

Ministère de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique

REPUBLIQUE DU MALI

Un Peuple Un But Une Foi

UNIVERSITE DES SCIENCES, DES TECHNIQUES ET DES
TECHNOLOGIES DE BAMAKO



FACULTE DE PHARMACIE



ANNEE UNIVERSITAIRE 2024-2025

N°.....

THESE

**Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur
l'efficacité des candidats antipaludiques contre
Plasmodium falciparum (3D7) : cas de la cabamiquine
et de la pyronaridine**

Présentée et soutenue publiquement le 17 Juillet 2026 devant le Jury de la
Faculté de Pharmacie

Par M. ALHASSANE B. DIALLO

Pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie

(Diplôme d'Etat).

Jury

Présidente : Mme. Safiatou NIARE DOUMBO, Professeur titulaire

Membres : M. Antoine DARA, Maître de Conférences

Mme. Aminatou KONE, Maître de Conférences

Directeur : M. Laurent DEMBELE, Maître de Conférences

**Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur l'efficacité des candidats antipaludiques
contre *Plasmodium falciparum* (3D7) : cas de la cabamiquine et de la pyronaridine**

**MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

REPUBLIQUE DU MALI
Un Peuple Un But Une Foi



FACULTE DE PHARMACIE



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	Bakary Mamadou	CISSE	Biochimie
3	Yaya	COULIBALY	Législation
4	Daouda	DIALLO	Chimie Générale et Minérale
5	Mouctar	DIALLO	Parasitologie-mycologie
6	Souleymane	DIALLO	Bactériologie - Virologie
7	Amagana	DOLO	Parasitologie
8	Kaourou	DOUCOURE	Physiologie humaine
9	Lassana	DOUMBIA	Chimie minérale
10	Ousmane	DOUMBIA	Chimie thérapeutique
11	Boukassoum	HAÏDARA	Législation
12	Akory Ag	IKNANE	Santé publique/Nutrition
13	Gaoussou	KANOUTE	Chimie analytique
14	Alou A.	KEÏTA	Galénique
15	Ousmane	KOÏTA	Biologie moléculaire

Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur l'efficacité des candidats antipaludiques contre *Plasmodium falciparum* (3D7) : cas de la cabamiquine et de la pyronaridine

16	Mamadou	KONE	Physiologie
17	Brehima	KOUMARE	Bactériologie/Virologie
18	Benoît Yaranga	KOUMARE	Chimie analytique/Bromatologie
19	Abdourahamane S.	MAÏGA	Parasitologie
20	Saïbou	MAÏGA	Législation
21	Ababacar I	MAÏGA	Toxicologie
22	Ousmane	TOURE	Santé publique/Environnementale
23	Mahamadou	TRAORE	Génétique
24	Sékou Fantamady	TRAORE	Zoologie

PROFESSEURS DECEDES

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Boubacar Sidiki	CISSE	Toxicologie
2	Mahamadou	CISSE	Biologie
3	Drissa	DIALLO	Pharmacognosie
4	Moussa	HARAMA	Chimie analytique
5	Mamadou	KOUMARE	Pharmacognosie
6	Elimane	MARIKO	Pharmacologie
7	Moussa	SANOGO	Gestion pharmaceutique
8	Abdoulaye	DABO	Malacologie-Biologie animale

DER : SCIENCES BIOLOGIQUES ET MEDICALES

1. PROFESSEURS/DIRECTEURS 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

Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur l'efficacité des candidats antipaludiques contre *Plasmodium falciparum* (3D7) : cas de la cabamiquine et de la pyronaridine

6	Kassoum	KAYENTAO	Directeur de Recherche	Santé publiq./Biostatistique
7	Bourèma	KOURIBA	Maître de Conférences	Immunologie
8	Issaka	SAGARA	Directeur de Recherche	Bio-statistique
9	Boubacar	TRAORE	Professeur	Parasitologie-Mycologie

2. MAITRES DE CONFERENCES/MAITRES DE RECHERCHE

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

Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur l'efficacité des candidats antipaludiques contre *Plasmodium falciparum* (3D7) : cas de la cabamiquine et de la pyronaridine

3. MAITRES-ASSISTANTS/CHARGES DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	GRADE	SPECIALITE
1	Boubacar Tiétiè	BISSAN	Maître-Assistant	Biologie clinique
2	Djénéba	COULIBALY	Maître-Assistant	Nutrition/Diététique
3	Seydou Sassou	COULIBALY	Maître-Assistant	Biochimie Clinique
4	Dramane	DIALLO	Maître-Assistant	Biologie moléculaire
5	Issa	DIARRA	Chargé de Recherche	Immunologie

4. ASSISTANTS/ATTACHES 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	KANOUTE	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

**Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur l'efficacité des candidats antipaludiques
contre *Plasmodium falciparum* (3D7) : cas de la cabamiquine et de la pyronaridine**

DER : SCIENCES PHARMACEUTIQUES

1. PROFESSEURS/DIRECTEURS DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	GRADE	SPECIALITE
1	Rokia	SANOGO	Professeur	Pharmacognosie

2. MAITRE DES CONFERENCES/MAITRES 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. MAITRES-ASSISTANTS/CHARGES DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	GRADE	SPECIALITE
1	Bakary Moussa	CISSE	Maître-Assistant	Galénique
2	Balla Fatogoma	COULIBALY	Maître-Assistant	Pharmacie hospitalière
3	Sékou	DOUMBIA	Assistant	Pharmacognosie
4	Hamma Boubacar	MAÏGA	Maître-Assistant	Galénique
5	Aboubacar	SANGHO	Maître-Assistant	Législation
6	Aminata Tiéba	TRAORE	Maître-Assistante	Pharmacie hospitalière

4. ASSISTANTS/ATTACHES DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	GRADE	SPECIALITE
1	Seydou Lahaye	COULIBALY	Assistant	Gestion pharmaceutique
2	Assitan	KALOGA	Assistant	Législation
3	Ahmed	MAÏGA	Assistant	Législation

Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur l'efficacité des candidats antipaludiques contre *Plasmodium falciparum* (3D7) : cas de la cabamiquine et de la pyronaridine

4	Aïchata Ben Adam	MARIKO	Assistant	Galénique
5	Bourama	TRAORE	Assistant	Législation
6	Sylvestre	TRAORE	Assistant	Gestion pharmaceutique
7	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. MAITRES 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 Ana/Bromatologie
6	Hamadoun Abba	TOURE	Maître de Conférences	Chimie Ana/Bromatologie
7	Karim	TRAORE	Maître de Conférences	Pharmacologie

3. MAITRES-ASSISTANTS/CHARGES DE RECHERCHE

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

4. ASSISTANTS/ATTACHES DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	GRADE	SPECIALITE
1	Blaise	DACKOUO	Assistant	Chimie Analytique
2	Aiguerou dit Abdoulaye	GUINDO	Assistant	Pharmacologie

Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur l'efficacité des candidats antipaludiques contre *Plasmodium falciparum* (3D7) : cas de la cabamiquine et de la pyronaridine

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. MAITRES DE CONFERENCES/MAITRES 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. MAITRES ASSISTANTS/CHARGES 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. ASSISTANTS/ATTACHES 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

**Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur l'efficacité des candidats antipaludiques
contre *Plasmodium falciparum* (3D7) : cas de la cabamiquine et de la pyronaridine**

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	Djibril	SANGARE	Biosécurité
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 13 juillet 2026



**P/Le Doyen PO
Le Secrétaire Principal,**

Seydou COULIBALY
Administrateur Civil

DEDICACES ET REMERCIEMENTS

DEDICACES

Je dédie ce travail de doctorat avec toute ma reconnaissance et gratitude à mes chers parents.

- ❖ A mon père, **Ouaténi DIALLO** : ton amour inconditionnel, ton art de toujours bien faire, tes sacrifices constants pour que nous ne manquions de rien, ta rigueur, tes conseils. Ton soutien tant matériel que moral durant tout le long de mon cursus scolaire ont été les piliers qui ont permis la réalisation de ce travail. Merci pour la confiance et merci d'être le papa que n'importe qui aimerait avoir. J'espère toujours te rendre fier !
- ❖ A ma mère, **Sanata DJIRE** : tu as toujours cru en moi, même dans les moments de doute. Tes conseils, ton amour sans limite, tes nuits blanches de prières et tes bénédictions, les valeurs et l'éducation reçues ont guidé mon chemin jusqu'à l'aboutissement de ce doctorat en pharmacie. Je ne te remercierai jamais assez pour tout ce que tu as fait et continue de faire pour nous.

Ce travail est l'expression de toute ma reconnaissance pour tout ce que vous avez fait pour moi et, souvent dans le silence.

Qu'Allah vous accorde une très bonne santé et longue vie !

REMERCIEMENTS

Je rends grâce à Allah Le Tout-Puissant, Le Très Miséricordieux pour m'avoir accordé la force, la santé et la patience nécessaires à l'aboutissement de ce travail. Sans Sa guidance et Sa miséricorde, ce parcours n'aurait pas pu être mené à terme.

Je ne pourrais terminer ce travail sans remercier, très affectueusement :

- ❖ Mes frères et sœurs **Mohamed DIALLO, Fatima Moussokoura DIALLO, Issiaka DIALLO, Yaya DIALLO, Kadidia DIALLO, Birama DIALLO, Ouaténi DIALLO et Mariam DIALLO** qui ont toujours été là, à chaque étape de ma vie, me prodiguant amour et conseils. Merci pour la confiance et tout le soutien que vous m'avez apporté ; qu'Allah vous récompense et vous prête une longue vie ;
- ❖ Ma belle-mère **Fatoumata BAGAYOKO** et mon beau père **Mamadou KEITA** : merci pour tout l'amour que vous me portez, toute la confiance et tous les encouragements. Qu'Allah vous récompense et vous prête une longue vie ;
- ❖ Ma tendre bien-aimée **Aïchatou Hamala DOUCOURE** : aucun mot n'est suffisant pour exprimer ma reconnaissance pour toute la patience, tout l'amour que tu me portes, tous tes sacrifices durant la réalisation de ce travail et toute la confiance que tu me portes. Ta présence dans ma vie m'est d'un très grand réconfort. Puisse Allah bénir notre couple et nous prêter longue vie !
- ❖ Ma petite princesse, **Sanata Alhassane DIALLO** : ta présence dans ma vie est une source de motivation et de persévérance ;
- ❖ Toute la famille **DIALLO, DJIRE, DOUCOURE, BAMBA, BAGAYOKO, GUEYE** pour la confiance portée en moi et le soutien indéfectible ;
- ❖ Toute la 16^{ème} promotion du numérus clausus de la Faculté de Pharmacie, surnommée Promotion feu Mamadou B Coulibaly ;
- ❖ L'ensemble du corps professoral de la Faculté de Pharmacie pour la qualité de l'enseignement reçu ;
- ❖ L'équipe de l'unité de chimiorésistance du PMRTC/DEAP ; particulièrement aux **Professeurs Abdoulaye DJIMDE, Laurent DEMBELE, Souleymane DAMA, Antoine DARA, Dinkorma OUOLOGUEM, Aminatou KONE, Amadou NIANGALY, aux Docteurs Mamadou TEKETE, Nianwalou DARA, Aliou TRAORE, Diagassan DOUMBIA, Sékou SISSOKO, Mohamed MAIGA, Djénéba DIALLO, Fatoumata Ousmane MAIGA, Fanta SOGORE, Bassirou DIAKITE,**

Moussa DOUMBIA, Kadi DOUMBIA, Ousmane SOKONA, Fatalmoudou TANDINA, François DAOU, Abdramane Salif KAMATE, Mandé SIDIBE, Ramata MARIKO, Allaye SAGARA et Aichata DEMBELE, aux Mrs. Nouhoum SANOGO, Mohamed TOURE, Aly TAPILY, Ousmaila DIAKITE, Fatoumata DIALLO, Tatié Cathérine DEMBELE et Saratou Konaté ;

- ❖ Les internes **Amadou NIANGALY, Souleymane YATTARA, Mamadou Daoulé DIARRA, Oumou DARA, Aminata DJIMDE, Mata SY ;**
- ❖ L'équipe de culture dans le laboratoire polyvalent 2 ; sans vous ce travail ne serait pas réalisé, que Dieu vous bénisse ;
- ❖ L'équipe Immunocore de l'UCRC particulièrement les professeurs : **Djénéba DABITAO, Bassirou DIARRA, Yéya dit Sadio SARRO**, les docteurs : **Mamadou WAGUE, Boubacar El Madane CISSE, Mohamed NANTOUME, Adama TESSOUGUE, Mariam COULIBALY, Isaac KOLOMA**. Merci infiniment pour le soutien sans faille, pour toute votre sympathie, votre joie de vivre, et la considération durant la réalisation de ce travail ;
- ❖ Tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de cet ouvrage, vous avez toute ma reconnaissance et ma gratitude. Qu'Allah vous récompense.

HOMMAGES AUX MEMBRES DU JURY

HOMMAGES AUX MEMBRES DU JURY

A NOTRE MAITRE ET PRESIDENTE DU JURY :

Professeure Safiatou NIARE DOUMBO

- Professeure Titulaire de Parasitologie-mycologie à la Faculté de Médecine et d'Odontostomatologie (FMOS) ;
- Responsable du laboratoire biologique de l'unité d'immunogénétique au PMRTC du Département d'Epidémiologie des Affections Parasitaires (DEAP) ;
- Chef de laboratoire de diagnostic mycologique au PMRTC / DEAP ;
- Secrétaire générale de l'Association des Femmes scientifiques du Mali (AFSM) ;
- Ambassadrice du Global Action For Fungal Infection (GAFFI) pour la mycologie au Mali ;
- Lauréate du prix SADIO 2020 : Catégorie Sciences.

Chère Maître ;

Nous vous adressons notre profonde reconnaissance et nos vifs remerciements pour avoir accepté de présider ce travail malgré vos nombreuses occupations. Votre parcours exceptionnel et l'art de toujours bien faire sont des sources de motivation pour nous jeune génération. Veuillez accepter toute notre reconnaissance et notre profond respect. Qu'Allah vous prête une longue vie et bonne santé.

Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur l'efficacité des candidats antipaludiques contre *Plasmodium falciparum* (3D7) : cas de la cabamiquine et de la pyronaridine

A NOTRE MAITRE ET JUGE :

Professeur Antoine DARA

- Maître de Conférences Agrégé en Biologie Moléculaire ;
- PhD en Microbiologie et Immunologie ;
- Enseignant-Chercheur au PMRTC ;
- Responsable du laboratoire de génomique du PMRTC.

Cher Maître ;

C'est un grand honneur que vous nous faites en acceptant de siéger dans ce jury, malgré vos nombreuses occupations. La clarté de votre enseignement, votre simplicité et votre sens élevé du travail bien fait ont forcé notre admiration. Veuillez accepter l'expression de notre profonde gratitude. Puisse Dieu vous accorder une longue vie et brillante carrière.

Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur l'efficacité des candidats antipaludiques contre *Plasmodium falciparum* (3D7) : cas de la cabamiquine et de la pyronaridine

A NOTRE MAITRE ET JUGE :

Professeure Aminatou KONE

- Maître de Conférences en Biologie Moléculaire ;
- PhD en Sciences Médicales ;
- Enseignante-Chercheuse au PMRTC.

Chère Maître ;

Vous nous avez impressionnés par votre gentillesse, votre simplicité et votre disponibilité. C'est un immense honneur pour nous de bénéficier de votre rigueur scientifique. Veuillez recevoir, chère maitre, l'expression de notre profonde gratitude et tout notre respect. Puisse Dieu vous accorder une longue vie et brillante carrière.

Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur l'efficacité des candidats antipaludiques contre *Plasmodium falciparum* (3D7) : cas de la cabamiquine et de la pyronaridine

A NOTRE MAÎTRE ET DIRECTEUR DE THÈSE :

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 sensibles à l'honneur que vous nous avez fait en acceptant de diriger cette thèse. Durant notre formation, vous avez su nous communiquer la rigueur dans le travail, votre gentillesse, votre disponibilité, votre patience, vos conseils précieux nous ont permis de mener à bien cette thèse. Vous avez cultivé en nous l'envie de bien faire. Veuillez trouver ici cher maître, l'expression de notre sincère reconnaissance. Longue vie et brillante carrière à vous.

LISTE DES SIGNES ET ABREVIATIONS

LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS

Ac : Anticorps

ADCI : Antibody-Dependent Cellular Inhibition/ Cytotoxicité à Médiation Cellulaire Dépendante des Anticorps

ADN : Acide Désoxyribonucléique

Ag : Antigènes

AIEA : Agence Internationale pour l'Energie Atomique

AUC : Exposition globale

CD : Cluster of Differentiation/ Cluster de différenciation

CDC : Centers for Disease Control and Prevention/ Centre pour le contrôle et la prévention des maladies

Cl : Clairance

C_{max} : Concentration plasmatique maximale

CMF : Cytométrie en flux

CMH : Complexe Majeur Histocompatibilité

CO₂ : Dioxyde de carbone

CTA : Combinaison thérapeutique à base d'artémisinine

DDT : Dichlorodiphényltrichloroéthane

DEAP : Département d'Epidémiologie des Affections Parasitaires

DHFR : Dihydrofolate Reductase

DHIS2 : District Health Information Software 2/ Système National d'information sanitaire

DMSO : Diméthylsulfoxyde

EC₅₀ : Half maximal effective concentration /Concentration efficace médiane

EDTA : Acide Ethylène Diamine Tetra-Acétique

eEf2 : eukaryotic Elongation factor 2/ facteur d'élongation 2 des eucaryotes

Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur l'efficacité des candidats antipaludiques contre *Plasmodium falciparum* (3D7) : cas de la cabamiquine et de la pyronaridine

ELISA : Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay/ Test d'immuno-absorption enzymatique

FITC : Fluorescein Isothiocyanate/ Isothiocyanate de fluorescéine

FM : Frottis mince

FMPOS : Faculté de Médecine, de Pharmacie et Odontostomatologie

FSC : Forward Scatter/ diffusion vers l'avant

FTIR : Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier

GE : Goutte Epaisse

Gri : Globules rouges infectés

HBSS : Hank's Balanced Salt Solution/ Solution saline équilibrée de Hank's

HPLC : High Performance Liquid Chromatography/ Chromatographie Liquide à haute performance

HRP2 : Histidine-Rich Protein 2/ Protéine riche en histidine

IC50 : Half maximal inhibitory concentration/ concentration inhibitrice médiane

IFI : Immunofluorescence Indirecte

IgG : Immunoglobuline G

IL 10 : Interleukine 10

IL 13 : Interleukine 13

iRBCs : infected Red Blood Cells/ Globules rouges infectés

IRD : Institut de Recherche pour le Développement

JC : Jesus Christ

M5717 : Cabamiquine

MEDRU : Molecular Epidemiology and Drug Resistance Unit/ Unité d'Epidémiologie moléculaire et résistance aux médicaments

Mn : Minutes

Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur l'efficacité des candidats antipaludiques contre *Plasmodium falciparum* (3D7) : cas de la cabamiquine et de la pyronaridine

MRTC : Malaria Research and Training Center/ Centre de Recherche et de Formation sur le Paludisme

MSP : Merozoite Surface Proteins / Protéines de surface des mérozoïtes

MT : Mitotracker

NaCl : Chlorure de Sodium

NAI : Natural Acquired Immunity/ Immunité naturelle acquise

NIH : National Institute of Health/ Institut National de la Santé

NO : Oxyde Nitrique

NSG : NOD Scid Gamma

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

P.f : *Plasmodium falciparum*

PBMCs : Peripheral Blood Mononuclear Cells/ Cellules Mononuclées du Sang Périphérique

PBS : Phosphate-Buffered Saline/ Solution tamponnée au Phosphate Salin

PCR : Polymerase Chain Reaction/ Réaction en chaîne par polymérisation

PD : Pharmacodynamique

PE : Phycoérythrine

PEF : Transfert d'électrons photo-induit

PK : Pharmacocinétique

pLDH : Plasmodium Lactate Déshydrogénase

PMA : Phorbol Myristate Acetate

PMRTC : Parasites and Microbes Research and Training Center/ Centre de recherche et de formation sur les parasites et les microbes

PMT : Photomultiplicateur

PNLP : Programme National de Lutte contre le Paludisme

PSM : Poste de Sécurité Microbiologique

Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur l'efficacité des candidats antipaludiques contre *Plasmodium falciparum* (3D7) : cas de la cabamiquine et de la pyronaridine

Pyro : Pyronaridine

RBCs : Red Blood Cells/ Globules rouges

RPM : Revolution Per Minute/ Tours par minute

RPMI : Roswell Park Memorial Institute Medium

SG : Sybr Green

SN : Sérum Naïf

SNN : Sérum Non Naïf

SOP : Standard Operating Procedure/ Procédure Standard Opérateur

SP : Sulfadoxine-Pyriméthamine

Spp : Espèce

SSC : Side Scatter/ Diffusion latérale

T_{1/2} : Temps de demi-vie

T_{max} : Temps pour atteindre C_{max}

TCD4⁺ : Lymphocyte T CD4⁺

TCD8⁺ : Lymphocyte T CD8⁺

TDR : Test de Diagnostic Rapide

Th1 : Lymphocyte T helper 1

Th2 : Lymphocyte T helper 2

TNF : Tumoral Necrose Factor/ Facteur de Nécrose Tumorale

USA : Etats Unis d'Amérique

US-AID : United States Agency for International Development/ Agence américaine pour le développement international

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

uRBCs : uninfected Red Blood Cells/ Globules rouges non infectés

**Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur l'efficacité des candidats antipaludiques
contre *Plasmodium falciparum* (3D7) : cas de la cabamiquine et de la pyronaridine**

Vd : Volume de distribution

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Médicaments antipaludiques courants	19
Tableau 2 : Structure chimique des antipaludiques courants	21
Tableau 3 : Valeurs d'EC50 estimées par le modèle pour la cabamiquine et la pyronaridine selon différentes conditions immunitaires et scénarios d'interaction médicamenteuse.....	56
Tableau 4 : Paramètres estimés du modèle pharmacodynamique final	58

LISTE DES FIGURES

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Distribution du paludisme dans le monde.....	8
Figure 2 : Cycle biologique du paludisme.....	11
Figure 3 : Structure chimique de la pyronaridine.....	23
Figure 4 : Structure chimique de la cabamiquine.....	24
Figure 5 : Mécanisme d'action de la cabamiquine.....	24
Figure 6 : Marqueur de résistance à la cabamiquine et positions des mutations de résistance à la cabamiquine.....	25
Figure 7 : Doses prédites de médicament de la combinaison cabamiquine-pyronaridine	26
Figure 8 : Principe de la cytométrie de flux pour la détection et la quantification des globules rouges infectés par <i>Plasmodium falciparum</i>	29
Figure 9 : Frottis mince étalé sur une lame	34
Figure 10 : Morphologie microscopique des globules rouges infectés par <i>Plasmodium falciparum</i> (stade anneau)	35
Figure 11 : Schéma expérimental d'isolement des PBMCs à partir de sang total de patients non naïfs	37
Figure 12 : Processus expérimental de prélèvement du sérum chez les patients non naïfs	37
Figure 13 : Schéma expérimental illustratif de la coculture (PBMCs+sérum+parasites)	40
Figure 14 : Schéma expérimental de la coculture des PBMCs, sérum avec les parasites (<i>P. falciparum</i> 3D7).....	41
Figure 15 : Schéma expérimental de la coculture des PBMCs, sérum, combinaison cabamiquine pyronaridine avec les parasites (<i>P. falciparum</i> 3D7).....	42
Figure 16 : Stratégie de sélection des populations cellulaires par cytométrie en flux pour l'identification des uRBCs (R1), iRBCs (R2) et des sous-populations de PBMCs (monocytes, lymphocytes et granulocytes).....	44
Figure 17 : Effet antiparasitaire des sera humains sur <i>P. falciparum</i>	50
Figure 18 : Effet antiparasitaire des PBMCs non activées des patients non naïfs sur la croissance de <i>P. falciparum</i>	50
Figure 19 : Effet antiparasitaire des PBMCs activées des patients non naïfs sur la croissance de <i>P. falciparum</i>	51
Figure 20 : Effet phagocytaire des PBMCs activées sous différents stimuli des globules rouges infectés.....	52
Figure 21 : Effet combiné des sera et des PBMCs sur la croissance de <i>P. falciparum</i> 3D7 ...	53

Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur l'efficacité des candidats antipaludiques contre *Plasmodium falciparum* (3D7) : cas de la cabamiquine et de la pyronaridine

Figure 22 : Interactions entre la cabamiquine et la pyronaridine en présence de sérum..... 55

Figure 23 : Interactions cabamiquine-pyronaridine en présence du système sérum-PBMCs. 57

SOMMAIRE

SOMMAIRE

I.	INTRODUCTION	1
II.	OBJECTIFS.....	5
II.1	Objectif général :	5
II.2	Objectifs spécifiques :	5
III.	GENERALITES	7
1.	Historique du paludisme.....	7
2.	Epidémiologie du paludisme	7
3.	Agent pathogène	8
4.	Vecteur	9
5.	Cycle biologique du parasite	9
6.	Diagnostic biologique du paludisme	11
6.1.	Diagnostic direct.....	11
6.2.	Diagnostic indirect :	12
7.	Immunité anti-palustre	13
8.	Stratégies de lutte contre le paludisme.....	16
9.	Antipaludiques courants.....	18
10.	Combinaison d'antipaludiques utilisée dans l'étude.....	23
11.	Méthodes d'évaluation.....	27
11.1.	Culture parasitaire.....	27
11.2.	Cytométrie en flux	28
12.	Principes techniques de la cytométrie en flux.....	28
12.1.	Applications de la cytométrie en flux	29
IV.	METHODOLOGIE	31
1.	Lieu d'étude	31
2.	Type et période l'étude	32

**Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur l'efficacité des candidats antipaludiques
contre *Plasmodium falciparum* (3D7) : cas de la cabamiquine et de la pyronaridine**

3.	Conditions de travail au laboratoire.....	32
4.	Matériel et appareils	32
5.	Techniques	33
6.	Modélisation mathématique pharmacodynamique.....	44
7.	Déclarations éthiques	47
V.	RESULTATS	49
1.	Contribution de l'immunité humorale (sérum) au contrôle parasitaire	49
2.	Effet de l'immunité cellulaire (PBMCs) sur la croissance parasitaire	50
3.	Effet combiné de l'immunité cellulaire et humorale sur la croissance parasitaire	52
4.	Effet de l'immunité humorale sur l'efficacité de la combinaison cabamiquine- pyronaridine sur la croissance parasitaire	53
5.	Effet de l'immunité cellulaire et humorale sur l'efficacité de la combinaison cabamiquine-pyronaridine sur la croissance parasitaire.....	56
VI.	DISCUSSION	61
1.	Absence d'effet antiparasitaire quantifiable des PBMCs seules.....	61
2.	Effet limité du sérum seul sur la croissance parasitaire	61
3.	Effet synergique de l'ensemble PBMCs-sérum	61
4.	Modulation de l'activité des antipaludiques par l'immunité de l'hôte	62
5.	Interaction entre cabamiquine et pyronaridine	62
6.	Implications biologiques et cliniques	62
7.	Limites de l'étude	63
VII.	CONCLUSION.....	65
VIII.	RECOMMANDATIONS.....	67
IX.	REFERENCES	69
X.	ANNEXE	84

INTRODUCTION

I. INTRODUCTION

Le paludisme est une maladie fébrile due à un parasite du genre *Plasmodium* et qui se transmet à l'être humain par la piqure de moustique (anophèle femelle infectée) (1). Selon le dernier rapport de l'OMS sur le paludisme dans le monde, publié en décembre 2025, on estimait à 282 millions le nombre de cas de paludisme et à 610 000 le nombre de décès dus à cette maladie dans le monde en 2024 (2). Cela représente environ 9 millions de cas de plus que l'année précédente. Environ 95 % des décès sont survenus dans la Région africaine de l'OMS, où de nombreuses personnes à risque n'ont toujours pas accès aux services requis pour prévenir, détecter et traiter cette maladie (3).

