

Ministère de l'Enseignement et de la
Recherche Scientifique



REPUBLIQUE DU MALI
Un Peuple- Un But- Une Foi



UNIVERSITE DES SCIENCES, DES TECHNIQUES ET DES
TECHNOLOGIES DE BAMAKO

Faculté de Pharmacie

FAPH

Année universitaire : 2018 - 2019

Thèse N° :/....

THESE

**Etude préliminaire de l'évaluation *ex-vivo* de
l'activité antipaludique de l'extrait de *Cassia
nigricans* sur les souches sauvages de *Plasmodium
falciparum***

Présentée et soutenue publiquement le /..... / 2019
Devant la Faculté de Pharmacie par

M^{lle}. Aminata Yéréma DIALLO

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

JURY

Président : **Pr Mouctar DIALLO**

Membres : **Mr Sékou BOUARE**

Mr Ibrahim KEITA

Co-directeur : **Pr Nah TRAORE**

Directeur : **Pr. Ousmane KOITA**

LISTE DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTE DE PHARMACIE

➤ ADMINISTRATION

Doyen : Boubacar TRAORE, Professeur

Vice-doyen : Ababacar I. MAIGA, Professeur

Secrétaire principal : Seydou COULIBALY, Administrateur civil

Agent comptable : Famalé DIONSAN, Inspecteur des finances.

➤ PROFESSEURS HONORAIRES

N	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Boubacar Sidiki	CISSE	Toxicologie
2	Mahamadou	CISSE	Biologie
3	Daouda	DIALLO	Chimie générale et minérale
4	Souleymane	DIALLO	Bactériologie - Virologie
5	Kaourou	DOUCOURE	Physiologie
6	Boukassoum	HAIDARA	Législation
7	Moussa	HARAMA	Chimie Organique (décédé)
8	Gaoussou	KANOUTE	Chimie Analytique
9	Alou A.	KEITA	Galénique
10	Mamadou	KONE	Physiologie
11	Mamadou	KOUMARE	Pharmacognosie
12	Bréhima	KOUMARE	Bactériologie et Virologie
13	Abdourahamane S.	MAIGA	Parasitologie
14	Elimane	MARIKO	Pharmacologie
15	Ousmane	Doumbia	Chimie Thérapeutique

➤ DER : SCIENCES BIOLOGIQUES ET MEDICALES

1. PROFESSEURS / DIRECTEURS DE RECHERCHE

NO	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Mounirou	BABY	Hématologie
2	Bakary Mamadou	CISSE	Biochimie
3	Abdoulaye	DABO	Biologie /Parasitologie
4	Alassane	DICKO	Santé Publique
5	Amagana	DOLO	Parasitologie-Mycologie
6	Ousmane	KOITA	Biologie-Moléculaire
7	Boubacar	TRAORE	Parasitologie – Mycologie
8	Mahamadou	DIAKITE	Immunologie-Génétique
9	Akory Ag	IKNANE	Santé Publique-Nutrition

2. MAITRES DE CONFERENCE/MAITRE DE RECHERCHE

NO	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Flabou	BOUGOUDOOGO	Bactériologie-Virologie
2	Abdoulaye	DJIMDE	Parasitologie - Mycologie
3	Bourèma	KOURIBA	Immunologie chef de DER
4	Ousmane	TOURE	Santé Publiq/Santé Environnem
5	Kassoum	KAYENTAO	Santé Publique Bio statistiques
6	Issiaka	SAGARA	Santé Publique Bio statistiques
7	Mahamadou Soumana	SISSOKO	Santé Publique Bio statistiques

3. MAITRES ASSISTANTS/CHARGE DE RECHERCHE

NO	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Mohamed	AG BARAIKA	Bactériologie-Virologie
2	Charles	ARAMA	Immunologie
3	Boubacar Tiétiè	BISSAN	Biologie clinique
4	Seydou Sassou	COULIBALY	Biochime Clinique
5	Djénéba Koumba	DABITAO	Biologie Moléculaire
6	Laurent	DEMBELE	Biotechnologie Microbienne
7	Klétigui Casimir	DEMBELE	Biochimie Clinique
8	Seydina S.A.	DIAKITE	Immunologie
9	Yaya	GOITA	Biochimie Clinique
10	Aldjouma	GUINDO	Hématologie
11	Ibrahima	GUINDO	Bactériologie-Virologie
12	Aminatou	KONE	Biologie Moléculaire
13	BiramaApho	LY	Santé Publique
14	Dinkorma	OUOLOGUEM	Biologie Cellulaire
15	Samba Adama	SANGARE	Bactériologie
16	Fanta	SANGHO	Santé Publique

