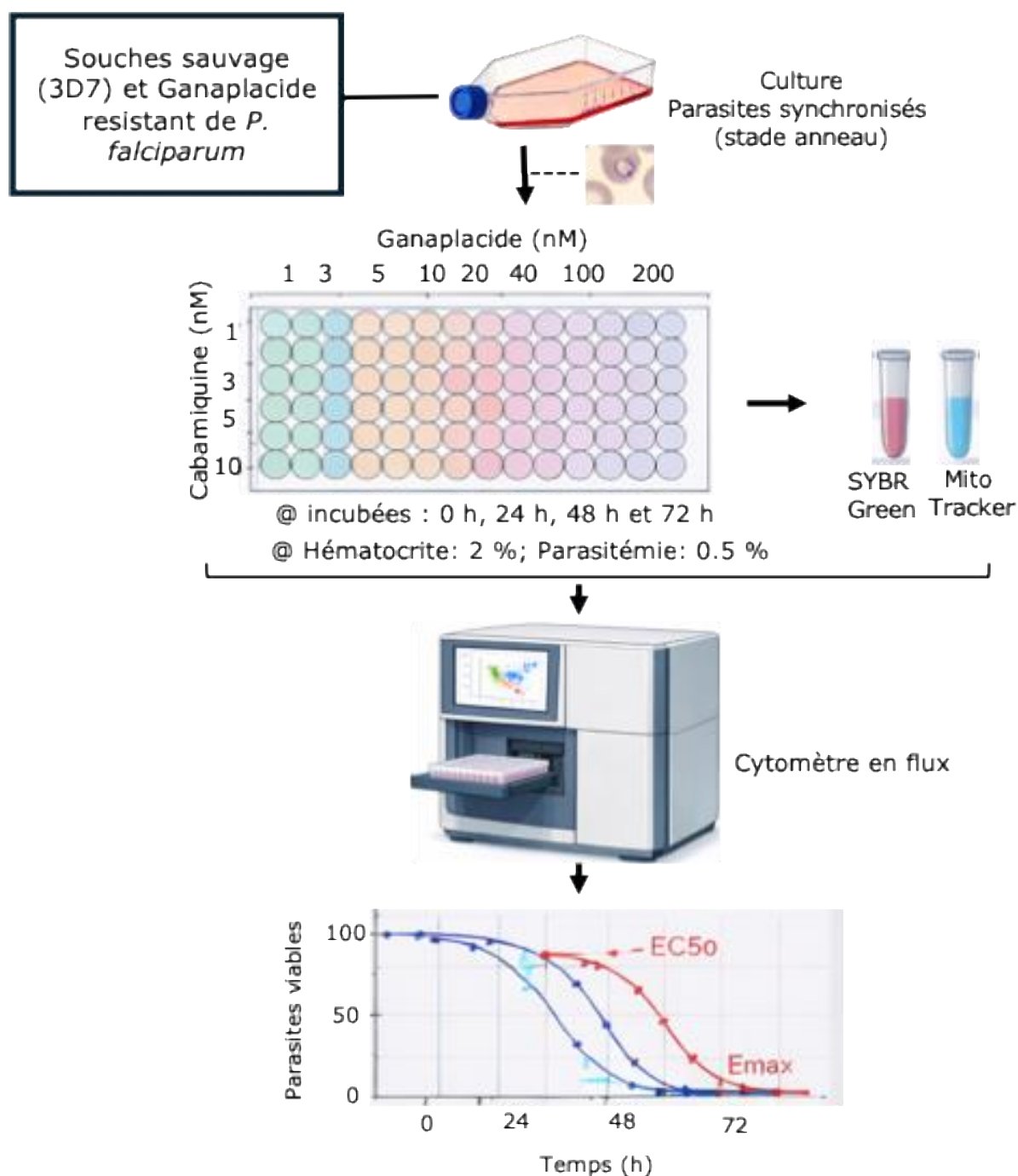


Figure 6 : *In-vitro* procédure expérimentale de détermination de paramètres pharmacologiques de la combinaison Ganaplacide-Cabamiquine sur *P. falciparum*.

4.5.2. Le principe de la cytométrie en flux

La cytométrie de flux est une technique analytique permettant d'analyser rapidement et individuellement des cellules ou particules en suspension en mesurant leurs propriétés physiques et fluorescentes. Les cellules sont entraînées dans un flux liquide et passent une à une devant un faisceau laser ; la lumière diffusée vers l'avant (FSC) renseigne sur la taille

cellulaire, tandis que la diffusion latérale (SSC) reflète la complexité interne (Figure 7). En parallèle, l'utilisation de fluorochromes spécifiques permet de détecter des marqueurs biologiques tels que des protéines, l'ADN ou l'activité mitochondriale. Les signaux lumineux sont convertis en données numériques et représentés sous forme d'histogrammes ou de nuages de points, permettant d'identifier et de quantifier différentes populations cellulaires. Cette technique, largement utilisée en immunologie, biologie cellulaire et parasitologie, offre une analyse rapide, sensible et multiparamétrique, bien qu'elle nécessite des cellules en suspension et une expertise pour l'interprétation des données (Figure 7).

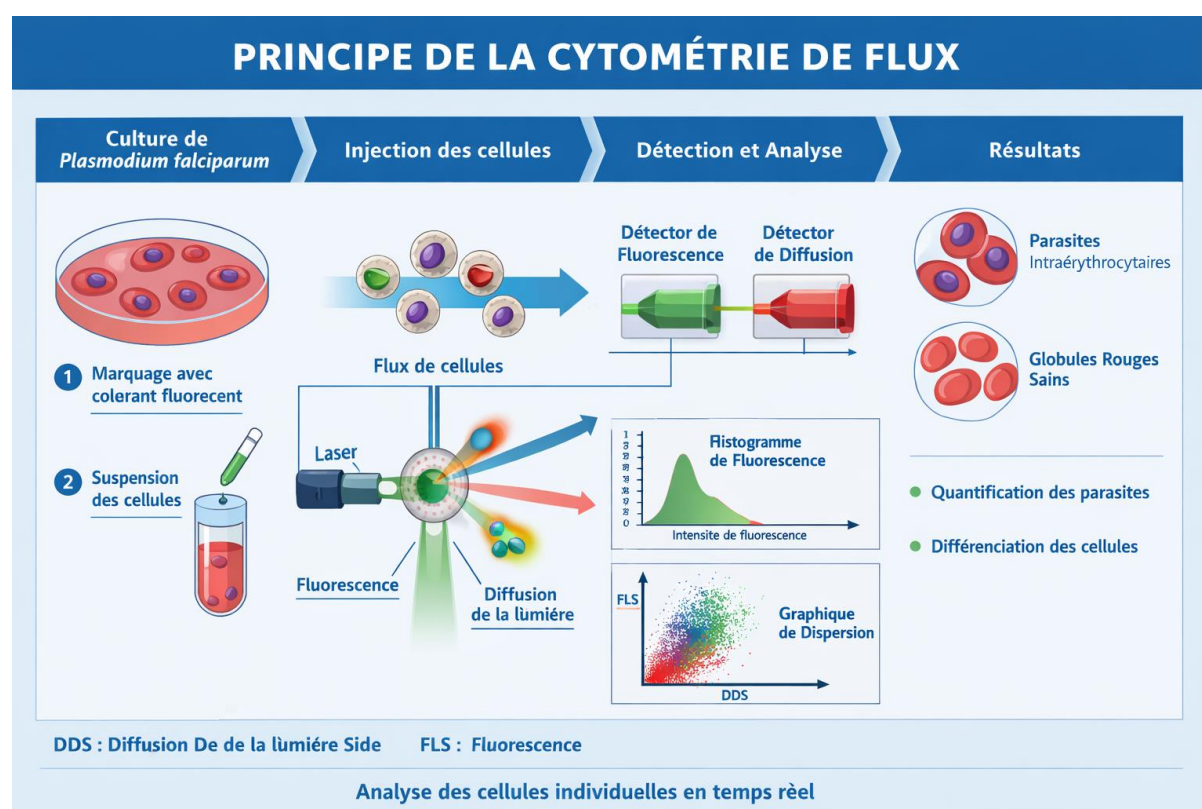


Figure 7 : Principe de la cytométrie de flux pour la détection et la quantification des globules rouges infectés par *Plasmodium falciparum*.

4.5.2. Modélisation mathématique

L'analyse des données a été réalisée à l'aide du logiciel NONMEM (NONlinear Mixed Effects Modeling, version 7.5 ; ICON Development Solutions, Gaithersburg, MD), qui repose sur une approche de modélisation à effets mixtes. Les effets pharmacodynamiques de la Cabamiquine ou du Ganaplacide en monothérapie ont été décrits à l'aide d'un modèle de croissance-mortalité parasitaire, dans lequel la relation concentration-effet est caractérisée par les paramètres EC_{50} et E_{max} (Figure 6). Dans ce cadre, l' EC_{50} correspond à la concentration

du médicament produisant 50 % de l'effet maximal, et constitue un indicateur de la puissance pharmacologique du composé, tandis que Emax représente l'effet maximal atteignable, traduisant l'efficacité intrinsèque du médicament sur la viabilité parasitaire.

Les données expérimentales de viabilité parasitaire ont été ajustées à un modèle sigmoïde de type Emax, permettant d'estimer la puissance et l'efficacité maximale de chaque composé pris isolément. Les effets combinés ont ensuite été évalués à l'aide du modèle d'indépendance de Bliss, utilisé comme modèle nul. Les interactions pharmacodynamiques ont été quantifiées à l'aide du modèle General Pharmacodynamic Interaction (GPDI), en introduisant des paramètres d'interaction (INT) décrivant le déplacement de l'EC₅₀ d'un médicament en présence de l'autre. Les écarts observés entre les effets prédits par le modèle d'indépendance de Bliss et les données expérimentales ont ainsi été interprétés comme des modifications de l'EC₅₀ induites par l'interaction, conformément à l'approche décrite par (Wicha et al.; 2017) (191).

RESULTATS

5. Résultats

5.1. Effet du Ganaplacide sur la souche 3D7 sauvage de *P. falciparum* aux stades asexués sanguins

Le Ganaplacide, évalué en monothérapie, exerce un effet antiparasitaire dépendant de la concentration sur la croissance de *P. falciparum* (souche 3D7 sauvage). Aux concentrations comprises entre 0 et 10 nM, la densité parasitaire reste globalement comparable au témoin, indiquant l'absence d'effet inhibiteur mesurable dans cette plage. À partir de 20-40 nM, une diminution progressive du nombre de parasites viables devient apparente, traduisant l'émergence d'un effet inhibiteur sur la croissance parasitaire. Cet effet s'intensifie, la tendance centrale montre une réduction plus marquée de la viabilité et clairement prononcée aux concentrations élevées (≥ 100 nM), l'inhibition est clairement prononcée, bien que la décroissance reste progressive, suggérant un effet principalement cytostatique plutôt qu'une élimination rapide des parasites (Figure 8). Pris ensemble, ces résultats mettent en évidence une réponse en trois phases pour le Ganaplacide en monothérapie, avec une phase initiale sans effet apparent, suivie d'une inhibition graduelle de la croissance parasitaire, puis d'une inhibition marquée aux concentrations élevées.

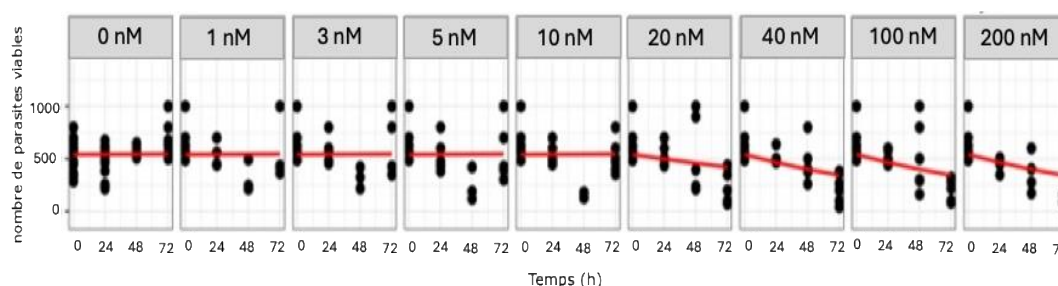


Figure 8 : Cinétique des effets du Ganaplacide en monothérapie sur la souche 3D7 sauvage de *P. falciparum* aux stades asexués sanguins en fonction du temps.

L'axe des ordonnées représente la viabilité parasitaire (comptage au MitoTracker), tandis que l'axe des abscisses correspond au temps d'incubation. Les points noirs indiquent les données observées (DV) ou expérimentales, et la ligne rouge correspond à la prédiction du modèle. Les facettes en lignes représentent les différentes concentrations de Ganaplacide.

5.2. Effet de la Cabamiquine sur la souche 3D7 sauvage de *P. falciparum* aux stades asexués sanguins

La Cabamiquine, évaluée en monothérapie, exerce un effet antiparasitaire dépendant de la concentration sur la croissance de *P. falciparum* (souche 3D7 sauvage). Aux concentrations 0 et 3 nM, la densité parasitaire demeure globalement comparable à celle du témoin, indiquant l'absence d'effet inhibiteur mesurable dans cette plage. À 5 nM, une légère inflexion de la tendance centrale apparaît, suggérant le début d'une inhibition modérée de la croissance parasitaire. Cet effet devient plus net à 5 nM, où une diminution progressive du nombre de parasites viables est observée. À 10 nM, l'inhibition est clairement marquée, traduisant un effet antiparasitaire substantiel, bien que la réponse reste progressive et compatible avec un effet majoritairement cytostatique (Figure 9).

Dans l'ensemble, ces résultats indiquent que la Cabamiquine présente une plage sans effet détectable aux concentrations les plus faibles, suivie d'une zone intermédiaire d'inhibition modérée, puis d'une inhibition marquée à concentration plus élevée lorsqu'elle est utilisée en monothérapie.

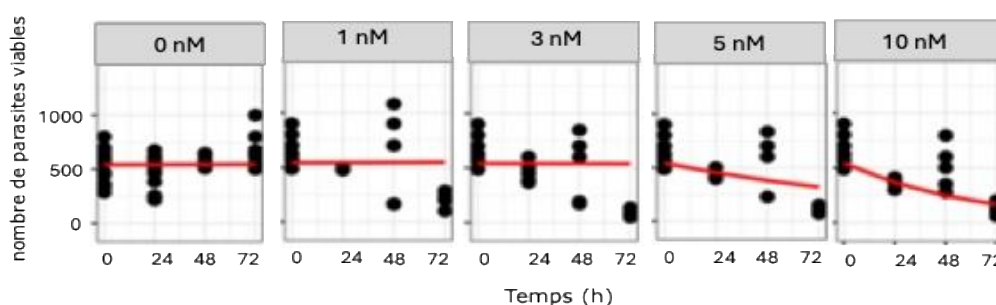


Figure 9 : Cinétique des effets du Cabamiquine en monothérapie et sur la souche 3D7 sauvage de *P. falciparum* aux stades asexués sanguins en fonction du temps.

L'axe des ordonnées représente la viabilité parasitaire (comptage au Mitotracker), tandis que l'axe des abscisses correspond au temps d'incubation. Les points noirs indiquent les données observées (DV) ou expérimentales, et la ligne rouge correspond à la prédiction du modèle. Les facettes en lignes représentent les différentes concentrations de Cabamiquine.

5.3. Effet de la combinaison Ganaplacide - Cabamiquine sur la souche 3D7 sauvage de *P. falciparum* aux stades asexués sanguins

L'action du Ganaplacide et de la Cabamiquine, en combinaison, a été évaluée sur les stades asexués sanguins de la souche 3D7 sauvage de *P. falciparum*. L'analyse des données met en évidence une réponse concentration-dépendante aux doses faibles, la diminution du nombre de parasites viables reste modérée, tandis qu'à des concentrations élevées (≥ 100 nM de Ganaplacide ou ≥ 5 nM de Cabamiquine), la réduction devient rapide et marquée (Figure 10).

