

MINISTRE DES ENSEIGNEMENTS  
SECONDAIRE, SUPERIEUR ET DE LA

REPUBLIQUE DU MALI

RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Un Peuple – Un But – Une Foi



FACULTE DE MEDECINE, DE PHARMACIE ET D'ODONTO – STOMATOLOGIE

ANNEE UNIVERSITAIRE : 2008-2009

N°...../

TITRE :

Intérêt en Santé Publique de l'utilisation des  
combinaisons thérapeutique à base d'Artémisinine dans  
le traitement de l'accès Palustre Simple au Mali.

**THESE**

Présentée et soutenue publiquement le .... / .... /2009

Devant la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie

Par Mr. AMADOU TOGO

Pour obtenir le Grade de Docteur en Médecine

(DIPLOME D'ETAT)

**JURY**

PRESIDENT :

Pr. Hamar A. TRAORE

MEMBRE :

Dr. Klenon TRAORE

CO-DIRECTEUR DE THESE :

Dr. Abdoulaye DJIMDE

DIRECTEUR DE THESE :

Pr. Ogobara K. DOUMBO

**Dédicaces et remerciements :**

**Dédicace :**

Je dédie ce travail :

**A la grâce du bon Dieu**

**A la mémoire de mon père feu Hamidou Togo :**

Nous ne saurions jamais te remercier assez pour tes conseils pratiques, et ta bienveillance. Ton soutien tant moral que matériel ne nous a jamais fait défaut. Tu as toujours été soucieux de l'avenir de tes enfants. Tu as cultivé en nous le travail honnête et bien fait, le respect des autres, la modestie et le courage. Tu n'as ménagé aucun effort pour que nous soyons ce que nous sommes aujourd'hui. Malgré ces énormes efforts que tu as consentis pour notre réussite, tu n'as pas pu récolter les fruits de la graine que tu as semée. Que Dieu t'accorde sa miséricorde. Dors en paix.

**A la mémoire de ma mère feu Yadiko Togo :**

Tu as été arrachée très tôt à notre affection. Malgré ce petit temps que nous avons vécu ensemble tu as été une mère exemplaire. Nous continuerons à prier pour toi. Dors en paix maman.

**Remerciements :**

**A mes mamans :** Assétou Togo et Fatoumata Guindo

Vous avez été sans faute pour notre éducation, nous n'avons jamais senti l'absence de notre mère. Nous ne saurions vous remercier pour l'amour que vous portiez à vos enfants que nous sommes. Que Dieu vous donne longue vie.

**A Ma grand-mère : Yakoundiè Togo**

Tu es plus qu'une grand-mère, tu es notre maman.

Que Dieu te donne longue vie pour que nous bénéficions encore de tes tendresses.

Trouve ici mes sincères remerciements.

**A mes oncles et tantes :**

C'est l'occasion pour nous, de vous remercier pour tous ce que vous avez fait. Trouvez ici nos sincères remerciements

**A mes frères et sœurs**

Aucun mot ne pourra exprimer notre amour pour vous. Nous vous disons merci !

Que Dieu renforce nos liens de sang.

**A Toute la population de Kountogoro et de Baranionlé**

Merci pour avoir contribué à notre réussite. Retrouvez ici toute notre reconnaissance.

**Au Pr. Ogobara Doumbo**

Pr. vous êtes plus que notre tuteur, vous êtes pour nous comme un père. Vous nous avez accueillis comme votre propre fils, sans vous l'école de médecine serait une histoire pour nous. Cher papa nous ne saurions jamais exprimer avec exactitude ce que nous ressentons pour vous. Soyez rassuré de notre profonde gratitude.

**A la famille Doumbo à Sirakoro et à Faladiè**

Merci pour tous ce que vous avez fait pour nous. Ce travail est le votre.

**A la famille Djimé :**

Merci pour la confiance que vous avez porté en nous, en m'accordant la main de votre fille et sœur. Nous vous en sommes très reconnaissants.

**A la famille Togo à Koporo Pen, Pel et Bamako, Dama à Koro, Guindo à Sévaré :**

Merci pour votre soutien à la réalisation de ce travail.

**A notre équipe de Bougoula-Hameau :**

**Au Dr Bakary Fofana :**

Vous avez été pour nous un grand frère, mais aussi un ami et collaborateur sincère. Votre contribution pour ce travail est inestimable. Merci encore pour votre soutien.

**Au Dr Bakary Sidibé :**

Nous avons beaucoup apprécié de travailler à vos côtés. Merci pour vos conseils grand frère.

**A Mr Demba Dembé**

Nous avons appris beaucoup de chose à vos côtés particulièrement l'initiation à la P C R. Merci pour nous avoir supportés pendant cette période très délicate. Trouvez ici nos sincères remerciements.

**A Mr Sékou Touré**

Merci pour les efforts que vous avez consenti pour la réalisation de ce travail.

**Aux guides : Boureima Diarra, Siaka Traoré, Karim Traoré dit Dougoutigui.**

Vous avez toujours honoré notre sollicitation, votre dévouement nous a beaucoup aidés dans la réalisation de ce travail. Vous avez été des bons facilitateurs. Merci encore pour votre franche collaboration.

**A tous le personnel du centre de santé de Bougoula-Hameau :**

Merci pour votre soutien moral.

**A toute la population de Bougoula-Hameau**

Merci pour votre confiance et votre disponibilité.

**A tous les paludéens**

Nous vous souhaitons prompt rétablissement.

**A tous mes collègues du DEAP/MRTC :**

Entre nous se sont créés une amitié et une véritable complicité dans le cadre du travail. Que DIEU vous donne courage et succès.

**A tous les travailleurs du DEAP/MRTC :**

Qui de près ou de loin ont participé à la réalisation de ce travail.

**Au Dr Issaka Sagara :**

Nous avons beaucoup apprécié vos conseils, votre disponibilité, vos qualités humaines et scientifique et votre modestie. Votre persévérance et votre amour pour le travail bien fait font de vous un exemple à suivre.

Recevez ici, cher maitre, mes sincères remerciements.

**Au Dr Abdoulaye Djimdé :**

Vous nous avez initiés à la biologie moléculaire. Nous avons beaucoup apprécié vos conseils, votre disponibilité, vos qualités humaines, votre modestie, votre rigueur et votre souci de travail bien fait.

Votre persévérance et votre amour pour le travail bien fait font de vous un maitre exemplaire à suivre. Nous vous prions de le croire votre bien dévoué. Recevez ici nos sincères remerciements.

**A ma bien aimée : Mademoiselle Na Fatoumata Djimdé dite Nana :**

Tes encouragements, ton assistance surtout morale combien inestimable pour la réalisation de ce travail m'ont profondément touché. Trouve ici l'expression de mon amour profond et éternel.

## HOMMAGE AUX MEMBRES DU JURY

### A notre maître et Président de jury

#### *Le Professeur Hamar A. TRAORE*

- *Professeur de Médecine Interne à la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie.*
- *Chef de service de Médecine interne au CHU du point G*
- *Responsable des cours de Sémiologie médicale et de thérapeutiques à la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie*
- *Président du comité scientifique national de lutte contre le SIDA*
- *Secrétaire Général Adjoint du comité pédagogique de la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie*

Cher maître, vous nous faites un grand honneur en acceptant de présider le jury de ce travail malgré vos multiples occupations. Nous avons apprécié votre très grande disponibilité, vos immenses qualités scientifiques, humaines et l'intérêt que vous portez à la formation de la génération future. Soyez assuré cher maître, de notre profond respect et sincères remerciements

**A notre Maître et juge**

**Le Docteur Klénon Traoré**

➤ *Directeur du Programme National de Lutte contre le Paludisme (PNLP)*

Cher maître, nous sommes très honorés par la spontanéité avec laquelle vous avez accepté de siéger à ce jury . Cela témoigne votre disponibilité et votre souci pour le contrôle du paludisme au mali. Soyez assuré cher maître , de nos sincères remerciements.

**A notre maître et co-directeur de thèse**

**Le Docteur Abdoulaye Djimé *PharmD, Ph.D***

- , *Maître assistant en Microbiologie Immunologie à la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie,*
- *responsable de l'Unité d'Epidémiologie Moléculaire et de la Chimiorésistance du DEAP/MRTC.*
- *Chevalier de l'ordre national du Mali.*

Cher maître, permettez nous de vous remercier pour la confiance que vous nous avez faite en nous confiant ce travail. Vos qualités scientifiques ont fait de vous un chercheur admiré par vos étudiants et vos collaborateurs.. Vous avez cultivé en nous le sens du travail bien fait et la rigueur scientifique. Nous vous prions, cher maître, de croire à notre profonde satisfaction.

**A notre maître et directeur de thèse**

**Le Professeur Ogobara K. Doumbo MD, Ph.D**

- *Professeur de Parasitologie et de Mycologie à la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie.*
- *Médecin chef du Département d'Epidémiologie des Affections Parasitaires*
- *Directeur du pôle d'excellence de recherche sur le paludisme, Malaria Research and Training Center (MRTC)*
- *Membre de l'académie nationale de médecine de France,*
- *Chevalier de l'ordre national du Mali.*

Cher maître, les mots nous manquent pour exprimer avec exactitude de ce que vous êtes pour nous. Soyez assuré, cher maitre, de notre profonde gratitude et indéfectible attachement.

**Liste des abréviations :**

ALAT : Alanine Amino-Transférase

ADN : Acide Désoxyribonucléique

ANOVA : Analyse Of Variance (Analyse des Variances)

AQ+SP : Amodiaquine+Sulfadoxine/Pyriméthamine

AR-L : Artémether - Luméfantrine

AS/AQ : Artésunate + Amodiaquine

AS/MQ : Artésunate + Mefloquine

AS/SP: Artésunate + Sulfadoxine/Pyriméthamine

AS/SMP: Artésunate + Sulfamétoxyprazine/Pyriméthamine

ATCD : Antécédent

Av JC : Avant Jésus Christ

BB : Bleu de Bromophénol

CA1 : Microsatellite CA1

CC : Centimètre Cube

CED : Centre d'Etude pour le Développement

CSA : Chondroïtine Sulfate A

Cm : Centimètre

CTA : Combinaisons Thérapeutiques à base d'Artémisinine

°C : Degré Celsius

DCI : Dénomination Commune Internationale

DDT : Dichloro Diphényle Trichloroéthane

DEET : N, N-Diéthyl-m-toluamide

DEAP : Département d'Epidémiologie des Affections Parasitaires

DHFR : DiHydroFolate Réductase

DHPS : DiHydroPtéroate Synthétase

dl : décilitre

dNTPs : désoxy Nucléotide Triphosphate

DPNLP : Direction du Programme National de Lutte contre le Paludisme

ECT: Echech Clinique Tardif

EDCTP: European and Developing Countries Clinical Trial Partnership

EDTA : Ethylène Diamine Tétra Acétique

EPT : Echech Parasitologique Tardif

ETP : Echech Thérapeutique Précoce

FMPOS : Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie

FM : Frotti Mince

g : gramme

GE : Goutte Epaisse

GB : Globule Blanc

GRA : Granulocyte

GR : Globule Rouge

Hg : Hémoglobine

Ht : Hématocrite

ICAM1 : Intercellular Adhesion Molécule 1

INF-gamma : Interféron-gamma

J : Jour

Kg : kilogramme

Km : Kilomètre

l : litre

Ly : Lymphocyte

MEDRU : Unité d'Epidémiologie Moléculaire et de Chimiorésistance

MgCl<sub>2</sub> : Chlorure de Magnésium

Mg<sup>2+</sup> : ion Magnésium

mg : milligramme

ml : millilitre

mmol : millimole

mm : millimètre

mmHg : millimètre de mercure

mn: minute

Mo: Monocyte

MRTC: Malaria Research and Training Center

MSP1&2 : Mérozoïte Surface Protein 1 & 2

nmol : nano môle

QBC : Quantitative Buffy Coat

RCPA : Réponse Clinique et Parasitologique Adéquate

SP : Sulfadoxine Pyrimethamine

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

Pb : Paire de base

PCR : Polymerase Chain Reaction

PIB : Produit Intérieur Brut

Pl : Plaquette

PM : marqueur de Poids Moléculaire

TA : Tension Artérielle

Taq: *Thermus aquaticus*

TBE: Tris Borate EDTA

TNF $\alpha$ : Tumor Necrosis Factor  $\alpha$

TPI: Traitement Présomptif Intermittent

Tr : Tour

TSP : Thrombospondine

UI : Unité Internationale

UV : ultra violet

VGM : Valeur Globulaire Moyenne

$\mu$ l : microlitre

$\mu$ mol : micromole

**Sommaire :**

I.	Introduction :	7
I.1.	Définition :	7
II.	Les OBJECTIFS :	10
II.1.	Objectif Général :	10
II.2.	Objectifs spécifiques :	10
III.	GENERALITES :	11
III.1.	Historique :	11
III.2.	Cycle biologique :	14
III.2.1.	Chez l'homme (phase asexuée) :	14
III.2.1.1.	Phase hépatique exo érythrocytaire :	14
III.2.1.2.	Phase érythrocytaire :	14
III.2.2.	Chez le moustique :	15
III.3.	Physiopathologie :	16
III.3.1.	Accès palustre simple :	16
III.3.2.	Neuropaludisme :	17
III.4.	Manifestations cliniques :	17
III.4.1.	Primo-infection :	17
III.4.2.	Accès de reviviscence :	18
III.4.3.	Paludisme viscéral évolutif :	18
III.4.4.	La fièvre bileuse hémoglobinurique :	18
III.4.5.	Le neuropaludisme et les autres formes graves et compliquées :	18
III.5.	Diagnostic biologique :	19
III.6.	La lutte contre la maladie :	19
III.6.1.	La prise en charge rapide des cas :	19
III.6.2.	La prévention :	20
III.6.3.	La prévention et lutte contre les épidémies. :	21
III.7.	Les Antipaludiques :	21
III.7.1.	Classification des antipaludiques :	21
III.7.1.1.	Leur rapidité d'action :	21
III.7.1.2.	Leur nature chimique :	22
III.7.1.3.	Leur origine :	22
III.7.2.	Leurs modes d'action :	22
III.7.2.1.	Les cibles plasmodiales des antipaludiques :	22
III.7.2.2.	Les schizonticides sanguins :	23

III.7.2.2.1. Les amino-4-quinoléines :	23
III.7.2.2.2. Les amino-alcools :	23
III.7.2.2.3. Les dérivés de l'artémisinine :	23
III.7.2.2.4. Les inhibiteurs des acides nucléiques ou antimétabolites :	24
III.7.2.2.4.1. Les antifolates :	24
III.7.2.2.4.2. Les naphthoquinones :	24
III.7.2.3. Les Gamétocytocides :	24
III.7.2.4. Les sporonticides :	25
III.7.3. Les associations antipaludiques :	25
III.7.4. Les combinaisons thérapeutiques :	25
III.7.4.1. Les combinaisons sans artémisinine :	25
III.7.4.2. Les combinaisons à base d'artémisinine :	26
III.7.5. Autres antipaludiques :	27
III.8. Les médicaments de l'étude :	27
III.8.1. Artémether-Luméfantine (Coartèm®) :	27
III.8.1.1. Présentation :	27
III.8.1.2. Composition :	27
III.8.1.3. Posologie et mode d'administration :	27
III.8.1.4. Les effets indésirables :	28
III.8.1.5. Contres indications :	28
III.8.1.6. Mise en garde et précaution d'emploi :	28
III.8.2. Artésunate+Amodiaquine (Co-arsucam™) :	28
III.8.2.1. Composition :	28
III.8.2.2. Formes pharmaceutiques et présentations :	29
III.8.2.3. Posologie et mode d'administration :	29
III.8.2.4. Effets indésirables :	29
III.8.2.5. Mise en garde et précaution d'emploi :	30
III.8.2.6. Contres indications :	30
III.8.3. Artésunate+Sulfadoxine - Pyriméthamine :	30
III.8.3.1. Composition et présentation :	30
III.8.3.2. Excipients :	30
III.8.3.3. Posologie et mode d'administration :	30
III.8.3.4. Les effets indésirables :	31
III.9. La résistance aux antipaludiques :	31
IV. METHODOLOGIE :	33

IV.1.	Lieu d'étude .....	33
IV.1.1.	Historique du village : .....	34
IV.1.2.	Climat, végétation, faune et sol : .....	34
IV.1.2.1.	Climat : .....	34
IV.1.2.2.	Végétation : .....	35
IV.1.2.3.	La flore : .....	35
IV.1.2.4.	La faune : .....	36
IV.1.2.5.	Le sol : .....	36
IV.1.3.	Relief et hydrographie : .....	36
IV.1.4.	Démographie : .....	36
IV.1.5.	Habitat : .....	37
IV.1.6.	Activités économiques : .....	37
IV.1.7.	Organisation administrative : .....	37
IV.2.	Infrastructures : .....	37
IV.3.	Période d'étude : .....	37
IV.4.	Le choix du lieu d'étude : .....	38
IV.5.	Type d'étude : .....	38
IV.6.	Population d'étude : .....	38
IV.7.	Critères d'inclusion et de non inclusion : .....	38
IV.7.1.	Critères d'inclusion : .....	38
IV.7.2.	Critères de non inclusion : .....	38
IV.8.	Echantillonnage : .....	39
IV.9.	Méthodes de collecte des données : .....	39
IV.9.1.	Collecte des données sur le terrain : .....	39
IV.9.1.1.	Les renseignements généraux : .....	39
IV.9.1.2.	Données cliniques : .....	39
IV.9.2.	Données Parasitologiques et Biologiques : .....	41
IV.9.2.1.	Examens Parasitologiques : .....	41
IV.9.3.	Prévalence des gamétocytes : .....	43
IV.9.4.	Étude hématologique et biochimique : .....	43
IV.10.	Etude de biologie moléculaire : .....	45
IV.10.1.	Principe : .....	45
IV.10.2.	Extraction de l'ADN plasmodial : .....	45
IV.10.3.	Amplification de l'ADN plasmodial : .....	46
IV.10.4.	Révélation de l'ADN à la photographie : .....	53

IV.10.4.1.	Interprétation des résultats : .....	54
IV.10.4.2.	Report des résultats : .....	54
IV.10.5.	Limites de la procédure : .....	55
IV.11.	Déroulement de l'enquête : .....	55
IV.11.1.	Organisation du travail : .....	55
IV.11.1.1.	Poste 1 ou poste d'identification : .....	55
IV.11.1.2.	Poste 2 : .....	55
IV.11.1.3.	Poste 3 : .....	56
IV.11.2.	Programme d'activités de base : .....	56
IV.11.2.1.	Inclusion : .....	56
IV.11.3.	Critères de jugement de l'efficacité thérapeutique : .....	57
IV.11.3.1.	Efficacité thérapeutique : .....	58
IV.11.3.1.1.	Echec thérapeutique précoce (ETP) : .....	58
IV.11.3.1.2.	Echec clinique tardif : .....	58
IV.11.3.1.3.	Echec Parasitologique tardif : .....	58
IV.11.3.2.	Réponse clinique et Parasitologique adéquate : .....	58
IV.11.4.	Critères de jugement secondaires : .....	58
IV.12.	Analyse et gestion des données : .....	58
IV.13.	Considérations éthiques et déontologiques : .....	59
V.	Résultats : .....	61
VI.	Résultat 1 : .....	61
VII.	Résultat 2 : .....	65
VIII.	Résultat 3 : Etude de la tolérance et l'innocuité des médicaments. ....	82
IX.	Discussions : .....	85
IX.1.	Méthodologie : .....	85
IX.2.	Résultat : .....	85
IX.2.1.	Clairance parasitaire : .....	85
IX.2.2.	Clairance de la fièvre : .....	86
IX.2.3.	Clairance des porteurs de gamétocytes : .....	86
IX.2.4.	Hématologie : .....	87
IX.2.5.	Efficacité thérapeutique : .....	87
IX.2.6.	La tolérance et l'innocuité: .....	87
X.	Conclusion : .....	89
XI.	Recommandations : .....	90
XIII.	Références : .....	91

**Tableaux :**

Tableau I: Mélange réactionnel pour un volume final de 25 µl (Msp1) première amplification.....	48
Tableau II: Mélange réactionnel pour un volume final de 25 µl (Msp2) première amplification.....	48
Tableau III: Mélange réactionnel pour un volume final de 25 µl (Msp1) deuxième amplification.....	49
Tableau IV: Mélange réactionnel pour un volume final de 25 µl (Msp2) deuxième amplification.....	50
Tableau V: Programme de la première et deuxième amplification MSP1.....	50
Tableau VI: Programme de la première amplification MSP2.....	50
Tableau VII: Programme de la deuxième amplification MSP2.....	51
Tableau VIII: Mélange réactionnel pour un volume final de 25 µl première amplification.....	51
Tableau IX: Mélange réactionnel pour un volume final de 25 µl deuxième amplification.....	52
Tableau X: Programme microsatellite CA1 première amplification.....	52
Tableau XI: Programme microsatellite CA1 deuxième amplification.....	53
Tableau XII: Plan de travail.....	56
Tableau XIII: Caractéristiques sociodémographiques de base.....	61
Tableau XIV: Caractéristiques parasitologiques à l'inclusion pour les premiers épisodes.....	61
Tableau XV : Prévalence des espèces plasmodiales dans les trois bras de traitement.....	62
Tableau XVI: Caractéristiques biologiques à l'inclusion pour le premier épisode.....	63
Tableau XVII: Efficacité thérapeutique avant correction moléculaire.....	65
Tableau XVIII: Efficacité thérapeutique après correction moléculaire.....	66
Tableau XIX: Efficacité thérapeutique avant correction moléculaire de tous les épisodes par groupe d'âge.....	67
Tableau XX: Efficacité thérapeutique après correction moléculaire de tous les épisodes par groupe d'âge.....	68
Tableau XXI: Efficacité thérapeutique avant correction moléculaire de tous les épisodes par trimestre..	69
Tableau XXII: Efficacité thérapeutique après correction moléculaire de tous les épisodes par trimestre..	70
Tableau XXIII: Evolution de la clairance parasitaire dans les trois Bras de traitement sur une semaine de suivi (de J0 à J7).....	72
Tableau XXIV: Evaluation de la clairance de la fièvre dans les trois bras de traitement au cours des 3 jours suivants l'administration de médicaments.....	74
Tableau XXV: Evaluation des gamétocytemies dans les trois bras de traitement au cours du suivi.....	76
Tableau XXVI: Evolution de la prévalence de l'anémie dans les trois groupes de traitement au cours du suivi tout épisode confondu.....	78
Tableau XXVII: Incidence de l'anémie observée au cours des 28 jours de suivi après traitement.....	80
Tableau XXVIII: Impact du traitement sur les épisodes cliniques du paludisme.....	80
Tableau XXIX: Nombre d'épisodes cumulés dans chaque bras au cours du suivi.....	81

Tableau XXX: Evénements indésirables graves survenus au cours du suivi dans les groupes de traitement.....	82
Tableau XXXI: L'incidence des événements indésirables (symptômes) observées durant les 3 jours suivants le début de traitement.....	83
Tableau XXXII: Incidence des événements indésirable (laboratoire) observée durant les 28 jours suivant le début de traitement.....	84
<b>Figures :</b>	
FIGURE I: CYCLE DU DEVELOPPEMENT DE <i>PLASMODIUM FALCIPARUM</i> :.....	16
FIGURE II: CARTE DU MALI MONTRANT LE CERCLE DE SIKASSO ET LA POSITION DU SITE D'ETUDE.....	33
FIGURE III: RELEVÉ PLUVIOMETRIQUE DU CERCLE DE SIKASSO DE 2005, 2006 ET 2007 .....	35
FIGURE IV : PHOTO D'UN GEL DE CORRECTION MOLECULAIRE (MSP1) DEUXIEME AMPLIFICATION.....	55
FIGURE V : PROFILE DE L'ETUDE .....	64
FIGURE VI: EFFICACITÉ THÉRAPEUTIQUE AVANT CORRECTION MOLÉCULAIRE DE TOUS LES ÉPISODES PAR TRIMESTRE.....	70
FIGURE VII: CLAIRANCE PARASITAIRE AU COURS DU SUIVI POUR LES TROIS BRAS DE TRAITEMENT.....	73
FIGURE VIII: CLAIRANCE DE LA FIÈVRE AU COURS DES 3 JOURS SUIVANT L'ADMINISTRATION DE MÉDICAMENTS POUR LES TROIS BRAS DE TRAITEMENT. ....	75
FIGURE IX: PORTAGE DE GAMETOCYTES AU COURS DE SUIVI POUR LES TROIS BRAS DE TRAITEMENT.....	77
FIGURE X: EVOLUTION DE LA PREVALENCE DE L'ANEMIE AU COURS DU SUIVI.....	79

## **I. Introduction :**

### **I.1. Définition :**

Le paludisme (du latin *palus* : marais) ou malaria (en italien : mauvais air) est une infection parasitaire endémo-épidémiologique, fébrile et hémolysante, dû à la présence et au développement d'abord dans le foie ; puis dans les globules rouges, d'un hématozoaire du genre *Plasmodium* et transmis par la piqûre infectante d'un moustique du genre *Anopheles*. Seule l'anophèle femelle est hématophage et ne pique que le soir et la nuit. Il existe trois espèces principales d'Anophèle : *Anopheles gambiae*, *Anopheles funestus* et *Anopheles arabiensis*. Ce sont des excellents vecteurs ayant une grande longévité et une préférence trophique nette pour l'homme.

Quatre espèces plasmodiales sont inféodées à l'homme : *Plasmodium falciparum* (Welch, 1897), *Plasmodium malariae* (Laveran, 1881), *Plasmodium ovale* (Stephens, 1922), et *Plasmodium vivax* (Grassi et Feletti, 1890). Seul *Plasmodium falciparum* est responsable des formes graves potentiellement mortelles.

Le nombre de personnes exposées au paludisme à travers le monde est estimé à 3,3 milliards soit près de la moitié de la population mondiale.

L'incidence annuelle en 2006 a été de l'ordre de 247 millions de cas cliniques, dont 212 millions (86%) de cas dans les régions africaines.

La mortalité liée à la maladie était de 881 000 personnes par an dont 91 % en Afrique et 85 % sont survenus chez les enfants de moins de 5 ans et les femmes enceintes. De nos jours, le paludisme reste encore endémique dans 109 pays, dont 45 en Afrique.<sup>1</sup>

Dans les régions endémiques africaines, le paludisme représente 25 à 35 % des consultations, 20 à 45 % des admissions hospitalières et 15 à 35 % des décès hospitaliers. Chaque année 24 millions de grossesses sont menacées par le paludisme, alors que moins de 5 % seulement de ces femmes ont accès aux soins médicaux.<sup>2</sup>

En plus de ses conséquences dramatiques en termes de santé publique, le paludisme a aussi un lourd impact sur le développement économique de l'Afrique. En effet le paludisme entraîne une perte de plus de 12 milliards de dollars Américain pour le continent Africain chaque année. Le Produit Intérieur Brute (PIB) du continent africain serait supérieur de 100 milliards de dollars si le paludisme avait été éradiqué, il y a 35 ans.<sup>3</sup>

Au Mali, le paludisme occupe la première place parmi les motifs de consultation. Il constitue la première cause de morbidité et de mortalité chez les enfants de moins de 5 ans et les femmes enceintes avec un taux respectif de 26.13% et 27.16%. Chez les enfants de moins de 5 ans, près de 80 à 90% portent le Plasmodium en saison de pluie en fonction des zones de transmission. On distingue 5 faciès épidémiologiques :

a) Les zones de transmission saisonnière longue : > 6 mois qui va de Mai à Novembre avec 1500 mm d'eau par an ; un portage parasitaire chez les enfants de moins de 5 ans avec un indice plasmodique à 80-85% et une prévalence, le paludisme y est holo-endémique).

b) Les zones de transmission saisonnière courte : 3 mois avec 200-800 mm d'eau/an (Sahel).