4. ASSISTANTS/ATTACHE DE RECHERCHE

NO	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Djénéba	COULIBALY	Nutrition/Diététique
2	Djibril Mamadou	COULIBALY	Biochimie Clinique
3	Souleymane	DAMA	Parasitologie Entomologie méd.
4	Issa	DIARRA	Immunologie
5	Mamadou Lamine	DIARRA	Botanique – Biologie végétale
6	Fatou	DIAWARA	Epidémiologie
7	Merepen dit Agnès	GUINDO	Immunologie
8	Oumar	GUINDO	Epidémiologie
9	Falaye	KEITA	Santé Publique/Santé Environ.
10	N'DeyeLallah Nina	KOITE	Nutrition
11	Yacouba	MAIGA	Bio statistique
12	Amadou Birama	NIANGALY	Parasitologie-Mycologie
13	Oumar	SANGHO	Epidémiologie

14 | Djakaridia | TRAORE | Hématologie

➤ **DER : SCIENCES PHARMACEUTIQUES**

1. PROFESSEURS/DIRECTEUR DE RECHERCHE

NO	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Drissa	DIALLO	Pharmacognosie
2	Saïbou	MAIGA	Législation
3	Rokia	SANOGO	Pharmacognosie Chef de DER

2. MAITRES DE CONFERENCES/MAITRES DE RECHERCHE

NO	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
-	Néant	-	-

3. MAITRES ASSISTANTS/CHARGE DE RECHERCHE

NO	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Loséni	BENGALY	Pharmacie Hospitalière
2	Bakary Moussa	CISSE	Galénique
3	Yaya	COULIBALY	Législation
4	Issa	COULIBALY	Gestion
5	Balla Fatogoma	COULIBALY	Pharmacie Hospitalière
6	Hamma Boubacar	MAIGA	Galénique
7	Moussa	SANOGO	Gestion
8	Adiaratou	TOGOLA	Pharmacognosie

4. ASSISTANTS/ATTACHE DE RECHERCHE

NO	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Seydou Lahaye	COULIBALY	Gestion Pharmaceutique
2	Antoine	DARA	Sciences Pharmaceutiques
3	Daouda Lassine	DEMBELE	Pharmacognosie
4	Adama	DENOU	Pharmacognosie
5	Sékou	DOUMBIA	Pharmacognosie
6	Mahamane	HAIDARA	Pharmacognosie
7	Assitan	KALOGA	Législation
8	Ahmed	MAIGA	Législation
9	Aichata Ben Adam	MARIKO	Galénique
10	Aboubacar	SANGHO	Législation
11	Bourama	TRAORE	Législation
12	Karim	TRAORE	Sciences Pharmaceutiques

13	Sylvestre	TRAORE	Gestion Pharmaceutique
14	Aminata Tièba	TRAORE	Pharmacie Hospitalière
15	Mohamed dit Sarmoye	TRAORE	Pharmacie Hospitalière

DER : SCIENCES DU MEDICAMENT

1. PROFESSEURS/DIRECTEUR DE RECHERCHE

<i>NO</i>	<i>PRENOMS</i>	<i>NOM</i>	<i>SPECIALITE</i>
1	Bénoit Yaranga	KOUMARE	Chimie Analytique
2	Ababacar I.	MAIGA	Toxicologie

2. MAITRES DE CONFERENCE/MAITRE DE RECHERCHE

<i>NO</i>	<i>PRENOMS</i>	<i>NOM</i>	<i>SPECIALITE</i>
1	Sékou	BAH	Pharmacologie Chef de DER

