

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

REPUBLIQUE DU MALI

Un Peuple-Un But-Une Foi

UNIVERSITE DES SCIENCES, DES TECHNIQUES ET DES TECHNOLOGIE DE BAMAKO
FACULTE DE MEDECINE ET D'ODONTO-STOMATOLOGIE

ANNEE ACADEMIQUE 2014-2015

THESE N° _____

TITRE

TOLERANCE ET EFFICACITE DE LA PRIMAQUINE A FAIBLE DOSE UNIQUE COMBINEE
AVEC LA DIHYDROARTEMISININE-PIPERAQUINE SUR LA TRANSMISSION DU
PALUDISME A *P. falciparum* CHEZ LES ENFANTS ET LES ADULTES DE SEXE MASCULIN
NON DEFICITAIRES EN G6PD A OUELESSEBOUGOU, MALI.

THESE

Présentée et soutenue publiquement devant la faculté de médecine et d'odontostomatologie
(FMOS) le 14/12/2015 par Monsieur

Koualy SANOGO

Pour obtenir le grade de docteur en médecine

(Diplôme d'Etat)

JURY

PRESIDENT

Prof. Sékou F. TRAORE

MEMBRES

Prof. Boubacar TRAORE

Dr. Mohamed KEITA

CO-DIRECTRICE

Dr. TRAORE Halimatou DIAWARA

DIRECTEUR DE THESE

Prof. Alassane DICKO

DEDICACES ET REMERCIEMENTS

DEDICACES

A ALLAH TOUT PUISSANT !!!

Merci de m'avoir donné la force et le courage de mener à terme ce travail.

A ma mère MARIAM SANOGO

Chère mère, éducatrice exemplaire tu n'es jamais fatigué. Tu m'as appris à accepter et aimer les autres avec leurs différences en cultivant ainsi en moi les vertus de la tolérance et de l'amour du prochain sur un fond de tendresse et d'affectivité. Trouve ici chère mère l'expression de ma profonde reconnaissance et de mon amour indéfectible.

A la mémoire de mon père ADAMA SANOGO

Cher père tu as toujours été soucieux de l'avenir de la famille. Tu n'as jamais su faire la différence entre tes enfants et ceux des autres par ce que pour toi tous les enfants étaient les tiens. Ton amour pour la famille, ta dignité, ton enseignement, ton sens de l'honneur et tes soucis du travail bien fait nous servent de modèle. Homme humble et modeste, tu m'avais toujours dit de faire avec amour, honnêteté, loyauté et courage tout ce j'entreprends dans la vie sans jamais abandonner quelque soient les circonstances. Mon admiration pour toi est sans limite. Ce travail est tien. **Que ton âme repose en Paix. AMEN !!!**

A ma grand-mère YOTIO TEREIZE SANOGO

Tu es à la fois une grand-mère et une mère pour moi. Les mots ne sauraient exprimer tout ce que j'ai sur le cœur aujourd'hui. Tu m'as guidé, soutenue et encouragé en m'apprenant ce que sont l'amitié, l'amour et la loyauté. Je te dis tout simplement merci pour ton éducation. Que puisse Dieu te garder encore longtemps en une aussi grande forme. Ce travail est le tien.

A mes sœurs : Achiatou SANOGO, Kadia SANOGO et à ma petite sœur Araba SANOGO.

Votre soutien ne m'a jamais fait défaut et soyez en rassuré du mien car unis pour le meilleur et le pire nous sommes condamnés à œuvrer main dans la main pour soulever haut et fort le flambeau de la famille SANOGO. Ce travail est le fruit de notre fraternité. Que nos liens fraternels se resserrent davantage !

A ma chère et tendre épouse Fatoumata TRAORE.

Fatytu m'as offert ton cœur et toute ta tendresse aussi bien dans la joie que dans les moments difficiles. Tu as enduré toute seule toutes les souffrances dues à mes longues périodes d'absence occasionnées par la réalisation de cette thèse. Ton soutien psychologique et affectueux ont été indispensables à la réussite de ce travail. Retrouve ici mon amour profond, toute mon affectivité et ma profonde reconnaissance.

A Sékouba KEITA

Tu as été plus qu'un collègue et un ami, tu es mon frère. Tu as été un véritable conseiller pour moi. Tu as toujours répondu présent et avec enthousiasme quand j'avais besoin de toi. Tu m'as gratifié de tant de respect. La solidarité a été grande tant dans la compréhension que dans la disponibilité. Merci du fond du cœur pour la confiance et du soutien qui n'ont jamais fait défaut. En ce moment solennel je te dis merci pour tout. Ce travail est le tien.

Qu'ALLAH raffermisse notre fraternité.

A mon fils Abderamane pour toute la joie qu'il me donne !

REMERCIEMENTS

Je tiens à adresser mes sincères remerciements:

A ma chère patrie, le Mali

Je prie pour que la paix, la stabilité et la quiétude qui étaient les tiennes te reviennent à jamais.

Au Professeur Alassane DICKO et au Dr Halimatou DIAWARA qui ont bien voulu m'accepter dans leur équipe de recherche et de m'avoir proposé et dirigé ce travail.

A tous mes enseignants du primaire au secondaire

A tout le corps professoral de la faculté de médecine et d'odontostomatologie (FMOS)

A Mr Zacharie CISSE et famille à SEGOU

Mariam COULIBALY, Feu Oumou OUATTARA, Alphonse Théophile CISSE etc... Il m'est particulièrement difficile de trouver les mots exacts pour vous dire merci. Vous m'avez accueilli les bras ouverts. Chacun de vous n'a ménagé aucun effort pour donner le meilleur de lui-même pour que je puisse parvenir au bout de ce long chemin. Merci pour cet accueil chaleureux dont je suis l'objet. Recevez ici toute ma gratitude et mon profond respect.

A la famille TRAORE a SEGOU

Korga DIARRA, Nematoudite Atou, Vieux TRAORE, Moussa TRAORE dit Tiotia ... Votre simplicité, votre sensibilité aux problèmes des autres font de vous une famille admirable. Je vous dis tout simplement merci pour tout ce que vous avez fait pour moi et puisse Dieu vous récompenser pour vos bienfaits.

A Mr Kamanan Jean Yves TRAORE et famille à BAMAKO

Merci du fond du cœur pour tous vos conseils et votre soutien sans faille.

**A Mr Tiediougou DIABATE et famille ainsi qu'à son ami Yaya CISSE, à Bourama
DIABATE et famille à BAMAKO**

Je vous remercie tous de m'avoir soutenu et donner le courage de parcourir ce long chemin. Votre soutien a été sans faille. Je ne saurai jamais vous oublier. Ce travail est le fruit de vos efforts conjugués.

A ma belle-famille

Mr Abderaamane TRAORE, Oumou CAMARA, Maman, Amoye, Naby, Lalla, Yaya, Moulaye, Djess, Amata ... Vous n'êtes plus la belle famille, bien au contraire la famille, le refuge. Vos BENEDECTIONS ont été d'un apport formidable pour moi. Merci Qu'ALLAH vous garde!

Aux familles Barnabé CISSE à BAMAKO et Zoumana BAGAYOKO a KAYES. Je vous dis merci !

A mes oncles et tantes

Adama Pascal SANOGO, Tidiani TRAORE, Kalifa SANOGO, Manh SANOGO, Rokia SANOGO, Nampory SANOGO. Vous avez été au rendez-vous à chaque fois que besoin se faisait sentir pour que je puisse être là où je suis maintenant. Merci pour tous vos conseils. Vous avez fait de moi votre fils. Ce travail est le vôtre.

A tous mes frères et sœurs

Me André CISSE, Fatoumata Nina dite Françoise DIALLO, Oumar DIOURTE, Issouf TRAORE, Rokia DIALLO, Edouard CISSE, Barthelemy DIARRA, Dr Hortense TRAORE, Zibada CISSE, Diaoudiatou TOGO, Dr Abou DIOURTE, Me Drissa TRAORE, Pascaline CISSE, Abdoulaye TRAORE, Souadou BALLO, Younoussa TRAORE, Maimouna, MamourouDIALLO, Youcouba TRAORE, Tiegue SANOGO. En réalité vous êtes à la fois des amis et des frères pour moi. Chers frères, c'est l'occasion pour moi de vous témoigner toute ma sympathie.

A mes amis de la faculté de médecine et d'odontostomatologie (FMOS)

Guediouma SAMAKE, Benoit SAGARA, Bakary KONE, Lamissa SANOGO, Amara DEMBELE. Vous avez été pour moi des frères, des compagnons de lutte. Je souhaite que ce lien soit encore plus solide et qu'il ne soit jamais altéré jusqu'à la fin de nos jours. Ce travail est le vôtre.

A mes camarades de la promotion 2005-2012

Faisons en sorte que notre promotion soit de tous les combats pour rehausser le niveau de la science. Merci mille fois pour cette ambiance studieuse que nous avons entretenue ensemble.

A mes aînés et à mes collègues thésards du MRTC a OUELESSEBOUGOU

Dr Youssoufa SIDIBE, Dr Gaoussou SANTARA, Dr Djibrilla Issiaka TOURE, Dr Brehima SAVADOGO, Dr Moussa M. TRAORE, Dr Mahamadou KAYA, Dr Almouhamoudou MAHAMAR, Dr Oumar Ataher TOURE, Dr Fanta KOITA, Seydou TRAORE, Fatoumata TRAORE, Daouda KONE, Awa SAMAKE, Kalifa DIARRA, Seydou Nangolo TRAORE, Bakary TRAORE. Tous, vous avez répondu présent et avec enthousiasme à mes appels pour me servir le long de ce travail. Je vous souhaite plein de succès dans la vie.

Au Dr TRAORE Halimatou DIAWARA

Votre rigueur scientifique, votre disponibilité, votre encouragement et vos soucis du travail bien fait ont été d'un grand apport dans la réalisation de ce travail. Je vous remercie du fond du cœur pour la marque de confiance que vous avez place en moi. Encore merci de votre franche collaboration. Je vous souhaite une très bonne carrière, ce travail est le vôtre.

Au Dr Amadou BARRY

Votre simplicité, votre abord facile, votre esprit critique, votre humanisme, votre pragmatisme et votre sourire constant font de vous un maître exemplaire. Trouvez ici cher maître l'expression de ma profonde gratitude.

Au Dr Sibiri SISSOKO

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

Au Dr BALDE Fanta KOITA

Ce fut un grand honneur de travailler et d'apprendre avec vous grâce à votre rigueur scientifique, votre disponibilité, vos encouragements qui ont été d'un grand apport dans la réalisation de ce travail. Je vous remercie du fond du cœur.

A toute l'équipe d'entomologie à OUELESSEBOUGOU

Mr Ibrahima BABER, Dr Harouna SOUMARE, Dr Sékou TRAORE, Mlle Fatoumata SISSOKO. Merci pour votre fraternité.

Aux techniciens du MRTC a OUELESSEBOUGOU

Zoumana Isaac TRAORE, Sekouba KEITA, Moussa L. DIAKITE, Sintry SANOGO, Moussa B. KANOUTE, Bakary S. DIARRA, Kadidiatou B. CISSE, Adama DEMBELE, Adama SISSOKO, Moussa L. TRAORE, Aly TIAMA, Madassa KEBE, Aichata DOUMBIA, Idrissa SAMAKE. Vous avez toujours répondu présent et avec enthousiasme quand j'avais besoin de vous. Vous m'avez gratifié de tant de respect. C'est le lieu de vous remercier pour votre bonne collaboration. Je vous souhaite une bonne carrière professionnelle.

Aux sages-femmes et infirmières du MRTC a OUELESSEBOUGOU

Adam TRAORE, Korotimi DEMBELE, Badji SIDIBE, Ami BAMBA, Ami FANE, Wassa Z. DOUMBIA, Saran SAMAKE. Merci pour votre franche collaboration. Bonne carrière a vous toutes.

Aux Data managers a Ouélessébougou

Ibrahim DIARRA, Alhousseyni DICKO, Ammara DICKO

Au comptable Mr Mohamed Almoustapha DICKO dit Kaga

A tous nos guides à OUELESSEBOUGOU

Madou DOUMBIA, Dama DOUBIA, Bakary SAMAKE, Cheick O. BALLO. Un grand merci à chacun de vous.

Aux chauffeurs du MRTC a OUELESSEBOUGOU

Gabriel SAMAKE, Siaka SAMAKE, Drissa DIARRA, Ibrahim MAIGA, Aliou MAIGA. Merci de nous avoir fait parcourir le "Djitoumou" en toute sécurité. Je vous dis du fond du cœur merci pour votre disponibilité.

A notre planton : Lassine SAMAKE

Aux gardiens : Keriba SAMAKE et Bourama TRAORE

Aux cuisinières : Nana DIARRA, Mariam DIARRA, Mariam S. SAMAKE

A toute la population du district sanitaire de Ouélessébougou pour sa collaboration.

A tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.

HOMMAGES AU JURY

A NOTRE MAITRE ET PRESIDENT DU JURY

Professeur Sékou F. TRAORE

- *Professeur titulaire en entomologie médicale*
- *Responsable des cours en biologie à la Faculté de Médecine et d'Odontostomatologie (FMOS) et à la Faculté de Pharmacie (FAPH)*
- *Co-directeur du Malaria Research and Training Center (MRTC)*

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

Nous avons beaucoup admiré vos immenses qualités humaines, sociales et scientifiques tout au long de ce travail. Vous avez cultivé en nous, le sens du travail bien fait.

Votre simplicité, votre disponibilité, votre rigueur, votre dynamisme font de vous un maître apprécié de tous.

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

A NOTRE MAITRE ET MEMBRE DU JURY

Professeur Boubacar TRAORE

- *Professeur titulaire en Parasitologie-Mycologie à la Faculté de Pharmacie(FAPH);*
- *Responsable de l'unité Paludisme et grossesse et du laboratoire d'Immuno-pathologie parasitaire du MRTC;*

➤ *Doyen de la Faculté de Pharmacie (FAPH)*

Cher maitre,

Ce travail est avant tout le fruit de vos efforts. Votre humanité, votre simplicité, la clarté de vos enseignements, votre amour pour le travail bien fait imposent respect et admiration.

Merci pour votre soutien et les conseils que vous nous avez prodigués. Permettez-moi cher maitre de vous adresser l'expression de ma reconnaissance et de mon profond respect.

A NOTRE MAITRE ET MEMBRE DU JURY

DR Mohamed KEITA

- *Maitre assistant en Anesthésie Réanimation à la Faculté de Médecine (FMOS);*
- *Chargé de cours à l'Institut National de Formation en Science de la Santé (INFSS);*
- *Praticien hospitalier au CHU du point G ;*
- *Ancien coordinateur adjoint du Programme National de Lutte contre le Paludisme (PNLP), Mali.*

Cher maitre,

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

Cher maitre, votre simplicité, votre sourire constant, votre esprit critique, votre rigueur scientifique, et votre pragmatisme nous ont conduits vers vous.

Trouver ici l'expression de notre plus haute considération.

A NOTRE MAITRE ET CO-DIRECTRICE DE THESE

Docteur TRAORE Halimatou DIAWARA

- *Master en économie de la sante*

➤ *Médecin chercheur au MRIC*

Cher maitre,

Vos critiques et suggestions ont été d'un apport inestimable pour la réalisation de ce document. Nous avons apprécié vos qualités humaines et scientifiques tout au long de ce travail. Votre sens élevé du travail bien fait, votre disponibilité constante et surtout votre patience font de vous un maitre respectable et admiré. Trouvez ici toute notre admiration ainsi que notre profond respect.

A NOTRE MAITRE ET DIRECTEUR DE THESE

Professeur Alassane DICKO

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

Cher maitre,

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

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

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

**LISTE DES ABREVIATIONS,
DES FIGURES ET DES TABLEAUX**

LISTE DES ABREVIATIONS

AHA	Anémie Hémolytique Aiguë
AMA	Atypical Membran Antigen
ARNm	Acide ribonucléique messenger
BNDA	Banque Nationale de Développement Agricole du Mali
CPN	Consultation Périnatale
CPS	Chimio-prévention du Paludisme Saisonnier
CQ	Chloroquine
CRF	Case Report Form
CSA	Chondroïtine Sulfate A
CSCoM	Centre de Santé Communautaire
CSGS	Comité de Suivi des Données et de la Sécurité
CSP	Circum Sporozoite Protein
CSRéf	Centre de Santé de Référence
CTA	Combinaison Thérapeutique à base d'Artémisinine
DP	Dihydroartémisinine+pipéraquline
EDM	Energie du Mali
EDSM	Enquête Démographique et de Santé du Mali
EI	Evènement indésirable
EIG	Evènement indésirable grave
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
FM	Frottis mince
G6PD	Glucose-6-Phosphate Déshydrogénase

BPC	Bonnes Pratiques Cliniques
GE	Goutte épaisse
Hb	Hémoglobine
HRP	Histidine Rich Protein
ICAM	Intercellular Molecule Adhesion
ICH	International Conference on Harmonisation
LSA	Liver Stage Antigen
MetHb	Méthémoglobine
MILD	Moustiquaires Imprégnées d’Insecticide longue Durée d’action
MRTC	Malaria Research and Training Center
MSP	Merozoite Surface Protein
MVI	Malaria Vaccine Initiative
OHVN	Office de la Haute Vallée du Niger
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
<i>P.f</i> EMP	<i>Plasmodium falciparum</i> Erythrocyte Membrane Protein
PCR	Polymérase Chain Reaction
PI	Principal Investigateur
PID	Pulvérisation intra domiciliaire
PNLP	Programme National de Lutte contre le Paludisme
PQ	Primaquine
PRODESS	Programme de Développement Sanitaire et Social
QBC	Quantitative Buffy Coat
RESA	Ring Erythrocyte Surface Antigen
SOTELMA	Société de Télécommunication du Mali
SP	Sulfadoxine-pyriméthamine
TNF	Tumor Necrosis Factor
TPI	Traitement Préventif Intermittent
UCSF	Université de Californie, San Francisco
VCAM	Vascular Cell Adhésion Molecule

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Cycle parasitaire des Plasmodies pathogènes pour l'homme	34
Figure 2: Formule chimique de la primaquine	58
Figure 3: Carte du Mali montrant Ouélessébougou	65
Figure 4: Diagramme de flux	78
Figure 5: Réduction de l'infectivité en fonction des jours de suivi: "analyse par intention de traiter" - échantillon principal (n=71)	82
Figure 6: Réduction de l'infectivité en fonction des jours de suivi "analyse par protocole" - échantillon sous-groupe (n=57)	83
Figure 7: Prévalence et densité des gamétocytes par PCR à l'inclusion et du suivi	87
Figure 8: Evolution du taux moyen d'hémoglobine (g/dL) par groupe	88

LISTE DES TABLEAUX	14
Tableau I : Classification des antipaludiques	53
Tableau II. Tableau des prélèvements sanguins des participants	71
Tableau III: Répartition des participants selon la classe d'âge	80
Tableau IV: Répartition des participants par groupe de traitement et la classe d'âge	80
Tableau V: Répartition des participants selon l'ethnie	80
Tableau VI: Résumé de l'infectivité des moustiques en fonction des groupes de traitement pendant le suivi	81
Tableau VII: Réduction de l'infectivité à J1, J2 et J7 (échantillon primaire n=71)	82
Tableau VIII: Réduction de l'infectivité à J1, J2 et J7 (analyse par protocole n=57)	83
Tableau IX: Prévalence de la gamétoctémie à la microscopie par groupe de traitement en fonction des jours de suivi	85
Tableau X: Densité de la gamétoctémie à la microscopie par groupe de traitement en fonction des jours de suivi	85
Tableau XI : Prévalence de la gamétoctémie de <i>P. falciparum</i> mesurée par PCR par groupe de traitement en fonction des jours de suivi	86

Tableau XII : Densité de la gamétocythémie de <i>P. falciparum</i> mesurée par PCR par groupe de traitement en fonction des jours de suivi	87
Tableau XIII: Prévalence de l'anémie par groupe de traitement	89
Tableau XIV : Proportion des participants qui ont eu au moins un événement indésirable (lié ou non au médicament) en fonction des groupes de traitement	90
Tableau XV : Taux d'incidence des événements indésirables (liés ou non aux médicaments) en fonction des groupes de traitement	90
Tableau XVI: Classification des EI par groupe en fonction de la sévérité	91
Tableau XVII: Classification des EI en fonction des groupes de traitement selon la relation avec le médicament de l'étude	91

TABLE DES MATIERES

1. INTRODUCTION ET JUSTIFICATION	18
1.1 Introduction	198
1.2 Justification	21
2. OBJECTIFS	23
2.1 Objectif général	243
2.2 Objectifs spécifiques	24
3. GENERALITES	26
3.1 Définition	26
3.2 Epidémiologie	26
3.2.1 Les vecteurs	27
3.2.2 Les parasites	28
3.2.4 Cycle biologique	29
3.3 Physiopathologie du paludisme	31
3.3.1 Accès palustre simple	31
3.3.2 Paludisme grave	31
3.4 Paludisme et immunité	32
3.5 Diagnostic du paludisme	33
3.5.1 Diagnostic clinique	33
3.5.2 Diagnostic biologique	39
3.5.3 Diagnostic différentiel	41

3.6	Lutte antipaludique	41
3.6.1	Prévention	41
3.6.2	Les antipaludiques.....	43
4.	METHODOLOGIE	54
4.1	Site de l'étude.....	55
4.2	Type d'étude.....	58
4.3	Période d'étude	58
4.4	Population d'étude.....	58
4.4.1	Critères d'inclusion	58
4.4.2	Critères de non-inclusion	59
4.5	Intervention.....	59
4.6	Procédure de l'étude.....	60
4.6.1	Organisation du travail.....	60
4.6.2	Randomisation et recrutement.....	61
4.6.3	Membrane feeding.....	62
4.6.4	Administration des médicaments	62
4.6.5	Suivi des participants	63
4.7	Paramètres mesurés	63
4.7.1	Infectivité des moustiques	63
4.7.2	Taux d'hémoglobine.....	64
4.7.3	Évènements indésirables (EI)	64
4.7.4	Prévalence et densité de la Parasitémie à <i>P. falciparum</i>	66
4.8	Estimation de la taille de l'échantillon.....	67
4.9	Gestion et analyse des données	67
4.10	Considérations éthiques	68
5.	RESULTATS	69
5.1	Caractéristiques sociodémographiques	69
5.2	Efficacité de la PQ sur l'infectivité des gamétocytes pour les moustiques	71
5.3	Effet de la PQ sur les gamétocytes de <i>P. falciparum</i>	76
5.4	Tolérance.....	80
6.	DISCUSSION	84
6.1	Sur le plan méthodologique	84
6.2	Sur le plan de la tolérance.....	86
6.3	Sur le plan de l'efficacité.....	87

7. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS	91
7.1 Conclusions	91
7.2 Recommandations	92
8. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	93
9. ANNEXES	102
FICHE SIGNALETIQUE	103
SERMENT D'HIPPOCRATE	105

1. INTRODUCTION ET JUSTIFICATION

1.1 Introduction

Le paludisme ou malaria est la première maladie parasitaire humaine dont l'histoire se confond avec celle de l'humanité et continue d'être à nos jours une véritable préoccupation de santé publique à l'échelle mondiale. En effet selon les dernières estimations de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS)[1], 3,4 milliards de personnes sont exposées au paludisme en 2012. Sur ce total, 2,2 milliards à faible risque (moins d'un cas signalé pour 1000 habitants), parmi lesquels 94 % hors de la Région Afrique. Au nombre de 1,2 milliard les personnes exposées à un risque élevé (au moins un cas pour 1000 habitants) vivent principalement dans la Région Afrique (47 %) et la Région d'Asie du Sud-Est (37 %). Au cours de la même période il a été estimé que 207 millions de cas ont provoqué 627000 décès. La plupart de ces décès (90 %) ont lieu en Afrique subsaharienne et chez les enfants de moins de cinq ans (77%). Cependant entre 2000 et 2012, les taux de mortalité imputables au paludisme ont diminué de 45% dans le monde et de 49 % dans la Région Afrique ; chez les enfants de moins de cinq ans, les décès ont diminué de 51 % dans le monde et de 54% dans la Région Afrique. Ces réductions importantes sont le résultat d'une intensification majeure des interventions de lutte antivectorielle, de l'utilisation des tests de diagnostics et des traitements par une combinaison thérapeutique à base d'artémisinine ou CTA [1].