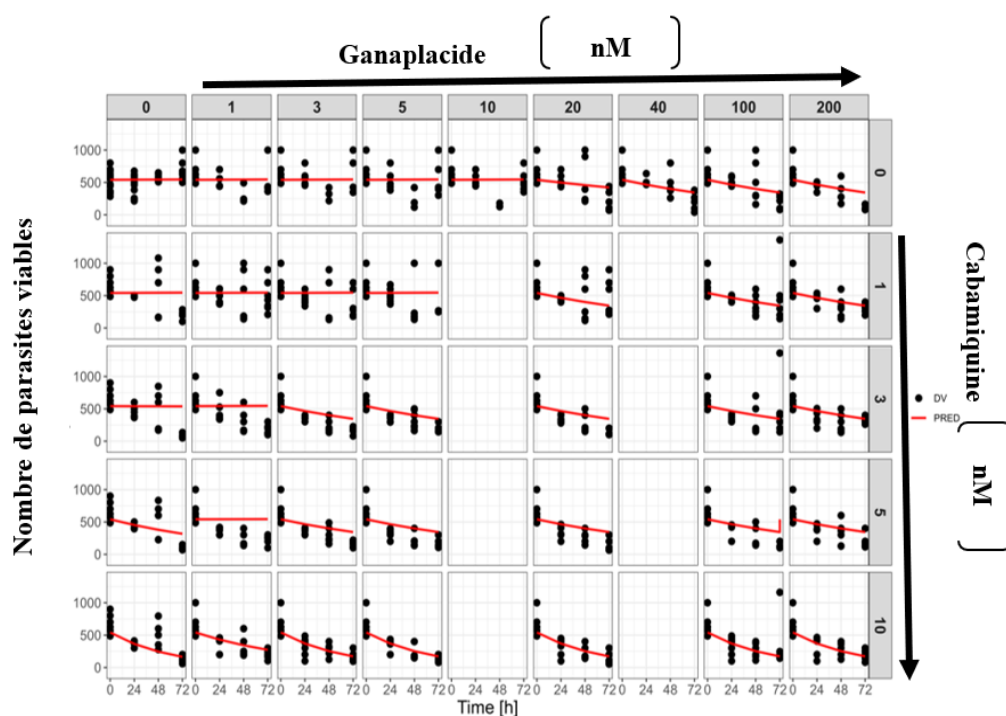


Figure 10 : Cinétique des effets du Ganaplacide et de la Cabamiquine en combinaison, sur la souche 3D7 sauvage de *P. falciparum* aux stades asexués sanguins en fonction du temps.

L'axe des ordonnées représente la viabilité parasitaire (comptage au Mitotracker), tandis que l'axe des abscisses correspond au temps d'incubation. Les points noirs indiquent les données observées (DV) ou expérimentales, et la ligne rouge correspond à la prédiction du modèle. Les facettes en lignes représentent les différentes concentrations de Ganaplacide, tandis que celles en colonnes correspondent aux concentrations de Cabamiquine.

Pour mieux illustrer ces observations, quatre conditions représentatives ont été sélectionnées et présentées dans la (Figure 10), à savoir le témoin sans médicament (0 nM), le Ganaplacide

seul à 3 nM, la Cabamiquine seule à 3 nM et la combinaison Ganaplacide-Cabamiquine (3 + 3 nM). Dans la condition témoin, la densité parasitaire demeure stable sur 72 heures, confirmant la validité du système expérimental. Le Ganaplacide seul montre un effet cytostatique léger, tandis que la Cabamiquine seule provoque une inhibition partielle, sans réduction majeure de la population parasitaire (Figure 11). En revanche, leur combinaison induit une chute majeure du nombre de parasites viables dès 48 heures, indiquant une interaction pharmacodynamique non détrimentale et positive (Figure 11).

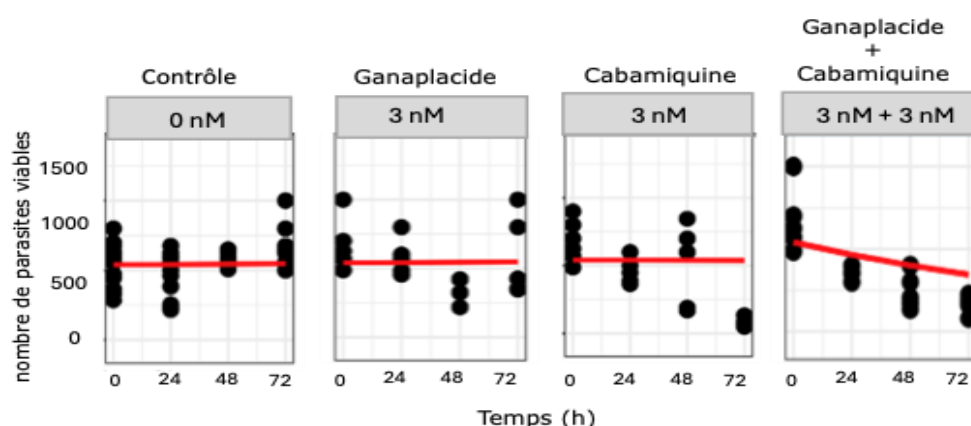


Figure 11 : Synergie pharmacodynamique bilatérale temps-effet du Ganaplacide et de la Cabamiquine sur la souche 3D7 sauvage de *P. falciparum* aux stades asexués sanguins en fonction du temps.

Les points noirs indiquent les données observées (DV) ou expérimentales, et la ligne rouge correspond à la prédiction du modèle. Les différentes concentrations du Ganaplacide et de la Cabamiquine dans les facettes.

Cette interaction est quantifiée dans (Tableau III), qui compare les valeurs de EC_{50} obtenues en monothérapie et en association. Pour le Ganaplacide, l' EC_{50} diminue de 22,2 nM à 19,6 nM, tandis que pour la Cabamiquine, elle passe de 3,46 nM à 1,92 nM lorsqu'ils sont combinés. Cette réduction parallèle des concentrations efficaces traduit une synergie bilatérale, où chaque composé potentialise l'activité de l'autre (Tableau III). Ainsi, les (Figures 10) et (Figures 11), conjointement au (Tableau III), démontrent clairement que, chez la souche 3D7 sauvage de *P. falciparum*, la co-administration du Ganaplacide et de la Cabamiquine induit une interaction réciproquement bénéfique, renforçant l'efficacité antiparasitaire globale de la combinaison et suggérant une synergie robuste entre les deux agents.

Tableau III : Décalage des EC₅₀ entre monothérapie et combinaison traduisant une synergie bilatérale du Ganaplacide et de la Cabamiquine sur la souche 3D7 sauvage de *P. falciparum*.

Paramètres	Ganaplacide	Cabamiquine	Interaction
EC ₅₀ mono	22.2 nM	3.46 nM	Synergie
EC ₅₀ combo	19.6 nM	1.92 nM	

L'évolution du taux de mise à mort parasitaire est représentée sous forme de carte de chaleur en fonction des concentrations et du temps (Figure 12). À 24 h, l'effet reste globalement faible et n'apparaît de manière notable qu'à des concentrations proches ou supérieures aux EC₅₀ en monothérapie (≥ 3.43 nM pour la Cabamiquine et ≥ 22 nM pour le Ganaplacide). Après 48 h, une intensification claire de l'effet est observée, la mortalité intermédiaire est atteinte dès des concentrations modérées, notamment lorsque 20 à 50 nM de Ganaplacide sont associés à 5-6 nM de Cabamiquine (Figure 12). À 72 h, la synergie devient manifeste : la combinaison de 3 nM de Cabamiquine et 22 nM de Ganaplacide entraîne environ 50 % de mortalité, tandis que des taux supérieurs à 80 % sont atteints pour 5-6 nM de Cabamiquine combinés à 50-100 nM de Ganaplacide, au-delà de ces concentrations pour les deux composés un taux de mortalité maximal est atteint (Figure 12). Ces résultats confirment que, chez la souche 3D7 sauvage, l'association des deux composés permet d'obtenir un effet antiparasitaire à des expositions réduites par rapport aux monothérapies, traduisant une synergie bilatérale temporelle et concentration-dépendante.

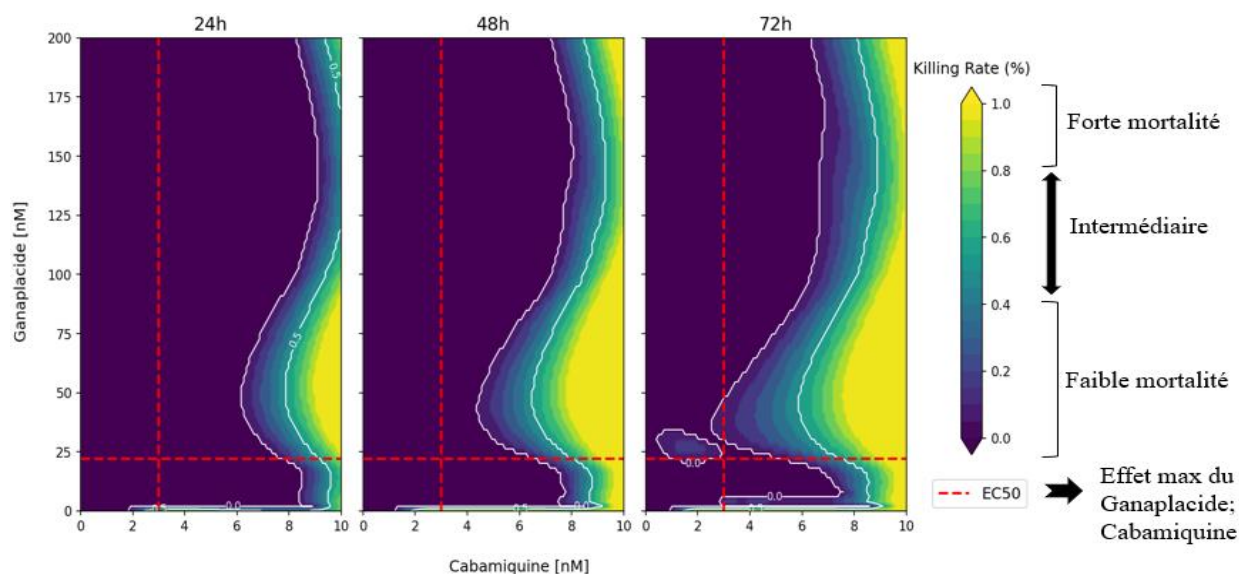


Figure 12 : Dynamique de l'effet combiné du Ganaplacide et de la Cabamiquine sur la mortalité des parasites de *P. falciparum* (souche 3D7 sauvage) au cours du temps.

L'axe des ordonnées représente les concentrations du Ganaplacide, tandis que l'axe des abscisses indique les concentrations de la Cabamiquine. L'échelle de couleur illustre la variabilité du taux de mortalité parasitaire, et les lignes rouges en pointillés correspondent aux valeurs d'EC₅₀ des deux composés.

Les paramètres estimés du modèle pharmacodynamique final sont présentés dans le (Tableau IV). Ils résument l'ajustement global du modèle décrivant la dynamique combinée du Ganaplacide et de la Cabamiquine sur la souche 3D7 sauvage de *P. falciparum*, en cohérence avec les résultats expérimentaux illustrés (figure 12).

Tableau IV : Les Paramètres estimés du modèle pharmacodynamique final décrivant l'effet combiné du Ganaplacide et de la Cabamiquine sur la souche 3D7 sauvage de *P. falciparum*.

Le paramètre No correspond à la population parasitaire initiale avant traitement, tandis que KG décrit le taux de croissance intrinsèque du parasite en absence d'effet médicamenteux. Les paramètres Emax du Ganaplacide et de la Cabamiquine représentent l'effet maximal théorique que chaque molécule peut exercer sur la réduction du nombre de parasites viables. L'EC₅₀ indique la concentration nécessaire pour atteindre la moitié de cet effet maximal, traduisant la sensibilité du parasite au traitement. Enfin, le paramètre Hill (ou coefficient de Hill) exprime la pente de la relation concentration-effet. Les CI₉₅ %, qui correspondent aux intervalles de confiance à 95 % des paramètres estimés par le modèle, traduisent la précision statistique des estimations et permettent d'évaluer la robustesse du modèle.

Paramètres	Valeurs	Concentration inhibitrice de 95% (CI ₉₅ %)
No (population parasitaire initiale avant traitement)	746	[698.764 - 793.236]
KG (taux de croissance intrinsèque du parasite en absence d'effet médicamenteux)	0,00014*	0,00014*
E _{max} du Ganaplacide	0,0199 %	[0,0174 - 0,0224]
E _{max} de la Cabamiquine	0,0371 %	[0,0324 - 0,0418]
EC ₅₀ du Ganaplacide	22.2 nM	[16.477 - 27.923]
EC ₅₀ de la Cabamiquine	3,46 nM	[0,657 - 6,263]
Hill du Ganaplacide	3,18	[1,161 - 5,199]
Hill de la Cabamiquine	0,296	[0,0588 - 0,533]

* : signifie fixe

5.4. Effet de la combinaison Ganaplacide - Cabamiquine sur la souche 3D7 résistante au Ganaplacide de *P. falciparum* aux stades asexués sanguins

Chez la souche 3D7 résistante au Ganaplacide, le modèle pharmacodynamique met en évidence une altération marquée de la réponse au Ganaplacide, contrastant fortement avec celle observée chez la souche 3D7 sauvage de *P. falciparum*. Les profils temporels en monothérapie révèlent une efficacité très limitée du Ganaplacide, la croissance parasitaire reste soutenue jusqu'à 48 h, et la décroissance du nombre de parasites viables n'apparaît qu'à des concentrations élevées (≥ 100 nM) et après un délai prolongé (Figure 13). Ce comportement traduit une tolérance acquise du parasite, se manifestant par une diminution de la vitesse de mise à mort et une perte de sensibilité à l'exposition médicamenteuse.

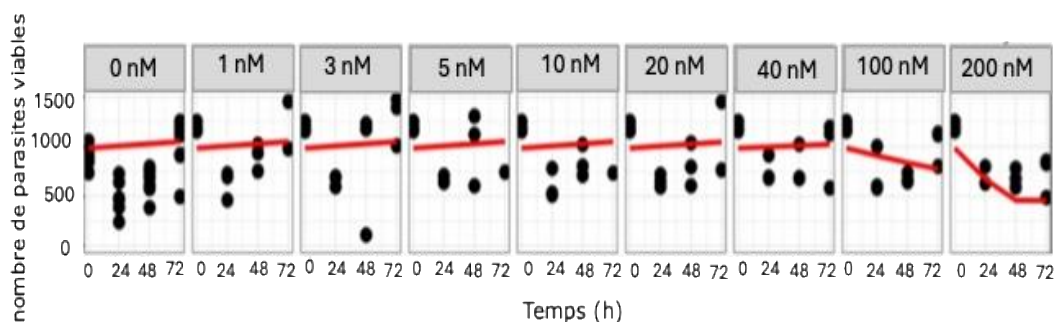


Figure 13 : Cinétique des effets du Ganaplacide en monothérapie sur la souche 3D7 résistante au Ganaplacide de *P. falciparum* aux stades asexués sanguins en fonction du temps.

L'axe des ordonnées représente la viabilité parasitaire (comptage au MitoTracker), tandis que l'axe des abscisses correspond au temps d'incubation. Les points noirs indiquent les données observées (DV) ou expérimentales, et la ligne rouge correspond à la prédiction du modèle. Les facettes en lignes représentent les différentes concentrations de Ganaplacide.

Cependant, la Cabamiquine a exercé un effet rapide sur les parasites résistants au Ganaplacide, y compris à des concentrations qui étaient auparavant faibles et peu actives sur les souches sauvages.

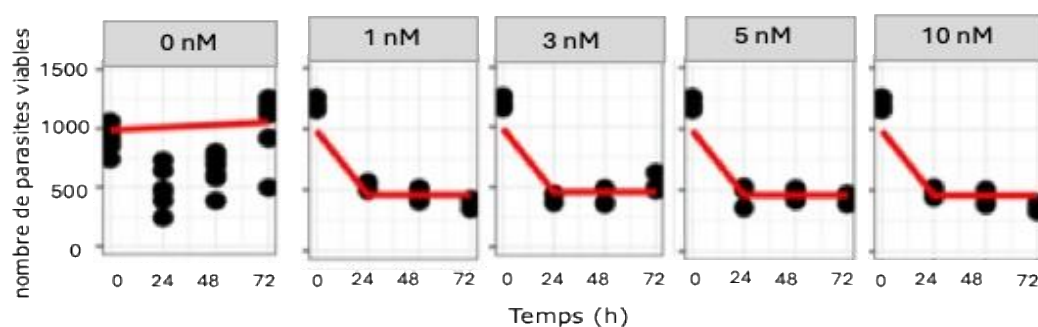


Figure 14 : Cinétique des effets du Cabamiquine en monothérapie sur la souche 3D7 résistante au Ganaplacide de *P. falciparum* aux stades asexués sanguins en fonction du temps.

L'axe des ordonnées représente la viabilité parasitaire (comptage au MitoTracker), tandis que l'axe des abscisses correspond au temps d'incubation. Les points noirs indiquent les données observées (DV) ou expérimentales, et la ligne rouge correspond à la prédiction du modèle. Les facettes en lignes représentent les différentes concentrations de la Cabamiquine.