3. MAITRES ASSISTANTS/CHARGE DE RECHERCHE

<i>NO</i>	<i>PRENOMS</i>	<i>NOM</i>	<i>SPECIALITE</i>
1	Dominique Patomo	ARAMA	Pharmacie Chimique
2	Mody	CISSE	Chimie Thérapeutique
3	Tidiane	DIALLO	Toxicologie
4	Hamadoun Abba	TOURE	Bromatologie
5	Ousmane	DEMBELE	Chimie Thérapeutique

4. ASSISTANTS/ATTACHE DE RECHERCHE

<i>NO</i>	<i>PRENOMS</i>	<i>NOM</i>	<i>SPECIALITE</i>
1	Mahamadou	BALLO	Pharmacologie
2	Dalaye Bernadette	COULIBALY	Chimie Analytique
3	Blaise	DACKOOU	Chimie Analytique
4	Fatoumata	DAOU	Pharmacologie
5	Abdourahamane	DIARA	Toxicologie
6	Aiguerou dit Abdoulaye	GUINDO	Pharmacologie
7	Madani	MARIKO	Chimie Analytique
8	Mohamed El Béchir	NACO	Chimie Analytique
9	Mahamadou	TANDIA	Chimie Analytique
10	Dougoutigui	TANGARA	Chimie Analytique

➤ **DER : SCIENCES FONDAMENTALES**

1. PROFESSEURS/DIRECTEUR DE RECHERCHE

<i>NO</i>	<i>PRENOMS</i>	<i>NOM</i>	<i>SPECIALITE</i>
1	Mouctar	DIALLO	Biologie Chef de DER
2	Cheick F.	TRAORE	Biologie / Entomologie
3	Mahamadou	TRAORE	Génétique

2. MAITRES DE CONFERENCES/MAITRE DE RECHERCHE

<i>NO</i>	<i>PRENOMS</i>	<i>NOM</i>	<i>SPECIALITE</i>
1	Lassana	DOUMBIA	Chimie Appliquée

3. MAITRES ASSISTANTS/CARGE DE RECHERCHE

<i>NO</i>	<i>PRENOMS</i>	<i>NOM</i>	<i>SPECIALITE</i>
1	Abdoulaye	KANTE	Anatomie
2	Boureïma	KELLY	Physiologie Médicale

4. ASSISTANTS/ATTACHE DE RECHERCHE

<i>NO</i>	<i>PRENOMS</i>	<i>NOM</i>	<i>SPECIALITE</i>
1	Seydou Simbo	DIAKITE	Chimie Organique
2	Modibo	DIALLO	Génétique
3	Moussa	KONE	Chimie Organique
4	Massiriba	KONE	Biologie Entomologie
5	Mamadou Lamine	DIARRA	Botanique-Biologie Vegetale

➤ **CHARGES DE COURS (VACATAIRES)**

<i>NO</i>	<i>PRENOMS</i>	<i>NOM</i>	<i>SPECIALITE</i>
1	Cheick Oumar	BAGAYOKO	Informatique
2	Babou	BAH	Anatomie
3	Abdourahamane	COULIBALY	Anthropologie Médicale
4	Souleymane	COULIBALY	Psychologie
5	Bouba	DIARRA	Bactériologie
6	Modibo	DIARRA	Nutrition
7	Moussa I.	DIARRA	Biophysique
8	Babacar	DIOP	Chimie
9	Atimé	DJIMDE	Bromatologie
10	Yaya	KANE	Galénique
11	Boubacar	KANTE	Galénique
12	Aboubakary	MAIGA	Chimie Organique
13	Massambou	SACKO	SCMP/SIM
14	Modibo	SANGARE	Anglais

15	Sidi Boula	SISSOKO	Histologie-Embryologie
16	Fatoumata	SOKONA	Hygiène du Milieu
17	Fana	TANGARA	Maths
18	Abdel Kader	TRAORE	Pathologies Médicales
19	Boubacar	ZIBEIROU	Physique
20	Djénébou	TRAORE	Sémiologie et Pathologies médicales



**DEDICACES &
REMERCIEMENTS**

DEDICACES

Je remercie le Tout Puissant, le Tout Miséricordieux, le Très Miséricordieux de m'avoir donné le courage, la santé, l'entrain pour accomplir se travail et surmonter les difficultés rencontrées tout le long de mon cursus scolaire.