Le Mali fait partie des 11 pays les plus touchés par le paludisme dans le monde. En 2022, le paludisme était la principale cause de morbidité (43 %) et de mortalité (27 %) dans le pays (DHIS2). Le Mali compte l'un des plus grands nombres de cas et de décès dus au paludisme au monde, représentant 3,1 % des cas mondiaux de paludisme, 2,4 % des décès en 2023 et 6,6 % des cas en Afrique de l'Ouest. De 2022 à 2023, l'incidence du paludisme au Mali a diminué de 2 %, passant de 353 à 346 pour 1 000 personnes à risque, tandis que les décès ont diminué de 31 %, passant de 0,87 à 0,6 pour 1 000 habitants à risque (4). Les enfants de moins de 5 ans et les femmes enceintes sont les catégories de la population les plus vulnérables (4).

Le rapport mondial sur le paludisme montre que la résistance aux médicaments antipaludiques augmente et fait obstacle à l'élimination du paludisme (5). Le rapport met en évidence des preuves de résistance partielle aux dérivés de l'artémisinine, qui sont devenus le pilier des traitements antipaludiques après l'échec de la chloroquine et de la sulfadoxine-pyriméthamine (6). La résistance aux combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine (CTA) a désormais été confirmée ou suspectée dans au moins 8 pays d'Afrique et il existe des signes potentiels de baisse de l'efficacité des médicaments associés à l'artémisinine (7).

Le développement de nouveaux traitements antipaludiques est un élément important de la lutte pour réduire la morbidité et la mortalité liées au paludisme (8). Les caractéristiques idéales des nouveaux antipaludiques comprennent une capacité à réduire rapidement la charge parasitaire ; une longue durée d'activité pour éviter la nécessité de doses multiples ; une activité contre plusieurs stades du cycle de vie du parasite, y compris les stades hépatiques dormants et les gamétocytes assurant la transmission du paludisme ; une capacité à être utilisé pour la chimio-

Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur l'efficacité des candidats antipaludiques contre *Plasmodium falciparum* (3D7) : cas de la cabamiquine et de la pyronaridine

protection et un nouveau mode d'action pour éviter la résistance croisée avec les antipaludiques existants. La combinaison de deux ou plusieurs composés est nécessaire pour obtenir ces propriétés et est considérée comme une stratégie importante pour minimiser le risque d'émergence d'une résistance à un nouveau composé (9).

La cabamiquine, un candidat médicament en développement clinique, a montré qu'il inhibait la synthèse des protéines en ciblant le facteur 2 d'élongation(eEF2) de *P. falciparum* (10). Dans des études précliniques, la cabamiquine a montré une activité à (0,2-1,3nM) tout au long du cycle de vie des parasites de *Plasmodium* (11). L'activité préérythrocytaire de la cabamiquine contre l'infection par *P. yoelii* et *P. berghei* a également été démontrée *in vitro* (12). Le mécanisme d'action novateur de la cabamiquine, sa puissante activité antipaludique à plusieurs étapes et sa longue demi-vie plasmatique en font un candidat prometteur pour le traitement et la prévention du paludisme (13). Des études précédentes ont montré que des parasites résistants à la cabamiquine peuvent être sélectionnés aussi bien chez les souches de laboratoire que chez les isolats de terrain au Mali (14). La pyronaridine a été identifiée comme un partenaire approprié pour la cabamiquine (M5717) dans un modèle murin de paludisme humain (15). Aucune interaction pharmacodynamique néfaste n'a été observée entre les deux médicaments, cependant cette étude rapporte des interactions non délétères entre la cabamiquine et la pyronaridine sur les souches de laboratoire (3D7) dans le modèle animal (NSG, NOD/SCID/IL2r^{null}) (16).

Une étude préclinique au Mali, en utilisant des souches cliniques de terrain sauvages et résistants à la cabamiquine, avait montré une interaction favorable entre la cabamiquine et la pyronaridine. Il est important de noter que la pyronaridine pourrait supprimer l'apparition de parasites mutants résistants à la cabamiquine et maintenir son profil à action rapide (17).

De plus, l'efficacité des antipaludiques a été historiquement conceptualisée comme une propriété essentiellement intrinsèque du médicament, gouvernée par l'exposition pharmacocinétique et la sensibilité parasitaire. Ce paradigme parasite-centré néglige un troisième déterminant majeur : l'immunité de l'hôte. Dans les zones d'endémie, les expositions répétées à *P. falciparum* induisent progressivement une immunité acquise naturellement capable de limiter la multiplication parasitaire et de favoriser la clairance sous traitement. Des observations cliniques récurrentes illustrent cette contribution : des enfants présentent des échecs thérapeutiques malgré des concentrations adéquates de médicament et l'absence de

Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur l'efficacité des candidats antipaludiques contre *Plasmodium falciparum* (3D7) : cas de la cabamiquine et de la pyronaridine

mutations de résistance, tandis que des adultes semi-immuns éliminent efficacement des infections, même avec des niveaux sous-optimaux de médicament (18,19). Ces paradoxes suggèrent que la clairance parasitaire résulte d'une interaction dynamique entre l'action pharmacologique du médicament et les réponses immunitaires de l'hôte, impliquant que les essais précliniques menés sur cultures axéniques sous-estiment l'efficacité clinique réelle dans les populations endémiques.

Problématique : Face à ces constats, une évaluation réaliste et prédictive des antipaludiques nécessite une approche intégrée, capable de dépasser les limites des paradigmes conventionnels. Il devient indispensable de faire l'intégration explicite de l'immunité de l'hôte dans l'évaluation de l'efficacité des antipaludiques depuis leurs évaluations précliniques.

La présente thèse s'inscrit dans cette perspective, en prenant l'association cabamiquine-pyronaridine comme modèle d'étude. Elle vise à répondre à une question centrale : **comment évaluer, de manière rigoureuse et prédictive l'efficacité thérapeutique d'un antipaludique innovant : la combinaison cabamiquine-pyronaridine, en intégrant l'immunité de l'hôte ?**

Hypothèse de recherche : Les facteurs immunitaires humains pourraient accroître l'efficacité de la cabamiquine et de la pyronaridine contre *Plasmodium falciparum* (3D7).

OBJECTIFS

II. OBJECTIFS

II.1 Objectif général :

Caractériser l'impact des facteurs immunitaires humains sur la combinaison cabamiquine-pyronaridine *in vitro* sur *Plasmodium falciparum* (3D7).

II.2 Objectifs spécifiques :

1. Mesurer l'activité antiparasitaire des sera humains contre *Plasmodium falciparum* (3D7) ;
2. Mesurer l'activité antiparasitaire des PBMCs contre *Plasmodium falciparum* (3D7) ;
3. Mesurer l'activité antiparasitaire des PBMCs imprégnées au sérum sur *Plasmodium falciparum* (3D7) ;
4. Mesurer l'effet du sérum humain sur l'efficacité de la combinaison cabamiquine pyronaridine contre *Plasmodium falciparum* (3D7) ;
5. Mesurer l'impact des PBMCs imprégnées au sérum sur l'activité antiparasitaire de la combinaison cabamiquine pyronaridine *in vitro* sur *Plasmodium falciparum* (3D7).

GENERALITES

III. GENERALITES

1. Historique du paludisme

Le paludisme est une maladie parasitaire due à des protozoaires du genre *Plasmodium* et sévissait déjà avant l'apparition de l'Homme. Ces très anciens parasites seraient d'origine africaine et auraient co-évolué depuis plusieurs milliers d'années avec les anthropoïdes africains, puis avec les Hommes (20). Au IV^{ème} siècle avant J.C., Hippocrate a réalisé ses premières descriptions cliniques des fièvres palustres avec la triade classique « frissons-fièvre-sueur » selon des séquences quotidiennes, tierces ou quartes. Au II^{ème} siècle avant J.C., les Grecs et les Romains ont relevé une corrélation étiologique entre les fièvres intermittentes et la proximité des marécages (20).

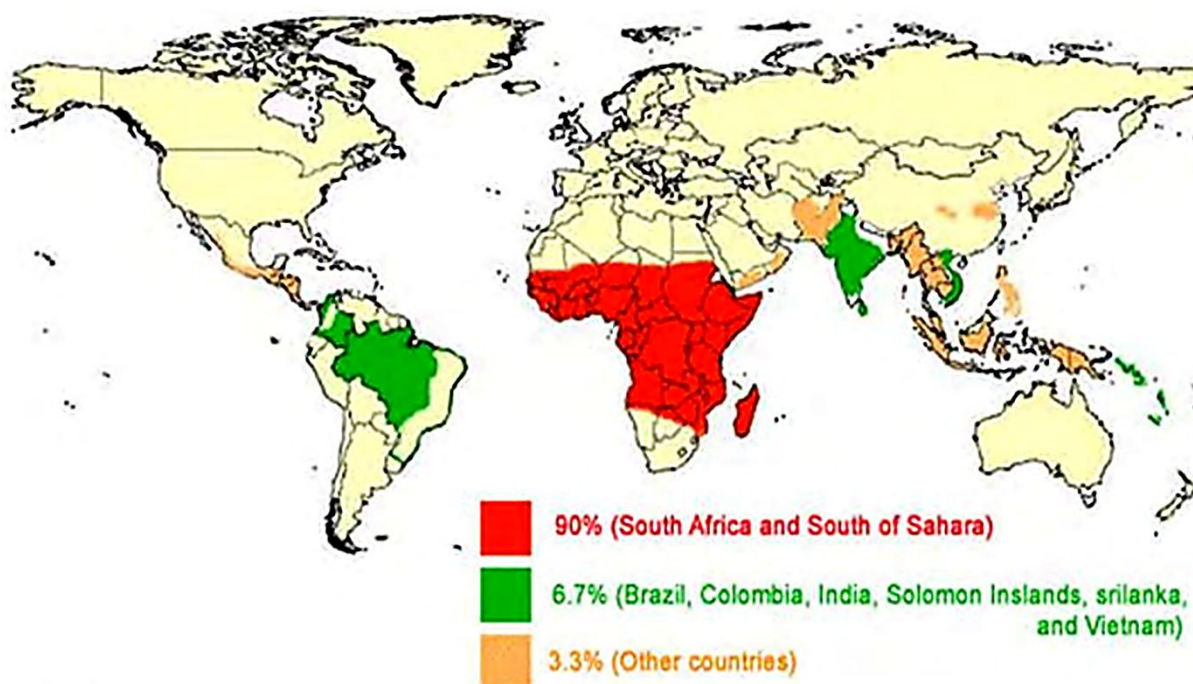
- avant 1630, on distinguait parmi les fièvres, celles des marécages (21) ;
- 1820 : Pelletier et Caventou isolent l'alkaloïde actif du quinquina : la quinine ;
- 1890 : description de différentes étapes du cycle par Golgi : Marchiafava, Cell-Golgi, description de trois espèces plasmodiales : *malariae*, *vivax* et *falciparum* ;
- 1922 : Stephens isola une quatrième espèce : *Plasmodium ovale* ;
- 1942 : pendant la deuxième guerre mondiale, découverte de la chloroquine ainsi que d'autres molécules actives sur les *plasmodiums* et le DDT et d'autres insecticides ;
- 1966 : le programme de lutte contre le paludisme est remis en question par l'apparition de souches de *Plasmodium falciparum* résistantes aux amino-4-quinoléines de synthèse ainsi que la résistance des moustiques aux DDT.

2. Epidémiologie du paludisme

Importance médicale du paludisme : « Un des rares fléaux de Santé Publique qui ait traversé les siècles sans jamais perdre son activité », le paludisme touche plus de 90 pays (figure 2), menace près de 2,5 milliards de personnes (40% de la population mondiale), cause 300 à 515 millions de cas cliniques par an et 1,5 à 2 millions décès par an, en particulier chez les enfants de moins de 5 ans et les femmes enceintes. Près de 90 % des cas de touchent les pays de l'Afrique subsaharienne, où la maladie fait sérieusement obstacle au développement économique et social. Le paludisme coûte à l'économie africaine 12 milliards de dollars par an en pertes directes et 1,3 % de perte annuelle de croissance du PIB (22). Il constitue la principale cause de mortalité chez l'enfant de moins de cinq ans (20%) qui, avec les femmes enceintes, payent alors le plus lourd tribut à cette maladie (23). En effet, chaque année, au moins 23 millions de grossesses sont menacées par le paludisme et plus de 200 000 nouveau-nés souffrent

Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur l'efficacité des candidats antipaludiques contre *Plasmodium falciparum* (3D7) : cas de la cabamiquine et de la pyronaridine

des conséquences de cette maladie sur la grossesse. Il est responsable de 40% des dépenses de santé publique, de 30 à 50% des admissions dans les hôpitaux et de pas moins de 50% des consultations externes dans les zones de forte transmission. Tous les cas de paludisme africain se rencontrent presque exclusivement en Afrique sub-saharienne avec comme principal espèce : *Plasmodium falciparum*, l'espèce plasmodiale la plus fréquente et qui induit les formes les plus graves de la pathologie (24).



Source : www.pon.nic.in/vcrrc/globe.html

Figure 1 : Distribution du paludisme dans le monde

3. Agent pathogène

L'agent responsable de la maladie est un hématozoaire unicellulaire appartenant à l'embranchement des Apicomplexa, classe des sporozoaires, ordre des Eucoccidies, famille des Plasmodidés et genre *Plasmodium*. Les espèces plasmodiales pathogènes pour l'homme sont :

- *Plasmodium falciparum* : Agent de la fièvre tierce maligne et l'accès pernicieux, est l'espèce responsable de la quasi-totalité des décès par le paludisme ;
- *Plasmodium vivax* : agent de la fièvre tierce bénigne ;
- *Plasmodium ovale* : agent de la fièvre tierce bénigne ;
- *Plasmodium malariae* : agent de la fièvre quarte et de la néphrite quartane ;

Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur l'efficacité des candidats antipaludiques contre *Plasmodium falciparum* (3D7) : cas de la cabamiquine et de la pyronaridine

- *Plasmodium knowlesi* : parasite du macaque, a été retrouvé chez l'homme, son cycle érythrocytaire est de 24 heures, il est morphologiquement proche de *vivax*. Il ne présente pas d'hypnozoïtes dans le foie (21).

4. Vecteur

Le vecteur du paludisme est le moustique femelle : *anophèle* (car c'est elle qui est hématophage, le mâle se nourrit quant à lui de nectar de fleurs...) à activité vespérale (privilégie le soir pour faire ses repas sanguins). La capacité vectrice est variable selon les espèces, et l'espèce plasmodiale transmise peut-être différente selon les espèces de moustique. Il faut une quinzaine de jours à température ambiante pour que le parasite s'installe, d'où sa prédominance dans les pays tropicaux (25).

- ❖ **Cycle biologique des anophèles** : Les anophèles pondent leurs œufs à la surface de l'eau. Ces œufs, éclosent généralement 24 à 36 heures après la ponte. La larve subit trois mues consécutives qui la conduisent au stade nymphal. La nymphe se transforme en moustique adulte ou imago au bout de 24 à 48 heures. De la ponte au stade adulte, la durée est de 8 à 12 jours pour *An. gambiae* et de 10 à 21 jours pour *An. funestus*. Seules les femelles sont hématophages, les mâles se nourrissent de suc provenant des plantes. L'accouplement a lieu quelques instant après l'éclosion, la femelle ne s'accouple généralement qu'une seule fois et reçoit une quantité suffisante de sperme pour toute sa vie. Chaque espèce d'anophèle a un gîte de préférence. *An. funestus* a une préférence pour les gîtes d'eau profonde, claire, permanente ou sous-permanente, ombragée par la végétation (herbes, végétation flottante). Quant à l'espèce *An. gambiae*, elle est surtout rencontrée dans les collections d'eau peu profondes et ensoleillées comme les empreintes de pas ou de pneu, les flaques d'eau, les petites mares, les marécages aménagés, les rizières, flaques d'eau résiduelles de cours d'eau en décrue.

5. Cycle biologique du parasite

❖ Cycle chez l'anophèle

Lors d'un repas sanguin sur un individu infecté, l'anophèle femelle ingère des gamétocytes, à potentiel sexuel mâle ou femelle. Les gamétocytes parviennent dans l'estomac du moustique et se transforment en gamètes. Le gamète mâle subit un processus d'ex-flagellation à la suite duquel les gamètes femelles sont fécondés. Il en résulte un zygote appelé ookinète ; celui-ci s'implante sous la paroi stomacale en formant l'oocyste. Cette brève phase diploïde s'achève par une division méiotique et est suivie par plusieurs milliers de mitoses qui conduisent au

développement de sporozoïtes. L'éclatement de l'oocyste libère ces éléments mobiles et haploïdes dans l'hémolymphe. Les sporozoïtes gagnent préférentiellement les glandes salivaires du moustique d'où ils pourront être injectés avec la salive lors d'une piqûre infestante. Chez le moustique, l'ensemble de ce cycle se déroule en 10 à 40 jours, suivant la température extérieure et les espèces en cause. La durée de vie de l'anophèle est d'environ un mois.

❖ **Cycle chez l'homme**

- **Cycle exo érythrocytaire :** Au cours de la piqûre, l'anophèle femelle infecté injecte dans un capillaire des sporozoïtes. Il est à noter que moins de 20% des piqûres de moustiques contenant des sporozoïtes dans leurs glandes salivaires sont responsables d'infections en zone d'endémie. Les sporozoïtes transitent dans la circulation générale et, en quelques minutes, ils envahissent les hépatocytes grâce à une interaction spécifique entre la protéine majeure de surface du sporozoïte et un récepteur spécifique situé sur la membrane plasmique de l'hépatocyte. Le sporozoïte entre alors dans une phase de réplication, au sein de la vacuole parasitophore, et de prolifération intracellulaire qui repousse en périphérie le noyau de la cellule et finit par constituer une masse multinucléée appelée schizonte qui conduit à la libération de plusieurs dizaines de milliers de mérozoïtes dans la circulation. Cette phase de multiplication est asymptomatique et dure de 8 à 15 jours, selon les espèces. Contrairement à *P. vivax* et *P. ovale*, *P. falciparum* et *P. malariae* ne possèdent pas de formes de persistance hépatique ou hypnozoïtes.
- **Cycle endo-érythrocytaire :** Seule cette phase sanguine est responsable des symptômes qui peuvent être d'intensité variable. Les mérozoïtes libérés lors de la rupture de l'hépatocyte vont débiter le cycle sanguin asexué de prolifération de *P. falciparum* en infectant les érythrocytes. Le mérozoïte pénètre grâce à un processus parasitaire actif et se différencie au sein de la vacuole parasitophore en anneau, puis en trophozoïte, stade à partir duquel une intense phase répllicative commence. Il donne alors naissance au schizonte, celui-ci après segmentation montre une forme caractéristique de rosace, puis libère 8 à 32 mérozoïtes selon l'espèce qui, rapidement, réinfectent des érythrocytes sains. L'ensemble de ce cycle dure 48 heures chez *P. falciparum*. L'apparition des gamétocytes a lieu en général la deuxième semaine qui suit l'infection et ces formes peuvent persister plusieurs semaines après la guérison. A la suite d'une nouvelle piqûre par un anophèle, les gamétocytes mâles et femelles (au dimorphisme sexuel marqué) sont ingérés avec le repas sanguin.

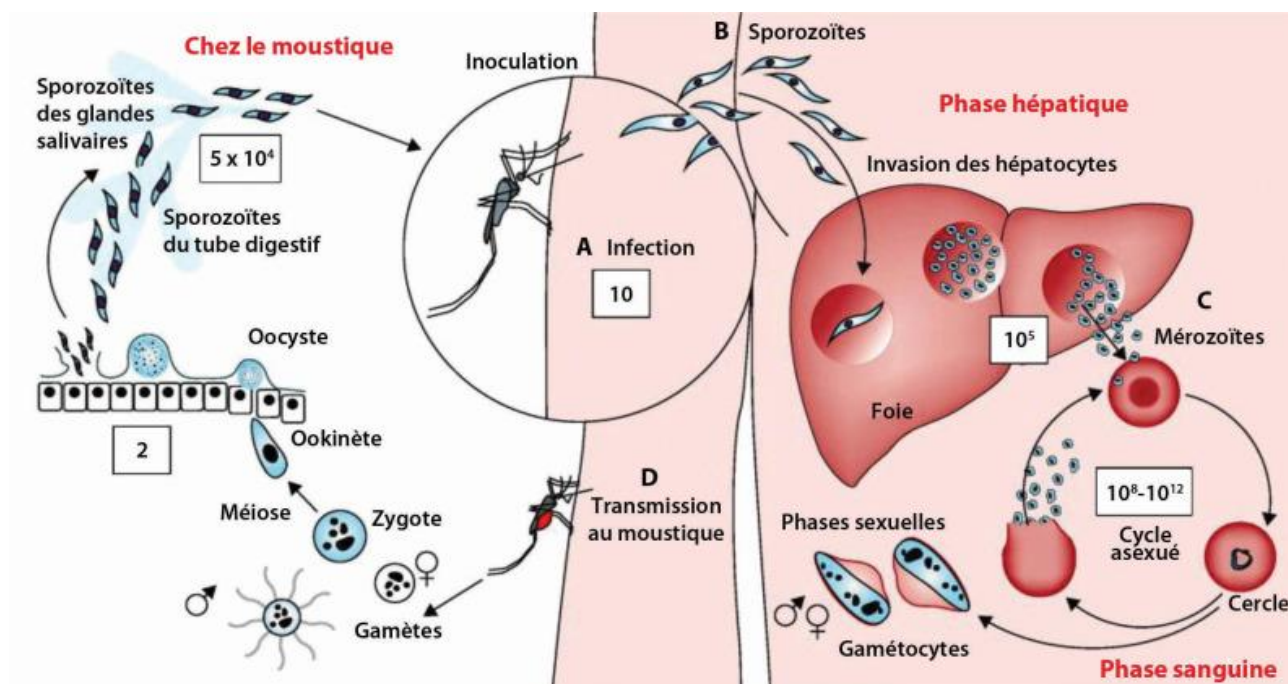


Figure 2 : Cycle biologique du paludisme (26)

6. Diagnostic biologique du paludisme

Il repose sur plusieurs examens notamment la goutte épaisse, le frottis sanguin, les Tests de Diagnostic Rapide (TDR) et éventuellement sur la sérologie palustre (27).

6.1. Diagnostic direct

Il permet de rechercher l'agent pathogène en cause ou une partie de celui-ci (antigène, génome).

Diagnostic microscopique : L'examen microscopique du *Plasmodium* consiste à mettre en évidence les plasmodies dans les deux types d'étalements de sang : la goutte épaisse et le frottis mince.

❖ **Goutte épaisse :** C'est une technique de référence pour diagnostiquer le paludisme qui se fait par l'étalement d'une goutte de sang sur une lame sans l'écraser sur 1cm de diamètre puis séchage pendant une heure à l'étuve à 37 °C, ensuite coloration au Giemsa. En cas de présence du parasite, l'observation microscopique permet d'apprécier les différents stades parasitaires de celui-ci et une parasitémie supérieure à 5% est un critère d'hospitalisation (28).

Calcul de la densité parasitaire : Parasites / μ l de sang = (Nombre de parasites comptés $\times$ 7500 leucocytes/ μ l) / Nombre de leucocytes comptés (29).

Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur l'efficacité des candidats antipaludiques contre *Plasmodium falciparum* (3D7) : cas de la cabamiquine et de la pyronaridine

- ❖ **Frottis mince** : On l'utilise pour la confirmation de l'espèce parasitaire lorsque celle-ci est impossible à partir de la goutte épaisse. La méthode consiste à placer à 45° l'arrêt d'une autre lame en contact avec la petite goutte, laisser fuser le sang par capillarité en conservant toujours la même inclinaison, tirer la goutte vers l'extrémité libre de la lame sans arrêt (30).

Les qualités d'un bon frottis :

Un bon frottis ne doit être ni trop épais ni trop mince cependant, il doit être :

- Uniforme ;
- Totalement contenue dans la lame ;
- Régulier, pas de trous, ni de tâche ;
- Bien séché (31).

6.2. Diagnostic indirect : Les techniques indirectes mettent en évidence la réponse de l'hôte à l'infection.

- ❖ **Tests immunologiques (ELISA et IFI)** : Le principe d'IFI (immunofluorescence indirecte) consiste à mettre en contact, un antigène figuré de parasite sur goutte épaisse et/ou sur frottis sanguin, et un sérum animal ou humain. Si ce sérum contient des anticorps spécifiques contre cet antigène le complexe immun persistera après le lavage, et sera fluorescent en lumière ultra-violet grâce au fluorochrome associé aux anticorps. Quant au principe d'ELISA, il consiste à fixer sur un support solide des éléments contenus dans le liquide biologique. Ensuite, les antigènes solubles sont détectés à l'aide d'un complexe immun marqué par l'enzyme, et sera révélé par addition d'un substrat spécifique de l'enzyme (32).
- ❖ **Tests de Diagnostic Rapide (TDR)** : Les TDR sont faciles à utiliser, ne nécessitent pas d'électricité ou d'expertise intense et fournissent des résultats qui peuvent être utilisés pour prendre des décisions de traitement (33). Le principe repose sur une technique immunochromatographique révélant la réaction antigène-anticorps. Le sang est prélevé le plus souvent par simple piqure du doigt et les résultats sont disponibles au bout de 15 à 30 minutes. Les TDR détectent des antigènes spécifiques (des protéines) produits par les plasmodies présentes dans le sang des personnes infectées. Il existe des tests qui détectent soit des antigènes spécifiques de *P. falciparum* : Histidin Rich Protein (HRP2) soit des enzymes produites par *Plasmodium* : Lactico-deshydrogenase (pLDH) et l'aldolase. Certains détectent les infections monospécifiques (soit *P. falciparum* soit *P.*

vivax), d'autres des infections mixtes (*P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae* et *P. ovale*) (34).

- ❖ **PCR** : Les tests d'amplification d'acide nucléique (tests moléculaires) tels que la PCR (Polymerase Chain Reaction), ont à la fois une sensibilité et une spécificité supérieures par rapport à la microscopie et aux TDR, détectant un nombre de parasitémie aussi bas que 1 parasite / μ L. La PCR est un ajout intéressant à la microscopie pour l'identification confirmatoire de *Plasmodium spp.* dans les échantillons cliniques (20). Il existe plusieurs types de PCR :
 - **PCR en temps réel** : L'apport de la PCR quantitative en temps réel ou real-time PCR a été considérable. Elle est rapide (30–40 minutes) et offre la possibilité de quantifier et d'identifier les produits de PCR dans un système fermé limitant les risques de contamination (20). Un des aspects les plus intéressants de cette technique est la possibilité de détecter plusieurs cibles dans la même réaction de PCR.
 - **PET-PCR** : récemment, un test de PCR en temps réel connu sous le nom de transfert d'électrons photo-induit (PET)-PCR qui repose sur des amorces d'auto-extinction pour la détection de *Plasmodium spp.* et *Plasmodium falciparum* a été décrit en Haïti et s'est avéré plus facile à utiliser par rapport aux méthodes de PCR en temps réel actuellement disponibles (20). Les techniques moléculaires sont une procédure coûteuse, y compris le coût du travail et l'accès aux réactifs, par rapport à l'examen des frottis sanguins (35).

7. Immunité anti-palustre

Cette immunité est à la base d'une prémunition = installation progressive d'un équilibre prolongé entre le parasite et l'hôte → état de paix-guerre (36). Cette immunité est spécifique à la souche, stade du parasite et à l'espèce. L'homme ne développe jamais d'immunité totale pour le paludisme, une protection efficace n'est acquise que 6 à 8 ans après l'infestation en zone d'endémie et dépend des espèces plasmodiales et de la fréquence des piqûres. Cependant, avec l'âge, et à force d'exposition régulière au parasite, les populations vivantes dans des zones de forte endémie palustre développent une certaine immunité protectrice, acquise et partielle, face au parasite (37).

- ❖ **En zone d'endémie** : Le nouveau-né présente rarement les accès graves car il est protégé par les anticorps maternels pendant 6 à 9 mois (38). Les enfants de 6 mois à 6 ans représentent la population la plus exposée aux formes sévères du paludisme (38). Les adultes vivant en zone d'endémicité palustre peuvent être asymptomatiques, portant des parasites de *Plasmodium* et préservant sa transmission et sa dissémination dans la

Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur l'efficacité des candidats antipaludiques contre *Plasmodium falciparum* (3D7) : cas de la cabamiquine et de la pyronaridine

population. Il s'agit donc d'une immunité contre la maladie mais pas contre le parasite lui-même (39). Quoique non stérilisante, cette immunité confère aux enfants d'une région endémique une protection clinique alors que chez l'adulte elle permet un contrôle de la charge parasitaire et réduit de façon significative la susceptibilité à la maladie.