Au Mali, le paludisme représente 35% de l'ensemble des motifs de consultation dans les centres de santé et hôpitaux, et est la première cause de morbidité (soit 32,4%) et de mortalité (soit 45,7%) chez les enfants de moins de 5 ans [2]. Cependant le paludisme touche moins de 50 % des jeunes enfants de 6-23 mois, mais il concerne plus de la moitié des enfants âgés de deux ans ou plus. Sa prévalence varie de 38-49 % parmi les enfants de moins de deux ans, et chez les enfants âgés de deux ans et plus, elle varie de 51 % (24-35 mois) à 58 % (48-59 mois). La prévalence nationale de la parasitémie est de 52% et selon la région, c'est à Mopti (71 %), Sikasso (62 %), Ségou (56 %) et à Koulikoro (50 %) que la prévalence du paludisme est la plus élevée. À l'opposé, c'est à Bamako (10 %) qu'elle est la plus faible. Dans la région de Kayes, la prévalence se situe à 37 %[3]. La prévalence de l'infection palustre dépend de la pluviométrie et de la température et varie de 7,2% (en zone du Sahel) à 83,5% (en zone soudanienne)[4].

Le *Plasmodium falciparum* est l'espèce la plus courante responsable des formes létales, graves et compliquées du paludisme. Il contribue de 85 à 90% de la formule parasitaire avec de légères variations saisonnières suivi du *Plasmodium malariae*, contribuant pour 10-14% de la formule parasitaire, du *Plasmodium ovale* contribuant pour 1% de la formule parasitaire et un seul cas de *Plasmodium vivax* décrit dans la population blanche du nord du Mali (Kidal)[5]. Les principaux vecteurs rencontrés en Afrique de l'Ouest et singulièrement au Mali sont: *Anophèles gambiae s.l.* avec ses formes chromosomiques (*An. gambiae s.s.* forme chromosomique Mopti, Bamako, Savana), *Anophèles aranbiensis* et *Anophèles funestus*. Les différentes formes chromosomiques et *Anophèles aranbiensis* et la forme Mopti d'*Anophèles gambiae s.s.* se rencontrent surtout dans les zones arides au Nord et les zones inondées centrales tandis que les formes Bamako et Savane se rencontrent dans les zones humides au Sud. [6]. Les mécanismes de la transmission du paludisme à l'homme par le moustique sont de mieux en mieux appréhendés de nos jours depuis la mise au point du gorgement sur membrane pour l'infection des moustiques[7]. C'est ainsi que les études de Toure et al., en 1998, ont montré que *An. gambiae s.l.* s'infectaient mieux sur les porteurs de gamétocytes de *P. falciparum* âgés de 4 à 18 ans que chez les adultes de plus de 18 ans. Celles de Diallo et al., en 2008 ont déterminé que le taux d'infection chez *An. gambiae s.l.* est nettement plus élevé lorsque l'infestation est directe « direct feeding » qu'indirecte « membrane feeding ». Mais, ils ont conclu qu'une optimisation de la méthode pour les essais futurs impliquerait d'utiliser environ trois fois plus de moustiques pour le feeding indirecte que ceux qui seraient utilisés pour le feeding direct.

Les stratégies de lutte contre le paludisme appliquées par le Programme National de Lutte contre le Paludisme(PNLP) du Mali s'inspirent fortement des recommandations prônées par l'OMS au niveau mondial. Selon EDSM-V, il s'agit essentiellement : i) de la prévention par l'utilisation des moustiquaires imprégnées d'insecticide à longue durée d'action(MILD): Près de neuf ménages sur dix possèdent, au moins, une moustiquaire qu'elle ait été traitée ou non. Cette proportion est plus élevée en milieu rural (89 %) qu'en milieu urbain (86 %) ; ii) de la pulvérisation intradomiciliaire par des insecticides à effet rémanent(PID) : Cette stratégie est encore très faible et non généralisée au Mali. En effet, seulement 6 % des ménages ont bénéficié de la PID. Ce pourcentage est de 5 % en milieu urbain et de 7 % en milieu rural ; iii) du traitement préventif intermittent(TPI) chez la femme enceinte : La proportion des femmes enceintes ayant pris, à titre préventif, des antipaludéens au cours de la grossesse est de 86 % en milieu urbain et 61 % en milieu rural. Par contre, la proportion de femmes ayant suivi, comme recommandé, un Traitement Préventif Intermittent (TPI), à savoir deux doses de SP/Fansidar au cours des visites prénatales n'est que de 20 % et les femmes enceintes du milieu urbain y ont accès beaucoup plus fréquemment que celles du milieu rural (37 % contre 16 %) ; iv) de la chimioprévention du paludisme saisonnier(CPS) chez les enfants : Cette stratégie a commencé au Mali en 2012. En 2014 la CPS a été administrée dans 21 districts sanitaires et est actuellement en évaluation au Mali par l'équipe du MRTC ; v) du diagnostic et traitement des cas de paludisme par des combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine(CTA) : Parmi les enfants fébriles de moins de cinq ans, 23 % ont pris des antipaludéens dont une combinaison avec Artémisinine (4 %). La prise d'une combinaison avec Artémisinine est pratiquement la même en milieu urbain qu'en milieu rural (5 % et 4 %) [3].

1.2 Justification

Au cours de la dernière décennie, de grands progrès ont été accomplis dans la lutte contre le paludisme suite à la généralisation de l'accès et l'utilisation des combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine (CTA) et des moustiquaires imprégnées d'insecticides. Ce succès des programmes de lutte contre le paludisme a entraîné la réduction de la mortalité liée au paludisme dans le monde de 26% entre 2000 et 2010 [8, 9]. Cependant cette baisse de l'endémicité a conduit à un appel au contrôle et à l'élimination du paludisme dans de nombreux pays dans le monde. Bien que la transmission du paludisme soit considérablement réduite, son élimination reste difficile à atteindre avec les outils classiques de lutte dans la

plupart des contextes africains. L'un des défis majeurs dans l'élimination du paludisme est le ciblage des porteurs asymptomatiques de parasites qui, selon de nombreux experts constituent plus de 50% des personnes infectées par le paludisme et sont largement responsables de la transmission [10]. Par conséquent, une recherche continue de nouveaux outils et de nouvelles stratégies qui ciblent chaque stade du cycle de vie complexe du parasite s'impose dans le but de maintenir les gains de lutte et les progrès vers l'élimination du paludisme. Un tel outil recommandé par l'OMS est l'ajout de la primaquine à faible dose unique aux CTA pour empêcher la transmission des infections de *Plasmodium falciparum* aux moustiques anophèles dans des contextes de faible transmission et de résistance aux médicaments[8]. Développé dans les années 1940 la primaquine est le seul médicament antipaludique commercialisé capable d'éliminer les gamétocytes matures de *Plasmodium falciparum* [11]. Cet amino-8-quinoléine a été approuvé pour le traitement radical du paludisme à *P. vivax* et *P. ovale* en raison de sa capacité à tuer les formes dormantes (hypnozoïtes) de ces parasites dans le foie. Bien que la primaquine soit autorisée et utilisée depuis plus de 60 ans, son administration répandue est entravée par des problèmes de tolérance. Plus précisément, elle provoque une hémolyse qui est dose dépendante chez les personnes déficitaires en glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PD), une enzyme impliquée dans le métabolisme du glucose [12]. Cette hémolyse est causée par le stress oxydatif induit par la primaquine dans les globules rouges, et peut varier en sévérité de l'hémolyse compensée, à l'anémie hémolytique aiguë (AHA) modérée, ou sévère, avec ou sans insuffisance rénale [13, 14]. L'importance de l'hémolyse dépend de plusieurs facteurs : la dose de primaquine, le type de déficit en G6PD, l'utilisation concomitante d'autres médicaments oxydants [14], les infections. Des lacunes actuelles dans la connaissance des effets indésirables de la primaquine à dose unique chez les individus déficitaires en G6PD au sein d'une population donnée empêchent son utilisation plus large. Au Mali la fréquence du déficit en G6PD est de 14% chez les enfants [15]. En 2012, l'OMS a recommandé d'administrer "Dans les zones à faible transmission du paludisme, une dose unique de 0,25 mg de primaquine base par kg en même temps que les CTA aux patients souffrant d'un paludisme à *P. falciparum* (à l'exception des femmes enceintes, des nourrissons de moins de 6 mois et des femmes qui allaitent des enfants de moins de 6 mois) afin de réduire la transmission. Un dépistage de la carence en G6PD n'est pas nécessaire"[8]. Cette recommandation de l'OMS de la dose unique de 0,25 mg/kg de primaquine pour la clairance des gamétocytes de *P. falciparum* est basée sur les "avis des experts" [9] à travers un examen des données existantes sur la réponse de la faible dose unique de PQ sur la réduction de la transmission du paludisme à *P. falciparum*[16]. Les données

examinés sont basées sur des essais d'infectivité historiques et il n'y avait pas d'évaluations formelles de l'efficacité de la faible dose unique de PQ sur la réduction des taux d'infectivité pour les moustiques lorsqu'elle est combinée aux CTA actuellement utilisées [16].

En absence de données solides, il était urgent de déterminer la dose efficace la plus faible de PQ qui bloque la transmission de *P. falciparum* quand elle est donnée avec une CTA comme la dihydroartémisinine-pipéraqune.

2. OBJECTIFS

2.1 Objectif général

- ❖ Évaluer la tolérance et l'efficacité de différentes doses de primaquine (PQ) combinées avec la dihydroartémisinine-pipéraquine (DP) chez les enfants et les adultes masculins non déficitaires en G6PD.

2.2 Objectifs spécifiques

- ❖ Évaluer l'effet de différentes doses de primaquine sur l'infectivité des gamétocytes de *P. falciparum* pour les moustiques après l'administration de différentes doses de PQ combinées avec la DP chez les enfants et les adultes infectés par le paludisme et non déficitaires en G6PD.
- ❖ Comparer l'effet de différentes doses de PQ combinées avec la DP sur les gamétocytes de *P. falciparum* chez les enfants et les adultes non déficitaires en G6PD.

- ❖ Comparer l'effet de différentes doses de PQ combinées avec la DP sur le taux d'hémoglobine chez les enfants et les adultes non déficitaires en G6PD.
- ❖ Comparer l'incidence des effets secondaires chez les enfants et les adultes non déficitaires en G6PD qui ont reçu différentes doses de PQ combinées avec la DP.

3. GENERALITES

3.1 Définition

Le paludisme ou malaria est une érythrocytopathie fébrile et hémolysante due à la présence et au développement dans le foie puis dans les hématies d'un hématozoaire du genre *Plasmodium*. Il est transmis à l'homme par la piqûre infestante d'un moustique femelle du genre Anophèles. Il existe quatre espèces de *Plasmodium* infectant habituellement l'homme, *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium malariae* et *Plasmodium ovale*. Des cas de paludisme humain à *Plasmodium knowlesi* qui est un paludisme de singe ont été rapportés ces dernières années dans certaines zones d'Asie du Sud-Est [17]. Parmi ces espèces infectant l'homme le *P. falciparum* est l'espèce la plus courante et responsable d'une part importante de la mortalité liée à cette maladie en Afrique au sud du sahara.

3.2 Epidémiologie

Le paludisme sévit actuellement dans la ceinture de pauvreté du monde, mais l'impact de la maladie en termes de santé publique (mortalité, morbidité et impact socio-économique) varie

considérablement d'une région à l'autre. La grande majorité des cas graves et mortels de paludisme est due essentiellement à *P. falciparum* et survient chez les enfants de moins de cinq ans et les femmes enceintes[18].

En Afrique subsaharienne, la plupart des décès surviennent chez les enfants où chaque minute un enfant meurt du paludisme. Cette maladie est à l'origine de près de 22% de l'ensemble des décès d'enfants[19].

En clinique, on estime à environ 2 épisodes de paludisme en moyenne par enfant (0-5 ans) et par saison de transmission (hivernage) [20].

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

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

Au Mali il existe 5 faciès épidémiologiques de transmission du paludisme [21]:

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

La transmission se fait essentiellement en saison des pluies. Cette transmission continue même en saison sèche pour les zones irriguées [22].

3.2.1 Les vecteurs

Le paludisme humain est transmis par les anophèles femelles. A cet effet, l'épidémiologie du paludisme humain suit la distribution spatiale des anophèles vecteurs. En Afrique, dans les

régions au sud du Sahara les vecteurs prédominants sont *An. gambiaes.l* et *An. funestus*. Le complexe *An. gambiae* comprend six espèces : *An. gambiae s.s.*, *An. aranbiensis*, *An. merus*, *An. melas*, *An. quadrianulatus* et *An. bwambe*[6]. Ces espèces du complexe *An. gambiae* sont morphologiquement identiques, mais présentent des barrières de reproduction et des préférences écologiques distinctes.

Au Mali, sont présentes: *An. gambiae s.s.*, *An. aranbiensis* et *An. funestus*. L'espèce *An. Gambiaes.s.* est composée de trois formes chromosomiques (Bamako, Mopti, savane)[6] qui contribuent toutes à la transmission du paludisme. Les cinq entités vectrices montrent des différences significatives de distributions géographiques et saisonnières de leurs fréquences relatives [23]. Ainsi *An. gambiaes.s.* s'observe essentiellement dans les zones humides du Sud et au Nord, dans les zones d'inondation du fleuve Niger ; alors qu'*An. aranbiensis* se rencontre dans les zones plus sèches et éloignées des terres inondées. Les formes Bamako et Savane s'observent essentiellement en saison des pluies alors que la forme Mopti et *An. aranbiensis* se rencontrent aussi bien en saison des pluies qu'en saison sèche. Ces différents taxa coexistent souvent avec *An. funestus*, qui est responsable de transmission pendant la saison sèche fraîche entretenant un système de transmission par relais[24]. Cette complexité du système vectoriel fait qu'au Mali, l'épidémiologie du paludisme diffère selon les régions géographiques (voir facies de transmission ci-dessus).

3.2.2 Les parasites

Les plasmodies sont des protozoaires appartenant à l'embranchement des sporozoaires, à l'ordre des Haemosporidae, à la classe des Haemosporidae, à la famille des Plasmodidae, au genre *Plasmodium* et on distingue cinq espèces plasmodiales inféodées à l'homme: *P. malariae*, *P. ovale*, *P. vivax*, *P. knowlesi* et *P. falciparum*. Ce dernier contribue de 85 à 90% de la formule parasitaire, et est responsable des formes létales, graves et compliquées du paludisme au Mali [3].

3.2.3 Indices épidémiologiques

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

3.2.3.1 Indices chez l'homme

Indice plasmodique (IP) : C'est le pourcentage de sujets d'un groupe d'âge donné (2 à 9 ans) porteurs de formes asexuées dans le sang périphérique. Il permet de déterminer le niveau d'endémie. Lorsque la maladie est connue dans la région et que le nombre de cas est attendu compte tenu du lieu, du temps et de la population considérée, on distingue 4 niveaux (pourcentage de la population) : moins de 25% : hypo-endémie ; de 25 à 50% : méso-endémie ; de 50 à 75% : hyper-endémie ; plus de 75% : holo-endémie.

Indice splénique : C'est le pourcentage d'enfants entre 2 et 9 ans présentant une splénomégalie. Cet indice permet le classement en zones d'hypo-endémie (indice splénique de 0 à 19 %), en zones de méso-endémie (indice splénique de 20 à 49 %), en zones d'hyper-endémie (indice splénique de 50 à 75 %) et en zones d'holo-endémie (indice splénique supérieur à 75 %). Il n'est plus utilisé de nos jours.

Indice gamétocytaire : Il représente le pourcentage de sujets porteurs de gamétocytes sanguins. Il indique la capacité d'une population humaine à infester les vecteurs et donc le risque d'infectivité d'une population donnée.

3.2.3.2 Indices chez le vecteur

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

Indice sporozoïtique (IS) : C'est le pourcentage d'anophèles porteurs de sporozoïtes dans les glandes salivaires.

Indice oocystique (IO) : C'est le pourcentage d'anophèles porteurs d'oocystes dans la paroi de leur estomac. Cet indice n'est pas très fiable car l'évolution sporogonique peut avorter après la formation d'oocystes.

Taux d'inoculation entomologique : Le taux d'inoculation entomologique ou TIE représente le nombre de piqûres infestantes pour l'homme et par unité de temps. Cette unité peut être exprimée en nuit, en mois ou en année selon les études entomologiques réalisées.

3.2.4 Cycle biologique

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

- o **La sporogonie ou cycle sexué chez l'Anophèle femelle**

En prenant son repas sanguin sur le sujet parasité l'anophèle femelle absorbe les trophozoïtes, les schizontes, les rosaces et les gamétocytes. Seuls les gamétocytes échappent à la digestion. Rapidement, par expulsion d'un corpuscule chromatinien, le gamétocyte femelle se transforme en macro gamète ; chez le gamétocyte mâle, la microgamétogenèse ou ex-flagellation est plus lente: le noyau se divise en donnant naissance à huit microgamètes mâles flagellés, d'environ 20µm, très mobiles qui vont rapidement à la rencontre des macrogamètes femelles. Par fertilisation et par la faveur d'un chimiotactisme positif, les gamètes mâles haploïdes fécondent les femelles non mobiles et également haploïdes. Il en résulte des zygotes diploïdes non mobiles qui se transforment en ookinètes diploïdes, mobiles et allongés au bout de 20 à 24 heures. Les ookinètes pénètrent l'épithélium stomacal pour se transformer à la surface en oocystes non mobiles et diploïdes. Les oocystes sont des éléments circulaires aux contours réguliers, qui se fixent sur la paroi de l'estomac du moustique. A l'intérieur des oocystes vont se former des sporocystes qui donneront plusieurs centaines des sporozoïtes. La taille de l'oocyste passe d'environ 8µm à environ 60-80µm pendant sa maturation. La maturation de l'oocyste (ou sporogonie) dure de 4 à 21 jours suivant les conditions climatiques pour *P. falciparum*. A maturité les oocystes éclatent et les sporozoïtes sont libérés dans l'hémolymphe, en 24 heures environ, la majorité d'entre eux va migrer vers les glandes salivaires. Les sporozoïtes sont mobiles et mesurent 12 x 1µm. Les sporozoïtes survivent en général 2 à 3 semaines dans les glandes salivaires (maximum 2 mois). La survie des sporozoïtes dépend de l'adaptation : *Anophèles/Plasmodium*[25]. Ces sporozoïtes, lors d'un prochain repas de sang du moustique, sont inoculés à l'homme.

o La schizogonie ou multiplication asexuée chez l'homme

Au cours de la piqûre, un moustique infesté injecte dans un capillaire des sporozoïtes, formes infectantes contenues dans les glandes salivaires. Après 30 mn dans le sang périphérique, les sporozoïtes atteignent les hépatocytes pour s'y multiplier et former des masses multinuclées repoussant les noyaux de celles-ci vers la périphérie: schizontes ou corps bleus (40 à 100µm). Parallèlement apparaissent, dans l'hématie selon l'espèce plasmodiale, des granulations de Schüffner (*P. vivax*, *P. ovale*) ; de Maurer (*P. falciparum*) ou de Zieman (*P. malaria*). Les corps bleus s'éclatent pour libérer des mérozoïtes qui peuvent infecter aussi chacun un autre hépatocyte : c'est le cycle hépatique ou exo-érythrocytaire. Certains mérozoïtes, par endocytose infectent les hématies et deviennent des trophozoïtes (2 à 3µm) possédant chacun une grosse vacuole nutritive qui repousse le noyau vers la périphérie. Ces trophozoïtes se multiplient pour donner des schizontes ou corps en rosace qui vont se charger de pigments malariques (hémozoïne). L'hémozoïne libérée, est phagocytée soit dans le sang par les

La pathogénie du paludisme grave est mieux comprise actuellement. Elle fait intervenir une adhérence des hématies parasitées à l'endothélium vasculaire et une cascade de cytokines. La cyto-adhérence des hématies parasitées repose sur : les « knobs », véritables protuberances de la membrane de l'érythrocyte parasité. Ces protubérances contiennent des antigènes plasmodiaux dont certains sont spécifiques à *P. falciparum*: érythrocyte membrane protein 1 (*P.f*EMP1), histidine rich protein (HRP) et protéine RESA (ring erythrocyte surface antigen) ; les récepteurs endothéliaux qui constituent des points d'attache de prédilection pour les érythrocytes infectés. Plusieurs récepteurs ont été identifiés: l'ICAM-1 (intercellular molecule adhesion), la protéine CD-36, la thrombospondine, la sélectine-E, le VCAM-1 (vascular cell molecular adhesion) et la chondroïtine sulfate A (CSA) présente sur les syncytiotrophoblastes placentaires ; la cyto-adhérence est amplifiée par le phénomène de rosettes, agglutination d'hématies saines autour d'hématies parasitées. Ces rosettes peuvent obstruer des capillaires profonds et induire une séquestration.

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

La physiopathologie du paludisme grave dépend de multiples facteurs :

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

3.4 Paludisme et immunité

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

3.4.1 Immunité naturelle

Bien qu'encore imparfaitement connus, il existe très probablement des facteurs génétiques conférant à certains sujets une immunité naturelle, au moins partielle. On évoque des facteurs érythrocytaires : trait drépanocytaire (sujet hétérozygote AS), groupe sanguin Duffy négatif, et des facteurs non érythrocytaires : groupe HLA, polymorphisme de la réponse immune, facteurs ethniques.

3.4.2 Immunité acquise

Elle joue incontestablement un rôle essentiel dans le paludisme. Cette immunité s'acquiert progressivement en situation d'exposition continue. Elle n'est pas stérilisante (elle n'empêche pas d'être de nouveau contaminé) et ne permet pas de se débarrasser totalement du parasite. En revanche elle empêche progressivement la survenue de formes cliniques graves. Cela explique qu'en zone de transmission intense, les jeunes enfants payent le plus lourd tribut à la maladie, à partir de l'âge de 4 à 6 mois lorsque la protection maternelle transmise s'amenuise et jusqu'à 4 à 6 ans. Progressivement le risque d'accès grave diminue alors que le sujet tolère des parasitémiées de plus en plus importantes tout en restant cliniquement asymptomatique. En zone de transmission intense il est exceptionnel qu'un sujet adulte fasse un accès grave. Cette immunité est donc « non stérilisante », fonction de l'espèce, et ne se développe qu'après une longue période d'exposition ininterrompue. Elle est transmissible (nouveau-nés). En revanche elle n'est jamais totale et jamais définitive.