Je dédie cette thèse

A mon père qui s'est donné corps et âme pour que je suive une formation de qualité dans les conditions adéquates.

A ma mère pour tous les conseils et le soutien indéfectible.

A mes frères et sœurs pour leur encouragement.

A mon mari pour toute son aide

A tout le reste de la famille (oncles, tantes, cousins...)

REMERCIEMENTS

Mes remerciements s'adressent :

Au Allah « soubhanal ahou wa taalla », le Tout Puissant, le Clément, le Très Miséricordieux et au Prophète Mohamed paix et salut sur lui !

A mon père, Abdoulaye Diallo

Je vous serais toujours reconnaissante pour les sacrifices consentis pour nous donner à mes sœurs et moi une éducation d'envergure et faire de nous des modèles. Vous êtes pour moi un exemple par votre rigueur, votre sens de l'honneur, votre persévérance, votre humilité, votre servitude, je ne saurais en dire assez. MERCI pour tout PAPA !!!

A ma mère, Maïmouna Berthé

Maman les mots me manquent pour vous gratifier. Vous avez toujours agi dans l'intérêt de vos enfants. Vous nous avez inculqué les valeurs humaines, le respect, la bonté, l'amour. Votre soutien indéfectible et vos bons conseils ne m'ont jamais manqué. Seul le Tout PUISSANT pourrait vous récompenser, qu'il vous accorde santé, bonheur et longévité !

A mes oncles, tantes et tout le reste de la famille : merci pour tout !

A mon frère et mes sœurs, Ousmane, Ramata, Aïssata, Khadīdiatou,

Votre soutien fraternel et vos encouragements ne m'ont jamais manqué !

A mon mari, Dr Sékou Traoré

Tu as été présent tout le long de cette épreuve. Ton soutien tant moral que physique et ton aide ont contribué à la réalisation de ce travail qui est aussi tien.

A Feu mon beau père Abdoulaye Traoré : que la terre lui soit légère.

A ma belle-famille, Mariam Sidibé et tous ces enfants.

A toute la 9^{ème} Promotion : que chacun puisse réaliser ses rêves

A toute les personnels de la LBMA : Ibrahim Traore, Ibrahim Keita, Yacouba Dansoko, Diariatou N'Diaye, Alice Dembélé, Henda Doucouré, Youssouf Diarra.



**HOMMAGES AUX
MEMBRES DU JURY**

HOMMAGES AUX MEMBRES DU JURY

A notre Maître et Président du jury

Professeur Mouctar DIALLO

- ✓ **PhD en Parasitologie Entomologie médicale,**
- ✓ **Professeur de Parasitologie/Mycologie a la FAPH,**
- ✓ **Responsable de l'Unité de Diagnostic Parasitaire au MRTC/FMPOS,**
- ✓ **Chef de D.E.R des Sciences Fondamentales de la FAPH,**

Président de l'association des biologistes techniciens de laboratoire du Mali

Permettez-nous de vous remercier pour l'honneur que vous nous faite en acceptant de présider le jury de notre thèse.

Nous avons admiré vos qualités scientifiques, pédagogiques et humaines tout le long de notre formation.

Votre simplicité et votre caractère scientifique élevé font de vous un maitre exemplaire.

A notre Maître et Juge

Dr Sékou BOUARE

- ✓ **Maitre de Conférences, Enseignant Chercheur à la Faculté des Sciences et Technique.**
- ✓ **Enseigne la Phytochimie et Thésard sur les huiles essentielles pour la spécialisation.**

Cher Maître,

Permettez-nous de vous adresser nos remerciements les plus sincères.

Vous nous aviez été accessible, du début de ce travail jusqu'à la fin.

Votre simplicité et votre ouverture au monde des apprenants vous procurent respect et considération.

Soyez-en félicité pour ce caractère !!!!

A notre Maître et Juge

Mr Ibrahim KEITA

- ✓ **Assistant en Biologie Moléculaire à la Faculté de Médecine de et d'Odonto stomatologie**
- ✓ **Chercheur au laboratoire de Biologie Moléculaire appliqué à la Faculté de Science et Technique**
- ✓ **Attaché de Recherche au LBMA**

C'est un grand honneur pour nous de vous avoir comme membre du jury de ce travail qui est aussi le vôtre malgré les lourdes tâches qui vous incombent. Nous sommes profondément marqués par votre personnalité et surtout votre disponibilité constante.