- ❖ **En zone stable** : on a un équilibre entre la prémunition et le parasite qui stimule en permanence le système immunitaire entraînant un état de tolérance.
- ❖ **En zone saisonnière** : la prémunition va s'estomper pendant la période de non-transmission (périodes sèches) → absence de protection solide et donc possibilité d'apparition de formes sévères chez l'adulte par le *P. falciparum* pendant les saisons de pluies (perte d'immunité).
- ❖ **Hors zone d'endémie** : (absence d'immunité). Les personnes concernées sont celles qui vivent hors zone d'endémie, qui séjournent plus d'un an ou deux dans un pays du nord, les femmes enceintes car leur immunité est réduite et les personnes âgées ou atteintes de certaines maladies. Ces personnes sont susceptibles de développer des formes sévères (21).

L'immunité acquise contre le paludisme est la résultante de deux composantes, à savoir l'immunité cellulaire et l'immunité humorale (40).

- ❖ **Immunité cellulaire** : L'immunité cellulaire naturelle contre le paludisme a été l'objet de nombreuses études. Les mécanismes immunitaires qui conduisent à la suppression des parasites impliquent plusieurs types de cellules du système immunitaire. On y distingue principalement les lymphocytes CD8⁺ et CD4⁺ ainsi que les lymphocytes T gamma/delta (T $\gamma\delta$) et NK (Natural Killer). Les cellules effectrices comme les macrophages et les monocytes interviennent également dans cette immunité. Il a été démontré que les CD8⁺ cytotoxiques jouent un rôle important dans l'immunité contre les stades pré érythrocytaires grâce aux molécules de classe I du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH). L'action cytotoxique directe des cellules T CD8⁺ sur les stades érythrocytaires est encore mal connue et serait probablement limitée par l'absence de molécule du CMH de classe I à la surface des globules rouges. Cependant, les lymphocytes CD8⁺ de phénotype T2 agiraient comme des immunosuppresseurs ou, en tant que cellules anti-inflammatoires, par la production de cytokines helper.
- ❖ **Immunité humorale** : Par plusieurs études qui leur ont été consacrées, il a été montré que les immunoglobulines (Ig) jouent un rôle important dans le développement de l'immunité acquise contre le paludisme. Cette immunité est de type non stérilisant,

s'acquiert après plusieurs années d'exposition au parasite en zone endémique et est dépendante de la souche plasmodiale en cause. Les premiers types d'études pour comprendre le rôle des anticorps dans la protection contre l'infection furent les transferts passifs d'immunoglobulines. D'autres réalisés sur le modèle murin ont clairement établi que les IgG contrôlaient la parasitémie et prévenaient la mort de l'animal (41). Par ailleurs, chez l'Homme, le transfert d'IgG purifiées à partir d'adultes immuns africains a permis à des enfants thaïlandais non immuns souffrant d'accès palustre de lutter efficacement contre les manifestations cliniques du paludisme et de réduire sensiblement leur charges parasitaires (42).

Cliniquement, des études ont confirmé l'action d'anticorps dirigés contre les antigènes MSP3 et GLURP dans la protection contre les manifestations cliniques du paludisme (43,44). Cependant, les immunoglobulines n'agiraient pas toutes seules dans la neutralisation des parasites mais coopèreraient avec des cellules immunitaires dont les monocytes ou autres globules blancs s'activant comme cellules effectrices. Le mécanisme coopératif entre immunoglobulines et monocytes est le principal mécanisme de neutralisation parasitaire quoique les anticorps soient dans de rares cas capables eux-mêmes d'être des inhibiteurs comme dans le cas des anticorps anti-Pf155/RESA et anti-Pf332 inhibant *in vitro* l'invasion érythrocytaire par le mérozoïte.

Les expériences *in vitro* de l'ADCI (Antibody-Dependent Cellular Inhibition) ont démontré que les anticorps cytophiliques dirigés contre les antigènes MSP3 et GLURP étaient capables d'inhiber l'invasion de l'érythrocyte par le mérozoïte ou de neutraliser les parasites circulants en présence de monocytes (42). Ces mécanismes dépendent d'une étroite coopération entre les IgG cytophiliques et les cellules effectrices, par l'intermédiaire des récepteurs FcγR. La neutralisation parasitaire dans ce cas paraît principalement soutenue par des facteurs solubles (TNFα et NO) sécrétés par les monocytes. Ces facteurs solubles bloquent la division des parasites intra-érythrocytaires des globules rouges avoisinant en agissant sur le parasite à son stade mononuclée (42). Les monocytes ont été également reconnus capables de phagocytose sur des globules rouges infectés et opsonisés alors que les lymphocytes sont capables de tuer les parasites via des anticorps spécifiques (45). La relation entre l'immunité dirigée contre les stades asexués et la prévalence des stades sexués responsables de la transmission en zone endémique est jusque-là mal connue. Toutefois, il a été suggéré que la réponse immunitaire peut influencer le développement gamétocytaire au niveau de l'Homme ou

d'empêcher le développement sporogonique au niveau du vecteur (46). L'immunité naturelle dirigée contre les stades sexués contribue par conséquent au contrôle de la transmission de la maladie en réduisant ou en bloquant le transfert du parasite de l'Homme au vecteur (40).

❖ **Immunité dans le contrôle du parasite**

Au fil du temps, certaines personnes vivants dans des zones endémiques du paludisme peuvent développer une immunité partielle, ce qui peut réduire la gravité des symptômes et le risque de complications sévères (47). En effet des études ont rapporté que l'immunité acquise naturellement (NAI) est capable de contrôler les parasites sauvages, et même plus efficaces sur les parasites résistants à la chloroquine (48).

Basés sur ces études, les essais cliniques traditionnels pourront surestimer l'efficacité des candidats antipaludiques ou masquer une résistance émergente (49).

8. Stratégies de lutte contre le paludisme

❖ **Les stratégies de lutte contre le paludisme selon l'OMS**

Ils s'articulent autour de 3 piliers :

Pilier 1. Garantir l'accès universel à la prévention, au diagnostic et au traitement du paludisme ;

Pilier 2. Accélérer les efforts vers l'élimination et vers l'obtention du statut exempt de paludisme ;

Pilier 3. Faire de la surveillance du paludisme une intervention de base (50).

❖ **Stratégie nationale de lutte contre le Paludisme selon le PNLP**

- Prise en charge des cas de paludisme

Pour la prise en charge des cas, le Mali a conservé la quinine pour le traitement des cas de paludisme grave et introduit les combinaisons à base de dérivés d'artémisinine en comprimé pour le traitement du paludisme simple (Artésunate-Amodiaquine comprimés et Artémether-Luméfantrine comprimés) (51).

L'OMS recommande de confirmer le diagnostic clinique du paludisme par un examen biologique chaque fois que le plateau technique le permet (Microscopie ou TDR) avant d'instaurer le traitement (52).

- Prévention du paludisme pendant la grossesse

En plus de l'utilisation des moustiquaires imprégnées par les femmes enceintes, il a été adopté dans le nouveau document de politique de lutte antipaludique la promotion du Traitement

Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur l'efficacité des candidats antipaludiques contre *Plasmodium falciparum* (3D7) : cas de la cabamiquine et de la pyronaridine

Préventif Intermittent (TPI) avec la Sulfadoxine-Pyriméthamine comme stratégie de prévention du paludisme pendant la grossesse. Le traitement préventif intermittent (TPI) de 3 comprimés de Sulfadoxine 500mg et Pyriméthamine 25 mg en prise unique se fait par prise mensuelle à partir du 2^{ème} trimestre de grossesse (53).

- La lutte antivectorielle

Le Mali a adopté les méthodes de lutte antivectorielle pouvant être utilisées au niveau individuel et communautaire pour protéger contre les piqûres de moustique. 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 (54).

- La chimio-prévention

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 (55). 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 (56).

- Vaccin

L'OMS recommande l'utilisation des vaccins antipaludiques pour la prévention du paludisme à *P. falciparum* chez les enfants vivant dans des zones d'endémie palustre, en donnant la priorité aux zones de transmission modérée ou élevée (57).

Les vaccins antipaludiques agissent contre *P. falciparum*, le parasite du paludisme le plus répandu en Afrique et le plus meurtrier à l'échelle mondiale (58).

La vaccination contre le paludisme est très difficile en raison de la complexité et de la variabilité des antigènes antipaludiques et de l'imperfection des modèles expérimentaux disponibles. Au cours des 20 dernières années, notamment depuis les premières cultures *in vitro* de *Plasmodium falciparum*, plusieurs types de vaccins ont été testés (59).

Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur l'efficacité des candidats antipaludiques contre *Plasmodium falciparum* (3D7) : cas de la cabamiquine et de la pyronaridine

Depuis octobre 2023, les vaccins RTS,S/AS01 et R 21/Matrix-M sont tous deux recommandés par l'OMS pour prévenir le paludisme chez les enfants. Les vaccins antipaludiques doivent être administrés selon un schéma à quatre doses aux enfants à partir de l'âge de cinq mois. Les programmes de vaccination peuvent choisir d'administrer la première dose à un âge plus tardif ou légèrement plus précoce en fonction de considérations opérationnelles (60). Au début avril 2025, 19 pays dont le Mali avaient introduit le vaccin à l'échelle infranationale dans le cadre de la vaccination systématique des enfants, et des déploiements à plus grande échelle (61). Le vaccin antipaludique RTS,S a été préqualifié par l'OMS en juillet 2022. Le vaccin antipaludique R21 a été préqualifié par l'OMS en décembre 2023. La préqualification par l'OMS garantit l'innocuité et la qualité des vaccins (57).

En parallèle, le consortium international PfVIMT (A Multi-stage Malaria Vaccine for Control and Elimination), coordonné par l'Institut de recherche pour le développement (IRD, France) et l'Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB, Mali), a lancé en mars 2025 un projet visant à développer un vaccin de nouvelle génération combinant le R21 et le candidat *Pfs230D1*. Cette approche multivalente associe la prévention de l'infection par le vaccin R21 et le blocage de la transmission du parasite par le *Pfs230D1*, dans l'objectif de réduire la transmission du paludisme et de soutenir les efforts d'élimination de la maladie en Afrique subsaharienne (62).

9. Antipaludiques courants

La classification des antipaludiques est pharmacologique et chimique (63). C'est ainsi qu'on distingue :

- **Les schizonticides** : ils sont actifs sur les schizontes mais inactifs sur les gamétocytes. Ils sont curatifs des accès palustres, mais n'empêchent pas la transmission de la maladie. Ils comprennent : la quinine, les amino-4 quinoléines, les biguanides et dérivés, les diaminopyrimidines et les sulfamides. En plus de l'activité schizontocide, l'artémisinine et dérivés est actif préférentiellement sur les formes anneaux jeunes 'Ring stages' (64).
- **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.

Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur l'efficacité des candidats antipaludiques contre *Plasmodium falciparum* (3D7) : cas de la cabamiquine et de la pyronaridine

D'autre part, **certains antibiotiques** appartenant à la famille des tétracyclines (Doxycycline) ou des macrolides (érythromycine) utilisés en association avec les schizonticides (en général la quinine) permettent de renforcer l'activité antipaludique (65).

Nouvelles molécules antipaludiques

- **Nouvelles molécules en cours d'évaluation** : KAF156, MMV048, KNX-002 etc.
- **Objectif** : action rapide, nouvelle cible moléculaire, efficacité contre les souches résistantes (66).

Tableau 1 : Médicaments antipaludiques courants

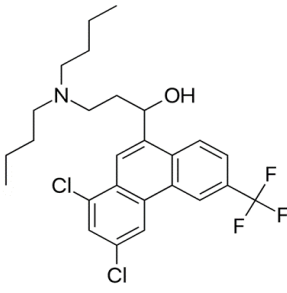
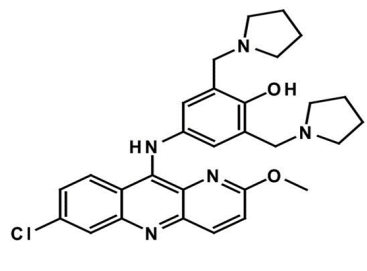
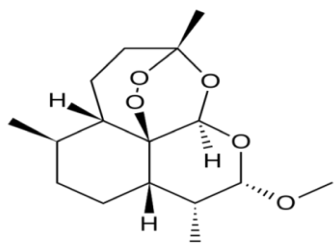
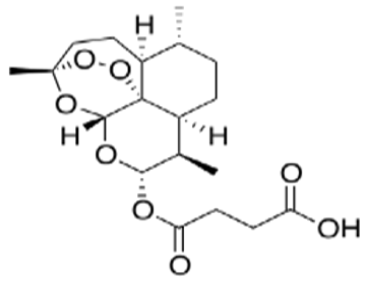
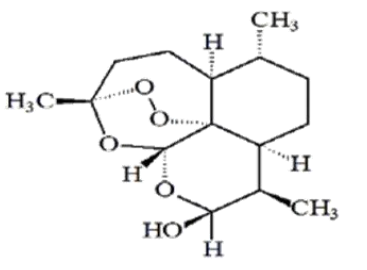
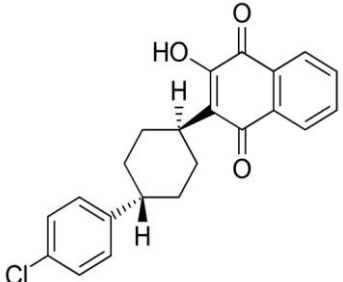
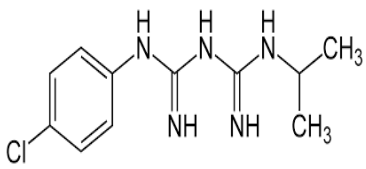
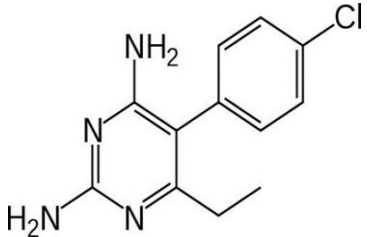
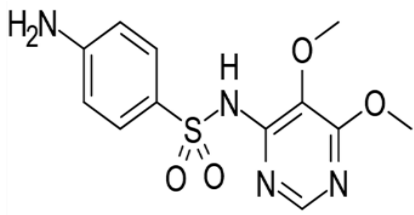
Classe / Famille	Médicament(s)	Usage principal	Particularités / Remarques	Ref
Amino-4-quinolines	Chloroquine	Traitement (zones sensibles) / prévention	Forte résistance de <i>P. falciparum</i> ; encore utilisé pour <i>P. vivax</i> dans certaines régions.	(67,68)
Amino-alcools	Quinine	Traitement des formes graves ou échecs	Cinchonisme, voie IV en cas grave.	(69)
	Méfloquine	Prévention et traitement des accès simples	Contre-indiquée si troubles psychiatriques.	(70,71)
Dérivés de l'artémisinine et combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine (CTAs)	Artéméther + Luméfantrine	Traitement standard des accès simples	Recommandation OMS.	(72,73)
	Dihydroartémisinine + Pipéraquine	Traitement des accès simples	Alternative courante (Asie/Afrique).	(73)
	Artésunate (IV)	Traitement des accès graves	Traitement de référence.	(74)
	Artesunate+ Pyronaridine (Pyramax)	Traitement du paludisme non compliqué chez l'adulte et l'enfant	Traitement de référence.	(75)
Biguanides	Proguanil	Prévention, souvent en association	Métabolisé en cycloguanil (antifolinique).	(76)
Association atovaquone–proguanil	Atovaquone + Proguanil (Malarone®)	Prévention et traitement des accès simples	Très utilisé en prophylaxie voyageurs.	(76)

**Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur l'efficacité des candidats antipaludiques
contre *Plasmodium falciparum* (3D7) : cas de la cabamiquine et de la pyronaridine**

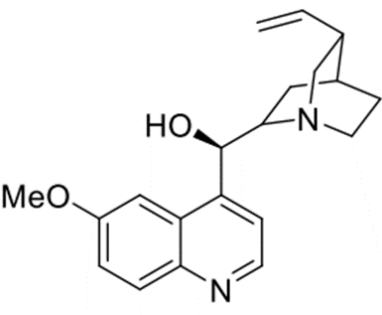
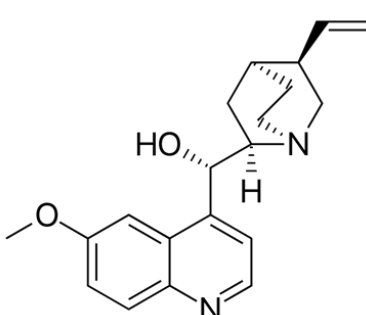
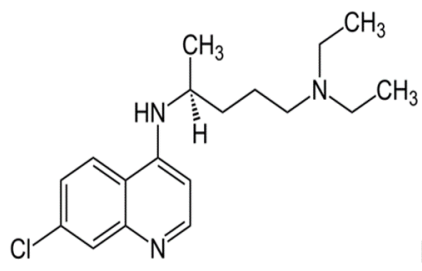
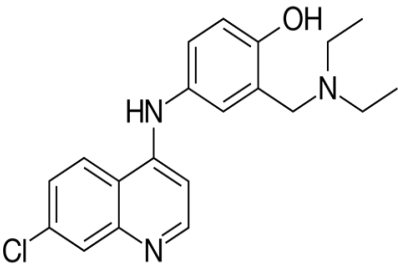
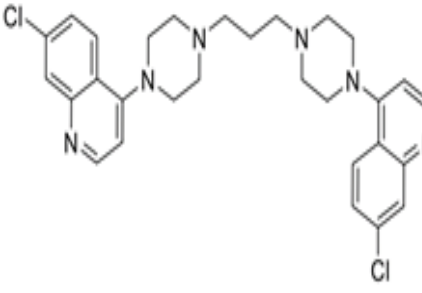
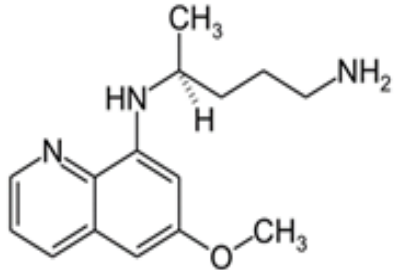
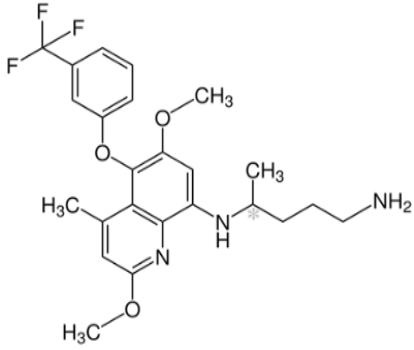
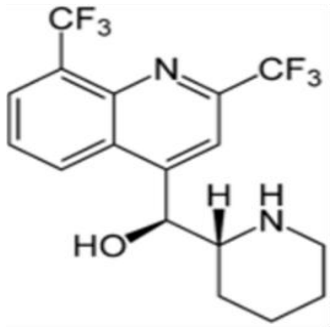
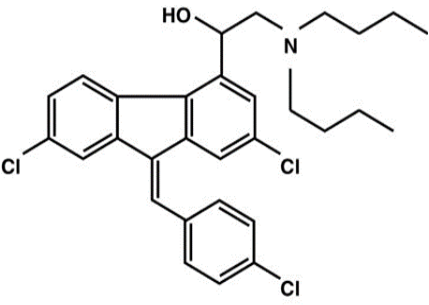
Classe / Famille	Médicament(s)	Usage principal	Particularités / Remarques	Ref
Antifoliques (Antifolates)	Pyriméthamine	Inhibiteur de DHFR	Utilisé en association (SP).	(77)
	Proguanil	Inhibiteur DHFR (via cycloguanil)	Double action : antifolique + synergie avec atovaquone.	(78)
Association antifolate + sulfamide	Sulfadoxine + Pyriméthamine (SP)	Prévention intermittente (grossesse, nourrisson)	Résistances → plus utilisé en traitement curatif.	(79)
Tétracyclines	Doxycycline	Prophylaxie / traitement en association	Photosensibilisation, prise quotidienne.	(80)
8-amino-quinolines	Primaquine	Traitement radical (<i>P. vivax</i> , <i>P. ovale</i>)	Requiert dépistage G6PD.	(78)
	Tafénoquine	Prévention + traitement radical	Très longue demi-vie, nécessite dépistage G6PD.	(81,82)
Lincosamides	Clindamycine	Traitement en association (enfants, grossesse)	Action lente en monothérapie, mais efficace en association	(83,84)
Sulfamides (Antibiotiques)	Sulfaméthoxazole (avec triméthoprime)	Effet antipaludique secondaire	Utilisation limitée (résistances, effets indésirables)	(85)

Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur l'efficacité des candidats antipaludiques contre *Plasmodium falciparum* (3D7) : cas de la cabamiquine et de la pyronaridine

Tableau 2 : Structure chimique des antipaludiques courants (86)

 C₂₆H₃₀ C₁₂F₃NO	 C₂₉H₃₂ClN₅O₂	 C₁₆H₂₆O₅
Halofantrine: 3-(dibutylamino)-1-[1,3-di - chloro-6 (trifluoromethyl) -9-phenanthrenyl] -1-propanol.	Pyronaridine: 4-[(7-chloro-2-methoxybenzo[b][1,5]naphthyridin-10-yl) amino]-2,6-bis [(pyrrolidin-1- yl)methyl]phenol	Artémether: décahydro-10-methoxy-3,6,9-triméthyl-3,12-époxy-12H-pyrano(4,3-j) -1,2-benzodioxépine.
 C₁₉H₂₈O₈	 C₁₅H₂₄O₅	 C₂₂H₁₉ClO₃
Artésunate: octahydro-3,6,9-triméthyl-3,12-époxy-12H-pyrano[4,3-j]-1,2-benzodio- xépin-10(3H)-one	Dihydroartemisine: décahydro-3,6,9-triméthyl-3,12-époxy-12H-pyrano[4,3-j]-1,2-benzodioxépin-10-ol	Atovaquone: trans-2-[4-(4-chlorophenyl) cyclohexyl]-3-hydroxy-1,4-naphthalenedione
 C₁₁H₁₆ClN₅	 C₁₂H₁₃ClN₄	 C₁₂H₁₄N₄O₄
Proguanil: 1-[amino-(4-chlo-roanilino)-methylidene]-2-propan-2-ylguanidine; hydrochloride	Pyriméthamine: 5-(4-chloro-phényl)-6-éthyl-2,4-pyrimidine-diamine	Sulfadoxine: 4-amino-N-(5,6-diméthoxypyrimidin-4-yl) benzene sulfonamide.

**Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur l'efficacité des candidats antipaludiques
contre *Plasmodium falciparum* (3D7) : cas de la cabamiquine et de la pyronaridine**

 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-diéthyl-pentane-1,4-diamine
 C₂₀H₂₂ClN₃O	 C₃₁H₃₆Cl₂N₆	 C₁₅H₂₁N₃O
Amodiaquine: 4-[(7-chloro-quinolin-4-yl) amino] -2-[(diéthylamino) méthyl] phénol.	Piperaquine : 4,4'-(Penta-methylenedi-4,1-piperazinediyl) bis-7-chloroquinoline	Primaquine : N4-(6-méthoxy-quinolin-8-yl) pentane-1,4-diamine
 C₂₄H₂₈F₃N₃	 C₁₇H₁₆F₆N₂O	 C₃₀H₃₂Cl₃N
Tafenoquine: N-[2,6-diméthoxy-4-méthyl-5-[3-(trifluorométhyl)phénoxy] quinolin-8-yl] pentane-1,4-diamine	Mefloquine:[2,8 bis(trifluorométhyl)quinolin-4-yl]-piperidin-2-ylmethanol	Lumefantrine : 2-(dibutylamino)-1-[(9Z)-2,7-dichloro-9-[(4-chlorophenyl) méthylidene]fluoren-4-yl] ethanol

10. Combinaison d'antipaludiques utilisée dans l'étude

- ❖ **Pyronaridine** : La pyronaridine est le premier dérivé benzonaphthyridine synthétisé en 1970 en Chine. Elle a été utilisée en Chine pour le traitement du paludisme en monothérapie pendant 30 ans. Plus récemment l'intérêt accordé à la pyronaridine a été renouvelée comme étant un partenaire possible des dérivés de l'artémisinine dans les CTAs. Elle existe sous la forme base et sel.

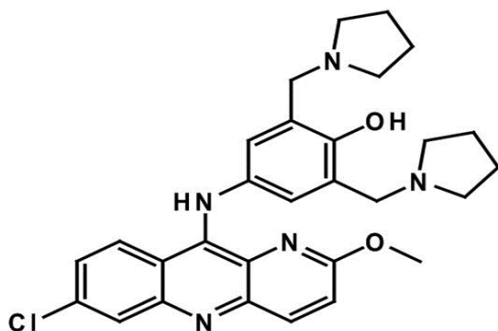


Figure 3 : Structure chimique de la pyronaridine

Mécanisme d'action : Elle agit par inhibition de la topoisomérase II de l'ADN. L'action se fait au niveau de la vacuole digestive en inhibant la bio cristallisation de l'hème.

Formulation : Capsules de 50mg et 100mg

En combinaison thérapeutique : Pyronaridine (180 mg) / Artésunate (60mg)

Pharmacocinétique : L'absorption après administration orale ou intramusculaire (87) de la pyronaridine est rapide et le temps de demi-vie plasmatique après des doses répétées est de $194.8 \pm 47,8$ h (61). Les concentrations plasmatiques de la pyronaridine sont doses dépendantes. La demi-vie d'élimination de la pyronaridine a été estimée à 13,2 jours chez les adultes atteints du paludisme et de 9,6 jours chez les enfants (88).

Intérêt de la pyronaridine dans la combinaison : La pyronaridine est très efficace contre le *P. falciparum* et des souches résistantes à des antipaludiques notamment contre les souches résistantes à la chloroquine. Les données pharmacocinétiques cliniques concernant la pyronaridine indiquent une élimination $T_{1/2}$ de 13,2 et 9,6 jours, respectivement, chez les adultes et les enfants atteints de paludisme aigu non compliqué à *falciparum* et à *vivax*, dans des conditions d'exposition à l'artémisinine et à la chloroquine. La pyronaridine a une toxicité généralement faible comparée à la chloroquine. Des études ont montré que l'émergence de la résistance à la pyronaridine est lente et encore si elle est utilisée dans une combinaison (87).

Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur l'efficacité des candidats antipaludiques contre *Plasmodium falciparum* (3D7) : cas de la cabamiquine et de la pyronaridine

- ❖ **Cabamiquine** : Des thérapies combinées ont émergé pour atténuer la résistance aux médicaments *Plasmodium*, ce qui a entravé la lutte contre le paludisme. M5717 ou la cabamiquine est un puissant médicament anti *Plasmodium* à plusieurs étapes en développement clinique, qui inhibe la synthèse des protéines parasites (89).

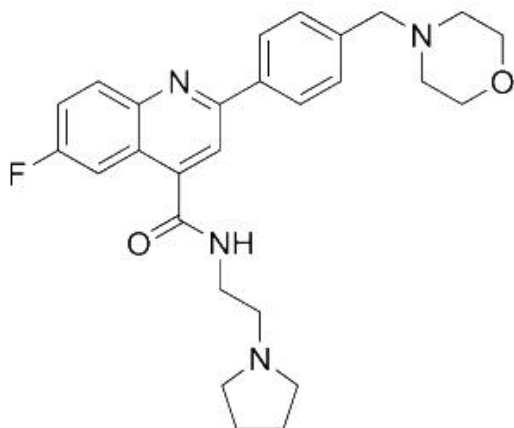


Figure 4 : Structure chimique de la cabamiquine (87).

Formule brute : C₂₇H₃₁FN₄O₂.

Nom chimique : 6-fluoro-2-[4-(morpholinyl-4-méthyl) phényl] -N-(2-pyrrolidiny-1-éthyl) quinoline-4-carboxamide

Nom vernaculaire : Cabamiquine / M5717

Mécanisme d'action : La cabamiquine cible le facteur 2 d'élongation de la traduction eucaryotique (eEF2), qui est responsable de la translocation dépendante du GTP (guanosine triphosphate) du ribosome le long de l'ARN messager, et qui est essentiel à la synthèse des protéines plus précisément chez *P. falciparum* (17). La cabamiquine est active sur tous les stades du cycle parasite (sauf le stade hépatique quiescent ou hypnozoïte de *P. vivax*). Par conséquent, ce composé pourrait potentiellement traiter et protéger les populations à risque.