3.5 Diagnostic du paludisme

3.5.1 Diagnostic clinique

3.5.1.1 Paludisme simple ou paludisme non compliqué (PNC)

Le paludisme simple se définit comme suit : paludisme asymptomatique sans signes de gravité ni éléments d'appréciation (cliniques ou biologiques) permettant d'affirmer un dysfonctionnement des organes vitaux. Sur le plan clinique, la suspicion de paludisme repose donc principalement sur la présence d'un état fébrile ou d'antécédents de fièvre [27].

✓ Accès palustre de primoinvasion à *P. falciparum*

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

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

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

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

✓ **Accès palustre à fièvre périodique**

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

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

- **Un stade de frissons** : agité de frissons violents, le malade se blottit sous ses draps alors que sa température atteint 39°C. La rate augmente de volume, la tension artérielle diminue. Cette phase dure environ une heure.
- **Un stade de chaleur** : la température peut dépasser 40°C, la peau est sèche et brûlante et le malade rejette ses draps. Cette phase s'accompagne de céphalées et de douleurs abdominales ; elle dure 3 à 4 heures. La rate diminue de volume.
- **Un stade de sueurs** : ce sont des sueurs profuses qui baignent le malade. Le malade émet des urines foncées, la température s'effondre brusquement, avec même parfois une phase d'hypothermie. La tension artérielle remonte. Ce stade dure 2 à 4 heures et s'accompagne

d'une sensation de bien-être, d'euphorie, concluant la crise. Cette crise typique correspond à la schizogonie érythrocytaire.

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

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

3.5.1.2 Le paludisme grave

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

- Hyperparasitémie : supérieure ou égale à 4% des hématies ;
- Anémie grave : taux d'hémoglobine inférieure à 5g/dl ;
- Oligurie : diurèse inférieure à 400ml/jour ;
- Hypoglycémie : glycémie inférieure à 2,2mmol/l ;
- Convulsions généralisées et répétées ;
- Œdème pulmonaire ;
- Collapsus cardio-vasculaire ;
- Syndrome hémorragique ;
- Hémoglobinurie ;
- Acidose sanguine : PH inférieur à 7,25.

3.5.1.3 Autres formes cliniques

✓ L'accès pernicieux

Encore appelé neuropaludisme, il est la première complication d'un paludisme grave à *P. falciparum* survenant chez le sujet non immun (enfants et adultes arrivés depuis peu en zone d'endémie).

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

A la phase d'état, la fièvre est le plus souvent très élevée et le tableau neurologique se complète pouvant associer :

Troubles de la conscience : ils sont constants mais d'intensité variable, allant de la simple obnubilation au coma profond. Le coma est généralement calme, sans rigidité de nuque (ou très discrète), sans photophobie, accompagné d'une abolition du réflexe cornéen.

Convulsions : nettement plus fréquentes chez l'enfant que chez l'adulte ; elles peuvent être inaugurales. Elles peuvent être généralisées ou localisées, espacées dans le temps ou au contraire réaliser un état de mal convulsif. Elles peuvent parfois être pauci-symptomatiques (clonies des lèvres, des muscles faciaux, mouvements oculaires rapides, salivation excessive). Elles doivent être distinguées des convulsions hyperthermiques : pour être retenues elles doivent être répétées dans le temps ($\geq 2 / 24$ heures) avec une phase postcritique de trouble de la conscience > 15 mn.

Troubles du tonus : le malade est généralement hypotonique. La raideur et l'opisthotonos peuvent se voir dans les formes très évoluées et sont de mauvais pronostic. Les réflexes ostéo-tendineux sont variables, parfois très vifs, exceptionnellement abolis (de mauvais pronostic).

Autres signes cliniques : les signes neurologiques peuvent dominer le tableau clinique ou être associés à d'autres manifestations viscérales. Pratiquement tous les organes peuvent être atteints, notamment les reins, les poumons (risque d'œdème pulmonaire), le foie.

Le tableau est parfois celui d'une défaillance multiviscérale. Parfois, sans signe neurologique évident, on observe des formes graves avec anémie profonde (chez l'enfant) ou insuffisance rénale aiguë (chez l'adulte).

Evolution : Non traité, le neuropaludisme est mortel en deux ou trois jours. Avec une prise en charge adaptée, la mortalité reste lourde (10 à 30 %). Lorsqu'elle est obtenue, la guérison se fait généralement sans séquelle, sauf chez l'enfant (5 à 10 % de séquelles définitives). Le pronostic global repose essentiellement sur la rapidité du diagnostic.

✓ **Le paludisme viscéral évolutif**

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

✓ **La fièvre bilieuse hémoglobinurique**

Il s'agit d'une réaction anaphylactique qui se traduit par une fièvre élevée plus une hémoglobinurie macroscopique (urines vin porto) due à une hémolyse intravasculaire aiguë. On note aussi un choc, une hypotension artérielle, un ictère, une anémie aiguë et une insuffisance rénale aiguë. La pathologie est en rapport avec la prise intempestive de quinine en zone d'endémie de *P. falciparum* avec résurgence. Mais quelques cas ont été récemment signalés avec la méfloquine. Le bilan biologique sanguin confirme l'hémolyse massive: anémie et bilirubinémie. La parasitémie est faible ou même absente. En pareil cas, le traitement en urgence nécessite une épuration extra-rénale et se poursuit avec les dérivés de l'artémisinine.

✓ **Splénomégalie palustre hyperréactive (SPH)**

Initialement décrit sous le nom de « Splénomégalie Tropicale Idiopathique », la SPH a surtout

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

✓ **Paludisme congénital**

La réalité de l'infection transplacentaire du nouveau-né est admise, liée au passage de globules rouges parasités du placenta. Le paludisme congénital maladie est rare. Il apparaît après un délai variable de 5 à 60 jours après l'accouchement et le signe clinique constant est la fièvre[28]. Il est rare en zone d'endémie à cause des anticorps maternels transmis par la mère qui confèrent à l'enfant une certaine immunité. Les espèces les plus fréquemment rencontrées sont *P. falciparum* et *vivax* ; mais toutes les autres espèces peuvent être retrouvées. Le diagnostic ne sera affirmé qu'après avoir éliminé toute possibilité de contamination anophélienne (enfant né en Europe) ; identifié le parasite dans le sang du cordon après la naissance et retrouvé la même espèce plasmodiale chez la mère.

✓ **Paludisme transfusionnel**

Le paludisme étant une maladie transmissible, la prévention n'est pas facile car la détection de *P. falciparum* dans un sang conservé à +4°C reste incertaine. Cette température ne détruit pas le parasite or un à deux parasites par millimètre cube de sang, indétectables par frottis mince ou par goutte épaisse suffisent à transmettre la maladie.

Conduite à tenir :

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

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

✓ **Le paludisme accidentel**

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

matériel d'injection non stérile) ou même à des toxicomanes existe.

✓ **Paludisme des aéroports**

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

3.5.2 Diagnostic biologique

3.5.2.1 Diagnostic direct

C'est l'examen direct au microscope optique de prélèvements sanguins effectués de préférence avant tout traitement antipaludique, au moment des pics fébriles. Les techniques les plus utilisées sont la goutte épaisse et le frottis mince.

✓ **Goutte épaisse(GE)**

Elle est l'examen de référence. Sa réalisation consiste à prélever une goutte de sang, par piqûre au doigt, sur une lame porte objet et à la defibriner immédiatement par un mouvement en spirale à l'aide d'un coin d'une autre lame non encore utilisée. Ce mouvement aura pour effet d'étaler le sang sur une surface d'environ un centimètre de diamètre. Le prélèvement est séché puis coloré, sans fixation préalable, à l'aide d'une solution aqueuse de Giemsa qui aura une action de coloration. Après coloration, seuls resteront sur la lame les leucocytes et les parasites éventuels. La numération se fait en comptant les parasites rapportés au nombre de leucocytes.

L'examen peut mettre en évidence de faibles taux de parasitémies.

✓ **Frottis mince(FM)**

C'est l'étalement mince d'une goutte de sang, prélevé au doigt, sur une lame porte objet. L'examen se fait après fixation au méthanol absolu et coloration au Giemsa. Il permet un diagnostic précis d'espèce plasmodiale mais ne permet pas de dépister de faibles parasitémies.

✓ **Le QBC (Quantitative Buffy Coat)**

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

outre la nécessité d'avoir un microscope à fluorescence peut limiter les petites structures dans l'acquisition de cet appareil.

✓ **La détection d'antigènes plasmodiaux (Parasigt F test®, ICT Malaria PF test®, Paracheck PF®)**

Il consiste en la recherche dans le sang total de l'antigène Histidine rich protein II (HRPII) de *P. falciparum*. La protéine PfHRPII (*P. falciparum* Histidine rich protein II) est relativement spécifique de ce parasite. L'utilisation de bandelettes sur lesquelles ont été fixés des anticorps anti-PfHRPII donne une idée assez exacte de la présence ou non de parasite dans l'échantillon. Ces tests ont l'avantage d'être manuel et rapide pour le diagnostic du paludisme à *P.falciparum*. Le kit est transportable partout, manipulable par un non spécialiste. Cependant, ils n'apportent pas de données quantitatives. D'autre part, ce test reste positif de nombreux jours après la disparition des parasites.

✓ **La détection d'enzymes plasmodiales (Opti Mal-IT test®)**

C'est un test dont le principe est basé sur la détection d'une enzyme métabolique intracellulaire abondante produite par les plasmodies dans le sang. Cette enzyme, le lactate déshydrogénase plasmodiale (pLDH), est produite par les formes asexuées (trophozoïtes) et sexuées (gamétocytes) du parasite et elle est rapidement détectée par une série d'anticorps monoclonaux dirigés contre des iso formes de l'enzyme permettant de faire une différenciation entre les espèces plasmodiales. Il n'y a aucune réaction croisée avec la LDH humaine. Des bandelettes de nitrocellulose sont utilisées pour réaliser la détection de la pLDH. Ce test est plus performant que le précédent et mieux adapté au diagnostic de l'infection aiguë. Malgré le confort et les qualités de ces tests, ils ne peuvent remplacer à 100% l'observation microscopique d'un frottis sanguin et d'une goutte épaisse.

✓ **Biologie moléculaire**

La technique de biologie moléculaire basée sur la Polymérase Chain Reaction (PCR) est devenue une des techniques de référence en raison de sa sensibilité et de sa spécificité. Elle consiste à synthétiser *in vitro* en plusieurs copies un fragment de gène codant pour une protéine du *plasmodium* en utilisant deux amorces spécifiques. Elle peut en plus du diagnostic permettre d'identifier les parasites résistants à certains médicaments par la recherche de mutations spécifiques. Les inconvénients de cette technique sont: sa lourdeur, son coût et le fait qu'elle nécessite un personnel qualifié et un équipement approprié.

3.5.2.2 Diagnostic indirect

- **Méthode sérologique**

Les différentes techniques utilisées sont :

- ✓ L'immunofluorescence indirecte,
- ✓ L'immunoélectrophorèse,
- ✓ L'immunoenzymologie(ELISA),

Ces techniques d'analyse ne sont pas utilisées pour un diagnostic d'urgence, mais sont utiles dans le diagnostic rétrospectif d'une fièvre tropicale, dans la prévention du paludisme post transfusionnel, dans les enquêtes épidémiologiques et le suivi des anticorps après un accès aigu.

3.5.3 Diagnostic différentiel

Le diagnostic différentiel du paludisme se pose avec la babesiose. Cependant il ne faudra pas confondre le paludisme grave avec d'autres infections graves qui peuvent le simuler ou y être associées :

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

3.6 Lutte antipaludique

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

3.6.1 Prévention

Une prévention du paludisme est envisageable à l'échelle individuelle. Elle peut être sous forme de protection contre les piqûres de moustiques ou sous forme de chimioprévention médicamenteuse. Il ne faut cependant pas oublier qu'aucune protection n'est fiable à 100 %.

- Protection contre les piqûres de moustiques :

L'utilisation des moustiquaires imprégnées d'insecticide constitue une des stratégies les plus efficaces. En plus on peut porter des vêtements longs le soir, si possible imprégnés d'insecticide; mettre des répulsifs sur les parties découvertes, utiliser des tortillons fumigènes et installer des rideaux imprégnés d'insecticide aux portes et aux fenêtres.

- **Chimioprévention**

✓ **Traitement préventif intermittent chez les femmes enceintes (TPI)**

L'OMS recommande un calendrier d'au moins quatre consultations prénatales lors de la grossesse. Tous les efforts possibles doivent être déployés pour améliorer l'accès au TPIp-SP dans toutes les régions d'Afrique ayant un niveau d'endémicité de paludisme modéré à fort en commençant le plus tôt possible au cours du second trimestre. Le TPIp-SP est recommandé pour toutes les femmes enceintes lors de chaque consultation prénatale programmée jusqu'au moment de l'accouchement, à condition que les doses soient administrées à au moins un mois d'intervalle. La SP ne doit pas être administrée lors du premier trimestre de grossesse. Toutefois, la dernière dose de TPIp-SP peut être administrée jusqu'au moment de l'accouchement sans que cela représente un problème de sécurité. Le TPIp-SP doit, de préférence, être administré en observation directe sous forme de trois comprimés de sulfadoxine-pyriméthamine (chaque comprimé contenant 500 mg/25 mg de SP), pour un dosage requis total de 1 500 mg/75 mg de SP[68].

En effet le TPIp-SP prévient les conséquences indésirables du paludisme sur l'issue de la grossesse pour la mère et le fœtus, telles que les infections placentaires, le paludisme clinique, l'anémie maternelle, l'anémie fœtale, le faible poids la naissance et la mortalité néonatale [29]. Il a récemment été démontré que le TPIp-SP est très économique, que ce soit en ce qui concerne la prévention du paludisme maternel et la réduction de la mortalité néonatale dans les régions où le niveau d'endémicité du paludisme est modéré à élevé[30]. En dépit de la propagation à la résistance à la SP, le TPIp-SP continue à procurer des avantages considérables, ce qui se reflète par une protection contre la mortalité néonatale (efficacité protectrice de 18 %) et le faible poids à la naissance (réduction de 21 % des cas de faible poids à la naissance) dans des conditions de programme de routine [31]

✓ **Chimio prévention du paludisme saisonnier (CPS)**

Autrefois appelée « traitement préventif intermittent du paludisme chez les enfants », est définie comme « l'administration intermittente d'un traitement complet par un médicament antipaludique pendant la saison de haute transmission du paludisme pour éviter la maladie, l'objectif étant de maintenir des concentrations thérapeutiques de médicament antipaludique dans le sang pendant la période où le risque de contracter le paludisme est plus élevé ». La stratégie de la CPS consiste à administrer un maximum de quatre cycles de traitement de SP + AQ à intervalles d'un mois à des enfants âgés de 3 à 59 mois dans les régions de forte transmission saisonnière du paludisme [19].

La CPS devrait être mise en œuvre pendant la période de forte transmission du paludisme, lorsque l'incidence de la maladie est importante. Elle devrait être administrée à des enfants âgés de 3 à 59 mois à intervalles de 1 mois (cycle de CPS) jusqu'à un maximum de quatre cycles par an (campagne de CPS). La CPS avec SP + AQ procure un degré élevé de protection jusqu'à quatre semaines, ensuite la protection diminue rapidement. Il est par conséquent important de respecter un intervalle d'un mois entre les cycles de CPS afin d'obtenir un niveau de protection élevé et de minimiser l'apparition de parasites du paludisme résistants à SP + AQ.

La période d'administration de la CPS devrait être définie de manière à cibler la période durant laquelle le risque de contracter le paludisme est le plus élevé pour les enfants. Par exemple, la CPS a été administrée en août, septembre et octobre dans des essais sur le terrain au Burkina Faso[32] et au Mali [33]; alors qu'au Sénégal, elle a été administrée en septembre, octobre et novembre[34], couvrant la période où le risque de contracter le paludisme est le plus élevé

✓ **Pulvérisation intradomiciliaire (PID)**

Elle consiste à pulvériser une dose efficace d'insecticide, en général une ou deux fois par an, sur les surfaces intérieures des murs où les vecteurs du paludisme sont susceptibles de se poser après leur repas sanguin. La PID est l'une des principales méthodes qui ont été utilisées pour lutter contre le paludisme sur une grande échelle. Elle a contribué à éliminer le paludisme dans des vastes zones en Asie, en Russie, en Europe et en Amérique latine. Des programmes de PID ont également été réalisés avec succès dans certaines parties de l'Afrique. Cette stratégie réduit la transmission du paludisme en réduisant le temps de survie des moustiques qui pénètrent dans les habitations et plus particulièrement les chambres à coucher. Il s'agit d'une méthode de protection communautaire qui demande, pour produire tous ses effets, un taux de couverture élevé dans l'espace et dans le temps. On estime que 5% de la population à risque dans le monde est protégée par cette méthode. Cette couverture est de 6% au Mali dont 5% en milieu urbain et 7% en milieu rural.

3.6.2 Les antipaludiques

Les antipaludiques ou antipaludéens ou anti malariques sont des médicaments capables de prévenir ou de guérir le paludisme. Le traitement du paludisme implique des mesures complémentaires aussi bien que des médicaments spécifiques antipaludiques. Il repose sur l'utilisation de molécules antipaludiques qu'on peut classer selon leurs propriétés

pharmacologiques, leurs propriétés chimiques, leur origine. Ces molécules sont utilisées en fonction du stade de la maladie, de la sensibilité du parasite à celles-ci et des différents stades devant lesquels se trouve le soignant. Il n'existe actuellement qu'un nombre limité d'antipaludiques. Compte tenu de la progression de la résistance aux antipaludiques dans de nombreuses régions endémiques, il devient de plus en plus difficile de traiter efficacement le paludisme. La résistance médicamenteuse, selon l'OMS, est la capacité qu'un parasite a pour se multiplier ou pour survivre en présence d'une concentration de substance qui, normalement, détruit les parasites de la même espèce ou empêche leur multiplication. Cette résistance peut être partielle (amenant à augmenter les doses de médicament tolérées par l'hôte) ou complète (dépassant les doses maximales tolérées par l'hôte). Plusieurs classes de produits ont successivement vu le jour, avec chacune leurs avantages et leurs inconvénients. Dans leur grande majorité, ces produits sont uniquement actifs sur les formes sanguines (intra érythrocytaires asexuées) du parasite et n'ont d'activité ni sur les stades initiaux intrahépatiques, ni sur les gamétocytes sanguins (exceptés la primaquine et les autres amino-8-quinoléines). La prise en charge efficace des cas de paludisme est un élément fondamental de la lutte antipaludique en Afrique subsaharienne où, la plupart des infections paludéennes sont dues à *P. falciparum* et donc sont potentiellement mortelles (Greenwood et al. 2005). Le choix du traitement est basé sur la fréquence des cas de résistances dans la zone considérée, et sur l'importance d'éventuels effets indésirables provoqués par certains antipaludiques. On distingue les schizonticides, actifs sur les stades asexués intra-érythrocytaires et les gamétocytocides, actifs aussi bien sur les gamétocytes sanguins que sur les stades intrahépatiques (hypnozoïtes).

Tableau I : Classification des antipaludiques

Origines	Dérivés	Molécules	Action	Sites d'action
Antipaludiques Naturels	Alcaloïdes	Quinine, quinidine, cinchonine	Schizonticides	Vacuole digestive
	Quinghaosu	Artémisinine, Artéméther, Artésunate	Schizonticides	Vacuole digestive
	Amino-4 Quinoléines	Chloroquine, Amodiaquine	Schizonticides	Vacuole digestive
	Aryl-AminoAlcools	Méfloquine, Halofantrine	Schizonticides	Vacuole digestive

Antipaludiques de synthèse	Antifoliques et Antifoliniques	Sulfadoxine, Pyriméthamine	Schizonticides	Cytoplasme
	Naphtoquinones	Atovaquone	Schizonticides	Mitochondrie
	Antibiotiques	Cyclines, Macrolides,	Schizonticides	Ribosome
	<u>Amino-8-quinoléines</u>	<u>PRIMAQUINE,</u> Tafénoquines, Quinocides, Bulaquines, Pamaquines, Plasmocides	<u>Gamétocytocides</u>	<u>Mitochondrie</u>

3.6.2.1 Amino-4-quinoléines (amodiaquine, chloroquine)

Ce sont des molécules de synthèse les plus largement distribuées. Cette classe est représentée par l'amodiaquine et la chloroquine. La chloroquine qui est assurément l'un des produits ayant été le plus utilisé au monde au cours de ces cinquante dernières années [35]. La large diffusion de la résistance de *P. falciparum* à la chloroquine est hélas devenue un facteur limitant son emploi. La chloroquine a une marge thérapeutique très faible et ses effets toxiques sont très liés à la dose ingérée. Le diazépam est un antidote spécifique de la chloroquine. La chloroquine a peu de contre-indications qui sont surtout limitées aux patients allergiques ou ayant eu une dose exagérée à la chloroquine lors d'une utilisation antérieure. L'amodiaquine a été délaissée à cause de sa grande toxicité quand elle est utilisée en prophylaxie. Ces molécules, hélas, restent la référence thérapeutique de l'accès palustre simple pour la majorité des pays d'Afrique de l'ouest dont le Mali (la chloroquine reste efficace sur certaines souches de *P. falciparum* au Mali. Son remplacement soit par l'association artéméter plus luméfántrine (CoArtem®) ou soit par l'association artésunate plus amodiaquine (Arsucam®, Asaq®) a été validé en juin 2007 [36] bien qu'ayant été proposé depuis 2004.

3.6.2.2 Amino-alcools (quinine, méfloquine, halofantrine)

Alcaloïde naturel du quinquina, la quinine est la plus ancienne et la plus utilisée de ces amino-alcools. Ses propriétés pharmacologiques et en particulier la possibilité de l'administrer par voie intraveineuse ou intrarectale en font le médicament de choix lors du traitement du paludisme grave, d'autant plus qu'il existe peu de résistances à ce produit (celles-ci sont surtout présentes en Asie). Aux doses thérapeutiques (25 mg/kg/j de quinine base en 3 prises pendant 5 à 7 jours), les effets secondaires sont limités (troubles auditifs avec

bourdonnements d'oreilles, vertiges, etc.) mais les surdosages entraînent rapidement des troubles cardiaques graves[37]. L'ototoxicité est un effet adverse très connu de la quinine. L'hypoglycémie est un effet adverse significatif affectant plus de 10% de patients traités pour paludisme sévère avec la quinine, induite par une hypersécrétion d'insuline. Ce phénomène est exagéré en cas de grossesse. La plus sérieuse toxicité de l'halofantrine est cardiaque [37].L'utilisation de la méfloquine et de l'halofantrine, qui avait suscité, au moment de la mise sur le marché de celles-ci, de grands espoirs pour le traitement des accès simples à *P. falciparum* chimiorésistant, a dû être nuancée du fait de leur coût et du recensement progressif d'effets secondaires. L'halofantrine garde l'intérêt d'une assez bonne tolérance et de sa durée de traitement complet qui, en 12 heures (trois prises de 8mg/kg espacées de 6 heures, sans dépasser 2 comprimés à chaque prise), permet une bonne observance bien meilleure que les traitements sur plusieurs jours. La luméfantrine, apparenté à l'halofantrine, est exclusivement utilisé en association à l'artéméther (Co-Artéméther, Riamet® dans les pays développés et CoArtem® dans les pays en voie de développement) dans le traitement du paludisme simple.