A notre Maître et Co-directeur de thèse de thèse

Pr Nah TRAORE

- ✓ **Maitre de conférences en Chimie Organique et Substances Naturelles**
- ✓ **Chef de département d'Etude et de Recherche de Chimie FST**
- ✓ **Chef du Laboratoire de Chimie à la Faculté des Sciences et Technique**

Cher maître

Vous nous avez acceptés et encadrés dans ce travail, malgré vos multiples occupations.

Vos qualités humaines et votre générosité font de vous une femme remarquable.

Nous avons également apprécié votre disponibilité et votre rigueur dans le travail bien fait.

Nous vous prions de recevoir ici cher maître, l'expression de notre profonde gratitude.

A notre Maître et Directeur de thèse

Professeur Ousmane KOITA

- ✓ **Pharmacien Biologiste ;**
- ✓ **Professeur en parasitologie moléculaire ;**
- ✓ **Responsable du Laboratoire de Biologie Moléculaire et Appliquée de la FAST.**

Cher Maître,

Nous avons été très séduits par votre conviction pour la recherche, vos cours de biologie animale à la faculté de Pharmacie, votre courage et surtout votre rigueur dans le travail.

Vous avez été toujours ouvert aux étudiants et vous nous avez toujours appris que « *pour un étudiant rien ne valait une formation de qualité* ».

Vous nous avez accueilli à bras ouvert au LBMA, nous initié dans la recherche et fini par diriger les activités de notre thèse, ce qui fait de ce travail, le vôtre !!!

Ce fut un honneur pour nous de vous avoir connu et intégré votre école.

C'est donc l'occasion pour nous de vous exprimer nos vives émotions et vous remercier pour tout.

Que LE TOUT PUISSANT vous accorde santé et longue vie.



SIGLES & ABREVIATIONS

SIGLES ET ABREVIATIONS

AQ.	: Amodiaquine
AS.	: Artesunate
AM.	: Artémisinine
CI	: Concentration Inhibitrice 50
CQ	: Chloroquine
CTA	: combinaison thérapeutique à base d'artémisinine
CYP2C19	: Cytochrome P450 2C19
CYP2D6	: Cytochrome P450 2D6
CYP3A4	: Cytochrome P450 3A4
DAPI	: 4, 6-Di-amidino-2-Phenyl-Indole
DHA	: Dihydroartémisinine
ELISA	: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
G6PD	: Glucose-6-Phosphate Deshydrogenase
Hb	: hémoglobine
HRP2	: Histidine Rich Protein 2
ICEMR	: International Center of Excellence for Malaria Research
IFI	: ImmunoFluorescence Indirecte
INRSP	: Institut National de Recherche en Santé Publique
JC	: Jésus Christ
LUM	: Luméfantrine
MFQ	: Méfloquine
MSP-1	: Merozoite Surface Protein-1
NIAID	: National Institute of Allergy and Infectious Diseases
NIH	: National Institutes of Health
OMS	: Organisation Mondiale de la Santé
Pan-LDH	: Malaria pan lactate dehydrogenase
PBS	: Phosphate Buffer Saline
PQ	: Pipéraquline
PCR	: Polymerase Chain Reaction
PCT	: Temps de clairance parasitaire
PYR	: Pyriméthamine
QBC	: Quantitative Buffy-coat
QN	: Quinine
RPMI	: Roswell Park Memorial Institute medium
TBE	: Tris Borate EDTA
TDR	: Test de Diagnostic Rapide



**TABLES DES
ILLUSTRATIONS**

Liste des tableaux :

Tableau I : Différentes dilutions	33
Tableau II : Distribution des différents traitements	36
Tableau III : Evolution de la densité parasitaire (p/μl) des souches de <i>P. falciparum</i> sur milieu RPMI	38
Tableau IV : Impact du Diméthyle sulfoxyde (DMSO) sur la culture.....	39
Tableau V : Impact du DMSO + Extrait de <i>Cassia nigricans</i>	39

Liste des figures :