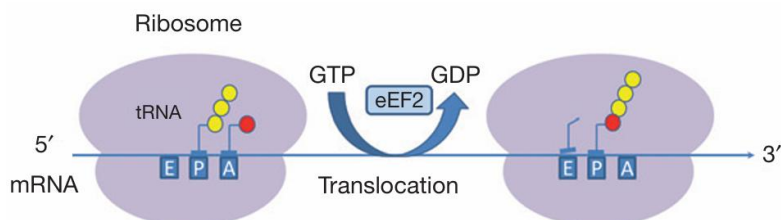


Figure 5 : Mécanisme d'action de la cabamiquine (10)

Mécanisme de résistance :

Selon une étude, les facteurs influençant l'apparition de la résistance aux médicaments doivent être pris en compte, notamment l'exposition au médicament, la demi-vie du médicament, les effets du médicament sur d'autres étapes du cycle de vie du parasite telles que la gamétocytogenèse et la viabilité des gamétocytes, le ratio de réduction clinique des parasites et la posologie du médicament (90).

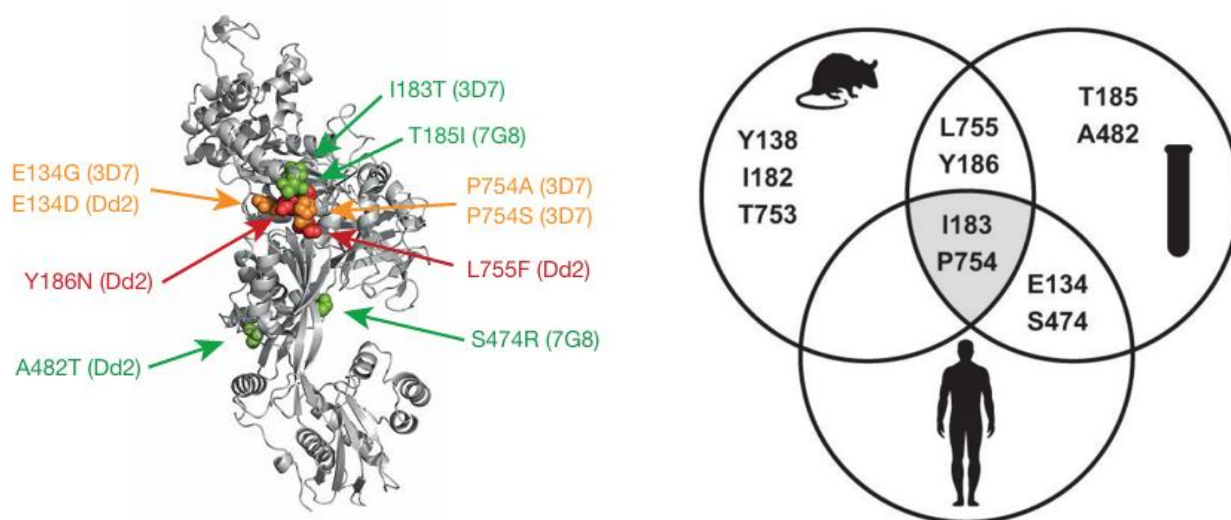


Figure 6 : Marqueur de résistance à la cabamiquine et positions des mutations de résistance à la cabamiquine (11,91)

❖ Doses de la combinaison cabamiquine pyronaridine prédites pour contourner le problème de résistance à la cabamiquine

Les simulations d'essai clinique pour prédire des doses de cabamiquine et de pyronaridine nécessaires pour éliminer les parasites sauvages résistants en faible parasitémie (24h) et en forte parasitémie (96h) (figure 7) dans l'étude de Maiga et al ont montré qu'une dose de 330 mg de cabamiquine et de 360 mg de pyronaridine était suffisante pour éliminer plus de 95 % de la population parasitaire (17).

Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur l'efficacité des candidats antipaludiques contre *Plasmodium falciparum* (3D7) : cas de la cabamiquine et de la pyronaridine

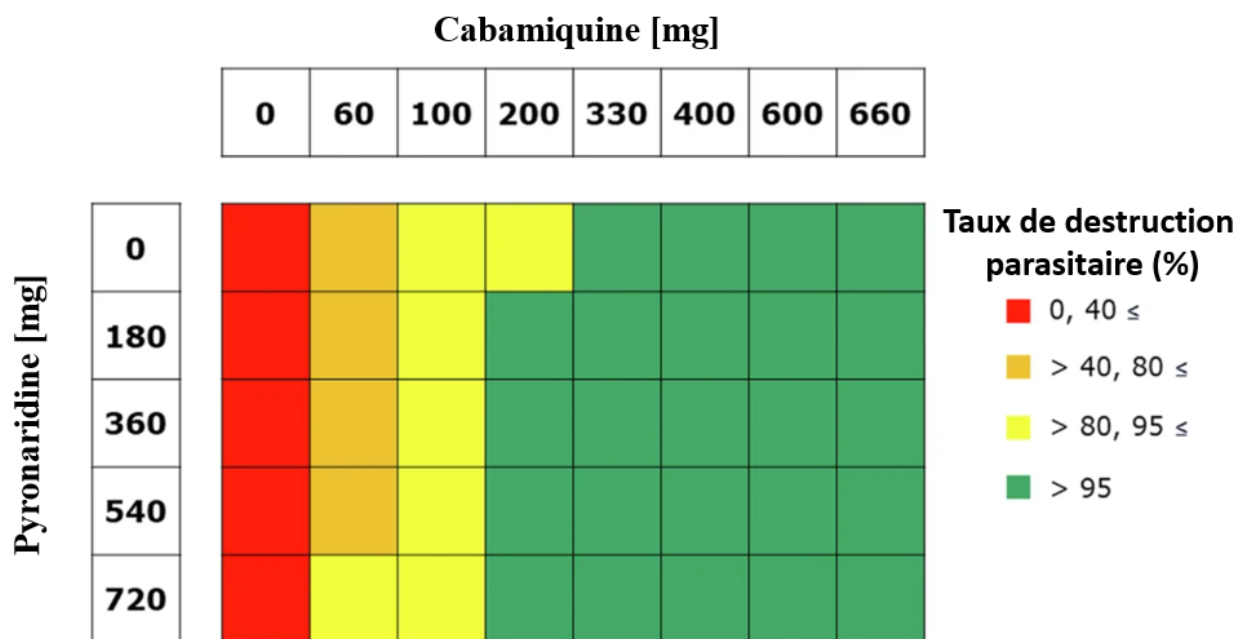


Figure 7 : Doses prédites de médicament de la combinaison cabamiquine-pyronaridine (17)

❖ Modélisation mathématique dans l'évaluation de l'efficacité des médicaments

La modélisation pharmacocinétique et pharmacodynamique (PK/PD) fait intégralement partie du processus de développement des médicaments (17). Cette technique mathématique permet d'anticiper les effets et l'efficacité du dosage des médicaments sur une période donnée. De manière générale, les modèles pharmacocinétiques décrivent la façon dont l'organisme réagit à un médicament en termes d'absorption, de distribution, de métabolisme et d'excrétion. Les modèles pharmacodynamiques décrivent la façon dont un médicament agit sur l'organisme en associant la concentration de médicament à une métrique d'efficacité (ou de sécurité). Un modèle PK/PD correctement décrit, constitue un outil important qui aide à la conception d'expériences et d'essais cliniques futurs (92).

Le processus de modélisation PK/PD comprend les données suivantes :

- Les données PK si ça existe (donnée réelle ou littérature) : ces données peuvent provenir de : *in vivo* (préclinique ou clinique) à partir de modèles animaux (souris, rat, primate) ou d'essais cliniques (phase I-III). Les paramètres clés sont : C_{max} : concentration plasmatique maximale, T_{max} : temps pour atteindre C_{max}, AUC : exposition globale au médicament, t_{1/2} (demi-vie) : durée de persistance, Cl : clairance, V_d : volume de distribution (93) ;
- Les données PD générées *in vitro* ou *in vivo* : ces données peuvent provenir de : *in vitro* (IC₅₀ de *P. falciparum*, courbes dose-réponse, tests sur les parasites sauvages et souches

Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur l'efficacité des candidats antipaludiques contre *Plasmodium falciparum* (3D7) : cas de la cabamiquine et de la pyronaridine

résistantes, cocultures parasites–PBMCs) ou *in vivo* (réduction de la parasitémie, temps de clairance parasitaire, survie des animaux) (94,95);

- Les outils de modélisation : Les logiciels courants utilisés pour la modélisation mathématique sont :

- **NONMEM**
- **Monolix**
- **Phoenix WinNonlin**

L'intégration des données PK, des effets PD *in vitro* et *in vivo*, ainsi que des approches de modélisation PK/PD, constitue un outil essentiel pour une évaluation réaliste de l'efficacité des candidats antipaludiques et pour la détection précoce d'une résistance émergente (94).

11. Méthodes d'évaluation

11.1. Culture parasitaire

Elle consiste à maintenir les globules rouges parasités et non parasités dans un milieu propice à la croissance et à la multiplication du parasite. 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. 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 (96). Les efforts de culture *in vitro* de *Plasmodium* sont compliqués car chaque espèce de *Plasmodium* a son propre cycle de vie et son propre ensemble de paramètres physiologiques, métaboliques et nutritionnels (97). Les stades du cycle de vie des quatre espèces infectant l'humain ont été établis *in vitro*. Parmi ces quatre, *P. falciparum* reste la seule espèce pour laquelle tous les stades ont été cultivés *in vitro* ; différents degrés de succès ont été obtenus avec les autres espèces humaines de *Plasmodium*. Les milieux de culture consistent généralement en un milieu de culture basique (par exemple, un milieu essentiel minimal ou RPMI 1640) auquel on ajoute du sérum et des érythrocytes (97). La culture est effectuée dans les flacons à usage unique à 37°C, dans un incubateur réglé pour donner une atmosphère composée de 5% de CO₂, avec un taux d'humidité maintenu à 80%. Un suivi quotidien est effectué pour changer le milieu de culture et noté l'aspect qualitatif et quantitatif des hématies parasitées (98). La lecture quotidienne d'un frottis mince coloré effectué sur chaque flacon permettait d'évaluer de la croissance du parasite. Les paramètres d'appréciation étaient l'intégrité morphologique, la densité parasitaire et l'index de multiplication (99).

11.2. Cytométrie en flux

La cytométrie en flux (CMF) est une méthode d'analyse qui permet, à grande vitesse (plusieurs milliers d'évènements par seconde), de caractériser et compter des cellules (ou des particules) en suspension dans un flux liquidien (100).

12. Principes techniques de la cytométrie en flux

Pour fonctionner un cytomètre de flux nécessite une combinaison de :

- Fluidique pour introduire, canaliser les cellules et les amener au niveau du laser ;
- Optique qui se compose du ou des lasers et d'un système de filtres pour exciter, récupérer et amplifier les différents signaux émis ;
- Electronique pour convertir les signaux optiques en des signaux électroniques proportionnels et les numériser ;
- Informatique pour visualiser ces signaux (101).

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 8). 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 8).

Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur l'efficacité des candidats antipaludiques contre *Plasmodium falciparum* (3D7) : cas de la cabamiquine et de la pyronaridine

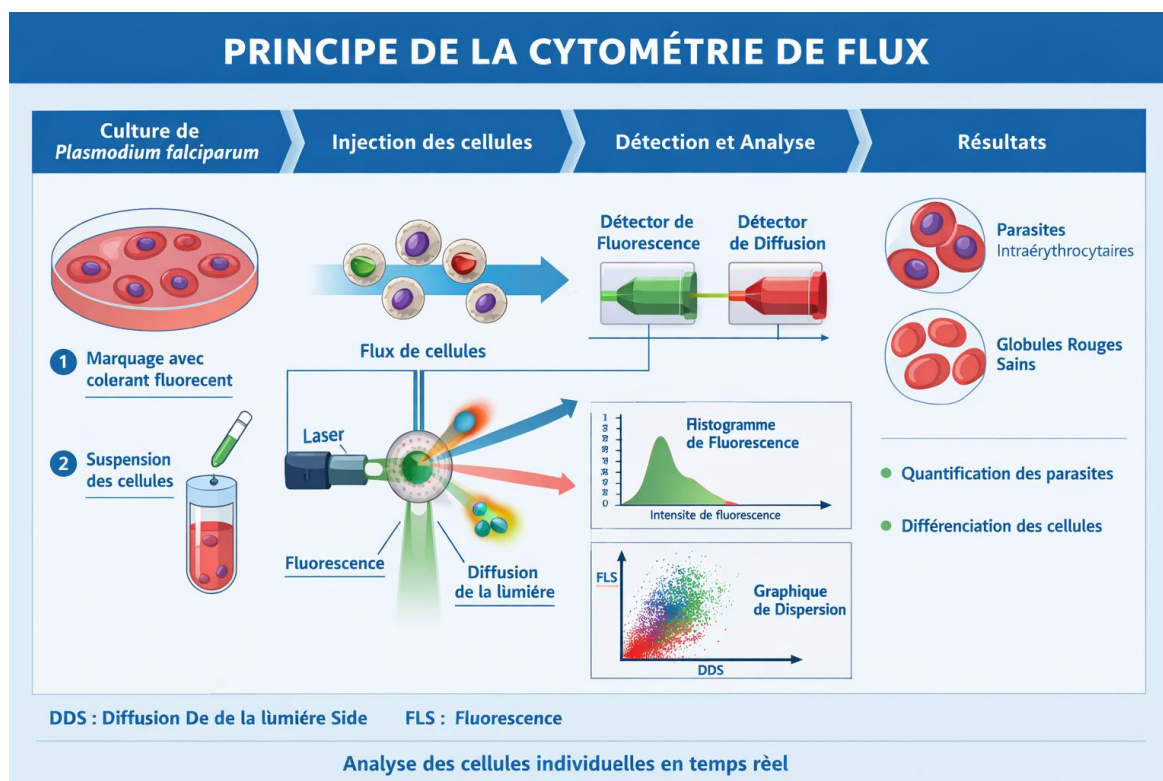


Figure 8 : Principe de la cytométrie de flux pour la détection et la quantification des globules rouges infectés par *Plasmodium falciparum* (102).

12.1. Applications de la cytométrie en flux

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

Hématologie ;

Immunologie ;

Microbiologie (103) ;

Virologie clinique ;

Expression quantitative d'antigènes de surface ou intracellulaires ;

Quantification de l'ADN (cancérologie, cytogénétique) ;

Etude du cycle cellulaire (104).

METHODOLOGIE

IV. METHODOLOGIE

1. Lieu d'étude

Le PMRTC « Parasites and Microbes Research and Training Center » est situé au sein des Facultés de Pharmacie et de Médecine et d'Odonto-Stomatologie sur la colline du Point G, commune III de Bamako, relevant de l'Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako (105).

Les laboratoires MEDRU font partie du PMRTC/DEAP et sont en activité depuis 2001.

Les missions du laboratoire sont :

- ❖ Recherches fondamentales et appliquées (Le laboratoire principal MEDRU/PMRTC/DEAP- Point-G et le laboratoire de Sotuba) ;
- ❖ Découverte de médicaments ;
- ❖ Résistance aux médicaments ;
- ❖ Biologie Cellulaire ;
- ❖ Génomique et Bioinformatique ;
- ❖ Pharmacologie [PD, PK] ;
- ❖ Nutrition ;
- ❖ Entomologie ;
- ❖ Recherches cliniques (Laboratoire MEDRU/PMRTC/DEAP-Sotuba, Bougoula, Kolle, Djoliba, Faladje) ;
- ❖ Essais Cliniques ;
- ❖ Etudes observation sur le terrain ;
- ❖ Design des études ;
- ❖ Monitoring Interne ;
- ❖ Services aux partenaires et clients (Le laboratoire principal MEDRU/PMRTC/DEAP- Point-G et le laboratoire de Sotuba) ;
- ❖ Gestion des Echantillons ;
- ❖ Analyse des Echantillons ;
- ❖ Rédaction des rapports ;
- ❖ Assurance Qualité, Hygiène et Sécurité (Tous les laboratoires MEDRU/PMRTC/DEAP) ;

Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur l'efficacité des candidats antipaludiques contre *Plasmodium falciparum* (3D7) : cas de la cabamiquine et de la pyronaridine

- ❖ Gestion et partage des données (Le laboratoire principal MEDRU/PMRTC/DEAP-Point-G et le laboratoire de Sotuba) ;
- ❖ Commission scientifique (Tous les laboratoires MEDRU/PMRTC/DEAP) ;
- ❖ Recherche d'opportunités de financement ;
- ❖ Écritures Scientifiques et Valorisation de la Recherche ;
- ❖ Formations.

Les laboratoires MEDRU conduisent leurs activités dans les locaux du PMRTC/DEAP et sur différents sites d'étude répartis sur tout le territoire du Mali. Les laboratoires MEDRU fournissent des services en appui au Programme National de Lutte contre le Paludisme (PNLP) et projets de recherche conduits par d'autres structures de recherche selon leurs demandes. Ils effectuent régulièrement l'analyse des échantillons biologiques provenant d'essais cliniques d'autres structures nationales et internationales (105).

2. Type et période l'étude

Il s'agissait d'une étude expérimentale *in vitro* réalisée au Centre de Formation et de recherche sur les parasites et les microbes (Parasites and Microbes Research Training Center).

Notre travail de recherche s'est étendu de Mai 2025 à Janvier 2026.

3. Conditions de travail au laboratoire

Toute l'étude s'est déroulée dans le respect strict des bonnes pratiques de laboratoire (BPL). Le parasite utilisé est *Plasmodium falciparum* souche de laboratoire 3D7, les érythrocytes non infectés, les PBMCs et sera proviennent de donneurs volontaires consentants préalablement testés négatifs au TDR et à la goutte épaisse.

4. Matériel et appareils

Hotte à flux laminaire, incubateur, centrifugeuse, embouts stériles (10uL, 20uL, 200uL, 1000uL), pipettes sérologiques, milieux 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 distillée, marker, chronomètre, huile à immersion, compteur manuel, papier hygiénique, microscope optique binoculaire, une machine à calculer, une table de lecture et une chaise, PBS, Ficoll Paque PLUS, filtre MAC, sorbitol à 5%, tube EDTA, trypan bleu, cellules de KOVA.

5. Techniques

Décongélation du parasite

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

Les procédures de décongélation du parasite sont :

- 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 1200 RPM 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 1200 RPM 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).

Procédure standard opératoire (SOP) du frottis mince

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

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.

Confection frottis mince (FM) :

- Glisser le bord du frottoir jusqu'à ce qu'elle touche la goutte de sang, laisser fuser ;
- Étaler 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 frottis mince à couche monocellulaire doit être régulière et non striée.

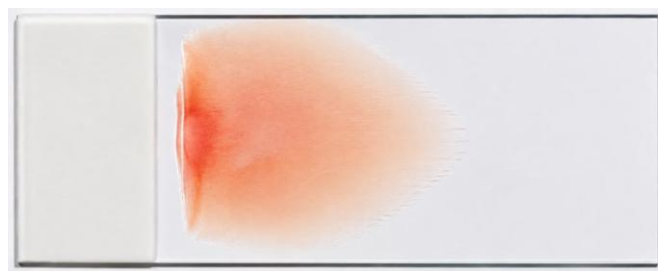


Figure 9 : Frottis mince étalé sur une lame

Séchage, fixation et coloration de frottis mince :

- Sécher le frottis mince après étalement du frottis mince sur la lame ;
- Plonger 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 1 heure au minimum ;
- 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.

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 être entassés les uns sur les 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 non infectés ainsi que le nombre de globules rouges infectés dans au moins cinq champs microscopiques de façon à obtenir 1000 globules rouges non infectés ;

Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur l'efficacité des candidats antipaludiques contre *Plasmodium falciparum* (3D7) : cas de la cabamiquine et de la pyronaridine

- Calculer le rapport de globules rouges infectés sur le nombre de globules rouges non infectés et exprimer en pourcentage par la formule suivante :

Parasitémie = globules rouges parasités x 100 / 1000 globules rouges non parasités

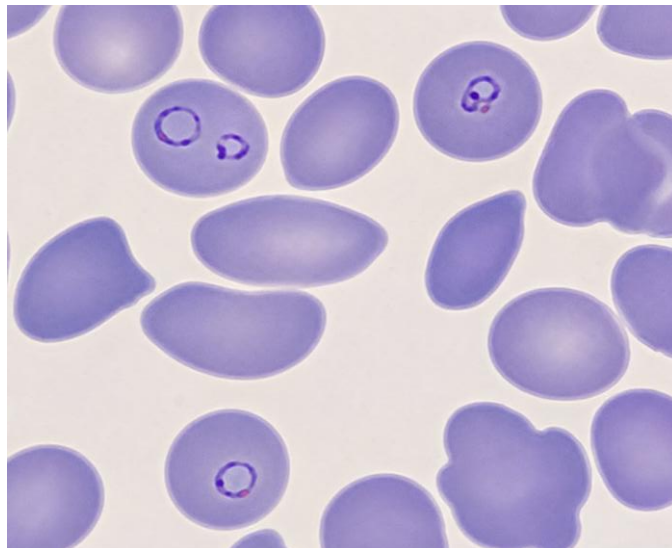


Figure 10 : Morphologie microscopique des globules rouges infectés par *Plasmodium falciparum* (stade anneau)

Préparation du milieu de culture : dans notre étude 3 milieux de culture ont été utilisés :

- le milieu de culture complet ;
- le milieu de culture incomplet ;
- le milieu de culture complet sans albumax.

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, à la fois :

- être vecteur d'éléments nutritifs ;
- contribuer au maintien des conditions physico-chimiques telles que pH et osmolarité ;
- permettre la prolifération des cellules (divisions cellulaires).

La composition du milieu de culture (RPMI-Complet) est la suivante : pour une quantité suffisante d'eau stérile de 1 litre :

- 10,43g de la poudre du RPMI 1640 + L-glutamine ;
- 2,5g de NaHCO₃ ;
- 5,96g de l'HEPES ;
- 5g d'AlbuMax® II ;

Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur l'efficacité des candidats antipaludiques contre *Plasmodium falciparum* (3D7) : cas de la cabamiquine et de la pyronaridine

- 1ml de l'Hypoxanthine (0,05mg/ml) ;
- 2,5 ml de la Gentamicine (10mg/ml).

NB : Le milieu de culture (RPMI-Incomplet) contient tous les éléments du milieu complet excepté l'albumax II et l'hypoxanthine.

La composition du milieu de culture (RPMI-Complet sans albumax) est la même que le milieu complet mais sans ajout de l'albumax II.

Collecte et isolement des cellules mononucléées du sang périphérique (PBMCs)

Les cellules mononucléées du sang périphérique (PBMCs) ont été isolées à partir de sang total anticoagulé à l'EDTA par centrifugation sur gradient de densité. Le sang total a été dilué au ratio 1:1 avec une solution saline tamponnée au phosphate (PBS) stérile, puis délicatement déposé sur du Ficoll-Paque PLUS. Après centrifugation à $800 \times g$ pendant 30 minutes à température ambiante sans frein, la couche cellulaire correspondant aux PBMCs a été récupérée à l'interface plasma-Ficoll (figure 11), lavée deux fois au PBS, puis remise en suspension dans un milieu RPMI-1640 complet supplémenté en HEPES (25 mM), L-glutamine (2 mM), gentamicine (1 %), et soit en AlbuMAX II (0,5 %), soit en sérum humain selon les conditions expérimentales.

La viabilité cellulaire a été évaluée par exclusion au bleu de trypan et au Mitotracker rouge (figure 11).

Principe du Bleu de Trypan : le bleu de trypan est un colorant vital utilisé pour évaluer la viabilité cellulaire selon le principe d'exclusion membranaire. Les cellules vivantes possèdent une membrane plasmique intacte qui empêche la pénétration du colorant. En revanche, les cellules mortes ou dont la membrane est altérée laissent entrer le bleu de trypan, entraînant une coloration bleue observable en microscopie optique. Ainsi, les cellules non colorées sont considérées comme viables, tandis que les cellules bleues correspondent à des cellules non viables (106).

Principe du Mitotracker : repose sur le fait que le Mitotracker rouge s'accumule dans les mitochondries grâce au potentiel de membrane mitochondrial ; la fluorescence reflète l'activité mitochondriale et donc la viabilité cellulaire/parasitaire (107).

Seules les préparations présentant une viabilité supérieure à 90 % ont été utilisées. Les PBMCs ont ensuite été ajustées à des concentrations finales de 1×10^4 , 1×10^5 ou 1×10^6 cellules/mL.

Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur l'efficacité des candidats antipaludiques contre *Plasmodium falciparum* (3D7) : cas de la cabamiquine et de la pyronaridine

Pour les expériences d'activation, les PBMCs ont été pré-incubées pendant 72 heures en présence de phorbol-12-myristate-13-acétate (PMA, 10 ng/mL), d'hémozoïne (50 µg/mL) ou d'un lysat antigénique total de *P. falciparum* (50 µg/mL).

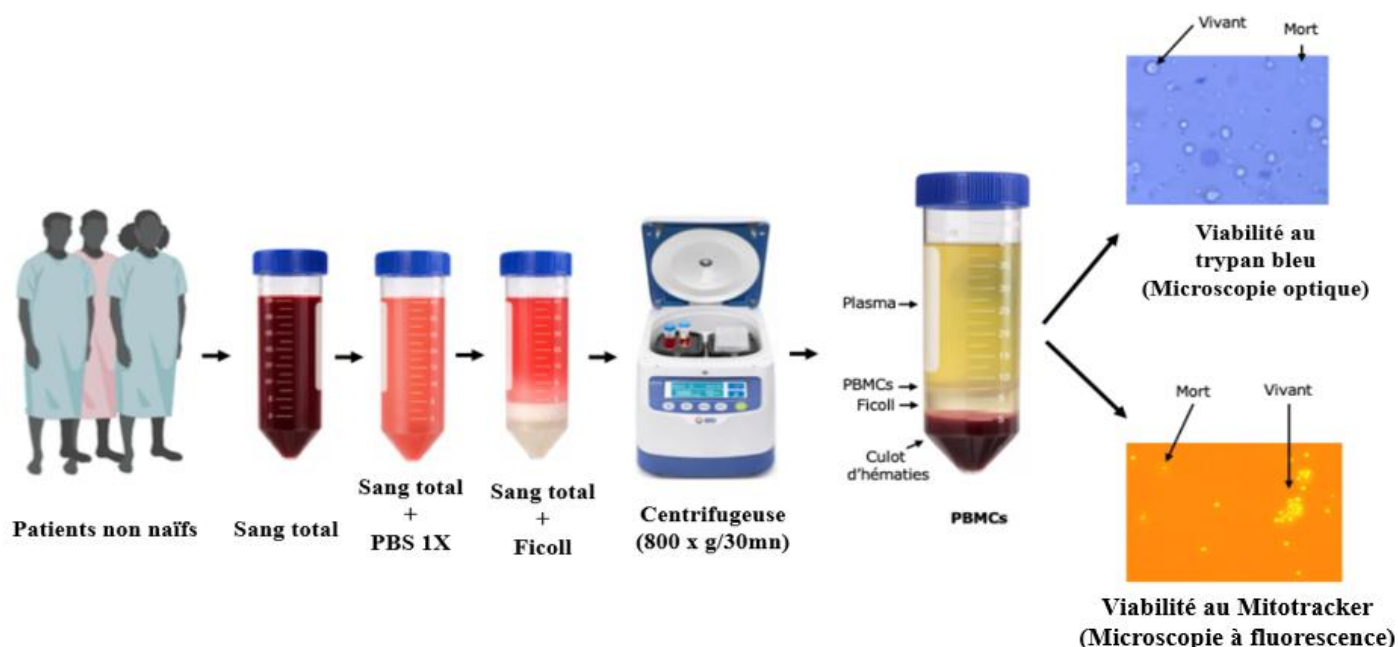


Figure 11 : Schéma expérimental d'isolement des PBMCs à partir de sang total de patients non naïfs

Collecte et préparation de sérum naïf et non naïf

Des prélèvements de sang veineux ont été réalisés auprès des donneurs non naïfs (qui n'ont pas eu de paludisme au moins 6 mois avant) (figure 12).