Les enfants de 6 mois à 9 ans y sont plus affectés par la maladie. Le paludisme y est hyper-endémique avec un indice plasmodique variant entre 50 et 75%.

c) Les zones subsaharienne : hypo endémique avec 200 mm d'eau /an le paludisme se manifeste sous forme d'épidémie. L'indice plasmodique est inférieur à 5%.

d) Les zones urbaines (pollution des gîtes) : hypo endémique, l'indice plasmodique est inférieur à 10%.

e) Les zones de transmission bi modale ou plurimodale : c'est le delta intérieur du Niger et les zones de retenues d'eau et de riziculture (barrages), l'indice plasmodique est inférieur à 40%. Bougoula est une zone de transmission longue, le paludisme y est holo-endémique avec un indice plasmodique (IP) situé entre 40 et 50% en saison sèche (qui va de Novembre à Avril) et entre 70 et 85% en saison pluvieuse (qui va de Mai à Octobre).<sup>4</sup>

Chez les femmes enceintes, le paludisme est à l'origine de la moitié des anémies et de petit poids de naissance.<sup>5</sup>

L'apparition et la propagation des souches plasmodiales résistantes, aux antipaludiques les plus utilisés ont fortement handicapé le contrôle de la maladie en Afrique. Ceci a eu comme conséquence, un changement de la politique de première ligne de traitement anti palustre dans de nombreux pays d'Afrique sub-saharienne y compris le Mali. Pour limiter la propagation de la chimiorésistance et protéger les nouvelles molécules antipaludiques, il est maintenant recommandé d'éviter la mono thérapie au profit des combinaisons thérapeutiques.<sup>3</sup>

Au Mali, nous avons assisté dans ces dernières années à l'accroissement de la résistance de *P. falciparum* à la chloroquine.<sup>6</sup> Le choix des combinaisons thérapeutiques à base d'Artémisinine (CTA) a été adopté au Mali après des études préliminaires initiées pour identifier les meilleures combinaisons.<sup>7 8 9</sup> La Direction Programme Nationale de Lutte contre le Paludisme (DPNLP) a

récemment recommandé les combinaisons artémether-luméfantine (AR-L, Coartem®, Novartis) ou Amodiaquine+Artésunate en première intention dans le traitement des accès palustres simples au Mali. La quinine est réservée au cas graves et aux cas de vomissements répétés. Aussi, il est important de mesurer la sécurité d'emploi, l'efficacité et l'impact sur le portage de gamétocytes de l'administration répétée de ces nouvelles combinaisons dans le contexte africain particulièrement au Mali. Nous avons ainsi testé les combinaisons suivantes : Artésunate + Amodiaquine (AS/AQ), Artésunate + Sulfadoxine/Pyriméthamine (AS/SP), Artémether-Luméfantine (AR-L). Il s'agissait pour nous de déterminer la densité d'incidence des accès palustres simples et parallèlement l'incidence de l'anémie de chaque bras de traitement pendant la période d'étude

### **JUSTIFICATIF DE L'ETUDE :**

Les CTA sont actuellement le meilleur choix dans le traitement de l'accès palustre simple. Elles sont constituées d'une molécule antipaludique d'action rapide avec une demi-vie courte (dérivées d'artémisinine) associée à une autre d'action lente à demi-vie longue (SP, AQ...). Des études menées en Asie du Sud-est ont démontré pour la première fois l'efficacité et la tolérance de ces combinaisons dans le traitement du paludisme non compliqué.<sup>10 11</sup> Dans ces zones, l'usage continu des combinaisons à base d'artémisinine a fortement baissé l'incidence du paludisme.<sup>12 13</sup>  
<sup>14</sup> Plusieurs études Sur les CTA ont été mené en Afrique Subsaharienne. Ces études ont démontré leur efficacité et leur tolérance. Il est actuellement connu que l'utilisation de l'Amodiaquine et la Sulfadoxine-Pyriméthamine en monothérapie entraîne une augmentation du taux de portage de gamétocytes.<sup>15 16</sup> Ailleurs nous avons constaté une réduction de l'infectivité des gamétocytes induites par l'utilisation de la Sulfadoxine Pyriméthamine<sup>17</sup> et nous savons aussi que les CTA réduisent le portage de gamétocytes.

Les différentes CTA testées au Mali en utilisant le protocole de suivi de 28 jours de l'OMS se sont révélées très efficaces.<sup>7 8 9</sup> Cependant, cette efficacité ne reflète pas de façon adéquate l'impact de leur utilisation à long terme sur les paramètres de morbidité et de mortalité palustres ainsi que leur tolérance.<sup>18</sup> Le nombre moyen d'épisode de paludisme qu'un enfant peut avoir au cours d'une année est de ; 2 épisodes dans les zones de faible transmission et de 5 épisodes dans les zones de haute transmission palustre.<sup>19 20</sup> Il s'agissait pour nous d'évaluer l'efficacité thérapeutique, la tolérance, l'incidence de l'anémie et l'incidence des accès palustres dans chaque bras de utilisé en traitement répété.

## **II. Les OBJECTIFS**

### **II.1. Objectif Général**

Evaluer l'intérêt en santé publique de l'utilisation des combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine dans le traitement de l'accès palustre simple en Afrique sub-saharienne.

### **II.2. Objectifs spécifiques**

- Tester l'hypothèse selon laquelle l'administration répétée des combinaisons AS+AQ, AS+SP et AR-L pour le traitement des épisodes consécutifs d'accès palustres simples réduit l'incidence des accès simples et l'anémie attribuable au paludisme.
  
- Mesurer l'efficacité thérapeutique et la tolérance clinique et biologique dans chaque bras de traitement, utilisés en traitement répétés.

### III. GENERALITES :

#### III.1. Historique :

D'après les récits de nombreuses civilisations et les écrits rapportés de différentes périodes, le paludisme était présent dans la plupart des grandes civilisations humaines et de nombreuses hypothèses évoquent la présence de cette maladie déjà chez l'homme préhistorique, il est difficile de l'affirmer.<sup>21</sup>

Les premières traces écrites évoquant les symptômes du paludisme, datent de l'antiquité chinoise. D'après le Nei Ching, écrits légendaires de l'Empereur Huang Ti, les symptômes du paludisme étaient déjà présents, associant des cas de splénomégalie à d'importantes fièvres. Dans cette littérature médicale chinoise datant du troisième siècle av J-C, plus connue sous le nom de "«Canon de la Médecine Chinoise», l'auteur symbolise la maladie sous la forme d'un dragon à trois têtes représentant chacune l'une des phases de l'accès palustre : la première tient un marteau symbolisant les maux de tête, la seconde porte un sceau d'eau glacée symbolisant les frissons et la dernière un diadème de fer rouge symbolisant enfin les fièvres de la maladie.<sup>22</sup> Dans l'Egypte ancienne, la malaria apparaît également : elle est notamment décrite dans les papyrus d'Ebers datant de 1550 av J-C évoquant ainsi le rôle du moustique et des eaux stagnantes dans la contamination de la maladie.<sup>23</sup> Les papyrus d'Edwin Smith, Traité de médecine datant de 1600 av J-C mentionnent l'association de fièvre, de contractures et de cas de splénomégalie. Enfin, le terme de « mauvais air » aborde déjà le rôle du vent dans la dissémination de l'infection.<sup>24</sup> Parallèlement, ces écrits sont confirmés par des hiéroglyphes découverts dans le temple de Dendara où d'importantes fièvres auraient touchées les populations à la suite des crues du Nil.<sup>25</sup>

Sur le sous continent indien, c'est dans l'Ayurveda (« Ayus » vie, « Veda » connaissance ; la science de la vie) que la malaria est abordée. Dans ces écrits trouvant leurs origines dans les Védas, plusieurs textes font références aux symptômes de la maladie, notamment le Susruta Samhitâ (l'un des plus anciens traités de science médicale connus), le Bhela Samhitâ et le Charaka Samhitâ (ouvrage de médecine). La malaria est alors décrite à travers des accès de fièvres tierces et quartes, attribuées à la colère de Shiva.<sup>22</sup>

Enfin, dans le bassin méditerranéen, de nombreux écrits retracent des vagues de malaria ayant ravagées les populations locales. C'est le cas des écrits de Cicéron ou de Lucrèce, mais aussi de

certaines légendes comme celle d'Empédocle Agrippant, en Grèce, qui délivra Sélinas de la maladie en asséchant les marais en 550 av J-C. Il apparaît clairement que si l'homme ne connaît pas encore la maladie à cette époque, il l'associe déjà aux moustiques et aux eaux stagnantes.

Du moyen Age à la Renaissance, très peu d'écrits au sujet de la maladie sont apparus. Durant cette époque, les recherches étaient ralenties en Europe à cause de l'influence du clergé. Aucune trace n'est laissée par les recherches de la médecine arabe, la plus avancée dans le monde durant cette période, en sachant que la malaria progresse alors dans le monde, envahissant le nord de l'Europe et la Russie. Cette propagation du parasite semble liée à deux événements majeurs : le réchauffement climatique de la planète entre les V<sup>ème</sup> et XII<sup>ème</sup> siècles mais aussi suite au défrichement suscité par le développement agricole en Europe.

La découverte de l'écorce de cinchona par Don Francisco Lopez de Canizare en 1630 constitue un véritable bouleversement face à l'impuissance des hommes contre la maladie. En effet, utilisée par de nombreuses tribus amérindiennes, ce breuvage semble présenter des vertus curatives face aux fièvres intermittentes touchant de nombreuses populations coloniales. Dès 1640, Vitelleschi, médecin jésuite, fait alors importer l'écorce du Pérou en Espagne. Cette substance alors appelée « poudre de princesse » ou « poudre des Jésuites » va être couramment utilisée dès 1712 comme moyen curatif puis comme premier moyen de dépistage de la malaria.<sup>26</sup>

Les premières connaissances scientifiques concernant les causes de la maladie n'apparaissent qu'à partir de 1717 à travers les travaux de Lancinai qui décrit alors des pigmentations noires au niveau de la rate et du cerveau de certains patients morts de ces fièvres, provoquées par les moustiques provenant des marais. Ces travaux parlent de « poison des marais », inoculé sous forme de « mauvaise humeur dans le sang » par les moustiques. Ces travaux sont confirmés par ceux d'Etienne Bailly en 1825, qui constate également des anomalies cérébrales sur les patients infectés. Néanmoins, il faut attendre 1831 pour que le lien entre ces pigmentations et les fièvres palustres soit vraiment établi.<sup>27</sup>

Malgré tout, ce n'est qu'en 1880 qu'Alphonse Laveran, médecin militaire français basé à Constantine en Algérie, découvre l'agent du paludisme. Poursuivant les travaux débutés sur les corps protoplasmiques présents dans les globules rouges de patients infectés, il assiste à un processus d'exflagellation de gamétocytes mâles. Il en conclut alors que les corps

protoplasmiques observés sont bien des êtres vivants ; il reçut le prix Nobel de médecine en 1907.<sup>28</sup> Repris par de nombreux chercheurs, les travaux de Laveran ne sont que le début de l'identification des différents acteurs de la maladie. Golgi, en 1886 révèle que les fièvres tierces et quartes sont provoquées par des espèces distinctes. On montrera plus tard que ces deux espèces sont respectivement *Plasmodium vivax* et *Plasmodium malariae*.<sup>29</sup>

Confirmés par les travaux de Marchiafava et Celli, le nom de *Plasmodium* est alors évoqué pour la première fois. Leurs travaux permettent également d'identifier une troisième espèce de parasite, nommé<sup>30</sup> *Plasmodium falciparum* en 1894 par Welch. La dernière espèce, *Plasmodium ovale*, sera décrite plus tard en 1922 par Stephen.

Les étapes suivantes des recherches ont concerné l'étude du vecteur de la maladie. C'est le cas des travaux de Ross, médecin anglais de l'armée des Indes, menés en 1897, dont le but était de montrer que le moustique joue un rôle important dans la transmission du parasite. Pour cela, il fit nourrir des moustiques sur des patients impaludés puis les disséqua à différents jours après l'incubation. Il constate alors la présence de cellules pigmentées dans l'estomac du moustique, révélant ainsi leur contamination par le parasite à partir de sang humain infecté. Parallèlement, il montrera que la transformation des oocystes en sporozoïtes se fait au niveau des glandes salivaires du moustique. Enfin, il montre que des oiseaux sains sont impaludés par des moustiques infectés, concluant alors que les moustiques jouent bien le rôle de vecteur entre le parasite et l'homme dans la transmission de la maladie.<sup>31</sup> Il reçut le prix Nobel en 1902 pour ses recherches.

Parallèlement, Grassi fait des expériences similaires afin d'identifier le vecteur responsable de la maladie. Ces premières recherches effectuées sur des moustiques de genre *Culex* restent infructueuses. En effet, malgré leurs contacts avec des patients infectés, aucun développement parasitaire n'est observé chez ce moustique. Il faudra attendre 1898 pour découvrir, par hasard, que le parasite ne peut être transmis que par le genre *Anophèle*.<sup>32</sup> Une fois ce problème résolu, il ne fallut alors que deux mois pour identifier le cycle entier des deux espèces : *Plasmodium vivax* et *Plasmodium falciparum*. La nomenclature concernant les différents stades de développement du parasite sera publiée en 1900 par Schaudinn.<sup>31</sup>

Enfin, Clarac et Bouet montrent à travers leurs travaux recherches sur le paludisme à Madagascar que la fréquence et la gravité de la maladie sont proportionnelles à la dispersion et à la pullulation des Anophèles dans les zones de contamination. Parallèlement, ils montrent que la destruction des lieux de ponte réduit nettement la morbidité palustre, sachant que ce vecteur n'effectue ses repas de sang que pour assurer sa procréation. Les différents acteurs de la maladie identifiés, la bataille pour l'éradication de la malaria est alors engagée. On assiste à de vastes campagnes de prévention, associant études épidémiologiques, campagnes d'assèchement et de traitements préventifs, coordonnées par l'OMS, lors de sa création en 1948.

### **III.2. Cycle biologique:**

Bien que le rôle clé du moustique anophèle dans la transmission du paludisme ait été reconnu par le passé, ce n'est qu'à partir de 1948 que toutes les phases du cycle de développement du parasite ont été élucidées. Ce cycle comprend une multiplication asexuée ou schizogonie (comportant une phase hépatique ou exo érythrocytaire et une phase érythrocytaire) qui se déroule chez l'homme (hôte intermédiaire) et une multiplication sexée ou sporogonie chez le moustique anophèle (hôte définitif).

#### **III.2.1. Chez l'homme (phase asexuée) :**

##### **III.2.1.1. Phase hépatique exo érythrocytaire :**

Au cours de son repas sanguin (1) nécessaire à la maturation de ses œufs, l'anophèle femelle infesté en piquant l'homme, lui injecte les sporozoïtes contenus, dans sa glande salivaire avant d'ingérer le sang. Ces sporozoïtes restent dans le sang pendant une courte durée (30 mn) puis migrent dans le foie (parenchyme hépatocytaire) (2). Ils se multiplient pour devenir des trophozoïtes, puis des cryptozoïtes qui forment à leur tour des schizontes hépatiques (3). Après 12 jours environ, le schizonte éclate (4) et libère des mérozoïtes. La lyse de l'hépatocyte libère plusieurs milliers de mérozoïtes (10000 pour *P. vivax*, 40000 à 50000 pour *P. falciparum*, plus de 15000 pour *P. ovale* et 7500 pour *P. malariae*) qui migreront *via* la voie sanguine vers les hématies amorçant ainsi la phase érythrocytaire. Dans les cas de *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae*, le cycle se répète alors que *P. falciparum* n'a pas un cycle continu dans le foie.

##### **III.2.1.2. Phase érythrocytaire :**

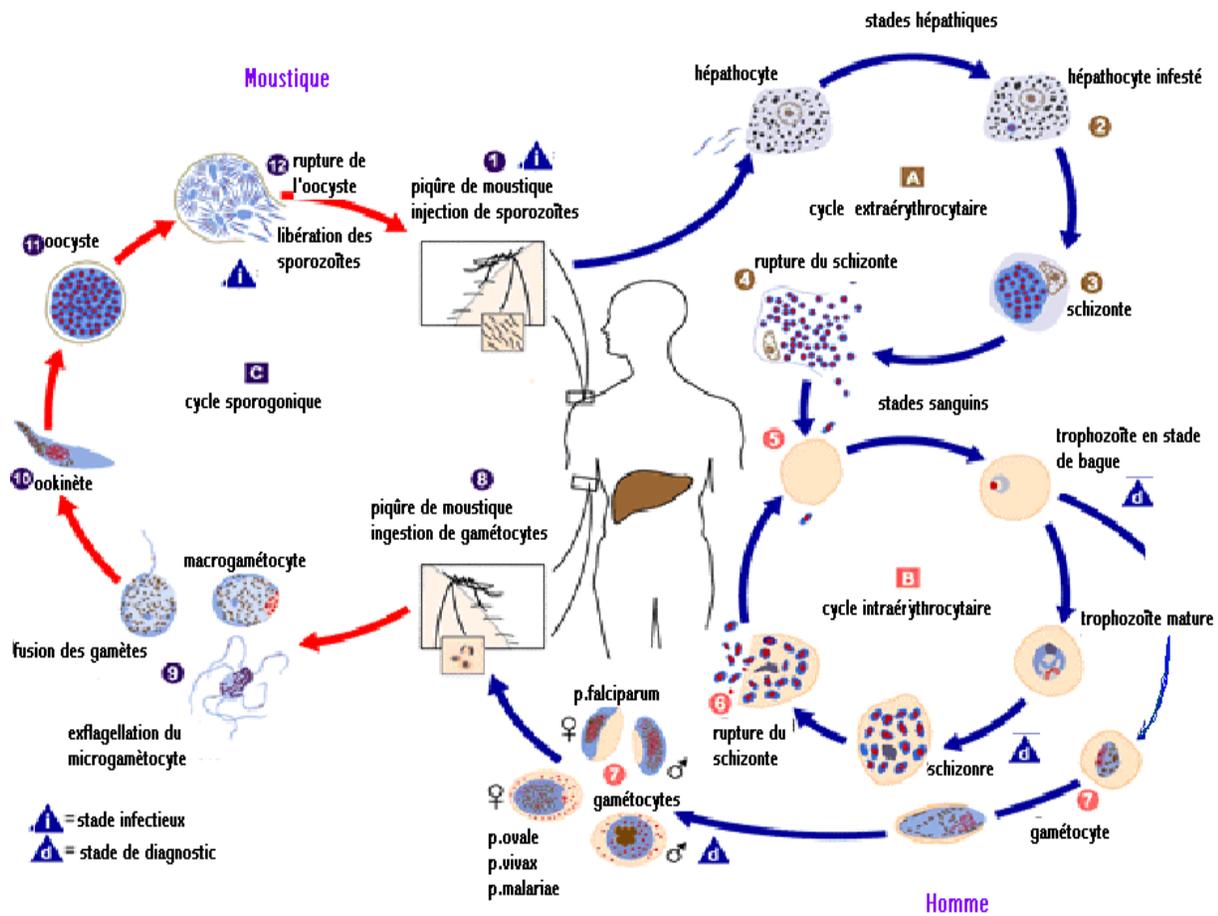
Les mérozoïtes hépatiques libérés dans le sang pénètrent les hématies (5) par un mécanisme complexe où ils évoluent en stade de jeune trophozoïte (anneau ou ring) et se transforment en trophozoïtes matures. A l'intérieur de l'hématie, le parasite se multiplie de façon asexuée

conduisant à la formation de schizontes érythrocytaires (6). La rupture de la membrane du globule rouge par le schizonte mature (stade en rosette) libère 8 à 32 mérozoïtes dans le sang. Ces mérozoïtes infectent de nouvelles hématies (dans un délai de 15 à 30 mn) réalisant ainsi un nouveau cycle schizogonique érythrocytaire (qui dure 48 heures chez *P. falciparum*, *P. ovale* et *P. vivax*, et 72 heures chez *P. malariae*). Les signes pathologiques du paludisme sont généralement détectés au cours de la schizogonie érythrocytaire : l'éclatement des globules rouges contenant les schizontes matures libère outre les mérozoïtes, de l'hémozoiné (pigment malarique provenant de la dégradation de l'hémoglobine) et des substances toxiques inductrices des accès fébriles caractéristique de la maladie. Certains mérozoïtes subissent une différenciation pour donner des gamétocytes femelles et mâles (7).

### **III.2.2. Chez le moustique :**

#### **La sporogonie ou multiplication sexuée :**

Lors de son repas sanguin chez un sujet parasité, l'anophèle femelle absorbe les gamètes mâles et femelles du plasmodium (8). Ces derniers se libèrent rapidement de leur enveloppe érythrocytaire pour se transformer en 8 microgamètes flagellés mobiles pour le gamétocyte mâle, et en macrogamètes immobiles pour le gamétocyte femelle (9). Dans l'estomac du moustique les micros et les macrogamètes fusionnent pour former un zygote (10) qui évolue en ookinète mobile qui traverse la paroi de l'estomac et forme sur sa face externe un oocyste (11). Ce dernier se développe en quelques jours et donne de nombreux sporozoïtes (12) qui gagnent les glandes salivaires et sont alors prêts à être injectés à l'homme au prochain repas sanguin.



**Figure I: Cycle du développement de *Plasmodium falciparum* (Source : [http://www.phac-aspc.gc.ca/publicat/ccdr-rmtc/04vol130/30s1/page9\\_f.html](http://www.phac-aspc.gc.ca/publicat/ccdr-rmtc/04vol130/30s1/page9_f.html))**

### III.3. Physiopathologie :

#### III.3.1. Accès palustre simple :<sup>33</sup>

Lors de l'éclatement des hématies parasitées, les pigments malariques appelés hémozoïnes sont libérés. Ils agissent sur le centre bulbaire de la thermorégulation provoquant ainsi la fièvre quand la densité parasitaire atteint un certain seuil. Lorsque chez le malade le cycle endoérythrocytaire de *Plasmodium falciparum* se synchronise progressivement, la libération des pigments malariques est régulièrement répétée, ce phénomène confère ainsi à l'accès palustre sa périodicité. L'hépatomégalie et la splénomégalie surviennent suite à une hyperactivité du système monocyte-macrophage chargés de débarrasser l'organisme des pigments malariques et des débris érythrocytaires. L'hémolyse de ces érythrocytes parasités est l'une des causes de l'anémie palustre.

### III.3.2. Neuropaludisme :

La séquestration des formes matures de *Plasmodium falciparum* au niveau du cerveau et d'autres organes nobles tel que le cœur, les poumons, les reins, la rate et le placenta <sup>34</sup> chez la femme enceinte, explique en parti la gravité du paludisme. Ce phénomène est appelé la cytoadhérence.

Cette séquestration implique les ligands parasites dont le plus caractéristique est le PfEMP1 (*Plasmodium falciparum* érythrocyte membrane Protein1). Les gènes qui codent pour cette protéine sont responsables de la variation antigénique (gènes var). Il existe de nombreux récepteurs tissulaires pour ces ligands dont la TSP (thrombospondine), le CD36, l'ICAM-1 (Intercellular Adhesion Molecule-1) mais aussi la CSA (Chondroïtine sulfate A) au niveau du placenta. L'expression de ces récepteurs est amplifiée par la production de certaines cytokines dont le TNF- $\alpha$  et INF $\gamma$ , contribuant ainsi à augmenter la séquestration des globules rouges parasités. Cependant d'autres hypothèses ont été évoquées :

- La formation de rosettes qui consiste à l'adhésion de plusieurs globules rouges sains autour d'un globule rouge parasité.
- L'augmentation de la perméabilité de la barrière méningée entraînant une fuite du liquide céphalorachidien et un œdème cérébrale.
- La coagulation intra vasculaire disséminée.
- Les phénomènes immunopathologiques avec dépôt de complexes immuns. Quelque soit le mécanisme, le ralentissement du flux capillaire intracérébral ou l'obstruction des capillaires provoque l'anoxie, voire tardivement une ischémie, responsable d'une hémorragie péri vasculaire et des lésions de la substance blanche qui ne sont pas sans séquelles.

### III.4. Manifestations cliniques :<sup>33</sup>

Les manifestations cliniques sont la résultante de l'interaction hôte parasite. Ceci permet de distinguer, cinq formes cliniques :

#### III.4.1. Primo-infection :

La symptomatologie correspond à une fièvre d'allure isolée. La fièvre débute brutalement, souvent élevée mais de degré variable, avec frissons, sueurs, céphalées et courbatures, associés souvent à de petits troubles digestifs à type « d'embarras gastrique » (nausée, vomissement et/ou de diarrhée). Les signes traduisant l'hémolyse apparaissent souvent de façon différée : pâleur, sub-ictère, hépato-splénomégalie.

### III.4.2. Accès de reviviscence :

Il s'observe avec l'acquisition d'un certain degré d'immunité et correspond aux crises schizogoniques toutes les 48 heures (*P. falciparum*, *P. ovale*, *P. vivax*) 72 heures (*P. malariae*). Caractérisés par : un grand frisson inaugural, une fièvre à 40°C durant quelques heures puis de sueurs profuses ; les crises se succèdent toutes les 48 heures (fièvre tierce) ou 72 heures (fièvre quarte) selon l'espèce en cause. La périodicité manque souvent en raison d'un poly parasitisme. Seule la fièvre tierce à *Plasmodium falciparum* est susceptible d'évoluer vers un paludisme cérébral.

### III.4.3. Paludisme viscéral évolutif :

Ce paludisme concerne plutôt les enfants qui peinent, au cours des années, à acquérir leurs prémunitions. La splénomégalie en est le signe majeur associée à une hépatomégalie. Les signes généraux (fébricule intermittente, asthénie, amaigrissement) et d'hémolyse (pâleur, ictère) sont très variables, allant d'une forme pauci symptomatique à une forme qui pourrait se confondre avec une leucémie.

### III.4.4. La fièvre bileuse hémoglobinurique :

Le début est brutal avec une hémolyse intra vasculaire chez le patient précédemment soumis à une chimioprophylaxie aux sels de quinine. La symptomatologie est essentiellement rénale et algique. La douleur est très intense en barre autour de la ceinture pelvienne. Les rares urines émises sont particulièrement rouges et foncées. Cette forme nécessite une réanimation.

### III.4.5. Le neuropaludisme et les autres formes graves et compliquées :

C'est le paludisme des sujets non immun (nourrisson, femme enceinte, enfant, les migrants venant d'une zone non impaludée). Ces formes sont l'apanage de *Plasmodium falciparum* et sans traitement ils peuvent conduire à la mort dans 72 heures.

L'OMS a établi des critères qui, isolés ou associés, font poser le diagnostic de paludisme sévère et permettent une meilleure prise en charge.<sup>35</sup>

- Neuropaludisme Blantyre Coma Scale (BCS)  $\leq 2$  score de Glasgow  $\leq 9$
- Troubles de la conscience : BCS  $< 5$  et  $> 2$  ou score de Glasgow  $< 15$  ou  $> 9$
- Convulsions répétées  $> 1$  /24 heures
- Prostration : extrême faiblesse
- Vomissements itératifs
- Syndrome de détresse respiratoire

- Ictère clinique
- Acidose métabolique bicarbonates plasmatiques  $< 15$  mmol/L
- Lactatémie  $\geq 5$  mmol/L
- Anémie grave (Hb  $< 5$ g/dl, Ht  $< 15\%$ )
- Hyperparasitémie  $\geq 4\%$  chez le sujet non immun, ou  $\geq 20\%$  chez le sujet immun
- Hypoglycémie (glycémie  $< 2,2$  mmol/L)
- Hémoglobinurie macroscopique
- Insuffisance rénale diurèse  $< 400$  ml/ 24h ou créatinémie  $> 265\mu\text{M}$  chez l'adulte ; diurèse  $< 12$  ml/ kg/ 24h ou créatinémie élevée pour l'âge chez l'enfant
- Collapsus circulatoire : Tension Artérielle Systolique  $< 50$  mmHg avant 5 ans, TAS  $< 80$  mmHg après 5 ans.
- Hémorragie anormale
- Œdème pulmonaire (radiologique)

### III.5. Diagnostic biologique :

Le diagnostic biologique de première intention est posé par la réalisation d'une goutte épaisse et/ou d'un frottis mince. Il s'agit d'un diagnostic d'urgence qui repose sur la mise en évidence du parasite dans le sang du malade. D'autres techniques sont proposées en seconde intention : Le parasight F, QBC, l'optimal IT, la PCR etc....

### III.6. La lutte contre la maladie :

La lutte antipaludique a été définie comme l'ensemble des mesures destinées à supprimer, ou à réduire la mortalité et la morbidité dues au paludisme.<sup>36</sup> Depuis l'échec de la campagne d'éradication du paludisme en zone intertropicale, l'OMS préconise de nouvelles stratégies de lutte visant à réduire la morbidité et la mortalité liées au paludisme. Ces stratégies de lutte sont :

#### III.6.1. La prise en charge rapide des cas:

Le traitement rapide et préventif des malades fébriles a montré son efficacité sur la morbidité et la mortalité liées au paludisme. Cependant sa mise en œuvre connaît quelques difficultés à cause de l'insuffisance et l'inaccessibilité des services de santé dans la plupart des zones d'endémie. L'automédication à domicile a été proposée comme alternative à l'insuffisance et à l'inaccessibilité des services de santé, mais cette stratégie a aussi un certain nombre d'inconvénients parmi lesquels : les erreurs de diagnostics, le non respect des doses et posologies

des médicaments, utilisation injustifiée de certains médicaments pouvant contribuer au développement de la chimiorésistance et la non reconnaissance des signes et symptômes du paludisme.<sup>37</sup>

### **III.6.2. La prévention :**

Comme son nom l'indique, c'est l'ensemble des mesures ou organisations, destinées à prévenir un risque.