3.6.2.3 Antifoliques et antifoliniques

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

3.6.2.4 Antibiotiques (cyclines, macrolides)

Juste après leur découverte dans les années 1940, les antibiotiques ont été évalués pour leur activité antipaludique. En dehors de leur utilisation comme antipaludiques, les antibiotiques sont co-administrés dans beaucoup de régions pour traiter la coinfection bactérienne, en prenant en compte que les infections bactériennes sont les complications majeures du paludisme [38, 39, 40]. Les antibiotiques (tétracycline et doxycycline) sont utilisés en combinaison avec la quinine ou l'artésunate dans les régions de multirésistance médicamenteuse [41].

3.6.2.5 Dérivés de l'artémisinine

Utilisés en médecine traditionnelle en Chine depuis plusieurs centaines d'années, ces extraits de la plante *Artemisia annua* n'ont que récemment rejoint l'arsenal des médicaments antipaludiques commercialisés. Ces produits incluant l'artésunate, l'artémisinine, la dihydroartémisinine, l'artéméther et l'artéether ont fait l'objet d'études scientifiques assez complètes ayant permis d'identifier une nouvelle classe d'antiparasitaires de type peroxyde,

qui n'a pas encore suscité de résistance. Plus rapides qu'aucun autre antipaludique sur la disparition des parasites du sang et ne possédant que peu d'effets secondaires, ils sont d'une grande utilité dans le traitement des formes graves où l'artéméther fait jeu égal avec la quinine, surtout dans les zones de multi résistances de *P. falciparum*. Mais leur élimination très rapide (demi-vie de quelques heures) impose des traitements longs ou des associations, sous peine d'observer un taux de rechutes important. Les données chez l'homme montrent que l'utilisation courte des dérivés de l'artémisinine seuls ou en combinaison est associée à une neurotoxicité. Des déficits neurologiques mineurs chez un nombre limité de patients traités après infection palustre ont été décrits [42]. Ces dérivés semblent être également bien tolérés lors de leur utilisation pendant la grossesse. Ils constituent le traitement de choix du paludisme grave chez la femme enceinte à cause de leur efficacité, de leur meilleure tolérance et aussi de leur facilité d'administration par rapport à la quinine [43]. Les seules contre-indications des dérivés de l'artémisinine concernent l'allergie et le premier trimestre de grossesse. Actuellement, l'OMS recommande d'utiliser ces dérivés de l'artémisinine en association à un autre médicament antipaludique afin de limiter ou décaler la survenue de souches résistantes à ces dérivés. Ces dérivés de l'artéméther trouvent surtout leurs intérêts dans le traitement du paludisme sévère, notamment dans les cas associés à une anémie sévère [44]. Ils constituent également le traitement de choix de l'accès palustre simple en association et grâce à leur action sur les gamétocytes [44].

●Associations d'antipaludiques

Comme dans la prise en charge des affections bactériennes, l'association de plusieurs molécules antipaludiques vise à améliorer l'efficacité du traitement, dans certains cas par synergie potentialisatrice, en rendant de toute façon hautement improbable l'émergence de résistance. Idéalement, le régime thérapeutique doit être sûr et bien toléré (pas d'effets secondaires sérieux, ni d'évènements fatals adverses), stable (pas de problème de stockage en terme d'humidité et de température), efficace (taux de guérison au moins égal à 75-90%), pouvant être administré par voie orale, rectale ou parentérale (régime utilisable en toute circonstance), disponible en monodose (pour minimiser l'inobservance du traitement, possibilité d'administration par des illettrés à domicile, ou à défaut un régime simple court ≤ 3 jours), efficace contre tous les stades de développement du parasite (l'effet gamétocytocide pourrait réduire la transmission si le médicament est utilisé à large spectre), non susceptible d'induire la résistance (le médicament doit en tout cas minimiser le développement ou le taux d'acquisition de la résistance par les parasites) et accessible à tous (coût et disponibilité géographique). L'association artéméther-luméfantine (CoArtem®) est recommandée comme

médicament de première intention en Afrique. Dans un essai randomisé contrôlé, il a été démontré que les enfants traités avec six doses de CoArtem[®] avaient une prévalence de gamétocytémie réduite (7.9%, n = 406), un portage de gamétocytes de faible durée, et infectaient faiblement les moustiques comparés aux enfants traités par l'association chloroquine plus SP ou la prévalence était de 48.8% (n = 91) [45]. Probablement à cause de la faible gamétocytémie, aucun enfant du groupe traité avec le CoArtem[®] n'était infectieux pour les moustiques à J7 post-thérapeutique, tandis que ceux traités avec la chloroquine plus SP étaient infectieux pour les moustiques (37%). La même étude a démontré que le CoArtem[®] avait une action spécifique contre le développement des gamétocytes en plus de son action sur les formes asexuées.

● **L'association dihydroartémisinine-pipéraquline (Artekin[®])**

Cette association donne de meilleurs résultats comparée à celle de l'artésunate-amodiaquine. Elle vient d'être validée par l'OMS dans le traitement de l'accès palustre simple même dans les coinfections *P. falciparum*-*P. vivax* et dans la prophylaxie post traitement (prévention des rechutes ou des réinfections [46]. Cette combinaison à dose fixe a constamment démontré une efficacité supérieure à 95% dans le traitement du paludisme à *P. falciparum* multirésistant. Bien que structurellement proche de la chloroquine, les études in-vitro ont démontré que la pipéraquline est hautement efficace sur les souches de *P. falciparum* chloroquinorésistants [45] et la combinaison dihydroartémisinine-pipéraquline retient certainement à la fois la très grande efficacité et un effet prophylactique post-traitement dans les zones où il existe une forte prévalence de *P. falciparum* chloroquinorésistants et démontre également une efficacité supérieure à l'association artésunate-méfloquine [47].

3.6.2.6 Amino-8-quinoléines

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

PRIMAQUINE

Histoire

La primaquine est une molécule connue depuis les années 1950. Elle fait partie de la famille des amino-8-quinoléine. Mise au point pendant la guerre de Corée par les Américains, ses modalités d'emploi historique répondaient à un souci d'efficacité et de tolérance pour le traitement des vétérans en prophylaxie terminale. Il s'agissait d'administrer 15mg/jour

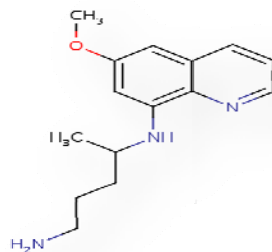
pendant 14 jours à des sujets sains au retour de zone d'endémie, afin d'éviter la survenue de la première reviviscence (l'accès de primoinvasion peut-être masqué par la chimioprophylaxie). Ce protocole de 15mg/jour pendant 14 jours peut également être utilisé en cure radicale (prophylaxie secondaire) après traitement de l'accès de reviviscence : on y fait souvent référence dans les publications sous le nom de « traitement standard ». Ainsi la primaquine a été jugée efficace et bien tolérée en prophylaxie terminale au retour de Corée et en traitement standard, en l'absence de contre-indication. La recherche du déficit en G6PD n'était pas réalisée systématiquement à cette occasion, ce qui a provoqué de nombreux cas d'anémies hémolytiques, parfois sévères [48].

- **Structure**

Poids moléculaire : 259,4

Formule chimique : C₁₅H₂₁N₃O

Figure 2 : Formule chimique de la primaquine



- **Formulations**

Comprimés contenant 5,0 mg, 7,5 mg ou 15,0 mg de primaquine base sous forme de diphosphate.

- **Mécanisme par rapport au cycle**

La primaquine est active contre le paludisme sur les formes tissulaires hépatiques (schizontes primaires pendant l'incubation ou hypnozoïtes), sur les formes sexuées circulantes (gamétocytes), et pour *P. vivax* et *P. ovale* sur les formes asexuées circulantes (schizontes, trophozoïtes). Son mécanisme d'action est encore peu connu. Elle agirait par altération des membranes mitochondriales du *plasmodium* [48].

- **Mode d'action**

La PQ est très active sur les gamétocytes de toutes les espèces infectant l'homme et sur les hypnozoïtes des rechutes de *P. vivax* et *P. ovale*.

- **Indications**

La primaquine est utilisée pour un traitement radical (élimination complète) des deux espèces de *Plasmodium* présentant des formes latentes (*P. vivax* et *P. ovale*). En général, *P. vivax* des zones tropicales requiert un dosage élevé de primaquine (30 mg/kg/jour) que *P. vivax* des zones tempérées (15 mg/kg/jour). Le traitement standard est de 14 jours bien que souvent un traitement de 21 jours soit nécessaire. Le schéma de 5 jours est insuffisant [48]. L'OMS dans ses directives actuelles pour le traitement du paludisme à *P. falciparum* non compliqué recommande une dose unique de 0,75mg/kg de primaquine associée à une combinaison thérapeutique à base d'artémisinine (CTA) comme médicament anti-gamétocytes, notamment dans les programmes de pré-élimination ou d'élimination du paludisme [48]. Cette dose est potentiellement toxique surtout chez les personnes présentant un déficit en G6PD d'où l'intérêt d'identifier une dose minimale efficace pouvant être utilisée chez ces dernières.

- **Contre-indications**[48].

Les contre-indications absolues

- Déficit en G6PD (si l'activité G6PD est inférieure à 10%),
- Grossesse,
- Allaitement (si le statut fœtal en G6PD est inconnu),
- Déficit en méthémoglobine réductase (exceptionnel, pas de recherche systématique),
- Allergie.

Les contre-indications relatives

Les maladies des hémoglobines instables, la leucopénie et les maladies potentiellement leucopéniantes (polyarthrite rhumatoïde, lupus), la prise d'un traitement hémolytique sont des contre-indications relatives, pouvant être discutées en milieu spécialisé en fonction du ratio bénéfices-risques.

Particularités pour les patients porteurs du déficit en activité G6PD

Le déficit en activité G6PD est une particularité génétique liée à X. Il est suspecté en cas de présence de corps de Heinz au frottis (précipitation de l'hémoglobine liée à l'oxydation). La G6PD permet la régénération de la glutathion réductase et la neutralisation des peroxydes toxiques pour les hématies. Les hématies du sujet déficient en activité G6PD sont donc plus

sensibles au stress oxydatif qui peut provoquer une hémolyse. L'activité G6PD est plus importante chez les hématies jeunes et les réticulocytes ce qui explique que l'hémolyse prédomine sur les globules rouges sénescents. La recherche du déficit en G6PD par le dosage sanguin de l'activité G6PD des hématies peut donc être prise en défaut en cas d'hémolyse récente (dosage faussement normal en présence d'une réticulocytose importante). La primaquine provoque une oxydation dans les hématies. La sévérité de l'hémolyse induite n'est pas corrélée à la concentration plasmatique en primaquine. L'hémolyse commence vers le 3^e ou 4^e jour et se poursuit jusqu'au 7^e jour.

La sévérité de l'hémolyse est fonction du variant de déficit en G6PD. Le variant méditerranéen est connu pour être responsable d'hémolyse sévère. Dans le monde la prévalence du déficit en G6PD est d'environ 7%. Les variants les plus fréquents sont : A- en Afrique, B- en Europe du Sud et dans le sous-continent Indien, Mahidol en Asie du Sud-Est

Particularité pour les femmes enceintes et l'allaitement [48].

La contre-indication au cours de la grossesse est justifiée par le statut indéterminé en G6PD du fœtus, il existe donc un risque d'anémie hémolytique fœtale se traduisant par une anasarque foeto-placentaire. Il n'existe pas de test d'analyse anténatale du déficit en G6PD.

Un traitement hebdomadaire par chloroquine en attendant la fin de la grossesse permet en prophylaxie suppressive d'éviter les effets délétères d'une anémie hémolytique due aux accès de reviviscence palustre. En cas d'allaitement maternel, le traitement par primaquine pourra être entrepris si la recherche du déficit en G6PD est négative chez l'enfant. Il n'y a pas de données à ce jour sur le passage dans le lait de la primaquine et de ses métabolites.

Particularités pour les enfants [48]

Chez l'enfant, l'OMS recommande un traitement de 0,25mg/kg/jour pendant 14 jours mais sans définir d'âge limite. Les sociétés savantes américaines recommandent un traitement de 0,5mg/kg/jour pendant 14 jours en n'émettant aucune restriction liée à l'âge, et en précisant que la primaquine est bien tolérée chez l'enfant de plus de 1 an.

Particularité pour les patients VIH

Il existe de nombreuses interactions médicamenteuses potentielles entre la primaquine et les antirétroviraux [48]. Cependant l'utilisation de la primaquine est a priori possible après avis spécialisé.

- **Pharmacocinétique**

La primaquine est rapidement absorbée dans le tractus gastro-intestinal. La biodisponibilité de

96 % est augmentée en cas de prise alimentaire concomitante. Le pic plasmatique survient entre 1h et 3h chez le sujet sain comme chez le sujet impaludé. La primaquine traverse la barrière placentaire. Son volume de distribution est de 280L quelle que soit la dose absorbée.

Le premier passage hépatique est peu important. La concentration maximale varie de manière linéaire en fonction de la dose quotidienne ingérée.

La demi-vie d'élimination rapportée est d'environ 3 à 6 heures [49]. La primaquine est largement distribuée dans les tissus de l'organisme. Elle est rapidement métabolisée dans le foie. Son principal métabolite est la carboxyprimaquine, qui peut s'accumuler dans le plasma lors d'administrations répétées. La 5-hydroxyprimaquine et la 5-hydroxy-6-déméthylprimaquine ont toutes deux une activité antipaludique et induisent la formation de méthémoglobine. L'élimination se fait par voie rénale.

- **Toxicité**

Les effets indésirables les plus importants sont les suivants : une anémie hémolytique chez les sujets présentant un déficit en G6PD, d'autres défauts de la voie des pentoses phosphates du métabolisme du glucose dans les érythrocytes, ou d'autres types d'hémoglobinopathies [50]. Chez les malades présentant le variant africain du déficit en G6PD, le traitement standard par la primaquine provoque en général une anémie bénigne spontanément résolutive. Chez les variantes méditerranéennes et asiatiques, l'hémolyse peut être beaucoup plus importante. Les doses thérapeutiques peuvent également provoquer une douleur abdominale si elles sont administrées sur un estomac vide. Des doses plus importantes peuvent engendrer nausées et vomissements. Une méthémoglobinémie peut apparaître, et plus rarement, une anémie et une hyperleucocytose bénignes. Le surdosage peut entraîner une leucopénie, une agranulocytose, des symptômes gastro-intestinaux, une anémie hémolytique et une méthémoglobinémie accompagnée de cyanose. La primaquine est en général bien tolérée après utilisation pour le traitement radical, l'éradication des gamétocytes et en prophylaxie quotidienne (30 mg base, dose quotidienne chez l'adulte, à administrer après un repas copieux). La primaquine est un oxydant et convertit l'hémoglobine (Hb) en méthémoglobine (metHb), une action dose dépendante. La cyanose est rarement retrouvée souvent avec des doses élevées (quand la metHb concentration dépasse 15-20 g/l). L'arrêt du traitement entraîne un retour à la normale en quelques jours. La méthémoglobinémie est généralement peu prononcée chez les déficients en G6PD parce que les érythrocytes âgés, qui sont sujets à développer la metHb, sont habituellement hémolysés. L'hémolyse aiguë est un phénomène bien connu chez les déficients en G6PD. Les deux formes communes de déficit en G6PD sont G6PD A- (Afrique) et la forme méditerranéenne. Cette dernière a une activité enzymatique plus élevée (10-60%)

comparée à la forme africaine (~ 12%). La sévérité est associée au degré du déficit en G6PD et la dose de primaquine, elle pourrait aussi être exacerbée par des infections concomitantes, des maladies hépatiques (réduction du métabolisme de la primaquine), des maladies rénales (retard de l'excrétion de la primaquine), ainsi que la co-administration d'autres médicaments à potentiel hémolytique (sulfonamides).

Tolérance [48]

La tolérance est dose dépendante. La primaquine est bien tolérée à des posologies inférieures à 30 mg/j. Elle est bien tolérée pendant plus de 52 semaines à 0,5mg/kg/j et seuls 2% des arrêts de traitement sont imputables à une mauvaise tolérance. Les principaux effets indésirables de la primaquine sont: les effets indésirables digestifs (nausées, vomissements), les effets indésirables hématologiques (anémie hémolytique si déficit en G6PD, méthémoglobinémie, leucocytose, leucopénie pour des doses supérieures à 120mg), les effets indésirables neurologiques (vertiges, céphalées) et autres (toux). Les troubles digestifs sont dose dépendants, mais il n'existe pas de différence contre placebo jusqu'à 30mg/jour (ou 0,5mg/kg/j) si la primaquine est prise pendant les repas. On rapporte le même taux de douleurs abdominales (5%) chez les patients recevant le placebo en une prise journalière de 15mg, ou 30mg pendant le repas. Lors des prises en dehors des repas on rapporte 10% de douleurs abdominales pour une posologie de 30mg/jour et 20% pour une posologie de 45mg/jour. L'anémie hémolytique survient surtout chez les patients déficients en G6PD. Elle reste modérée chez les patients non déficients. La méthémoglobinémie est un phénomène biologique qui n'a pas de conséquence clinique en l'absence de comorbidités cardiaques ou pulmonaires. On la définit par une méthémoglobine > 1%. Symptomatique à partir de 20%, elle est de l'ordre de 5% après un traitement de 14 jours par primaquine. Ce taux n'augmente pas pour des traitements prolongés. Le taux le plus élevé décrit pendant un traitement par primaquine est de 20%. La méthémoglobinémie revient à son niveau initial en moins de 15 jours après l'arrêt du traitement. Un exceptionnel déficit en méthémoglobine réductase contre-indique l'usage de la primaquine. En dehors de cette hypothèse, les effets indésirables imputables à la méthémoglobinémie induite par le traitement sont rares et de faible retentissement clinique.

- **Interactions médicamenteuses**

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

- **Précautions d'emploi**

Avant d'administrer de la primaquine, éliminer systématiquement un déficit en G6PD. Le sang et les urines doivent être examinés périodiquement à la recherche de signes d'hémolyse. Il faut prévenir le malade qu'il doit immédiatement arrêter le traitement et venir consulter s'il souffre de douleurs abdominales avec faiblesse et pâleur ou s'il observe une coloration foncée des urines.

4. METHODOLOGIE

4.1 Site de l'étude

L'étude s'est déroulée dans la commune rurale de Ouélessébougou. Le village de Ouélessébougou a été créé au 18ème siècle (vers 1700) par un cultivateur du nom de Wéressé. A l'origine c'était un simple hameau de culture en bordure du marigot qui le traverse d'Ouest en Est. Avec les déformations linguistiques ce nom est devenu Wélessé d'où l'appellation : Ouélessébougou « la case de Wélessé ». Le centre de santé de référence de la zone se trouve à Ouélessébougou.

4.1.1 Situation

Située à 80 km au sud de Bamako sur la route nationale N°7 (RN-7), la commune rurale de Ouélessébougou compte 44 villages. Elle est limitée au Nord par la commune de Dialakoroba, au Sud par la commune de Kéléya, à l'Est par la commune de Sanankoro Djitoumou et à l'Ouest par la commune de Faraba.

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

4.1.2 Population

La Commune rurale de Ouélessébougou compte 50335 habitants (enquête RGPH, 2009) à dominance jeune. Le taux de natalité est élevé et le taux de mortalité l'est moins grâce à

l'action dynamique des services de santé. Un Centre de Santé de Référence et quatre CSCOMs concourant pour l'atteinte des objectifs du PRODESS. La population est composée de: Bamanans et Manikas en majorité. Il y a aussi des Korokos, des Dogons, des Mossis, des Peulhs. Ces différentes ethnies vivent en parfaite harmonie avec les Bamanans autochtones qu'ils appellent «Diatiguis». Les principales religions pratiquées sont l'Islam, le Christianisme et l'Animisme avec un taux de 90% de musulmans, 2% de protestants, 7% de catholiques et 1% d'animistes.

4.1.3 Activités socio-économiques et culturelles

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

4.1.4 Climat et hydrographie

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

4.1.5 Infrastructures et équipements

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

La commune compte aujourd'hui 32 écoles publiques dont 16 premiers cycles, six seconds cycles, 16 écoles communautaires, quatre écoles privées, trois medersas et une école de santé privée.

Sur le plan sanitaire, le District sanitaire de la commune rurale de Ouélessébougou compte 14 aires de santé. La ville de Ouélessébougou comporte un Centre de Santé de Référence (CSRéf), un Centre de Santé Communautaire (CSCOM), trois cliniques privées, deux officines de Pharmacie et deux dépôts de vente de médicaments.

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

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

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

La transmission du paludisme à Ouélessébougou est endémique et saisonnière. Le paludisme constitue la première cause de consultations. Le taux d'incidence des accès palustres était de deux épisodes par enfant et par an, la prévalence du paludisme à *P. falciparum* était de 50% chez les enfants âgés de moins de 5 ans au cours de la saison de transmission 2014 [33].



Figure 3 : Carte du Mali montrant Ouélessébougou

4.2 Type d'étude

Cette étude était un essai clinique randomisé, contrôlé, ouvert. Il s'agissait d'une étude de Phase 2a à dose adaptative de primaquine chez les enfants et adultes.

4.3 Période d'étude

Notre étude s'est déroulée sur une période de 2 ans allant de Janvier 2013 à Décembre 2014.

4.4 Population d'étude

La population de l'étude est constituée par les enfants et les adultes de 5 à 49 ans de sexe masculin non déficitaires en G6PD infectés par le paludisme à *P. falciparum* non compliqué.

4.4.1 Critères d'inclusion

- Sexe masculin
- Age ≥ 5 ans et < 50 ans
- Consentement éclairé écrit obtenu
- Présence de gamétocytes à la goutte épaisse/frottis mince
- Absence d'infection palustre mixte à *P. malariae*, *P. vivax* ou *P. ovale*.
- Absence de déficit en G6PD par le test qualitatif de fluorescence
- Absence d'allergie connue aux médicaments de l'étude
- Hémoglobine ≥ 8 g/dl
- Absence de maladie grave ou chronique (anémies...)

- N'a pas pris d'antipaludique durant les 7 derniers jours
- Absence de paludisme sévère ou compliqué

4.4.2 Critères de non-inclusion

- Présence de signes de menace vitale
- Infection connue par le VIH
- Tuberculose
- Présence de signes d'hémolyse (cyanose, ictère, urines "coca-cola"...)

4.5 Intervention

Il s'agissait d'une étude à doses adaptatives de primaquine chez des participants non déficitaires en G6PD. Les médicaments de l'étude étaient la primaquine (PQ) et la dihydroartémisinine-pipéraqune (DP). La primaquine était le principal médicament de l'étude. Les doses de primaquine varient en fonction des groupes. Les participants de l'étude ont tous reçu une dose standard de DP pendant trois jours plus une dose unique de PQ au jour 0 en fonction du groupe excepté le groupe contrôle.