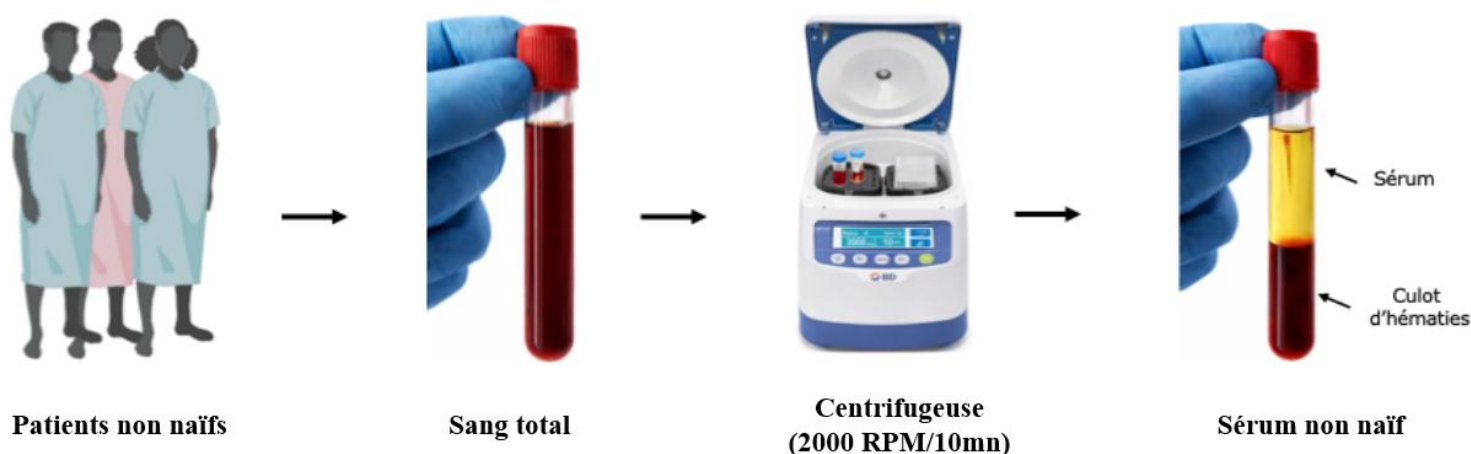


Figure 12 : Processus expérimental de prélèvement du sérum chez les patients non naïfs

Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur l'efficacité des candidats antipaludiques contre *Plasmodium falciparum* (3D7) : cas de la cabamiquine et de la pyronaridine

Pour la préparation des sera, le sang a été collecté dans des tubes avec activateurs de coagulation, puis laissé à coaguler à température ambiante pendant 30 minutes. Les échantillons ont ensuite été centrifugés à 2000 RPM pendant 10 minutes à 4 °C (figure 12). Le sérum a été soigneusement récupéré, aliquoté et conservé à -80 °C jusqu'à son utilisation. Afin de préserver l'activité du complément et des autres facteurs humoraux fonctionnels, les sera n'ont pas été soumis à une inactivation thermique. Avant les expériences, les sera ont été dilués dans du milieu RPMI-1640 complet aux concentrations finales de 0,1 %, 1 % ou 10 %, selon les conditions expérimentales. Le sérum des individus naïfs a été acheté auprès de PAN Biotech (UK).

Culture des parasites de *Plasmodium falciparum* souche de laboratoire 3D7

Les parasites de *Plasmodium falciparum* souche de laboratoire 3D7 ont été cultivés dans des flasks T25 et incubés à 37°C sous un atmosphère 5% de CO₂.

Dans notre étude le stade parasitaire utilisé est le stade anneau (ring stage) uniquement après synchronisation avec le sorbitol selon le protocole suivant :

- transférer la culture parasitaire dans un tube Falcon de 15ml et centrifuger à 1500 RPM pendant 5 mn à la température ambiante ;
- aspirer le surnageant (milieu) et ajouter 5ml de sorbitol 5% ;
- incuber le mélange pendant 5mn à la température ambiante et aspirer le surnageant ;
- effectuer 3 lavages avec du milieu RPMI incomplet ;
- resuspendre les hématies dans un milieu RPMI complet ;
- aliquoter une petite quantité pour lecture au microscope ;
- incuber à 37°C sous un atmosphère de 5% de CO₂, 1% de O₂ et 94% de nitrogène.

La parasitémie utilisée dans notre étude est de 0,5% avec un hématoците de 2% obtenu avec la formule $C_1V_1=C_2V_2$. Les expériences ont été réalisés dans les plaques de 96 puits.

Isolement des formes matures du parasite contenant l'hémozoïne : la filtration se fait avec la colonne magnétique (MAC).

Préparation de la colonne :

- ajouter du milieu de culture RPMI incomplet (1ml puis ajout progressif de l'échantillon de sang infecté dans les tubes Falcon de 50ml placés au-dessous du filtre ;
- le parasite doit être dilué avec 20ml de RPMI incomplet pour un culot de 5ml ;
- mouiller le filtre avec 1ml de RPMI incomplet ;
- faire passer le parasite dilué dans le filtre (5ml) ;
- effectuer 3 lavages avec 5ml de RPMI incomplet ;

Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur l'efficacité des candidats antipaludiques contre *Plasmodium falciparum* (3D7) : cas de la cabamiquine et de la pyronaridine

- prendre un tube Falcon de 15ml, mettre le filtre dessus puis ajouter 4ml de RPMI incomplet et laisser couler jusqu'à la dernière goutte ;
- ajouter 6 ml de RPMI et appuyer avec force sur la seringue pour tout faire passer d'un coup sec ;
- centrifuger le liquide obtenu à 800 g pendant 5mn ;
- recueillir le culot, faire la goutte, fixer au méthanol et colorer au Giemsa pour faire la lecture au microscope.

Isolement des lysats parasitaires contenant les antigènes totaux :

- prendre le culot de parasite, et effectuer des séries de congélation et de décongélation successives.
- congeler pendant 30min à -80°C puis décongeler en vortexant à forte vitesse jusqu'à fonte totale de la glace puis recongeler, répéter le processus 2 à 3 fois puis faire une lame, fixer au méthanol et colorer au Giemsa pour faire la lecture au microscope (observer si tous les globules rouges sont lysés).

Tests de coculture (PBMCs+sérum+parasites)

Les solutions mères de la cabamiquine et de pyronaridine tétraphosphate (Merck KGaA, Darmstadt, Allemagne) ont été préparées à une concentration de 10 mM dans du diméthylsulfoxyde (DMSO). Les solutions de travail, en monothérapie ou en combinaison, ont ensuite été obtenues par dilutions sériées dans le milieu RPMI-1640.

Les essais de coculture ont été réalisés dans des plaques 96 puits contenant des érythrocytes infectés par *Plasmodium falciparum* (0,5 % de parasitémie, 2 % d'hématocrite), en présence ou en absence de PBMCs (1×10^6 cellules/mL), de sérum humain (0,1–1 %) et de composés antipaludiques (cabamiquine et/ou pyronaridine), selon une matrice expérimentale de type checkerboard prédéfinie (figure 13).

Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur l'efficacité des candidats antipaludiques contre *Plasmodium falciparum* (3D7) : cas de la cabamiquine et de la pyronaridine

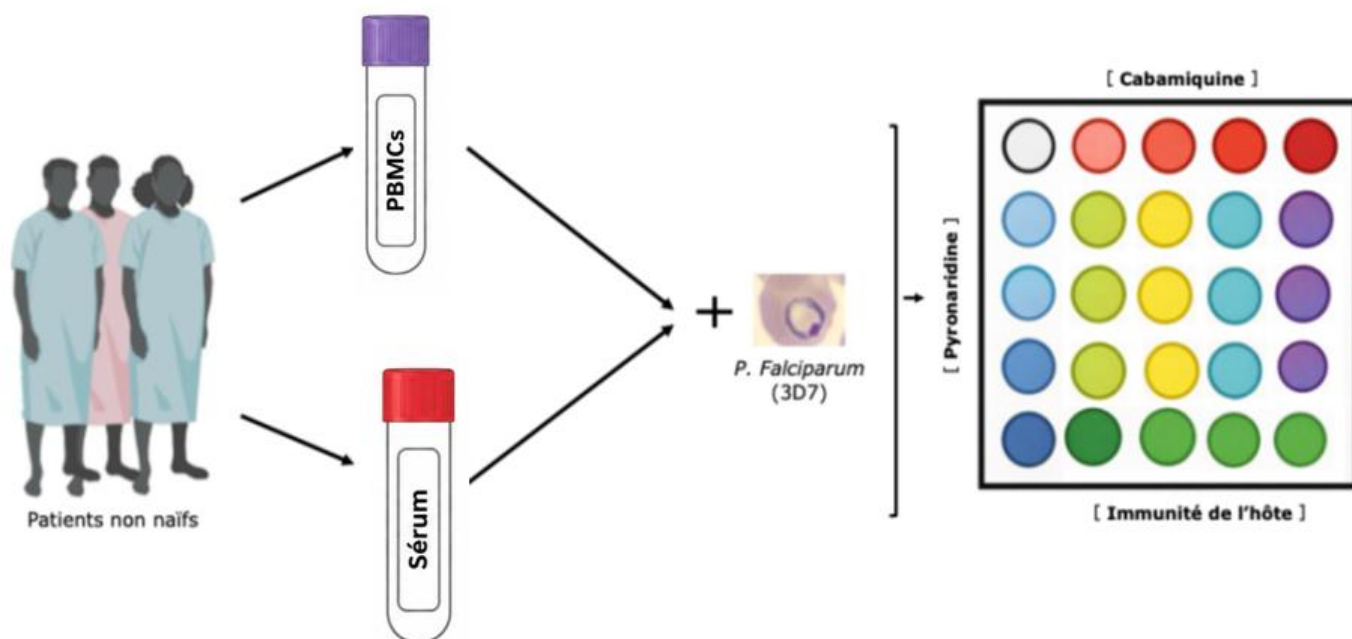
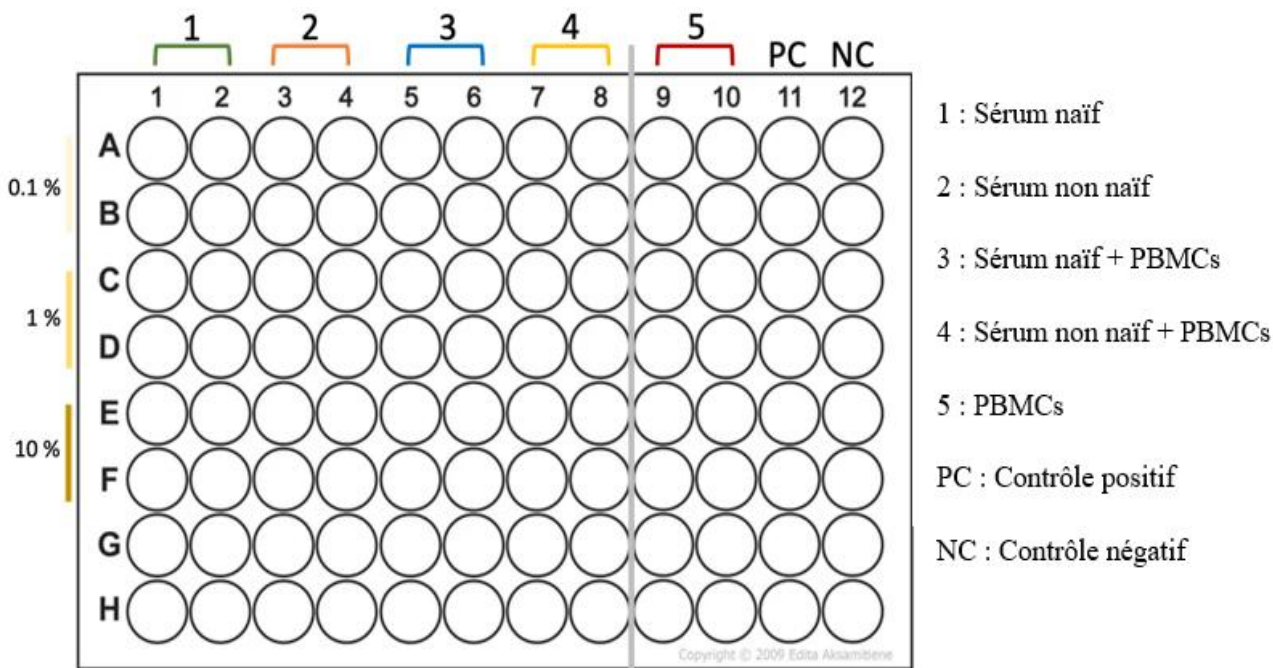


Figure 13 : Schéma expérimental illustratif de la coculture (PBMCs+sérum+parasites)

Les cultures ont été maintenues à 37 °C sous atmosphère contrôlée pendant une durée maximale de 120 heures. Des prélèvements ont été effectués aux temps 0, 24, 48, 72, 96 et 120 heures. Lorsque spécifié, le milieu de culture et les traitements ont été renouvelés à 72 heures afin de maintenir une exposition médicamenteuse constante. Le système de coculture a été développé de manière progressive. Dans un premier temps, un modèle de coculture sans médicament a été mis en place, incluant uniquement les PBMCs et le sérum de l'hôte en présence du parasite, conformément au schéma expérimental sur la figure 14.

Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur l'efficacité des candidats antipaludiques contre *Plasmodium falciparum* (3D7) : cas de la cabamiquine et de la pyronaridine

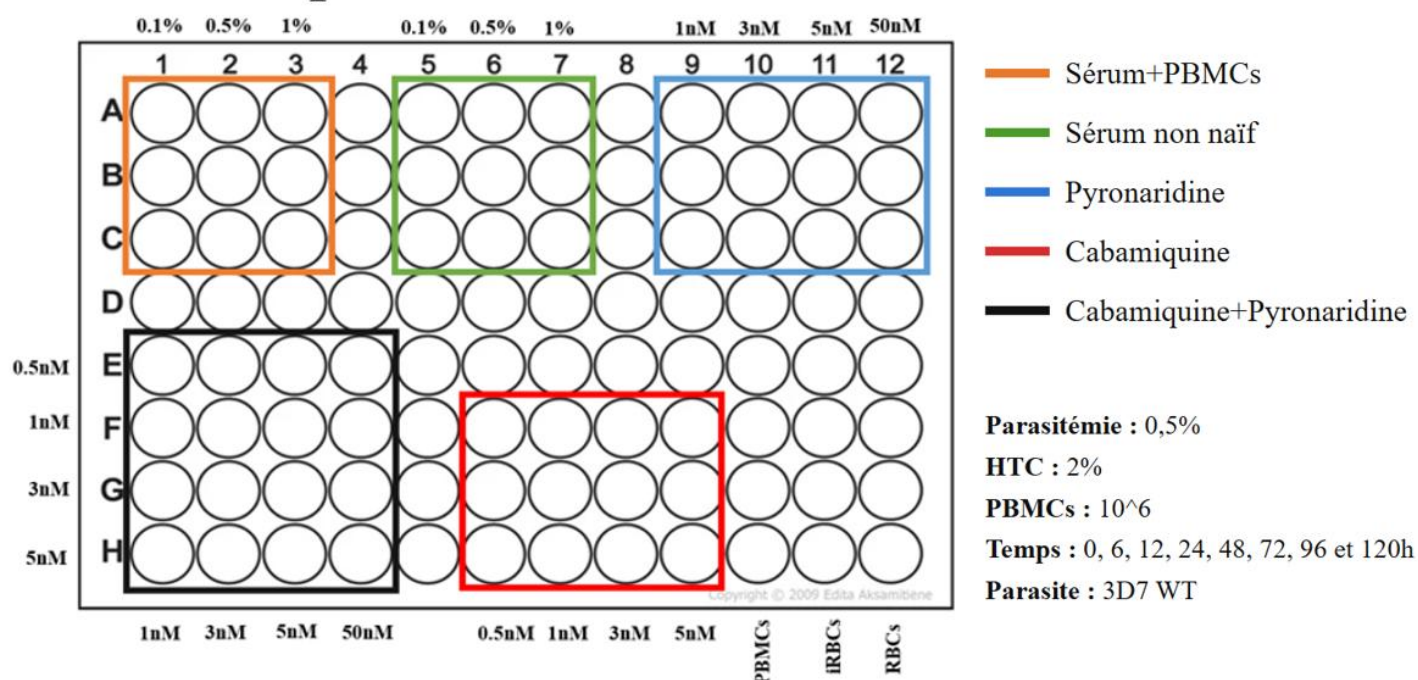


@Points temporels : 0h, 6h, 12h, 24h, 48h, 72h, 96h et 120h @Parasite *Pf* 3D7; p = 0,5% ; HTC = 2%

Figure 14 : Schéma expérimental de la coculture des PBMCs, sérum avec les parasites (*P. falciparum* 3D7)

Dans un second temps, la cabamiquine et la pyronaridine ont été introduite en monothérapie et en combinaison avec les facteurs immunitaires de l'hôte selon le plan expérimental indiqué sur la figure 15 ci-dessous.

Monothérapie



Combinaison

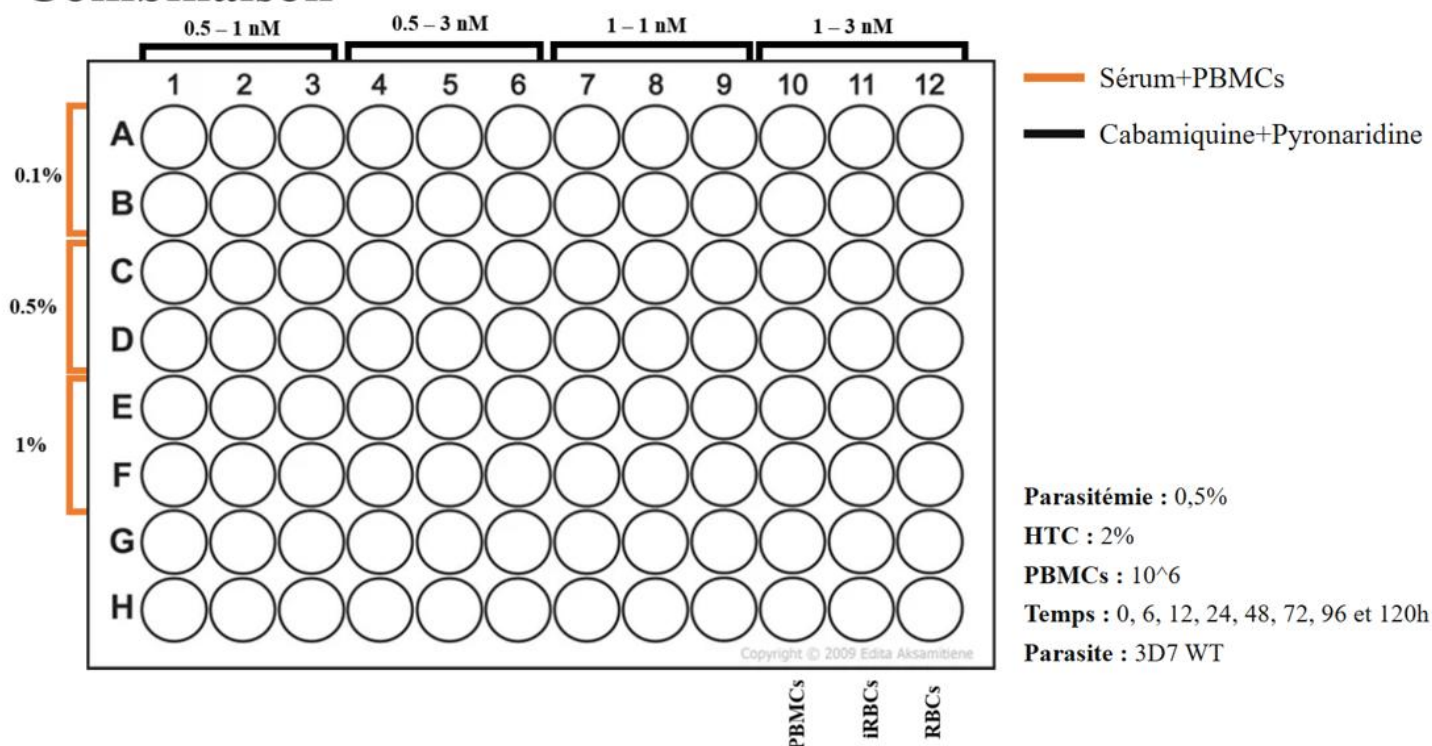


Figure 15 : Schéma expérimental de la coculture des PBMCs, sérum, combinaison cabamiquine pyronaridine avec les parasites (*P. falciparum* 3D7)

Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur l'efficacité des candidats antipaludiques contre *Plasmodium falciparum* (3D7) : cas de la cabamiquine et de la pyronaridine

Mesure des différents paramètres après le test *in vitro* :

Les plaques ont été retirées de l'incubateur après chaque temps donné (0, 6, 12, 24, 48, 72, 96 et 120 heures d'exposition des médicaments sur les parasites). La coloration des parasites a été faite avec du SYBR Green et du Mitotracker rouge.

La procédure de coloration est la suivante :

- les plaques de 96 puits étaient centrifugées à 2000 RPM pendant 5 minutes ;
- 70µl du surnageant était enlevé puis ajout de 50µl de la solution mixte (SYBR Green + Mitotracker rouge) ;
- l'incubation pendant 45mn à 1 heure de temps à 37°C dans l'incubateur ;
- la plaque de 96 puits était retirée de l'incubateur et centrifuger à 2000 RPM pendant 5 minutes ;
- 100µl du surnageant était enlevé puis ajout de 200µl de la solution de lavage constituée du HBSS 1X et du FBS 2% ;
- mélanger et centrifuger à 2000 RPM pendant 5 minutes ;
- répéter le lavage trois (3) fois successives ;
- reconstituer le culot globulaire avec 120µl de la solution de lavage et la lecture de la plaque directement au flow cytomètre.

Quantification de la viabilité parasitaire par cytométrie en flux

La viabilité parasitaire a été quantifiée par cytométrie en flux à l'aide d'un test DVA. A chaque point temporel, des aliquotes de culture ont été prélevés, lavés deux fois avec du RPMI-1640 incomplet. Les acquisitions ont été réalisées sur un cytomètre BD FACSymphony™ A3. Les érythrocytes infectés et les PBMCs ont été discriminés sur la base de leurs profils de diffusion avant (FSC) et latérale (SSC). Les parasites viables ont été définis comme les événements positifs au DVA (Mitotracker/SYBR Green) après exclusion de la population de PBMC. Les résultats ont été exprimés en nombre absolu de parasites viables par échantillon (figure 8).

Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur l'efficacité des candidats antipaludiques contre *Plasmodium falciparum* (3D7) : cas de la cabamiquine et de la pyronaridine

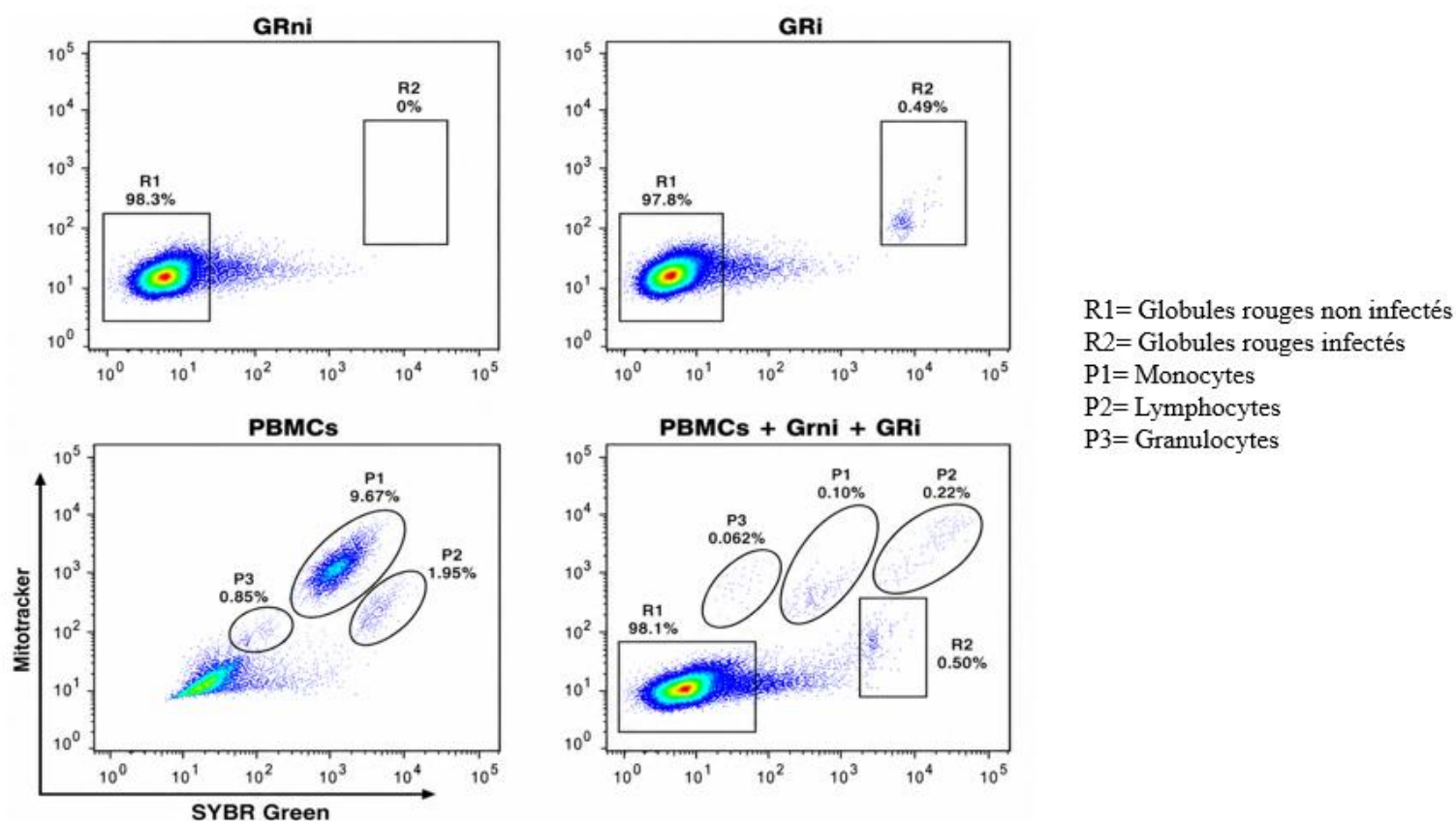


Figure 16 : Stratégie de sélection des populations cellulaires par cytométrie en flux pour l'identification des uRBCs (R1), iRBCs (R2) et des sous-populations de PBMCs (monocytes, lymphocytes et granulocytes).

La figure 16 illustre une stratégie de sélection des populations cellulaires par cytométrie en flux, basée sur le DVA, permettant de discriminer les érythrocytes non infectés (uRBCs), les érythrocytes infectés (iRBCs) et trois sous-populations de PBMCs (monocytes, lymphocytes et granulocytes). Les panneaux présentent les profils des populations individuelles et de leur mélange, ainsi que les régions de sélection utilisées pour l'identification et la quantification de chaque population cellulaire.

6. Modélisation mathématique pharmacodynamique

Un modèle pharmacodynamique (PD) mécanistique de population a été développé à l'aide de NONMEM (version 7.x, ICON Development Solutions) afin de caractériser la dynamique d'élimination parasitaire en réponse à la cabamiquine, à la pyronaridine, aux séras immuns et aux cellules mononucléées du sang périphérique (PBMCs).

Le modèle décrit la dynamique du nombre de parasites viables dans un unique compartiment A (1), selon un cadre croissance-élimination, où plusieurs mécanismes d'élimination contribuent de façon additive au taux de mort parasitaire total : (E_1) effet de la cabamiquine, (E_2) effet de

Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur l'efficacité des candidats antipaludiques contre *Plasmodium falciparum* (3D7) : cas de la cabamiquine et de la pyronaridine

la pyronaridine (E_3) effet du sérum et (E_4) effet des PBMCs. La dynamique parasitaire est décrite par :

$$\frac{dA}{dt} = K_G \cdot A(t) - (E_1 + E_2 + E_3 + E_4) \cdot A(t)$$

où $A(t)$ représente la charge parasitaire viable, K_G le taux de croissance intrinsèque, et E_1 , E_2 , E_3 et E_4 les composantes d'élimination associées à chaque mécanisme.