- **La prévention individuelle :**

Elle consiste à se protéger contre les piqûres de moustiques. Les mesures à appliquer sont, entre autre, l'utilisation des moustiquaires imprégnées et de répulsif sur la peau.

- **La chimioprophylaxie :**

Elle a pour but d'empêcher les crises d'accès palustre, bien que n'empêchant pas l'impaludation. Le traitement préventif intermittent (TPI) utilisant deux doses prophylactiques de la Sulfadoxine-Pyriméthamine au quatrième et huitième mois de grossesse, est actuellement préconisé par l'OMS.

- **Assainissement :**

Elle consiste à rendre l'environnement moins propice à la multiplication des moustiques. Il passe par la suppression des eaux stagnantes, le drainage des eaux usées domestiques par des canalisations bien fermées et le renforcement de la salubrité publique. L'utilisation des insecticides solubles répandus à la surface des eaux stagnantes rend ces endroits moins propice à la reproduction des anophèles. L'éducation des populations à prendre soin de leur environnement pourrait être d'un apport utile.

- **La vaccination :**

Bien que des progrès considérables aient été réalisés au cours de la dernière décennie dans la recherche d'un vaccin, il n'existe toujours pas, de nos jours, un vaccin efficace contre le paludisme. A ce jour, plus de douze prototypes de vaccin sont testés dans un contexte épidémiologique et certains sont déjà à la phase d'essai clinique. On espère qu'un vaccin efficace pourra être disponible dans un futur proche.

- **La lutte antivectorielle :**

Dans les années 1960, la lutte anti-vectorielle a consisté à l'éradication du paludisme par l'assèchement des marais associé à l'usage massif d'insecticide comme le dichloro diphényle trichloroéthane (DDT) et plus tard par l'imprégnation des moustiquaires par des insecticides ou

des insectifuges. Au cours de cette tentative d'éradication, une forte résistance à la dieldrine a été observée chez la plupart des vecteurs majeurs du paludisme.<sup>38</sup> La résistance au DDT est nettement moins répandue mais, l'usage massif du DDT induit une résistance croisée à l'ensemble des pyréthrinoides, une famille d'insecticide largement utilisé dans la lutte antipaludique, notamment les moustiquaires imprégnées. Les cas de résistance aux organophosphorés et aux carbonates sont peu nombreux ; l'insecticide de référence le plus efficace reste le DEET<sup>39</sup> bien que comportant une certaine toxicité vis-à-vis des enfants et nourrissons. En effet, des cas de convulsions et d'encéphalopathies convulsivantes ont été rapportés avec le DEET habituellement utilisé.<sup>40 41</sup>

### **III.6.3. La prévention et lutte contre les épidémies.**<sup>3 42 43</sup>

Au Mali, la Direction Programme National de Lutte contre le Paludisme (DPNLP) est l'organisme chargé de la mise en œuvre des stratégies de lutte contre le paludisme. Il préconise différentes stratégies pour lutter efficacement contre le paludisme parmi lesquelles :

- La prévention contre la piqûre des moustiques par l'utilisation des moustiquaires imprégnées d'insecticide, l'hygiène et assainissement de l'environnement.
- La chimioprophylaxie avec la Sulfadoxine-Pyriméthamine (SP) chez les groupes cibles (chez les femmes enceintes et les enfants de bas âges).
- La prise en charge rapide et correcte des cas de paludisme avec des antipaludiques efficaces. Pour la prise en charge du paludisme non compliqué, il préconise :
  - L'Artémether-Luméfantine (Coartem®) et l'artesunate-Amodiaquine (Co-arsucam™).
  - La quinine pour les cas graves et compliqués et le paludisme de la femme enceinte, en raison de 8mg/Kgp toutes les 12 heures pendant 7 jours.
- La détection des épidémies et une action pour les enrayer.

### **III.7. Les Antipaludiques :**

Il existe plusieurs molécules antipaludiques naturelles ou de synthèses utilisables de nos jours. La plupart de ces molécules agissent lors de la phase érythrocytaire, laquelle phase est responsable des accès palustres.

#### **III.7.1. Classification des antipaludiques :**

Il est possible de classer les antipaludiques en fonction de :

##### **III.7.1.1. Leur rapidité d'action :**

- Les antipaludiques à action rapide : la quinine et les dérivés de l'artémisinine

- Les antipaludiques à action lente : les antifoliques, les antifoliniques...

### **III.7.1.2. Leur nature chimique :**

Les amino-4-quinoléines ;

Les amino-8-quinoléines ;

Les aminoalcools ;

Les antimétabolites ;

Les antifolates ;

Les naphthoquinones ;

Les antibiotiques ;

Les sesquiterpènes lactones.

### **III.7.1.3. Leur origine :**

Les antipaludiques naturels (extrait de plantes) connus aujourd'hui sont : la quinine et l'artémisinine. Tous les autres antipaludiques sont d'origine synthétique. De façon générale, les antipaludiques jusque-là mis à disposition par les firmes pharmaceutiques sont tous des schizonticides sanguins, actifs sur les formes asexuées du parasite.

## **III.7.2. Leurs modes d'action :**

### **III.7.2.1. Les cibles plasmodiales des antipaludiques :**

Face à la résistance plasmodiale, la compréhension des modes d'action cellulaire des médicaments antipaludiques est essentielle pour optimiser leur emploi et pour comprendre les mécanismes qui sont impliqués dans la résistance. Le plasmodium dispose pour son développement intra érythrocytaire d'un métabolisme et de moyens de défense spécifiques qui constituent autant de cibles aux antipaludiques. On distingue :

- La vacuole nutritive du parasite qui est le siège de la digestion de l'hémoglobine ; de la cristallisation de l'hème et où l'on retrouve des moyens de défense contre le stress oxydant ;
- Un cytoplasme comportant le cytosol et deux organites essentiels, les mitochondries et l'apicoplaste. Ils sont nécessaires à la biosynthèse des acides nucléiques.
- Une membrane plasmique, constituée de phospholipides, de canaux calciques et parasitophores ; qui est le siège du trafic nutritionnel.<sup>44</sup>

Les principaux antipaludiques actuels peuvent être classés selon leur mode d'action.

### III.7.2.2. Les schizonticides sanguins :

#### III.7.2.2.1. Les amino-4-quinoléines :

Ils représentent une famille de médicaments dont le plus utilisé est la chloroquine, antipaludique majeur qui a révolutionné le traitement du paludisme en Afrique. Ainsi par sa tolérance exceptionnelle et sa moindre toxicité par rapport aux autres molécules de la même famille, la chloroquine a pratiquement éclipsé les autres molécules antipaludiques découvertes dans les années 1950. Malheureusement, elle est confrontée à une diffusion de résistance des hématozoaires du paludisme du fait de sa moindre accumulation à l'intérieur des érythrocytes parasités par les plasmodies résistantes.

Les autres : Amodiaquine, l'amopyroquine et la pyronaridine.

**L'amodiaquine** : Dichlorhydrate dihydraté de (diéthylaminométhyl-3 hydroxy-4 annile)-4 chloro 7 quinoléine. Elle a une structure et une action antipaludique semblable à celle de la chloroquine. Elle possède des propriétés antipyrétiques et anti-inflammatoires.

Elle est absorbée dans le tractus gastro-intestinal, transformée en un métabolite actif la deséthylamodiaquine. Les effets secondaires hépatiques et une grande incidence d'agranulocytose, ont été rapportés.<sup>45 46</sup>

**La pyronaridine** : un dérivé hydroxyanilino-benzonaphthyridine qui a une structure chimique similaire à celle de la de la chloroquine, de la mepacrine et l'amopyroquine, est un nouveau schizonticide sanguin qui à été synthétisée en Chine dans les années 1970.<sup>47 48</sup> Elle est absorbée dans le tractus gastro-intestinal . Des effets secondaires gastro-intestinaux ont été rapportés. Elle à été testée en monothérapie dans les provinces du Hunan et du Yunan, en Chine, où il a été jugé sûr et efficace.<sup>49</sup> son mécanisme d'action n'est pas encore bien compris. Des essais cliniques sur l'efficacité et l'innocuité ont été menés en Thaïlande et au Cameroun.<sup>50 51</sup> Il à été également démontré que la pyronaridine a un effet additif quand elle est associée aux 4-Aminoquinoléines, un effet synergique avec la primaquine et un faible effet antagoniste avec la dihydroartémisinine, les antifolates ou les aminoalcools.<sup>52</sup>

#### III.7.2.2.2. Les aminoalcools :

Quinine, Quinidine, Méfloquine, Halofantrine, Luméfantrine ; ces molécules interfèrent avec l'utilisation de l'hémoglobine dans la vacuole digestive en inhibant la formation de l'hémozoïne.

#### III.7.2.2.3. Les dérivés de l'artémisinine :

Cette nouvelle classe d'antipaludiques de type endopéroxyde interfère aussi avec l'utilisation de l'hémoglobine, par libération de radicaux libres, toxiques pour le parasite.

### **Historique de l'artémisinine :**

L'artémisinine a été originellement isolé en 1972 en chine à partir de la plante *Artemisia annua* ou « armoise de Chine ». L'artémisinine est une lactone sesquiterpénique comportant un groupement peroxyde et, à la différence de la plupart des autres antipaludiques, il manque à cette molécule un hétérocycle contenant un groupement nitrogène (formule empirique C<sub>15</sub>H<sub>22</sub>O<sub>5</sub>).

Les chimistes chinois ont isolé la substance responsable de son action antipaludique à partir des feuilles de la plante *Artemisia annua* en 1972.<sup>53</sup> Ils ont nommé ce composé « Qinghaosu ». En occident, ce composé a été appelé « artémisinine ».<sup>54</sup> La plante existe à l'état sauvage en chine, mais a aussi été rencontrée dans d'autres parties du monde, bien que les espèces puissent différer. Les dérivés de l'artémisinine sont : la dihydroartémisinine, l'artémether, l'artééther, l'artésunate et l'arténilate, dérivés obtenus par modification chimique du carbone situé en dixième position de la molécule d'artémisinine. Leur élimination très rapide impose cependant des traitements répétés<sup>55 56</sup> ou des associations,<sup>57</sup> sous peine d'observer un taux de rechute important.

Le mécanisme d'action de l'artémisinine et de ses dérivés n'est pas bien connu actuellement<sup>58</sup>. Le pont endopéroxyde paraît essentiel pour l'activité de l'artémisinine et de ses dérivés, les analogues n'en pas possédant étant inactifs.<sup>59 60</sup> Les endopéroxydes peuvent se décomposer en radicaux libres en présence de fer augmentant ainsi l'activité antipaludique<sup>61</sup> alors que les piègeurs des radicaux l'inhibent.

### **III.7.2.2.4. Les inhibiteurs des acides nucléiques ou antimétabolites :**

#### **III.7.2.2.4.1. Les antifolates :**

Ils sont repartis en deux familles, les antifoliques (sulfadoxine ; sulfones), les antifoliniques (Proguanil, Pyriméthamine). Ils agissent au niveau de la voie de synthèse des folates, qui sont essentiels à la biosynthèse des acides nucléiques. Les antifoliques inhibent la DiHydroPtérote synthétase (DHPS) qui produit de l'acide folique, les antifoliniques inhibent la DiHydroFolate Réductase (DHFR) qui produit l'acide folinique.

#### **III.7.2.2.4.2. Les naphthoquinones :**

Ce sont des puissants inhibiteurs des fonctions mitochondriales en bloquant la chaîne de transfert d'électrons au niveau de son enzyme-clé, la dihydroorotate déshydrogénase (DHODase).

### **III.7.2.3. Les Gamétocytocides :**

Amino-8-quinoléine (primaquine, tafénoquine ou WR238605).

Ils sont actifs contre les gamétocytes sanguins et de manière limitée, contre les stades

intrahepatocytaires. Il empêchent le sang d'être infestant pour l'anophele et permettent ainsi de réduire la transmission et l'incidence du paludisme. Ils ont une faible valeur curative.

#### **III.7.2.4. Les sporonticides :**

Les diaminopyridines (Pyriméthamine, triméthoprime) et les biguanides.<sup>62</sup>

#### **III.7.3. Les associations antipaludiques :**<sup>63</sup>

Face aux taux d'échec de plus en plus élevés avec les monothérapies anciennes, avec son corolaire de difficultés thérapeutiques, l'association de plusieurs molécules antipaludiques est devenue nécessaire pour améliorer leur efficacité.

Des médicaments développés à partir d'une plante chinoise ont prouvé leur efficacité dans la lutte contre la maladie: il s'agit de l'artémisinine et ses dérivés (Artéether, Artémether, Artésunate et la dihydroartémisinine). Aujourd'hui, ces molécules peuvent être associées à d'autre antipaludique : Amodiaquine, Luméfántrine, Méfloquine, Sulfadoxine-Pyriméthamine (SP), constituant ainsi les combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine (CTA).

Il existe également des associations sans artémisinine.

#### **III.7.4. Les combinaisons thérapeutiques :**

Définition :<sup>63</sup> Selon l'OMS une combinaison thérapeutique d'antipaludique est l'usage simultané de 2 ou plusieurs schizonticides sanguin ayant des mécanismes d'action et des cibles biochimiques différentes au niveau du parasite. L'action synergique des molécules permet d'augmenter l'efficacité des médicaments et d'obtenir une protection mutuelle des produits contre l'acquisition de résistance du parasite. Il y'a deux sortes de combinaisons :

- Les combinaisons libres : la co-administration de deux médicaments distincts ;
- Les combinaisons fixes : co-formulation de deux principes actifs sous une même forme galénique.

##### **III.7.4.1. Les combinaisons sans artémisinine :**

Chloroquine + Sulfadoxine-Pyriméthamine :

Cette association n'est guère plus rentable que la monothérapie par la Sulfadoxine-Pyriméthamine dû à la chloroquine-résistance.

Amodiaquine + Sulfadoxine-Pyriméthamine :

Cette association est très efficace et s'avère être une alternative aux CTA. Une étude menée par le MRTC a démontrée son efficacité.<sup>64</sup>

Atovaquone + Proguanil (MALARONE®) :

Son efficacité a été prouvée par des études menées en Asie du Sud Est. Cependant, son coût élevé et sa disponibilité limitent son accessibilité. Elle est utilisée en prophylaxie et en traitement curatif pour les sujets non immuns.<sup>65 66</sup>

Méfloquine + Sulfadoxine-Pyriméthamine (FANSIMEF®) :

Suite aux risques de réactions indésirables graves de cette association, elle n'est plus recommandée depuis 1990 pour un usage général dans le cadre de programmes de lutte antipaludique, ni à titre prophylactique, ni à titre thérapeutique.

Chloroquine + Proguanil (SAVARINE®) :

Cette association a été abandonnée du fait de la chloroquinorésistance du Plasmodium.

Quinine + Tétracycline ou doxycycline :

Cette association est utilisée dans les pays où la quinine présente une baisse de sensibilité.<sup>67</sup>

Chlorproguanil + Dapsone (Lapdap®) :

Cette association a fait l'objet d'essais cliniques et elle est efficace contre toutes les souches plasmodiales. Son efficacité est beaucoup plus élevée quand elle est combinée avec les dérivés d'artémisinine.<sup>68</sup>

### **III.7.4.2. Les combinaisons à base d'artémisinine :**

Artémether + Luméfantrine (Coartem®)

Artésunate + Amodiaquine (Co-arsucam™)

Artésunate + Sulfadoxine-Pyriméthamine

Artesunate + Sulfaméthoxypyrazine-Pyriméthamine (Co-arinate®)

Au Mali, une étude réalisée à Sotuba par le MRTC sur cette combinaison, a trouvée un taux d'efficacité satisfaisant.<sup>9</sup>

Artésunate + Chloroquine : Une étude réalisée au Mali incluant cette combinaison a montrée une efficacité sous le seuil optimal des combinaisons à base d'artémisinine.<sup>7</sup>

Artésunate + Méfloquine :

Elle est utilisée comme traitement de première intention dans certains pays du Sud Est asiatique.<sup>69</sup> Au Mali une étude réalisée par le MRTC utilisant cette combinaison a donnée un résultat satisfaisant.<sup>70</sup>

Artésunate + Pyronaridine (Pyramax®) :

Des essais cliniques ont été menés avec cette combinaison dans certaines régions d'Afrique et d'Asie. C'est une combinaison qui a montrée ces efficacités contre toutes les souches de plasmodiales même celles résistantes à la chloroquine.<sup>71 72</sup>

Dihydroartémisinine + Piperaquine(Artekin®) :

Plusieurs essais cliniques ont été menés avec cette combinaison, qui s'est avérée très efficace, même contre les souches multirésistantes et bien tolérée.<sup>73 74</sup>

Artesunate + Chlorproguanil-dapsone :

Cette combinaison a fait l'objet d'essais cliniques qui ont démontrés son efficacité contre toutes les souches plasmodiales même celles résistantes à la chloroquine.<sup>75 76</sup>

### **III.7.5. Autres antipaludiques :**

#### **Malarial 5 :**

C'est un produit de la division médecine traditionnelle de l'INRSP (Institut Nationale de Recherche en Santé Public) du Mali composé de poudres de trois plantes de la pharmacopée traditionnelle malienne. Elle est composée de : *Cassia occidentalis* L, *Lippia chevalieri* M et *Spilanthes oleracea* J.

Bien que la décision thérapeutique repose sur l'analyse clinique, celle-ci doit, à chaque fois, être confrontée avec les données parasitologiques et épidémiologiques locales.

### **III.8. Les médicaments de l'étude :**

#### **III.8.1. Artémether-Luméfantrine (Coartem®) :**

##### **III.8.1.1. Présentation :**

Comprimé contenant 20 mg d'artémether et 120 mg de luméfantrine pour adulte et enfant. Il ce contient 2 ou 4 plaquettes (soit 16 ou 24 comprimés) *Produit Novartis*.

##### **III.8.1.2. Composition :**

C'est une association fixe contenant deux principes actifs appelés *artémether* et *luméfantrine*. Les autres composants nécessaires à la fabrication des comprimés sont : le polysorbate 80, l'hydroxypropylcellulose, la cellulose microcristalline, le cilice colloïdale anhydre, la croscarmellose sodique et le stéarate de magnésium.

##### **III.8.1.3. Posologie et mode d'administration :**

Les comprimés doivent être pris avec un aliment gras.

- **La posologie chez l'adulte** : une cure de 3 jours est recommandée, avec quatre comprimés en une prise unique au moment du diagnostic initial, répétée 8 heures plus tard, puis deux fois par jour pendant les deux jours suivants (la cure totale comprend 24 comprimés).
- **Posologie chez l'enfant** : une cure de 3 jours est recommandée, avec 1, 2 ou 3 comprimés (en fonction du poids corporel) en une prise au moment du diagnostic, répétée 8 heures après ; puis deux fois par jour pendant les deux jours suivants.

La posologie est déterminée en fonction du poids en kilogramme :

- De 5 à 14 kilogramme de poids corporel : un comprimé de 20/120 mg.
- De 15 à 24 kilogramme de poids corporel : deux comprimés de 20/120 mg.
- De 25 à 34 kilogramme de poids corporel : trois comprimés de 20/120 mg.
- Plus de 35 kilogrammes de poids corporel : quatre comprimés de 20/120 mg.

#### **III.8.1.4. Les effets indésirables :**

Comme tout médicament, AR-L peut entraîner des effets indésirables comme :

Éruption cutanée, céphalée, troubles de sommeil, palpitations, perte d'appétit, nausées, vomissements, diarrhées, douleurs abdominales, fatigue ou faiblesse générale, douleurs articulaires et musculaires, démangeaisons cutanées, toux.

#### **III.8.1.5. Contres indications :**

La contre-indication repose sur les cas d'allergie connue à l'artémether, à la luméfantine, ou à un des excipients mais également les cas de neuropaludisme ou de toute autre complication sévère du paludisme y compris les problèmes pulmonaires ou rénaux ; femme enceinte (premier trimestre) ou allaitante.

#### **III.8.1.6. Mise en garde et précaution d'emploi :**

L'AR-L doit être conservé dans une température en dessous de 30°C. Le traitement doit être arrêté immédiatement et définitivement en cas d'effet indésirables sus cités. En cas de surdosage, contacter immédiatement son médecin ou le service des urgences de l'hôpital le plus proche en.

-L'AR-L n'est pas indiqué en traitement préventif.

### **III.8.2. Artésunate+Amodiaquine (Co-Arsucam™) :**

#### **III.8.2.1. Composition :**

- Artésunate « dénomination commune internationale » (DCI) 25, 50 et 100 mg

Excipients : amidon de maïs, hydroxypropylcellulose, cellulose microcristalline, stéarate de magnésium, saccharose, carboxyméthyl amidon sodique.

- Amodiaquine (DCI) : 67,5 ; 135 et 270 mg base ou sous forme de chlorhydrate d'amodiaquine : à 88,16 ; 176,32 et 352,64 mg

Excipients : amidon de maïs, amidon prégélatinisé, stéarate de magnésium, trisilicate de magnésium, carboxyméthyl amidon sodique.

### **III.8.2.2. Formes pharmaceutiques et présentations :**

**CO-ARSUCAM 25 mg /67.5 mg** : comprimé rond, bicouche : une couche est jaune, l'autre est blanche à légèrement jaune, avec une barre de cassure, gravé « AS » sur une face et « 25 » sur l'autre.

**CO-ARSUCAM 50 mg /135 mg** : comprimé rond, bicouche : une couche est jaune, l'autre est blanche à légèrement jaune, avec une barre de cassure, gravé « AS » sur une face et « 50 » sur l'autre.

**CO-ARSUCAM 100 mg /270 mg** : comprimé rond, bicouche : une couche est jaune, l'autre est blanche à légèrement jaune, avec une barre de cassure, gravé « AS » sur une face et « 100 » sur l'autre.

### **III.8.2.3. Posologie et mode d'administration :**

La posologie est adaptée en fonction du poids corporel à raison de 4 mg/kg d'artésunate et de 10 mg/kg d'Amodiaquine ou en fonction de l'âge, Ainsi :

- < 9kg: Co-Arsucam 25 / 67,5 mg : 1comprimé par jour pendant 3 jours.
- ≥ 9kg < 18 kg Co-Arsucam 50 / 135 mg : 1comprimé par jour pendant 3 jours.
- ≥ 18 kg < 36 kg Co-Arsucam 100 /270 mg : 1comprimé par jour pendant 3 jours.
- ≥ 36 kg Co-Arsucam 100 / 270 mg : 2comprimés par jour pendant 3 jours.

Les comprimés doivent être avalés avec de l'eau. Chez les enfants en bas âge, les comprimés peuvent être dissous ou écrasés et administrés dans un aliment liquide ou semi-liquide. En cas de vomissement dans la demi-heure suivant la prise, une nouvelle dose de CO-ARSUCAM doit être administrée.

### **III.8.2.4. Effets indésirables :**

- **Les effets indésirables pouvant être liés à l'Amodiaquine :**

Il peut s'agir d'une atteinte du foie parfois sévère, anomalie de la formule sanguine (leucopénie), démangeaisons, éruptions cutanées, pigmentation ardoisée, en particulier des doigts et des muqueuses, troubles digestifs, troubles oculaires, rarement neuropathie (atteinte du système nerveux et des muscles).

- **Les effets indésirables pouvant être liés à l'Artésunate :**

Il s'agit des modifications biologiques comme diminution des réticulocytes et augmentation des transaminases.

### **III.8.2.5. Mise en garde et précaution d'emploi :**

Les comprimés doivent être conservés à une température inférieure à 25°C et à l'abri de la lumière et de l'humidité ; En cas d'aggravation de la fatigue, des troubles digestifs, de survenue de la jaunisse ou en cas d'ulcération buccale, la médication était arrêter immédiatement.

### **III.8.2.6. Contres indications :**

Il s'agissait de cas d'allergie à l'une des composantes ; d'antécédent d'atteinte hépatique ou sanguine lors d'un traitement antérieur par l'amodiaquine et atteinte de la rétine (en cas de traitements fréquents) ; et aussi au ours du premier trimestre de grossesse et au cours de l'allaitement.

### **III.8.3. Artésunate+Sulfadoxine - Pyriméthamine :**

#### **III.8.3.1. Composition et présentation :**

Artésunate (comprimé de 50 mg sécable) +Fansidar® (comprimé quadrisécable contenant deux principes actifs, étui de 3 comprimés : sulfadoxine/pyriméthamine (500/25 mg).

#### **III.8.3.2. Excipients :**

- Pour Artésunate : amidon de maïs, hydroxypropyl cellulose, cellulose microcristalline, stéarate de magnésium, saccharose, carboxyméthyl amidon sodique
- Pour SP : amidon de maïs, lactose monohydraté, gélatine, talc, stéarate de magnésium.

#### **III.8.3.3. Posologie et mode d'administration :**

Chez l'adulte comme pour l'enfant, la posologie était déterminée en fonction du groupe d'âge, ainsi :

- Poids inférieur ou égale à 10 kg : un demi comprimé d'Artésunate + un demi comprimé de SP (Sulfadoxine-Pyriméthamine 500/25 mg).
- Poids entre 11-20 kg : 1 comprimé d'Artésunate 50 mg+1 comprimé de SP 500/25 mg.
- Poids de 21-40 kg : 2 comprimés d'Artésunate 50 mg+2 comprimés de SP 500/25 mg.
- Supérieur ou égale à 41 kg : 4 comprimés d'artésunate 50 mg +3 comprimés de SP 500/25 mg.

Les comprimés sont avalés avec un verre d'eau et devront être écrasés chez les enfants qui ne sont pas capables de les avaler.

### III.8.3.4. Les effets indésirables :

Il s'agit d'effets indésirables liés à l'Artésunate décrits précédemment et, d'effets indésirables pouvant être liés à la sulfadoxine-pyriméthamine sous forme de :

Maux de tête, nausées, vomissements, carence en folate. De très rares cas sévères de réaction cutanés tels les syndromes de Steven Jonson, érythème polymorphe, érythrodermie bulleuse avec épidermolyse ont été rapportés.

### III.9. La résistance aux antipaludiques :

La chimiorésistance des parasites constitue un des obstacles majeurs qui entravent les programmes nationaux de lutte contre le paludisme depuis des décennies.

La situation mondiale du paludisme est marquée par la résistance des parasites à des antipaludiques majeurs, notamment à la chloroquine, le moins cher des médicaments antipaludiques et la Sulfadoxine-Pyriméthamine.

L'OMS définit la chimiorésistance comme "l'aptitude d'une souche de parasite du paludisme à survivre ou à se reproduire malgré l'administration et l'absorption d'un médicament employé à des doses égales ou supérieures aux doses ordinairement recommandées mais comprises dans les limites de tolérance du sujet".

Elle date de 1973, à l'époque où ni la technique de mise en culture *in vitro* de *P. falciparum* ni la méthode HPLC n'était mise au point et que le génotypage et la détection des mutations étaient encore un domaine naissant. Il n'est donc pas étonnant que la définition de la chimiorésistance citée ci-dessus soit fondée sur l'observation clinique<sup>77</sup> afin de mieux comprendre les notions de chimiorésistance et d'adapter la stratégie de riposte pour retarder et limiter la dissémination des parasites résistants au sein d'un pays. Les tests *in vivo*, les tests *in vitro*, les tests moléculaires et le dosage de médicaments apportent toujours des informations complémentaires, sachant bien que chacune de ces méthodes aborde le phénomène de la chimiorésistance sous un angle différent.<sup>78</sup>

La résistance de *P. falciparum* aux antimalariques est un phénomène réel sur tous les continents. Plusieurs études ont été menées pour expliquer le mécanisme de la résistance du plasmodium aux antipaludiques. Et, comme chez les bactéries, la résistance aux antipaludiques peut survenir par le biais d'un ensemble de mécanismes non exclusifs, que sont : (1) L'inactivation enzymatique ou la dégradation des médicaments,<sup>79</sup> (2) une altération du site de fixation du médicament par mutation,<sup>79</sup> (3) un défaut d'accumulation du médicament dans la vacuole digestive du parasite ou une altération

de la perméase membranaire par mécanisme d'efflux et ou par défection des gradients de PH,<sup>80</sup> ou (4) un efflux actif du médicament au niveau de son site d'action du à une perturbation de l'équilibre

## IV. METHODOLOGIE :

### IV.1. Lieu d'étude



**Figure II: Carte du Mali montrant le cercle de Sikasso et la position du site d'étude.**

Cette étude a été menée à Bougoula Hameau, un quartier périurbain de 5000 habitants, situé à 5 Km de Sikasso.