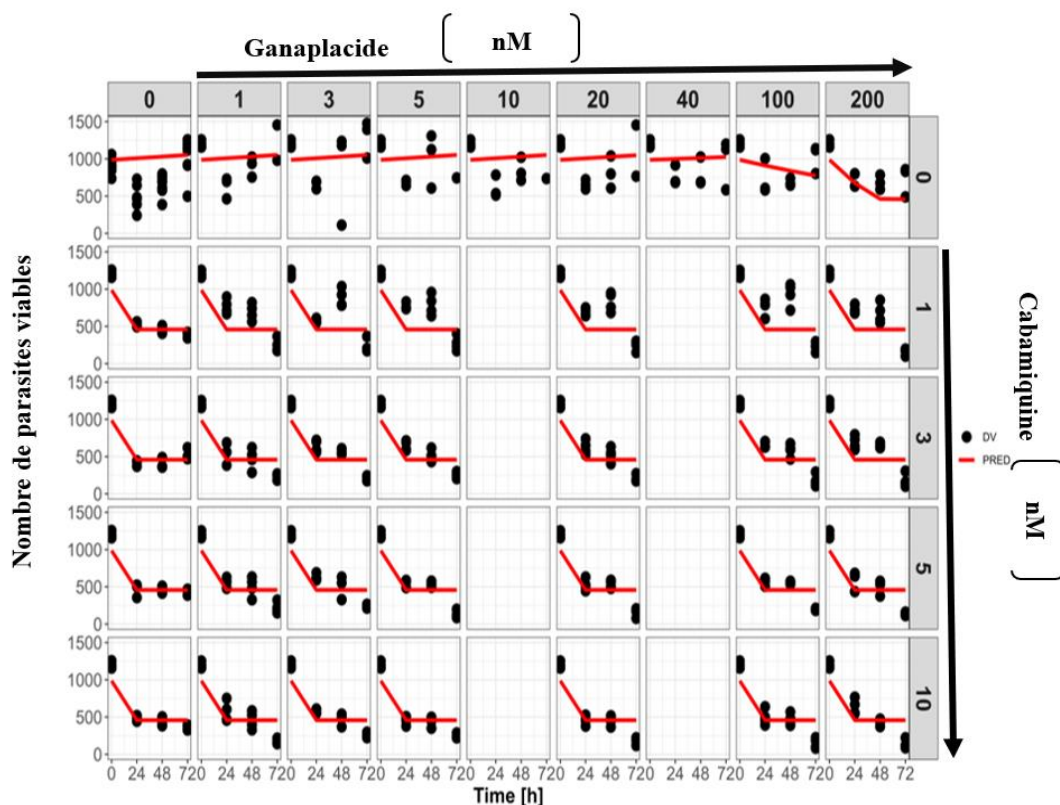


Figure 15 : Cinétique de la viabilité parasitaire sous Ganaplacide et Cabamiquine, administrés seuls ou en combinaison, chez la souche 3D7 résistante au Ganaplacide.

L'axe des ordonnées indique le nombre de parasites viables (comptage au MitoTracker) et l'axe des abscisses le temps d'incubation. Les points noirs correspondent aux données expérimentales observées (DV) et la ligne rouge aux prédictions du modèle pharmacodynamique. Les facettes en lignes illustrent les concentrations croissantes de Ganaplacide, tandis que celles en colonnes représentent les concentrations de Cabamiquine.

L'ajout de faibles concentrations de Cabamiquine (1-3 nM) modifie profondément cette dynamique, comme le met en évidence la (Figure 15). Dès 24 h, on observe une chute rapide et soutenue du nombre de parasites viables, même lorsque le Ganaplacide est administré à des concentrations faibles ou modérées. Cette inversion de tendance illustre une récupération fonctionnelle de l'efficacité du Ganaplacide sous l'effet de la Cabamiquine, qui semble agir comme un amplificateur pharmacologique ou un facilitateur d'action (Figure 16). Ce phénomène suggère que la Cabamiquine réactive ou renforce des mécanismes de mise à mort que le Ganaplacide seul ne parvient pas à déclencher efficacement dans ce contexte de résistance.

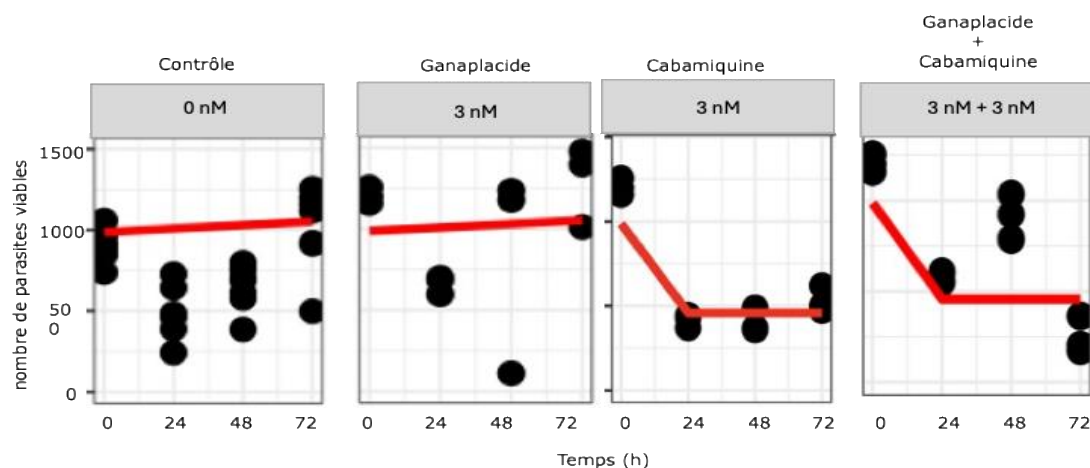


Figure 16 : Effet de potentialisation pharmacodynamique unidirectionnelle de la Cabamiquine sur le Ganaplacide chez les parasites de *P. falciparum* 3D7 résistants au Ganaplacide.

Les points noirs représentent les données expérimentales observées (DV) et la ligne rouge les prédictions issues du modèle pharmacodynamique. Les facettes illustrent les différentes combinaisons de concentrations de Ganaplacide et de Cabamiquine testées. Ces résultats quantitatifs (Tableau V), confirme la nature de l'interaction observée. L' EC_{50} du Ganaplacide diminue de façon spectaculaire, passant de 1390 nM en monothérapie à 255 nM en combinaison, soit une amélioration d'efficacité d'environ six fois. En revanche, l' EC_{50} de la Cabamiquine reste stable à 0,62 nM, indiquant que son activité intrinsèque n'a pas été influencé par la présence du Ganaplacide (Tableau V). Cette asymétrie traduit une synergie unidirectionnelle, où la Cabamiquine potentialise la réponse pharmacodynamique du Ganaplacide sans réciprocité. Dans l'ensemble, les (Figures 15) et (Figures 16), appuyées par les estimations du Tableau V, démontrent que la Cabamiquine est capable de restaurer la sensibilité du Ganaplacide sur la souche 3D7 résistante au Ganaplacide. Cette interaction unidirectionnelle met en évidence un mécanisme de synergie ciblée, dans lequel la Cabamiquine agit comme un modulateur pharmacodynamique rétablissant une efficacité antiparasitaire complète, même dans un contexte de tolérance au Ganaplacide.

Tableau V : La Variations des valeurs EC_{50} (concentration nécessaire pour atteindre la moitié de cet effet maximal) estimés entre monothérapie et combinaison sur des souches résistantes au Ganaplacide (5x IC_{50} -GNF179-FS : *PfCARL*) indiquant la potentialisation du Ganaplacide par Cabamiquine.

Paramètres	Ganaplacide	Cabamiquine	Interaction
EC_{50} mono (nM)	1390 nM	0.62 nM	Synergie unidirectionnelle
EC_{50} combo (nM)	255 nM	0.62 nM	

Tableau VI : Les principaux paramètres estimés du modèle pharmacodynamique appliqué aux souches résistantes au Ganaplacide (*PfCARL*).

Le paramètre N_0 correspond à la population parasitaire initiale avant traitement, tandis que KG décrit le taux de croissance intrinsèque du parasite en absence d'effet médicamenteux. Les paramètres E_{max} du Ganaplacide et de la Cabamiquine représentent l'effet maximal théorique que chaque molécule peut exercer sur la réduction du nombre de parasites viables. L' EC_{50} indique la concentration nécessaire pour atteindre la moitié de cet effet maximal, traduisant la sensibilité du parasite au traitement. Enfin, le paramètre Hill (ou coefficient de Hill) exprime la pente de la relation concentration-effet. Les $IC_{95\%}$, qui correspondent aux intervalles de confiance à 95 % des paramètres estimés par le modèle, traduisent la précision statistique des estimations et permettent d'évaluer la robustesse du modèle.

Paramètres	Valeurs	Concentration inhibitrice de 95% (CI ₉₅ %)
No (population parasitaire initiale avant traitement)	959	[955,609 - 962,391]
KG (taux de croissance intrinsèque du parasite en absence d'effet médicamenteux)	0,000927	[0,000893 - 0,000961]
E _{max} du Ganaplacide	5,38 %	[5,162 - 5,598]
E _{max} de la cabamiquine	0,0591 %	[0,0589 - 0,0593]
EC ₅₀ du Ganaplacide	1390 nM	[1308,464 - 1471,536]
EC ₅₀ de la cabamiquine	0,595 nM	[0,573 - 0,617]
Hill du Ganaplacide	2,79	[2,675 - 2,905]
Hill de la Cabamiquine	3,49	[3,323 - 3,657]

5.5. Interactions pharmacodynamiques entre le Ganaplacide et la Cabamiquine sur les souches 3D7 sauvages et résistantes au Ganaplacide

Les interactions pharmacodynamiques entre le Ganaplacide et la Cabamiquine, modélisées selon le cadre du GPDI (General Pharmacodynamic Interaction, Wicha et *al*, 2007), mettent en évidence une évolution nette du profil d'interaction entre la souche 3D7 sauvage et la souche résistante au Ganaplacide (*PfCARL*) (Tableau VII et Tableau VIII). Chez la souche sauvage, l'interaction a été modélisée sur le EC₅₀, Les paramètres EC₅₀_INT12 = - 0.52 et EC₅₀_INT21 = - 0.92 présentent tous deux des valeurs négatives, indiquant une synergie bilatérale entre les deux molécules (Tableau VII).

La Cabamiquine réduit l'EC₅₀ du Ganaplacide, ce qui se traduit par une augmentation marquée de sa puissance pharmacodynamique. De manière réciproque, le Ganaplacide diminue également l'EC₅₀ de la Cabamiquine, renforçant ainsi la réponse antiparasitaire (Tableau VII). Cette interaction mutuelle traduit une coopération synergique équilibrée, caractéristique de la souche sensible, où les deux composés conservent leur efficacité intrinsèque tout en potentialisant leur action respective (Tableau VII).

Tableau VII : Paramètres d'interaction pharmacodynamique (INT) liés à la modulation de l' EC_{50} entre le Ganaplacide et la Cabamiquine sur la souche 3D7 sauvage de *P. falciparum*.

Les paramètres EC_{50_INT12} et EC_{50_INT21} représentent l'influence croisée de chaque médicament sur la puissance (EC_{50}) de l'autre. Une valeur INT négative ($INT < 0$) indique une synergie (diminution de l' EC_{50}), une valeur proche de zéro traduit une additivité, et une valeur positive ($INT > 0$) correspond à un antagonisme (augmentation de l' EC_{50})

Paramètre	Description	Valeur estimée	Effet sur EC_{50}	Type d'interaction (GPDI)
EMAX_INT12	Influence de la Cabamiquine sur l' EC_{50} du Ganaplacide	- 0.52	Diminution de l' EC_{50} du Ganaplacide	Synergie ($INT < 0$)
EMAX_INT21	Influence du Ganaplacide sur l' EC_{50} de la Cabamiquine	- 0.92	Diminution de l' EC_{50} de la Cabamiquine (tableau III)	Synergie faible ($INT < 0$)

Chez la souche 3D7 résistante au Ganaplacide (*PfCARL*), l'interaction a été modélisée au niveau du Emax, reflet de la capacité de mise à mort parasitaire. Les valeurs obtenues, $EMAX_INT12 = - 0.05$ et $EMAX_INT21 = 0.002$ (Tableau VIII), suggèrent une interaction unidirectionnelle asymétrique, la Cabamiquine induit une diminution de l' EC_{50} du Ganaplacide (INT négatif), traduisant une synergie sur l'efficacité, tandis que le Ganaplacide n'exerce pratiquement aucun effet sur la Cabamiquine (INT proche de zéro, additivité) (Tableau VIII). Ce profil indique que, malgré la résistance, la Cabamiquine conserve sa pleine activité et parvient encore à restaurer l'efficacité du Ganaplacide, bien que le plafond d'effet global demeure limité par la tolérance parasitaire. Ainsi, la comparaison entre les deux souches met en évidence une transition d'une synergie bilatérale puissante (souche 3D7 sauvage) vers une synergie unidirectionnelle (souche 3D7 résistante au Ganaplacide) (Tableau VII et Tableau VIII). Cette évolution reflète une adaptation pharmacodynamique du parasite à la pression sélective du Ganaplacide dans un contexte de sensibilité, les deux médicaments coopèrent pour renforcer mutuellement leur puissance, alors que dans un contexte de

résistance, la Cabamiquine agit principalement comme amplificateur pharmacologique, maintenant la réponse antiparasitaire et restaure l'effet du Ganaplacide.

Tableau VIII : Paramètres d'interaction pharmacodynamique (INT) liés à la modulation de l' EC_{50} entre le Ganaplacide et la Cabamiquine sur la souche 3D7 de *P. falciparum* résistante au Ganaplacide.

Les paramètres EC_{50_INT12} et EC_{50_INT21} représentent l'influence croisée de chaque médicament sur la puissance (EC_{50}) de l'autre. Une valeur INT négative ($INT < 0$) indique une synergie (diminution de l' EC_{50}), une valeur proche de zéro traduit une additivité, et une valeur positive $INT > 0$ correspond à un antagonisme (augmentation de l' EC_{50}).

Paramètres	Description	Valeur estimée	Effet sur EC_{50}	Type d'interaction (GPDI)
EMAX_INT12	Influence de la Cabamiquine sur l' EC_{50} du Ganaplacide	- 0.05	Diminution de l' EC_{50} du Ganaplacide	Synergie ($INT < 0$)
EMAX_INT21	Influence du Ganaplacide sur l' EC_{50} de la Cabamiquine	0.002	Pas de variation de l' EC_{50} du Cabamiquine (tableau IV)	Additivité ($INT \approx 0$)

INT < 0	INT = 0	INT > 0
Synergie	Additivité	Antagonisme

COMMENTAIRES ET DISCUSSION

6. Commentaires et discussion

La présente étude a porté sur l'évaluation pharmacodynamique de la Cabamiquine et du Ganaplacide, en monothérapie puis en combinaison, sur la souche sauvage 3D7 de *P. falciparum* ainsi que sur des souches résistantes au Ganaplacide, à l'aide d'un design en damier (*checkerboard*), d'une quantification longitudinale temps-effet et d'une modélisation selon le critère de Bliss.

6.1. Profils pharmacodynamiques en monothérapie

Les résultats en monothérapie ont révélé des profils d'inhibition distincts entre la Cabamiquine et le Ganaplacide sur la souche sauvage 3D7. La Cabamiquine a présenté une inhibition plus précoce avec des valeurs d'EC₅₀ plus faibles, tandis que le Ganaplacide a montré une inhibition plus progressive avec des EC₅₀ plus élevées, évocatrice d'un effet principalement cytostatique à ce stade.

Ces résultats concernant la Cabamiquine sont comparables à ceux rapportés par (Maïga et *al.*, 2024)(170), qui ont décrit une activité antiparasitaire robuste de cette molécule en monothérapie sur les stades asexués sanguins. Concernant le Ganaplacide (KAF156), les résultats obtenus sont cohérents avec les profils décrits dans la littérature pour cette molécule de la classe des imidazolopipérazines, rapportée comme active sur plusieurs stades parasitaires mais présentant une cinétique d'action plus lente sur les stades sanguins asexués(167). Ces observations confirment que les deux composés présentent des propriétés pharmacodynamiques distinctes et complémentaires, justifiant leur évaluation en association.

6.2. Interaction pharmacodynamique sur la souche sauvage 3D7

Sur la souche sensible 3D7, la combinaison Ganaplacide-Cabamiquine a induit une synergie bilatérale, traduisant une coopération réciproque entre les deux agents (Tableau III, Tableau VII, Figure 10 et Figure 11). Modélisée selon le principe d'indépendance de Bliss.

Modélisée selon le principe d'indépendance de Bliss(192,193), cette interaction a produit des cinétiques de réduction de viabilité plus rapides et plus marquées que prévu par le modèle additif, sans aucun signe d'antagonisme.