L'effet de la cabamiquine (E_1) et de la pyronaridine (E_2) ont été estimé par un modèle $E_{\max}$ avec coefficient de Hill a été utilisé pour décrire l'élimination dépendante de la concentration.

$$E_1 = \frac{k_{kill1}^{Hill,1} \cdot C_1^{Hill,1}}{EC_{50,1}^{Hill,1} + C_1^{Hill,1}}$$

$$E_2 = \frac{k_{kill2}^{Hill,2} \cdot C_2^{Hill,2}}{EC_{50,2}^{Hill,2} + C_2^{Hill,2}}$$

L'effet des sérum (E_3) et PBMCs (E_4) ont été modélisé à l'aide d'un modèle pharmacodynamique de type killing (effet de destruction) de premier ordre.

$$E_3 = k_{kill,3} \quad \text{et} \quad E_4 = k_{kill,4}$$

Après modélisation des effets individuels, le principe d'indépendance de Bliss a été utilisé pour prédire les effets combinés (E_{total}), en les normalisant par rapport à l'effet maximal observé ($E_{\max, global}$) :

$$E_{Max, global} = \max(E_1, E_2, E_3, E_4)$$

Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur l'efficacité des candidats antipaludiques contre *Plasmodium falciparum* (3D7) : cas de la cabamiquine et de la pyronaridine

$$E_{total} = 1 - \left(\left(1 - \frac{E_1}{E_{Max,global}} \right) * \left(1 - \frac{E_2}{E_{Max,global}} \right) * \left(1 - \frac{E_3}{E_{Max,global}} \right) * \left(1 - \frac{E_4}{E_{Max,global}} \right) \right) * E_{Max,global}$$

Dans une étape suivante, les paramètres des effets en monothérapie ont été fixés, puis les interactions potentielles entre la cabamiquine et la pyronaridine, ainsi qu'avec le sérum et les PBMCs, ont été estimées à l'aide du modèle général d'interaction pharmacodynamique (GPDI) (108):

$$\theta_{victime,GPDI} = \theta_{victime} \left(\left(1 + \frac{INT \cdot C_{perpetrateur}}{EC50_{perpetrateur} + C_{perpetrateur}} \right) \right)$$

$\theta_{victime, GPDI}$ représente le paramètre pharmacodynamique du médicament « victime » modulé par le médicament « perpétreur ». L'amplitude maximale de l'interaction est donnée par INT avec une puissance déterminée par $EC_{50, perpétreur}$, en fonction de la concentration $C_{perpetrateur}$.

L'inclusion des paramètres d'interaction a été guidée par un test du rapport de vraisemblance (seuil de significativité $\alpha = 0.05$, ddl = 1). Le modèle a été paramétré à l'aide de la méthode d'estimation conditionnelle du premier ordre avec approximation laplacienne (FOCE-I), et les équations différentielles ont été résolues à l'aide d'ADVAN13. La variabilité interindividuelle a été estimée sur certains paramètres via un modèle d'erreur exponentiel. La variabilité résiduelle a été décrite par un modèle d'erreur proportionnelle. L'incertitude des paramètres a été évaluée à l'aide de l'estimation de la matrice de covariance.

7. Déclarations éthiques

L'ensemble des échantillons biologiques humains utilisés dans cette étude a été collecté et utilisé conformément aux principes éthiques en vigueur et aux termes des consentements éclairés obtenus auprès des participants. Le protocole de recherche a été approuvé par le Comité d'éthique de l'Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB), sous la référence N°2020/296/CE/FMOS/FAPH, renouvelée N°2022/03/USTTB, N°2023/03/USTTB, N°2024/03/USTTB et N°2025/03/USTTB.

RESULTATS

V. RESULTATS

Pour étudier les interactions entre l'immunité et les médicaments, nous avons d'abord établi des conditions optimales de coculture PBMC - sérum – parasites (*P. falciparum* 3D7) en standardisant le ratio PBMC:sérum afin d'obtenir des réponses immunitaires de base reproductibles. Cette approche permet de dissocier clairement les effets immunitaires des effets des médicaments pour une évaluation rigoureuse des interactions immunité-médicament.

1. Contribution de l'immunité humorale (sérum) au contrôle parasitaire

Les sera provenant d'individus naïfs vis-à-vis du paludisme n'exercent aucun effet détectable sur la croissance de *Plasmodium falciparum* (3D7), quelle que soit la concentration testée et indépendamment de la présence de PBMCs. Les cinétiques de croissance parasitaire observées avec ces sera sont comparables à celles des cultures contrôles sans sérum humain, indiquant l'absence d'activité antiparasitaire de l'immunité humorale non spécifique dans ce modèle *in vitro* (figure 17).

A l'inverse, les sera issus d'individus exposés au paludisme induisent une inhibition significative de la croissance parasitaire, avec un effet clairement dépendant de la concentration. A concentration élevée (10%), les sera exposés réduisent fortement la multiplication parasitaire sur l'ensemble de la période d'observation, entraînant une diminution marquée de la charge parasitaire (figure 17).

A des concentrations plus faibles de sérum (0,1-1 %), l'effet inhibiteur est limité lorsqu'il est exercé isolément. Dans ces conditions, la croissance parasitaire est seulement ralentie de manière transitoire et reprend aux temps tardifs, suggérant que l'immunité humorale seule est insuffisante pour maintenir un contrôle durable à faible concentration (figure 17).

Dans l'ensemble, ces résultats montrent que l'activité antiparasitaire est spécifiquement associée aux sera d'individus exposés au paludisme et qu'elle dépend fortement de leur concentration. Ils soulignent le rôle central de l'immunité humorale acquise dans le contrôle de la croissance de *P. falciparum in vitro*.

Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur l'efficacité des candidats antipaludiques contre *Plasmodium falciparum* (3D7) : cas de la cabamiquine et de la pyronaridine

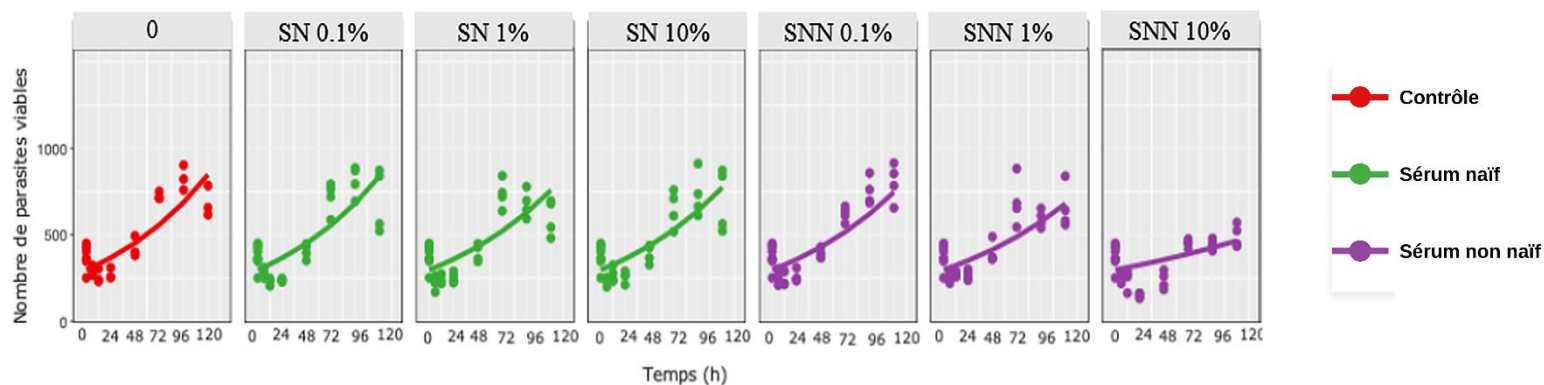


Figure 17 : Effet antiparasitaire des sera humains sur *P. falciparum*

2. Effet de l'immunité cellulaire (PBMCs) sur la croissance parasitaire

Des PBMCs non activées (isolées d'individus n'ayant pas présenté d'épisode palustre au cours des six derniers mois) ont été testées à des concentrations de 0, 10^4 , 10^5 et 10^6 cellules par essai afin d'évaluer leur activité antiparasitaire de base. La croissance parasitaire est restée comparable dans toutes les conditions sur 72 h (figure 18), indiquant l'absence d'effet inhibiteur en l'absence d'activation des PBMCs.

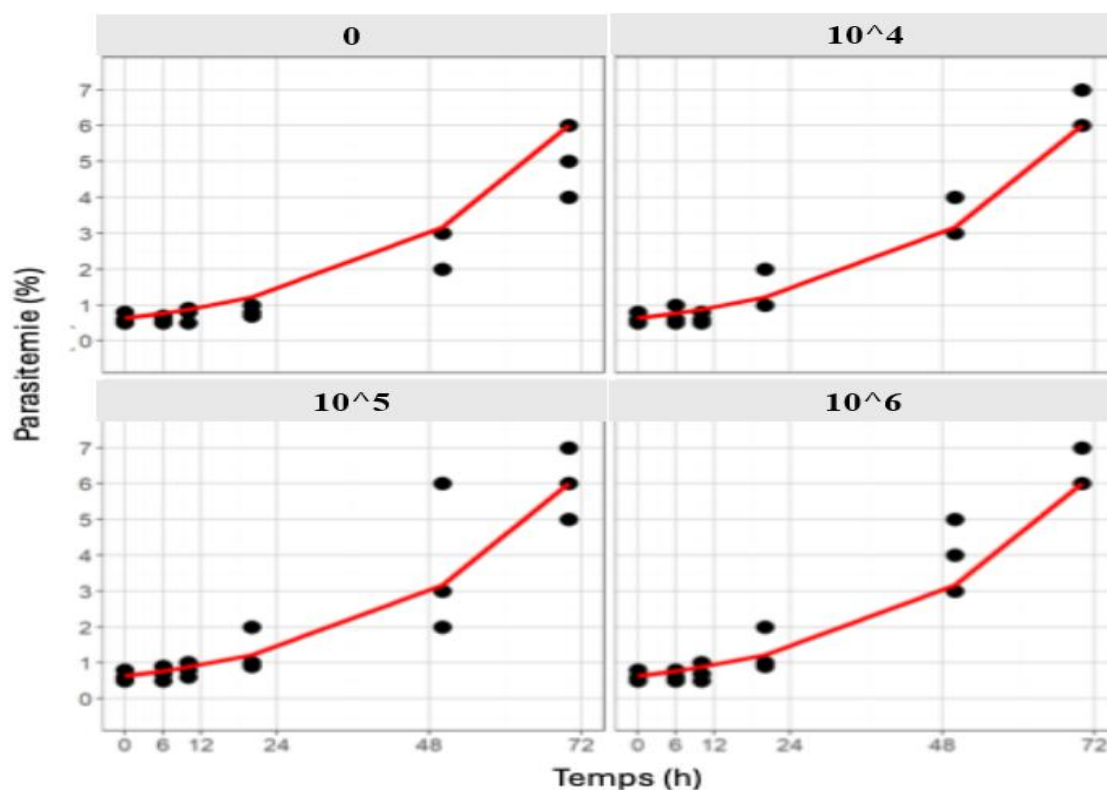


Figure 18 : Effet antiparasitaire des PBMCs non activées des patients non naïfs sur la croissance de *P. falciparum*

Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur l'efficacité des candidats antipaludiques contre *Plasmodium falciparum* (3D7) : cas de la cabamiquine et de la pyronaridine

Afin d'évaluer si l'activation, ou une augmentation du temps d'exposition, pouvait renforcer l'activité antiparasitaire, les PBMCs ont été stimulées *in vitro* pendant 72 h, les PBMCs n'ont pas été capables de réduire la croissance parasitaire (figure 19).

Sur l'ensemble de la période d'observation prolongée à 120 heures, les parasites se multiplient de manière soutenue, et les profils de croissance observés en présence de PBMCs activées sont superposables à ceux des cultures parasites seules (figure 19).

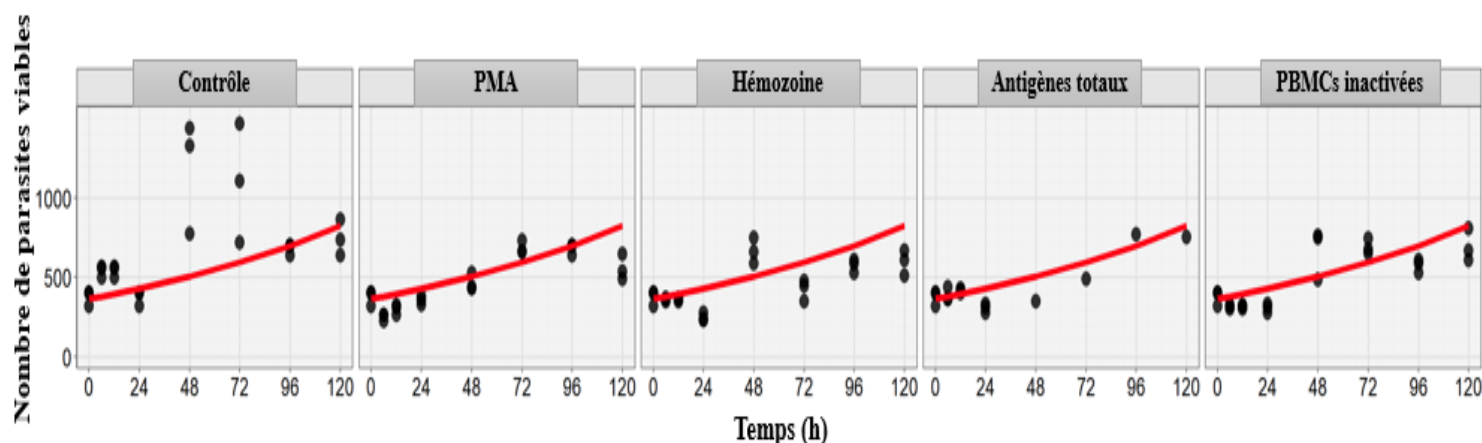


Figure 19 : Effet antiparasitaire des PBMCs activées des patients non naïfs sur la croissance de *P. falciparum*

Cependant, malgré l'absence d'effet sur la croissance des parasites, l'analyse morphologique met en évidence une activité fonctionnelle des PBMCs. Des phénomènes de phagocytose des hématies parasitées sont observés, associés à une accumulation progressive de dépôts intracellulaires d'hémotoïne (figure 20). Ces observations confirment la capacité des PBMCs à reconnaître et internaliser les parasites, sans pour autant entraîner une réduction significative et globale de la charge parasitaire.

Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur l'efficacité des candidats antipaludiques contre *Plasmodium falciparum* (3D7) : cas de la cabamiquine et de la pyronaridine

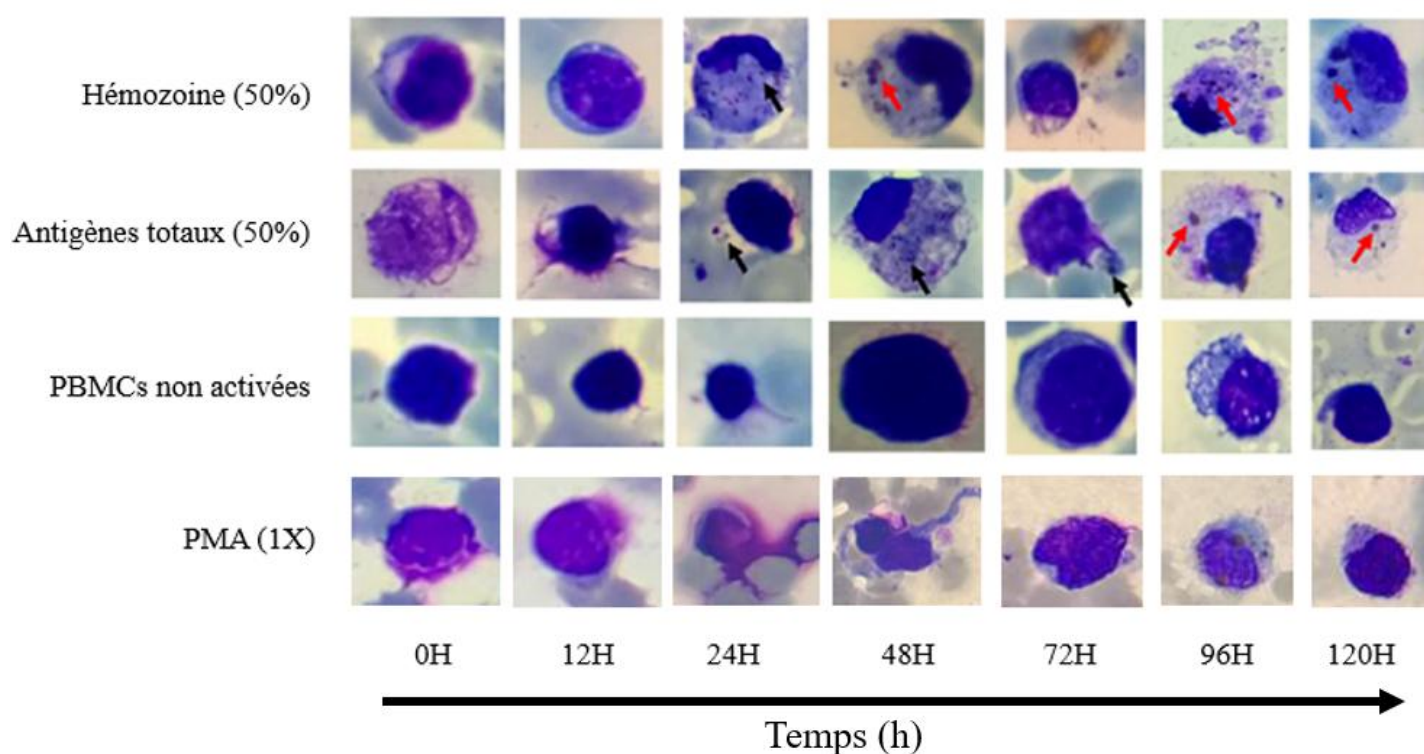


Figure 20 : Effet phagocytaire des PBMCs activées sous différents stimuli des globules rouges infectés

Dans l'ensemble, ces résultats montrent que les PBMCs possèdent une capacité fonctionnelle de reconnaissance et de phagocytose des érythrocytes parasités (figure 20), mais que cette activité demeure insuffisante pour exercer un impact mesurable sur la charge parasitaire globale. Ainsi, l'immunité cellulaire, qu'elle soit non activée ou pré-activée, ne permet pas à elle seule de contrôler la croissance de *P. falciparum in vitro*.

3. Effet combiné de l'immunité cellulaire et humorale sur la croissance parasitaire

Etant donné que ni le sérum seul ni les PBMCs pris isolément ne permettent de contrôler la croissance parasitaire, nous avons ensuite évalué leur combinaison en testant des séras naïfs et non naïfs, à des concentrations élevées (10 %) et sous-optimales (0,1 et 1 %), en association avec des PBMCs à une concentration de 10^6 cellules, afin d'explorer un éventuel effet synergique sur l'activité antiparasitaire.

L'association des PBMCs activées avec des séras humains modifie significativement la croissance parasitaire. A forte concentration et à une densité de 10^6 PBMCs, une inhibition marquée de la prolifération de *P. falciparum* est observée avec des séras non naïfs (figure 21).

Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur l'efficacité des candidats antipaludiques contre *Plasmodium falciparum* (3D7) : cas de la cabamiquine et de la pyronaridine

De manière plus notable, aux concentrations sous-optimales de séra (0,1 et 1 %), initialement sans effet détectable sur la croissance parasitaire (figure 17), une activité antiparasitaire est remarquée en présence de PBMCs activées avec les séra issus d'individus non naïfs, suggérant une interaction fonctionnelle entre les facteurs humoraux et les cellules immunitaires effectrices (figure 21). Dans l'ensemble, ces résultats montrent que les PBMCs seules ne contrôlent pas la croissance parasitaire, mais qu'elles jouent un rôle clé en potentialisant l'activité antiparasitaire des séra, en particulier dans des conditions où l'immunité humorale est insuffisante lorsqu'elle agit seule (figure 19)

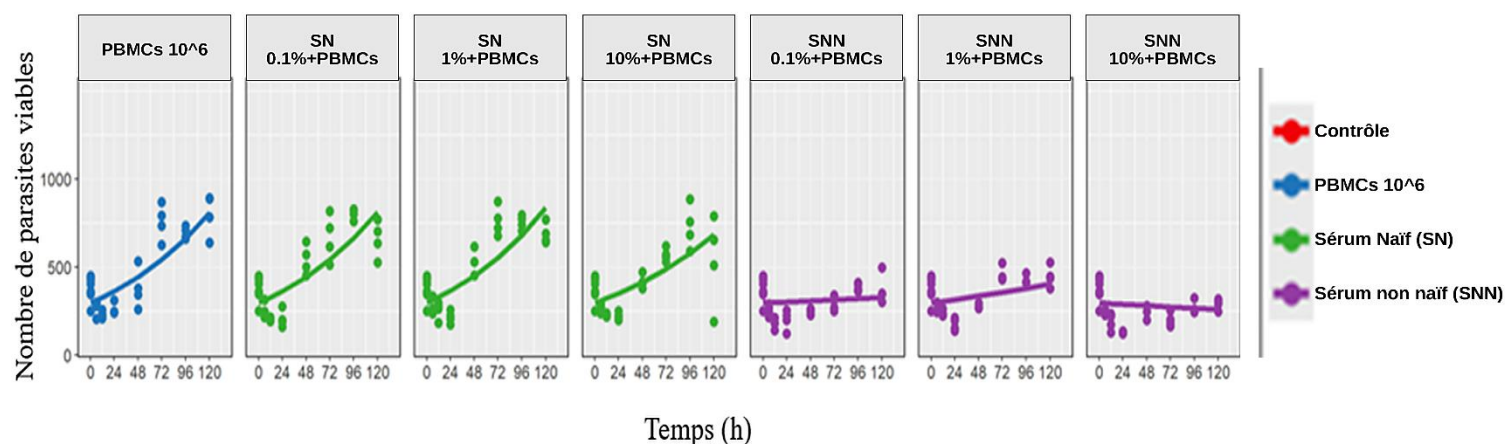


Figure 21 : Effet combiné des séra et des PBMCs sur la croissance de *P. falciparum* 3D7

4. Effet de l'immunité humorale sur l'efficacité de la combinaison cabamiquine-pyronaridine sur la croissance parasitaire

En s'appuyant sur le système de coculture optimisé décrit ci-dessus, nous avons examiné l'influence des composantes immunitaires de l'hôte sur l'activité des antipaludiques en introduisant différentes concentrations de cabamiquine et de pyronaridine dans le système *P. falciparum* sauvage (WT)-sérum-PBMCs. Les conditions expérimentales ont été définies de manière à maintenir une croissance parasitaire mesurable tout en conservant une sensibilité suffisante pour détecter des effets immuno-médiés subtils. Dans ce cadre, nous avons évalué l'impact du sérum sur l'efficacité de la combinaison cabamiquine-pyronaridine, en particulier à des concentrations sous-optimales incapables, à elles seules, de contrôler la croissance parasitaire (figure 22). Des gammes de concentrations couvrant les EC₅₀ de la cabamiquine (0,5-5 nM) et de la pyronaridine (1-50 nM) ont été explorées. Des niveaux sous-optimaux de chaque composé ont ensuite été testés en combinaison, en présence de sérum également en

Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur l'efficacité des candidats antipaludiques contre *Plasmodium falciparum* (3D7) : cas de la cabamiquine et de la pyronaridine

concentration sous-optimale, afin d'évaluer leurs effets conjoints dans un contexte où aucun des composants ne présente d'activité dominante isolée.

Nous avons ensuite caractérisé l'interaction pharmacodynamique entre la cabamiquine et la pyronaridine au sein de ce système de coculture immunitaire. Les interactions entre la cabamiquine et la pyronaridine en présence de sérum sont illustrées dans la figure 22.

**Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur l'efficacité des candidats antipaludiques
contre *Plasmodium falciparum* (3D7) : cas de la cabamiquine et de la pyronaridine**

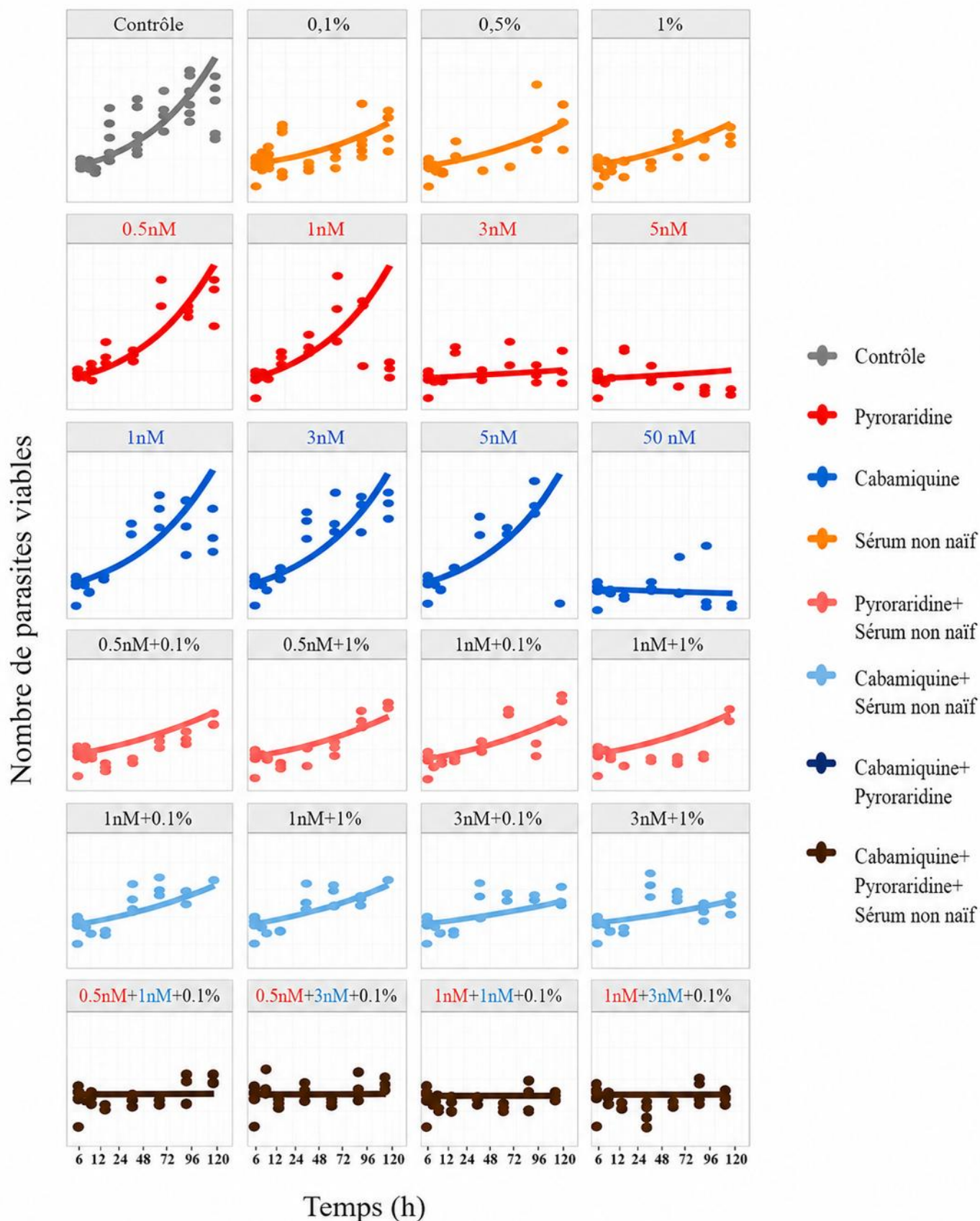


Figure 22 : Interactions entre la cabamiquine et la pyronaridine en présence de sérum.

Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur l'efficacité des candidats antipaludiques contre *Plasmodium falciparum* (3D7) : cas de la cabamiquine et de la pyronaridine

Le modèle met en évidence une potentialisation de l'activité de la cabamiquine par la pyronaridine en présence du sérum, se traduisant par une réduction de l'EC50 de la cabamiquine de 87,81% (Tableau 3). Ce déplacement marqué de la puissance pharmacologique de la cabamiquine indique que l'activité combinée des deux médicaments dépasse la simple addition de leur effets individuels, suggérant une interaction synergique modulée par le contexte immunitaire.