Il est limité au Nord par Sabalibougou, au Sud par Momobougou, à l'Ouest par Sikasso et à l'Est par Kaféla.

Il est situé à 11°21 latitudes Nord et 5°11 longitudes Ouest.

Le paludisme est holo-endémique à Bougoula avec un indice plasmodique (IP) situé entre 40 et 50% en saison sèche (Novembre à Avril) et entre 70 et 85% en saison pluvieuse (Mai à Octobre).<sup>4</sup>

#### **IV.1.1. Historique du village :<sup>81</sup>**

Bougoula fut fondé par Massa Daoula Traoré dit Sékou vers 1860. Il est originaire de Kong. Grand chasseur qu'il fut, il a été conseillé par ses prédicateurs, d'aller s'installer en un endroit qui est entre deux marigots « KOFILABING » où les animaux viennent s'abreuver, pour avoir plus de gloire.

Il était à Finkolo à l'est de Bougoula qui est un endroit où deux marigots se croisent. D'après ses prédicateurs, Finkolo n'était pas son lieu de prestige.

Il avait trouvé par sa chasse Bougoula-Hameau qui se trouvait entre deux marigots ; qui était un endroit où la végétation était caractérisée par de grandes herbes parsemées d'arbres géant et où il y'avait beaucoup d'animaux sauvages.

Son lieu de repos au cours de ses chasses a été aménagé en un lieu d'habitation.

Après le compte rendu du lieu à ses prédicateurs, ceux-ci l'on dit que c'était le lieu de choix.

Il avait deux femmes qui étaient : Kounkou Berthé (la première) et Dounamba (la deuxième). Il avait 3 enfants : une fille (Momo Traoré) et deux garçons (Tiéba et Babemba Traoré). Ses activités étant : la chasse, le tissage, la guerre et la formation des guerriers. Il fut le véritable fondateur du royaume de kénéDougou et de la dynastie des Traoré. Très dynamique, Daoula devint un guerrier infatigable. Il remporta une série de victoires contre les troupes de Kong notamment à Dougoumouso et à Niradougou.

Il fit de Bougoula la première capitale du royaume.

Daoula, désormais appelé Massa Daoula Traoré entreprit de nombreuses expéditions militaires. Il mourut à la suite d'un empoisonnement par une femme déguisée en sa femme au cours d'une dernière expédition à Bama vers l'actuelle Burkina. Son corps fut transporté dans la peau d'une vache rouge jusqu'à Bougoula, sa capitale où il fut enterré dans une case qui est l'un des sites touristiques de Sikasso. Aujourd'hui Bougoula est un quartier périurbain situé sur l'axe routier Sikasso Bobo-Dioulasso (Burkina Faso). Il est divisé en deux blocs : Sokoro (ancien bloc) et Sokoura (nouveau bloc). L'actuel chef du village est Sounkalo Koné.

#### **IV.1.2. Climat, végétation, faune et sol :**

##### **IV.1.2.1. Climat :**

Le climat est de type soudanien. Il est sous l'influence de la zone forestière humide avec une période pluvieuse pouvant atteindre 6 mois environ (Mai à Octobre) par an. Cet avantage climatique donne au quartier une vocation agricole de premier ordre.

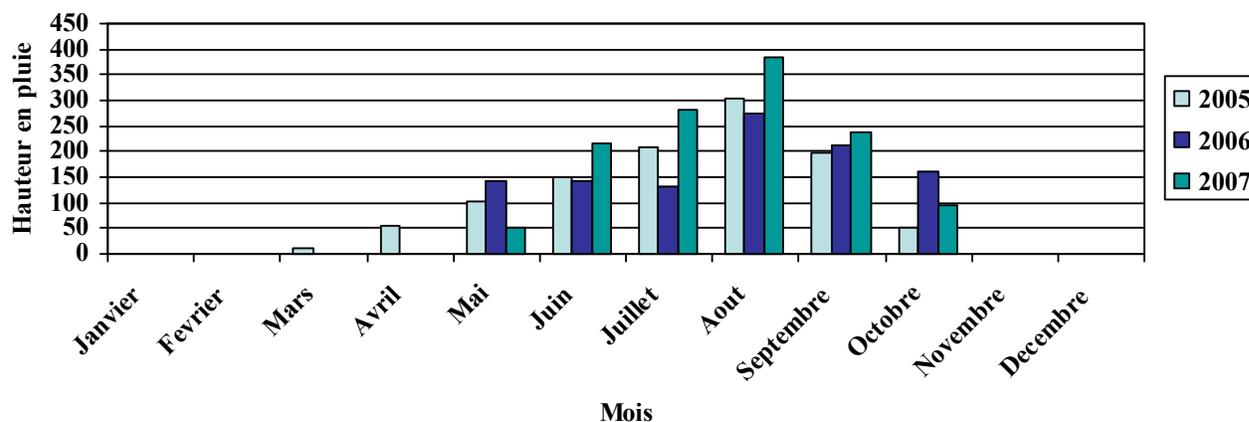
Le climat se divise en deux saisons :

\*la saison sèche froide (de Novembre à Février) : C'est la saison pendant laquelle le quartier bénéficie des températures douces. Les minima de température sont enregistrés entre le crépuscule et le levé du soleil. Durant cette période, le quartier se trouve balayé par l'alizé continental qui souffle d'Ouest en Est, vent sec et desséchant que l'organisme humain supporte mal.

\* la saison sèche chaude (de Mars à Avril) : C'est la saison pendant laquelle les maxima de température sont enregistrés. Pendant ces mois, le quartier subit la confrontation de l'alizé marine et de l'alizé continental avec la prédominance de l'alizé continental. Ce vent a une direction nord sud, le début d'hivernage se caractérise par des possibilités d'évapotranspiration très élevées. Cette période correspond à un temps mort pour les travaux ;

\* la saison pluvieuse (de Mai à Octobre) : C'est la période pluvieuse pendant laquelle les maxima de pluviométrie sont atteints à Bougoula.

**Situation comparative de la pluviométrie dans le cercle de Sikasso de 2005 à 2007**



**Figure III: Relevé pluviométrique du cercle de Sikasso de 2005, 2006 et 2007**

#### IV.1.2.2. Végétation :

Bougoula se trouve dans la zone soudanienne dominée par une savane boisée avec des hautes herbes parsemées de grands arbres. Tout au long des cours d'eau, la végétation est plus dense et forme la forêt galerie.

#### IV.1.2.3. La flore :

Elle est constituée par les espèces suivantes :

Le karité (*Butyrospernum parkii*) ; Le néré (*Parkia biglobosa*) ; Le baobab (*Adansonia digitata*) ;

Le caillcedrat (*Kaya sénégalinensis*) ; Le fromager (*Ceiba pentandra*) ;

Le koundiè (bambara) (*Guiera senegalensis*);

Le n'taba (bambara) (*Corla cordifolia*) ; Le tamarinier (*Tamarindus indica*) ;

Le kapokier (*Bombax costatum*) ;

Les principales herbes sont des graminées vivaces :

Le « waga » (bambara) (*Andropogon gayanus*) et le n'goolo (bambara) (*Pennisetum pedicellatum*) qui constituent un tapis verdoyant pendant la saison pluvieuse. La végétation est brûlée chaque année et le tapis herbacé prend la couleur jaune paille.

#### **IV.1.2.4. La faune :**

Parmi les vertébrés on rencontre les reptiles, plusieurs espèces d'oiseaux, et de petits mammifères notamment les lièvres, les hérissons et quelques phacochères.

Parmi les insectes d'importance médicale on rencontre :

Les Anophèles, les Culex, les Mansonia, les Pharoensis.

#### **IV.1.2.5. Le sol :**

Le sol est argilo-siliceux, on y rencontre en abondance des pyrites de fer sur le plateau, du grès sur les pentes et du granit sur les hauteurs. La terre est fertile et favorable à l'agriculture.

#### **IV.1.3. Relief et hydrographie :**

Le relief est composé de plateaux et de collines de basse altitude.

Bougoula se trouve entre trois marigots :

À l'entrée se trouve le "Farako" qui prend sa source à Sirakoro.

Le quartier est traversé par le "N'goroni" qui prend sa source à Bougoula ;

À la sortie se trouve le "Koba" qui prend sa source à Momobougou au sud du quartier.

L'eau du "Koba" ne tarissant pas complètement pendant la saison sèche, des gîtes de larve de moustiques peuvent se rencontrer pendant toutes les saisons.

#### **IV.1.4. Démographie :**

La population de Bougoula s'élève à 5000 habitants repartis en deux blocs (Recensement MRTC Bougoula 2005). En plus des senoufo qui constituent l'ethnie dominante (95%), les Bambara, les Malinkés, les Bobos, les Sonrhais, les Haoussas, les Samos, et les Mossis constituent les 5%.

Les religions dominantes sont : l'islam et l'animisme, il existe cependant quelques Chrétiens.

#### **IV.1.5. Habitat :**

Dans le quartier on rencontre trois types d'habitations :

Des cases rondes avec toit conique en paille ; des maisons rectangulaires avec toit en tôle, les plus fréquentes ; des maisons rondes ou rectangulaires avec toit en terrasse. Ces habitations constituent le lieu de repos pour les moustiques (*Anophele*).

#### **IV.1.6. Activités économiques :**

Les activités économiques sont essentiellement basées sur l'agriculture et on distingue trois cultures.

Les cultures vivrières : mil, riz, sorgho, haricot, manioc, patate douce, fonio, oseille de *Guinée*, et le coton.

Les cultures maraîchères : pomme de terre, igname, tomate, aubergine, gombo, oignon, laitue, carotte, choux, concombre, piment.

Les cultures fruitières : manguiers, bananiers, orangers, papayers, mandariniers, fromagers (banan), goyaviers.

Les produits de cueillettes : les noix de Karité, les fruits de Néré, de Tamarinier, du Zaban.

L'élevage, la pêche et l'artisanat constituent une activité secondaire. On y élève des bovins, de caprins, des ovins et de la volaille. La pêche est pratiquée dans les marigots. La forge et la tannerie sont les principales activités de l'artisanat.

#### **IV.1.7. Organisation administrative :**

Bougoula est dirigé par un chef de quartier et cinq conseillers. La chefferie se fie par consensus des habitants du quartier. Le chef sera annoncé à la mairie qui lui remettra son chapeau de chef. Depuis qu'il est devenu quartier de Sikasso, Bougoula a connu six (6) chefs de quartiers qui sont : Ngolo Ouattara, Féry Koné, Lamissa Traoré, Daouda Traoré, Kader Berthé et Sounkalo Koné.

#### **IV.2. Infrastructures :**

Bougoula dispose d'un centre de santé composé d'une maternité et d'un dispensaire dirigé par un infirmier d'état ; d'une école du premier cycle fondamentale de six classes, d'une medersa, d'un CED (Centre d'Education pour le Développement) et de deux mosquées.

#### **IV.3. Période d'étude :**

Les travaux se sont déroulés de Juillet 2005 à Juin 2007.

Pour la récolte des données sur le terrain, l'équipe parasito-clinique était basée dans le village de Bougoula Hameau pendant toute la durée de l'étude.

#### **IV.4. Le choix du lieu d'étude :**

L'accessibilité géographique du village de Bougoula Hameau est facile pendant toute l'année. Bougoula-Hameau a été l'objet de plusieurs de nos études par le passé.

#### **IV.5. Type d'étude :**

Nous avons mené un essai clinique randomisé ouvert comparatif à trois bras de traitement.

Il s'agissait d'évaluer l'intérêt en santé publique de l'utilisation des combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine ; dans la population de sujets souffrant de paludisme simple en Afrique subsaharienne (Mali).

#### **IV.6. Population d'étude :**

L'étude s'adressait à l'ensemble de la population ayant un âge supérieur ou égal à six mois, résidant à Bougoula-Hameau pour la durée de l'étude. Tous les malades souffrant de paludisme simple étaient éligibles pour participer à notre étude.

Les sujets assignés à un traitement donné par hasard recevaient le même traitement durant toute la durée de l'étude.

#### **IV.7. Critères d'inclusion et de non inclusion :**

##### **IV.7.1. Critères d'inclusion :**

- adultes ou enfants de plus de 6 mois avec un poids supérieur à 5 kg ;
- résider dans le village de Bougoula Hameau durant toute la durée du suivi ;
- être capable de recevoir un traitement par voie orale ;
- avoir une température axillaire  $\geq 37,5$  °C ;
- avoir une infection plasmodiale non spécifique avec une densité parasitaire comprise entre 2000 à 200 000 formes asexuées /mm<sup>3</sup> de sang ;
- obtenir le consentement éclairé de chaque participant ou assentiment pour les enfants.

##### **IV.7.2. Critères de non inclusion :**

- présence de signes cliniques de paludisme grave ;
- pathologie sévère concomitante ;
- allergie connue à l'un des médicaments ;
- femmes enceintes;
- Troubles digestifs graves : Vomissements répétés, diarrhée.

#### **IV.8. Echantillonnage :**

Pour estimer le nombre de sujets nécessaires à l'étude, nous nous sommes référés sur nos études antérieures dans la localité. Celles-ci ont montré que parmi la population d'enfants, 70 % au moins peuvent faire deux épisodes de paludisme par saison après une cure normale à la Sulfadoxine-Pyriméthamine. Cependant, en ajustant la taille de notre échantillon dans l'ordre de 30% pour des épisodes ultérieurs, avec une estimation du taux de perdu de vue de l'ordre 10%, nous avons donc inclus 260 participants par bras. Ainsi le total de l'échantillon revient à 780 participants que nous avons atteints en moins deux ans.

#### **IV.9. Méthodes de collecte des données :**

Les données ont été collectées sur le terrain au centre de santé de Bougoula- Hameau.

##### **IV.9.1. Collecte des données sur le terrain :**

Elles ont été collectées à l'aide d'un dossier individuel standardisé élaboré conformément aux objectifs de l'étude (questionnaire).

Ce dossier comportait le numéro d'enregistrement du malade, sa résidence, son âge ; des renseignements sur les médicaments déjà consommés par le malade dans les 72 heures précédant son inclusion dans notre étude. Il comportait aussi des renseignements sur l'état clinique du malade à savoir la température, le poids, la rate, le bras et les doses de traitement à administrer (médicament de l'étude) et autres traitements concomitants ainsi que des renseignements biologiques à savoir la parasitémie, le taux d'hémoglobine, la glycémie, la numération formule sanguine (leucocyte, plaquette), la créatinémie et le dosage de l'ALAT.

##### **IV.9.1.1. Les renseignements généraux :**

Ils ont été recueillis par interview directe et consistaient à identifier le malade, la prise de température axillaire, la mesure du poids corporel, la mesure de la taille, la localisation. Les renseignements ainsi obtenus étaient enregistrés sur une fiche qui accompagne le malade au poste du clinicien.

##### **IV.9.1.2. Données cliniques :**

Les données étaient collectées par suite d'un examen physique qui consistait à la mesure de la température, du poids, de la taille, de la fréquence respiratoire, de la fréquence cardiaque, de la tension artérielle et de la palpation de la rate.

➤ **Matériel :**

Il était constitué de : Blouse, thermomètre électronique, de stéthoscope médical, un tensiomètre, toise, une balance, une table de consultation, de stylo, une armoire métallique et le cahier d'observation.

➤ **Technique de collecte :**

✓ **Médicaments :**

Les antipaludiques (sulfate de quinine, Artésunate, Amodiaquine, sulfadoxine-pyriméthamine, Coartèm®). Les autres étaient : des antibiotiques, des antipyrétiques, des benzodiazépines, des antihistaminiques, des anti-inflammatoires, des antitussifs.

✓ **L'examen clinique :**

L'examen clinique complet était réalisé chez tous les patients et les fiches de suivi étaient régulièrement mises à jour.

Les doses des combinaisons thérapeutiques antipaludiques (Coartèm®, Artésunate + Amodiaquine, Artésunate + sulfadoxine-pyriméthamine) étaient administrées par une personne habilitée et à l'insu des cliniciens selon les posologies données.

● **Mesure de la température axillaire :**

La température était prise à l'aide d'un thermomètre électronique placé dans le creux axillaire.

L'audition d'un signal sonore indique la fin de la prise de température.

La fièvre était définie par une température axillaire non corrigée supérieure ou égale à 37,5 °C.

● **Palpation de la rate :**

La palpation était effectuée sur le sujet debout et selon la classification de Hackett :

Rate 0 : rate non palpable,

Rate 1 : rate palpable en inspiration profonde,

Rate 2 : rate s'étendant du bord du rebord costal jusqu'à mi-distance du nombril,

Rate 3 : rate atteignant le niveau du nombril,

Rate 4 : rate dépassant le nombril,

Rate 5 : rate descendant entre le nombril et la symphyse pubienne.

● **Traitement des cas de maladie :**

Tous les cas de paludisme simple avec une parasitémie comprise entre 2000 et 200.000 formes asexuées/ mm<sup>3</sup> de sang, remplissant les critères d'inclusion du protocole cités plus bas et après obtention du consentement éclairé ou assentiment pour les enfants étaient assignés à l'un des bras

Méthodologie

de traitement des combinaisons de façon aléatoire selon leur ordre d'arrivée. Tous les traitements étaient administrés au centre de santé de Bougoula-Hameau par un membre de notre équipe, à distance et à l'insu des cliniciens. En cas de vomissement dans les 30 minutes qui suivent l'ingestion ou de rejet du médicament, une seconde dose était administrée.

Les cas graves étaient exclus de l'étude mais traités par les sels de quinine en perfusion dans du sérum glucosé 5% ou 10% ; en injection intramusculaire profonde.

Les autres cas (charge parasitaire inférieure à 2000) étaient traités par les sels de quinine par voie orale.

#### **IV.9.2. Données Parasitologiques et Biologiques :**

Elles ont été collectées au poste de biologie et au laboratoire, consistaient à faire une goutte épaisse et de la lire au microscope électrique binoculaire, de faire les confettis, d'évaluer le taux d'hémoglobine, d'effectuer la numération formule sanguine, d'évaluer le taux de la créatinine sanguine et des enzymes hépatiques (AlAT).

##### **IV.9.2.1. Examens Parasitologiques :**

###### **➤ Matériel :**

Blouse, gants stériles, lames porte-objet, vaccinostyles stériles a usage unique, alcool a 90°C, coton hydrophile, poubelle, Giemsa pur, eau tamponnée, bacs de coloration, éprouvette graduée, râteliers, boîte OMS, séchoir, eau déionisée, crayon a papier, chronomètre, huile d'immersion, compteur manuel, microscope optique binoculaire et une table de lecture.

###### **➤ Goutte épaisse :**

###### **✓ Principe :**

Elle consiste à rechercher le parasite, à identifier l'espèce plasmodiale, et à déterminer la densité parasitaire.

###### **✓ Mode opératoire :**

L'index ou le majeur de la main gauche était désinfecté par un tampon l'alcool, puis essuyé par un morceau de coton sec afin d'enlever le reste d'alcool. Une ponction capillaire était faite au niveau de ce doigt, la première goutte était essuyée avec du coton sec, on récupère la seconde sur une lame porte-objet, avec le coin d'une autre lame ou la pointe d'un vaccinostyle, étaler régulièrement le sang sur une surface de 1 cm de diamètre, en tournant régulièrement pendant 2 minutes.

Retourner la lame et laisser sécher à plat sur un support à la température ambiante soit pendant 1 heure à l'étuve à 37 °C. Recouvrir abondamment la goutte épaisse du mélange Giemsa. Laisser agir pendant 5 à 10 minutes jusqu'à décoloration complète. Fixer ensuite à l'alcool méthylique.

- *Coloration* : jeter le liquide avec précaution (risque de décollement de la pellicule de sang) et remplacer immédiatement par le mélange : de Giemsa 10%. Laisser agir 20 minutes puis rejeter le liquide avec précaution. Laver à l'eau du robinet, en faisant couler le liquide très délicatement sur la lame. Sécher à l'air.

Les lames étaient marquées par un crayon indélébile. Les lames étaient séchées d'abord dans une boîte OMS à l'abri des mouches.

#### ✓ **Examen microscopique :**

La lecture des gouttes se faisait sur place par un membre de l'équipe de recherche à l'aide d'un microscope optique binoculaire à l'objectif 100 sous immersion. La densité parasitaire était déterminée en comptant le nombre de parasite sur 300 leucocytes et le tout rapporté à 7500 leucocytes par millimètre cube de sang. Après lecture, les lames étaient rangées et gardées dans des boîtes à lame pour la conservation.

#### ➤ **La confection des confettis :**

Elle était effectuée au poste de biologie, l'ADN parasitaire était collecté sur du papier filtre à partir de quelques gouttes de sang du patient.

#### ✓ **Principe :**

Consiste à immobiliser les parasites sur du papier filtre.

#### ✓ **Matériel :**

Papier filtre, gants stériles, vaccinostyles stériles, coton hydrophile, alcool à 90°C, paire de ciseaux, registre, crayon à papier, enveloppes, agrafe, agrafeuse, scotch, cantine et poubelle.

#### ✓ **Technique :**

Découper du papier filtre à l'aide d'une paire de ciseaux environ 4 cm de long sur 2 cm de large. Pratiquer 4 languettes d'environ 3 mm chacune. Inscrire le numéro d'identification du patient sur le papier à l'aide du crayon. Imbiber les 4 languettes de sang puis laisser sécher à la température ambiante.

➤ **Gestion des confettis :**

Les confettis étaient séchés accrochés à du scotch, dans la cantine à l'abri des mouches et de la poussière, puis conservés et transportés dans des enveloppes individuelles à température ambiante. Ces confettis ont été utilisés pour l'analyse moléculaire.

**IV.9.3. Prévalence des gamétocytes :**

Nous avons quantifié la présence des gamétocytes de *P. falciparum* indépendamment des formes asexuées aux jours 0, 7, 14, 21 et 28. La gamétocytémie est déterminée sur 1000 leucocytes.

**IV.9.4. Étude hématologique et biochimique :**

➤ **Principe :**

Elle consistait à déterminer le taux d'hémoglobine à l'aide d'un Hémocue®, la numération formule sanguine, la glycémie, la créatininémie, le taux de l'Alanine Amino-Transférase.

➤ **Matériels et réactifs :**

Alcool à 70°C, coton hydrophile, gants stériles, blouse, garrots, seringue stérile à usage unique, aiguilles épicroâniennes stériles à usage unique, tubes stériles avec EDTA, tubes secs, tubes NUNCS, marqueur, boîte de cryoconservation, pipettes, embouts, centrifugeuse, congélateur, bandelettes réactives Reflotron®, HORIBA ABX®, imprimante Epson, mini lyse, mini clean, diluant, système Reflotron®, HEMOCCUE®, glycomètre®, poubelle.

➤ **Modes opératoires :**

✓ **Taux d'hémoglobine :**

Nous avons utilisé l'appareil Hémocue®.

A partir d'une ponction capillaire, à l'aide d'un vaccinostyle stérile, nous remplissons la micro cuvette de sang que l'on introduit ensuite dans l'appareil Hémocue®. La valeur du taux d'hémoglobine, exprimée en g/dl, s'affiche sur l'écran de l'appareil. Un contrôle de qualité est réalisé systématiquement tous les jours. Le taux d'hémoglobine a été évalué au J0, au 14<sup>e</sup> jour et au 28<sup>e</sup> jour pour chaque épisode. L'incidence de l'anémie a été définie comme tous les sujets ayant un taux d'hémoglobine supérieur ou égale 10g/dl au J0 avant l'administration de médicaments, et qui étaient devenus anémiques au cours du suivi et définie comme un taux d'hémoglobine inférieur à cette valeur.

✓ **Glycémie :**

A partir de la ponction capillaire, nous déposons une goutte de sang sur la bandelette que l'on introduit ensuite dans le glycomètre. La valeur de la glycémie, exprimée en mg/dl, s'affichée sur l'écran de l'appareil.

✓ **Créatinine et Alanine Amino-Transférase (ALAT) :**

Nous avons utilisé du sérum obtenu après prélèvement et centrifugation à 3500 trs/mn pendant 10 minutes de sang veineux recueilli à l'aide de tubes de prélèvement. S'assurer que le numéro d'étude et la date de prélèvement sont portés sur chaque tube à tester.

Nettoyage externe et interne de l'appareil Reflotron®,

Allumer l'appareil Reflotron®. Lorsque le message « prêt » s'affiche, faire le contrôle de qualité quotidien pour le paramètre biochimique que l'on veut doser.

A l'aide du clavier, saisir le numéro d'étude du patient. Retirer une bandelette réactive du tube de conservation et refermer immédiatement ce dernier. Retirer la feuille protectrice de la bandelette réactive en évitant de courber celle-ci. Prélever le sérum à l'aide de la pipette sans former de bulles et en déposer une goutte (32 µl) au centre de la partie rouge de la zone de dépôt en veillant à ne pas toucher celle-ci avec l'embout

de la pipette. Soulever le couvercle du Reflotron® et, dans les 15 secondes, insérer horizontalement la bandelette réactive dans la loge prévue à cet effet jusqu'à ce qu'un déclic se fasse entendre. Rabattre le couvercle. L'appareil confirme que le code magnétique spécifique au test a été correctement lu en affichant « créa ou GPT (Glutamate Pyruvate Transaminase) ». Les secondes défilent à l'écran jusqu'à ce que le résultat apparaisse. Les résultats sont exprimés en mg/dl, µM/l ou en UI selon l'analyse demandée.

✓ **La numération formule sanguine :**

Nettoyer l'appareil ABX,

Mettre l'imprimante en marche,

Mettre l'appareil ABX en marche et attendre que le voyant lumineux (LED) de la face avant passe du rouge au vert (3 mn),

Effectuer le contrôle de qualité quotidien (faire passer les témoins 4C plus),

Faire passer l'échantillon après ces procédures, pour cela il faut :

Saisir le numéro d'identification du tube contenant le sang à examiner, à l'aide du clavier de l'appareil,

Ensuite présenter le tube à la sonde et appuyer sur la gâchette de départ du cycle.

Résultats et interprétations :

Les paramètres qui s'affichent sont : globules rouges (GR), globules blancs (GB), hémoglobine (Hb), volume globulaire moyen (VGM), hématocrite (Ht), plaquettes (Pl.), lymphocytes (LY), monocytes (Mo), et granulocytes (Gra). Ces résultats sont systématiquement imprimés, puis reportés sur les fiches d'enquête.

#### **IV.10. Etude de biologie moléculaire :**

Le matériel biologique est constitué par des confettis réalisés sur le terrain aux jours J0, J2, J3, J7, J14, J21, J28 et aux jours de visite imprévue de chaque épisode.

L'étude moléculaire a été effectuée dans le laboratoire de l'Unité d'Epidémiologie Moléculaire et de Chimiorésistance (MEDRU) du Département d'Epidémiologie des Affections Parasitaires (DEAP) de la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie (FMPOS) de l'université de Bamako.

Nous avons procédé à l'extraction, à l'amplification, à la migration, à la révélation par photographie à la lumière ultra violet de l'ADN plasmodial et l'interprétation des résultats obtenus.

La réaction de polymérisation en chaîne (PCR) est la technique que nous avons utilisée pour l'analyse de l'ADN. Il s'agissait de différencier la recrudescence du parasite aux médicaments d'une nouvelle infection (réinfections) par les gènes MSP1 (Mérozoïte Surface Protein1), MSP2 (Mérozoïte Surface Protein 2) et microsatellite CA1.

##### **IV.10.1. Principe :**

Elle est basée sur l'amplification exponentielle in vitro de l'ADN en présence d'amorces spécifiques, de nucléotides, de Taq polymérase et d'un milieu tampon. C'est une technique décrite en 1985 par K. Mullis et collaborateurs permettant une amplification enzymatique in vitro de l'ADN originel.

##### **IV.10.2. Extraction de l'ADN plasmodial :**

###### **✓ Matériel et réactif :**

Blouse, paire de gants, paire de ciseaux, papier hygiénique, confettis, marqueur indélébile, racks, tubes eppendorfs, Becher, poubelle, pipette (100, 200, 1000), embout (100, 200, 1000), méthanol, hotte, eau de ionisée, plaque chauffante, thermomètre, agitateur, congélateur.

✓ **Mode opératoire :**

L'ADN plasmodial a été extrait à l'aide du méthanol et de l'eau. Cette extraction a consisté à découper approximativement 3 mm<sup>2</sup> de confettis imprégnés de sang, le transférer dans un micro tube, puis ajouter 50-100 µl de méthanol dans le tube. Laisser incubé à la température ambiante pendant 15 mn. Le papier est complètement immergé dans le méthanol. Jeter le méthanol, sécher les morceaux de confettis sous vide ou à l'air libre.