À notre connaissance, aucune étude antérieure n'a documenté cette synergie bilatérale au stade sanguin asexué de *P. falciparum* pour cette association spécifique. Cette interaction s'expliquerait par le fait que les deux composés ciblent des niveaux différents d'une même voie métabolique : la Cabamiquine inhibe la synthèse protéique via *PfeEF2*(194),), tandis que le Ganaplacide perturbe le transport intracellulaire des protéines(153,158). Ainsi, la réduction de la production de nouvelles protéines par la Cabamiquine diminue la quantité de Ganaplacide

nécessaire pour exercer un effet, abaissant son EC_{50} de 22,2 nM en monothérapie (Tableau III). En retour, le Ganaplacide compense la latence d'action de la Cabamiquine, dont l'effet est différé en raison des protéines préexistantes dans le parasite. Ces mécanismes complémentaires expliquent la nature bilatérale de la synergie observée.

6.3. Potentialisation unidirectionnelle sur les souches résistantes au Ganaplacide

Sur les souches résistantes au Ganaplacide, la combinaison a produit un profil d'interaction différent de celui observé chez les souches sauvages 3D7. Une réduction marquée de l' EC_{50} du Ganaplacide a été constatée en présence de Cabamiquine (Tableau V, Tableau VIII, Figure 15 et Figure 16), alors que l' EC_{50} de la Cabamiquine est demeurée stable. Cette asymétrie traduit un rôle de facilitateur ou de perpétrateur de la Cabamiquine(191), constituant ainsi une potentialisation unidirectionnelle.

Il est à noter qu'en monothérapie, une concentration de Ganaplacide supérieure ou égale à 100 nM était nécessaire pour obtenir des effets partiels sur les souches résistantes au Ganaplacide, contre 22,2 nM sur les souches sensibles 3D7 (Tableau III). La coadministration avec la Cabamiquine a permis de ramener cette valeur à un niveau sensiblement inférieur (Tableau V). Cette translation pharmacodynamique suggère que la Cabamiquine, en agissant en amont ou en parallèle via l'inhibition de *PfeEF2*, génère un stress cellulaire qui rend le parasite résistant plus vulnérable à l'action du Ganaplacide sur le trafic intracellulaire ou les nouvelles voies de perméation. Des résultats comparables ont été obtenus par (Maïga et *al.*, 2024)(170) dans une étude menée au Mali, qui ont décrit une potentialisation de la Pyronaridine sur des souches résistantes à la Cabamiquine, confirmant la capacité de cette molécule à restaurer ou amplifier l'activité d'un partenaire antipaludique dans un contexte de résistance.

6.4. Comparaison avec les données disponibles dans la littérature

À ce jour, la seule étude recensée portant sur cette association thérapeutique a été conduite sur la phase hépatique de *P. berghei*(21). Cette étude, utilisant des méthodologies comparables — isobologramme, design en damier et modélisation pharmacodynamique longitudinale avec Bliss comme critère d'additivité — n'a mis en évidence ni synergie ni antagonisme, les profils de clairance observés étant compatibles avec une additivité simple(21).

Nos résultats au stade sanguin de *P. falciparum* diffèrent donc de ceux rapportés au stade hépatique de *P. berghei*. Cette différence pourrait s'expliquer par plusieurs facteurs(195). Premièrement, l'environnement cellulaire (hépatocytes versus érythrocytes)(95,196,197), la cinétique d'invasion parasitaire et les systèmes de mesure diffèrent entre les deux modèles, ce qui influence la nature et l'intensité des interactions médicamenteuses. Deuxièmement, les

profils pharmacodynamiques des deux composés varient selon le stade(198): au stade hépatique, l' EC_{50} du Ganaplacide est nettement plus élevée (≈ 371 nM) que celle de la Cabamiquine ($\approx 3,6$ nM), traduisant un déséquilibre de puissance prononcé. Au stade sanguin, bien que cet écart persiste ($\approx 22,2$ nM pour le Ganaplacide contre $\approx 3,46$ nM pour la Cabamiquine), il est considérablement réduit, ce qui pourrait favoriser une interaction pharmacodynamique plus équilibrée et détectable. Par ailleurs, les pentes des courbes dose-réponse (paramètre de Hill) diffèrent entre les deux stades, ce qui peut modifier la forme des isoboles et atténuer visuellement une synergie existante selon la plage de concentration considérée.

6.5. Pertinence clinique et implications thérapeutiques

Les deux composés évalués dans cette étude font l'objet d'un développement clinique avancé. Le Ganaplacide est actuellement en phase III d'évaluation, notamment en association avec la Luméfántrine-SDF(162), avec pour objectif de combiner une action rapide à une longue demi-vie afin de prévenir les recrudescences. Des études CHMI (*controlled human malaria infection*) ont par ailleurs documenté une efficacité prophylactique de cette molécule (179). De son côté, la Cabamiquine a démontré une efficacité remarquable dans des études CHMI, avec une protection causale complète dès 100 mg et une clairance totale de la parasitémie à 800 mg, confirmant son potentiel en monothérapie à forte dose.

Ces résultats, associés aux données de (Maïga et *al.*, 2024)(170), montrant une synergie entre la Cabamiquine et la Pyronaridine sur des souches résistantes à la Cabamiquine, permettent de considérer cette molécule comme un partenaire de combinaison particulièrement pertinent. En abaissant l'aire d'exposition sous-inhibitrice du partenaire, la Cabamiquine pourrait freiner la pression de sélection et ralentir l'émergence de résistances cliniques. Inversement, l'adjonction d'un partenaire à clairance rapide pourrait réduire la probabilité de sélection de mutations *PfeEF2* sous exposition à la Cabamiquine.

6.6. Limites de l'étude

Cette étude présente plusieurs limites. Le nombre restreint de souches résistantes testées limite la puissance statistique pour confirmer l'unidirectionnalité de l'interaction observée. Par ailleurs, l'effet de la combinaison sur des parasites résistants à la Cabamiquine n'a pas encore été exploré. Les isolats cliniques de terrain n'ont pas été inclus dans cette analyse, pas plus que les stades gamétocytaires ou les espèces plasmodiales non-*falciparum*, ce qui restreint la portée translationnelle des résultats obtenus.

CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

7. Conclusion et recommandations

7.1. Conclusion

Cette étude offre une analyse mécanistique approfondie des interactions médicamenteuses entre la Cabamiquine et le Ganaplacide, et souligne leur complémentarité stratégique dans le traitement du paludisme. La Cabamiquine s'affirme comme un agent clé de restauration de sensibilité dans les contextes de tolérance ou de résistance, tandis que le Ganaplacide conserve un rôle central en tant que partenaire à action rapide. L'intégration de ces deux composés dans une stratégie combinée apparaît ainsi comme une option thérapeutique prometteuse, tant pour les souches sensibles que pour les souches résistantes de *P. falciparum*.

7.2. Recommandations

Au regard de nos résultats, nous formulons les recommandations suivantes :

Poursuivre cette étude de la combinaison en incluant le recrudescence de la Cabamiquine et les isolats de terrain.

Mener *in-vivo* sur des modèles animaux et chez l'homme, des études évaluant l'activité de la combinaison Ganaplacide-Cabamiquine sur le *P. falciparum*.

Poursuivre les investigations mécanistiques afin de comprendre les bases moléculaires de la synergie observée dans cette étude.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

8. Références bibliographiques

1. Rajaonarivelo V, Le Goff G, Cot M, Brutus L. Les anophèles et la transmission du paludisme à Ambohimena, village de la marge occidentale des Hautes-Terres Malgaches. *Parasite*. mars 2004;11(1):75-82. doi:10.1051/parasite/200411175
2. Schindler T, Robaina T, Sax J, Bieri JR, Mpina M, Gondwe L, et al. Molecular monitoring of the diversity of human pathogenic malaria species in blood donations on Bioko Island, Equatorial Guinea. *Malar J*. 15 janv 2019;18:9. doi:10.1186/s12936-019-2639-8 PubMed PMID: 30646918; PubMed Central PMCID: PMC6332537.
3. Vásquez AM, Zuluaga-Idárraga L, Arboleda M, Usuga LY, Gallego-Marin C, Lasso A, et al. Malaria in Pregnancy in Endemic Regions of Colombia: High Frequency of Asymptomatic and Peri-Urban Infections in Pregnant Women with Malaria. *Infect Dis Obstet Gynecol*. 20 août 2020;2020:1-10. doi:10.1155/2020/2750258
4. Matubi EM, Bukaka E, Luemba TB, Situakibanza H, Sangaré I, Mesia G, et al. Détermination des paramètres bioécologiques et entomologiques d'*Anopheles gambiae* sl dans la transmission du paludisme à Bandundu-ville, République Démocratique de Congo. *Pan Afr Med J*. 8 oct 2015;22:108. doi:10.11604/pamj.2015.22.108.6774 PubMed PMID: 26848355; PubMed Central PMCID: PMC4732634.
5. Tusting LS, Bousema T, Smith DL, Drakeley C. Measuring changes in *Plasmodium falciparum* transmission: Precision, accuracy and costs of metrics. *Adv Parasitol*. 2014;84:151-208. doi:10.1016/B978-0-12-800099-1.00003-X PubMed PMID: 24480314; PubMed Central PMCID: PMC4847140.
6. Coulibaly PMM. Epidémiologie du neuropoludisme à l'hôpital Gabriel Touré avant et après l'introduction de la chimio- prévention du paludisme saisonnier à Bamako. 3 juin 2021;73.
7. Foguim Tsombeng F, Gendrot M, Robert MG, Madamet M, Pradines B. Are k13 and plasmepsin II genes, involved in *Plasmodium falciparum* resistance to artemisinin derivatives and piperaquine in Southeast Asia, reliable to monitor resistance surveillance in Africa? *Malar J*. 23 août 2019;18:285. doi:10.1186/s12936-019-2916-6 PubMed PMID: 31443646; PubMed Central PMCID: PMC6708145.

8. Kagaya W. *Infection à Plasmodium falciparum* à faible densité : « Même un parasite peut se transformer ». Parasitol Int. 1 août 2025;107:103052. doi:10.1016/j.parint.2025.103052
9. Organisation mondiale de la Santé. Rapport 2024 sur le paludisme dans le monde [Internet]. 2025. Disponible sur: <https://www.who.int/fr/teams/global-malaria-programme/reports/world-malaria-report-2025>
10. Organisation mondiale de la Santé 2024. world malaria report 2024 global briefing kit fre. déc 2024. p. 21.
11. Aliou Diallo. Paludisme au Mali : quand les communautés deviennent les premières alliées du vaccin. BAMAKO; mai 2025.
12. Professeur Pierre Aubry, Docteur Bernard-Alex Gaüzère. Paludisme , actualité. mars 2025. p. 36.
13. Wallender E, Zhang N, Conrad M, Kakuru A, Muhindo M, Tumwebaze P, et al. Modeling Prevention of Malaria and Selection of Drug Resistance with Different Dosing Schedules of Dihydroartemisinin-Piperaquine Preventive Therapy during Pregnancy in Uganda. Antimicrob Agents Chemother. 29 janv 2019;63(2):e01393-18. doi:10.1128/AAC.01393-18 PubMed PMID: 30530597; PubMed Central PMCID: PMC6355581.
14. Batrane MA. Impact de la chimio prévention du paludisme saisonnier sur la prévalence des marqueurs moléculaires de la résistance de *Plasmodium falciparum* à la sulfadoxine plus pyriméthamine et à l'amodiaquine en République du Tchad. Biol Médicale.
15. KEITA B. Etude des marqueurs moléculaires de résistance de *Plasmodium falciparum* aux médicaments du traitement combiné aux dérivés de l'artémisinine dans deux localités d'endémicité différente au Mali en 2016 : Dangassa et Nioro du Sahel [Memoire]. [Mali]; 2018.
16. Lynch SA, Abd-Rahman AN, Peters JM, Heunis JM, S.E. Gower J, Potter AJ, et al. Transmissibility of a new *Plasmodium falciparum* 3D7 bank for use in malaria volunteer infection studies evaluating transmission blocking interventions. Sci Rep. 16 avr 2025;15:13094. doi:10.1038/s41598-025-97282-y PubMed PMID: 40240504; PubMed Central PMCID: PMC12003780.

17. Cissoko M, Magassa M, Sanogo V, Ouologuem A, Sangaré L, Diarra M, et al. Stratification at the health district level for targeting malaria control interventions in Mali. *Sci Rep*. 18 mai 2022;12(1):8271. doi:10.1038/s41598-022-11974-3

18. Dembele L, Dara A, Maiga M, Maiga FO, Cissoko D, Djimde AA. Imidazolopiperazine (IPZ)-Induced Differential Transcriptomic Responses on *Plasmodium falciparum* Wild-Type and IPZ-Resistant Mutant Parasites. *Genes*. 24 nov 2023;14(12):2124. doi:10.3390/genes14122124 PubMed PMID: 38136946; PubMed Central PMCID: PMC10743112.

19. Dembele L, Gupta DK, Lim MYX, Ang X, Selva JJ, Chotivanich K, et al. Imidazolopiperazines Kill both Rings and Dormant Rings in Wild-Type and K13 Artemisinin-Resistant *Plasmodium falciparum* *In Vitro*. *Antimicrob Agents Chemother*. 26 avr 2018;62(5):e02235-17. doi:10.1128/AAC.02235-17 PubMed PMID: 29530849; PubMed Central PMCID: PMC5923180.

20. Kelli L. Kuhen,^a Arnab K. Chatterjee,^{a*} Matthias Rottmann,^{b,c} Kerstin Gagaring,^a Rachel Borboa,^a Jennifer Buenviaje,^a Zhong Chen,^a Carolyn Francek,^a Tao Wu,^a Advait Nagle,^a S. Whitney Barnes,^a David Plouffe,^a Marcus C. S. Lee,^d David A. Fidock,^{d,e} Wouter Graumans,^f Marga van de Vegte-Bolmer,^f Geert J. van Gemert,^f Grennady Wirjanata,^g Boni Sebayang,^h Jutta Marfurt,^g Bruce Russell,ⁱ Rossarin Suwanarusk,ⁱ Ric N. Price,^{g,l} Francois Nosten,^{j,k,l} Anchalee Tungtaeng,^m Montip Gettayacamin,^m Jetsumon Sattabongkot,^{n,k} Jennifer Taylor,^a John R. Walker,^a David Tully,^a Kailash P. Patra,^o Erika L. Flannery,^p Joseph M. Vinetz,^o Laurent Renia,ⁱ Robert W. Sauerwein,^f Elizabeth A. Winzeler,^{a,p} Richard J. Glynn,^a Thierry T. Diagana^q. KAF156 Is an Antimalarial Clinical Candidate with Potential for Use in Prophylaxis, Treatment, and Prevention of Disease Transmission. *Vol. 58*. sept 2014;58(9):8. doi:10.1128/aac.02727-13

21. Gal IR, Demarta-Gatsi C, Fontinha D, Arez F, Wicha SG, Rottmann M, et al. Drug Interaction Studies of Cabamiquine:Ganaplacide Combination against Hepatic *Plasmodium berghei*. *ACS Infect Dis*. 10 déc 2024;11(1):69-79. doi:10.1021/acsinfecdis.4c00563 PubMed PMID: 39657997; PubMed Central PMCID: PMC11731318.

22. Leong FJ, Jain JP, Feng Y, Goswami B, Stein DS. A phase 1 evaluation of the pharmacokinetic/pharmacodynamic interaction of the anti-malarial agents KAF156 and piperazine. *Malar J.* 5 janv 2018;17:7. doi:10.1186/s12936-017-2162-8 PubMed PMID: 29304859; PubMed Central PMCID: PMC5756412.
23. Kuhen KL, Chatterjee AK, Rottmann M, Gagaring K, Borboa R, Buenviaje J, et al. KAF156 Is an Antimalarial Clinical Candidate with Potential for Use in Prophylaxis, Treatment, and Prevention of Disease Transmission. *Antimicrob Agents Chemother.* sept 2014;58(9):5060-7. doi:10.1128/AAC.02727-13 PubMed PMID: 24913172; PubMed Central PMCID: PMC4135840.
24. Manaranche J, Laurent M, Tressieres R, Nguyen M, Salim M, Ouji M, et al. *In vitro* evaluation of ganaplacide/lumefantrine combination against *Plasmodium falciparum* in a context of artemisinin resistance. *J Antimicrob Chemother.* 29 août 2024;79(11):2877-86. doi:10.1093/jac/dkae300 PubMed PMID: 39206510; PubMed Central PMCID: PMC11531816.
25. McCarthy JS, Yalkinoglu Ö, Odedra A, Webster R, Oeuvray C, Tappert A, et al. Safety, pharmacokinetics, and antimalarial activity of the novel *Plasmodium* eukaryotic translation elongation factor 2 inhibitor M5717: a first-in-human, randomised, placebo-controlled, double-blind, single ascending dose study and volunteer infection study. *Lancet Infect Dis.* déc 2021;21(12):1713-24. doi:10.1016/S1473-3099(21)00252-8 PubMed PMID: 34715032; PubMed Central PMCID: PMC8612936.
26. Stadler E, Maiga M, Friedrich L, Thathy V, Demarta-Gatsi C, Dara A, et al. Propensity of selecting mutant parasites for the antimalarial drug cabamiquine. *Nat Commun.* 25 août 2023;14(1):5205. doi:10.1038/s41467-023-40974-8 PubMed PMID: 37626093; PubMed Central PMCID: PMC10457284.
27. Stadler E, Maiga M, Friedrich L, Thathy V, Demarta-Gatsi C, Dara A, et al. Propensity of selecting mutant parasites for the antimalarial drug cabamiquine. *Nat Commun.* 25 août 2023;14:5205. doi:10.1038/s41467-023-40974-8 PubMed PMID: 37626093; PubMed Central PMCID: PMC10457284.