Tous les participants ont reçu la DP (Eurartesim®). La DP 320mg/40mg par comprimé était administrée selon la notice en fonction du poids (13 - \leq 24 kg: 1 cp; 24 - \leq 36 kg: 2 cp; 36 - \leq 75 kg: 3 cp et 75-100 kg: 4 cp) une fois par jour pendant trois jours (J0, J1 et J2). Les trois premiers groupes de participants inclus ont reçu de façon aléatoire soit seulement la DP (groupe contrôle), soit la DP et 0,5mg/kg de PQ ou bien la DP et 0,125mg/kg de PQ. Les participants étaient repartis de façon aléatoire dans les trois premiers groupes de traitement par un programme généré par ordinateur à l'un des groupes suivants:

- ✓ Contrôle : DP sans PQ ;
- ✓ 0,125mg : DP et 0,125mg/kg de PQ ;
- ✓ 0,5mg : DP et 0,5mg/kg de PQ ;

Ensuite, après revues des données antérieures par le comité de suivi des données et de la sécurité (CSGS), les deux derniers groupes de traitement ont été inclus de façon consécutive à l'un des groupes de traitement suivant :

- ✓ 0,25mg : DP et 0,250mg/kg de PQ ;
- ✓ 0,0625mg : DP et 0,0625mg/kg de PQ.

Tous les médicaments de l'étude étaient administrés par voie orale et pré-conditionnés afin de faciliter l'administration.

4.6 Procédure de l'étude

Les volontaires intéressés à participer à l'étude donnaient d'abord leur consentement éclairé écrit, ensuite ils subissaient chacun un examen clinique et un prélèvement de sang en vue d'une goutte épaisse/frottis mince pour la présence de formes sexuées de parasites, le dosage de l'activité G6PD et le taux d'hémoglobine. Ceux qui avaient un examen clinique normal, des parasites au stade sexué à la goutte épaisse/frottis mince, un taux d'hémoglobine supérieur ou égale à 8g/dl, activité G6PD normale sans aucun critère de non éligibilité ont été enrôlés dans l'étude.

4.6.1 Organisation du travail

Le travail était organisé autour des quatre postes suivants :

4.6.1.1 Poste clinique

Procédure de consentement : Les procédures de consentement ont varié en fonction de l'âge des participants. Les participants âgés de 18 ans et plus ont donné leur consentement éclairé. Pour les participants de moins de 18 ans, nous avons demandé le consentement parental. En plus du consentement parental, l'assentiment a été cherché pour les participants âgés de 12-17 ans. La procédure de consentement éclairé écrit a été menée en Français ou dans une langue que le sujet comprenait (Bambara pour la quasi-totalité de nos participants). Le document de consentement éclairé était utilisé pour expliquer les risques et les avantages de la participation à l'étude au participant et s'il avait moins de 18 ans, son parent en des termes simples était informé avant que le sujet ne soit inclus dans l'étude. Un consentement éclairé écrit était obtenu de chaque sujet avant son enrôlement dans l'étude. Le formulaire de consentement éclairé était signé et daté personnellement par le participant ou son parent et l'investigateur qui a donné les informations du consentement. Une copie originale du formulaire de consentement éclairé signé était gardée dans le dossier du participant et une autre lui était remise. Un participant qui ne savait ni lire ni écrire apposait l'empreinte de son doigt à la place de la signature, en outre, un témoin indépendant devait signer le formulaire de consentement pour attester que les renseignements contenus dans ce formulaire ont été transmis oralement au participant.

Examens cliniques pour inclusion et suivi : Des médecins et des étudiants en année de thèse de médecine formaient l'équipe du poste clinique. Une fois le consentement obtenu, les volontaires étaient enregistrés dans un registre et recevaient automatiquement un numéro de screening par ordre d'arrivée puis subissaient un examen clinique complet. Après le screening

un numéro d'inclusion était attribué aux participants éligibles par ordre d'inclusion. Ils étaient ensuite reçus au poste clinique pour les visites de routine et en cas de visite imprévue. Une prescription médicamenteuse était faite(en plus des médicaments de l'étude) à chaque fois que cela était nécessaire. Du poste clinique, les participants consentants ou inclus étaient orientés vers le poste de prélèvement.

4.6.1.2 Poste de prélèvement

Il était composé de biologistes, d'étudiants en médecine et en pharmacie en année de thèse. Venu directement du poste clinique avec un numéro de screening, le participant était prélevé pour le diagnostic du paludisme, le dosage du taux d'hémoglobine et du statut en G6PD. Les participants inclus étaient prélevés pour le test d'infectivité (membrane feeding) à l'inclusion puis aux jours 1, 2 et 7. Ils étaient prélevés pour le taux d'hémoglobine, et la GE/FM pour les visites de routines les jours 1, 2, 3, 7, 14 et 28. A chaque visite imprévue un prélèvement était fait à chaque fois que cela était nécessaire.

4.6.1.3 Poste de « membrane feeding »

Le poste était assuré par les entomologistes. Chaque participant inclus était prélevé et l'échantillon de sang était immédiatement transféré dans les feeders à une température de 37°C pour le feeding. Les prélèvements pour le feeding étaient effectués dans la salle où se déroulait le feeding.

4.6.1.4 Poste d'administration des médicaments de l'étude

Ce poste était assuré par un pharmacien et son assistant. A J0, le pharmacien de l'étude administrait la PQ au millilitre prêt (Primaquine®) en utilisant 15mg de PQ qu'il dissolvait dans 15 ml d'eau potable conformément au mode opératoire normalisé (MON) d'administration de la primaquine. Tous les participants recevaient une dose orale de PQ en fonction de leur groupe de traitement (0,5mg, 0,25mg, 0,125mg, 0,0625mg et 0mg (contrôle)) après un repas pour prévenir les douleurs et les crampes abdominales. Tous les médicaments de l'étude étaient administrés au centre de santé par un pharmacien et son assistant qui étaient les seuls à connaître les groupes de randomisation des participants des trois premiers groupes de traitement.

4.6.2 Randomisation et recrutement

Les participants ont été tous réparti de façon aléatoire (randomisation individuelle générée par ordinateur) soit au groupe contrôle (sans primaquine), au groupe 0,125 mg/kg, au groupe 0,5 mg/kg. Après revue des données par le Comité de Suivi des Données et de la Sécurité (CSDS), les doses de 0,0625 mg/kg et 0,25 mg/kg ont été successivement administrées. Le pharmacien de l'étude sur le site a ouvert les enveloppes scellées correspondant à la randomisation des participants à l'étude. L'étude était ouverte pour le patient, mais aveugle pour le personnel impliqué dans l'évaluation des résultats de l'étude ainsi que dans l'analyse des données. Ainsi tous les participants qui remplissaient tous les critères d'inclusion sans critères de non inclusion ont été enrôlés en fonction du groupe de randomisation. Le tableau de prélèvement ci-dessous a été utilisé pour chaque participant de l'étude. Pour le premier jour de l'étude, tous les échantillons de sang ont été recueillis par prélèvements veineux. Pour les jours suivants un prélèvement veineux unique ou une piqûre au doigt a été faite.

4.6.3 Membrane feeding

Les anophèles femelles néonates âgés de 2 à 5 jours nourris uniquement au jus sucré (eau sucrée à 10%) étaient utilisés pour l'infestation. Ces anophèles femelles mis à jeun du matin au soir étaient triés à raison de 30 femelles par pot (en carton). Ces pots étaient fermés par des morceaux de tulle maintenu à l'aide de bracelets en plastique. Des inscriptions étaient portées sur les pots indiquant: la date d'émergence, la date de l'infestation, et le numéro d'identification du porteur. Les porteurs de gamétocytes inclus étaient prélevés pour la dite infestation avant traitement (J0) et après traitement (J1, J2, J7,) afin de juger l'infectivité des gamétocytes en pré et post-traitement. Trois pots contenant chacun 30 moustiques étaient appliqués sur les feeders contenant le sang du porteur pendant 15 à 20 mn. Après la séance d'infestation, le feeder était nettoyé avant le prochain feeding. Les moustiques non gorgés étaient retirés des pots à l'aide d'un aspirateur de transfert et ceux gorgés étaient transportés à l'insectarium de Bamako le lendemain où du coton imbibé de jus sucré à 5% était mis sur chaque pot. Le jus était renouvelé chaque jour jusqu'au 7e jour où ils étaient disséqués pour la recherche des oocystes. Après le prélèvement pour le feeding les participants étaient ensuite conduits au poste d'administration des médicaments.

4.6.4 Administration des médicaments

Tous les traitements ont été administrés au centre de santé de Ouélessébougou. La primaquine était administrée oralement en une prise unique le premier jour (J0) en fonction du groupe de traitement (contrôle, 0,5mg, 0,25mg, 0,125mg, et 0,0625mg PQ/kg). La DP était administrée en dose standard en une seule prise par jour pendant trois jours (J0, J1, J2) par le personnel

désigné à cet effet à l'abri du reste du personnel impliqué dans l'évaluation des résultats de l'étude. En cas de vomissement dans les 30 mn qui suivaient l'ingestion des médicaments, la dose totale était ré-administrée. Le pharmacien et son assistant désignés pour l'attribution des traitements complétaient la liste de randomisation en inscrivant dans chaque fiche de traitement le numéro d'inclusion, le groupe d'identification du patient, ainsi que la dose exacte de chaque produit administré par jour. Cette fiche de traitement était détachée du cahier d'observation pour des raisons de crédibilité.

4.6.5 Suivi des participants

Les participants étaient suivis pendant 28 jours avec des visites de routine selon le tableau ci-dessous. Chez les participants adultes, des échantillons de sang seront prélevés 10 fois en 7 visites. Chez les participants de moins de 18 ans, les échantillons de sang étaient prélevés 9 fois en 7 visites.

Tableau II. Tableau des prélèvements sanguins des participants.

	Heures						Jours				
Temps prélèvement	-0,5	0	2	6	12	24	2	3	7	14	28
Type prélèvement	v	v	v	v	v	v	v	c	v	c	c
Infectivité		*				*	*		*		
GE/FM	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
Hémoglobine						*	*	*	*	*	*

C : Prélèvement capillaire ; V : prélèvement veineux

NB : Les prélèvements de H-0,5 et de H0 étaient faits simultanément.

4.7 Paramètres mesurés

4.7.1 Infectivité des moustiques

La comparaison entre la moyenne de l'infectivité en prétraitement(J0) et celle de l'infectivité à 48 heures(J2) après l'administration de la PQ a été retenue comme critère de jugement principal. L'infectivité des moustiques a été défini comme la proportion de moustiques disséqués avec des oocystes sept jours après les avoir gorgés. En outre, les participants ont été classés comme infectieux (oui/non) si au moins un moustique disséqué avait au moins un oocyste. Les critères d'évaluation secondaires comprenaient l'infectivité des moustiques les jours 1 et 7 après l'administration de la primaquine. L'infectivité des moustiques a été mesurée le jour 0 (prétraitement), le jour 1, le jour 2 et le jour 7. Le sang veineux a été recueilli dans des tubes d'héparine maintenue à 37 ° C pendant une minute après prélèvement et transféré ensuite dans le feeder. Trois pots de 30 moustiques *Anophèles gambiae* chacun (90 moustiques au total, sauf au jour 0 où 180 moustiques ont été utilisés) ont été nourris sur

le sang du participant pendant 15-20 minutes en utilisant un mode opératoire normalisé [51]. Les moustiques gorgés ont ensuite été transportés le lendemain à l'insectarium à Bamako où ils ont été gardés jusqu'à la dissection à la recherche des oocystes avec du mercurochrome 1% le jour 7 après le feeding. La présence d'oocystes a été confirmée par une deuxième microscopie.

4.7.2 Taux d'hémoglobine

Le taux d'hémoglobine a été mesuré avant le traitement (jour 0), et à chaque visite de suivi (jours 1, 2, 3, 7, 14, 28) en utilisant l'HemoCue Hb301.

4.7.3 Évènements indésirables (EI)

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

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

🚩 Echelle de sévérité des événements indésirables

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

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

Imputabilité aux traitements à l'étude

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

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

- [1] **Non lié.** L'événement est clairement lié à d'autres facteurs comme une pathologie intercurrente, un traitement adjuvant, ou un événement extérieur à l'étude (par exemple, accident de la voie publique...).
- [2] **Peu probablement lié.** L'événement est très probablement lié à d'autres facteurs, mais on ne peut pas exclure formellement qu'il soit lié à l'administration du traitement
- [3] **Possiblement lié.** L'événement :
 - Survient après l'administration du traitement, selon une chronologie compatible
 - *Et/ou* est un effet secondaire connu du médicament.
 - *Mais* aurait aussi pu être causé par d'autres facteurs existants (pathologie intercurrente, traitement adjuvant, événement extérieur)
- [4] **Probablement lié.** L'événement:
 - Survient après l'administration du traitement, selon une chronologie compatible
 - *Et/ou* est un effet secondaire connu du médicament
 - *Et* n'a pas pu être causé par d'autres facteurs existants (pathologie intercurrente, traitement adjuvant, événement extérieur).
- [5] **Certainement lié.** L'événement:
 - Survient après l'administration du traitement, selon une chronologie compatible

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

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

Événements indésirables graves (EIG)

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

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

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

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

4.7.4 Prévalence et densité de la Parasitémie à *P. falciparum*

La détermination de la densité gaméocytaire et des stades asexués a été effectuée le jour 0 (prétraitement), aux heures 2, 6, 12 et les jours 1, 2, 3, 7, 14 et 28. Les lames colorées au Giemsa ont été à doublement lues sur 500 GB pour la quantification des gaméocytes et des stades asexués au microscope électronique à l'objectif 100. Du sang total était recueilli pour l'extraction de l'ARN. L'ARN était extrait en utilisant un extracteur automatique MagNAPure

LC avec la DNase condensée. La quantification moléculaire des gamétocytes utilisait le Pfs25 ARNm qRT-PCR comme décrit selon Wampfler R. et al. [52]. La prévalence et la densité des gamétocytes ont été déterminées en utilisant une ligne de tendance des gamétocytes aux stades matures(stade V) [53]. Les lames de goutte épaisse/frottis mince colorées au Giemsa ont été lues sur 500 champs pour la quantification des gamétocytes et des formes asexuées des parasites au screening. Le personnel du laboratoire dans la mesure de leur qualification et de leur formation était chargé d'appliquer la procédure.

4.8 Estimation de la taille de l'échantillon

L'estimation de la taille de l'échantillon était basée sur l'efficacité. En assumant que 80% des participants infecteront au moins un moustique avec une proportion moyenne des moustiques infectés de 25%, pour détecter une réduction de 90% de l'inféctivité 48 heures après le traitement par une dose unique de PQ par rapport au prétraitement avec une puissance de 80%, un risque alpha de 5% et 10% de perte de vue, nous avons besoin d'environ 15 participants par groupe de traitement.

4.9 Gestion et analyse des données

Toutes les données ont été saisies et stockées dans des bases de données sécurisées et protégées par des mots de passe avec MS ACCES. Les données qui étaient collectées sur des supports papiers ont été doublement saisies. Elles ont été analysées avec le logiciel Stata version 12.1. L'analyse des gamétocytes a été faite pour tous les participants inclus qui ont reçu la dose correcte de primaquine. L'analyse des EI et les variations du taux d'hémoglobine après le traitement ont été limitées aux participants avec au moins une dose de traitement. Nous avons calculé la moyenne du changement du taux d'hémoglobine pour chaque sujet pour déterminer la proportion de participants avec une baisse de 25% ou plus de l'hémoglobine et la proportion de participants avec un niveau d'hémoglobine ≤ 8 g / dl au cours du suivi. L'analyse de la variation de l'inféctivité a été effectuée pour les participants qui ont terminé l'étude après optimisation de l'essai et qui avaient une mesure de l'inféctivité en prétraitement, au moins une mesure de l'inféctivité pendant le suivi et ayant reçu la dose correcte de primaquine. En outre nous avons effectué une analyse à part de l'inféctivité d'un sous-ensemble de l'échantillon d'analyse primaire composé de participants qui ont infecté au moins un moustique en prétraitement. Le test de Chi carré a été utilisé pour la comparaison des proportions, celui de la somme des rangs de Wilcoxon pour la comparaison des différences en fonction des groupes de traitement.

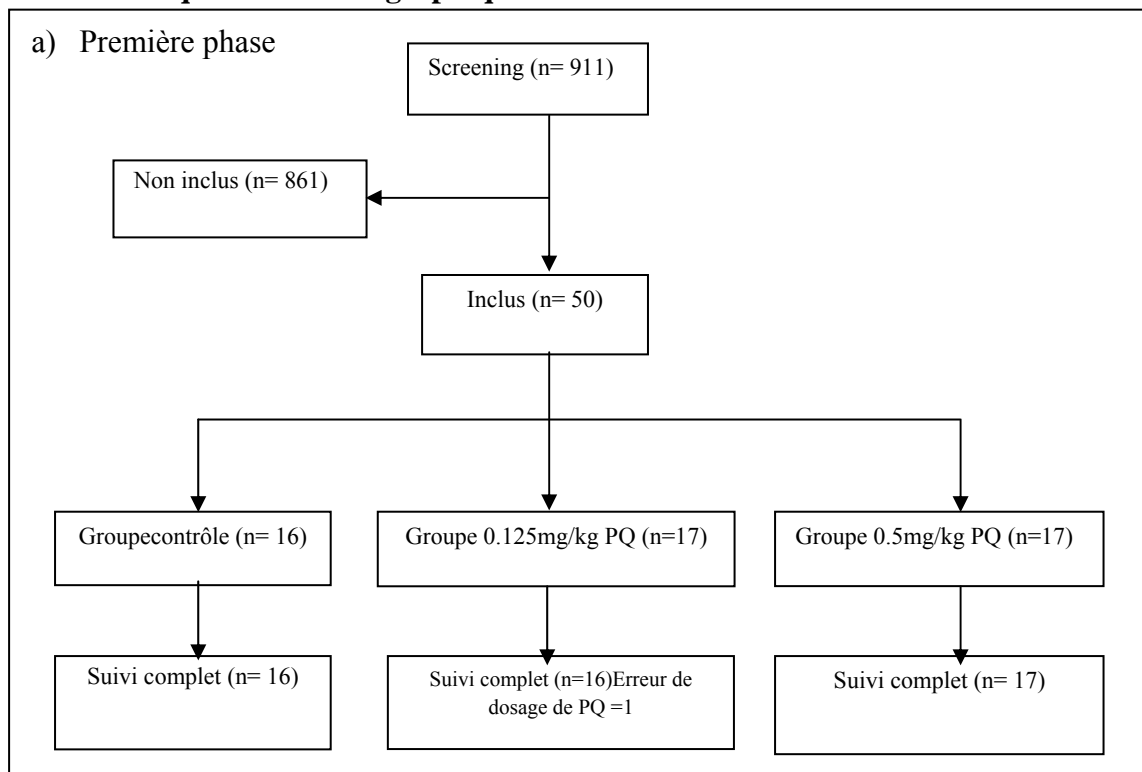
4.10 Considérations éthiques

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

Un Comité de Suivi des Données et de la Sécurité (CSDS) a été créé et s'est réuni avant le début de l'étude pour se mettre d'accord sur les critères d'arrêt en ce qui concerne la sécurité et l'efficacité. Le CSDS devait être informé de tout événement indésirable grave dans les 48 heures après que le personnel de l'étude ait été mis au courant. L'étude a été monitorée par l'Agence Africaine de Recherche en Santé Humaine (AARSH) de Dakar, au Sénégal (<http://www.aarsh.com/>).

5. RESULTATS

5.1 Caractéristiques sociodémographiques



b) Deuxième phase

Figure 4 : Diagramme de flux

De Janvier 2013 à Décembre 2014, nous avons fait le screening chez 1485 sujets au total et 81 ont été inclus dont 16 dans le groupe contrôle, 17 dans le groupe 0,125 mg/kg, 17 dans le groupe 0,5mg/kg, 15 dans le groupe 0,25mg/kg et 16 dans le groupe 0,0625mg/kg. Tous les participants étaient de sexe masculin. Ils avaient à l'inclusion au moins 2 gamétocytes/500 globules blancs, non déficitaires en G6PD, un taux d'hémoglobine ≥ 8 g/dl et remplissaient tous les autres critères d'éligibilité.

Tableau III: Répartition des participants selon la classe d'âge.

Classe d'âge	Effectif	Pourcentage
05-17 ans	48	59,3

18-49 ans	33	40,7
Total	81	100

La classe d'âge de 05-17 ans était la plus représentée avec 59,3%. L'âge médian était de 12 ans, l'âge minimum de 5 ans et l'âge maximum de 49 ans.

Tableau IV:Répartition des participants par groupe de traitement et la classe d'âge.

Classe d'âge	Contrôle n(%)	0,0625mg n(%)	0,125mg n(%)	0,25mg n(%)	0,5mg n(%)	Total n(%)
05-17 ans	6 (37,5)	16 (100)	7 (41,2)	12 (80,0)	7 (41,2)	48 (59,3)
18-49 ans	10 (62,5)	0 (0)	10 (58,8)	3 (20,0)	10 (58,8)	33 (40,7)
Total	16(100)	16(100)	17(100)	15(100)	17(100)	81(100)

La classe d'âge de 5-17 ans était la plus représentée dans le groupe 0,0625mg/kg avec 100% des participants par contre le groupe contrôle ne représentait que 37,5%.

Celle de 18-49 ans était la plus représentée dans le groupe contrôle avec 62,5% tandis qu'il n'y avait aucun participant du groupe 0.0625mg dans cette classe d'âge.

Tableau V:Répartition des participants selon l'ethnie

Ethnie	Effectif	Pourcentage
Bambara	68	83,9
Sarakolé	8	9,8
Peulh	3	3,7
Autres*	2	2,5
Total	81	100

Autres*= Malinké, Mossi.

La majorité de nos participants étaient des Bambaras avec 83, 9% de l'échantillon.

5.2 Efficacité de la PQ sur l'infectivité des gamétocytes pour les moustiques

Suite à l'optimisation de l'infectivité des porteurs de gamétocytes pour les moustiques qui a bien fonctionné, 79% (58/73) des expériences de membrane feeding en prétraitement ont abouti à infecter un moustique ou plus et 24% des moustiques ont été infectieux. L'analyse "par intention de traiter" de la variation de l'infectivité des moustiques a porté sur 71 participants et celle "par protocole" de sous-groupe a porté sur 57 participants qui ont infecté au moins un moustique en prétraitement.