Après séchage, ajouter dans chaque tube 50-75 µl d'eau distillée, puis chauffer pendant 15 mn entre 95-100°C. Agiter toutes les 5 mn au cours du chauffage pour faciliter l'extraction de l'ADN plasmodial. Le produit obtenu était directement utilisé pour la PCR ou gardé à -20°C.

**IV.10.3. Amplification de l'ADN plasmodial :**

➤ **Matériels :**

Blouses, gans, marqueur indélébile, tubes de 200 ou de 500 µl, tubes de 1500 µl, pipettes (2, 10, 20, 100, 200, et 1000 µl), embout (2, 10, 20, 100, 200 et 1000 µl), racks, portoirs pour pipette, thermocycleur, poubelle.

➤ **Réactifs et leur préparation :**

✓ **Solution tampon (PCR Buffer) :**

C'est une solution tampon, concentrée à 10X fournie par les compagnies commerciales avec ou sans magnésium (Mg<sup>2++</sup>).

✓ **dNTP (désoxy Nucléotide Tri Phosphate) :**

La concentration finale était de 200µM par réaction.

Une solution de travail équimolaire des quatre dNTPs à 2 mM soit 10X de la solution finale était préparée à partir d'un stock de 100 mM.

✓ **Amorce :**

Les amorces viennent sous forme de poudre lyophilisée. Le stock de travail de 100µM était préparé à partir de cette poudre par une résuspension dans du tri EDTA (TE) après la détermination de la densité optique.

✓ **Taq polymérase :**

C'est une enzyme plus particulièrement de l'ADN polymérase utilisée dans la réaction de PCR. Elle extraite d'une bactérie thermophile *Thermus aquaticus* vivant dans les zones hydrothermales où la température dépasse les 100°C. Sa demie vie enzymatique à 95°C est de 40 mn.

➤ **Technique :**

✓ **Première amplification pour les gènes MSP1 et MSP2 :**

- Identifier les tubes de 200 ou 500 µl conformément aux numéros des confettis à traiter,
- Préparer le Master MIX dans un tube de 1,5 ml en fonction du nombre d'échantillons à traiter par réaction selon les tableaux 1, 2 et 3,
- Repartir dans chaque tube identifié 24µl de Master MIX,
- Ajouter 1 µl d'ADN extrait au méthanol dans chaque tube correspondant,
- Centrifuger brièvement les tubes,
- Placer les tubes bien fermés dans le Thermocycleur pour l'amplification avec le programme approprié (Tableaux 4, 5 et 6),
- Faire l'électrophorèse sur gel d'agarose (1,5% pour msp1 et 1,8% pour msp2) avant de passer à la deuxième amplification (cf. MON gel d'agarose),
- Faire la photo du gel,
- Interpréter la photo (présence d'une ou de plusieurs bandes).

● **Couples d'amorces de la première amplification :**

**MSP1 :**

O1 : CACATGAAAGTTATCAAGAACTTGTC

O2 : GTACGTCTAATTCATTTGCACG

**MSP2 :**

S2 : GAAGGTAATTTAAAACATTGTC

S3 : GAGGGATGTTGCTGCTCCACAG

**Tableau I: Mélange réactionnel pour un volume final de 25  $\mu$ L (MSP1) première amplification.**

Réactifs	Concentration initiale	Concentration finale	Volume ( $\mu$ L)
Buffer/MgCl <sub>2</sub>	5X/7,5 mM	1X/1,5 mM	5
dNTP	10X/2 mM	1X/200 $\mu$ M	2.5
Amorces (O1 et O2)	100X/10 $\mu$ M	1X/100 nM	0.25
Taq Polymérase	5U/ $\mu$ L	0.025U	0.125
Eau pour PCR	-	-	16.125
Total			24

On ajoute dans chaque tube 1  $\mu$ L de l'ADN extrait au méthanol

**Tableau II: Mélange réactionnel pour un volume final de 25  $\mu$ L (MSP2) première amplification.**

Réactifs	Concentration initiale	Concentration finale	Volume ( $\mu$ L)
Buffer/MgCl <sub>2</sub>	5X/7,5 mM	1X/1,5 mM	5
dNTP	10X/2 mM	1X/200 $\mu$ M	2.5
Amorces (S2 et S3)	100X/10 $\mu$ M	1X/100 nM	0.25
Taq Polymérase	5U/ $\mu$ L	0.025U	0.125
Eau pour PCR			16.125
Total			24

On ajoute dans chaque tube 1  $\mu$ L de l'ADN extrait au méthanol

#### ✓ DEUXIEME AMPLIFICATION :

- Identifier les tubes de 200 ou 500  $\mu$ l conformément aux numéros des produits de la première amplification à traiter,
- Préparer le Master MIX dans un tube 1,5 ml en fonction du nombre d'échantillons à traiter par réaction selon les tableaux ci-dessous,
- Repartir dans chaque tube identifié 24 $\mu$ l de Master MIX,

- Ajouter un volume du produit de la 1<sup>ère</sup> amplification dans chaque tube correspondant en fonction de la présence de bande (0,5 µl) ou des traînées (0,1 µl),
- Centrifuger brièvement les tubes, fermer et placer les dans le thermocycleur pour l'amplification selon le programme approprié,
- Faire l'électrophorèse sur gel d'agarose : 1,5% pour msp1 et 1,8% pour msp2 (cf. MON gel d'agarose),
- Faire la photo du gel,
- Interpréter la photo.

● **Couples d'amorces de la deuxième amplification :**

**MSP1 : [500 Pb]**

**N1 : GCAGTATTGACAGGTTATGG**

**N2 : GATTGAAAGGTATTTGAC**

**MSP2 : [500 Pb]**

**S1 : GAGTATAAGGAGAAGTATG**

**S4 : CTAGAACCATGCATATGTCC**

**Tableau III: Mélange réactionnel pour un volume final de 25 µL (MSP1) deuxième amplification.**

Réactifs	Concentration initiale	Concentration finale	Volume (µL)
Buffer/MgCl <sub>2</sub>	5X/17,5 mM	1X/3,5 mM	5
dNTP	2 mM	200 µM	2.5
Couple d'amorces N1N2	10 µM	100 nM	0.25
Taq Polymérase	5U/µL	0.05U	0.125
Eau pour PCR			16.625
Total			24.5

**On ajoute 0.5 µL du produit PCR de la 1<sup>ère</sup> amplification**

**Tableau IV: Mélange réactionnel pour un volume final de 25 µl (MSP2) deuxième amplification.**

Réactifs	Concentration initiale	Concentration finale	Volume (µL)
Buffer/MgCl <sub>2</sub>	5X/17,5 mM	1X/3,5 mM	5
dNTP	2 mM	200 µM	2.5
Couple d'amorces S1S4	10 µM	100 nM	0.25
Taq Polymérase	5U/µL	0.05U	0.125
Eau pour PCR			16.625
Total			24.5

On ajouter 0.5 µl du produit PCR de la première amplification

✓ Différents programmes d'amplification :

**Tableau V: Programme de la première et deuxième amplification MSP1.**

Etapes	Température	Temps
Dénaturation initiale	94 °c	3 min
Dénaturation	94 °c	25s
Hybridation	50 °c	35 s
Elongation	68 °c	2 min 30 s
30 cycles à partir de la 2ème étape		
Elongation finale	72 °c	3 min
Conservation	4 °c	∞

**Tableau VI: Programme de la Première amplification MSP2.**

Etapes	Température	Temps
Dénaturation initiale	94 °C	3 min
Dénaturation	94 °C	25 s
Hybridation	42 °C	60 s
Elongation	65 °C	2 min
30 cycles à partir de la 2ème étape		
Elongation finale	72 °C	3 min
Conservation	4 °C	∞

**Tableau VII: Programme de la deuxième amplification MSP2.**

<b>Etapes</b>	<b>Température</b>	<b>Temps</b>
Dénaturation initiale	94 °C	3 min
Dénaturation	94 °C	25 s
Hybridation	50 °C	60 s
Elongation	70 °C	2 min
30 cycles à partir de la 2ème étape		
Elongation finale	72 °C	3 min
Conservation	4 °C	∞

✓ **Première amplification Pour le gène Microsatellites CA1 :**

• **Couple d'amorces**

- CA1-1L : GCTGTAAAACGTGAACAACAAA
- CA1-1R : CAATTCTGCTTCAGTTGGATT

**Tableau VIII: Mélange réactionnel pour un volume final de 25 µL première amplification.**

<b>Réactifs</b>	<b>Concentration initiale</b>	<b>Concentration finale</b>	<b>Volume (µL)</b>
Buffer/MgCl <sub>2</sub>	5X/17,5 mM	1X/3,5 mM	5
dNTP	2 mM	200µM	2.5
Couple d'amorces Ca1-1R Ca1-1L	10 µM	100 nM	0.25
Taq Polymérase	5U/µL	0.05U	0.125
Eau pour PCR			16.625
Total			24

On ajoute 1 µL de l'extrait d'ADN par tube.

✓ **Deuxième amplification :**

• **Couple d'amorces :**

- CA1- L : ATTATGAACAATTCAGAC
- CA1- R : GTTGTTATAGCTAATGAG

**Tableau IX: Mélange réactionnel pour un volume final de 25  $\mu$ L deuxième amplification**

Réactifs	Concentration initiale	Concentration finale	Volume ( $\mu$ L)
Buffer/MgCl <sub>2</sub>	5X/17,5 mM	1X/3,5 mM	5
dNTP	2 mM	200 $\mu$ M	2.5
Couple d'amorces Ca1-R Ca1-L	10 $\mu$ M	100 nM	0.25
Taq Polymérase	5U/ $\mu$ L	0.05U	0.125
Eau pour PCR			16.625
Total			24.5

On ajoute 0.5  $\mu$ L de l'extrait d'ADN par tube.

**Tableau X: Programme Microsatellite CA1 première amplification.**

Étapes	Température	Temps
Dénaturation initiale	95°C	5 min
Dénaturation	92°C	30 S
Hybridation	45°C	30 S
Elongation	65°C	30 S
45 cycles à partir de la 2ème étape		
Elongation finale	65°C	5 min
Conservation	4°C	$\infty$

**Tableau XI: Programme microsatellite CA1 deuxième amplification.**

<b>Étapes</b>	<b>Température</b>	<b>Temps</b>
Dénaturation initiale	95°C	5 min
Dénaturation	92°C	30 S
Hybridation	45°C	30 S
Elongation	65°C	30 S
20 cycles à partir de la 2ème étape		
Elongation finale	65°C	5 min
Conservation	4°C	∞

#### **IV.10.4. Révélation de l'ADN à la photographie :**

##### **➤ Matériels :**

Blouse, paire de gant, balance analytique (peser des produits), herlmeilleur, la spatule, le four à micro-onde, pipette 20 µl, embout 20 µl, le moule, le scotch, le peigne, le back de migration, le générateur, laboratory film (para film® M), la chambre à UV (ultra violet), l'ordinateur, l'imprimante.

##### **➤ Réactifs et leur préparation pour la révélation de l'ADN :**

##### **✓ TBE (Tris Borate d'EDTA) :**

Ce sont des poudres à dissoudre dans de l'eau dé ionisée. Nous dissolvons le TBE (Tris ase (89 mM) = 108 g, Acide borique (89 Mm) = 55 g, EDTA (2 mM) = 0,74 g) dans 1l d'eau dé ionisée pour obtenir un stock de travail. Cette solution est à 10 X. La solution finale utilisée est de 0,5X.

##### **✓ Solution de migration :**

Elle était constituée du TBE à une concentration 0,5X.

##### **✓ Les colorants de migration :**

Appelés ' dye'. Le bleu de bromophénol (BB) et le xylène (xc) : ce sont des colorants qui permettent de suivre la migration sur le gel et de maintenir le produit de migration, assez longtemps dans les puits en augmentant les poids.

##### **✓ Le bleu de bromophénol (BB) :**

Constitué du glycérol 35 ml, d'eau dé ionisée 15 ml et du bleu de bromophénol 0,125 g.

✓ **Le xylène :**

Est constitué du glycérol 35 ml, d'eau dé ionisée 15 ml et du xylène 0,125g.

✓ **Marqueur de poids moléculaire (PM) :**

Il constitue la solution de référence et sa dilution était faite dans du dye et de l'eau dé ionisée. A un volume de marqueur étaient ajouté un volume de dye et 9 volumes d'eau dé ionisée et la solution prête pour l'usage. Il joue essentiellement deux rôles ; celui de chromophore et celui de témoin. En effet, le dye augmente d'une part le poids de l'ADN (dérivatisation) et d'autre part permet de suivre l'évolution l'électrophorèse.

✓ **Gel de migration :**

Il est fait à partir de 2 grammes de poudre d'agarose dissoute dans 100 ml de TBE à 0,5X. La solution est ensuite chauffée dans un four à micro-onde pendant 3 mn, permettant ainsi la dissolution complète de l'agarose. Après le chauffage, on y ajoute du bromure d'éthidium 3µl, puis le gel est coulé dans le moule de migration contenant les peignes. Au bout de 30 à 60 mn, le gel est prêt à être utilisé pour la migration.

✓ **Le bromure d'éthidium :**

C'est un produit qui va s'insérer entre les brins d'ADN et les rend fluorescent à la lumière ultra violette.

**IV.10.4.1. Interprétation des résultats :**

L'interprétation de la photographie du gel tient compte des conditions suivantes :

- 1- Conformité de la taille du produit de la deuxième amplification par rapport à celle attendue,
- 2- Taille du produit de la deuxième amplification : (500 et 700 Pb pour msp1),
- 3- Taille du produit de la deuxième amplification : (500 et 700 Pb pour msp2),
- 4- Taille du produit de la deuxième amplification : (260 Pb pour CA1),
- 5- Présence de bandes dans les contrôles positifs,
- 6- L'absence de bandes au niveau des contrôles négatifs,
- 7- Les échantillons présentant des bandes de même taille sont considérées comme identiques,
- 8- Les échantillons présentant des bandes de taille différentes sont non identiques,
- 9- Les échantillons présentant plusieurs bandes sont considérés comme polymorphes.

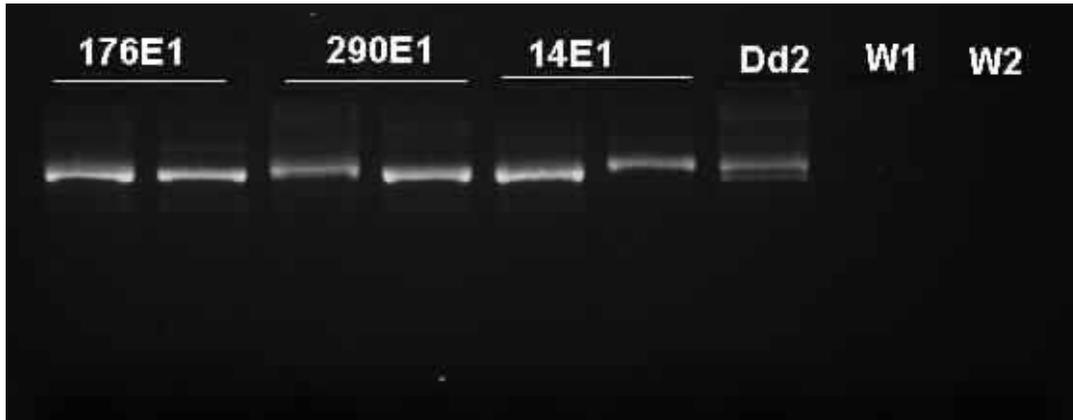
**IV.10.4.2. Report des résultats :**

Labeller et reporter scrupuleusement les résultats dans un registre.

#### IV.10.5. Limites de la procédure :

Cette technique ne permet pas de faire la distinction entre deux bandes ayant quelques paires de bases de différence.

#### Figure IV : Photo d'un gel de correction moléculaire (MSP1) deuxième amplification



**176E1, 290E1 et 14E1** : correspondent aux échantillons

**Dd2** : Témoins positifs

**W1** : Témoins négatifs de la première amplification

**W2** : Témoins négatifs de la deuxième amplification

#### IV.11. Déroulement de l'enquête :

##### IV.11.1. Organisation du travail :

Pour le bon fonctionnement du travail nous avons mis sur place trois postes de travail.

##### IV.11.1.1. Poste 1 ou poste d'identification :

Il était occupé par deux guides locaux possédant le registre de recensement. Les tâches consistaient à identifier les malades, leur guider au poste clinique et aussi rechercher les enfants s'ils ne venaient pas aux rendez-vous programmés quotidien ou hebdomadaire.

##### IV.11.1.2. Poste 2 :

Il était tenu par deux médecins accompagnés et un étudiant en médecine faisant fonction d'interne. Il servait de lieu de consultation et de traitement des malades.

Les cas de paludisme simple confirmés par la goutte épaisse (parasitémie entre 2000-2000000 trophozoïtes) bénéficiaient d'un dossier de suivi et étaient traités par un bras de traitement de la combinaison attribuée selon l'ordre d'arrivée après le consentement ou assentiment pour les enfants.

Les cas de paludisme grave étaient traités par la quinine en injection intramusculaire ou en perfusion dans du sérum glucosé 5%ou 10%. Les cas dont la densité parasitaire inférieure à 2000 trophozoïtes étaient traités par la quinine en per os pendant 5 jours. Les autres pathologies étaient aussi prises en charge convenablement.

Les taches des médecins consistaient à faire un examen complet de tous les patients.

#### IV.11.1.3. Poste 3 :

Il était composé d'un biologiste, d'un interne en pharmacie et d'un technicien de laboratoire. Ils avaient pour rôle la détermination des variables parasitologies et hématologiques.

#### IV.11.2. Programme d'activités de base :

**Tableau XII: Plan de travail.**

Jours de suivi	J0	J1	J2	J3	J7	J14	J21	J28
ATCD	x							
Age/Poids/Taille/sexe	x							
Examen Clinique	x	x	x	x	x	x	x	x
Ex. parasitologiques*(GE + FM)	x		x	x	x	x	x	x
Hémoglobine*	x					x		x
Plaquettes + leucocytes	x				x			(x)
Glycémie*	x							
Créatinémie	x				x			(x)
ALAT	x				x			(x)
Confection de confettis**	x		(x)	(x)	(x)	(x)	(x)	(x)

*Ex. = Examen parasitologique*

*\* et s'il y a signes de gravité*

*\*\* La confection de confettis est systématique chaque fois que la GE sera réalisée mais l'analyse PCR ne sera faite que lorsque la GE est révélée positive.*

*Les malades non vus le jour du rendez-vous, seront systématiquement recherchés par les guides locaux.*

#### IV.11.2.1. Inclusion :

Le consentement éclairé était obtenu de chaque participant d'âge supérieur ou égal à 18 ans, et l'assentiment pour les enfants de moins de 18 ans.

Au premier jour ou jour d'inclusion (J0) une évaluation clinique et biologique était réalisée. Elle consistait, après le résultat de la goutte et l'obtention de consentement ou d'assentiment à faire ; l'examen clinique complet du malade, l'évaluation du taux d'hémoglobine, de la glycémie, la confection des confettis, les prélèvements de sang veineux en vue de faire la numération formule sanguine et les analyses biochimiques (créatinémie et ALAT).

Au deuxième jour d'inclusion (J1) on procédait à une évaluation clinique à la recherche des signes de paludisme grave et des signes d'effet secondaire.

Aux jours J2 et J3 : en plus de l'évaluation de l'état général la goutte épaisse et la confection des confettis étaient réalisées.

Aux jours J7, J14, J21 et J28 : les mêmes évaluations des jours précédents étaient réalisées avec à J7 la numération formule sanguine, la créatinémie les amino-alanines transférases et à J14 la mesure du taux d'hémoglobine.

En cas d'échec thérapeutique le participant recevait de la quinine soit par voie parentérale ou par voie orale en fonction son état et à la dose de 24 mg/kg de poids et par jour pendant 5 jours.

Aux jours de visite imprévue, étaient systématiquement réalisés l'examen général du malade, un examen clinique complet associé aux examens biologiques (goutte épaisse, confettis et taux d'hémoglobine) si l'état du malade l'indiquait.

Après la randomisation et l'inclusion d'un participant dans un bras donné, les épisodes ultérieurs de paludisme de ce participant étaient traités par la même CTA dès lors que la parasitémie est  $\leq 200.000$  trophozoïtes/mm<sup>3</sup> de sang et que le participant n'était pas en état de grossesse. Les participants ayant une parasitémie au-delà de ce seuil ou les femmes enceintes étaient traitées par la quinine conformément aux recommandations du PNLP.

#### **IV.11.3. Critères de jugement de l'efficacité thérapeutique :**

Le jugement se faisait selon le protocole de l'OMS 2003.<sup>82</sup>

##### **❖ Les critères de jugement principal combinés**

##### **➤ Les réponses thérapeutiques** qui sont classées en :

- Echec thérapeutique précoce (ETP),
- Echec thérapeutique tardif (ETT) constitué de : Echec Clinique Tardif (ECT) et Echec Parasitologique Tardif (EPT),
- Réponse Clinique et Parasitologique Adéquate (RCPA),

##### **➤ L'innocuité et la tolérance**

##### **❖ Les critères secondaires de jugement.**

#### **IV.11.3.1. Efficacité thérapeutique :**

##### **IV.11.3.1.1. Echec thérapeutique précoce (ETP) :**

- 1- Apparition de signes de danger ou de paludisme grave aux jours 1, 2 ou 3, en présence de parasite.
- 2- La densité parasitaire au jour 2 supérieure à celle du jour 0, quelque soit la température axillaire.
- 3- Présence de parasite au jour 3 et une température axillaire supérieure ou égale à 37,5°C.
- 4- La densité parasitaire au jour 3 dépassant d'au moins 25% celle du jour 0.

##### **IV.11.3.1.2. Echec clinique tardif :**

Apparition de signes de danger ou de paludisme grave après le jour 3, en présence de parasite, en l'absence préalable de tout critère d'échec thérapeutique précoce.

Présence de parasite et une température axillaire supérieure ou égale à 37,5° C ou antécédent de fièvre un jour quelconque entre le jour 4 et le jour 28, en l'absence de tout critère d'échec thérapeutique précoce.

##### **IV.11.3.1.3. Echec Parasitologique tardif :**

Présence de parasite un jour quelconque entre le jour 7 et le jour 28 et une température axillaire inférieure a 37,5°C, en l'absence préalable de tout critère d'échec thérapeutique précoce ou d'échec clinique tardif.

##### **IV.11.3.2. Réponses clinique et Parasitologique adéquates :**

Absence de parasite au jour 28, quelle que soit la température axillaire, en l'absence préalable de tout critère d'échec thérapeutique précoce, d'échec clinique tardif ou parasitologique tardif.

#### **IV.11.4. Critères de jugement secondaires :**

- Temps de clairance parasitaire,
- Temps de clairance de la fièvre,
- Taux de porteur de gamétocytes,
- Evaluation du taux d'anémie.

#### **IV.12. Analyse et gestion des données :**

A chaque patient était ouvert un cahier d'observation encore appelé fiche de suivi nous permettant de faire son suivi complet. Ces cahiers d'observation étaient régulièrement contrôlés et placés dans des chemises individuelles.

Après le suivi complet, les cahiers étaient gardés dans une cantine métallique à l'abri des insectes et rongeurs. Les cahiers d'observation, les lames porte-objets, les confettis et les prélèvements sanguins portaient le même numéro d'étude pour chaque malade en concordance aux bonnes pratiques cliniques.

Les lames étaient rangées dans des boîtes OMS, et les confettis étaient placés dans des enveloppes portant également le même numéro que les lames et gardés dans une cantine métallique.

Les dossiers complets des malades, les confettis et lames étaient transférés à Bamako à la fin de la phase de terrain chaque année.

Un registre spécifique servait de support de collecte de données pour les cas se présentant au centre de santé qu'ils soient ou non inclus dans l'étude.

Nos données ont été saisies sur access et analysées sur stata version 10. les tests de Chi<sup>2</sup>, de Kruskal-Wallis, l'ANOVA et le Fisher Exact ont été utilisés pour la comparaison des résultats.

#### **IV.13. Considérations éthiques et déontologiques :**

Le protocole de recherche de l'étude avait au préalable été soumis et approuvé par le comité d'éthique institutionnel de la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontostomatologie de l'université de Bamako.

Il comportait les points suivants :

La participation à l'étude est entièrement volontaire ;

Aucun sujet déclinant de participer à l'étude n'a été inclus ;

Chaque sujet signait ou apposait son empreinte digitale sur une fiche de consentement volontaire qui lui était présentée par l'un des investigateurs ;

Pour les enfants mineurs, les parents ou les tuteurs signaient ou apposait leur empreinte digitale à leur place ;

Pour les sujets incapables de lire la langue française, une traduction du contenu de la fiche de consentement était faite dans la langue locale ;

Exclusion et traitement adéquat si paludisme grave ;

Le protocole d'étude et les amendements ;

Les CV des investigateurs ;

La brochure de l'investigateur décrivant toutes les informations sur les produits d'étude. Pour les malades inclus dans l'étude les frais d'évacuation et d'hospitalisation à l'hôpital régional de Sikasso, les cas d'évolution vers un paludisme grave et compliqué avaient été pris en charge par

l'équipe. Le rapport risque / bénéfice de cette étude favorise la participation des sujets; les médicaments utilisés dans le cadre de cette étude sont recommandés par OMS/TDR, le bénéfice est représenté par un suivi médical rapproché et gratuit.

**V. RESULTATS :****VI. Résultat 1 :**

Caractéristiques sociodémographiques, cliniques, parasitologiques et biologiques des sujets à l'inclusion pour les trois régimes de traitement pour les premiers épisodes.

**Tableau XIII: Caractéristiques sociodémographiques de base pour le premier épisode.**

<b>Bras de traitement</b>				
<b>Caractéristiques</b>	<b>AS/AQ (N=260)</b>	<b>AS/SP (N=260)</b>	<b>AR-L (N=260)</b>	<b>p</b>
Age (année) Médiane	4, 05	4, 26	4, 33	0,51
Groupe d'âge (année) < 5 ans	59, 62	56, 54	56,15	0, 68
Genre (Féminin) – (%)	54, 62	49, 62	50	0.45
Poids (kg) Médiane	13	13	14	0, 37
<b>N=effectif</b>				

Les Caractéristiques sociodémographiques des participants étaient comparables à l'inclusion dans les trois bras de traitement ( $p > 0, 05$ ).

**Tableau XIV: Caractéristiques parasitologiques à l'inclusion pour le premier épisode.**

<b>Bras de traitement</b>			<b>AR-L (N=260)</b>	<b>p</b>
<b>Caractéristiques</b>	<b>AS/AQ (N=260)</b>	<b>AS/SP (N=260)</b>		
MGDP ( $\mu\text{L}$ ) $\pm$ DS	33909 $\pm$ 34348	33667 $\pm$ 34171	33441 $\pm$ 34249	0,99
Prévalence des porteurs de Gamétocytes (%)	6, 15	6, 92	10, 77	0, 11
<b>N=effectif ; DS = Déviation Standard ou erreur standard</b>				
<b>MGDP= Moyenne Géométrique de la Densité Parasitaire</b>				

Les Caractéristiques parasitologiques des participants étaient comparables à l'inclusion dans les trois bras de traitement ( $p > 0, 05$ ).