28. Karim MSA. Evaluation de la sensibilité ex-vivo de *Plasmodium falciparum* et *Plasmodium malariae* de M5717 et sa combinaison avec la Pyronaridine sur le *Plasmodium falciparum* au Mali. 01 2024;(007):98.
29. Maiga M, Dembele L, Courlet P, Khandelwal A, Dara A, Sogore F, et al. Towards clinically relevant dose ratios for Cabamiquine and Pyronaridine combination using *P. falciparum* field isolate data. Nat Commun. 3 sept 2024;15(1):7659. doi:10.1038/s41467-024-51994-3
30. Gal IR, Demarta-Gatsi C, Fontinha D, Arez F, Wicha SG, Rottmann M, et al. Drug Interaction Studies of Cabamiquine:Ganaplacide Combination against Hepatic *Plasmodium berghei*. ACS Infect Dis. 10 janv 2025;11(1):69-79. doi:10.1021/acsinfecdis.4c00563
31. Chaudhury A. The forgotten malariologist: Giovanni Battista Grassi (1854–1925). Trop Parasitol. 2021;11(1):16-8. doi:10.4103/tp.tp_21_21 PubMed PMID: 34195055; PubMed Central PMCID: PMC8213122.
32. Migliani R, Meynard JB, Milleliri JM, Verret C, Rapp C. History of malaria control in the French armed forces: from Algeria to the Macedonian front during the first World War. Médecine Santé Trop. oct 2014;24(4):349-61. doi:10.1684/mst.2014.0411
33. Annick Perrot, Edmond et Etienne Sergent. Les Pasteuriens pendant la Grande Guerre : paludisme et Armée d'Orient. 2018.
34. Gissot M. Etude de la régulation transcriptionnelle des gènes lors du cycle érythrocytaire de *Plasmodium falciparum* [phdthesis]. [Paris]: Université Pierre et Marie Curie - Paris VI; 2005.
35. Cox FE. History of the discovery of the malaria parasites and their vectors. Parasit Vectors. 1 févr 2010;3:5. doi:10.1186/1756-3305-3-5 PubMed PMID: 20205846; PubMed Central PMCID: PMC2825508.
36. Dobson MJ. The malariology centenary. Parassitologia. sept 1999;41(1-3):21-32. PubMed PMID: 10697830.

37. Tibúrcio M, Dixon MWA, Looker O, Younis SY, Tilley L, Alano P. Specific expression and export of the *Plasmodium falciparum* Gametocyte EXported Protein-5 marks the gametocyte ring stage. *Malar J.* 28 août 2015;14:334. doi:10.1186/s12936-015-0853-6 PubMed PMID: 26315106; PubMed Central PMCID: PMC4552133.
38. Mouchet J, éditeur. Biodiversité du paludisme dans le monde. Montrouge, France Surrey, England: John Libbey Eurotext; 2004. 460 p. (Hors collection).
39. Branciard A. La tentative de constitution de biens publics mondiaux par un partenariat public-privé de développement de produits (PDP) pour les maladies négligées : sur la voie de l'antipaludéen ASAQ. *févr 2012*;(39):55.
40. Pascal BURNAT, Axel CARDE, Xavier BOHAND, David ALMERAS. LES DÉRIVÉS DE L'ARTÉMISININE UTILISÉS DANS LE TRAITEMENT DU PALUDISME. ASPECTS PHARMACEUTIQUES. 168. janv 2001;The artemisinin derivatives used in the treatment of malaria. *Pharmaceutical sides.*:31.
41. Blache A. Histoire des remèdes contre le paludisme: du Cinchona à l'Artemisia annua.
42. Septembre-Malaterre A, Lalarizo Rakoto M, Marodon C, Bedoui Y, Nakab J, Simon E, et al. Artemisia annua, a Traditional Plant Brought to Light. *Int J Mol Sci.* 15 juill 2020;21(14):4986. doi:10.3390/ijms21144986 PubMed PMID: 32679734; PubMed Central PMCID: PMC7404215.
43. Uwimana A, Legrand E, Stokes BH, Ndikumana JLM, Warsame M, Umulisa N, et al. Emergence and clonal expansion of in vitro artemisinin-resistant *Plasmodium falciparum* *kelch13* R561H mutant parasites in Rwanda. *Nat Med.* 2020;26(10):1602-8. doi:10.1038/s41591-020-1005-2 PubMed PMID: 32747827; PubMed Central PMCID: PMC7541349.
44. Pages F, Orlandipradines E, Corbel V. Vecteurs du paludisme: biologie, diversité, contrôle et protection individuelle. *Médecine Mal Infect.* mars 2007;37(3):153-61. doi:10.1016/j.medmal.2006.10.009
45. Cissoko M, Magassa M, Sanogo V, Ouologuem A, Sangaré L, Diarra M, et al. Stratification at the health district level for targeting malaria control interventions in Mali. *Sci Rep.* 18 mai 2022;12(1):8271. doi:10.1038/s41598-022-11974-3

46. Akossi RFK. Rôle des ARN non-codants dans l'interaction hôte-parasite: cas de l'interaction Homme-Microsporidies. 2024;357.
47. Miller RH, Obuya CO, Wanja EW, Ogutu B, Waitumbi J, Luckhart S, et al. Characterization of Plasmodium ovale curtisi and P. ovale wallikeri in Western Kenya Utilizing a Novel Species-specific Real-time PCR Assay. PLoS Negl Trop Dis. 15 janv 2015;9(1):e0003469. doi:10.1371/journal.pntd.0003469 PubMed PMID: 25590587; PubMed Central PMCID: PMC4295880.
48. Liu ZSJ, Sattabongkot J, White M, Chotirat S, Kumpitak C, Takashima E, et al. Naturally acquired antibody kinetics against *Plasmodium vivax* antigens in people from a low malaria transmission region in western Thailand. BMC Med. 9 mars 2022;20:89. doi:10.1186/s12916-022-02281-9 PubMed PMID: 35260169; PubMed Central PMCID: PMC8904165.
49. Angrisano F, Robinson LJ. *Plasmodium vivax* – How hidden reservoirs hinder global malaria elimination. Parasitol Int. avr 2022;87:102526. doi:10.1016/j.parint.2021.102526
50. He W, Sendor R, Potlapalli VR, Kashamuka MM, Tshetu AK, Phanzu F, et al. Development of new real-time PCR assays for detection and species differentiation of Plasmodium ovale. PLoS Negl Trop Dis. 10 sept 2024;18(9):e0011759. doi:10.1371/journal.pntd.0011759 PubMed PMID: 39255325; PubMed Central PMCID: PMC11414980.
51. Kotepui M, Kotepui KU, Milanez GD, Masangkay FR. Global prevalence and mortality of severe *Plasmodium malariae* infection: a systematic review and meta-analysis. Malar J. 31 juill 2020;19:274. doi:10.1186/s12936-020-03344-z PubMed PMID: 32736635; PubMed Central PMCID: PMC7395392.
52. Swangsri T, Rucksaken R, Sricharern W, Nguitragool W, Saralamba N. Development and validation of a multiplex PCR assay with melt curve analysis for detecting simian *Plasmodium* in wild Macaca fascicularis. Sci Rep. 2 juill 2025;15:22872. doi:10.1038/s41598-025-07337-3 PubMed PMID: 40595144; PubMed Central PMCID: PMC12216036.

53. Dao F, Dembele L, Diarra B, Sogore F, Marin-Menendez A, Goita S, et al. The Prevalence of Human *Plasmodium* Species during Peak Transmission Seasons from 2016 to 2021 in the Rural Commune of Ntjiba, Mali. *Trop Med Infect Dis.* sept 2023;8(9):9. doi:10.3390/tropicalmed8090438
54. Centre national pour les maladies infectieuses émergentes et zooniques, Division des maladies parasitaires et du paludisme. DPDx - Identification en laboratoire des parasites de la santé publique. Disponible sur: www.cdc.gov/dpdx/malaria/index.html
55. Risco-Castillo V, Son O, Franetich JF, Rubinstein E, Mazier D, Silvie O. Phase hépatique du paludisme : voies d'entrée des sporozoïtes de *Plasmodium*. *Biol Aujourd'hui.* 2013;207(4):219-29. doi:10.1051/jbio/2013021
56. Tamic E. Étude des modifications ultra-structurales précoces de *Plasmodium falciparum* soumis à la doxycycline par microscopie électronique.
57. Pr Sandrine HOUZE, Dr Marc THELLIER, Dr Bruno PRADINES, Dr Lise MUSSET. Descriptif de l'agent pathogène, 2019. Disponible sur: file:///C:/Users/HP/Downloads/Fiche_Paludisme-1.pdf
58. He W, Sendor R, Potlapalli VR, Kashamuka MM, Tshefu AK, Phanzu F, et al. A novel duplex qualitative real-time PCR assay for the detection and differentiation of *Plasmodium ovale curtisi* and *Plasmodium ovale wallikeri* malaria. *medRxiv.* 31 oct 2023;2023.10.31.23297819. doi:10.1101/2023.10.31.23297819 PubMed PMID: 37961397; PubMed Central PMCID: PMC10635243.
59. Lysenko AJa, Beljaev AE. An analysis of the geographical distribution of *Plasmodium ovale*. *Bull World Health Organ.* 1969;40(3):383-94. PubMed PMID: 5306622; PubMed Central PMCID: PMC2554635.
60. Appetecchia F, Fabbri E, Fiorentino F, Consalvi S, Biava M, Poce G, et al. Transmission-Blocking Strategies for Malaria Eradication: Recent Advances in Small-Molecule Drug Development. *Pharmaceuticals.* 19 juill 2024;17(7):962. doi:10.3390/ph17070962

61. Ouologuem DT, Dara A, Kone A, Ouattara A, Djimde AA. *Plasmodium falciparum* Development from Gametocyte to Oocyst: Insight from Functional Studies. *Microorganisms*. août 2023;11(8):8. doi:10.3390/microorganisms11081966
62. Pr Stéphane Picot, Pr Jean Freney, Pr Jacques Bienvenu, Pr Jean-Pierre Magaud. *Paludisme*. Disponible sur: https://www.memobio.fr/html/para/pa_fi_pal.html
63. Kaneko I, Nishi T, Iwanaga S, Yuda M. Differentiation of *Plasmodium* male gametocytes is initiated by the recruitment of a chromatin remodeler to a male-specific cis-element. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 120(20):e2303432120. doi:10.1073/pnas.2303432120 PubMed PMID: 37155862; PubMed Central PMCID: PMC10193995.
64. Trudel L, Couillard M. Identification morphologique des parasites de la malaria: cahier de stage. Montréal, Qué.: Laboratoire de santé publique du Québec; 2005.
65. Evers F, Rovers R, Boshoven C, Kea-te Lindert M, Verhoef MJ, Sommerdijk N, et al. Comparative 3D ultrastructure of *Plasmodium falciparum* gametocytes. *Nat Commun*. 2 janv 2025;16:69. doi:10.1038/s41467-024-55413-5 PubMed PMID: 39747010; PubMed Central PMCID: PMC11695595.
66. Dash M, Sachdeva S, Bansal A, Sinha A. Gametogenesis in *Plasmodium*: Delving Deeper to Connect the Dots. *Front Cell Infect Microbiol*. 15 juin 2022;12:877907. doi:10.3389/fcimb.2022.877907 PubMed PMID: 35782151; PubMed Central PMCID: PMC9241518.
67. Bennink S, Kiesow MJ, Pradel G. The development of malaria parasites in the mosquito midgut. *Cell Microbiol*. juill 2016;18(7):905-18. doi:10.1111/cmi.12604 PubMed PMID: 27111866; PubMed Central PMCID: PMC5089571.
68. Kehrer J, Formaglio P, Muthinja JM, Weber S, Baltissen D, Lance C, et al. *Plasmodium* sporozoite disintegration during skin passage limits malaria parasite transmission. *EMBO Rep*. 11 avr 2022;23(7):e54719. doi:10.15252/embr.202254719 PubMed PMID: 35403820; PubMed Central PMCID: PMC9253755.

69. Kabamba AT, Mukuku O, Shamashanga LK, Kamunga DB, Bokanya AI, Lukumwena ZK, et al. Evaluation de la fonction hépatique au cours du paludisme grave chez les enfants de moins de cinq ans à Kinshasa en République Démocratique du Congo. *Pan Afr Med J.* 11 nov 2014;19:266. doi:10.11604/pamj.2014.19.266.4673 PubMed PMID: 25870721; PubMed Central PMCID: PMC4391885.
70. Valkiūnas G, Iezhova TA. Exo-erythrocytic development of avian malaria and related haemosporidian parasites. *Malar J.* 3 mars 2017;16:101. doi:10.1186/s12936-017-1746-7 PubMed PMID: 28253926; PubMed Central PMCID: PMC5335495.
71. Trivedi S, Chakravarty A. Neurological Complications of Malaria. *Curr Neurol Neurosci Rep.* 2022;22(8):499-513. doi:10.1007/s11910-022-01214-6 PubMed PMID: 35699901; PubMed Central PMCID: PMC9192935.
72. MacPherson GG, Warrell MJ, White NJ, Looareesuwan S, Warrell DA. Human cerebral malaria. A quantitative ultrastructural analysis of parasitized erythrocyte sequestration. *Am J Pathol.* juin 1985;119(3):385-401. PubMed PMID: 3893148; PubMed Central PMCID: PMC1888001.
73. Condé Ibrahima, Diallo Fatoumata. Binta, Barry Ibrahima Kholo, Hyjazi Marie Elisabeth, Traore Amadou. L'Insuffisance Rénale au Cours du Paludisme Grave de l'Enfant à *Plasmodium Falciparum* au Service de Pédiatrie de l'Hôpital de Kamsar. août 2023:43.
74. Organisation mondiale de la Santé 2013. La prise en charge du paludisme grave. 2013;83.
75. Berry AA, Richie TL, Church LWP, Laurens MB, Boyce C, KC N, et al. Safety, tolerability and immunogenicity of a condensed, multi-dose prime regimen of PfSPZ Vaccine for the prevention of *Plasmodium falciparum* malaria infection. *Malar J.* 17 mars 2025;24:88. doi:10.1186/s12936-025-05299-5 PubMed PMID: 40098097; PubMed Central PMCID: PMC11916963.
76. Skinner J, Kayentao K, Ongoiba A, Healy SA, Hu Z, Preston AC, et al. Anti-sporozoite monoclonal antibody for malaria prevention: secondary efficacy outcome of a phase 2 randomized trial. *Nat Med.* 2025;31(8):2682-90. doi:10.1038/s41591-025-03739-y PubMed PMID: 40461818; PubMed Central PMCID: PMC12353790.