Tableau 3 : Valeurs d'EC50 estimées par le modèle pour la cabamiquine et la pyronaridine selon différentes conditions immunitaires et scénarios d'interaction médicamenteuse.

Médicaments	Condition	EC50 estimée(nM)	Réduction de l'EC50 de la cabamiquine(%)
Cabamiquine	Seule	0.977	88.82
	+Sérum non naïf	0.119	
	+Pyronaridine+Sérum non naïf	0.00275	99.71
Pyronaridine	Seule	24.3	86.99
	+Sérum non naïf	3.16	

5. Effet de l'immunité cellulaire et humorale sur l'efficacité de la combinaison cabamiquine-pyronaridine sur la croissance parasitaire

Afin d'étendre ces observations, nous avons introduit les PBMCs au système précédemment défini basé sur le sérum seul, permettant d'évaluer l'effet combiné des composantes humorales et cellulaires de l'immunité.

Nous avons ensuite caractérisé l'interaction pharmacodynamique entre la cabamiquine et la pyronaridine dans un contexte immunitaire enrichi. Les interactions entre les deux composés en présence du système sérum-PBMCs-parasites sont illustrées dans la figure 23.

Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur l'efficacité des candidats antipaludiques contre *Plasmodium falciparum* (3D7) : cas de la cabamiquine et de la pyronaridine

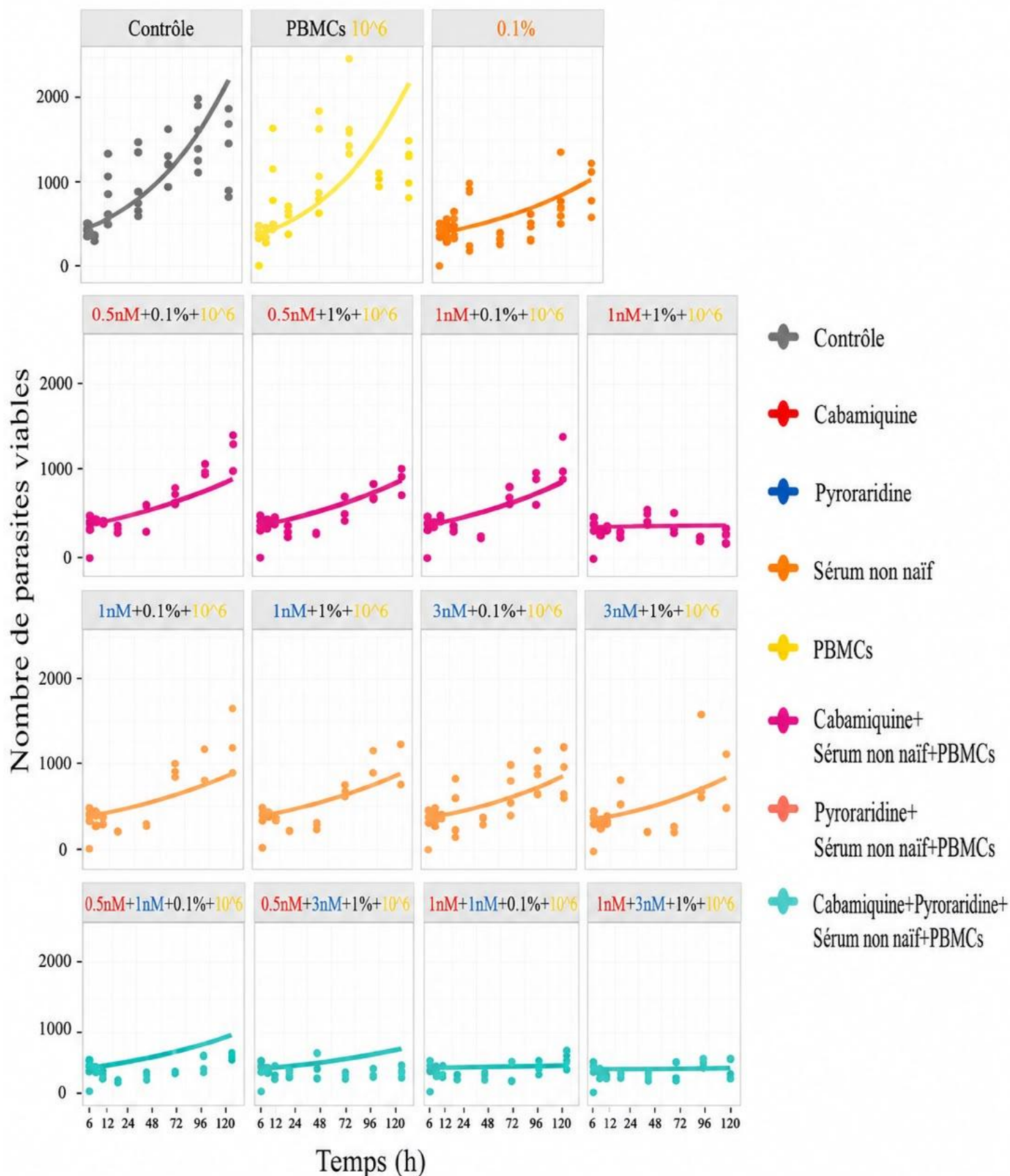


Figure 23 : Interactions cabamiquine-pyronaridine en présence du système sérum-PBMCs.

Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur l'efficacité des candidats antipaludiques contre *Plasmodium falciparum* (3D7) : cas de la cabamiquine et de la pyronaridine

Le modèle révèle une augmentation marquée de la sensibilité à la cabamiquine en présence de la pyronaridine dans le système sérum-PBMCs-parasites, avec une diminution de l'EC₅₀ de 99.71% (tableau 3), par rapport aux conditions avec sérum seul, cette modulation accrue suggère que l'intégration des PBMCs intensifie l'interaction pharmacodynamique entre les deux composés, traduisant l'effet combiné des réponses immunitaires humorales et cellulaires. Enfin l'ensemble des paramètres estimés du modèle pharmacodynamique, intégrant différentes conditions expérimentales et interactions étudiées, est synthétisé dans un tableau récapitulatif global (tableau 4) présenté ci-dessous.

Tableau 4 : Paramètres estimés du modèle pharmacodynamique final

Paramètres	Explication	Estimation
N_0 [-]	Nombre initial de parasites	382
k_g [h^{-1}]	Taux de croissance de premier ordre	0.0146
$k_{kill,A}$ [h^{-1}]	Taux de mortalité maximal de premier ordre de la cabamiquine	0.0123
EC _{50,A} [nM]	Concentration de la cabamiquine présentant l'effet semi-maximal	0.977
Hill _A [-]	Facteur Hill de la cabamiquine	20
$k_{kill,B}$ [h^{-1}]	Vitesse maximale de destruction de premier ordre de la pyronaridine	0.0165
EC _{50,B} [nM]	Concentration de la pyronaridine présentant l'effet semi-maximal	24.3
Hill _B [-]	Facteur Hill de la pyronaridine	20
$k_{kill,C, symp.}$ [h^{-1}]	Taux de destruction maximal de premier ordre du sérum d'un patient non naïf (effet marche/arrêt, aucune dépendance à la concentration observée)	0.00625
$k_{kill,D, symp.}$ [h^{-1}]	Taux de destruction maximal de premier ordre des PBMCs en présence d'un patient non naïf (effet marche/arrêt, aucune dépendance à la concentration observée)	0.00184
INT _{AC} [%]	Déplacement de la CE50 de la cabamiquine en présence de sérum non naïf	-87.8
INT _{BC} [%]	Déplacement de la CE50 de la pyronaridine en présence de sérum non naïf	-87.0
σ [%]	Erreur résiduelle sur l'échelle SD	34.1

Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur l'efficacité des candidats antipaludiques contre *Plasmodium falciparum* (3D7) : cas de la cabamiquine et de la pyronaridine

Les paramètres estimés du modèle pharmacodynamique final sont présentés dans le tableau 4. Ils résument l'ajustement global du modèle décrivant la dynamique combinée des PBMCs, des sera et de la combinaison cabamiquine-pyronaridine sur la souche 3D7 de *P. falciparum*, en cohérence avec les résultats expérimentaux illustrés (figure 23).

Le paramètre N_0 correspond à la population parasitaire initiale avant traitement, tandis que k_g décrit le taux de croissance intrinsèque du parasite en absence d'effet médicamenteux.

L' EC_{50} indique la concentration nécessaire pour atteindre la moitié de cet effet maximal, traduisant la sensibilité du parasite au traitement.

Le paramètre Hill (ou facteur de Hill) exprime la pente de la relation concentration-effet. Les CI 95 %, qui correspondent aux intervalles de confiance à 95 % des paramètres estimés par le modèle.

K_{kill} (taux de destruction) indique la vitesse maximale de destruction de premier ordre.

INT correspond au déplacement de l' EC_{50} .

COMMENTAIRES ET DISCUSSION

VI. DISCUSSION

Dans cette présente étude nous avons évalué l'influence des facteurs immunitaires de l'hôte sur l'efficacité des antipaludiques, en particulier la cabamiquine et la pyronaridine, dans un modèle *in vitro* utilisant *Plasmodium falciparum* 3D7. Nos résultats nous ont conduits à faire des discussions dans ce qui suit.

1. Absence d'effet antiparasitaire quantifiable des PBMCs seules

Dans ce cadre, nos résultats montrent que les PBMCs, qu'elles soient non activées, activées *in vitro* ou issues d'individus atteints de paludisme, n'ont pas démontré d'effet significatif sur la croissance parasitaire sur une période de 120 heures (figure 19). Cette absence d'activité antiparasitaire directe suggère que, dans les conditions expérimentales utilisées, les PBMCs seules sont insuffisantes pour exercer un contrôle de la parasitémie, même lorsqu'elles présentent des signes d'activation fonctionnelle tels que la phagocytose et le dépôt d'hémozoïne (figure 20). Ces observations sont cohérentes avec les données de la littérature indiquant que l'efficacité des cellules immunitaires dépend fortement de la présence de facteurs humoraux, notamment les anticorps, et que certains mécanismes clés comme l'Antibody-Dependent Cellular Inhibition nécessitent une interaction synergique entre cellules effectrices et sérum (109,110). Ainsi, l'absence d'effet observée dans notre modèle met en évidence les limites d'une approche reposant uniquement sur l'immunité cellulaire (111).

2. Effet limité du sérum seul sur la croissance parasitaire

L'évaluation du sérum de patients atteints de paludisme a montré un effet antiparasitaire modéré, mais insuffisant pour contrôler la croissance parasitaire (figure 17). Bien que ces sera pourraient contenir des anticorps spécifiques dirigés contre le parasite, leur concentration ou leur fonctionnalité dans les conditions *in vitro* semble insuffisante pour induire une inhibition marquée. Ce résultat suggère que les anticorps seuls ne permettent pas d'assurer un contrôle efficace de l'infection parasitaire et qu'ils pourraient nécessiter l'intervention de cellules effectrices pour exprimer pleinement leur potentiel inhibiteur. Cette observation est en accord avec les travaux montrant que l'immunité humorale isolée joue un rôle partiel dans la limitation de la parasitémie (112).

3. Effet synergique de l'ensemble PBMCs-sérum

Face à ces résultats, l'association des PBMCs avec le sérum a permis de mettre en évidence un effet significatif sur la dynamique de croissance parasitaire, traduisant une interaction

fonctionnelle entre les composantes cellulaire et humorale de l'immunité (figure 21). En effet, la coculture PBMCs-sérum-parasite a modifié le taux de croissance parasitaire et induit un effet mesurable sur la destruction parasitaire. Cette interaction suggère la mise en place de mécanismes immunitaires complexes, impliquant notamment l'activation des cellules effectrices par les anticorps présents dans le sérum et l'induction de mécanismes cytotoxiques dépendants des anticorps (113). Ces résultats confirment que l'immunité anti-palustre repose sur une coopération étroite entre ses différentes composantes et ne peut être correctement appréhendée en isolant un seul compartiment.

4. Modulation de l'activité des antipaludiques par l'immunité de l'hôte

Un résultat majeur de cette étude est la démonstration que les facteurs immunitaires de l'hôte modulent significativement l'activité des antipaludiques. En particulier, la présence de sérum non naïf a entraîné une réduction marquée des valeurs d'EC50 pour la cabamiquine et la pyronaridine (tableau 3), traduisant une potentialisation de leur activité antiparasitaire. Cette observation est d'une importance particulière car elle suggère que les approches *in vitro* classiques, réalisées en l'absence de composantes immunitaires, peuvent sous-estimer l'efficacité réelle des médicaments observée *in vivo*. Elle souligne également le rôle déterminant de l'immunité de l'hôte dans la réponse thérapeutique, en modulant la sensibilité du parasite aux antipaludiques (114,115)

5. Interaction entre cabamiquine et pyronaridine

L'étude de la combinaison cabamiquine-pyronaridine a révélé une interaction pharmacodynamique significative, qui semble être amplifiée en présence des facteurs immunitaires (figure 23). Les résultats suggèrent une synergie entre les deux molécules, associée à une réduction importante des paramètres de sensibilité, notamment les EC50, traduisant une amélioration de l'effet parasiticide (tableau 3) (17). Cette synergie, renforcée par la présence du sérum non naïf, met en évidence l'importance d'intégrer les interactions immunité-médicament dans l'évaluation des combinaisons thérapeutiques (115). Ces observations s'inscrivent dans les stratégies modernes de développement d'antipaludiques, où l'association de molécules à mécanismes d'action distincts permet d'optimiser l'efficacité tout en limitant l'émergence de résistances.

6. Implications biologiques et cliniques

Les implications de ces résultats sont multiples et concernent à la fois les aspects fondamentaux et appliqués. Les données obtenues confirment que l'efficacité des antipaludiques dépend non

seulement des propriétés pharmacodynamiques des molécules, mais également de l'état immunitaire de l'hôte, ce qui pourrait expliquer une partie de la variabilité observée dans les réponses cliniques (19,116). Elles mettent également en évidence les limites des modèles *in vitro* conventionnels et soulignent la nécessité de développer des systèmes expérimentaux plus représentatifs des conditions physiologiques, intégrant les interactions entre le parasite, les médicaments et le système immunitaire (115,116). Enfin, ces résultats ouvrent la voie à une optimisation des stratégies thérapeutiques, en tenant compte des interactions entre immunité et médicaments dans la sélection des combinaisons et des schémas posologiques.

7. Limites de l'étude

Malgré l'apport méthodologique de ce travail et l'intérêt de ces résultats, plusieurs limites doivent être considérées. Tout d'abord, le modèle *in vitro* utilisé ne permet pas de reproduire toute la complexité du système immunitaire observée *in vivo*, en particulier les interactions dynamiques entre les différentes populations cellulaires et les médiateurs solubles. De plus, la variabilité interindividuelle des réponses immunitaires n'a pas été entièrement explorée, alors qu'elle pourrait influencer l'intensité des effets antiparasitaires observés.

L'utilisation de souches parasitaires de laboratoire constitue également une limite, dans la mesure où elles ne reflètent pas pleinement la diversité biologique et phénotypique des isolats de terrain. Enfin, les parasites résistants à la cabamiquine n'ont pas été intégrés dans ce modèle expérimental, ce qui limite l'extrapolation des résultats dans un contexte potentiel d'émergence ou de circulation de souches résistantes.

CONCLUSION

VII. CONCLUSION

In vitro, les PBMCs seules non activées ou activées n'ont pas démontré d'effet quantifiable significatif sur la croissance parasitaire. Cependant, sont capable de phagocytose parasitaires. Une absence d'effet antiparasitaire des sera naïfs sur la croissance parasitaire est observée à l'inverse des sera non naïfs démontrant une activité antiparasitaire dose-dépendante sur la croissance de *P. falciparum*. Nos résultats démontrent que l'efficacité antiparasitaire du médicament ne peut être interprétée uniquement qu'à travers l'exposition pharmacologique et la sensibilité intrinsèque du parasite, mais qu'elle dépend fortement du contexte immunitaire humorale et cellulaire combiné de l'hôte.

Perspectives :

Les perspectives de ce travail incluent le développement de modèles expérimentaux plus représentatifs des interactions immunitaires observées *in vivo*, l'évaluation de l'impact de la variabilité immunitaire interindividuelle sur l'efficacité antiparasitaire de la combinaison cabamiquine-pyronaridine, ainsi que la validation des résultats sur des isolats cliniques diversifiés de *Plasmodium falciparum*. Des investigations complémentaires seront également nécessaires pour mieux comprendre les mécanismes immunologiques impliqués dans la synergie entre l'immunité de l'hôte et l'activité antiparasitaire de cette combinaison.

RECOMMANDATIONS

VIII. RECOMMANDATIONS

Au regard de nos résultats nous formulons quelques recommandations :

Aux chercheurs :

- ❖ mener d'autres études de coculture permettant d'imiter les conditions *ex vivo* dans le *in vitro* suivant différents paramètres ;
- ❖ intégrer de nouvelles composantes immunitaires tant cellulaire qu'humorale pour élucider le rôle de l'immunité dans l'efficacité des antipaludiques ;
- ❖ continuer le criblage des molécules antipaludiques dans des systèmes de coculture immunocompétents afin de ne pas sous-estimer ou surestimer l'effet réel des futurs candidats antipaludiques.
- ❖ intégrer dans les futures études des composants immunitaires provenant de patients symptomatiques et asymptomatiques afin de mieux évaluer l'influence des différents profils immunologiques sur l'activité antiparasitaire observée ;
- ❖ évaluer l'efficacité du modèle en utilisant des isolats parasitaires de terrain pour mieux prendre en compte la diversité biologique et phénotypique des parasites circulants ;
- ❖ étudier l'impact potentiel des souches résistantes à la cabamiquine afin de mieux comprendre les interactions entre la résistance parasitaire, l'exposition au médicament et la réponse immunitaire de l'hôte.
- ❖ **Aux firmes pharmaceutiques :** Tenir compte des variabilités interindividuelles lors de la formulation de nouveaux médicaments antipaludiques ;
- ❖ Adapter les posologies aux statuts immunitaires de patients issus de différentes zones de transmission du paludisme.

REFERENCES

IX. REFERENCES

1. Institut Pasteur [Internet]. 2015 [cité 5 déc 2025]. Paludisme. Disponible sur: <https://www.pasteur.fr/fr/centre-medical/fiches-maladies/paludisme>
2. Rapport 2025 sur le paludisme dans le monde [Internet]. [cité 20 déc 2025]. Disponible sur: <https://www.who.int/fr/teams/global-malaria-programme/reports/world-malaria-report-2025>
3. Paludisme [Internet]. [cité 5 déc 2025]. Disponible sur: <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/malaria>
4. Le paludisme au Mali: statistiques | Severe Malaria Observatory [Internet]. [cité 5 déc 2025]. Disponible sur: <https://www.severemalaria.org/fr/pays/mali>
5. Paludisme : la résistance aux médicaments et le sous-financement menacent les progrès accomplis | ONU Info [Internet]. 2025 [cité 20 déc 2025]. Disponible sur: <https://news.un.org/fr/story/2025/12/1158007>
6. Rapport 2025 sur le paludisme dans le monde [Internet]. 2025 [cité 20 déc 2025]. Disponible sur: <https://www.who.int/fr/teams/global-malaria-programme/reports/world-malaria-report-2025>
7. Pablo Y. Rapport 2025 sur le paludisme dans le monde. Target Malaria [Internet]. 4 déc 2025 [cité 5 déc 2025]. Disponible sur: <https://targetmalaria.org/fr/latest/actus/rapport-2025-sur-le-paludisme-dans-le-monde/>
8. Médicaments antipaludiques : mécanismes d'action et résistances. Ma Biologie [Internet]. 31 oct 2025 [cité 5 déc 2025]. Disponible sur: <https://www.mabiologie.com/2025/10/medicaments-antipaludiques-mecanismes.html>
9. Agence nationale de la recherche [Internet]. [cité 5 déc 2025]. Mécanismes d'action et cibles de nouvelles molécules antipaludiques. Disponible sur: <https://anr.fr/Projet-ANR-10-BLAN-0726>
10. 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

Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur l'efficacité des candidats antipaludiques contre *Plasmodium falciparum* (3D7) : cas de la cabamiquine et de la pyronaridine

2015;522(7556):315-20. doi:10.1038/nature14451 PubMed PMID: 26085270; PubMed Central PMCID: PMC4700930.

11. Essais pré-cliniques des futurs médicaments [Internet]. [cité 20 janv 2026]. Disponible sur: <https://pharmacomedicale.org/pharmacologie/developpement-et-suivi-des-medicaments/25-essais-pre-cliniques-des-futurs-medicaments>
12. Plateformes flexibles 3D basées sur des cellules pour la découverte et le profilage de nouveaux médicaments ciblant l'infection hépatique par *plasmodium* | ACS Maladies infectieuses [Internet]. [cité 5 déc 2025]. Disponible sur: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acsinfecdis.9b00144>
13. Sécurité, pharmacocinétique et activité antipaludique du nouvel inhibiteur du facteur d'allongement de translation eucaryote du *plasmodium* eucaryote M5717 : une première étude humaine, randomisée, contrôlée par placebo, double aveugle, à dose croissante unique et étude sur l'infection par volontaires - ScienceDirect [Internet]. [cité 5 déc 2025]. Disponible sur: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1473309921002528?pes=vor&utm_source=acs&getft_integrator=acs
14. Mairet M. Résistance de *Plasmodium falciparum* aux combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine au Cambodge et au Cameroun : épidémiologie, mécanismes et nouvelles options thérapeutiques [Theses] [Internet]. Université Paul Sabatier - Toulouse III; 2020 [cité 20 janv 2026]. Disponible sur: <https://theses.hal.science/tel-03279353>
15. Étude préclinique de combinaison antipaludique de M5717, un inhibiteur du facteur d'élongation 2 de *Plasmodium falciparum*, et de pyronaridine, un inhibiteur de la formation de l'hémozoïne [Internet]. [cité 5 déc 2025]. Disponible sur: https://journals.asm.org/doi/epdf/10.1128/aac.02181-19?src=getftr&utm_source=acs&getft_integrator=acs
16. 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.

Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur l'efficacité des candidats antipaludiques contre *Plasmodium falciparum* (3D7) : cas de la cabamiquine et de la pyronaridine

17. 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;15:7659. doi:10.1038/s41467-024-51994-3 PubMed PMID: 39227370; PubMed Central PMCID: PMC11372057.
18. Djimdé AA, Doumbo OK, Traore O, Guindo AB, Kayentao K, Diourte Y, et al. Clearance of drug-resistant parasites as a model for protective immunity in *Plasmodium falciparum* malaria. Am J Trop Med Hyg. nov 2003;69(5):558-63. PubMed PMID: 14695097.
19. Ataide R, Ashley EA, Powell R, Chan J anne, Malloy MJ, O'Flaherty K, et al. Host immunity to *Plasmodium falciparum* and the assessment of emerging artemisinin resistance in a multinational cohort. Proc Natl Acad Sci U S A. 28 mars 2017;114(13):3515-20. doi:10.1073/pnas.1615875114
20. Généralités sur le paludisme [Internet]. [cité 7 févr 2026]. Disponible sur: <https://www.mcours.net/cours/pdf/kha/khacoursclie35.pdf>
21. Meradji A. Le paludisme [Internet]. [cité 24 juill 2026]. Disponible sur: <https://facmed.univ-constantine3.dz/wp-content/uploads/2026/06/Le-Paludisme-2.pdf>
22. Dépenses de santé nécessaires Coût économique | RBM Partnership to End Malaria [Internet]. 2025 [cité 5 déc 2025]. Disponible sur: <https://www.endmalaria.org/fr/depenses-de-sante-necessaires-cout-economique>
23. Rapport sur la sante dans le monde 2003 [Internet]. [cité 13 juin 2026]. Disponible sur: <https://iris.who.int/server/api/core/bitstreams/340fc32f-9520-4b85-87ef-d254cf791b49/content>
24. Stephane B. Paludisme : épidémiologie et physiopathologie [Internet]. [cité 7 févr 2026]. Disponible sur: https://l3bichat2018-2019.weebly.com/uploads/1/1/2/5/112587633/5a_d1_ue9_cours_21_ron%C3%A9o_4.pdf
25. Pages F, Orlandi-Pradines E, Corbel V. Vecteurs du paludisme : biologie, diversité, contrôle et protection individuelle. Médecine Mal Infect. 1 mars 2007;37(3):153-61. doi:10.1016/j.medmal.2006.10.009

Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur l'efficacité des candidats antipaludiques contre *Plasmodium falciparum* (3D7) : cas de la cabamiquine et de la pyronaridine

26. Argy N, Houzé S. Épidémiologie et cycle parasitaire d'un fléau mondial, le paludisme. Actual Pharm. 1 mars 2018;57(574):18-20. doi:10.1016/j.actpha.2018.01.004
27. Oléfongo D, Noel DD, Rebecca EAE, Sonia KNB, Joseph DA. Performance Assessment of Malaria Conventional and Molecular Diagnostics Processes by a Computational Statistical Approach. Am J Microbiol Res. 21 déc 2023;11(4):106-18. doi:10.12691/ajmr-11-4-3
28. Goutte epaisse (diagnostic du paludisme) [Internet]. [cité 13 juin 2026]. Disponible sur: https://www.pharmacie-decaroli.com/sites/pharmacenter.maneki-web.com/files/dossier_examens_biologie__goutte.pdf
29. Billo MA, Diakité M, Dolo A, Diallo M, Poudiougou B, Diawara SI, et al. Inter-observer agreement according to malaria parasite density. Malar J. 22 sept 2013;12:335. doi:10.1186/1475-2875-12-335 PubMed PMID: 24053719; PubMed Central PMCID: PMC3849530.
30. Diagnostic biologique du paludisme [Internet]. [cité 13 juin 2026]. Disponible sur: https://infectiologie.org.tn/pdf_ppt_docs/cmi/sousse_01032012/diag_bio_palu.pdf
31. Goutte epaisse et frottis sanguin [Internet]. 2025 [cité 20 déc 2025]. Disponible sur: <https://fr.scribd.com/presentation/458517883/Goutte-Epaisse-Et-Frottis-Sanguin>
32. Khaled H. Les techniques immunologiques avec marquage [Internet]. [cité 24 juill 2026]. Disponible sur: <https://facmed.univ-constantine3.dz/wp-content/uploads/2025/02/Techniques-immunologiques-avec-Marquage.pdf>
33. Menir O. LeMedecin.fr - Guide Médical Complet [Internet]. 2026 [cité 24 juill 2026]. Tests de Diagnostic Rapide (TDR) : guide 2026. Disponible sur: <https://lemedecin.fr/medical/pathologies/tests-de-diagnostic-rapide.html>
34. OMS Mali. Rapport annuel 2018 [Internet]. [cité 13 juin 2026]. Disponible sur: <https://www.afro.who.int/sites/default/files/2019-01/OMS%20MALI%20Rapport%20annuel%202018.pdf>

Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur l'efficacité des candidats antipaludiques contre *Plasmodium falciparum* (3D7) : cas de la cabamiquine et de la pyronaridine