**Tableau XV : Prévalence des espèces Plasmodiales dans les trois bras de traitement.**

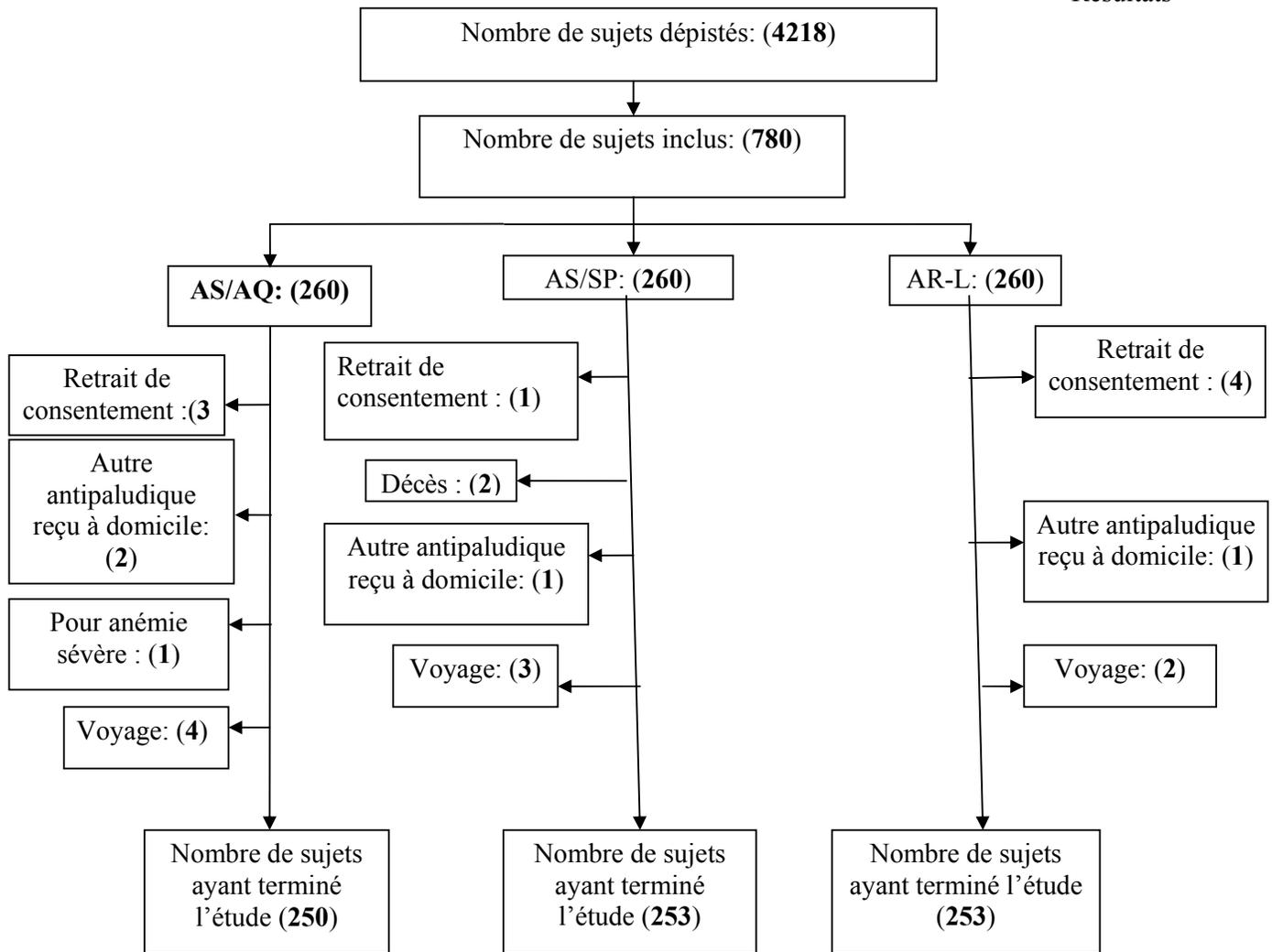
<b>Bras de traitement</b> <b>Espèce Plasmodial</b>	<b>AS/AQ (N=645)</b>	<b>AS/SP (N=693)</b>	<b>AR-L (N=683)</b>	<b>Total</b>
<i>Plasmodium falciparum</i> - (%)	93, 33	92, 64	90, 34	92, 08
<i>Plasmodium malariae</i> - (%)	0	0, 29	0	0,10
<i>Plasmodium ovale</i> -(%)	0, 31	0, 14	0,15	0,20
<i>P. falciparum</i> + <i>P. malariae</i> -(%)	5, 89	6, 20	8,78	6,98
<i>P. falciparum</i> <i>P. ovale</i> -(%)	0, 31	0, 43	0, 73	0, 49
<i>P. falciparum</i> + <i>P. malariae</i> <i>P. ovale</i> -(%)	0, 16	0, 29	0	0,15
Total	100	100	100	100

L'espèce *Plasmodium falciparum* est la plus fréquente dans les trois groupes de traitement avec des taux de l'ordre de 90%.

**Tableau XVI: Caractéristiques biologiques à l'inclusion pour le premier épisode.**

Caractéristiques	Bras de traitement			p
	AS/AQ	AS/SP	AR-L	
ALT(Alanine aminotransférase):U/L Médiane	14,3	14,25	14,8	0,96
*Creatininémie: $\mu\text{Mol/L}$ Médiane	49,59	54,19	52,60	0,42
GB ( $10^9/L$ ) Median	10,7	10,35	10.2	0,96
Hémoglobine (g/dL) Médiane	10	9,85	10	0,97
<b>* La plupart des valeurs étaient au-dessous du seuil de détection de la machine utilisée (Reflotron®), étaient donc considérées comme normales.</b>				

Les Caractéristiques des participants étaient comparables à l'inclusion dans les trois bras de traitement ( $p > 0,05$ ).



**Figure V : Profile de l'étude**

**VII. Résultat 2 :**

Evaluation de l'efficacité thérapeutique sur 28 jours de suivi.

**Tableau XVII: Efficacité thérapeutique avant correction moléculaire.**

<b>Bras de traitement</b>				
<b>Efficacité</b>	<b>AS/AQ (N=612)</b>	<b>AS/SP (N=669)</b>	<b>AR-L (N= 656)</b>	<b>p</b>
ETP (%)	0,16	0	0	0,32
ECT (%)	3,59	1,35	6,86	<0,001
EPT (%)	17,16	8,82	30,49	<0,001
RCPA (%)	79,09	89,83	62,65	<0,001

**N = effectif total**

Ce tableau représente l'efficacité thérapeutique sur 28 jours de suivi avant correction moléculaire.

Ce tableau représente l'efficacité thérapeutique sur 28 jours de suivi avant correction moléculaire.

Il ressort de ce tableau des taux d'échec thérapeutique de 10,17% ;

20,91% et 37,35% respectivement avec le bras AS/SP, AS/AQ et AR-L dont un seul cas d'échec thérapeutique précoce dans le bras AS/AQ. Les Réponses Cliniques et Parasitologiques Adéquates étaient de 89,83% pour le bras AS/SP, 79,09% pour AS/AQ et 62,65% pour AR-L, la différence était statistiquement significative entre les trois bras de traitement ( $p < 0,001$ ).

**Tableau XVIII: Efficacité thérapeutique après correction moléculaire.**

<b>Bras de traitement</b>					<b>AS/AQ vs AR-L <math>\Delta(95\%CI)</math></b>	<b>AS/SP vs AR-L <math>\Delta(95\%CI)</math></b>	<b>AS/AQ vs AS/SP <math>\Delta(95\%CI)</math></b>
<b>Efficacité</b>	<b>AS/AQ (N= 599)</b>	<b>AS/SP (N= 664)</b>	<b>AR-L (N= 633)</b>	<b>P</b>			
ETP- (%)	0,17	0	0	0,32			
ECT - (%)	0,17	0	0,32	0,42			
EPT - (%)	1,0	0,45	0,63	0,5			
RCPA - (%)	98,66	99,55	99,05	0,25	-0,39(-1,58- 0,80)	0,50(0,41-1,41)	-0,89(1,94-0,16)
Taux de réinfection -(%)	19,37	9,19	36,49	<0,001			

Ce tableau représente l'efficacité thérapeutique après correction moléculaire sur les 28 jours de suivi.  $\Delta$  représenté la différence entre les taux de RCPA quand on compare les trois bras deux à deux, CI= l'Intervalle de Confiance.

L'efficacité thérapeutique après correction moléculaire des trois bras de traitement était comparable avec des taux d'efficacité respectifs de 99,55% pour le bras AS/SP, 99,05% pour le bras AR-L et 98,66% pour le bras AS/AQ de RCPA. Ainsi, le bras AR-L protégerait moins contre les nouvelles infections, comparé aux deux autres bras.

**Tableau XIX: Efficacité thérapeutique avant correction moléculaire de tous les épisodes par groupe d'âge.**

<b>Bras de traitement</b>				
<b>Efficacité</b>	<b>AS/AQ (N=612)</b>	<b>AS/SP (N=669)</b>	<b>AR-L (N= 656)</b>	<b>p</b>
<b>Age &lt; 5 ans – n</b>	<b>370</b>	<b>392</b>	<b>411</b>	
ETP (%)	0,27	0	0	0,32
ECT (%)	4,59	2,30	9,49	<0,001
EPT (%)	18,65	10,20	28,22 (27,91)	<0,001
RCPA (%)	76,49	87,50	62,29 (62,62)	<0,001
<b>Age &gt;= 5 ans – n</b>	<b>242</b>	<b>277</b>	<b>245</b>	
ETP (%)	0	0	0	--
ECT (%)	2,07	0	2,45	0,012
EPT (%)	14,87	6,86	34,29	<0,001
RCPA (%)	83,06	93,14	63,26 (63,27)	<0,001

*N = effectif total, n = effectif du groupe.*

Dans ce tableau nous observons une différence significative entre les trois bras de traitement au niveau des RCPA, EPT et ECT ( $p < 0,05$ ), mais elle n'est pas significative au niveau des ETP.

**Tableau XX: Efficacité thérapeutique après correction moléculaire de tous les épisodes par groupe d'âge.**

<b>Bras de traitement</b>				
<b>Efficacité</b>	<b>AS/A (N= 599)</b>	<b>AS/SP (N=664)</b>	<b>AR-L (N= 633)</b>	<b>p</b>
<b>Age &lt; 5 ans – n</b>	<b>363</b>	<b>387</b>	<b>395</b>	
ETP (%)	0, 28	0	0	0, 32
ECT (%)	0, 28	0	0, 51	0, 54
EPT (%)	1, 10	0, 52	0, 25	0, 27
RCPA (%)	98, 35	99, 48	99, 24	0, 30
Taux de réinfection (%)	22, 31	10, 85	37, 47	<0, 001
<b>Age &gt;= 5 ans – n</b>	<b>236</b>	<b>277</b>	<b>238</b>	
ETP (%)	0	0	0	--
ECT (%)	0	0	0	--
EPT (%)	0, 85	0, 36	1, 26	0, 52
RCPA (%)	99, 15	99, 64	98, 74	0, 53
Taux de réinfection (%)	14, 43	6, 86	34, 87	<0, 001

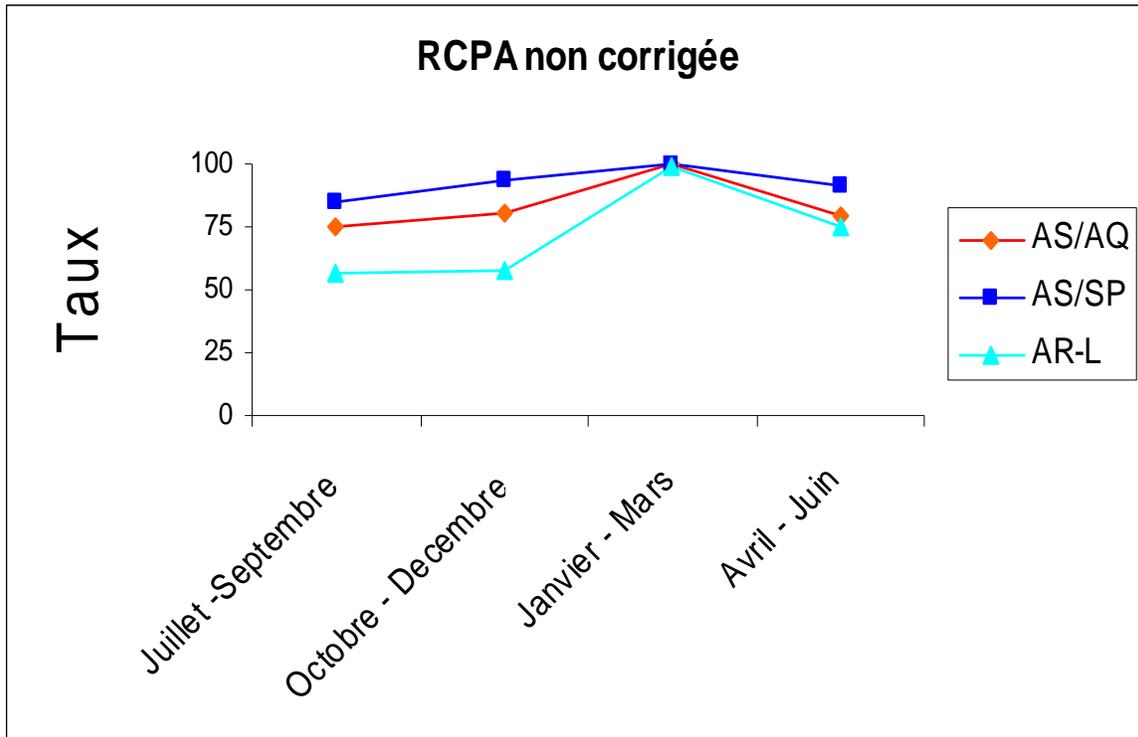
*N = effectif total, n = effectif du groupe*

Il ressort de ce tableau que la différence entre les réponses thérapeutiques n'était pas statistiquement significative dans les deux catégories d'âge. Cependant, il existe une différence significative du taux de réinfection entre les trois bras de traitement ( $p < 0,05$ ).

**Tableau XXI: Efficacité thérapeutique avant correction moléculaire de tous les épisodes par trimestre.**

<b>Bras de traitement</b>				
<b>Efficacité</b>	<b>AS/AQ (N=612)</b>	<b>AS/SP (N=669)</b>	<b>AR-L (N=656)</b>	<b>p</b>
<b>Janvier-Mars - n</b>	<b>49</b>	<b>38</b>	<b>62</b>	
ETP (%)	0	0	0	--
ECT (%)	0	0	0	--
EPT (%)	0	0	1, 61	--
RCPA (%)	100	100	98, 39	--
<b>Avril-Juin - n</b>	<b>58</b>	<b>65</b>	<b>56</b>	--
ETP (%)	0	0	0	--
ECT (%)	1, 72	1, 54	3, 57	0, 69
EPT (%)	18, 97	7, 69	21, 43	0, 08
RCPA (%)	79, 31	90, 77	75, 0	0, 06
<b>Juillet-Septembre - n</b>	<b>280</b>	<b>297</b>	<b>293</b>	
ETP (%)	0	0	0	--
ECT (%)	5, 36	2, 36	8, 53	0, 004
EPT (%)	20, 0	12, 79	34, 81	<0, 001
RCPA (%)	74, 64	84, 85	56, 66	<0, 001
<b>Octobre-Décembre - n</b>	<b>225</b>	<b>269</b>	<b>245</b>	
ETP (%)	0, 44	0	0	0, 30
ECT (%)	2, 67	0, 37	7, 35	<0, 001
EPT (%)	16, 89	5, 95	34, 69	<0, 001
RCPA (%)	80, 0	93, 68	57, 96	<0, 001

*N = effectif total, n = effectif du trimestre*



**Figure VI: Efficacité thérapeutique avant correction moléculaire de tous les épisodes par trimestre.**

Les résultats dans montrent que les réponses thérapeutiques avant correction moléculaire étaient comparables entre les trois bras de traitement pendant les deux premiers trimestres ( $p > 0,05$ ). Cependant cette différence est statistiquement significative pendant les deux derniers trimestres correspondant à la période de forte transmission palustre ( $p < 0,05$ ).

**Tableau XXII: Efficacité thérapeutique après correction moléculaire de tous les épisodes par trimestre.**

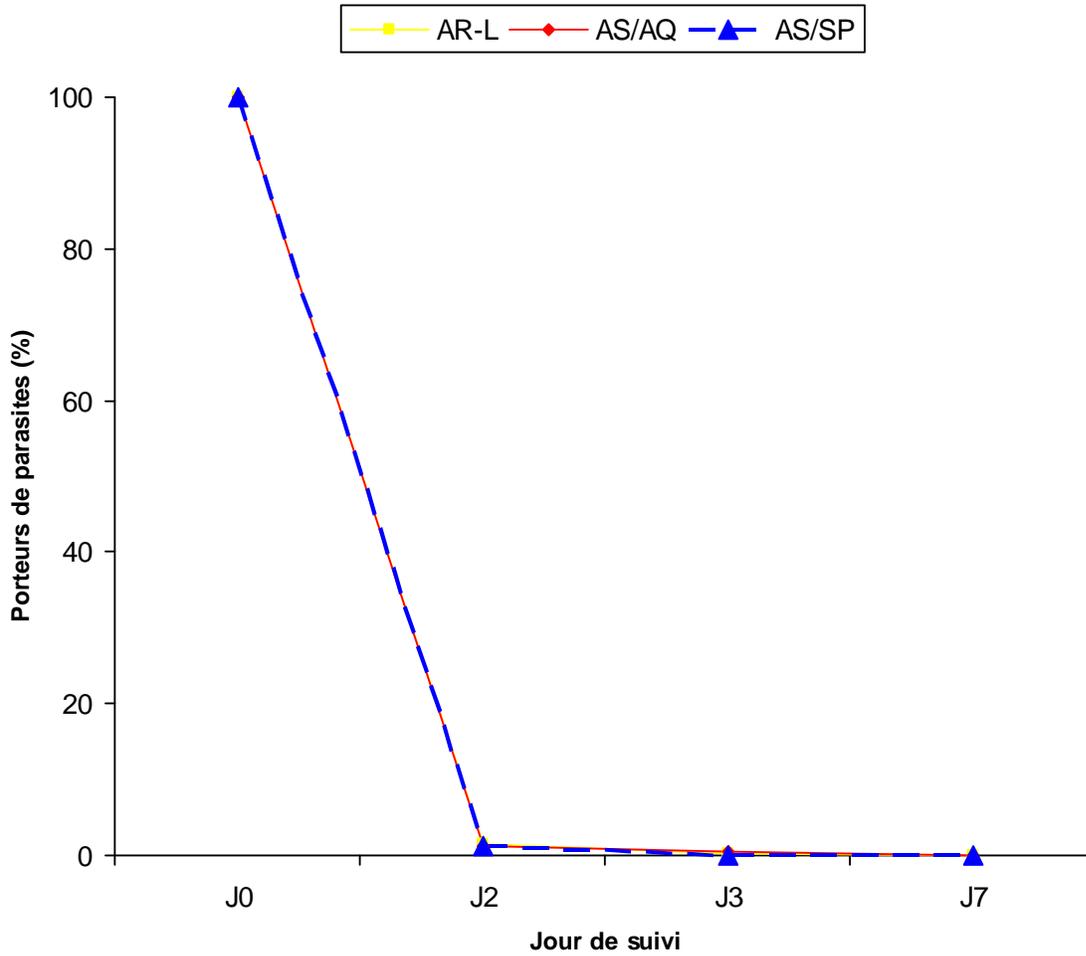
<b>Bras de traitement</b>				
<b>Efficacité</b>	<b>AS/AQ (N=599)</b>	<b>AS/SP (N= 664)</b>	<b>AR-L (N= 633)</b>	<b>p</b>
<b>Janvier-Mars - n</b>	<b>49</b>	<b>38</b>	<b>61</b>	
ETP (%)	0	0	0	--
ECT (%)	0	0	0	--
EPT (%)	0	0	0	--
RCPA (%)	100	100	100	--
Taux de réinfection (%)	0	0	3, 28	0, 34
<b>Avril-Juin – n</b>	<b>55</b>	<b>64</b>	<b>53</b>	
ETP (%)	0	0	0	--
ECT (%)	0	0	0	--
EPT (%)	0	0	0	--
RCPA (%)	100	100	100	--
Taux de réinfection (%)	20, 0	9, 38	22, 64	0, 11
<b>Juillet-Septembre– n</b>	<b>272</b>	<b>295</b>	<b>279</b>	
ETP (%)	0	0	0	--
ECT (%)	0, 37	0	0, 72	0, 32
EPT (%)	1, 47	0	0, 36	0, 03
RCPA (%)	98, 16	100	98, 92	0, 04
Taux de réinfection (%)	23, 16	14, 58	43, 37	<0, 001
<b>Octobre-Décembre - n</b>	<b>223</b>	<b>267</b>	<b>240</b>	
ETP (%)	0, 45	0	0	0, 31
ECT (%)	0	0	0	--
EPT (%)	0, 90	1, 12	1, 25	1
RCPA (%)	98, 65	98, 88	98, 75	1
Taux de réinfection (%)	18, 83	4, 49	40, 0	<0, 001

*N = effectif total, n = effectif du trimestre*

Il ressort de ce tableau qu'après correction moléculaire les réponses thérapeutiques sont comparables entre les trois bras au cours de l'année. Cependant, les taux de réinfection étaient comparables entre les trois bras pendant les deux premiers trimestres ( $p > 0,05$ ) mais la différence était significative aux deux derniers trimestres ( $p < 0,05$ ).

**Tableau XXIII: Evolution de la clairance parasitaire dans les trois bras de traitement sur une semaine de suivi (de J0 à J7).**

<b>Bras de traitement</b> <b>Jours de suivi</b>	<b>AS/AQ (n= 612)</b>	<b>AS/SP (n= 669)</b>	<b>AR-L (n= 655)</b>	<b>p</b>
<b>Parasitémie J 0 – (%)</b>	100	100	100	--
<b>Parasitémie J 2 – (%)</b>	1,31	1,20	1,37	0,96
<b>Parasitémie J 3 – (%)</b>	0,33	0	0,31	0,40
<b>Parasitémie J7 – (%)</b>	0	0	0	--

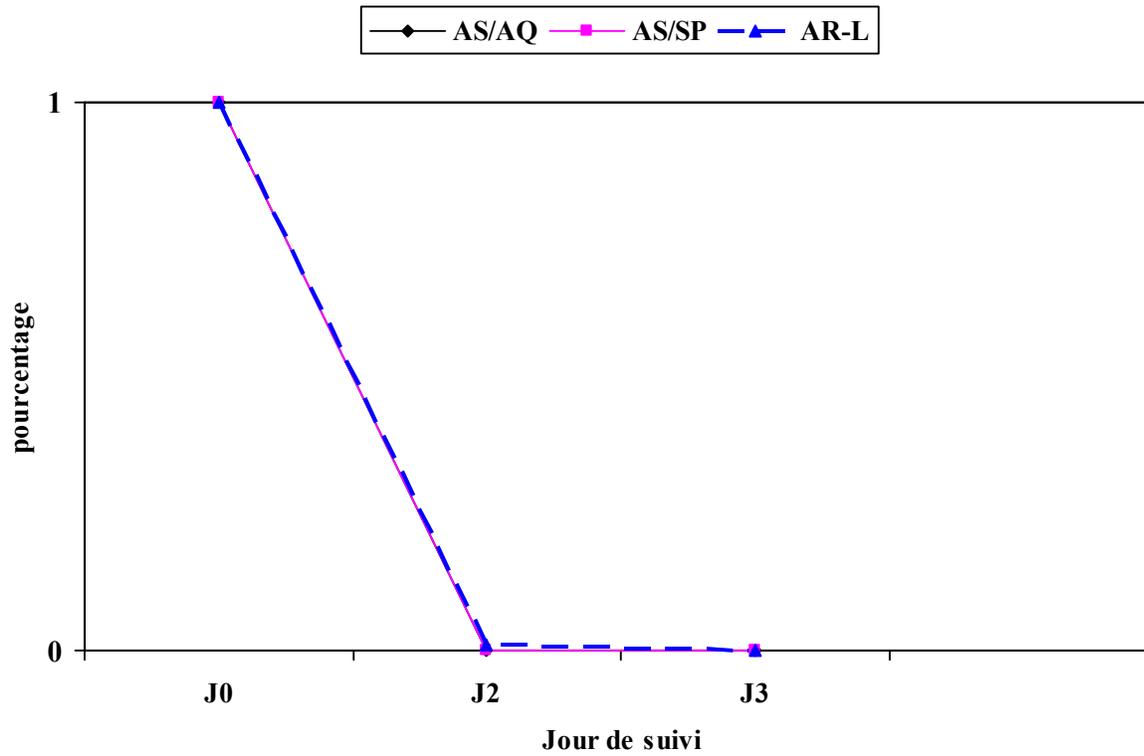


**Figure VII: Clairance parasitaire à une semaine du suivi pour les trois bras de traitement.**

Le nombre de porteur de *Plasmodium* a significativement baissé dans les trois bras de traitement de l'inclusion (J0) à une semaine de suivi (J7). Cette baisse est comparable entre les trois groupes de traitement avec ( $p > 0,05$ ).

**Tableau XXIV: Evaluation de la clairance de la fièvre dans les trois bras de traitement au cours des 3 jours suivants l'administration de médicaments.**

<b>Bras de traitement</b> <b>Jour de suivi</b>	<b>AS/AQ (n= 587)</b>	<b>AS/SP (n= 641)</b>	<b>AR-L (n= 609)</b>	<b>p</b>
<b>J 0-n (%)</b>	100	100	100	--
<b>J 2-n (%)</b>	0	0	0,16	0, 65
<b>J 3 -n (%)</b>	0	0	0	--



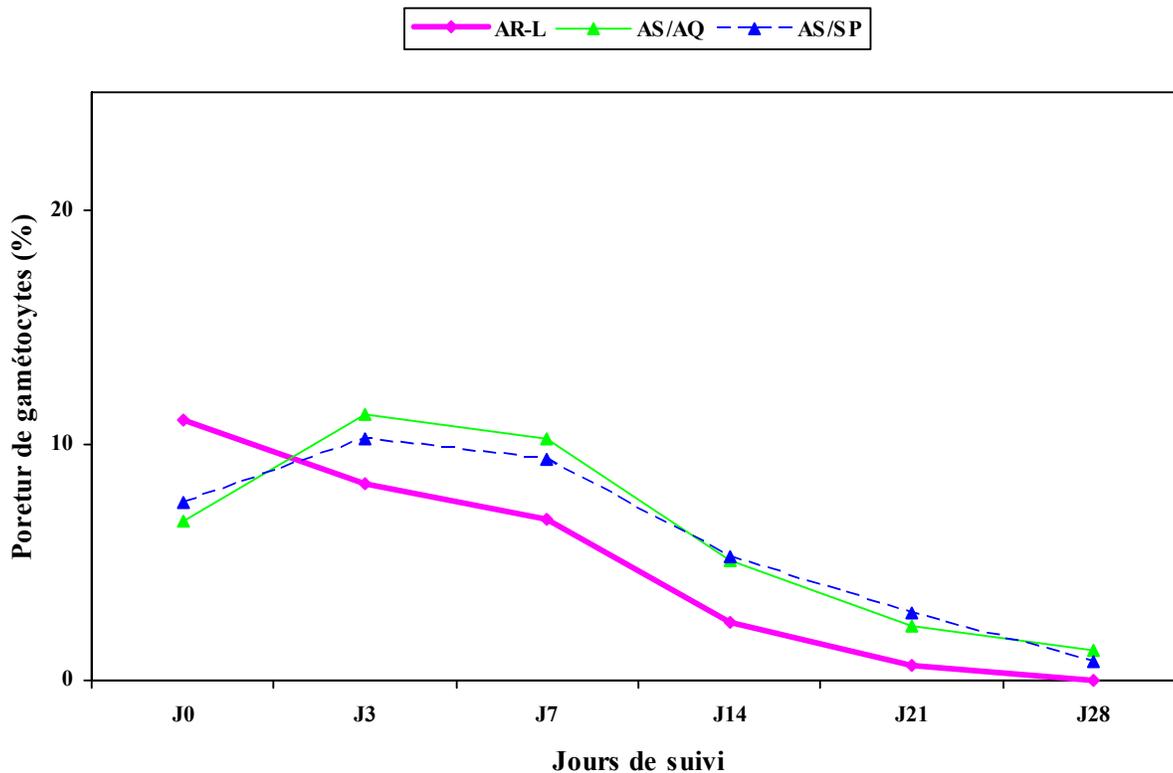
**Figure VIII: Clairance de la fièvre au cours des 3 jours suivant l'administration de médicaments pour les trois bras de traitement.**

En tenant en compte les sujets fébriles à l'inclusion, on constate que 48 heures après administration des produits d'étude, tous les sujets sont devenus apyrétique avec les bras avec seulement 0,16% de sujets fébriles avec le bras AR-L. Par contre ils sont devenus tous apyrétiques à 3<sup>e</sup> jour de suivi. L'évolution était comparable avec les trois bras de traitement

( $p > 0,05$ ).