Tableau VI: Résumé de l'infectivité des moustiques en fonction des groupes de traitement pendant le suivi

Jours	Jour 0		Jour 1		Jour 2		Jour 7	
	%(n/N) Sujets infectes	%(n/N) moustiques infectes	%(n/N) Sujets infectes	%(n/N) moustiques infectes	%(n/N) Sujets infectes	%(n/N) moustiques infectes	%(n/N) Sujets infectes	%(n/N) moustiques infectes
Contrôle	71,4 (10/14)	10,5 (127/1209)	57,1 (8/14)	11,4 (53/465)	53,8 (7/13)	14,6 (73/499)	23,1 (3/13)	16,4 (35/213)
0,0625mg	81,3 (13/16)	27,4 (390/1424)	62,5 (10/16)	11,8 (73/621)	50,0 (8/16)	10,1 (56/553)	6,7 (1/15)	11,9 (8/67)
0,125mg	64,3 (9/14)	18,5 (235/1148)	30,8 (4/13)	20,8 (63/303)	23,1 (3/13)	5,1 (9/176)	0 (0/13)	0
0,25mg	93,3 (14/15)	37,8 (801/2119)	38,5 (5/13)	17,1 (62/363)	6,7 (1/15)	10,0 (7/70)	0 (0/15)	0
0,5mg	87,5 (12/14)	14,5 (213/1473)	14,3 (2/14)	19,5 (26/133)	7,1 (1/14)	3,8 (3/79)	7,1 (1/14)	1,3 (1/73)
Total	79,4 (58/73)	24,0 (1766/7373)	42,6 (29/68)	14,7 (277/1885)	28,1 (20/71)	10,7 (148/1377)	7,0 (5/71)	12,4 (44/353)

Au total, 79% (58/73) des expériences de membrane feeding en prétraitement ont réussi à infecter au moins un moustique. Dans l'ensemble, nous avons utilisé 32 040 moustiques dans les expériences de membrane feeding dont 24 009 (74,9%) ont survécu et ont été disséqués le jour 7. En somme 24% des moustiques ont été infectés avant traitement.

Tableau VII: Réduction de l'infectivité à J1, J2 et J7 (échantillon primaire n=71)

Dose PQ	Réduction au Jour 1			Réduction au Jour 2			Réduction au Jour 7		
	%	[IC à 95%]	p*	%	[IC à 95%]	p*	%	[IC à 95%]	p*
Contrôle	16,2	[-14,7;46,9]	_	11,3	[-27,4;50,0]	_	45,8	[11,9;82,2]	_

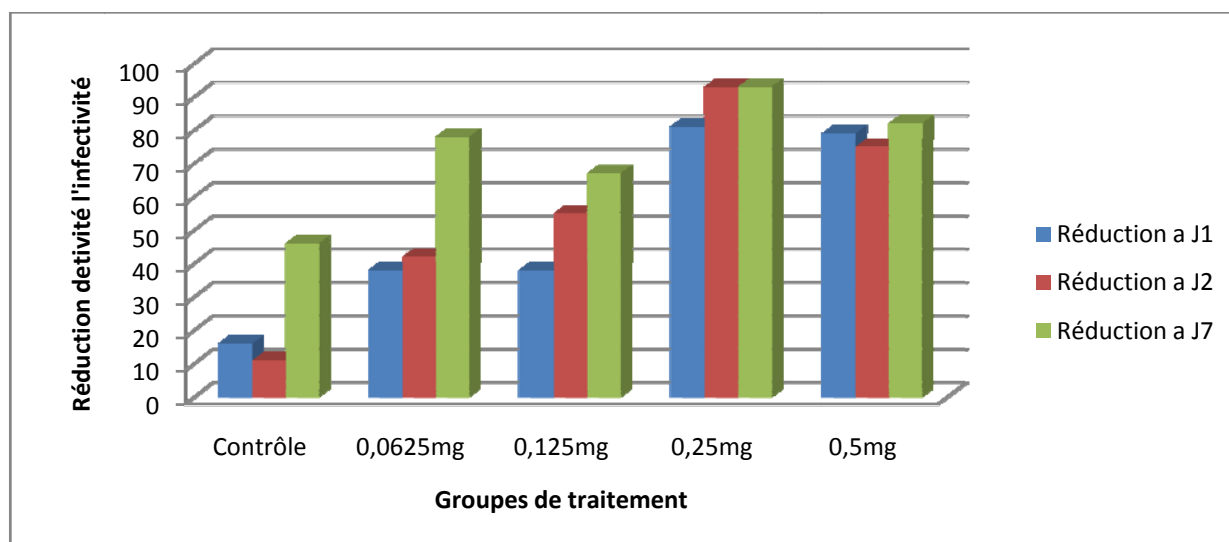
0,0625mg	38,2	[7,4;68,9]	0,17	41,9	[1,4;82;5]	0,16	77,9	[55,1;100]	0,05
0,125mg	37,9	[-6,7;82,6]	0,19	54,9	[13,4, 96;3]	0,09	66,7	[35,4;97,9]	0,25
0,25mg	80,9	[59,4;100]	<0,01	92,6	[78,3;100]	<0,01	93,3	[79,0;100]	0,01
0,5mg	78,5	[54,0;100]	<0,01	75,0	[45,7;100]	<0,01	81,5	[59,6;100]	0,04

*Comparaison avec le groupe de contrôle, test unilatéral de la somme des rangs de Wilcoxon

L'analyse de l'échantillon primaire en intention de traiter (échantillon principal n=71) a montré une réduction statistiquement significative de l'infectivité tous les jours (jours 1, 2 et 7) après le traitement dans les groupes de dose de 0,25mg/kg et de 0,5mg/kg par rapport au groupe contrôle.

La réduction de l'infectivité était également évidente lorsque les analyses ont été effectuées sur le premier échantillon d'analyse qui était composé des participants non infectieux (participants qui n'ont pas infecté au moins un moustique).

Figure 5:Réduction de l'infectivité en fonction des jours de suivi: "analyse par intention de traiter" - échantillon principal (n=71)



Ce résultat a été plus prononcé dans l'échantillon de sous-groupe avec une réduction statistiquement significative de la proportion des participants qui ont infecté au moins un moustique tous les jours après le traitement dans les groupes de dose de 0,125 mg/kg, 0,25 mg/kg et 0,5 mg/kg de primaquine comparés au groupe contrôle.

Tableau VIII: Réduction de l'infectivité a J1, J2 et J7 (analyse par protocole n=57)

Groupes	Réduction au Jour 1			Réduction au Jour 2			Réduction au Jour 7		
	%	[IC à 95%]	p	%	[IC à 95%]	p	%	[IC à 95%]	p
contrôle	22,6	[-22,4;67,6]	_	27,5	[-22,7;77,7]	_	66,1	[22,7;100]	_
0.0625mg	47,0	[10,2;83,6]	0,18	59,3	[16,9;100]	0,18	97,4	[91,7;100]	0,04
0.125mg	69,4	[21,4;100]	0,06	94,9	[84,6;100]	0,04	100	[100;100]	0,05
0.25mg	87,8	[70,4;100]	0,01	99,2	[97,6;100]	<0,01	100	[100;100]	0,05
0.5mg	91,5	[73,4;100]	<0,01	87,6	[60,2;100]	0,03	95,1	[84,2;100]	0,11

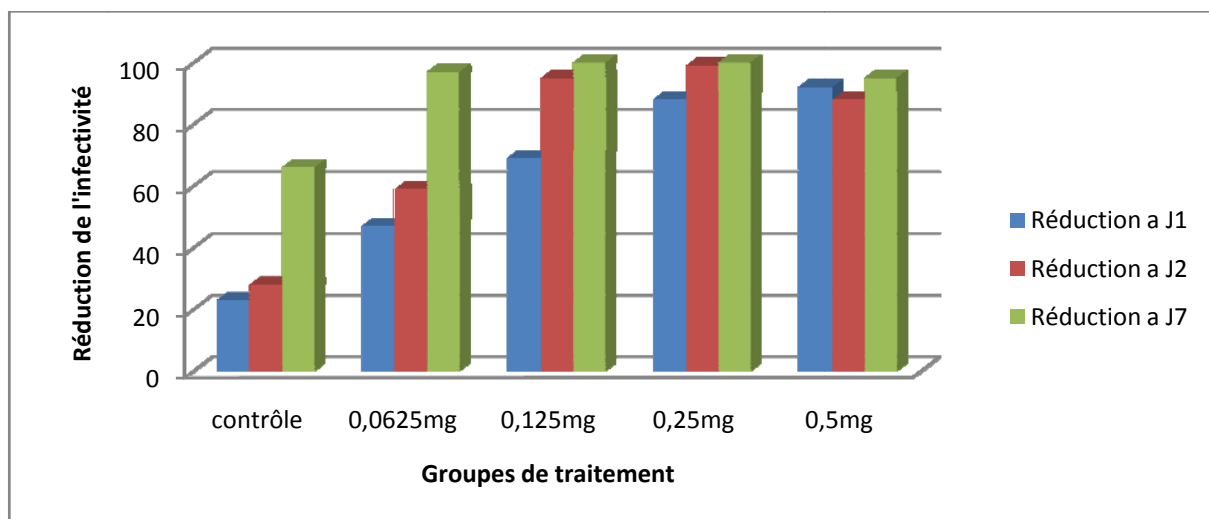
Parmi les personnes qui étaient infectieuses avant le traitement (qui ont infecté au moins un moustique; échantillon de sous-groupe), nous avons constaté une grande réduction de l'infectivité chez les sujets dans la plupart des cas, statistiquement significative après le traitement :

-Le jour 1 avec les doses de 0,125, 0,25 et 0,5 mg/kg de primaquine avec respectivement 69,4%, 87,8% et 91,5% par rapport à la réduction de l'infectivité dans le groupe contrôle qui était de 22,6%; (P = 0,06, P <0,01 et P <0,01 respectivement) ;

-Le jour 2 avec les doses de 0,125, 0,25 et 0,5 mg/kg de primaquine avec respectivement 94,9%, 99,2% et 87,6% par rapport à la réduction de l'infectivité dans le groupe contrôle qui était de 27,5%; (p = 0,04, p<0,01 et p = 0,03 respectivement) ;

-Et le jour 7 avec les doses de 0,0625, 0,125, 0,25 et 0,5 mg/kg de primaquine avec respectivement 97,4%, 100%, 100% et 95,1% par rapport à la réduction de l'infectivité dans le groupe contrôle qui était de 66,1%; (p = 0,04, p = 0,05, p = 0,05 et P = 0,11 respectivement).

Figure 6 : Réduction de l'infectivité en fonction des jours de suivi "analyse par protocole" - échantillon sous-groupe (n=57)



Ces résultats ont ensuite été confirmés par l'examen de la proportion des participants dans chaque groupe de dose qui ont infecté au moins un moustique à chaque visite. Nous avons constaté une réduction statistiquement significative dans la proportion des participants qui ont infecté au moins un moustique deux jours après le traitement avec les doses de 0,125 mg/kg, 0,25 mg/kg et 0,5 mg/kg de primaquine.

Il y avait significativement moins de moustiques infectés le jour 2 dans les groupes de dose de 0,125 mg/kg de primaquine ou plus par rapport au groupe contrôle. Aucun des participants des groupes de dose de 0,125 mg/kg et 0,25 mg/kg n'a été infectieux pour les moustiques le jour 7. Un participant dans le groupe de dose de 0,5mg/kg de primaquine a infecté un seul moustique le jour 7 après le traitement.

5.3 Effet de la PQ sur les gamétocytes de *P. falciparum*

5.3.1 Effet de la PQ sur les gamétocytes de *P. falciparum* mesuré par microscopie

✓ Prévalence de la gamétocytémie de *P. falciparum*

La gamétocytémie moyenne a progressivement diminuée de l'inclusion jusqu'à la fin des 28 jours de suivi. Cette diminution était statistiquement significative dans tous les groupes de traitement jusqu'à la fin du suivi. A J28 un seul participant du groupe 0,0625mg avait des gamétocytes à la goutte épaisse avec 16 gamétocytes/ μ l de sang

Tableau IX: Prévalence de la gamétocytémie à la microscopie par groupe de traitement en fonction des jours de suivi

Groupes	inclusion % (n/N)	H6 % (n/N)	H12 % (n/N)	J1 % (n/N)	J2 % (n/N)	J3 % (n/N)	J7 % (n/N)	J14 % (n/N)	J28 % (n/N)
Contrôle	100 (16/16)	93,3 (14/15)	75,0 (12/16)	100 (15/15)	71,4 (10/14)	64,3 (9/14)	71,4 (10/14)	35,7 (5/14)	0 (0/14)
0,0625mg	100 (16/16)	100 (16/16)	100 (16/16)	100 (16/16)	100 (16/16)	93,75 (15/16)	40 (6/15)	33,3 (5/15)	6,67 (1/15)
0,125mg	100 (17/17)	86,7 (13/15)	81,2 (13/16)	87,5 (14/16)	68,7 (11/16)	46,7 (7/15)	12,5 (2/16)	6,7 (1/15)	0 (0/16)
0,25mg	100 (15/15)	100 (15/15)	93,3 (14/15)	100 (13/13)	80,0 (12/15)	66,7 (10/15)	6,7 (1/15)	6,7 (1/15)	0 (0/14)
0,5mg	100 (17/17)	88,2 (15/17)	88,2 (15/17)	82,4 (14/17)	70,6 (12/17)	25,0 (4/16)	0 (0/17)	0 (0/16)	0 (0/16)

La proportion de porteurs de gamétocytes a progressivement diminué dans tous les groupes de traitement de l'inclusion jusqu'à la fin du suivi. Cependant elle a très peu varié de J0 à J2. A partir de J7 seulement 25% de l'échantillon de départ avaient des gamétocytes. Aucun porteur de gamétocyte n'a été mis en évidence à partir de J7 dans le groupe 0,5mg et à partir de J28 dans les groupes contrôle, 0,125mg et 0,25mg. Dans le groupe 0,0625mg un seul porteur de gamétocytes est resté positif jusqu'à J28.

✓ Densité de la gamétocytémie de *P. falciparum*

Tableau X: Densité de la gamétocytemie à la microscopie par groupe de traitement en fonction des jours de suivi

Groupes	Inclusion	H6	H12	H24	J2	J3	J7	J14	J28
	64	16	16	16	20	8	12	0	0
Contrôle	[56 ; 88]	[8 ; 32]	[4 ; 32]	[8 ; 40]	[0 ; 24]	[0 ; 32]	[0; 24]	[0;8]	-
	96	56	64	60	68	44	0	0	0
0,0625mg	[56; 128]	[48; 116]	[36; 108]	[40; 124]	[44; 124]	[16; 60]	[0 :32]	[0;8]	-
	80	16	24	28	16	0	0	0	0
0,125mg	[40 ; 88]	[8 ; 40]	[8 ; 40]	[8 ; 60]	[0 ; 28]	[0 ; 16]	-	-	-
	144	144	112	96	64	24	0	0	0
0,25mg	[64; 304]	[64; 200]	[48; 224]	[56; 268]	[8 ; 200]	[0 ; 48]	-	-	-
	48	16	8	8	8	0	0	0	0
0,5mg	[32 ; 80]	[8 ; 24]	[8 ; 32]	[8 ; 28]	[0 ; 16]	[0 ; 4]	-	-	-

Les chiffres du tableau représentent la médiane [valeur interquartile]

A partir de J7 la densité gamétocytaire était nulle dans tous les groupes de traitement (excepté le groupe contrôle seulement à J7) et ce jusqu'à la fin du suivi.

5.3.2 Effet de la PQ mesuré par PCR sur les gamétocytes de *P. falciparum*

✓ Prévalence de la gamétocytemie de *P. falciparum*

L'analyse par PCR de la densité des gamétocytes a inclus 80 participants qui ont reçu la dose correcte de primaquine. Tous les participants à l'étude avaient une gamétocytemie positive par PCR à l'inclusion.

Tableau XI : Prévalence de la gamétocytemie de *P. falciparum* mesurée par PCR par groupe de traitement en fonction des jours de suivi

	PCR	Contrôle	0,0625 mg	0,125mg	0,25mg	0,5 mg
J0	Prévalence, % (n/N)	100,0 (16/16)	100,0 (16/16)	100,0 (16/16)	100,0 (15/15)	100,0 (17/17)
J1	Prévalence, % (n/N)	100,0 (15/15)	100,0 (16/16)	100,0 (15/15)	100,0 (13/13)	94,1 (16/17)
J2	Prévalence, % (n/N)	92,9 (13/14)	100,0 (16/16)	100,0 (15/15)	100,0 (15/15)	82,4 (14/17)
J3	Prévalence, % (n/N)	85,7 (12/14)	100,0 (15/15)	85,7 (12/14)	93,3 (14/15)	75,0 (12/16)
J7	Prévalence, % (n/N)	100,0 (14/14)	91,7 (11/12)	73,3 (11/15)	66,7 (10/15)	11,8 (2/17)
J14	Prévalence, % (n/N)	100,0 (14/14)	72,7 (8/11)	71,4 (10/14)	40,0 (6/15)	6,3 (1/16)
J28	Prévalence, % (n/N)	92,9 (13/14)	55,6 (5/9)	33,3 (5/15)	21,4 (3/14)	0,0 (0/16)

Après ajustement de la densité de la gamétoctémie de base, la prévalence des gamétoctytes était significativement plus faible dans le groupe de 0,5 mg/kg de primaquine le jour 7, le jour 14 et le jour 28. Au jour 28, la prévalence des gamétoctytes était plus faible dans tous les bras de primaquine par rapport au bras contrôle.

✓ **Densité de la gamétoctémie de *P. falciparum***

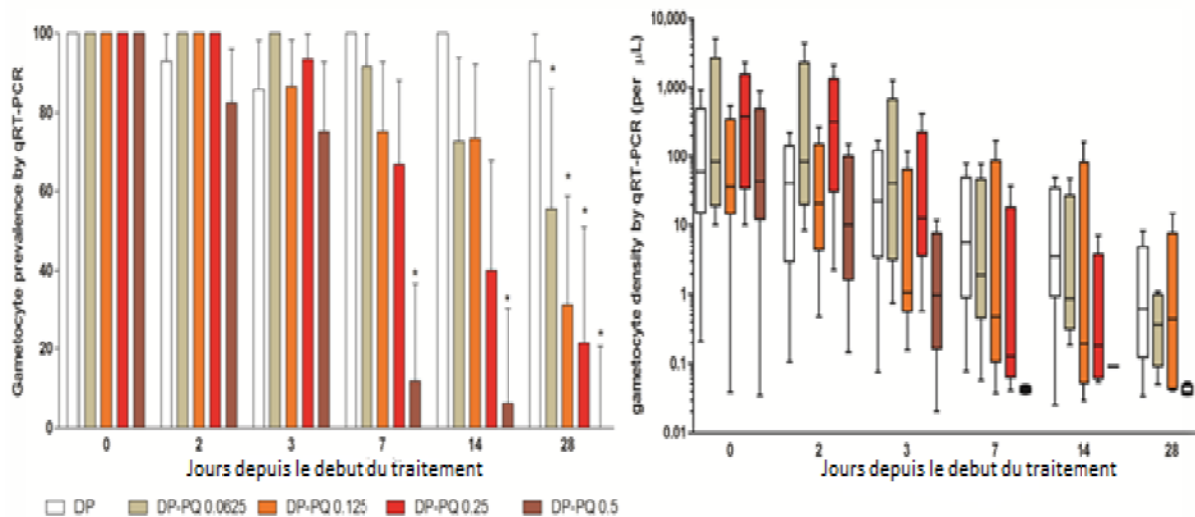
Tableau XII : Densité de la gamétoctémie de *P. falciparum* mesurée par PCR par groupe de traitement en fonction des jours de suivi

PCR	Contrôle	0,0625 mg	0,125mg	0,25mg	0,5 mg
J0	Densité, médiane(IC) 60,3 (30,4- 79,9)	82,6 (28,6- 212,3)	35,8 (18,7-135,8)	384,9 (57,8-810,5)	43,0 (24,2- 127,9)
J1	Densité, médiane(IC) 56,5 (18,8- 99,0)	60,6 (26,8- 173,4)	25,5 (9,9-53,0)	478,6 (171,9-1084,7)	29,0 (8,1-85,3)
J2	Densité, médiane(IC) 41,1 (5,9-63,8)	82,2 (31,9- 125,4)	17,4 (6,4-47,1)	317,7 (58,8-604,1)	10,0 (3,1-47,0)
J3	Densité, médiane(IC) 22,3 (6,8-72,7)	40,9 (5,6-69,7)	1,9 (1,0-13,4)	12,4 (6,6-25,7)	1,0 (0,3-3,8)
J7	Densité, médiane(IC)* 5,8 (1,7-20,3)	1,9 (0,8-16,1)	0,6 (0,3-2,1)	0,1 (0,08-25,7)	0,05; 0,04
J14	Densité, médiane(IC)* 3,5 (1,8-17,7)	0,9 (0,4-6,3)	0,2 (0,09-2,0)	0,2 (0,07-0,5)	0,09
J28	Densité, médiane(IC)* 0,6 (0,2-1,5)	0,4 (0,1-0,9)	0,4 (0,04-0,5)	0,03 0,04, 0,05	-

*= Quand moins de 4 échantillons avaient des gamétocytes, les échantillons de densités des gamétocytes de ces sujets ont été présentés.

La densité des gamétocytes a diminué au cours du suivi pour tous les bras de traitement; la densité des gamétocytes chez les participants qui avaient une gamétocytémie positive était significativement plus faible dans les bras de 0,125 mg/kg ou plus à partir du jour 3 après ajustement de la densité de base. L'aire sous la courbe de la densité de gamétocytes dans le temps était significativement plus faible dans tous les bras de primaquine par rapport au bras contrôle après ajustement de la densité de référence ($p \leq 0,027$).

Figure 7: Prévalence et densité des gamétocytes par PCR à l'inclusion et au cours du suivi



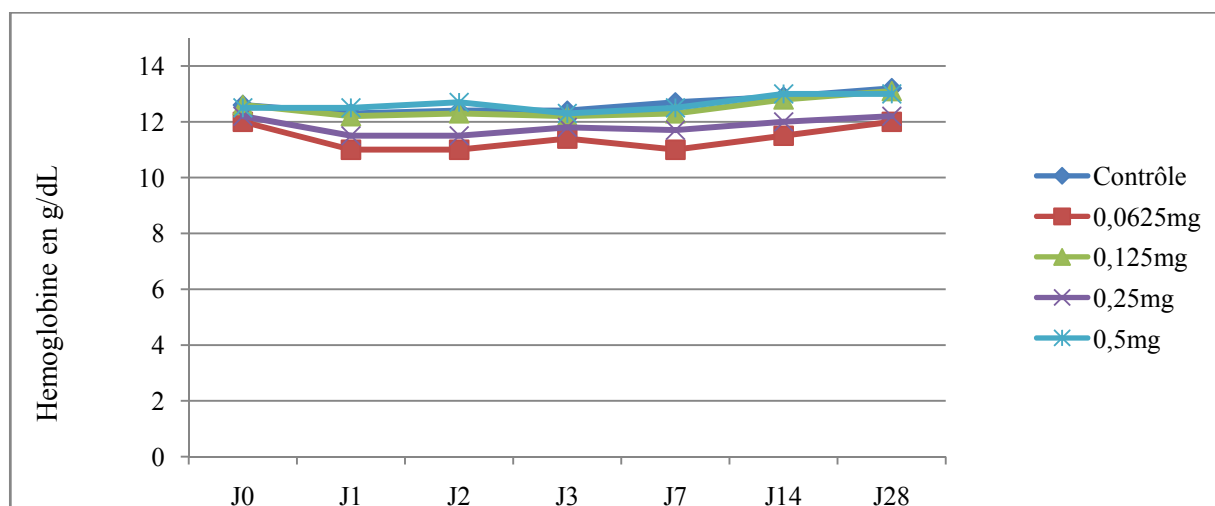
Avant le traitement, la densité des gamétocytes par PCR a été fortement associée à des taux d'infectivité des moustiques (n=146; coefficient de corrélation de Spearman 0,56, $p < 0,0001$); cette association n'était plus évidente le jour 1 (n = 71; $r = 0,07$, $p = 0,57$); le jour 2 (n = 71; $r = 0,17$, $p = 0,16$) ou le jour 7 (n = 46; $r = 0,15$, $p = 0,34$) après le début du traitement.