35. Lemée L, Gueudin M, Pillet S. Principe et limites des nouveaux outils de biologie moléculaire dans le diagnostic microbiologique. Rev Francoph Lab. 1 avr 2022;2022(541):28-42. doi:10.1016/S1773-035X(22)00134-4
36. Boudin C, Boudon D, Devoucoux R. Immunologie du paludisme : les relations hôte-parasite dans l'infection paludéenne.
37. Baird JK, Purnomo null, Basri H, Bangs MJ, Andersen EM, Jones TR, et al. Age-specific prevalence of *Plasmodium falciparum* among six populations with limited histories of exposure to endemic malaria. Am J Trop Med Hyg. déc 1993;49(6):707-19. doi:10.4269/ajtmh.1993.49.707 PubMed PMID: 8279639.
38. Gonçalves BP, Huang CY, Morrison R, Holte S, Kabyemela E, Prevots DR, et al. Parasite Burden and Severity of Malaria in Tanzanian Children. N Engl J Med. 8 mai 2014;370(19):1799-808. doi:10.1056/NEJMoa1303944
39. Dondorp AM, Lee SJ, Faiz MA, Mishra S, Price R, Tjitra E, et al. The relationship between age and the manifestations of and mortality associated with severe malaria. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. 15 juill 2008;47(2):151-7. doi:10.1086/589287 PubMed PMID: 18533842.
40. Ouedraogo AL. Evaluation des facteurs influençant l'immunité bloquant la transmission du paludisme à *Plasmodium falciparum* en zone rurale du Burkina Faso. Université de Ouagadougou; 2008.
41. Young JF, Ballou WR, Hockmeyer WT. Developing a human malaria sporozoite vaccine. Microb Pathog. avr 1987;2(4):237-40. doi:10.1016/0882-4010(87)90121-5
42. Druilhe P, Bouharoun-Tayoun H. Natural immunities. Res Immunol. 1991;142(8):637-43. doi:10.1016/0923-2494(91)90141-5
43. Cytophilic Immunoglobulin Responses to *Plasmodium falciparum* Glutamate-Rich Protein Are Correlated with Protection against Clinical Malaria in Dielmo, Senegal | Infection and Immunity [Internet]. [cité 13 juin 2026]. Disponible sur: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/iai.68.5.2617-2620.2000?>

44. Soe S, Theisen M, Roussilhon C, Aye KS, Druilhe P. Association between protection against clinical malaria and antibodies to merozoite surface antigens in an area of hyperendemicity in Myanmar: complementarity between responses to merozoite surface protein 3 and the 220-kilodalton glutamate-rich protein. *Infect Immun.* janv 2004;72(1):247-52. doi:10.1128/IAI.72.1.247-252.2004 PubMed PMID: 14688102; PubMed Central PMCID: PMC343946.
45. Smalley ME, Brown J. *Plasmodium falciparum* gametocytogenesis stimulated by lymphocytes and serum from infected Gambian children. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1 janv 1981;75(2):316-7. doi:10.1016/0035-9203(81)90348-5
46. Gounoué R, Goff GL, Mulder B, Roeffen W, Verhave JP, Boudin C. Anticorps anti-PFS48/45 dans les sera de deux populations vivant en zone d'endémie palustre de niveaux de transmission différents.
47. Institut Pasteur [Internet]. 2016 [cité 23 janv 2026]. Paludisme : une réponse immunitaire efficace et durable grâce à un parasite muté. Disponible sur: <https://www.pasteur.fr/fr/paludisme-reponse-immunitaire-efficace-durable-grace-parasite-mute>
48. Rottmann M, McNamara C, Yeung BKS, Lee MCS, Zou B, Russell B, et al. Spiroindolones, a potent compound class 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.
49. Case W M, CS Lee M, Chek Shik L, Siaou Hoi L, Roland J, Advait N. Targeting *Plasmodium* PI(4)K to eliminate malaria | *Nature* [Internet]. 2013 [cité 1 févr 2026]. Disponible sur: <https://www.nature.com/articles/nature12782>
50. Organisation mondiale de la santé, éditeur. Stratégie technique mondiale de lutte contre le paludisme: 2016-2030. Genève: Organisation mondiale de la santé; 2015.
51. PNLP-Mali. Stratégie nationale de lutte contre le paludisme [Internet]. 21 déc 2025 [cité 21 déc 2025]. Disponible sur: <https://pnlp.ml/strategie/>

Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur l'efficacité des candidats antipaludiques contre *Plasmodium falciparum* (3D7) : cas de la cabamiquine et de la pyronaridine

52. Lignes directrices de l'OMS sur le paludisme [Internet]. [cité 21 déc 2025]. Disponible sur: <https://www.who.int/fr/publications/i/item/guidelines-for-malaria>
53. WHO. WHO policy brief for the implementation of intermittent preventive treatment of malaria in pregnancy using sulfadoxine-pyrimethamine (IPTp-SP) [Internet]. [cité 23 juill 2026]. Disponible sur: <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-HTM-GMP-2014.4>
54. Plan strategique de lutte contre le paludisme 2013-2017 [Internet]. [cité 13 juin 2026]. Disponible sur: https://www.severemalaria.org/sites/default/files/content/document/Mali%20malaria%20PStrag%202013-17PNLP_0.pdf
55. 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
56. WHO. Lignes directrices de l'OMS sur le paludisme. 2021:225.
57. Vaccins antipaludiques (RTS, S et R21) [Internet]. [cité 21 déc 2025]. Disponible sur: <https://www.who.int/fr/news-room/questions-and-answers/item/q-a-on-rt-s-malaria-vaccine>
58. Mura M. Vaccination contre le paludisme. MTSI. 3 mai 2023;3(2). doi:10.48327/mtsi.v3i2.2023.325
59. Ambroise-Thomas P. [Antimalarial vaccination]. Sante Montrouge Fr. 1995;5(6):411-5. PubMed PMID: 8784551.
60. Institut Pasteur [Internet]. 2017 [cité 21 déc 2025]. Vaccin contre le paludisme - Existe-t-il un vaccin contre le paludisme ? Disponible sur: <https://www.pasteur.fr/fr/vaccin-contre-paludisme-existe-t-il-vaccin-contre-paludisme>
61. Makadji M. Le Mali Déploie Le Vaccin Antipaludique R21/Matrix-M : Un Espoir Crucial Pour La Santé Infantile [Internet]. 29 avr 2025 [cité 21 déc 2025]. Disponible sur: <https://maliactu.net/le-mali-deploie-le-vaccin-antipaludique-r21-matrix-m-un-espoir-crucial-pour-la-sante-infantile/>

Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur l'efficacité des candidats antipaludiques contre *Plasmodium falciparum* (3D7) : cas de la cabamiquine et de la pyronaridine

62. Lutte contre le paludisme : vers le développement d'un premier vaccin multistades de contrôle et d'élimination du paludisme | Site Web IRD [Internet]. [cité 21 déc 2025]. Disponible sur: <https://www.ird.fr/lutte-contre-le-paludisme-vers-le-developpement-dun-premier-vaccin-multistades-de-controle-et>
63. Antipaludéens : Les points essentiels [Internet]. 2025 [cité 21 déc 2025]. Disponible sur: <https://pharmacomedicale.org/medicaments/par-specialites/item/antipaludeens-les-points-essentiels>
64. Witkowski B, Amaratunga C, Khim N, Sreng S, Chim P, Kim S, et al. Novel phenotypic assays for the detection of artemisinin-resistant *Plasmodium falciparum* malaria in Cambodia: in-vitro and ex-vivo drug-response studies. *Lancet Infect Dis*. déc 2013;13(12):1043-9. doi:10.1016/S1473-3099(13)70252-4 PubMed PMID: 24035558; PubMed Central PMCID: PMC5015432.
65. Classification des antipaludiques [Internet]. 2025 [cité 21 déc 2025]. Disponible sur: <https://123dok.net/article/classification-antipaludiques-g%C3%A9n%C3%A9ralit%C3%A9s-d%C3%A9finitions.y8g80rkr>
66. Traitements antipaludiques et résistances émergentes. *Ma Biologie* [Internet]. 21 août 2025 [cité 21 déc 2025]. Disponible sur: <https://www.mabiologie.com/2025/08/traitements-antipaludiques-et.html>
67. White NJ. Antimalarial drug resistance. *J Clin Invest*. avr 2004;113(8):1084-92. doi:10.1172/JCI21682 PubMed PMID: 15085184; PubMed Central PMCID: PMC385418.
68. Global Malaria Programme [Internet]. [cité 21 déc 2025]. Disponible sur: <https://www.who.int/teams/global-malaria-programme/case-management/drug-efficacy-and-resistance>
69. The prevention and treatment of *Plasmodium vivax* malaria | *PLOS Medicine* [Internet]. [cité 21 déc 2025]. Disponible sur: <https://journals.plos.org/plosmedicine/article?id=10.1371/journal.pmed.1003561>

70. FDA Drug Safety Communication: FDA approves label changes for antimalarial drug mefloquine hydrochloride due to risk of serious psychiatric and nerve side effects [Internet]. [cité 13 juin 2026]. Disponible sur: <https://www.fda.gov/media/86285/download>
71. González R, Hellgren U, Greenwood B, Menéndez C. Mefloquine safety and tolerability in pregnancy: a systematic literature review. *Malar J.* 28 févr 2014;13:75. doi:10.1186/1475-2875-13-75 PubMed PMID: 24581338; PubMed Central PMCID: PMC3942617.
72. Artemisinin resistance and artemisinin-based combination therapy efficacy (December 2018) [Internet]. [cité 21 déc 2025]. Disponible sur: <https://www.who.int/docs/default-source/documents/publications/gmp/who-cds-gmp-2018-26-eng.pdf>
73. Ashley EA, Dhorda M, Fairhurst RM, Amaratunga C, Lim P, Suon S, et al. Spread of artemisinin resistance in *Plasmodium falciparum* malaria. *N Engl J Med.* 31 juill 2014;371(5):411-23. doi:10.1056/NEJMoa1314981 PubMed PMID: 25075834; PubMed Central PMCID: PMC4143591.
74. Artésunate versus quinine pour un paludisme *falciparum* sévère - The Lancet [Internet]. [cité 21 déc 2025]. Disponible sur: [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(06\)67957-9/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(06)67957-9/fulltext)
75. Utilisation de l'artésunate-pyronaridine pour le traitement du paludisme non compliqué. Rapport who/htm/gmp/2019.13.
76. Atovaquone and proguanil hydrochloride for treatment of malaria - PubMed [Internet]. [cité 21 déc 2025]. Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23573548/>
77. Gregson A, Plowe CV. Mechanisms of resistance of malaria parasites to antifolates. *Pharmacol Rev.* mars 2005;57(1):117-45. doi:10.1124/pr.57.1.4 PubMed PMID: 15734729.
78. Van der Velden M, Bilos A, Van den Heuvel JJMW, Rijpma SR, Hurkmans EGE, Sauerwein RW, et al. Proguanil and cycloguanil are organic cation transporter and multidrug and toxin extrusion substrates. *Malar J.* 23 oct 2017;16:422.

Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur l'efficacité des candidats antipaludiques contre *Plasmodium falciparum* (3D7) : cas de la cabamiquine et de la pyronaridine

doi:10.1186/s12936-017-2062-y PubMed PMID: 29061131; PubMed Central PMCID: PMC5654082.

79. Who Evidence Review Group. Intermittent preventive treatment of malaria in pregnancy with sulfadoxine/pyrimethamine [Internet]. juill 2012 [cité 13 juin 2026]. Disponible sur: https://cdn.who.int/media/docs/default-source/malaria/mpac-documentation/mpac-2012-18-mip_erg_sep2012.pdf
80. Doxycycline for Malaria Chemoprophylaxis and Treatment: Report from the CDC Expert Meeting on Malaria Chemoprophylaxis - PMC [Internet]. [cité 21 déc 2025]. Disponible sur: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3062442/>
81. Testing for G6PD deficiency for safe use of primaquine in radical cure of *P. vivax* and *P. ovale* [Internet]. [cité 13 juin 2026]. Disponible sur: https://www.who.int/docs/default-source/malaria/who-testing-for-g6pd-2016-presentation.pdf?sfvrsn=78525206_2
82. A LC, Mvg L, Tt H, Id V, C NL, Cs C, et al. Tafenoquine versus Primaquine to Prevent Relapse of *Plasmodium vivax* Malaria. N Engl J Med. 17 janv 2019;380(3). doi:10.1056/NEJMoa1802537 PubMed PMID: 30650326.
83. Obonyo CO, Juma EA. Clindamycin plus quinine for treating uncomplicated *falciparum* malaria: a systematic review and meta-analysis. Malar J. 4 janv 2012;11:2. doi:10.1186/1475-2875-11-2 PubMed PMID: 22217214; PubMed Central PMCID: PMC3280165.
84. Guidelines for the treatment of malaria - Third edition [Internet]. [cité 23 déc 2025]. Disponible sur: <https://wkc.who.int/resources/publications/i/item/9789241549127>
85. Thera MA, Sehdev PS, Coulibaly D, Traore K, Garba MN, Cissoko Y, et al. Impact of trimethoprim-sulfamethoxazole prophylaxis on *falciparum* malaria infection and disease. J Infect Dis. 15 nov 2005;192(10):1823-9. doi:10.1086/498249 PubMed PMID: 16235184; PubMed Central PMCID: PMC2740817.
86. Samaké AK. Evaluation de la sensibilité ex-vivo de *Plasmodium falciparum* et *Plasmodium malariae* de M5717 et sa combinaison avec la Pyronaridine sur le

Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur l'efficacité des candidats antipaludiques contre *Plasmodium falciparum* (3D7) : cas de la cabamiquine et de la pyronaridine

Plasmodium falciparum au Mali. [Thesis] [Internet]. USTTB; 2024 [cité 7 févr 2026].

Disponible sur: <https://www.bibliosante.ml/handle/123456789/13949>

87. Croft SL, Duparc S, Arbe-Barnes SJ, Craft JC, Shin CS, Fleckenstein L, et al. Review of pyronaridine anti-malarial properties and product characteristics. *Malar J.* 9 août 2012;11:270. doi:10.1186/1475-2875-11-270 PubMed PMID: 22877082; PubMed Central PMCID: PMC3483207.
88. Ayyoub A, Methaneethorn J, Ramharter M, Djimde AA, Tekete M, Duparc S, et al. Population Pharmacokinetics of Pyronaridine in Pediatric Malaria Patients. *Antimicrob Agents Chemother.* 14 déc 2015;60(3):1450-8. doi:10.1128/AAC.02004-15 PubMed PMID: 26666916; PubMed Central PMCID: PMC4775925.
89. Fontinha D, Arez F, Gal IR, Nogueira G, Moita D, Baeurle THH, et al. Pre-erythrocytic Activity of M5717 in Monotherapy and Combination in Preclinical *Plasmodium* Infection Models. *ACS Infect Dis.* 8 avr 2022;8(4):721-7. doi:10.1021/acsinfecdis.1c00640
90. 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.* 10 févr 2020. Located at: 1752 N St., N.W., Washington, DC. doi:10.1128/aac.02181-19
91. 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.
92. Modélisation pharmacocinétique et pharmacodynamique (PK/PD) - MATLAB & Simulink [Internet]. [cité 26 janv 2026]. Disponible sur: <https://fr.mathworks.com/discovery/pharmacokinetic.html>
93. McGraw Hill Medical [Internet]. [cité 13 juin 2026]. Clinical Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Concepts. Disponible sur: <https://accesspharmacy.mhmedical.com/content.aspx?sectionid=74719450&bookid=1374>

Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur l'efficacité des candidats antipaludiques contre *Plasmodium falciparum* (3D7) : cas de la cabamiquine et de la pyronaridine

94. Andrews KA, Wesche D, McCarthy J, Möhrle JJ, Tarning J, Phillips L, et al. Model-Informed Drug Development for Malaria Therapeutics. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2018;58:567-82. doi:10.1146/annurev-pharmtox-010715-103429 PubMed PMID: 28992431; PubMed Central PMCID: PMC7198115.
95. Hughes E, Wallender E, Mohamed Ali A, Jagannathan P, Savic RM. Malaria PK/PD and the Role Pharmacometrics Can Play in the Global Health Arena: Malaria Treatment Regimens for Vulnerable Populations. *Clin Pharmacol Ther*. oct 2021;110(4):926-40. doi:10.1002/cpt.2238 PubMed PMID: 33763871; PubMed Central PMCID: PMC8518425.
96. Sogore F. Etude de la prévalence de *Plasmodium malariae* et de sa susceptibilité *ex-vivo* aux molécules à activité antiplasmodiale à Faladjé, Mali. [Bamako]: USTTB; 2021.
97. Schuster FL. Cultivation of *plasmodium spp*. *Clin Microbiol Rev*. juill 2002;15(3):355-64. doi:10.1128/CMR.15.3.355-364.2002 PubMed PMID: 12097244; PubMed Central PMCID: PMC118084.
98. Koné J. Culture des gamétocytes de *P. falciparum* et infection des moustiques au laboratoire d'immunogénétique du MRTC/FMOS-FAPH/USTTB: effet de l'HBs et de l'HBC. [Bamako]: USTTB; 2021.
99. Djimdé AA, Kirkman L, Kassambara L, Diallo M, Plowe CV, Wellems TE, et al. Culture *in vitro* d'isolats de terrain de *Plasmodium falciparum* au Mali.
100. 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
101. La cytométrie de flux [Internet]. [cité 13 juin 2026]. Disponible sur: http://www.ured-douala.com/download/COURS_DE_CYTOMETRIE_PARTIE_III.pdf
102. BioRender: Scientific Figure and Illustration Software [Internet]. [cité 23 mai 2026]. Disponible sur: <https://www.biorender.com/>
103. Admou B. Applications de la cytométrie en flux en biologie médicale. Vol. 9. 2020;9.

Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur l'efficacité des candidats antipaludiques contre *Plasmodium falciparum* (3D7) : cas de la cabamiquine et de la pyronaridine

104. Applications et méthodologies de la cytométrie de flux [Internet]. [cité 13 juin 2026]. Disponible sur: http://www.ured-douala.com/download/COURS_DE_CYTOMETRIE_PARTIE_IV.pdf
105. Historique du Laboratoire – PMRTC [Internet]. [cité 23 déc 2025]. Disponible sur: <https://www.mrtc-parasito.org/PMRTC/fr/historique-du-laboratoire/>
106. Trypan Blue Exclusion Test of Cell Viability - Strober - 2015 - Current Protocols in Immunology - Wiley Online Library [Internet]. [cité 23 mai 2026]. Disponible sur: <https://currentprotocols.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/0471142735.ima03bs111>
107. Dembele L, Ang X, Chavchich M, Bonamy GMC, Selva JJ, Lim MYX, et al. The *Plasmodium* PI(4)K inhibitor KDU691 selectively inhibits dihydroartemisinin-pretreated *Plasmodium falciparum* ring-stage parasites. *Sci Rep*. 24 mai 2017;7(1):2325. doi:10.1038/s41598-017-02440-6
108. A general pharmacodynamic interaction model identifies perpetrators and victims in drug interactions | Nature Communications [Internet]. [cité 13 juin 2026]. Disponible sur: <https://www.nature.com/articles/s41467-017-01929-y>
109. Control of *Plasmodium falciparum* erythrocytic cycle: $\gamma\delta$ T cells target the red blood cell-invasive merozoites | Blood | American Society of Hematology [Internet]. [cité 13 avr 2026]. Disponible sur: <https://ashpublications.org/blood/article/118/26/6952/29457/Control-of-Plasmodium-falciparum-erythrocytic>
110. Theander TG, Andersen BJ, Pedersen BK, Jepsen S, Bygbjerg IC, Hviid L, et al. Cell-Mediated Immunity to *Plasmodium falciparum* Infection: Evidence against the Involvement of Cytotoxic Lymphocytes. *Scand J Immunol*. juill 1988;28(1):105-11. doi:10.1111/j.1365-3083.1988.tb02421.x PubMed PMID: 3041559.
111. Gysin J. Mechanisms of protective immunity against asexual blood stages of *Plasmodium falciparum* in the experimental host Saimiri. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1992;87:407-12. doi:<https://doi.org/10.1590/S0074-02761992000700069>

Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur l'efficacité des candidats antipaludiques contre *Plasmodium falciparum* (3D7) : cas de la cabamiquine et de la pyronaridine

112. Binh VQ, Luty AJF, Kremsner PG. Differential Effects of Human Serum and Cells on the Growth of *Plasmodium falciparum* Adapted to Serum-Free *in Vitro* Culture Conditions [Internet]. 1 nov 1997. doi:10.4269/ajtmh.1997.57.594
113. Orlov M, Vaida F, Finney OC, Smith DM, Talley AK, Wang R, et al. *P. falciparum* Enhances HIV Replication in an Experimental Malaria Challenge System. PLOS ONE. 26 juin 2012;7(6):e39000. doi:10.1371/journal.pone.0039000
114. Rogerson SJ, Wijesinghe RS, Meshnick SR. Host immunity as a determinant of treatment outcome in *Plasmodium falciparum* malaria. Lancet Infect Dis. 1 janv 2010;10(1):51-9. doi:10.1016/S1473-3099(09)70322-6 PubMed PMID: 20129149.
115. Monatrakul P, Mungthin M, Dondorp AM, Krudsood S, Udomsangpetch R, Wilairatana P, et al. Modulating effects of plasma containing anti-malarial antibodies on *in vitro* anti-malarial drug susceptibility in *Plasmodium falciparum*. Malar J. 16 nov 2010;9(1):326. doi:10.1186/1475-2875-9-326
116. Host immunity as a determinant of treatment outcome in *Plasmodium falciparum* malaria - The Lancet Infectious Diseases [Internet]. [cité 14 avr 2026]. Disponible sur: [https://www.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099\(09\)70322-6/abstract](https://www.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099(09)70322-6/abstract)

ANNEXE

X. ANNEXE

Liste des matériels et consommables :

1. Flacon T25 (430372 Bouchon style phénolique)
2. Centrifugeuse (GT1R Centrifugeuse Fisher Brand, Cust ref : 15868722)
3. Incubateur (Thermoscientific, Heracell 150i)
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 à flux laminaire (TELSTAR Bio-II-A)
12. Tube CryoPure 1 (réf 72 379)
13. Embouts de barrière à filtre 10µ, 200 µL et 1000 µL (Genesee Scientific : 800.789.5550)
14. Essuie-tout
15. Alcool 70°C
16. Eau de Javel
17. Colonne MAC
18. BD FacSymphony A3 (SN: R660937Q6005)
19. Blouse

Liste des marqueurs (colorants) utilisés :

❖ SYBR Green (SG) :

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

❖ MitoTracker (MT) :

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

FICHE SIGNALETIQUE

Nom : DIALLO

Prénom : Alhassane B.

Numéro matricule : ML2016159626ML

Téléphone : +22372455728

Email : alhassane.diallo@icermali.org / alhassaned703@gmail.com

Titre de la thèse : Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur l'efficacité des candidats antipaludiques contre *Plasmodium falciparum* (3D7) : cas de la cabamiquine et de la pyronaridine

Nationalité : Malienne

Ville de soutenance : Bamako

Année universitaire : 2024-2025

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

Secteur d'intérêt : Parasitologie, Biologie cellulaire, Immunologie

Résumé :

Introduction

Le paludisme demeure une maladie parasitaire majeure à l'échelle mondiale, dont le contrôle est de plus en plus compromis par l'émergence et la diffusion de résistances aux antipaludiques. Malgré les progrès réalisés, l'évaluation de l'efficacité des nouveaux candidats thérapeutiques repose encore largement sur des critères classiques pouvant conduire à une surestimation de leur activité ou à une détection tardive de résistances émergentes. Dans ce contexte, une meilleure intégration des approches expérimentales et analytiques est nécessaire afin d'améliorer la prédictivité des évaluations précliniques et cliniques.

Méthodologie

Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur l'efficacité des candidats antipaludiques contre *Plasmodium falciparum* (3D7) : cas de la cabamiquine et de la pyronaridine

Les parasites ont été cultivés dans des conditions standardisées (37°C, atmosphère contrôlée), puis synchronisés au stade anneau (parasitémie à 0,5%). Des érythrocytes humains, des PBMCs (cellules mononucléées du sang périphérique) et des sera (naïfs et non naïfs) ont été utilisés.

Des tests de coculture ont été réalisés dans des plaques 96 puits en combinant : des parasites de *P. falciparum* (3D7), des PBMCs, du sérum humain, et les médicaments (cabamiquine et pyronaridine, seuls ou en combinaison). La cytométrie en flux (SYBR Green / Mitotracker) pour la quantification des parasites viables a été utilisée et les données ont été analysées par modélisation pharmacodynamique (NONMEM)

Résultats

Les résultats de cette étude mettent en évidence clairement les effets immunitaires des effets des médicaments pour une évaluation rigoureuse des interactions immunité-médicament. Les sera naïfs n'ont aucun effet sur la croissance parasitaire, les sera non naïfs (exposés au paludisme) inhibent la croissance parasitaire et cet effet est dose-dépendant.

Les PBMCs seules (activées ou non) n'inhibent pas la croissance parasitaire cependant une phagocytose des hématies infectées et une accumulation de dépôts d'hémozoïne est observée montrant une activité immunitaire mais insuffisante seule.

L'association PBMCs+sérum améliore fortement l'effet antiparasitaire même à des concentrations sous-optimales de sérum, un effet apparaît en présence de PBMCs impliquant une synergie entre immunité humorale et cellulaire.

La combinaison cabamiquine + pyronaridine montre une interaction synergique même des concentrations très faibles. En présence de sérum non naïf une forte diminution de l'EC50 de la cabamiquine (~88 %) est observée et cet effet est encore plus amplifié lorsque les PBMCs sont associées démontrant que l'immunité joue un rôle important dans l'efficacité des antipaludiques

Conclusion

Nos résultats démontrent que l'efficacité antiparasitaire du médicament ne peut être interprétée uniquement qu'à travers l'exposition pharmacologique et la sensibilité intrinsèque du parasite, mais qu'elle dépend fortement du contexte immunitaire de l'hôte.

IDENTIFICATION SHEET

Name: DIALLO

First name: Alhassane B.

Matricule number: ML2016159626ML

Phone: +22372455728

Email: alhassane.diallo@icermali.org / alhassaned703@gmail.com

Thesis title: *In vitro* evaluation of host immune factors on the efficacy of antimalarial candidates against *Plasmodium falciparum* (3D7): case of cabamiquine and pyronaridine

Nationality: Malian

City of defense: Bamako

Academic year: 2024-2025

Place of submission: Library of the Faculty of Medicine and Odontostomatology (FMOS) and the Faculty of Pharmacy (FAPH)

Field of interest: Parasitology, Cellular Biology, Immunology

Abstract:

Introduction

Malaria remains a major parasitic disease worldwide, the control of which is increasingly compromised by the emergence and spread of resistance to antimalarial drugs. Despite progress made, the evaluation of the efficacy of new therapeutic candidates still largely relies on conventional criteria, overestimation of their activity or a delayed detection of emerging resistance. In this context, better integration of experimental and analytical approaches is necessary to improve the predictiveness of preclinical and clinical evaluations.

Methodology

Parasites were cultured under standardized conditions (37°C, controlled atmosphere) and synchronized at the ring stage with an initial parasitemia of 0.5%. Human erythrocytes, peripheral blood mononuclear cells (PBMCs), and sera (naïve and non-naïve) were used.

Évaluation *in vitro* des facteurs immuns de l'hôte sur l'efficacité des candidats antipaludiques contre *Plasmodium falciparum* (3D7) : cas de la cabamiquine et de la pyronaridine

Coculture assays were performed in 96-well plates by combining *Plasmodium falciparum* (3D7) parasites, PBMCs, human serum, and antimalarial drugs (cabamiquine and pyronaridine), administered either alone or in combination.

Viable parasite quantification was carried out using flow cytometry (SYBR Green / MitoTracker), and the resulting data were analyzed through pharmacodynamic modeling (NONMEM).

Results

The results of this study clearly highlight the importance of host immune factors in modulating drug activity, allowing a more rigorous assessment of immunity–drug interactions.

Naïve sera showed no effect on parasite growth, whereas non-naïve sera (from malaria-exposed individuals) significantly inhibited *P. falciparum* growth in a concentration-dependent manner.

PBMCs alone, whether activated or not, did not inhibit parasite growth. However, functional activity was observed, including phagocytosis of infected erythrocytes and accumulation of hemozoin deposits, indicating the presence of an immune response that is insufficient on its own to control parasitemia.

The combination of PBMCs and serum markedly enhanced the antiparasitic effect. Even at suboptimal serum concentrations, antiparasitic activity emerged in the presence of PBMCs, suggesting a synergistic interaction between humoral and cellular immunity.

Furthermore, the cabamiquine–pyronaridine combination exhibited a synergistic interaction, even at very low concentrations. In the presence of non-naïve serum, a substantial reduction in the EC₅₀ of cabamiquine (~88%) was observed, an effect that was further amplified when PBMCs were added. These findings demonstrate that host immunity plays a critical role in modulating antimalarial drug efficacy.

Conclusion

Our findings demonstrate that antiparasitic drug efficacy cannot be interpreted solely based on pharmacological exposure and intrinsic parasite susceptibility, but is strongly influenced by the host immune context.

SERMENT DE GALIEN

En présence des maîtres de la faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples, je jure :

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 !