**Tableau XXV: Evaluation des Gamétocytemies dans les trois bras de traitement au cours du suivi.**

<b>Bras de traitement</b> <b>Jours de suivi</b>	<b>AS/AQ</b>	<b>AS/SP</b>	<b>AR-L</b>	<b>p</b>
J 0 - (%)	6,80	7,57	11,04	0,01
J 3 - (%)	11,27	10,25	8,37	0,21
J 7 - (%)	10,31	9,38	6,85	0,08
J 14 - (%)	5,07	5,23	2,45	0,02
J 21 - (%)	2,30	2,86	0,64	0,01
J 28 - (%)	1,25	0,78	0	0,03

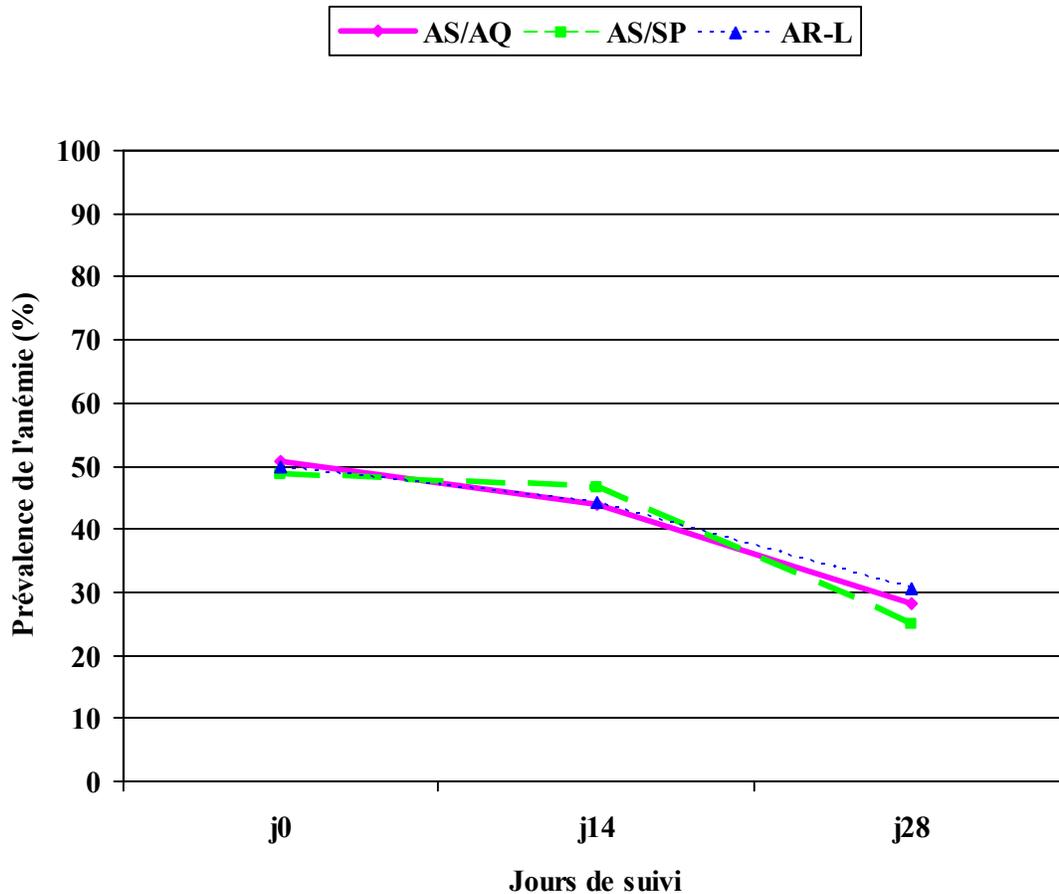


**Figure IX: Portage de gamétocytes au cours de suivi pour les trois bras de traitement.**

Le taux de porteurs de gamétocytes était plus élevé avec le bras AR-L que les deux autres (AS/SP et AS/AQ) à l'inclusion avec respectivement 11,04, 7,57 et 6,80 ( $P < 0,01$ ). Au cours du suivi, nous avons observé une augmentation du taux de porteurs de gamétocyte à J3 de suivi avec les bras AS/AQ et AS/SP, puis une baisse progressive jusqu'au vingt et huitième jour de suivi. Le taux de porteurs de gamétocyte était de 1,25% avec le bras AS/AQ et de 0,78% avec le bras AS/SP au 28<sup>e</sup> jour de suivi. Nous avons aussi constaté que les bras AS/AQ et AS/SP ont une tendance sélective à la formation des gamétocytes comparés au bras AR-L où le taux portage de gamétocyte était nul au 28<sup>e</sup> jour de suivi.

**Tableau XXVI: Evolution de la prévalence de l'anémie dans les trois groupes de traitement au cours du suivi de tous les épisodes.**

<b>Bras de traitement</b> <b>Jour de suivi</b>	<b>AS/AQ</b>	<b>AS/SP</b>	<b>AR-L</b>	<b>p</b>
J 0 - (%) N	(50, 89) 617	(49, 03) 673	(50, 0) 660	0, 76
J 14 - (%) N	(43, 86) 611	(46, 70) 666	(44,17) 652	0, 53
J 28 - (%) N	(28, 11) 555	(25, 04) 627	(30, 56) 481	0, 12



**Figure X: Evolution de la prévalence de l'anémie au cours du suivi.**

Près de 50% des sujets étaient anémiés à l'inclusion contre seulement 30% environ à la fin du suivi dans tous les trois bras de traitement. L'évolution de l'anémie était comparable pour les trois bras au cours du suivi avec  $P > 0,05$ .

**Tableau XXVII: Incidence de l'anémie observée au cours des 28 jours de suivi après traitement.**

<b>Bras de traitement</b>				
<b>Incidence de l'anémie</b>	<b>AS/AQ (n=303)</b>	<b>AS/SP (n=343)</b>	<b>AR-L (n=330)</b>	<b>p</b>
Anémie (%)	30,79	33,82	34,24	<0,61

Ce tableau nous montre l'incidence de l'anémie au cours du suivi. Il nous montre qu'il n'y a pas de différence statistiquement significative entre les trois bras de traitement ( $p > 0,05$ ).

**Tableau XXVIII: Impact du traitement sur les épisodes cliniques du paludisme.**

<b>Bras de traitement</b>			
<b>Moyenne d'épisode palustre</b>	<b>AS/AQ</b>	<b>AS/SP</b>	<b>AR-L</b>
Age < 5 ans (n)	3,16	3,13	4,03
Age > 5 ans (n)	2,76	2,67	3,02
Total (n)	3,0	2,9	3,5
<b>RR</b>	0,85	0,83	Traitement de référence

RR = Risque Relatif de faire un nouvel épisode.

Ce tableau montre la moyenne d'épisode de paludisme qu'a eu à faire chaque sujet, y compris les échecs thérapeutiques. Et le risque relatif de faire un nouvel épisode dans chaque bras de traitement. Il nous montre qu'il y avait 15% et 17% moins de risque pour les sujets qui étaient traités respectivement par AS/AQ et d'AS/SP, de faire un nouvel épisode de paludisme comparé aux sujets traités par le bras d'AR-L avec  $P < 0,05$ . Le bras AR-L a été considéré comme traitement de référence. Le risque observé avait été estimé par an.

**Tableau XXIX: Nombre d'épisode cumulé dans chaque bras au cours du suivi.**

<i>Bras de traitement</i> <i>Nombre d'épisode cumulé</i>	<i>AS/AQ (N=260)</i> <i>n (%)</i>	<i>AS/SP (N=260)</i> <i>n (%)</i>	<i>AR-L (N=260)</i> <i>n (%)</i>
Episode 1	87(33, 46)	77 (29, 61)	73 (28, 08)
Episode 2	75 (28, 85)	71 (27, 31)	77 (29, 62)
Episode 3	43 (16, 54)	45 (17, 31)	46 (17, 69)
Episode 4	26 (10, 0)	26 (10, 0)	27 (10, 38)
Episode 5	14 (5, 38)	24 (9, 23)	19 (7, 31)
Episode 6	8 (3, 08)	6 (2, 31)	10 (3, 85)
Episode 7	2 (0, 77)	8 (3, 08)	6 (2, 31)
Episode 8	3 (1, 15)	2 (0, 77)	2 (0, 77)
Episode 9	1 (0, 38)	1 (0, 38)	0 (0)
Episode 12	1 (0, 38)	0 (0)	0 (0)

Le nombre maximum d'épisode observé était de 12 épisodes au cours de notre étude.

### VIII. Résultat 3 : Etude de la tolérance et l'innocuité des médicaments.

**Tableau XXX: Evènements indésirables graves survenus au cours du suivi dans les groupes de traitement.**

Numéro d'étude	Sexe	Evènements	Episode	Bras de traitement	Relation avec le médicament	L'évolution
146	F	Pneumopathie présumée	1	AS-SP	Pas de relation	Décédé
228	M	anémie Sévère (Hb=3,7g/dl)	6	AR-L	Pas de relation	Guérison
292	M	Coma hypoglycémique	3	AS-SP	Pas de relation	Décédé
641	F	anémie Sévère (Hb=3,0g/dl)	1	AS-AQ	Pas de relation	Guérison
676	M	Fièvre	1	AS-AQ	Pas de relation	Guérison
736	F	Fièvre	1	AR-L	Pas de relation	Guérison

Nous avons observé deux cas de décès au cours de notre étude tous dans le bras AS/SP ; deux cas d'anémie sévère dont un cas avec le bras AR-L et un avec le bras AS/AQ ; deux cas de fièvre dont un avec le bras AR-L et un avec le bras AS/AQ. Nous n'avons pas observé de relation avec les médicaments d'étude.

**Tableau XXXI: L'incidence des Evènements indésirable (symptômes) observée durant les 3 jours suivants le début de traitement.**

<b>Bras de traitement</b> <b>Symptômes/Signes</b>	<b>AS/AQ</b>	<b>AS/SP</b>	<b>AR-L</b>	<b>p</b>
Vomissement N (%)	269 (21,56)	289 (23,18)	281 (8,90)	<0,001
céphalées N (%)	39 (15,38)	49 (10,20)	30(6,67)	0,53
Asthénie N (%)	123 (0,81)	135 (0)	113 (0)	0,64
Vertiges N (%)	132 (1,52)	146(0,68)	129 (0)	0,53
Anorexie N (%)	123 (2,44)	140 (1,43)	109(0)	0,33
Douleur abdominale N (%)	85 (5,88)	104(8,65)	100 (7,0)	0,76

L'incidence des évènements indésirables observés au cours du suivi était comparable pour les trois bras de traitement sauf au niveau des vomissements où le bras AS/SP arrive en tête, suivi de l'AS/AQ puis de l'AR-L avec un taux respectif de 23,18%, 21,56% et 8,90%.

**Tableau XXXII: Incidence des évènements indésirables (laboratoire) observées durant les 28 jours suivant le début de traitement.**

<b>Bras de traitement</b>				
<b>Evènements adverses de laboratoire</b>	<b>AS/AQ</b>	<b>AS/SP</b>	<b>AR-L</b>	<b>p</b>
ALAT n (%)	537 (0,74)	592 (1,18)	568(0,72)	0,68
Créatinémie n(%)	490(6,33)	553(15,19)	530 (5,09)	<0,001
Leucopénie n(%)	551 (0,18)	600 (0,83)	578(0,35)	0,30

Les valeurs anormales d'ALT et de leucocytes étaient comparables dans les trois bras. Cependant, l'incidence de valeurs anormales de la créatininémie est plus élevée dans le bras AS/SP suivi de l'AS/AQ et de l'AR-L avec respectivement 15,19%, 6,33% et 5,09% et la différence était statistiquement significative ( $p < 0,001$ ). Les valeurs anormales de leucocytes étaient du premier grade de sévérité (voir annexe pour la graduation des valeurs biologiques).

## IX. DISCUSSIONS :

### IX.1. Méthodologie :

Notre étude a été réalisée à Bougoula hameau, ce choix se justifiait par :

- Son accessibilité géographique facile en toutes saisons, Le paludisme y est endémique avec un indice plasmodique (IP) situé entre 40 et 50% en saison sèche (qui va de Novembre à Avril) et entre 70 et 85% en saison pluvieuse (qui va de Mai à Octobre).
- L'existence de données épidémiologiques antérieures sur les combinaisons thérapeutiques,
- Adhésion de la population aux études antérieures.

Elle s'est déroulée de Juillet 2005 à Juillet 2007. Nous avons mené un essai clinique randomisé (ECR) ouvert comparatif à trois bras. Il s'agissait d'une étude prospective d'évaluation *in vivo* de l'efficacité et de la tolérance de ces groupes de combinaison thérapeutique à base d'artémisinine sus citées. Elle s'adressait à tous les sujets ayant un âge  $\geq 6$  mois, souffrant d'accès palustre simple, résidant à Bougoula pour toute la durée de l'étude. Le protocole standardisé de 28 jours de suivi de l'OMS légèrement modifié <sup>82</sup> a été appliqué, sur un échantillon de 780 sujets à fin de permettre une comparaison des résultats des trois bras de traitement.

L'analyse a porté sur les données de 28 jours de suivi. Des confettis confectionnés conformément à ce protocole ont servi de support de donnée pour l'analyse moléculaire. Tous les traitements ont été administrés au centre de santé de Bougoula-Hameau en une seule ou deux prises par voie orale selon le bras de traitement devant le personnel soignant. Le régime de 6 doses du Coartèm<sup>®</sup> a été utilisé ce qui est conseillé par le fabricant quelque soit la zone. Cette nouvelle mesure répond au besoin de standardisation de la posologie du produit suite à une requête de l'OMS, afin d'éviter de créer des confusions et d'optimiser l'efficacité du traitement<sup>83 84</sup>.

Les études sur les combinaisons thérapeutiques à base des dérivés d'artémisinine effectuées au Mali, au Sénégal, en Thaïlande<sup>85</sup>, en Indonésie <sup>90</sup> et en Colombie<sup>86</sup> ont été menées selon le protocole de 28 jours de suivi de l'OMS.

### IX.2. Résultat :

#### IX.2.1. Clairance parasitaire :

L'élimination des parasitémie était comparable entre les trois groupes de traitement au cours du suivi ( $p > 0,05$ ). Au deuxième jour de suivi, le nombre de sujets parasités était très faible ; il était de 1,20% pour le bras AS/SP, 1,31% pour le bras AS/AQ et 1,37% pour le bras AR-L. Au troisième jour, il n'y avait aucun cas de porteur de parasites avec le bras AS/SP et seulement

0,31% et 0,33% respectivement pour les bras AR-L et AS/AQ tandis qu'au septième jour, cette parasitémie était devenue nulle dans les trois bras de traitement. L'élimination rapide des parasites pourrait s'expliquer par la rapidité d'action des dérivés de l'artémisinine.

Nos résultats sont comparables à ceux observés sur le même site en 2004 avec AS/AQ et AS/SP<sup>8</sup>, à Sotuba avec AS/SMP et AR-L<sup>9</sup>, à Faladjè avec AS/AQ et AR-L.<sup>87</sup> Ils sont comparables également à ceux observés dans une étude multicentrique au Kenya, Sénégal, Gabon avec la combinaison AS+AQ,<sup>88</sup> en Gambie avec AS/SP.<sup>89</sup> Les parasites étaient tous éliminés au bout des 72 heures, en Indonésie Tjitra Emiliana et *al* en 1999 avaient trouvé 100% des gouttes épaisses négatives au bout de 48 heures avec la combinaison AS+SP.<sup>90</sup>

### **IX.2.2. Clairance des porteurs de gamétocytes :**

Le taux de porteurs de gamétocytes à l'inclusion était plus élevé avec le bras AR-L comparé aux deux autres bras (AS/SP et AS/AQ) avec respectivement 11,04%, 7,57% et 6,80% ; la différence était statistiquement significative ( $p=0,01$ ). Au cours du suivi, nous avons observé une augmentation des taux de porteurs de gamétocyte au troisième jour de suivi avec les bras AS/AQ et AS/SP, puis une baisse progressive jusqu'au vingt et huitième jour. Ces taux étaient de l'ordre de 1,25% et 0,78% respectivement dans le bras AS/AQ et AS/SP à J28. Nous avons constaté que les bras AS/AQ et AS/SP ont une tendance sélective à la formation de gamétocyte plus que le bras AR-L dans lequel le portage de gamétocytes était nul au vingt et huitième jour du suivi.

Nos résultats sont comparables à observés à Sotuba avec la combinaison AR-L<sup>9</sup> en Thaïlande avec la combinaison AR-L,<sup>85</sup> contrairement à notre étude au Sénégal aucun porteur de gamétocyte n'a été observé au 28<sup>e</sup> jour avec les combinaisons AS/AQ, AR-L,<sup>91</sup> et en Colombie avec la combinaison AS/AQ.<sup>86</sup>

### **IX.2.3. Clairance de la fièvre :**

Tous les sujets étaient fébriles à la première l'inclusion. La clairance de la fièvre était rapide et comparable avec les trois bras de traitement. Au cours des 48 heures suivant l'administration des produits tous les sujets étaient apyrétique avec les bras AS/SP et AS/AQ et seulement 0,16 % était fébrile dans le bras AR-L. Tous les sujets étaient apyrétiques dans les trois bras de traitement au troisième de suivi. L'évolution de la fièvre était comparable pour les trois bras de traitement avec  $P > 0,05$ . Cette baisse de la fièvre pourrait être liée à l'action antipyrétique des dérivés d'artémisinine. En effet, les dérivés de l'artémisinine sont connus pour leurs propriétés

antipyrétiques depuis des centaines d'années en Asie.<sup>92</sup> Nos résultats sont comparables à ceux observés précédemment sur le site en 2004,<sup>8</sup> à Sotuba.<sup>9</sup>

#### **IX.2.4. Hématologie :**

Les proportions de sujets anémiés étaient comparables pour les trois bras à l'inclusion et au cours du suivi précisément au quatorzième et au vingt et huitième jour avec respectivement 50,00%, 44,17% et 30,56% pour le bras AR-L ; 50,89%, 43,86% et 28,11% pour le bras AS/AQ et 49,03%, 46,70% et 25,04% pour le bras AS/SP ( $p > 0,05$ ). La baisse de la fréquence de l'anémie au cours du suivi a été significative surtout entre le quatorzième et le vingt et huitième jour. Cependant, la proportion des sujets anémiés reste élevée dans notre population d'étude. Nos résultats sont inférieurs à ceux observés à Sotuba,<sup>9</sup> et sont comparables à ceux du Sénégal avec les combinaisons AS/AQ, AR-L.<sup>91</sup>

#### **IX.2.5. Efficacité thérapeutique :**

Les taux d'efficacité thérapeutiques que nous avons obtenu après correction moléculaire sont comparables entre les trois bras de traitement avec respectivement 99,55%(AS/SP), 99,05%(AR-L) et 98,66%(AS/AQ) de RCPA. Nous avons observé un taux d'ETP de l'ordre de 0,17% avec le bras AS/AQ ; un taux d'ECT de 0,17% pour le bras AS/AQ et de 0,32% pour le bras AR-L. Egalement nous avons obtenu un taux d'EPT de 1,00% pour le bras AS/AQ, 0,63% pour le bras AR-L et 0,45% pour le bras AS/SP. Les taux de réinfections obtenus étaient de 36,49%, 19,37% et 9,19% respectivement pour le bras AR-L, AS/AQ et AS/SP. Il n'y avait pas de différence statistiquement significative entre les trois bras de traitement.

Nos résultats confirment ceux qui avaient été observés sur le même site en 2004 avec les combinaisons AS/AQ et AS/SP où nous avons obtenus respectivement 100% et 99,1% de RCPA;<sup>8</sup> et aussi avec ceux obtenus en Indonésie (99,4% de RCPA) avec la combinaison AS/SP ;<sup>90</sup> ceux du Sénégal avec 100% de RCPA avec les combinaisons AS/AQ, AR-L,<sup>91</sup> et ceux d'autres sites du Mali à Sotuba et Bancoumana 99% de RCPA ont été observées avec la combinaison avec<sup>9</sup> et 100% avec AS/AQ et AS/SP.<sup>7</sup>

#### **IX.2.6. La tolérance et l'innocuité:**

Nous avons obtenu une bonne tolérance thérapeutique avec nos trois bras de traitement. D'autre part, deux cas de décès sont survenus au cours de notre étude tous dans le bras AS/SP ; trois cas d'anémie dans le bras AR-L et un cas pour le bras AS/AQ. Nous n'avons pas observé de relation avec les produits de l'étude. Quelques symptômes bénins et des modifications des valeurs

biologiques avaient été notés. Ces anomalies cliniques et biologiques sont survenues après administration du médicament d'étude ou exacerbés par cette médication. Ils constituent donc les effets secondaires possibles liés aux produits, mais pouvant aussi être liés à la symptomatologie du paludisme. Le taux de survenu de ces événements était comparable dans les trois bras de traitement. Tous les cas d'évènements indésirables cliniques et biologiques se sont résolus avant la fin du suivi.

## X. CONCLUSION :

Après deux ans de suivi, il ressort des résultats *in vivo* de notre étude que le bras AR-L protège moins contre les nouvelles infections que le bras AS/AQ, lequel à son tour protège moins que le bras AS/SP, Après correction moléculaire, les réponses cliniques et parasitologiques adéquates étaient comparable ( $p > 0,05$ ).

La clairance de la fièvre était rapide et comparable avec les trois bras de traitement. Tous les sujets étaient apyrétiques au troisième jour de suivi. L'évolution de la fièvre sur 7 jours était comparable pour les trois bras de traitement ( $p > 0,05$ ).

La clairance parasitaire était comparable pour les trois bras de traitement ( $p > 0,05$ ).

Il y'avait une différence significative du taux de porteurs de gamétocytes entre les trois bras de traitement à l'inclusion ( $p < 0,01$ ). Au cours du suivi, nous avons observé une augmentation du taux de porteurs de gamétocytes au troisième jour de suivi dans les bras AS/AQ et AS/SP, puis une baisse progressive jusqu'au 28<sup>e</sup> jour. Les bras AS/AQ et AS/SP ont une tendance sélective à la formation des gamétocytes plus que le bras AR-L dans lequel le portage de gamétocytes était nul à J28.

Au plan hématologique, l'évolution de l'anémie était comparable entre les trois bras de traitement au cours du suivi. La baisse du nombre de sujets anémiés au cours du suivi a été significative surtout entre le 14<sup>e</sup> et 28<sup>e</sup> jour. Cependant, la proportion des sujets anémiés reste élevée dans notre population d'étude.

Nous avons constaté une diminution de l'incidence moyenne d'épisode palustre de 5 à 3 par saison de transmission.

La survenus des évènements indésirables étaient également comparable pour les trois bras de traitement. Il faut cependant noter que deux cas de décès sont survenus dans le bras AS+SP bien que la relation avec le produit d'étude ne soit pas établie.

Ces trois combinaisons restent efficaces et bien tolérées. Cependant, le taux de réinfection est plus élevé dans le bras AR-L que dans les deux autres.

## **XI. RECOMMANDATIONS :**

Au terme de notre étude, nous formulons les recommandations suivantes :

### **Aux autorités sanitaires et à la Direction du PNLP :**

- Rendre accessible les combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine quelque soit le niveau de vie socio-économique des couches exposées.
- Sensibiliser la population sur la gravité de la pharmaco-résistance et promouvoir ainsi la lutte contre l'usage anarchique de ces médicaments à visée antipaludique.
- Privilégier la combinaison AS/SP en première ligne de traitement antipaludique par ce qu'elle efficace et protège mieux contre la réinfection.

### **Aux chercheurs :**

Poursuivre et étendre les essais des CTA dans d'autres régions du Mali.

### **Aux Médecins prescripteurs et aux Distributeurs de médicament:**

Préférer la prescription des CTA efficaces et bien tolérées aux monothérapies dans le traitement de l'accès palustre simple.

## XII. REFERENCES :

---

**1 WHO.** 2008. World malaria report 2008.

**2 WHO.** 2005. World malaria report 2005. 294 P.

**3 O M S.** Déclaration d'Abuja sur le projet faire reculer le paludisme en Afrique.

TDR/OMS, Nov2000, Av2001 et juin 2002.

**4 Doumbo O, Ouattara N I, Koita O, Maharaux A, Touré Y T, Traoré S F, Quilici M.** Approche éco-géographique du paludisme en milieu urbain. La ville de Bamako au Mali. *Ecol Hum* 1989; **8** (2, 3) : 15.

**5 DPNLP, 2004:** Programme nationale de lutte contre le paludisme deuxième révision, (Juillet 2003-Juin 2004).

**6 Djimé A, Doumbo OK, Steketee RW, and Plowe CV.** Application of a molecular marker for surveillance of chloroquine- resistant falciparum malaria. *Lancet* 2001; **358**: 890-891.

**7 Fofana M.** Efficacité compare de la chloroquine et des combinaisons thérapeutiques Artesunate + Chloroquine, Amodiaquine + Artesunate, et Artesunate + Sulfadoxine-Pyriméthamine dans le traitement du paludisme en zone d'endémie au Mali. These, Pharm, Bamako, 2003 ; **45**.

**8 Djimde A, Fofana B, Issaka Sagara, Sidibe B, Toure S, Dembele D, Dama S, Ouologuem D, Dicko A, Lameyre V, et Doumbo O K.** Efficacy, Safety And Selection Of Molecular Markers of Drug resistance by Two ACTs in Mali. *Am J Trop Med Hyg* 2008; **78** (3) : 455-461.

**9 Issaka Sagara, Alassane Dicko, Abdoulaye Djimde, Ousmane Guindo, Mamady Koné, Youssouf Tolo, Mahamadou A Thera, Moussa Sogoba, Moussa Fofana, Amed Ouattara, Mady Sissoko, Herwig F Jansen, and Ogobara K Doumbo.** A randomized trial of Artésunate- Sulfamethoxyprazine/Pyrimethamine versus Artésunate Luméfantrine for the treatment of uncomplicated Plasmodium falciparum malaria in Mali. *Am J Trop Med Hyg* 2006; **75** (4) : 630–636.

**10 Price RN, Nosten F, Luxemburger C, ter Kuile FO, Paiphun L, Chongsuphajaisiddhi T, White NJ.** Effects of artemisinin derivatives on malaria transmissibility. *Lancet* 1996; **347**: 1654–1658.

**11 Nosten F, Luxemburger C, ter Kuile FO, Woodrow C, Eh JP, Chongsuphajaisiddhi T, White NJ.**

Treatment of multidrug-resistant *Plasmodium falciparum* malaria with 3-day artesunate-mefloquine combination.

*J Infect Dis* 1994 ; **170**: 971–977.

**12 Nosten F, van Vugt M, Price R, Luxemburger C, Thway KL, Brockman A, McGready R, ter Kuile F, Looareesuwan S, White NJ.** Effects of artesunate-mefloquine combination on incidence of *Plasmodium falciparum* malaria and mefloquine resistance in western Thailand: a prospective study. *Lancet* 2000; **356**: 297–302.

**13 Brockman A, Price RN, van Vugt M, Heppner DG, Walsh D, Sookto P, Wimonwatrawatee T, Looareesuwan S, White NJ, Nosten F.** *Plasmodium falciparum* antimalarial drug susceptibility on the north-western border of Thailand during five years of extensive use of artesunate-mefloquine. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2000; **94**: 537–544.

**14 Price RN, Nosten F, Luxemburger C, van Vugt M, Paiphun L, Chongsuphajaisiddhi T, White NJ.**

Artesunate-mefloquine treatment of 1967 patients with multi-drug resistant *falciparum* malaria. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1997; **91**: 574-577.

**15 Puta C and Manyando C.** Enhanced gametocyte production in Fansidar-treated *Plasmodium falciparum* malaria patients: implications for malaria transmission control programmes. *Trop Med Int Health* 1997; **2**: 227-229.

**16 Sokhna CS, Trape JF, and Robert V.** Gametocytaemia in Senegalese children with uncomplicated *falciparum* malaria treated with chloroquine, amodiaquine or sulfadoxine + pyrimethamine. *Parasite* 2001; **8**: 243-50.

**17 Abdoulaye Djimé, Abdoulaye M Touré, Aric Gregson, Abdoul H Beavogui, Cheic O Sangaré, Adama Dao, Zoumana Traoré, Hama Maïga, Boubacar Coulibaly, Mamadou Teketé, A Sacko, Oumou Niaré, Christopher V Plowe, Ogobara K Doumbo.** Sulfadoxine- Pyrimethamine treatment reduces malaria transmission in a setting of high sulfadoxine- pyrimethamine efficacy in Mali. Abstract publié à l'ASTMH 2004

**18 Sulo J, Chimpeni P, Hatcher J, Kublin JG, Plowe CV, Molyneux ME, Marsh K, Taylor TE, Watkins WM, Winstanley PA.** Chlorproguanil-dapsone versus sulfadoxine-pyrimethamine for sequential episodes of uncomplicated *falciparum* malaria in Kenya and Malawi: a randomised clinical trial. *Lancet* 2002; **360**: 1136-1143.