77. Dr Jan Jacobs, Javiera Rebolledo. Paludisme (Importance en Santé Publique), 2016. 19 p. Disponible sur: <https://matra.sciensano.be/Fiches/Paludisme.pdf>
78. Valentin J. *Plasmodium ovale* spp. : analyse moléculaire des accès de reviviscence et de la résistance à la pyriméthamine. 4 juill 2024;246.
79. Opi DH, Swann O, Macharia A, Uyoga S, Band G, Ndila CM, et al. Two complement receptor one alleles have opposing associations with cerebral malaria and interact with α -thalassaemia. eLife. 2018;7:27. doi:10.7554/eLife.31579 PubMed PMID: 29690995; PubMed Central PMCID: PMC5953541.
80. Savadogo H, Coulibaly G, Bandaogo V, Kaboré A, Dao L, Kaboret S, et al. Hémoglobininurie chez l'enfant à Ouagadougou: prise en charge hospitalière et pronostic à court terme. Pan Afr Med J. 26 nov 2019;34. doi:10.11604/pamj.2019.34.165.14729
81. Grewal RS. Rôle of quinine in haemolysis. Br J Pharmacol Chemother. juin 1958;13(2):175-7. doi:10.1111/j.1476-5381.1958.tb00213.x PubMed PMID: 13536282; PubMed Central PMCID: PMC1481709.
82. Bouldouyre MA, Dia D, Carmoi T, Fall KB, Chevalier B, Debonne JM. Une fièvre bilieuse hémoglobininurique de gravité moyenne. Médecine Mal Infect. juin 2006;36(6):343-5. doi:10.1016/j.medmal.2006.03.001
83. Bruneel F. Quand c'est « chaud » en Réanimation Neuropaludisme. 2020;20.
84. Véronique D. Évaluation des actes de diagnostic biologique des infections à *Plasmodium*. 2016;103.
85. Victorine AP, Bognini ASA, Séri YJ, Attoukoula ATE, Ghislain Krou AAA, Kouasssi YA, et al. Evaluation of two methods for detecting anti-A and anti-B hemolysins in blood donors: a prospective study in Abidjan. Pan Afr Med J. 2025;51. doi:10.11604/pamj.2025.51.56.48075
86. Xu X, Yuan X, Wang H, Maimaiti A, Kong Y, Lv J, et al. Development and field validation of an indirect ELISA for serosurveillance of *Ornithodoros lahorensis* exposure. Vet Parasitol Reg Stud Rep. sept 2025;64:101327. doi:10.1016/j.vprsr.2025.101327 PubMed PMID: 40967697.

87. TAPSOBA Serge Pascal. EVALUATION DE L'APPLICATION DES DIRECTIVES NATIONALES DE DIAGNOSTIC ET DE TRAITEMENT DU PALUDISME AU CENTRE HOSPITALIER UNIVERSITAIRE SOURO SANOU DE BOBO-DIOULASSO. [BOBO DIOULASSO]: INSTITUT SUPERIEUR DES SCIENCES DE LA SANTE; 2013. Disponible sur: https://remed.org/wp-content/uploads/2017/01/These-Palu_directives_Tapsoba-Serge-Pascal.pdf
88. Organisation mondiale de la Santé. PRÉLÈVEMENT DE SANG PAR PIQÛRE AU DOIGT ET PRÉPARATION DE GOUTTES ÉPAISSES ET DE FROTTIS MINCES. 2016.
89. Pornsilapatip J, Namsiripongpun V, Wilde H, Hanvanich M, Chutivongse S. Detection of Plasmodia in acridine orange stained capillary tubes (the QBC system). Southeast Asian J Trop Med Public Health. déc 1990;21(4):534-40. PubMed PMID: 2098913.
90. Ifeora IK, Brown BJ, Sodeinde OO. A COMPARISON OF RAPID DIAGNOSTIC TESTING (BY PLASMODIUM LACTATE DEHYDROGENASE), AND QUANTITATIVE BUFFY COAT TECHNIQUE IN MALARIA DIAGNOSIS IN CHILDREN. Afr J Infect Dis. 8 juin 2017;11(2):31-8. doi:10.21010/ajid.v11i2.5 PubMed PMID: 28670638; PubMed Central PMCID: PMC5476811.
91. Alareqi LMQ, Mahdy MAK, Lau YL, Fong MY, Abdul-Ghani R, Ali AA, et al. Field evaluation of a PfHRP-2/pLDH rapid diagnostic test and light microscopy for diagnosis and screening of *falciparum* malaria during the peak seasonal transmission in an endemic area in Yemen. Malar J. 28 janv 2016;15:49. doi:10.1186/s12936-016-1103-2 PubMed PMID: 26821911; PubMed Central PMCID: PMC4730713.
92. Cordier C, Hamane S, Ghelfenstein-Ferreira T, Dellièvre S, Da Silva É, Denis B, et al. Implementation and validation of a new qPCR assay to detect imported human *Plasmodium* species. Microbiol Spectr. 13(1):e01622-24. doi:10.1128/spectrum.01622-24 PubMed PMID: 39656014; PubMed Central PMCID: PMC11705816.
93. Belgacem S, Bettaieb M, Houas N, Chouchène S, Mastouri M, Babba H. Dépistage du paludisme: Quel est l'apport de la biologie moléculaire ? Tunis Médicale. août 2024;102(8):491-5. doi:10.62438/tunismed.v102i8.4949 PubMed PMID: 39129577; PubMed Central PMCID: PMC11390060.

94. Bendjabeur. Cultures cellulaires, 2019. Disponible sur: <https://www.univ-chlef.dz/fsnv/wp-content/uploads/bendjabeur-Cours-de-cultures-cellulaires-M1-Biochimie-appliqu%C3%A9e.pdf>
95. Duffy S, Avery VM. *Plasmodium falciparum* in vitro continuous culture conditions: A comparison of parasite susceptibility and tolerance to anti-malarial drugs throughout the asexual intra-erythrocytic life cycle. Int J Parasitol Drugs Drug Resist. 15 juill 2017;7(3):295-302. doi:10.1016/j.ijpddr.2017.07.001 PubMed PMID: 28738214; PubMed Central PMCID: PMC5522918.
96. Druilhe P, Gentilini M. In vitro cultivation of *Plasmodium falciparum*. Applications and limits.- Methodology. Med Trop Rev Corps Sante Colon. 1982;42(4):437-62. PubMed PMID: 6755144.
97. Bras JL, M. PAIYET. Comportement de *Plasmodium falciparum* in vitro. XVIII. 1980;XVIII(no 2, 1980 : 103-131):119.
98. Prajapati SK, Singh OP. Insights into the invasion biology of *Plasmodium vivax*. Front Cell Infect Microbiol. 2013;3. doi:10.3389/fcimb.2013.00008
99. Yman V, Wandell G, Mutemi DD, Miglar A, Asghar M, Hammar U, et al. Persistent transmission of *Plasmodium malariae* and *Plasmodium ovale* species in an area of declining *Plasmodium falciparum* transmission in eastern Tanzania. PLoS Negl Trop Dis. 28 mai 2019;13(5):e0007414. doi:10.1371/journal.pntd.0007414 PubMed PMID: 31136585; PubMed Central PMCID: PMC6555537.
100. Niño CH, Cubides JR, Camargo-Ayala PA, Rodríguez-Celis CA, Quiñones T, Cortés-Castillo MT, et al. *Plasmodium malariae* in the Colombian Amazon region: you don't diagnose what you don't suspect. Malar J. déc 2016;15(1):576. doi:10.1186/s12936-016-1629-3
101. Lo E, Nguyen K, Nguyen J, Hemming-Schroeder E, Xu J, Etemesi H, et al. *Plasmodium malariae* Prevalence and *csp* Gene Diversity, Kenya, 2014 and 2015. Emerg Infect Dis. avr 2017;23(4):601-10. doi:10.3201/eid2304.161245

102. Sendor R, Banek K, Kashamuka MM, Mvuama N, Bala JA, Nkalani M, et al. Epidemiology of *Plasmodium malariae* and *Plasmodium ovale* spp. in Kinshasa Province, Democratic Republic of Congo. Nat Commun. 19 oct 2023;14(1):6618. doi:10.1038/s41467-023-42190-w
103. Dembele L, Diallo N, Sogore F, Diarra B, Ballo FI, Daou A, et al. *Ex Vivo Plasmodium malariae* Culture Method for Antimalarial Drugs Screen in the Field. ACS Infect Dis. 28 oct 2021;7(11):3025-33. doi:10.1021/acsinfecdis.1c00262 PubMed PMID: 34711047; PubMed Central PMCID: PMC9974065.
104. Zhao L, Au JLS, Wientjes MG. Method to Assess Interactivity of Drugs with Nonparallel Concentration-Effect Relationships. Curr Cancer Drug Targets. 2017;17(8):735-55. doi:10.2174/1568009617666170330154054 PubMed PMID: 28359247; PubMed Central PMCID: PMC5623138.
105. Camara BI. Modélisation et analyse statistique d'essais biologiques: dose-réponse en mélange binaire. 34. 2016;(CNRS UMR 7360):51.
106. Huang R yue, Pei L, Liu Q, Chen S, Dou H, Shu G, et al. Isobologram Analysis: A Comprehensive Review of Methodology and Current Research. Front Pharmacol. 29 oct 2019;10:1222. doi:10.3389/fphar.2019.01222
107. Marie Nguyen, Sébastien Herbert. Cytométrie en flux et en images. 2020;(2ème édition):17.
108. Zafrani L, Monneret G, Commission de Recherche Translationnelle de la SRLF. Comprendre la cytométrie en flux. Médecine Intensive Réanimation. nov 2017;26(6):517-22. doi:10.1007/s13546-017-1317-5
109. Dekel E, Rivkin A, Heidenreich M, Nadav Y, Ofir-Birin Y, Porat Z, et al. Identification and classification of the malaria parasite blood developmental stages, using imaging flow cytometry. Methods San Diego Calif. 1 janv 2017;112:157-66. doi:10.1016/j.ymeth.2016.06.021 PubMed PMID: 27350362.
110. Demaret J, Walencik A, Jacob MC, Timsit JF, Venet F, Lepape A, et al. Inter-laboratory assessment of flow cytometric monocyte HLA-DR expression in clinical samples. Cytometry B Clin Cytom. 2013;84B(1):59-62. doi:10.1002/cyto.b.21043

111. Grimberg BT. Methodology and Application of Flow Cytometry for Investigation of Human Malaria Parasites. *J Immunol Methods*. 31 mars 2011;367(1-2):1-16. doi:10.1016/j.jim.2011.01.015 PubMed PMID: 21296083; PubMed Central PMCID: PMC3071436.
112. Marie D, Simon N, Vaulot D. Phytoplankton Cell Counting by Flow Cytometry. In: *Algal Culturing Techniques*. Elsevier ; 2005. p. 253-67. Disponible sur: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780120884261500184> doi:10.1016/B978-012088426-1/50018-4
113. Delavenne X. Apports des modèles non linéaires à effets mixtes dans l'étude de la variabilité pharmacocinétique et pharmacodynamique des médicaments antithrombotiques. 26 Apr 2012. 21 avr 2011;204.
114. Graaf PH van der. Introduction to Population Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Analysis With Nonlinear Mixed Effects Models. *CPT Pharmacomet Syst Pharmacol*. déc 2014;3(12):e153. doi:10.1038/psp.2014.51 PubMed PMID: 25531560; PubMed Central PMCID: PMC5684957.
115. Bauer RJ. NONMEM Tutorial Part I: Description of Commands and Options, With Simple Examples of Population Analysis. *CPT Pharmacomet Syst Pharmacol*. août 2019;8(8):525-37. doi:10.1002/psp4.12404
116. Lavielle M, Mentre F. Estimation et planification dans les modèles non linéaires à effets mixtes. Application à la dynamique du VIH sous traitement. 2003;10.
117. Shafer SL, Struys MMRF. Mixed Effect Modeling in Analgesia Trials. *Anesth Analg*. juill 2008;107(1):9-10. doi:10.1213/ane.0b013e3181753288
118. WHO. Lignes directrices de l'OMS sur le paludisme. 2021;225.
119. PNLP. PNLP-Mali | Programme National de Lutte contre le Paludisme du Mali, 2023. Disponible sur: <https://pnlp.ml/>

120. Niélé Hawa DIARRA. Perceptions des communautés sur la Chimio prévention du paludisme saisonnier dans le district sanitaire de Koulikoro au Mali en 2020. Disponible sur:<https://bibliosante.ml/bitstream/handle/123456789/6215/M%C3%A9moire%20Master%20Dr%20Ni%C3%A9l%C3%A9%20Hawa%20Diarra.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
121. Jhpiego Corporation. Prévention et contrôle du paludisme pendant la grossesse,2017. Disponible sur: https://www.alignmnh.org/wp-content/uploads/2021/11/MIP-Reference-Manual_4th-Edition_June-2021_FR_for-formatting.pdf
122. Djedanem M, Salé NM, Aminou EYYM, Testa J, Jambou R. Status and prospects of seasonal malaria chemoprevention among children in Sahelian countries: A systematic review and meta-analysis. Robinson J, éditeur. PLOS Glob Public Health. 12 sept 2025;5(9):0005124. doi:10.1371/journal.pgph.0005124
123. PNLP. PLAN STRATEGIQUE DE LUTTE CONTRE LE PALUDISME 2013-2017, p. 115.Disponible sur:https://www.severemalaria.org/sites/default/files/content/document/Mali%20malaria%20PStrag%202013-17PNLP_0.pdf
124. MURA M. Vaccination contre le paludisme. Médecine Trop Santé Int. 3 mai 2023;3(2):mtsi.v3i2.2023.325. doi:10.48327/mtsi.v3i2.2023.325 PubMed PMID: 37525687; PubMed Central PMCID: PMC10387304.
125. Osoro CB, Ochodo E, Kwambai TK, Otieno JA, Were L, Sagam CK, et al. Policy uptake and implementation of the RTS,S/AS01 malaria vaccine in sub-Saharan African countries: status 2 years following the WHO recommendation. BMJ Glob Health. 30 avr 2024;9(4):e014719. doi:10.1136/bmjgh-2023-014719 PubMed PMID: 38688566; PubMed Central PMCID: PMC11085798.
126. Kuemmerle A, Doodoo AN, Olsson S, Van Erps J, Burri C, Lalvani PS. Assessment of global reporting of adverse drug reactions for anti-malarials, including artemisinin-based combination therapy, to the WHO Programme for International Drug Monitoring. Malar J. déc 2011;10(1):57. doi:10.1186/1475-2875-10-57
127. Ambroise-Thomas P. Antimalarial vaccination. Sante Montrouge Fr. 1995;5(6):411-5. PubMed PMID: 8784551.

128. Jalang'o R, Amponsa-Achiano K, Chisema M, Malm K, Khalayi L, Mhone B, et al. Subnational introduction of the RTS,S/AS01E malaria vaccine into routine immunization: experience and lessons from the three pilot countries. *Malar J.* 28 juill 2025;24:244. doi:10.1186/s12936-025-05484-6 PubMed PMID: 40721790; PubMed Central PMCID: PMC12305954.
129. Mukhopadhyay E, Camacho CL, Hill AVS, Salman AM. Subcutaneous administration of the malaria R21/Matrix M vaccine and immune complex formation with anti-circumsporozoite protein mAb 2A10 elicit protective efficacy in mice. *Front Immunol.* 2025;16:1675780. doi:10.3389/fimmu.2025.1675780 PubMed PMID: 41126835; PubMed Central PMCID: PMC12538652.
130. Kibwana E, Bundi C, Kimani D, Nyamako L, Keter K, Mutiso A, et al. R21/Matrix-M malaria vaccine drives diverse immune responses in pre-exposed adults: insights from a phase IIb controlled human malaria infection trial. *Front Immunol.* 2025;16:1620365. doi:10.3389/fimmu.2025.1620365 PubMed PMID: 40692795; PubMed Central PMCID: PMC12277344.
131. Asante KP, Mathanga DP, Milligan P, Akech S, Oduro A, Mwapasa V, et al. Feasibility, safety, and impact of the RTS,S/AS01E malaria vaccine when implemented through national immunisation programmes: evaluation of cluster-randomised introduction of the vaccine in Ghana, Kenya, and Malawi. *Lancet Lond Engl.* 27 avr 2024;403(10437):1660-70. doi:10.1016/S0140-6736(24)00004-7 PubMed PMID: 38583454; PubMed Central PMCID: PMC11718159.
132. Osoro CB, Ochodo E, Kwambai TK, Otieno JA, Were L, Sagam CK, et al. Policy uptake and implementation of the RTS,S/AS01 malaria vaccine in sub-Saharan African countries: status 2 years following the WHO recommendation. *BMJ Glob Health.* avr 2024;9(4):e014719. doi:10.1136/bmjgh-2023-014719
133. Ashley EA, Phyo AP. Drugs in Development for Malaria. *Drugs.* 2018;78(9):861-79. doi:10.1007/s40265-018-0911-9 PubMed PMID: 29802605; PubMed Central PMCID: PMC6013505.