5.4 Tolérance

5.4.1 Evolution du taux d'hémoglobine

L'analyse des variations du taux d'hémoglobine après le traitement a été limitée à 79 participants qui avaient au moins une visite de suivi. Le taux moyen d'hémoglobine aux jours 0, 7 et 28 était de 12,4 g/dl, 11,6 g/dl et 12,3 g/dl, respectivement. Nous n'avons pas trouvé un changement significatif ou statistiquement significatif du taux d'hémoglobine chez nos participants dans l'un des groupes de traitement par rapport au groupe de contrôle et pendant toute la durée du suivi. Au cours du suivi, aucun participant n'avait un taux d'hémoglobine < 8 g/dl et aucun participant n'a connu une baisse de 25% ou plus de l'hémoglobine après le traitement.

Figure 8: Evolution du taux moyen d'hémoglobine (g/dL) par groupe de traitement



Le taux moyen d'hémoglobine n'a quasiment pas changé pendant toute la durée de l'étude dans aucun des groupes de traitement. Il n'y avait pas de différence entre les groupes quant à la moyenne des taux d'hémoglobine ou le changement du taux d'hémoglobine.

Tableau XIII: Prévalence de l'anémie(hémoglobine < 11g/dL) par groupe de traitement.

Jour suivi Groupes	Jour 0 %(n/N)	Jour 1 %(n/N)	Jour 2 %(n/N)	Jour 3 %(n/N)	Jour 7 %(n/N)	Jour 14 %(n/N)	Jour 28 %(n/N)
Contrôle	20,0 (3/15)	21,4 (3/14)	28,6 (4/14)	33,3 (4/12)	30,8 (4/13)	15,4 (2/13)	7,7 (1/13)
0,0625mg	31,3 (5/16)	50,0 (8/16)	50,0 (8/16)	42,9 (6/4)	53,3 (8/15)	40,0 (6/15)	13,3 (2/15)
0,125mg	18,8 (3/16)	38,5 (5/13)	33,3 (5/15)	21,4 (3/14)	33,3 (5/15)	35,8 (5/14)	0 0/15
0,25mg	13,3 (2/15)	38,5 (5/16)	33,3 (5/15)	20,0 (3/15)	33,3 (5/15)	26,7 (4/15)	14,3 (2/14)
0,5mg	17,7 (3/17)	18,8 (3/16)	11,8 (2/17)	12,5 (2/16)	5,9 (1/17)	0 (0/16)	6,3 (1/16)
Total	20,3 (16/79)	32,9 (24/73)	34,2 (26/76)	25,4 (18/71)	30,7 (23/75)	23,3 (17/73)	8,2 (6/73)

La prévalence de l'anémie dans la population totale incluse était de 20,3% à J0. A la fin de l'étude, elle était plus basse 8,2% dans l'ensemble de la population et dans chacun des différents groupes de traitement. Elle était légèrement plus élevée entre J1 et J14 sans différence statistiquement significative entre les différents groupes de traitement.

5.4.2 Fréquence et sévérité des événements indésirables

L'analyse des événements indésirables après le traitement a été limitée à 79 participants qui avaient au moins une visite de suivi.

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

	Contrôle	0,0625mg	0,125mg	0,25mg	0,5mg	Total
Participants avec EI	6	9	10	6	11	42
Participants sans EI	9	7	6	9	6	37
Proportion avec EI	60,0%	43,8%	37,5%	60,0%	35,3%	46,8%
Total participants	15	16	16	15	17	79

Globalement, 46,3% des participants ont eu un événement indésirable au cours du suivi. La proportion des participants qui ont eu un événement indésirable (lié ou non aux médicaments) variait de 35,3% dans le groupe qui a reçu la dose la plus élevée de primaquine à 60% dans le groupe contrôle. Il n'y avait pas de différence significative entre les groupes de traitements ($p \geq 0,16$).

Tableau XV : Taux d'incidence des événements indésirables (liés ou non aux médicaments) en fonction des groupes de traitement

	Contrôle	0,0625mg	0,125mg	0,25mg	0,5mg	Total
Nombre EI	20	13	16	10	20	79
Nombre participants	15	16	16	15	17	79
Taux d'incidence	1,33	0,81	1,00	0,67	1,18	1,00

Au total 79 événements indésirables sont survenus chez 42 des 79 participants soit un taux d'incidence de un événement par personne. L'incidence des événements indésirables variait de 0,67 par personne pendant le suivi chez les participants qui ont reçu la dose de 0,25 mg/kg de primaquine à 1,33 par personne chez les participants du groupe contrôle. La différence entre les participants des groupes qui ont reçu la primaquine et ceux du groupe control n'est pas statistiquement significative ($p \geq 0,07$).

Tableau XVI: Classification des EI par groupe de traitement en fonction de la sévérité.

Degré de sévérité EI	Contrôle (n=15)	0,0625mg (n=16)	0,125mg (n=16)	0,25mg (n=15)	0,5mg (n=17)	Total (n=79)
Léger	15	13	14	9	18	69
Modéré	5	0	2	1	2	10
Sévère	0	0	0	0	0	0
Grave	0	0	0	0	0	0

La majorité des effets indésirables 87% (69/79) étaient légers (grade 1), et 13% (10/79) étaient modérée (grade 2). Aucun EI n'a abouti à l'arrêt du traitement de l'étude ou de la participation à l'étude. Aucun des participants n'a connu une cyanose ou une jaunisse (ictère). Il n'y avait pas eu d'EI grave détecté au cours de l'étude. Tous les effets indésirables ont été résolus sans séquelle au cours de la période de suivi.

Tableau XVII: Classification des EI en fonction des groupes de traitement selon la relation avec le médicament de l'étude.

	Contrôle	0,0625mg	0,125mg	0,25mg	0,5mg	Total
Taille de l'échantillon	15	16	16	15	17	79
Nombre total EI liés	3	0	1	0	0	4

Au total nous avons enregistré quatre EI dont trois dans le groupe contrôle (grade 1) et un dans le groupe 0,125mg (grade 1) qui étaient possiblement liés au médicament de l'étude. Un participant du groupe 0,5 mg/kg PQ a rapporté une coloration transitoire des urines foncées (légère/grade 1) le jour 1 qui a été considérée comme sans rapport avec les médicaments de l'étude. Le taux d'hémoglobine de ce participant était de 14,2 g/dl à l'inclusion et est resté au-dessus de ce niveau jusqu'au jour 28. Un participant dans le groupe de contrôle a signalé un essoufflement (léger/grade 1) qui a été résolu et considéré comme non lié aux médicaments de l'étude.

6. DISCUSSION

6.1 Sur le plan méthodologique

Nous avons utilisé le schéma d'un essai randomisé contrôlé pour permettre la meilleure comparaison possible et réduire les biais. Les personnes qui élevaient les moustiques et

faisaient la lecture après dissection ne connaissaient pas les groupes de traitement. Il en est de même pour ceux qui ont évalué la présence et la densité des gamétocytes par PCR. Les cliniciens impliqués dans l'évaluation des effets secondaires étaient également aveugles par rapport aux traitements reçus par les participants des trois premiers groupes de traitements.

Avec l'émergence généralisée de la résistance du *P. falciparum* à la chloroquine (CQ) et à la sulfadoxine-pyriméthamine (SP), la plupart des pays africains ont adopté des thérapies combinées basées sur l'artémisinine (CTA) comme traitement de première intention du paludisme non compliqué. A ces CTA l'OMS recommande l'ajout d'une dose unique de primaquine pour bloquer la transmission du paludisme à *P. falciparum*. Il y a deux recommandations de l'OMS pour l'utilisation de la primaquine pour bloquer la transmission de *P. falciparum* qui devraient être sans danger. La première, publiée en 1973, est l'utilisation d'une dose unique de 0,75 mg/ kg de primaquine avec des tests en G6PD pour éliminer les gamétocytes de *P. falciparum*. La deuxième, émise en Octobre 2012, de 0,25 mg/kg en dose unique de primaquine avec une CTA sans tester obligatoirement pour le déficit en G6PD. Cette faible dose unique de 0,25 mg/kg de primaquine est recommandée dans le cadre du traitement de tous les cas de *P. falciparum* dans les zones menacées par la résistance à l'artémisinine ou approchant l'élimination du paludisme.

Cette étude était un essai clinique randomisé comparant l'efficacité et la tolérance de quatre faibles doses uniques de primaquine: 0,125mg/kg, 0,5mg/kg, 0,25mg/kg 0,0625mg/kg avec un groupe de contrôle (qui n'a pas reçu de primaquine).

L'association dihydroartémisinine-pipéraquine (Artekin®) était le produit comparateur. Cette association donne de meilleurs résultats comparée à l'association artésunate-amodiaquine et a été validée par l'OMS dans le traitement de l'accès palustre simple même dans les coinfections *P. falciparum*-*P. vivax* et dans la prophylaxie post traitement (prévention des rechutes ou des réinfections)[46]. Elle est vendue dans les pharmacies au Mali sous le nom de Malacure®. Cette combinaison à dose fixe a constamment démontré une efficacité supérieure à 95% dans le traitement du paludisme à *P. falciparum* multirésistant. Plus de 2600 patients ont été traités avec cette combinaison dans les études prospectives, principalement en Asie du sud-est [54] ou sa tolérance a été uniformément bonne, et aucun effet secondaire sévère n'a été identifié. Elle retient certainement à la fois la très grande efficacité et un effet prophylactique post-traitement dans les zones où il existe une forte prévalence de *P. falciparum* chloroquinorésistants et démontre également une efficacité supérieure à d'autres

associations[47]. Le régime de dosage est simplifié de quatre doses à une seule prise quotidienne pendant trois jours. D'où la pertinence de cette association comme traitement comparateur.

Dans les pays sahéliens comme le Mali, l'OMS a recommandée depuis 2012 la Chimio-prévention du paludisme saisonnier (CSP). Elle consiste à administration chez les enfants de 3-59 mois de dose thérapeutique de sulfadoxine-pyriméthamine plus amodiaquine à un mois d'intervalle jusqu'à quatre fois pendant les périodes de forte transmission du paludisme [8]. La mise en œuvre de la stratégie a commencé au Mali en 2012 et en 2014 la CPS a été administrée dans 21 districts sanitaires au Mali. Il serait intéressant d'évaluer l'effet de l'addition de la primaquine aux médicaments de la CPS sur la transmission et le poids du paludisme dans les zones sahéliennes à transmission saisonnière.

L'étude a porté sur 81 participants répartis entre les cinq groupes de traitement soit 15 à 17 par groupe. Tous les participants étaient de sexe masculin. Ceci pour éviter le risque chez les femmes en cas de grossesse non diagnostiquée par les tests usuels et les difficultés de compréhension et d'acceptation de mise sous contraception efficace au cas où elles doivent participer. Bien que les individus puissent infecter les moustiques avec des gamétocytemies non détectables, nous avons choisi le seuil de 30 gamétocytes par μL de sang pour l'inclusion dans cette étude afin de maximiser les chances de succès des infestations expérimentales. De même pour des raisons de sécurité l'étude a porté seulement sur les personnes non déficitaires en G6PD avec un taux d'hémoglobine d'au moins 8 g/dL. L'administration de toutes les doses de médicaments était effectuée au centre de santé par le pharmacien de l'étude ou son assistant afin d'assurer une meilleure observance du traitement. Cependant un participant a reçu par inadvertance une dose erronée de primaquine et ses données ont été exclues de l'analyse.

6.2 Sur le plan de la tolérance

Nous n'avons pas observé d'événement indésirable grave dans notre étude. Aucune réduction significative de taux d'hémoglobine et aucune preuve d'hémolyse n'ont été observées. Les effets indésirables étaient d'une intensité légère à modérée et compatibles pour la plupart avec les symptômes du paludisme. Leur fréquences étaient comparables chez les sujets qui ont reçu la PQ et ceux qui ne l'ont pas reçu. Leur fréquence et intensité n'ont pas augmenté avec l'augmentation de la dose de PQ. La plupart de ces effets indésirables observés n'étaient pas liés aux médicaments de l'étude. Tous les effets indésirables ont disparu au cours de la période de suivi sans laisser de séquelle. Aucune preuve d'hémolyse entraînant une anémie n'a non

plus été observée. D'autres études afin de déterminer la dose la plus élevée tolérable de PQ chez les sujets déficients en G6PD sont nécessaires pour l'administration simplifiée de l'intervention. Dans notre étude, les sujets de sexe masculins et non déficitaires en G6PD ont été choisis parce que leur risque d'hémolyse après une faible dose unique de PQ serait faible. Les études futures devraient porter sur le profil de sécurité de la PQ chez des participants déficients en G6PD pour déterminer la dose tolérable la plus élevée d'une faible dose unique de PQ sans tester au préalable le déficit en G6PD. Deux études sont en cours pour déterminer la tolérance de dose unique faible de PQ chez les sujets déficitaires en G6PD dont l'une au Mali et l'autre au Burkina Faso.

6.3 Sur le plan de l'efficacité

Dans cette étude nous décrivons pour la première fois la tolérance et l'efficacité de l'effet dose-dépendant (dose-réponse) de la primaquine associée à une combinaison thérapeutique à base d'artémisinine sur l'infectivité des porteurs de gamétocytes de *P. falciparum* pour les moustiques. Nous observons qu'en dépit de la persistance des gamétocytes par microscopie et par PCR, la transmission du paludisme est réduite de plus de 90% les jours 2 et 7 avec une dose de 0,25 mg/kg de primaquine. Parmi les participants qui ont infecté des moustiques en prétraitement, nous constatons plus de 90% de réduction de l'infectivité avec des doses de 0,125mg/kg ou plus de primaquine le jour 2 et avec tous les groupes de doses de primaquine le jour 7.

Dans notre étude, 79% de tous les participants avec une gamétocythémie supérieure ou égale 32/uL de sang à la microscopie ont infecté au moins un moustique avant le traitement. Ces résultats sont similaires à ceux d'une méta-analyse sur des expériences de membrane feeding [55]. Dans le groupe contrôle (traitement avec la DP seule), cette proportion a été réduite à 54% le jour 2 et à 23% le jour 7, ce qui représente une réduction de l'infectivité de 27% et 66% respectivement. Une transmission résiduelle après traitement par la DP a été observée auparavant [56] et cela pourrait être partiellement expliqué par l'effet limité des dérivés de l'artémisinine sur les gamétocytes matures (stade V) qui pourraient être présents avant le traitement [57]. Des doses de plus de 0,125 mg/kg de primaquine permettent d'accélérer l'effet de réduction de la transmission avec la DP. Un seul participant était infestant le jour 7 après le traitement par primaquine parmi les groupes de doses de 0,125 mg/kg, 0,25 mg/kg et 0,5 mg/kg et cette personne avait infecté un seul moustique. Même la dose de 0,0625 mg/kg a été associée à des réductions à la limite significatives dans la proportion des moustiques infectés

le jour 7 et dans le nombre de participants qui ont infectés un seul moustique. Notre étude a montré une prévention quasi complète de la transmission chez tous les participants traités avec des doses de 0,125mg/kg ou plus de primaquine associées à une combinaison thérapeutique à base d'artémisinine. Nos résultats corroborent donc avec les données historiques [16] et supportent la recommandation de l'OMS en 2012.

Nous avons observé que les gamétocytes persistent généralement après le traitement de primaquine dans tous les groupes de traitement et que la densité de ces gamétocytes de post-traitement n'a pas été significativement associée à l'infectivité [58, 59]. Nous avons délibérément choisi des porteurs de gamétocytes de grande densité pour maximiser l'efficacité de notre critère de jugement principal de la transmission. Dans cette population sélectionnée, la majorité des participants dans le bras contrôle (qui n'ont pas reçu la primaquine) conservent des faibles densités de gamétocytes (mesurées par PCR) jusqu'à la fin du suivi le jour 28. La faible dose unique de primaquine montre un effet dose-dépendant sur la prévalence des gamétocytes. Il y avait une discordance nette entre la prévalence et la densité des gamétocytes et la probabilité d'infection des moustiques après une faible dose unique de primaquine. Avant le traitement, la densité des gamétocytes était fortement associée à la proportion de moustiques infectés, mais cela n'était plus le cas pendant les jours après le traitement. Des études antérieures avaient montré des résultats similaires avec des gamétocytes détectables par microscopie pendant plusieurs jours après la primaquine mais ces gamétocytes n'étaient pas infectants pour les moustiques [57]. Nos résultats appuient l'idée que les tests actuellement disponibles pour évaluer la densité des gamétocytes ne peuvent pas être utilisés pour estimer l'infectivité après le traitement.

Les discordances entre la densité des gamétocytes et l'infectivité peuvent être expliquées par la mesure préférentielle des gamétocytes femelles. Les anticorps Pfs25 ARNm, utilisés pour mesurer les gamétocytes dans cette étude sont présents en des concentrations plus élevées chez les gamétocytes femelles [59] et ces anticorps Pfs25 ARNm peuvent être spécifiques des gamétocytes femelles [60]. Récemment, il a été émis l'hypothèse que la primaquine peut affecter de manière disproportionnée les gamétocytes mâles [60] et empêcher ainsi la transmission qui dépend de la présence à la fois de gamétocytes mâles et femelles.

La présente étude avait une taille d'échantillon relativement limitée. Cela reflète l'intensité des travaux d'expérimentation sur l'infectivité des moustiques qui sont essentiels pour tirer des conclusions sur les activités de réduction de la transmission [60, 61, 62]. Les recommandations

actuelles sur la faible dose unique de primaquine sont basées sur une analyse rétrospective de neuf études pour un total de 65 sujets qui ont reçu cette faible dose unique de Primaquine associée à une combinaison thérapeutique à base d'artémisinine [63]. Notre étude a fait plus que doubler les données disponibles sur le sujet et des observations faites sur 24 009 moustiques dans 284 expériences de membrane feeding indépendantes réalisées avant puis les jours 1, 2 et 7 après l'administration de la faible dose unique de PQ.

Bien que le feeding direct de moustiques sur la peau améliore l'infektivité par rapport au feeding indirecte à travers une membrane (membrane feeding) où les moustiques sont gorgés à travers un parafilm) [55], le feeding indirect permet un plus grand nombre de moustiques par expérience ce qui n'est quasiment pas possible par feeding directe. L'infektivité dans notre étude a été optimisée grâce à l'inclusion de porteurs de gamétocytes de grande densité qui sont hautement infectieux pour les moustiques [62] par rapport aux porteurs de gamétocytes de densité moyenne ou inférieures qui sont cependant beaucoup moins infectieux [64]. Il est généralement observé qu'une fraction de porteurs de gamétocytes ne soient pas infectieux pour les moustiques [11], dans notre étude 14/71 participants n'étaient pas infectieux pour les moustiques en prétraitement et 11/14 n'étaient pas infectieux pour les moustiques pendant la période de suivi de l'étude. En limitant nos analyses à des participants qui étaient infectieux en prétraitement (n=57), nous avons mesuré la réduction de la proportion de l'infektivité. Malgré la taille limitée de l'échantillon de cette analyse de sous-groupe qui montre l'efficacité de la dose de 0,125 mg/kg de primaquine, nous pensons que cette analyse de sous-groupe est puissante parce que le résultat est soutenu par des analyses secondaires des échantillons résultant de la proportion de moustiques infectées qui incluent les 71 sujets.

La transmission résiduelle après une faible dose unique de PQ est d'une importance particulière compte tenu de la possibilité d'une variation interindividuelle du métabolisme de la primaquine. Dans notre étude, nous avons fait un génotypage avec succès de 58% des participants pour le cytochrome P2D6 (CYP2D6). Ce faible taux de réussite est le résultat de la disponibilité de petits échantillons de sang qui ont été recueillis pour la détection des gamétocytes. Il y avait un seul participant qui a reçu la plus forte dose testée de PQ (0,5 mg/kg) qui restait encore infectieux, infectant un moustique le jour 7.

Cette étude a été faite chez des participants masculins non déficients en G6PD utilisant comme CTA la dihydroartémisinine+pipéraquine. Ainsi, nous sommes incapables de généraliser les résultats aux sujets déficients en G6PD et aux femmes. L'OMS recommande

actuellement l'utilisation de 0,25 mg/kg d'une faible dose unique de PQ sans tester au préalable le déficit en G6PD dans les zones de faible transmission ou les zones menacées par la résistance à l'artémisinine [16]. Cependant, la plupart des antipaludiques sont administrés en fonction des catégories d'âge en omettant la nécessité de peser les patients avant le traitement. Si une faible dose unique de PQ doit être administrée de façon étendue, des catégories similaires de dosage seront nécessaires tout en exigeant une gamme de dosage qui est à la fois sûre et efficace [65]. Définir une gamme de dose thérapeutique permettra d'apaiser les préoccupations de sécurité exprimées par les leaders des programmes de paludisme. A cet effet des données sont nécessaires pour définir le profil de risque de la faible dose unique de primaquine chez les populations vulnérables, notamment les individus déficitaires en G6PD, les petits enfants, ceux avec la malnutrition, l'anémie, le VIH, et/ou la tuberculose avec ou sans traitement pour ces maladies concomitantes. Le profil d'innocuité de ces populations peut soit être établi par des essais cliniques, ou être étudié grâce à la pharmacovigilance des programmes qui utilisent déjà la primaquine conformément aux recommandations de l'OMS [65, 66]. De mêmes des données de pharmacovigilance doivent recueillir des informations sur les résultats de natalité chez les femmes enceintes qui ont pris la primaquine avant qu'elles ne soient conscientes de leur grossesse [67, 65].

7. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS

7.1 Conclusions

La recommandation actuelle de l'OMS pour la prévention de la transmission de *P. falciparum* avec l'ajout d'une faible dose unique de primaquine de 0,25 mg/kg est soutenue par cette étude lorsqu'elle est utilisée en combinaison avec la dihydroartémisinine-pipéraquline.

Des analyses secondaires soutiennent la dose de 0,125 mg/kg comme étant efficace pour prévenir la transmission du paludisme à *P. falciparum* le jour 2 et suggèrent que le seuil inférieur de la faible dose unique de PQ peut être réduit.

Les doses uniques faibles de PQ en combinaison avec la dihydroartémisinine-pipéraquline étaient bien tolérées chez sujets de sexe masculin âgés de 5 à 49 ans.

7.2 Recommandations

Au terme de cette étude nous formulons les recommandations suivantes:

Aux chercheurs et aux autorités sanitaires

- De conduire des études pour déterminer la dose maximale unique bien tolérée de primaquine chez les sujets déficitaires en G6PD et les chez les femmes enceintes particulièrement en Afrique subsaharienne.
- D'évaluer le rôle de la primaquine associée à la CPS

Aux firmes pharmaceutiques

- D'améliorer la présentation de primaquine pour son utilisation en traitement de masse y compris chez les enfants.

8. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1 **WHO (2013).** World Malaria Report 2013
- 2 **PNLP-Mali.** Enquête sur la prévalence de l'Anémie et de la Parasitémie palustre chez les enfants (EA&P) au Mali, 2010.
- 3 **EDSM-V,** Enquête Démographique et de Santé du Mali (EDSM V) 2012-2013.
- 4 **Doumbo. O, Sangaré. O, Touré. Y.** Paludisme dans le Sahel : exemple du Mali. *Mal. Trop. Transm.* , Ed. AUPELF- UREF.2002-2003 12.
- 5 **Koita O., 1988** Contribution a l'étude de la transmission du paludisme le long du tronçon de la Route Transsaharienne au Mali. Thèse de Pharmacie, Ecole Nationale de Médecine et de Pharmacie Bamako, Mali.
- 6 **Toure Y.T.** Génétique, écologie et capacité vectorielle des membres du complexe anophèle gambiae sl au Mali. Thèse es-science Aix-Marseille III, 1985.
- 7 **Rutledge L.C, Ward R.A and Could D.J. -** Studies on the feeding response of mosquitoes to nutritive solutions in a new membrane feeder. *Mosq. News*, 1964, 24: 407-419.
- 8 **WHO (2012).** Evidence Review Group on the Safety and Efficacy of Gametocytocidal Doses of Primaquine for *Plasmodium falciparum* malaria. 2012.
- 9 **Cotter C, Sturrock HJ, Hsiang MS, et al.** The changing epidemiology of malaria elimination: new strategies for new challenges. *Lancet* 2013; 382(9895): 900-11.

- 10 Okell LC, Bousema T, Griffin JT, Ouedraogo AL, Ghani AC, Drakeley CJ.** Factors determining the occurrence of submicroscopic malaria infections and their relevance for control. *Nature communications* 2012; 3: 1237.
- 11 Bousema T, Drakeley C.** Epidemiology and infectivity of *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* gametocytes in relation to malaria control and elimination. *Clin MicrobiolRev* 2011; 24(2): 377-410.
- 12 Cappellini MD, Fiorelli G.** Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Lancet* 2008; 371: 64-74.
- 13 White NJ.** Primaquine to prevent transmission of falciparum malaria. *Lancet* 2013; 13: 175-81.
- 14 Howes RE, Battle KE, Satyagraha AW, Baird JK, Hay SI.** G6PD deficiency: global distribution, genetic variants and primaquine therapy. *AdvParasitol* 2013; 81: 133-201.
- 15 Guindo A, Traore K, Diakité S, Wellems TE, Doumbo OK, Diallo DA.** An evaluation of concurrent G6PD (A-) deficiency and sickle cell trait in Malian Populations of children with severe or uncomplicated *P. faciparum* malaria. *Am J Hematol* 2011.
- 16 White NJ, Qiao LG, Qi G, Luzzatto L.** Rationale for recommending a lower dose of primaquine as a *Plasmodium falciparum*gametocytocide in populations where G6PD deficiency is common. *Malar J.* 2012;11:418.
- 17 Bronner U, Divis PC, Farnet A, Singh B.** Swedish traveler with *Plasmodium Knowlesi* malaria after visiting Malaysian Borneo. *Malar J.* 2009 janv 16, 8:15.
- 18 WHO (2008)** world malaria report 2008. Geneva: World Health Organization
- 19 WHO (2011).** World Malaria Report 2011. Geneva: World Health Organization.

- 20 Dicko A, Sagara I, Diemert D, Sogoba M, Niambele MB, Dao A, Dolo G, Yalcouye D, Diallo DA, Saul A, Miller LH, Toure YT, Klion AD, Doumbo OK.** 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; 77:1028-1033.
- 21 Doumbo O. (1992).** Epidémiologie du paludisme au Mali : étude de la chloroquinorésistance, essai de stratégie de contrôle basée sur l'utilisation des rideaux imprégnés de perméthrine associée au traitement systématique des accès fébriles. Thèse de doctorat sciences biologiques (parasitologie, Pathologie, Ecologie), Montpellier II ; France, 1992.
- 22 Doumbo. O, Sangaré. O, Touré. Y.** Paludisme dans le Sahel : exemple du Mali. *Mal. Trop. Transm.* , Ed. AUPELF- UREF.2002-2003 12.
- 23 Touré Y.T ; Petrarca.V ; Traoré S.F ; Coulibaly A ; Maïga H.M ; Sankaré O ; Sow M ; Di Deco M.A et Coluzzi M. (1994) :** Ecological genetic studies in the chromosomal form of *Anopheles gambiae* s.s. in Mali, west Africa. *Genetica* 94:213-223.
- 24 Traoré S.F. (1989) :** Etude du comportement et de la contribution à la transmission du palu des membres du complexe *Anophèles gambiae* à Banambani. Thèse de Doctorat ISFRA-Bamako.
- 25 Dao A., (2005) :** Etude comparative des paramètres entomologiques de la transmission du paludisme dans différents villages de la préfecture de Kati en zone de Savane Soudanienne au Mali.
- 26 Encyclopédie médico-chirurgicale Tome 48-507-A-10.** Cycle évolutif du *Plasmodium*.
- 27 WHO (2010).** Guidelines for the treatment of malaria, Second edition. Geneva: World Health Organization

- 28 Pierre A.** Diplôme de Médecine Tropicale des Pays de l'Océan Indien. Paludisme. Actualités 2004. Mise à jour le 21/09/2004.
- 29 Menéndez et al. (2010).** Malaria Prevention with IPTp during pregnancy reduces neonatal mortality. Public Library of Science PLoS ONE. 2010 Feb 26;5(2):e9438.
- 30 Sicuri E. et al.(2010).** Cost-effectiveness of intermittent preventive treatment of malaria in pregnancy in southern Mozambique. Public Library of Science PLoS ONE. 2010 Oct 15;5(10):e13407.
- 31 Elele TP. et al.(2012).** Malaria prevention in pregnancy, birth weight, and neonatal mortality: a meta-analysis of 32 national cross-sectional datasets in Africa. The Lancet Infectious Diseases. 2012 Dec; 12(12):942-49.
- 32 Konaté AT, Yaro JB, Ouédraogo AZ, Diarra A, Gansané A, Soulama I, Kangoyé DT, Kaboré Y, Ouédraogo E, Ouédraogo A, Tiono AB, Ouédraogo IN, Chandramohan D, Cousens S, Milligan PJ, Sirima SB, Greenwood B, Diallo DA.** Intermittent preventive treatment of malaria provides substantial protection against malaria in children already protected by an insecticide-treated bednet in Burkina Faso: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. PLoS Medicine 2011; 8: e1000408.
- 33 Dicko A, Diallo AI, Tembine I, Dicko Y, Dara N, Sidibe Y, Santara G, Diawara H, Conaré T, Djimde A, Chandramohan D, Cousens S, Milligan PJ, Diallo DA, Doumbo OK, Greenwood B.** Intermittent preventive treatment of malaria provides substantial protection against malaria in children already protected by an insecticide-treated bednet in Mali: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. PLoS Medicine 2011; 8: e1000407.
- 34 Cissé B, Sokhna C, Boulanger D, Milet J, Bâ EH, Richardson K, Hallett R, Sutherland C, Simondon K, Simondon F, Alexander N, Gaye O, Targett G, Lines J, Greenwood B, Trape JF.** Seasonal intermittent preventive treatment

with artesunate and sulfadoxine-pyrimethamine for prevention of malaria in Senegalese children: a randomized, placebo-controlled, double-blind trial. *Lancet* 2006; 367:659-67.

- 35 **Foley M. & Tilley, L. 1998.** Quinoline antimalarials: mechanisms of action and resistance and prospects for new agents. *Pharmacology & therapeutics*, 79, 55-87.
- 36 **Circulaire 06-1774** Retrait de la chloroquine. Téléchargé le 20/11/2014
- 37 **White, N. J. 2007a.** Cardiotoxicity of antimalarial drugs. *Lancet Infect Dis*, 7:549-58.
- 38 **Esimone, C. O., Adikwu, M. U., Nwafor, S. V., Okoli, C. O., Ndu, O. O. & Nwoke, O. I. 2002.** In vitro antimicrobial interactions of arthemeter with some 4-quinolones. *Bull Chim Farm*, 141, 385-8.
- 39 **Berkley J., Mwarumba, S., Bramham, K., Lowe, B. & Marsh, K. 1999.** Bacteraemia complicating severe malaria in children. *Trans R Soc Trop MeHyg*, 93, 283-6.
- 40 **Akinyemi, K. O., Bamiro, B. S. & Coker, A. O. 2007.** Salmonellosis in Lagos, Nigeria: incidence of *Plasmodium falciparum*-associated co-infection, patterns of antimicrobial resistance, and emergence of reduced susceptibility to fluoroquinolones. *J Health Popul Nutr*, 25, 351-8.
- 41 **Colwell, E. J., Hickman, R. L. & Kosakal, S. 1972.** Tetracycline treatment of chloroquine-resistant falciparum malaria in Thailand. *JAMA*, 220, 684-6.
- 42 **Taylor W.R. & White, N. J. 2004a.** Antimalarial drug toxicity: a review. *Drug Saf*, 27, 25-61.
- 43 **Ward, S. A., Sevene, E. J., Hastings, I. M., Nosten, F. & McGready, R. 2007.** Antimalarial drugs and pregnancy: safety, pharmacokinetics, and pharmacovigilance. *Lancet Infect Dis*, 7, 136-44.

- 44 Sutherland C.J., Ord, R., Dunyo, S., Jawara, M., Drakeley, C. J., Alexander, N., Coleman, R., Pinder, M., Walraven, G. & Targett, G. A. 2005.** Reduction of malaria transmission to Anopheles mosquitoes with a six-dose regimen of co-artemether. *PLoS Med*, 2, e92.
- 45 Woodrow C. J., Haynes, R. K. & Krishna, S. 2005.** Artemisinins. *Postgrad Med J*, 81, 71-8.
- 46 Hasugian, A. R., Purba, H. L., Kenangalem, E., Wuwung, R. M., Ebsworth, E. P., Maristela, R., Penttinen, P. M., Laihad, F., Anstey, N. M., Tjitra, E. & Price, R. N. 2007.** Dihydroartemisinin-piperaquine versus artesunate-amodiaquine: superior efficacy and posttreatment prophylaxis against multidrug-resistant *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* malaria. *Clin Infect Dis*, 44, 1067-74.
- 47 Smithuis, F., Kyaw, M. K., Phe, O., Aye, K. Z., Htet, L., Barends, M., Lindegardh, N., Singtoroj, T., Ashley, E., Lwin, S., Stepniewska, K. & White, N. J. 2006.** Efficacy and effectiveness of dihydroartemisinin-piperaquine versus artesunate-mefloquine in falciparum malaria: an open-label randomised comparison. *Lancet*, 367, 2075-85.
- 48 Chauvin V.** Université PARIS VAL-DE-MARNE, Faculté de Médecine de Créteil. Cure radicale de primaquine dans les accès de recrudescence à *plasmodium vivax* et *plasmodium ovale*. Thèse de médecine 2009.
- 49 Myat-Phone-Kyaw et al.** Emergence of chloroquine-resistant *Plasmodium vivax* in Myanmar (Burma). *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 1993, 87:687.
- 50 Marlar-Tham et al.** Development of resistance to chloroquine by *Plasmodium vivax* in Myanmar. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 1995, 89:307-308.

- 51 Ouedraogo AL, Guelbeogo WM, Cohuet A, Morlais I, King JG, Gonçalves BP et al.** A protocol for membrane feeding assays to determine the infectiousness of *P. falciparum* naturally infected individuals to *Anopheles gambiae*. *Malaria World Journal*. 2013(4):16.
- 52 Wampfler R, Mwingira F, Javati S, Robinson L, Betuela I, Siba P, et al.** Strategies for detection of *Plasmodium* species gametocytes. *PLoS One*. 2013;8(9):e76316.
- 53 Schneider P, Wolters L, Schoone G, Schallig H, Sillekens P, Hermsen R, et al.** Real-Time Nucleic Acid Sequence-Based Amplification Is More Convenient than Real-Time PCR for Quantification of *Plasmodium falciparum*. *J ClinMicrobio*. 2005; 43:402-5.
- 54 Myint, H. Y., Ashley, E. A., Day, N. P., Nosten, F. & White, N. J. 2007.** Efficacy and safety of dihydroartemisinin-piperaquine. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 101, 858-66.
- 55 Bousema T, Dinglasan RR, Morlais I, Gouagna LC, van Warmerdam T, Awono-Ambene PH, et al.** Mosquito feeding assays to determine the infectiousness of naturally infected *Plasmodium falciparum* gametocyte carriers. *PLoS One*. 2012; 7(8):e42821.
- 56 Sawa P, Shekalaghe SA, Drakeley CJ, Sutherland CJ, Mweresa CK, Baidjoe AY, et al.** Malaria transmission after artemether-lumefantrine and dihydroartemisinin-piperaquine: a randomized trial. *The Journal of infectious diseases*. 2013;207(11):1637-45.
- 57 White NJ.** Primaquine to prevent transmission of falciparum malaria. *Lancet* 2013; 13: 175-81.
- 58 Smithuis F, Kyaw MK, Phe O, Win T, Aung PP, Oo APP, et al.** Effectiveness of five artemisinin combination regimens with or without

primaquine in uncomplicated falciparum malaria: an open-label randomised trial. *Lancet Infectious Diseases*. 2010; 10 (10):673-81.

- 59 Schneider P, Reece SE, van Schaijk BC, Bousema T, Lanke KH, Meaden CS, et al.** Quantification of female and male *Plasmodium falciparum* gametocytes by reverse transcriptase quantitative PCR. *Mol Biochem Parasitol*. 2015;199(1-2):29-33.
- 60 Delves MJ, Ruecker A, Straschil U, Lelievre J, Marques S, Lopez-Barragan MJ, et al.** Male and Female *Plasmodium falciparum* Mature Gametocytes Show Different Responses to Antimalarial Drugs. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2013; 57(7):3268-74.
- 61 Bousema T, Churcher TS, Morlais I, Dinglasan RR.** Canfield-based mosquito feeding assays be used for evaluating transmission-blocking interventions? *Trends Parasitol*. 2013;29(2):53-9.
- 62 Bousema T, Okell L, Felger I, Drakeley C.** Asymptomatic malaria infections: detectability, transmissibility and public health relevance. *Nature reviews Microbiology*. 2014;12(12):833-40.
- 63 Sutanto I, Suprijanto S, Kosasih A, Dahlan MS, Syafruddin D, Kusriastuti R, et al.** The effect of primaquine on gametocyte development and clearance in the treatment of uncomplicated falciparum malaria with dihydroartemisinin-piperaquine in South Sumatra, Western Indonesia: an open-label, randomized, controlled trial. *Clin Infect Dis*. 2013;56(5):685-93.
- 64 El-Sayed B, El-Zaki SE, Babiker H, Gadalla N, Ageep T, Mansour F, et al.** A randomized open-label trial of artesunate- sulfadoxine-pyrimethamine with or without primaquine for elimination of sub-microscopic *P. falciparum* parasitaemia and gametocyte carriage in eastern Sudan. *PLoS One*. 2007; 2(12):e1311.

- 65 Chen I, Poirot E, Newman M, Kandula D, Shah R, Hwang J, et al.** An assessment of the supply, programmatic use, and regulatory issues of single low-dose primaquine as a *Plasmodium falciparum* gametocytocide for sub-Saharan Africa. *Malar J.* 2015; 14(1):204.
- 66 De Martin S, von Seidlein L, Deen JL, Pinder M, Walraven G, Greenwood B.** Community perceptions of a mass administration of an antimalarial drug combination in The Gambia. *Trop Med Int Health.* 2001;6(6):442-8.
- 67 Chen I, Gosling RD.** Targeting *Plasmodium falciparum* with primaquine: same efficacy, improved safety with a lower dose? *Expert Rev Clin Pharm.* 2014;7(6):681-6.
- 68 WHO (2012)** Evidence Review Group: Intermittent Preventive Treatment of malaria in pregnancy (IPTp) with Sulfadoxine-Pyrimethamine (SP). WHO Headquarters, Geneva, 9-11 July 2012. Meeting report. Geneva, World Health Organization, 2012.

9. ANNEXES

FICHE SIGNALÉTIQUE

Nom complet: Koualy SANOGO

Nationalité: Malienne

Anne académique: 2014-2015

Directeur de thèse: Prof. Alassane DICKO

Date de soutenance: 14/12/2015

Email: skoualy@gmail.com

Titre: Tolérance efficacité de la primaquine à faible dose unique sur *P. falciparum* chez les enfants et les adultes de sexe masculin non déficitaires en G6PD à Ouélessébougou au Mali.

Secteur d'intérêt: Sante Publique, Epidémiologie, Parasitologie

Lieu de dépôt: Bibliothèque de la Faculté de Médecine et d'Odonto-Stomatologie(FMOS)

RESUME

Contexte: Une faible dose unique de primaquine associée à une combinaison thérapeutique à base d'artémisinine, peut radicalement empêcher la transmission du *P. falciparum* aux moustiques. Nous avons déterminé la tolérance et l'efficacité de quatre faibles doses uniques de primaquine combinées avec la dihydroartémisinine-pipéraquine (DP).

Méthodes: Nous avons mené une étude randomisée, contrôlée ouverte de phase 2 à dose adaptative d'une faible dose unique de primaquine chez des participants de sexe masculin non déficitaires en G6PD et infectés par le paludisme à *P. falciparum* non compliqué. Des porteurs de gamétocytes de *P. falciparum* détectés positifs à la microscopie ont été traités avec la DP et alloués aux groupes 0,5mg, 0,25mg, 0,125mg, 0,0625mg et 0 mg (contrôle)/kg de primaquine. Le critère principal d'efficacité était la variation moyenne en pourcentage de l'infectivité pour les moustiques le jour 2 après le traitement de primaquine. L'infectivité pour les moustiques a été évaluée au moyen d'expériences de "membranes feeding"; la prévalence et la densité des gamétocytes et des formes asexuées ont été quantifiées par microscopie et par PCR. La variation du taux d'hémoglobine et l'incidence des événements indésirables au cours des 28 jours de suivi ont été évalués comme critère de tolérance.

Résultats: Nous avons recruté 81 participants entre le 19 Janvier 2013 et le 20 Décembre 2014. Comparativement au groupe témoin, dans l'ensemble nous avons trouvé des fortes réductions statistiquement significatives de l'infectivité pour les moustiques deux jours après le traitement avec 0,25 mg/kg de primaquine (93% (IC 95% = 78%, 100%), $p < 0,01$) et 0,5 mg/kg de primaquine (75% (IC à 95% = 46%, 100%); $p = 0,01$). Parmi le sous-groupe de participants qui ont infecté des moustiques en prétraitement, les doses de primaquine de 0,125, 0,25 et 0,5 mg/kg ont entraîné respectivement des réductions importantes de l'infectivité de 95% (IC à 95%: 87 à 100%, $P < 0,04$), 99 % (IC 95%: 98-100%, $p < 0,01$) et 88% (IC 95%: 60-100%, $p = 0,03$). La présence de gamétocytes par PCR persistaient dans tous les groupes jusqu'à Jour 14 et dans tous les groupes jusqu'au jour 28 sauf dans le groupe qui a reçu la dose 0,5 mg/kg de PQ. La densité des gamétocytes par PCR était fortement associée à des taux d'infection des moustiques en prétraitement ($r = 0,56$, $p < 0,0001$), mais pas en post-traitement ($p \geq 0,16$). Il n'y avait pas de baisses statistiquement significatives du taux d'hémoglobine dans aucun groupe de traitement au cours du suivi. L'incidence des événements indésirables survenus était comparable chez les sujets qui ont reçu la primaquine et ceux du groupe contrôle ($p = 0,48$). Il n'y a pas eu d'événement indésirable grave dans aucun des groupes de traitement.

Conclusions: Une dose unique de PQ aussi faible que 0,125 m/kg, administrée en association avec la DP, semble être sûre et efficace pour prévenir la transmission du paludisme à *P. falciparum* dans les populations non déficitaires en G6PD.

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

MSDS

Full Name: Koualy SANOGO

Nationality: Mali

Academic year: 2014-2015

Area: Public Health, Epidemiology, Parasitology.

Defense date: 14 / 12 /2015

Advisor: Prof. Alassane DICKO.

Tel: +223 63600563

Email: skoualy@gmail.com

Title: Efficacy and safety of primaquine single low dose *P. falciparum* in subjects without G6PD deficiency in Ouélessébougou, Mali.

Filing location: Library of the Faculty of Medicine and Dentistry (FMOS)

Abstract

Background: Single low dose primaquine, when added to artemisinin combination therapy (ACT), may radically prevent *P. falciparum* malaria transmission to mosquitoes. We determined the safety and efficacy of four single-low doses of primaquine (SLD-PQ) combined with ACT.

Methods: We conducted a phase 2, randomized, blinded, controlled, dose-adaptive study of SLD-PQ among G6PD non-deficient males in Mali infected with uncomplicated *Plasmodium falciparum* malaria. Microscopy positive gametocyte carriers were treated with dihydroartemisinin-piperaquine (DP) and allocated 0.5, 0.25, 0.125, 0.0625 and 0 mg/kg (controls) primaquine. The primary efficacy outcome was the average within-person percent change in mosquito infectivity 2 days following primaquine treatment. Mosquito infectivity was assessed through membrane-feeding assays; gametocyte carriage was assessed by mRNA quantitative reverse transcriptase PCR (qRT-PCR) and by microscopy. The hemoglobin concentration and incidence of adverse events during 28 days of study follow-up were measured as safety endpoints.

Results: We enrolled 81 participants between 19 January 2013 and 20 December 2014. Compared to controls, overall we found large and statistically significant reductions in mosquito infectivity 2 days following treatment with 0.25 mg/kg primaquine (93% (95%CI= 78%, 100%), $P<0.01$) and 0.5 mg/kg primaquine (75% (95%CI=46%, 100%); $P=0.01$). Among the subgroup of participants that infected mosquitoes pre-treatment, primaquine doses of 0.125, 0.25 and 0.5 mg/kg resulted in large and significant reductions in infectivity of 95% (95%CI: 87-100%, $P<0.04$), 99% (95%CI: 98-100%, $P<0.01$) and 88% (95%CI: 60-100%, $P=0.03$), respectively. Gametocyte persisted in all the groups until day 14 and all but the group who received the 0.5 mg/kg on day 28. Gametocyte density by Pfs25 qRT-PCR was strongly associated with mosquito infection rates pre-treatment ($r= 0.56$, $P<0.0001$) but not post-treatment ($P\geq 0.16$). There were no meaningful or statistically significant drops in hemoglobin in any group during follow-up. AE occurrence was not associated with treatment group ($P=0.48$). No serious AE occurs in any of the treatment group.

Conclusions: SLD-PQ at doses as low as 0.125 mg/kg, given in conjunction with DP, appears to be efficacious for the prevention of *P. falciparum* malaria transmission in G6PD non-deficient populations. All the doses tested were safe in G6PD non-deficient children and adults.

Keywords: Primaquine, *P. falciparum*, G6PD deficiency, infectivity, safety, Mali

SERMENT D'HIPPOCRATE

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

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

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

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

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

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

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

JE LE JURE.