**19 Alassane Dicko, Issaka Sagara, David Diemert, Moussa Sogoba, Mohamed B Niamele, Adama Dao, Guimogo Dolo, Daniel Yalcouye, Dapa A Diallo, Allan Saul, Louis H Miller, Yeya T Toure, Amy D Klion, and Ogobara K**

- Doumbo.**Year-to-Year Variation in the Age-Specific Incidence of Clinical Malaria in Two Potential Vaccine Testing Sites in Mali with Different Levels of Malaria Transmission Intensity. *Am J Trop Med Hyg* 2007 ; **77** (6) : 1028–1033.
- 20 Alassane Dicko, Issaka Sagara, Mahamadou S Sissoko, Ousmane Guindo, Abdoulbaki I Diallo, Mamady Koné, Ousmane B Touré, Massambou Sacko and Ogobara K Doumbo.** Impact of intermittent preventive treatment with Sulphadoxine-pyrimethamine targeting the transmission season on the incidence of clinical malaria in children in Mali. *Malaria Journal* 2008; **7**: 123
- 21 Desowitz R S. 1991.** The malaria capers. In *More Tales of Parasites and People, Research and Reality* (ed. W.W.N. Company), New York.
- 22 Poser C M and Bruyn G W :** The general history of malaria. In *An illustrated history of malaria* Edited by : Poser CM, Bruyn GW. New York : Parthénon Publishing group; 1999 : 121-125.
- 23 Granham P C C.** ‘Historical summary of the discovery of the malaria parasites’ in *malaria parasite and other hæmosporidia*. Oxford Blackwell scientific publications 1966; 3-16.
- 24 Breasted J H.** *The Edwin Smith Surgical Papyrus* Chicago, Illinois; University of Chicago Press 1930.
- 25 Halawi A and Shwarby A A.** Malaria in Egypt. *Journal of the Egyptian medical association* 1957; **40**: 753-792.
- 26 Bischoff E.** Etude de deux membres de la superfamille multigénique Pf60/var de *Plasmodium falciparum*, exprimé par codage traductionnel programmé, Thèse, Préambule 2001.
- 27 Bright R.** "Reports of medical cases" in *Diseases of the brain and nervous system*. London, Longman, Rees, Orme et alii 1831 vol. II.
- 28 Nosny P.** [Alphonse Laverans and the discovery of the malaria parasite]. *Bull acad Natl Med* 1980; **164**: 80-87.
- 29 Golgi C.** Sull'infezione malarica. *Arch Sci Med* 1886; **10**: 109-135.
- 30 Celli A and Marchiafava E.** Sulle febbri malariche predominanti nell'estate e nell'autunno in Roma. *Bull R. Accad Med Roma* 1889; **16**: 203-210.
- 31 Dobson M J.** The malariology centenary. *Parassitologia* **41**: 21-32. Ulteriore ricerche sul ciclo parassiti. *Atti. Accad. Reale. Lincei* 1999; **8**: 21-28.

- 32 Fantini B.** The concept of specificity and the Italian contribution to the discovery of the malaria transmission cycle. *Parassitologia* 1999; **41**: 39-47.
- 33 Martin Danis** (Editeur), Jean Mouchet (Editeur). *Paludisme*. Paris: Ellipses, 1991, 240 p.
- 34 MacPherson G G, M J Warrell, N J White, S Looareesuwan, and D A Warrell.** Human cerebral malaria. A quantitative ultrastructural analysis of parasitized erythrocyte sequestration. *Am J Pathol* 1985; **119**: 385-401.
- 35 WHO.** Severe and complicated malaria. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2000; **94** (Suppl.): 1-90.
- 36 OMS 1974.** *Paludisme endémique*. Comité d'expert du paludisme de l'OMS. Seizième rapport-Genève
- 37 Thera M A, D'Alessandro U, Thiéro M, Ouedraogo A, Packou J, Deida OAS, Fané M, Ade G, Alvez F and Doumbo O.** Child malaria treatment practices among mothers in the district of Yanfolila, Sikasso Region, Mali. *Trop Med Int Health* 2000; **12**: 876-881.
- 38 Guillet P, Alnwick D, Cham MK, Neira M, Zaim M, Heymann D & Mukelabai K.** Longlasting treated mosquito nets: a breakthrough in malaria prevention. *Bul World Health Organ* 2001; **79** (10): 998.
- 39 Combemale, P.** The prescription of repellent. *Med Trop* 2001; **61** (1): 99-103.
- 40 Lipscomb JW, Kramer JE & Leikin JB.** Seizure following brief exposure to the insect repellent N, N-diethyl-m-toluamide. *Ann Emerg Med* 1992; **21** (3): 315-317.
- 41 Barry M.** Medical considerations for international travel with infants and older children. *Infect Dis Clin North Am* 1992; **6** (2): 389-404.
- 42 OMS.** Mise en œuvre de la stratégie mondiale de lutte antipaludique. Rapport d'un groupe d'étude de l'OMS sur la mise en œuvre du plan mondial d'action pour la lutte contre le paludisme, 1993- 2000. Série de rapport techniques 1993 ; **839** : 67 p.
- 43 African initiative for malaria control in the 21 st century. WHO 1998 ; 18 p.**
- 44 Touze J E, Fourcade L, Pradines B, Hovette P, Paule P, Heno Ph.** Les modes d'action des antipaludiques. Intérêt de l'association Atovaquone-Proguanil. *Med Trop* 2003; **63**: 79-98.
- 45 Neftel K A, Woodtly, W Schmid, M Frick, P G and Fehr J:** Amodiaquine induced agranulocytosis and liver damage. *Brit Med J* 1986; **292** : 721-723.

- 46 Hatton C S R, Peto T E A, Bunch C and Pasvol G:** Frequency of severe neutropenia associated with amodiaquine prophylaxis against malaria. *Lancet* 1986; **1**: 411- 413.
- 47 Chen C, Tang LH, Jantanavivat C.** Studies on a new antimalarial compound: pyronaridine. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1992; **86**: 7–10.
- 48 Fu S, Xiao SH.** Pyronaridine: a new antimalarial drug. *Parasitol Today* 1991; **7**: 310–313.
- 49 Yang H, Liu D, Huang K, Zhang C, Li C.** Longitudinal surveillance of sensitivity of *Plasmodium falciparum* to pyronaridine in south Yunnan. *Zhongguo Ji Sheng Chong Xue Yu Ji Sheng Chong Bing Za Zhi* 1998; **16** (2): 81-3.
- 50 Looareesuwan S, Kyle D E, Viravan C, Vanijanonta S, Wilairatana P, Wernsdorfer W H.** Clinical study of pyronaridine for the treatment of acute uncomplicated falciparum malaria in Thailand. *Am J Trop Med Hyg* 1996 ; **54**: 205–209.
- 51 Ringwald P, Bickii J, Basco L.** Randomised trial of pyronaridine versus chloroquine for acute uncomplicated falciparum malaria in Africa. *Lancet* 1996; **347** : 24–28.
- 52 Pascal Ringwald, Else Carole Moukoko Eboumbou, Jean Bickii and Leonardo K Basco.** In vitro activities of pyronaridine, alone and in combination with other antimalarial drugs, against *Plasmodium falciparum*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1999; 1525–1527.
- 53 China cooperative research group On Qinghaosu and its derivatives as antimalarials.** Chemical studies on Qinghaosu (Artemisinin). *J Traditional chin Med* 1982; **2**: 3-8.
- 54 Klayman DL.** Qinghaosu (Artemisinin) an antimalarial drug from China. *Science* 1985; **228**: 1049-1055.
- 55 De Vriez P J et Dien T k.** clinical pharmacology and therapeutic potential of Artemisinin and its derivatives in the treatment of malaria. *Drugs* 1996; **52** (6): 818-836.
- 56 Mordi M N, Mansor S M, Navaratman V and Vernsdorf W H.** Single dose pharmacokinetics of oral Artémether in healthy Malaysian volunteers. *Br J clin Pharmacol* 1997; **43** (4): 363-365.
- 57 Hien TT et White N J.** Qinghaosu. *Lancet* 1993; **341** (8845): 603-608.
- 58 Cumming J N, Ploypradith P, Posner Gh.** Antimalarial activity of artemisinin (Qinghaosu) and related trioxanes: Mechanisms of action. *Adv Pharmacol* 1997; **37**: 253-297.

- 59 Brossi A, Vanugopalan B, Domiguez Gerpe L, Yeh HJ Flippen-Anderson J L, Buchs P, Luo XD, Milous W and Peters W.** Artémether, a new antimalarial drug: Synthesis and antimalarial properties. *J Med Chem* 1998; **31** (3): 645-650.
- 60 Meshnick Sr.** Artémisinin antimalarials: mechanisms of action and résistance. *Med Trop* 1998; **58** (3): 13-17.
- 61 Krunghai Sr & Yuthavong Y.** The Antimalarial action on Plasmodium falciparum of Qinghaosu and artésunate in combination with agents which modulate oxidant stress. *Trans R SOC Trop Med Hyg* 1987; **81** (5): 710-714.
- 62 Pradines B, Vial H, Olliaro P.** Prophylaxie et traitement du paludisme : problèmes, récents développements et perspectives. *Med Trop* 2003; **63**: 79-98.
- 63 OMS.** Guidelines for the treatment of malaria/World Health Organization. WHO/HTM/MAL/2006.1108.
- 64 Kassoum Kayentao, Hama Maïga, Robert D Newman, Meredith L McMorro, Annett Hoppe, Oumar Yattara, Hamidou Traore, Younoussou Kone, Etienne A Guirou, Renion Saye, Boubacar Traore, Abdoulaye Djimde, Ogobara K Doumbo.** Artemisinin-based combinations versus amodiaquine plus sulfadoxine-pyrimethamine for the treatment of uncomplicated malaria in Faladiè, Mali. *Malaria Journal* 2009; **8**: 5.
- 65 Sornchai Looareesuwan, Chaisin Viravan, H Kyle Webster, Dennis E Kyle, David B Hutchinson, AND Craig J Canfield.** Clinical studies of atovaquone, alone or in combination with other antimalarial drugs, for traitement of acute uncomplicated malaria in Thailand. *Am j Trop Med and Hyg* 1996; **54**: 62-66.
- 66 Marafa F, Salzmann J R, Ensom M H H.** Atovaquone-Proguanil for prophylaxis and treatment of malaria. *Annals of pharmacotherapy* 2003; **37**: 1266-1275.
- 67WHO/CDC/RBM/2001.35.
- 68 World Health Organization** (2004) Review of the safety of chlorproguanildapsone in the treatment of uncomplicated falciparum malaria in Africa: report of a technical consultation convened by WHO. Geneva: World Health Organization. Available online at: <http://www.who.int/malaria/docs/LapDap.Pdf> (Last accessed 23 rd December, 2006).
- 69** The use artemisinin and its derivates as antimalarial drugs : report of a joint CTD/DMP/TDR informal consultation. Genova, World Health Organasation, **1998 WHO/ MAL/ 98, 1086.**

- 70 Sagara I, Diallo A, Kone M, Coulibaly M, Diawara SI, Guindo O, Maïga H, Niambelé MB, Sissoko M, Dicko A, Djimde A, Doumbo OK.** A randomized trial of artesunate-mefloquine versus artemether-luméfántrine for treatment of uncomplicated *Plasmodium falciparum* malaria in Mali. *Am J Trop Med Hyg* 2008; **79** (5): 655-661.
- 71 Winstanley P.** Pyronaridine a promising drug for Africa. *Lancet* 1996; **347** (8993): 2-3.
- 72 Michael Ramharter, Florian Kurth, Annette C Schreier, Johannes Nemeth, Isabelle von Glasenapp, Sabine B elard, Meike Schlie, Judith Kammer, Philemon Koumba Koumba, Badara Cisse, Benjamin Mordm uller, Bertrand Lell, Saadou Issifou, Claude Oeuvray, Lawrence Fleckenstein, and Peter G Kremsner.** Fixed-Dose Pyronaridine-Artesunate Combination for Treatment of Uncomplicated *Falciparum* Malaria in Pediatric Patients in Gabon. *The Journal of Infectious Diseases* 2008; **198**: 911–919.
- 73 Ashley EA, McGready R, Hutagalung R, Phaiphun L, Slight T, Proux S, Thwai KL, Barends M, Looareesuwan S, White NJ, Nosten F.** A randomized, controlled study of a simple, once-daily regimen of dihydroartemisinin-piperaquine for the treatment of uncomplicated, multidrug-resistant *falciparum* malaria. *Clin Infect Dis* 2005; **41**: 425–432.
- 74 Corine Karema, Caterina I Fanello, Chantal Van Overmeir, Jean-Pierre Van geertruyden, Walli van Doren, Daniel Ngamije, Umberto D'Alessandro.** Safety and efficacy of dihydroartemisinin/piperaquine (Artekin) for the treatment of uncomplicated *Plasmodium falciparum* malaria in Rwandan children. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2006; **100**: 1105–11.
- 75 Daniel G Wootton, Hyginus Opara, Giancarlo A Biagini, Maxwell K Kanjala, Stephan Duparc, Paula L Kirby, Mary Woessner, Colin Neate, Maggie Nyirenda, Hannah Blencowe, Queen Dube-Mbeye, Thomas Kanyok, Stephen Ward, Malcolm Molyneux, Sam Dunyo, Peter A Winstanley.** Open-Label Comparative clinical study of chlorproguanil dapsone fixed dose combination (Lapdap<sup>TM</sup>) alone or with three different doses of artesunate for uncomplicated *plasmodium falciparum* malaria. *PLoS ONE* 2006; **3** (3): e1779.
- 76 Seth Owusu-Agyei, Kwaku Poku Asante, Ruth Owusu, Martin Adjuik, Stephen Amenga-Etego, David Kwame Dosoo, John Gyapong, Brian Greenwood, Danie Chandramohan.** An Open Label, Randomized Trial of Artesunate+Amodiaquine, Artesunate+Chlorproguanil-Dapsone and Artemether-Lumefantrine for the Treatment of Uncomplicated Malaria. *PLoS ONE* **3** (6): e2530.
- 77 Basco L K, Ruggieri C, LE BRAS J.** Molécules antipaludiques : Mécanisme d'action, mécanisme de résistance et relation structure-activité des schizonticides sanguins. Edition Masson , Paris, Milan, Barcelone ; 1994 **vol 1**: 1-364.

- 78 Basco L, Ringwald P.** Chimiorésistance du paludisme : Problème de la définition et de l'approche technique. Cahiers de Santé 2000; **10** : 47-50.
- 79 Spratt BG.** Resistance to antibiotics mediated by target alterations. Sciences 1994; 264: 388-93.
- 80 Nikaido H.** Prevention of drug access to bacterial target: permeability barriers and active efflux. Sciences 1994; **264** (5157): 382-93.
- 81 Archives Nationales ID-128 Fonds Anciens.** Notice Géographique, Historique et Statistique poste de Sikasso.
- 82 World Health Organization, 2003.** Assessment and Monitoring of Antimalarial Drug Efficacy for the Treatment of Uncomplicated falciparum Malaria. Genova: World Health Organization. WHO/HTM/RMB/2003. **50**.
- 83 OMS.** Les combinaisons thérapeutiques antipaludiques. Rapport d'une consultation informelle de l'OMS. Genève, WHO/CDS/RBM/2001.35
- 84 World Health Organisation (2001b),** the use of antimalarial drugs. Report of a WHO Informal Consultation 13-17 November 2000. WHO/CDS/RBM/2001.33.
- 85 Robert Hutagalung, Lucy Paiphun, Elizabeth A Ashley, Rose McGready, Alan Brockman, Kaw L Thwai, Pratap Singhasivanon, Thomas Jelinek, Nicholas J White and François H Nosten.** A randomized trial of artemether-luméfántrine versus méfloquine artésunate for the treatment of uncomplicated multi-drug resistant Plasmodium falciparum on the western border of Thailand. Malaria Journal 2005; **4**: 46 .
- 86 Lyda Osorio, Iveth Gonzalez, Piero Olliaro and Walter RJ Taylor.** Artemisinin-based combination therapy for uncomplicated Plasmodium falciparum malaria in Colombie. Malaria Journal 2007; **6**: 25.
- 87 Drissa Guindo.** Comparaison de deux schémas de Traitement à base d'artémisinine: Artémether + Luméfántrine et Artesunate + Amodiaquine dans la prise en charge du paludisme simple chez les enfants à Faladjè (Cercle de Kati). Thèse de médecine. Bamako 2008, N° 232.
- 88 Adjuik M, P Agnamey, A Babiker, S Borrmann, P Brasseur, M Cisse, F Cobelens, S Diallo, J F Faucher, P Garner, S Gikunda, P G Kremsner, S Krishna, B Lell, M Loolpapit, P-B Matsiegui, M A Missinou, J Mwanza, F**

---

**Ntoumi, P Olliaro, P Osimbo, P Rezbach, E Some, W R J Taylor.** Essai randomisé multicentrique de la combinaison amodiaquine+artésunate comparé à l'amodiaquine chez les enfants en Afrique. *Lancet* 2002; **359**: 1365-1372.

**89 Von Seidlein L, Jawara M, Coleman R, Doherty T, Walraven G, Targett G.** Parasitémie et gametocytémie après traitement à la chloroquine, à la sulfadoxine-pyriméthamine, à l'association artésunate+SP chez les enfants atteints d'accès palustre simple en Gambie. *Trop Med Int Health* 2001; **6**: 92-8.

**90 Emiliana Tjitra, Sri Suprianto, Bart J Currie, Peter S Morris, Jocelyn R Saunders, And Nicholas M Anstey.** Therapy of uncomplicated falciparum malaria: a randomized trial comparing artesunate plus sulfadoxine-pyriméthamine versus sulfadoxine-pyriméthamine alone in Irian Jaya, Indonesia. *Am J Trop Med and Hyg* 2001; **65**: 309-317.

**91 Babacar Faye, Jean-Louis Ndiaye, Daouda Ndiaye, Yemou Dieng , Oumar Faye and Oumar Gaye.** Efficacy and tolerability of four antimalarial combinations in the treatment of uncomplicated Plasmodium falciparum malaria in Sénégal. *Malaria Journal* 2007; **6**: 80.

**92 L Delhaes, E Frealle, E Dutoit, D Camus.** Riamet : un nouvel antipaludique pour le traitement curatif du paludisme. *Med Trop* 2002; **62** : 485.

**Annexes :****1. Intervalles Référence Hématologique pour Enfant (male & femelle) de 0-5 ans**

Paramètre	Unités	Intervalle de référence
Leucocytes	$10^3/\mu\text{l}$	5.3 – 15.3
Erythrocytes	$10^6/\mu\text{l}$	3.05 – 5.12
Hémoglobine	g/dl	7.4 – 12.4
Hématocrite	%	24 – 38.6
Plaquette	$10^3/\mu\text{l}$	133– 523
Lymphocyte en valeur absolue	$10^3/\mu\text{l}$	2,3 à 9,5
En pourcentage	%	36.7 à 70.7
Granulocyte en valeur absolue	$10^3/\mu\text{l}$	1.17 à 6.1
Granulocyte en pourcentage	%	22,1 à 39,9
Monocytes en valeur absolue	$10^3/\mu\text{l}$	
Monocytes en pourcentage	%	

**2. Intervalles de Référence Hématologique pour Enfant (male & femelle) de 6-14 ans.**

Paramètre	Unités	Référence Intervalle
Leucocytes	$10^3/\mu\text{l}$	4.5 – 10.5
Erythrocytes	$10^6/\mu\text{l}$	3.58 – 5.17
Hémoglobine	g/dl	9.6 – 13.5
Hématocrite	%	29.3 – 41.3

Plaquette	$10^3/\mu\text{l}$	138– 455
Lymphocyte	%	30.8 – 62.0
Lymphocyte en valeur absolue	$10^3/\mu\text{l}$	1.8 – 5.4
Granulocyte	%	24.9 – 65.3
Granulocyte en valeur absolue	$10^3/\mu\text{l}$	1.12 – 6.86
Monocytes	%	
Monocytes en absolue	$10^3/\mu\text{l}$	

### 3. Intervalles de Référence Biochimique pour enfant de 0 à 5 ans

Paramètre	Unités	Intervalle de Référence
<b>ALT</b>	U/l	3.9 – 49.6 à 37°C
<b>Créatinémie</b>	$\mu\text{M/l}$	$\leq 44.3$
<b>Bilirubine Total</b>	$\mu\text{M/l}$	$\leq 19$

### 4. Intervalles de Référence Biochimique pour enfant de 6 à 14 ans

Paramètre	Unités	Intervalle de Référence
<b>ALT</b>	U/L	5.06 – 53.4 à 37°C
<b>Créatinémie</b>	$\mu\text{M/L}$	< 48.9
<b>Bilirubine Total</b>	$\mu\text{M/L}$	$\leq 19$

### 5. Intervalles de Référence Hématologique pour adulte (male & femelle)

Paramètre	Unité (Default)	Sexe	Limite inférieure	Limite supérieure
Erythrocytes	10 <sup>6</sup> /µl	M	3.95	5.79
		F	3.28	5.09
Hémoglobine	g/dl	M	10.80	15.80
		F	9.10	13.80
Hématocrite	%	M	32.50	47.20
		F	28.30	42.00
Leucocytes	10 <sup>3</sup> /µl	B	3.60	9.00
Granulocytes	10 <sup>3</sup> /µl	B	1.30	4.40
	%		45.00	84.00
Neutrophiles	10 <sup>3</sup> /µl	B		
	%		45.00	75.00
Lymphocytes	10 <sup>3</sup> /µl	B	1,300.00	4,700.00
	%		28	64
Monocytes	10 <sup>3</sup> /µl	B		
	%		4	11
Plaquettes	10 <sup>3</sup> /µl	M	114.00	335.00
		F	144.0	413.0

(B=male ou femelle), M=Male, F=Femelle

### 6. Intervalles de Référence Biochimique pour enfant de 0 à 5 ans

Paramètre		Unit	Autre	Sexe	Limite Inferieur	Limite Supérieure
SGPT (ALAT)		IU/l		M	≤ 41 à 37°C	< 57.7
			F	≤ 32 à 37°C		
SGOT (ASAT)		IU/l	IU/l	M		
				F		
Gamma GT		IU/l	IU/l	M		
				F		
phosphatase Alcaline		IU/l	IU/l	M		
				F		
Bilirubine Total		µmol/l		B		
Bilirubine Directe		µmol/l		B		
Protéine		g/l	g/l	B		
Nitrogène Urée		mg/dl	mmol/l	B		
Créatinémie	%	IU/l	µmol/l	M		≤94
				F		≤71.8

(B = male et femelle) M= Male F= Femelle

**7. Echelle de toxicité des valeurs biochimiques**

		<b>Grade 1 Légère</b>	<b>Grade 2 Modéré</b>	<b>Grade 3 Sévère</b>	<b>Grade 4 Atteinte du foie</b>
<b>ALAT (U/L)</b>	3 mois - 18 ans	1.1 - 4.9 x LSN	5.0 - 9.9 x LSN	10.0 -15.0 x LSN	> 15 x LSN
	>18 ans	1.25 - 2.5 x LSN	2.6 - 5 x LSN	5.1 - 10.0 x LSN	> 10 x LSN
<b>Créatinémie</b>	3 mois - 2 ans	0.6 - 0.8 x LSN	0.9 -1.1 x LSN	1.2 - 1.5 x LSN	> 1.5 x LSN
	2 - 12 ans	0.7 - 1.0 x LSN	1.1 - 1.6 x LSN	1.7 - 2.0 x LSN	> 2 x LSN
	12- 18 ans	1.0 -1.7 x LSN	1.8 - 2.4 x LSN	2.5 - 3.5 x LSN	> 3.5 x LSN
	>18 ans	1.1 - 1.5 x LSN	1.6 - 3.0 x LSN	3.1 - 6 x LSN	> 6 x LSN (dialyse)

**LSN : Limite Supérieure de la Normale****ALAT : Alanine Amino-Transférase.**

## **8. FICHE SIGNALÉTIQUE :**

**Prénom et Nom :** Amadou Togo

**Nationalité :** Malienne

**Année de soutenance :** Année universitaire 2008-2009

**Ville de soutenance :** Bamako

**Secteur d'intérêt :** Parasitologie, Epidémiologie et Santé publique

**Lieu de dépôt :** Bibliothèque de la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odontostomatologie.

**Titre : Intérêt en Santé Publique de l'utilisation des combinaisons thérapeutiques à base d'Artémisinine dans le traitement de l'accès palustre Simple au Mali.**

Nous avons mené un essai clinique randomisé ouvert, comparant l'efficacité, l'innocuité et l'impact de l'utilisation répétée de trois combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine sur l'incidence du paludisme au Mali : Artesunate (AS 3 jours) + Amodiaquine (AQ 3 jours), Artesunate (AS 3 jours) + Sulfadoxine/Pyriméthamine (SP une dose) et Artémether-Luméfantine (AR-L 6 doses 3 jours). Notre étude s'est déroulée de Juillet 2005 à Juin 2007 à Bougoula-Hameau, un quartier périurbain de Sikasso au Mali. Notre population d'étude était des sujets âgés de 6 mois ou plus, souffrant d'accès palustre simple. Au total nous avons inclus 780 patients repartis entre les trois bras de traitement en raison de 260 par bras. Ces patients ont été suivis pendant 28 jours selon le protocole de suivi de l'OMS.

Au terme de notre étude, nous avons constaté que la clairance de la température et de la parasitémie était rapide et comparable dans les trois bras de traitement, ils améliorent l'anémie contractée au cours de la maladie (paludisme) et cette amélioration est comparable dans les trois bras de traitement. Les réponses cliniques et parasitologiques adéquates étaient de 99,55%, 99,05% et 98,66% respectivement pour le bras AS/SP, AR-L et AS/AQ après ajustement par la correction moléculaire. Aucun événement indésirable grave imputable aux médicaments de l'étude n'a été trouvé. L'incidence du paludisme était de trois épisodes par saison dans chaque bras de traitement le risque relatif de contracter un nouvel épisode pour un sujet traité par les AS/AQ et AS/SP est de 15% et 17% moins que le sujet traité par le bras AR-L. Ainsi, nous pouvons dire que les combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine que nous avons testées à

savoir (AS/AQ, AS/SP et AR-L) sont efficaces et peuvent être utilisé sans danger à grande échelle dans le traitement des épisodes consécutifs d'accès palustre simple.

**Mots clefs :**

*Episode de paludisme, traitement répété, CTA, AS/AQ, AS/SP, AR-L, efficacité, innocuité.*

**Summarizes:****Name:** Amadou Togo      **Nationality:** Malian**Year of defense:** Academic Year 2008-2009**City of defenses:** Bamako**Area of interest:** Parasitology and public health**Place of deposit:** Library of the Faculty of Medicine Pharmacy and Odonto-Stomatology.**Title: Assessment of the public health benefit of Artémisinine Based combination Therapies for uncomplicated malaria treatment in Mali.**

We conducted a randomized open label clinical trial comparing the efficacy, safety and impact of the repeated treatment of three artemisinin based combinations therapies on malaria incidence in Mali: Artesunate (AS 3 days)+ Amodiaquine (AQ 3 days), Artesunate (AS 3 days) +sulfadoxine/pyrimethamine (SP day) and Artemether-luméfantine (AR-L 6 doses 3 days). Our study was conducted from July 2005 to June 2007 Bougoula-Hameau, a suburban district of Sikasso in Mali. Our study populations were aged 6 months or older, suffering from uncomplicated malaria. A total of 780 patients were included with 260 per treatment arm. These patients were followed during 28 days according WHO Guideline 2003. As results, we found that the fever clearance and the parasite clearance were fast and comparable in the three treatment arms. They all decrease anemia from inclusion, and this improvement (assimilated to a decrease) is comparable in the three treatment arms.

After PCR correction, the adequate clinical and parasitological responses were 99, 54%, 99, 03%, and 98, 82% respectively for AS/SP, AR-L, and AS/AQ. The mean episode of malaria per season was 3 known as incidence per season and the relative risk of contracting a new episode for a subject treated by the AS/SP and AS/AQ arms were is 17% and 15% less than being treated by the AR-L arm. No serious adverse events attributable to any of the study drugs were found. Thus, the artemisinin based combination therapies that we have tested were effective and can be safely used in large scale in the treatment of consecutive episodes of acute uncomplicated malaria.

**Keywords:**

*Malaria Episode, ACT, AS/AQ, AS/P, AR-L, Repeated treatment, Effectiveness, Safety.*

## **SERMENT D'HYPPOCRATE**

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

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

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

Je ne permettrai pas des considérations de religion de nation, de parti ou de classe sociale viennent s'interposer entre mon devoir et mon patient.

Je garderai le respect absolu de la vie humaine des sa conception.  
Même sous la menace, je n'admettrai pas de faire usage de mes connaissances médicales contre les lois de l'humanité.

Respectueux et reconnaissant envers mes maîtres, je rendrai a leurs enfants l'instruction que j'ai reçu de leur père.

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