134. Tickell-Painter M, Maayan N, Saunders R, Pace C, Sinclair D. Mefloquine for preventing malaria during travel to endemic areas. *Cochrane Database Syst Rev.* 30 oct 2017;10(10):CD006491. doi:10.1002/14651858.CD006491.pub4 PubMed PMID: 29083100; PubMed Central PMCID: PMC5686653.
135. White NJ. Antimalarial drug resistance. *J Clin Invest.* 15 avr 2004;113(8):1084-92. doi:10.1172/JCI21682 PubMed PMID: 15085184; PubMed Central PMCID: PMC385418.
136. Graves PM, Choi L, Gelband H, Garner P. Primaquine or other 8-aminoquinolines for reducing *Plasmodium falciparum* transmission. *Cochrane Database Syst Rev.* 2 févr 2018;(2):118. doi:10.1002/14651858.CD008152.pub5 PubMed PMID: 29393511; PubMed Central PMCID: PMC5815493.
137. Chu CS, Hwang J. Tafenoquine: a toxicity overview. *Expert Opin Drug Saf.* mars 2021;20(3):349-62. doi:10.1080/14740338.2021.1859476 PubMed PMID: 33306921; PubMed Central PMCID: PMC10591488.
138. Gaillard T, Madamet M, Tsombeng FF, Dormoi J, Pradines B. Antibiotics in malaria therapy: which antibiotics except tetracyclines and macrolides may be used against malaria? *Malar J.* 15 nov 2016;15:556. doi:10.1186/s12936-016-1613-y PubMed PMID: 27846898; PubMed Central PMCID: PMC5109779.
139. Agarwal P, Anvikar AR, Pillai CR, Srivastava K. In vitro susceptibility of Indian *Plasmodium falciparum* isolates to different antimalarial drugs & antibiotics. *Indian J Med Res.* nov 2017;146(5):622-8. doi:10.4103/ijmr.IJMR_1688_15 PubMed PMID: 29512604; PubMed Central PMCID: PMC5861473.
140. Victoria MUNOZ-ORTIZ. Evaluation de l'activité antimalarique in vitro et in vivo de plantes et de molécules antiparasitaires issues de la flore bolivienne. 2000;(41):166.
141. La chloroquine (2/2) : De sa découverte à son utilisation de masse. *Petites histoires des sciences*, 11 avr 2020. Disponiblesur: <https://petiteshistoiresdessciences.com/2020/04/11/la-chloroquine-de-sa-decouverte-a-son-utilisation-de-masse/>

142. ANALYSE DE LA PRESCRIPTION DES ANTIPALUDIQUES CHEZ LES ENFANTS DE 0 A 5 ANS ATTEINTS DE PALUDISME GRAVE AU CENTRE HOSPITALIER UNIVERSITAIRE DE GABRIEL TOURE. Disponible sur: <https://www.bibliosante.ml/bitstream/handle/123456789/12264/23P64.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
143. Kikuyu. Dihydroartémisinine et Pipéraquline phosphate, 10 nov 2020. Disponible sur: https://strides.com/ba-products/prescribing_information/duotab/Duotab%20Tabs.pdf
144. Simon Steel, Sarah Spencer, Jaya Banerji, Elizabeth Poll. Two positive phase III studies of tafenoquine for the radical cure of *Plasmodium vivax* malaria published in The New England Journal of Medicine. 16 janv 2018:5.
145. Windle ST, Lane KD, Gadalla NB, Liu A, Mu J, Caleon RL, et al. Evidence for linkage of pfmdr1, pfert, and pfk13 polymorphisms to lumefantrine and mefloquine susceptibilities in a *Plasmodium falciparum* cross. Int J Parasitol Drugs Drug Resist. 27 oct 2020;14:208-17. doi:10.1016/j.ijpddr.2020.10.009 PubMed PMID: 33197753; PubMed Central PMCID: PMC7677662.
146. Tona Lutete G, Mombo-Ngoma G, Assi SB, Bigoga JD, Koukouikila-Koussounda F, Ntamabyaliro NY, et al. Pyronaridine–artesunate real-world safety, tolerability, and effectiveness in malaria patients in 5 African countries: A single-arm, open-label, cohort event monitoring study. PLoS Med. 15 juin 2021;18(6):e1003669. doi:10.1371/journal.pmed.1003669 PubMed PMID: 34129601; PubMed Central PMCID: PMC8205155.
147. Shi M, Ma G, Yang X. Artesunate: A Review of Its Potential Therapeutic Effects and Mechanisms in Digestive Diseases. Pharmaceutics. 25 févr 2025;17(3):299. doi:10.3390/pharmaceutics17030299 PubMed PMID: 40142963; PubMed Central PMCID: PMC11945051.
148. Behrens R, Jeschko E, Nothdurft HD, Rossanese A, Visser L, Wiedermann U. Membres extraordinaires du CEMV. 2016.

149. WHO/HTM/GMP/2014.4. Document d'orientation en matière de politiques de l'OMS : Traitement préventif intermittent pour le paludisme lors de la grossesse la sul ado ine-p rime thamine – TPIp [Nouvelles recommandations de l'OMS sur le TPIp-SP]. avr 2013. p. 14. Disponible sur: <https://www.afro.who.int/sites/default/files/2017-06/iptp-sp-updated-policy-brief-24jan2014-fr.pdf>
150. Madejczyk MS, Leed SE, Kudyba K, Roth A, Martin ML, Lee P, et al. In vitro activity and in vivo efficacy of omadacycline against Plasmodium species. Malar J. 19 juin 2025;24:194. doi:10.1186/s12936-025-05448-w PubMed PMID: 40537756; PubMed Central PMCID: PMC12177959.
151. Kennedy K, Cobbold SA, Hanssen E, Birnbaum J, Spillman NJ, McHugh E, et al. Delayed death in the malaria parasite *Plasmodium falciparum* is caused by disruption of prenylation-dependent intracellular trafficking. PLoS Biol. 18 juill 2019;17(7):e3000376. doi:10.1371/journal.pbio.3000376 PubMed PMID: 31318858; PubMed Central PMCID: PMC6667170.
152. Kuhen KL, Chatterjee AK, Rottmann M, Gagaring K, Borboa R, Buenviaje J, et al. KAF156 Is an Antimalarial Clinical Candidate with Potential for Use in Prophylaxis, Treatment, and Prevention of Disease Transmission. Antimicrob Agents Chemother. sept 2014;58(9):5060-7. doi:10.1128/AAC.02727-13 PubMed PMID: 24913172; PubMed Central PMCID: PMC4135840.
153. Dembele L, Dara A, Maiga M, Maiga FO, Cissoko D, Djimde AA. Imidazolopiperazine (IPZ)-Induced Differential Transcriptomic Responses on *Plasmodium falciparum* Wild-Type and IPZ-Resistant Mutant Parasites. Genes. 24 nov 2023;14(12):2124. doi:10.3390/genes14122124 PubMed PMID: 38136946; PubMed Central PMCID: PMC10743112.
154. Plouffe D, Brinker A, McNamara C, Henson K, Kato N, Kuhen K, et al. In silico activity profiling reveals the mechanism of action of antimalarials discovered in a high-throughput screen. Proc Natl Acad Sci. juill 2008;105(26):9059-64. doi:10.1073/pnas.0802982105

155. Rottmann M, McNamara C, Yeung BKS, Lee MCS, Zou B, Russell B, et al. Spiroindolones, a new and potent chemotype for the treatment of malaria. *Science*. 3 sept 2010;329(5996):1175-80. doi:10.1126/science.1193225 PubMed PMID: 20813948; PubMed Central PMCID: PMC3050001.
156. Nagle A, Wu T, Kuhen K, Gagaring K, Borboa R, Francek C, et al. Imidazolopiperazines: Lead Optimization of the Second-Generation Antimalarial Agents. *J Med Chem*. 10 mai 2012;55(9):4244-73. doi:10.1021/jm300041e
157. Leong FJ, Zhao R, Zeng S, Magnusson B, Diagana TT, Pertel P. A First-in-Human Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Single- and Multiple-Ascending Oral Dose Study of Novel Imidazolopiperazine KAF156 To Assess Its Safety, Tolerability, and Pharmacokinetics in Healthy Adult Volunteers. *Antimicrob Agents Chemother*. nov 2014;58(11):6437-43. doi:10.1128/AAC.03478-14 PubMed PMID: 25136017; PubMed Central PMCID: PMC4249437.
158. LaMonte GM, Rocamora F, Marapana DS, Gnädig NF, Otilie S, Luth MR, et al. Pan-active imidazolopiperazine antimalarials target the *Plasmodium falciparum* intracellular secretory pathway. *Nat Commun*. 14 avr 2020;11:1780. doi:10.1038/s41467-020-15440-4 PubMed PMID: 32286267; PubMed Central PMCID: PMC7156427.
159. Lim MYX, LaMonte G, Lee MCS, Reimer C, Tan BH, Corey V, et al. UDP-galactose and acetyl-CoA transporters as *Plasmodium* multidrug resistance genes. *Nat Microbiol*. 19 sept 2016;1(12):16166. doi:10.1038/nmicrobiol.2016.166
160. Dembele L, Dara A, Maiga M, Maiga FO, Cissoko D, Djimde AA. Imidazolopiperazine (IPZ)-Induced Differential Transcriptomic Responses on *Plasmodium falciparum* Wild-Type and IPZ-Resistant Mutant Parasites. *Genes*. 24 nov 2023;14(12):2124. doi:10.3390/genes14122124 PubMed PMID: 38136946; PubMed Central PMCID: PMC10743112.
161. Hélène Béguin, Jérôme Glaus. Destination éradication : de meilleures décisions dans un environnement en évolution [Rapport annuel 2018]. Genève; avr 2019. p. 47. Disponible sur:https://www.mmv.org/sites/default/files/uploads/docs/publications/RA2018_web.pdf

162. Manaranche J, Laurent M, Tressieres R, Nguyen M, Salim M, Ouji M, et al. In vitro evaluation of ganaplacide/lumefantrine combination against *Plasmodium falciparum* in a context of artemisinin resistance. J Antimicrob Chemother. 29 août 2024;79(11):2877-86. doi:10.1093/jac/dkae300 PubMed PMID: 39206510; PubMed Central PMCID: PMC11531816.
163. Leong FJ, Jain JP, Feng Y, Goswami B, Stein DS. A phase 1 evaluation of the pharmacokinetic/pharmacodynamic interaction of the anti-malarial agents KAF156 and piperazine. Malar J. 5 janv 2018;17:7. doi:10.1186/s12936-017-2162-8 PubMed PMID: 29304859; PubMed Central PMCID: PMC5756412.
164. White NJ, Duong TT, Uthaisin C, Nosten F, Phyo AP, Hanboonkunupakarn B, et al. Antimalarial Activity of KAF156 in *Falciparum* and Vivax Malaria. N Engl J Med. 22 sept 2016;375(12):1152-60. doi:10.1056/NEJMoa1602250 PubMed PMID: 27653565; PubMed Central PMCID: PMC5142602.
165. Leong FJ, Jain JP, Feng Y, Goswami B, Stein DS. A phase 1 evaluation of the pharmacokinetic/pharmacodynamic interaction of the anti-malarial agents KAF156 and piperazine. Malar J. 5 janv 2018;17:7. doi:10.1186/s12936-017-2162-8 PubMed PMID: 29304859; PubMed Central PMCID: PMC5756412.
166. Monnier A. Le facteur EEF-1B et la régulation de l'élongation de la synthèse protéique dans l'embryon d'oursin *Sphaerechinus granularis*.
167. Baragaña B, Hallyburton I, Lee MCS, Norcross NR, Grimaldi R, Otto TD, et al. A novel multiple-stage antimalarial agent that inhibits protein synthesis. Nature. 18 juin 2015;522(7556):315-20. doi:10.1038/nature14451 PubMed PMID: 26085270; PubMed Central PMCID: PMC4700930.
168. Baragaña B, Hallyburton I, Lee MCS, Norcross NR, Grimaldi R, Otto TD, et al. A novel multiple-stage antimalarial agent that inhibits protein synthesis. Nature. juin 2015;522(7556):315-20. doi:10.1038/nature14451
169. Stadler E, Maiga M, Friedrich L, Thathy V, Demarta-Gatsi C, Dara A, et al. Propensity of selecting mutant parasites for the antimalarial drug cabamiquine. Nat Commun. 25 août 2023;14(1):10. doi:10.1038/s41467-023-40974-8

170. Maiga M, Dembele L, Courlet P, Khandelwal A, Dara A, Sogore F, et al. Towards clinically relevant dose ratios for Cabamiquine and Pyronaridine combination using *P. falciparum* field isolate data. *Nat Commun.* 3 sept 2024;15(1):7659. doi:10.1038/s41467-024-51994-3 PubMed PMID: 39227370; PubMed Central PMCID: PMC11372057.
171. Programme mondial de lutte antipaludique. Diagnostic du paludisme [Programme mondial de lutte antipaludique], déc 2024. p. 23. Disponible sur: <https://www.who.int/fr/teams/global-malaria-programme/case-management/diagnosis>
172. Okitwi M, Shoue DA, Checkley LA, Orena S, Ceja FG, Taremwa Y, et al. The extended recovery ring-stage survival assay is a scalable alternative for artemisinin susceptibility phenotyping of fresh *Plasmodium falciparum* isolates. Odom John A, éditeur. *Antimicrob Agents Chemother.* 5 déc 2024;68(12). doi:10.1128/aac.01183-24
173. Moussa HTM. Test d'efficacité thérapeutique des associations Artésunate-amodiaquine et Artéméther-luméfántrine et polymorphisme du gène pfcrt à Massakory (République du Tchad).
174. Mama A. Sélection des parasites porteurs de mutations associées à la résistance aux antipaludiques recommandés par l'OMS au cours la prise en charge du paludisme. 17 déc 2021;173.
175. Ñacata I, Early AM, Boboy J, Neafsey DE, Sáenz FE. Tracking *Plasmodium falciparum* antimalarial resistance markers during a malaria pre-elimination period in the Pacific coast of South America. *Sci Rep.* 14 juill 2025;15:25376. doi:10.1038/s41598-025-10500-5 PubMed PMID: 40659734; PubMed Central PMCID: PMC12259837.
176. Venkatesan M, Gadalla NB, Stepniowska K, Dahal P, Nsanzabana C, Moriera C, et al. Polymorphisms in *Plasmodium falciparum* Chloroquine Resistance Transporter and Multidrug Resistance 1 Genes: Parasite Risk Factors that Affect Treatment Outcomes for *P. falciparum* Malaria after Artemether-Lumefantrine and Artesunate-Amodiaquine. *Am J Trop Med Hyg.* 1 oct 2014;91(4):833-43. doi:10.4269/ajtmh.14-0031 PubMed PMID: 25048375; PubMed Central PMCID: PMC4183414.

177. Djimdé A, Doumbo OK, Cortese JF, Kayentao K, Doumbo S, Diourté Y, et al. A molecular marker for chloroquine-resistant *falciparum* malaria. New England Journal of Medicine. 2001. p. 257-63. doi:10.1056/NEJM200101253440403 PubMed PMID: 11172152.
178. Bolhuis H, Van Veen HW, Poolman B, Driessen AJM, Konings WN. Mechanisms of multidrug transporters. FEMS Microbiol Rev. 1997;21(1):55-84. doi:10.1016/S0168-6445(97)00051-X
179. Sondo P, Bihoun B, Kabore B, Tahita MC, Derra K, Rouamba T, et al. Polymorphisme de *Plasmodium falciparum* et mutations des gènes de résistance Pfcrt et Pfmdr1 dans la zone de Nanoro, Burkina Faso. Pan Afr Med J. 10 juin 2021;39:118. doi:10.11604/pamj.2021.39.118.26959 PubMed PMID: 34512854; PubMed Central PMCID: PMC8396377.
180. Tuedom AGB, Sarah-Matio EM, Moukoko CEE, Feufack-Donfack BL, Maffo CN, Bayibeki AN, et al. Antimalarial drug resistance in the Central and Adamawa regions of Cameroon: Prevalence of mutations in *P. falciparum crt*, *Pfmdr1*, *Pfdhfr* and *Pfdhps* genes. PLoS ONE. 19 août 2021;16(8):0256343. doi:10.1371/journal.pone.0256343 PubMed PMID: 34411157; PubMed Central PMCID: PMC8376100.
181. Konaté-Touré A, Gnagne AP, Bedia-Tanoh AV, Menan EIH, Yavo W. Increase of *Plasmodium falciparum* parasites carrying lumefantrine-tolerance molecular markers and lack of South East Asian pfk13 artemisinin-resistance mutations in samples collected from 2013 to 2016 in Côte d'Ivoire. J Parasit Dis Off Organ Indian Soc Parasitol. mars 2024;48(1):59-66. doi:10.1007/s12639-023-01640-4 PubMed PMID: 38440764; PubMed Central PMCID: PMC10908703.
182. Ahouidi A, Oliveira R, Lobo L, Diedhiou C, Mboup S, Nogueira F. Prevalence of pfk13 and pfmdr1 polymorphisms in Bounkiling, Southern Senegal. PLoS ONE. 26 mars 2021;16(3):e0249357. doi:10.1371/journal.pone.0249357 PubMed PMID: 33770151; PubMed Central PMCID: PMC7996989.
183. Meya DB, Rycker MD, Gilbert IH, Hope W, Odionyi JJ, Keegan M, et al. Target product profile and discovery and development path for novel cryptococcal disease treatments. J Infect. 30 oct 2025;106643. doi:10.1016/j.jinf.2025.106643 PubMed PMID: 41176291.

184. Lambach P, Silal S, Sbarra AN, Koh M, Aggarwal R, Farooqui HH, et al. Report from the World Health Organization's Immunization and Vaccines-related Implementation Research Advisory Committee (IVIR-AC) meeting, virtual gathering, 1-5 September 2025. *Vaccine*. 1 nov 2025;68:127903. doi:10.1016/j.vaccine.2025.127903 PubMed PMID: 41176964.
185. Zanders ED. Twenty-first Century Drug Discovery: an Expanding Landscape. Springer Nature; 2025. 250 p.
186. Tan R, Hua H, Zhou S, Yang Z, Yang C, Huang G, et al. Current landscape of innovative drug development and regulatory support in China. *Signal Transduct Target Ther*. 22 juill 2025;10(1):220. doi:10.1038/s41392-025-02267-y
187. Thota S, Yerra R. Drug Discovery and Development of Antimalarial Agents: Recent Advances. *Curr Protein Pept Sci*. 2016;17(3):275-9. doi:10.2174/1389203717999160226180543 PubMed PMID: 26796302.
188. Nunes JK, Woods C, Carter T, Raphael T, Morin MJ, Diallo D, et al. Development of a transmission-blocking malaria vaccine: progress, challenges, and the path forward. *Vaccine*. 29 sept 2014;32(43):5531-9. doi:10.1016/j.vaccine.2014.07.030 PubMed PMID: 25077422.
189. Bellera CL, Alberca LN, Talevi A. Computer-Aided Discovery of Drugs Against Chagas Disease. *Methods Mol Biol Clifton NJ*. 2026;2982:1-17. doi:10.1007/978-1-0716-4848-3_1 PubMed PMID: 41182607.
190. Jeena N, Panicker L, Khan IA. Innovations in Antimalarial Drug Discovery: New Targets and,Leads.*CurrDrugTargets*;26(9):632-52.doi:10.2174/0113894501380738250414111540 PubMed PMID: 40257030.
191. Wicha SG, Chen C, Clewe O, Simonsson USH. A general pharmacodynamic interaction model identifies perpetrators and victims in drug interactions. *Nat Commun*. 14 déc 2017;8:2129. doi:10.1038/s41467-017-01929-y PubMed PMID: 29242552; PubMed Central PMCID: PMC5730559.

192. Zhao W, Sachsenmeier K, Zhang L, Sult E, Hollingsworth RE, Yang H. A New Bliss Independence Model to Analyze Drug Combination Data. J Biomol Screen. juin 2014;19(5):817-21. doi:10.1177/1087057114521867 PubMed PMID: 24492921.
193. Wicha SG, Chen C, Clewe O, Simonsson USH. A general pharmacodynamic interaction model identifies perpetrators and victims in drug interactions. Nat Commun. 14 déc 2017;8(1):2129. doi:10.1038/s41467-017-01929-y PubMed PMID: 29242552; PubMed Central PMCID: PMC5730559.
194. Rottmann M, Jonat B, Gump C, Dhingra SK, Giddins MJ, Yin X, et al. Preclinical Antimalarial Combination Study of M5717, a *Plasmodium falciparum* Elongation Factor 2 Inhibitor, and Pyronaridine, a Hemozoin Formation Inhibitor. Antimicrob Agents Chemother. 24 mars 2020;64(4):e02181-19. doi:10.1128/AAC.02181-19 PubMed PMID: 32041711; PubMed Central PMCID: PMC7179297.
195. Li Q, Liu T, Lv K, Liao F, Wang J, Tu Y, et al. Malaria: past, present, and future. Signal Transduct Target Ther. 17 juin 2025;10(1):188. doi:10.1038/s41392-025-02246-3 PubMed PMID: 40523953; PubMed Central PMCID: PMC12170910.
196. McLellan JL, Garcia-Vilanova A, Hanson KK. An Optimized P. berghei Liver Stage-HepG2 Infection Model for Simultaneous Quantitative Bioimaging of Host and Parasite Nascent Proteomes. Bio-Protoc. 5 mars 2024;14(5):4952. doi:10.21769/BioProtoc.4952 PubMed PMID: 38464937; PubMed Central PMCID: PMC10917691.
197. Lahree A, Mello-Vieira J, Mota MM. The nutrient games - *Plasmodium* metabolism during hepatic development. Trends Parasitol. juin 2023;39(6):445-60. doi:10.1016/j.pt.2023.03.013 PubMed PMID: 37061442.
198. Cherkaoui-Rbati MH, Andenmatten N, Burgert L, Egbelowo OF, Fendel R, Fornari C, et al. A pharmacokinetic-pharmacodynamic model for chemoprotective agents against malaria. CPT Pharmacomet Syst Pharmacol. janv 2023;12(1):50-61. doi:10.1002/psp4.12875 PubMed PMID: 36412499; PubMed Central PMCID: PMC9835136.

ANNEXES

9. Annexes

Matériels et consommables

1. Flacon T25 (430372 Bouchon style phénolique)
2. Centrifugeuse (GT1R Centrifugeuse Fisher Brand, Cust ref : 15868722)
3. Incubateur (Fisher Brand, version softwar 50111927-E)
4. Gaz mixte (Air Liquide UK Limited, FDS N° 6505)
5. Congélateur (SAMSUNG RT46K6331SP/MA) 4 °C et 80 °C
6. Pipette sérologique 1 mL, 5 mL et 10 mL (TD-EX 20°C NON PYROGÉNIQUE)
7. Falcon Tube de 15 mL et 50 mL (Deltalab s.l08191 Rubi (BCH) Espagne)
8. Aspirateur (INTEGRA VACUSAFE)
9. Microscope (Carl Zeiss, Axio Lab.A1 430037-9010-000)
10. Lames de microscope 50 PCS (FROSTED)
11. Hotte de laboratoire (TELSTAR Bio-II-A)
12. Tube CryoPure 1 (réf 72 379)
13. Embouts de barrière à filtre 10 μ , 200 μ L et 1000 μ L (Genesee Scientific : 800.789.5550)
14. Essuie-tout
 - Alcool 70°C
15. Eau de Javel
16. Blouse

Préparation des marqueurs (colorants)

Deux marqueurs utilisés,

❖ SYBR Green (SG)

Il a la capacité de se fixer sur les acides nucléiques.

- Ajoutez 2,5 μ l de SYBR Green 10.000X dans 497,5 μ l de solution 1X HBSS pour obtenir une solution 50X de SYBR Green.
- Préparer des aliquotes de 20 μ l dans des tubes à centrifuger de 1,5 ml et conserver à - 20 °C (à cette température la solution peut être conservée pendant 6 mois maximum)

❖ MitoTracker (MT)

Colore la mitochondrie et se fixe sur les cellules en activité.

- Ajoutez 92 μ l de DMSO à un tube de MT (fourni sous forme de poudre lyophilisée à 50 μ g) pour obtenir un résultat de 1 mM.

- Faire une solution de 1 mM MT.
- Conserver à -20 ° C pendant 6 mois maximum.
- Ajouter 6 µl de solution de MT 1 mM à 794 µl de solution 1X HBSS pour obtenir une solution de MT de 7,5 µM.
- Préparer des aliquotes de 20 µl dans des tubes à centrifuger de 1,5 ml.
- Conserver à -20 ° C pendant 6 mois maximum.

Fiche signalétique

Nom : SAGARA

Prénom : Allaye

Téléphone : (+223 70360424/61328999)

Email : allaye.sagara@icermali.org

Titre de la thèse : Evaluation de l'activité *in-vitro* de la combinaison Ganaplacide-Cabamiquine sur des souches résistantes et sauvages de *Plasmodium falciparum* au Ganaplacide.

Nationalité : Malienne

Ville de soutenance : Bamako

Année universitaire : 2022-2023

Lieu de dépôt : Bibliothèque de la faculté de Médecine et d'Odontostomatologie (FMOS) et la Faculté de pharmacie (FAPH).

Secteur d'intérêt : Parasitologie, Biologie moléculaire

Résumé de la thèse

Introduction

Le paludisme demeure un problème de santé publique majeur, aggravé par l'émergence de souches de *P. falciparum* résistantes aux traitements classiques. La résistance aux médicaments antipaludiques constitue un problème important de contrôle et d'éradication du paludisme. Elle justifie l'accélération des programmes de recherche afin de découvrir de nouvelles molécules antipaludiques. L'utilisation des médicaments en monothérapie est un autre facteur aggravant la résistance aux antipaludiques. Cette situation souligne l'urgence de développer de nouveaux antipaludiques présentant des mécanismes d'action innovants et une efficacité à large spectre. Les travaux de recherche de Merck ont permis la découverte de la Cabamiquine. Quant à elle, est un inhibiteur sélectif du facteur d'élongation 2 du parasite (*PfeEF2*), bloquant la synthèse protéique essentielle à la prolifération de *Plasmodium*. D'autres travaux ont montré de Novartis ont permis la découverte du Ganaplacide, appartenant à la classe des imidazolopipérazines, agit sur les stades hépatiques et asexués sanguins de *P. falciparum* en interférant avec le trafic vésiculaire et les fonctions du réticulum endoplasmique, perturbant ainsi la croissance et la survie du parasite. L'objectif de cette étude était d'évaluer l'activité *in-vitro* de la combinaison du ganaplacide et de la cabamiquine sur des souches résistantes ainsi que sur la souche 3D7, afin de caractériser leurs interactions pharmacodynamiques et leur potentiel thérapeutique. La combinaison de ces deux mécanismes d'action indépendants et complémentaires confère à l'association Ganaplacide–Cabamiquine un fort potentiel thérapeutique, capable d'améliorer l'efficacité antiparasitaire tout en réduisant le risque d'émergence de résistances.

Résultats

Les résultats de cette étude mettent en évidence une interaction pharmacodynamique différenciée entre la Cabamiquine et le Ganaplacide selon le profil de sensibilité de *P. falciparum*. L'évaluation *in-vitro* a été réalisée à l'aide d'un design checkerboard et d'une modélisation selon le principe d'indépendance de Bliss, permettant de quantifier la nature et l'intensité des interactions. Chez la souche sensible 3D7, la combinaison a induit une synergie bilatérale, marquée par une amélioration de la puissance des deux composés : l'EC₅₀ du Ganaplacide a diminué de 22,2 nM à 19,6 nM (–11,7 %) et celle de la Cabamiquine de 3,46 nM à 1,92 nM (–44,5 %). L'analyse temporelle a montré une amplification progressive de l'effet combiné : à 24 h, une activité modérée est observée à des concentrations proches des EC₅₀, tandis qu'à 48 h et 72 h, la synergie devient marquée avec près de 50 % de mortalité

obtenue à 3 nM de Cabamiquine + 22 nM de Ganaplacide, et $\geq 80\%$ à des concentrations plus élevées (Cabamiquine 5–6 nM, Ganaplacide 50–100 nM). Chez les souches résistantes au Ganaplacide, la Cabamiquine a exercé une potentialisation unidirectionnelle, réduisant l'EC₅₀ du Ganaplacide (≥ 100 nM en monothérapie) sans modifier sa propre efficacité, confirmant son rôle de facilitateur d'action. Ces interactions, dépourvues d'antagonisme, traduisent une complémentarité mécanistique entre l'inhibition de la synthèse protéique (Cabamiquine) et la perturbation du transport intracellulaire (Ganaplacide). Ainsi, cette étude démontre que la combinaison Ganaplacide–Cabamiquine permet de réduire l'exposition nécessaire pour obtenir un effet antiparasitaire, tout en soutenant l'intérêt de la Cabamiquine comme partenaire de choix pour restaurer l'efficacité des antipaludiques face aux souches résistantes de *P. falciparum*.

Conclusion

En conclusion, cette étude offre une analyse mécanistique approfondie des interactions médicamenteuses entre la Cabamiquine et le Ganaplacide, et souligne leur complémentarité stratégique dans le traitement du paludisme. La Cabamiquine s'affirme comme un agent clé de restauration de sensibilité dans les contextes de tolérance ou de résistance, tandis que le Ganaplacide conserve un rôle central en tant que partenaire à action rapide. L'intégration de ces deux composés dans une stratégie combinée apparaît ainsi comme une option thérapeutique prometteuse, tant pour les souches sensibles que pour les souches résistantes de *P. falciparum*.

Mots clé : *Plasmodium falciparum*, Ganaplacide/Cabamiquine, Activité *in-vitro*, Résistance aux antipaludiques, Synergie médicamenteuse.

Last Name: SAGARA

First Name: Allaye

Phone: (+223 70360424 / 61328999)

Email: allaye.sagara@icermali.org

Thesis Title : *In vitro* evaluation of the activity of the Ganaplacide–Cabamiquine combination against Ganaplacide-resistant and wild-type strains of *Plasmodium falciparum*.

Nationality: Malian

Defense City: Bamako

Academic Year: 2022–2023

Submission Location: Library of the Faculty of Medicine and Odontostomatology (FMOS) and the Faculty of Pharmacy (FAPH)

Field of Interest: Parasitology, Molecular Biology

Thesis abstract

Introduction

Malaria remains a major global public health challenge, further exacerbated by the emergence and spread of *Plasmodium falciparum* strains resistant to conventional antimalarial therapies. Antimalarial drug resistance represents a significant obstacle to malaria control and eradication efforts and underscores the urgent need to accelerate research programs aimed at identifying novel antimalarial compounds. The widespread use of antimalarial drugs as monotherapies has also contributed to the emergence and dissemination of resistant parasite strains. This situation highlights the critical need for the development of new antimalarial agents with novel mechanisms of action and broad-spectrum activity.

Research efforts by Merck led to the discovery of Cabamiquine, a selective inhibitor of the *P. falciparum* elongation factor 2 (PfeEF2), which inhibits protein synthesis essential for parasite growth and replication. In parallel, studies conducted by Novartis resulted in the identification of Ganaplacide, a member of the imidazolopiperazine class, which demonstrates activity against both hepatic and asexual blood stages of *P. falciparum*. Ganaplacide exerts its antiplasmodial activity by disrupting vesicular trafficking pathways and endoplasmic reticulum functions, thereby impairing parasite development and survival.

The objective of the present study was to evaluate the *in vitro* antiplasmodial activity of the Ganaplacide–Cabamiquine combination against resistant *P. falciparum* strains as well as the reference 3D7 strain, in order to characterize their pharmacodynamic interactions and assess their therapeutic potential. The combination of these two independent and complementary mechanisms of action confers significant therapeutic promise to the Ganaplacide–Cabamiquine combination, with the potential to enhance antiplasmodial efficacy while mitigating the risk of resistance emergence.

Results

The study showed different pharmacodynamic interactions between Cabamiquine and Ganaplacide depending on the sensitivity profile of *P. falciparum*. *In vitro* tests were performed using a checkerboard design and Bliss independence modeling to quantify the type and strength of the interactions. In the sensitive 3D7 strain, the combination produced bilateral synergy, improving the potency of both compounds: the EC₅₀ of Ganaplacide decreased from 22.2 nM to 19.6 nM (–11.7%), and that of Cabamiquine from 3.46 nM to 1.92 nM (–44.5%). Over time, the combined effect increased: at 24 hours, moderate activity was observed near EC₅₀

concentrations, while at 48 and 72 hours, strong synergy appeared, with about 50% parasite mortality at 3 nM Cabamiquine + 22 nM Ganaplacide, and $\geq 80\%$ at higher concentrations (Cabamiquine 5–6 nM, Ganaplacide 50–100 nM). In Ganaplacide-resistant strains, Cabamiquine showed a unidirectional potentiation by reducing Ganaplacide's EC_{50} (≥ 100 nM in monotherapy) without affecting its own activity, confirming its role as an enhancer. No antagonism was observed, indicating a true mechanistic complementarity between inhibition of protein synthesis (Cabamiquine) and disruption of intracellular transport (Ganaplacide). These results demonstrate that the Ganaplacide–Cabamiquine combination reduces the drug exposure needed for effective parasite killing and supports the use of cabamiquine as a partner to restore antimalarial activity against resistant *P. falciparum* strains.

Conclusion

This study provides a detailed analysis of the pharmacodynamic interactions between Cabamiquine and Ganaplacide and highlights their strategic complementarity in malaria treatment. Cabamiquine acts as a key agent for restoring sensitivity in resistant or tolerant strains, while Ganaplacide remains an important fast-acting partner. Their combination represents a promising therapeutic approach against both sensitive and resistant *P. falciparum* strains.

Key words: *Plasmodium falciparum*, Ganaplacide, Cabamiquine, *In vitro* Activity, Antimalarial Resistance, Drug Synergy

SERMENT DE GALIEN

*En présence des maitres de la faculté, des conseils de l'ordre des pharmaciens et de mes
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 !