Figure 1 : Répartition du paludisme dans le monde en 2000 et en 2016 (OMS 2017).....	5
Figure 2 : Cycle biologique des espèces plasmodiales chez l'homme et le moustique.....	10
Figure 3 : Mécanisme d'action des antipaludiques.....	14
Figure 4 : Structure chimique de la quinine	16
Figure 5 : Structure chimique de la Mefloquine.....	18
Figure 6 : Structure chimique de l'artémisinine	19
Figure 7 : Structure chimique de l'artéméther et l'artesunate	19
Figure 8 : Structure chimique de la luméfántrine	20
Figure 9 : Structure chimique de la primaquine	21
Figure 10 : Le <i>Cassia nigricans</i>	28
Figure 11 : Plaque de culture (Costar®, USA).....	36
Figure 12 : Incubateur à CO ₂ (VWR, Série 1001 502, Modèle 2325_2)	36
Figure 13 : Inhibition de la schizogonie par l'action de l'extrait de <i>Cassia nigricans</i>	37
Figure 14 : Milieu RPMI + Parasites.....	40
Figure 15 : Milieu RPMI + 0,1% DMSO + Parasites.....	41
Figure 16 : Milieu RPMI + 0,5% DMSO + Parasites + Extrait de <i>C. nigricans</i>	41



TABLES DES MATIERES

TABLE DES MATIERES

1	INTRODUCTION	1
2.	OBJECTIF	3
2.1	Objectif général	3
2.2	Objectifs spécifiques.....	3
3.	GENERALITE	4
3.1	Définition	4
3.2	Historique	4
3.3	Epidémiologie	4
3.5.3	Répartition géographique	5
3.5.4	Transmission	6
3.4	Biologie	7
3.4.1	Le vecteur	7
3.4.2	Agent pathogène.....	7
3.4.3	Les espèces plasmodiales humaines.....	8
3.4.4	Cycle de développement du <i>Plasmodium</i>	9
3.5	Diagnostic biologique	11
3.6.3	Diagnostic de présomption.....	11
3.6.4	Diagnostic parasitologique	11
3.6.5	Diagnostic immunologique	12
3.6.6	Les tests rapides de diagnostic : TDR	12
3.6.7	La Polymerase Chain Reaction (PCR)	13
3.6	Manifestation du paludisme	13
3.7.3	La forme "classique"	13
3.7.4	Accès pernicieux	13
3.7.5	Fièvre bilieuse hémoglobinurique.....	14
3.7.6	Rechute.....	14
3.7	Traitement du paludisme	14
3.7.1	Classification des antipaludiques	14
3.7.2	Politique de traitement	23
3.7.3	Prophylaxie.....	25
3.7.3	Etude ethnobotanique de <i>Cassia nigricans</i>	28
4.	METHODOLOGIE	31

5. RESULTATS	38
6. COMMENTAIRES ET DISCUSSION	43
6.1. Lieu d'étude.....	43
6.2. Méthodologie.....	43
6.3. Résultat.....	43
7. CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS	45
Conclusion.....	45
Recommandations.....	46
8. REFERENCE	47
ANNEXES	52
Serment de Galien.....	52



INTRODUCTION

1 INTRODUCTION

Le paludisme est une érythrocytopathie fébrile et hémolysante (maladie parasitaire) causée par un protozoaire du genre *Plasmodium*. Le parasite est transmis à l'homme par la piqûre de moustiques femelles infestés du genre Anopheles. En 2016 selon l'OMS, le paludisme est considéré endémique dans 91 pays et territoires. Il touche plus particulièrement l'Afrique subsaharienne où il demeure un problème majeur de santé publique avec 90% des cas et 92% de décès et touche en grande partie les femmes enceintes et les enfants de moins de 5 ans (1).

Il existe cinq (5) espèces de *Plasmodium* infectant l'homme *P. ovale*; *P. malariae*; *P. knowlesi*; *P. vivax* et *P. falciparum*. Ces deux (2) dernières sont responsables des formes graves du paludisme et sont à la base des multiples résistances (). La prise en charge du paludisme nécessite un traitement adéquat selon la gravité et la localité, cette prise en charge précoce permet de réduire la mortalité (). L'OMS recommande à cet effet des combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine (CTA) comme traitement de cas de paludisme simple (2).

Cependant, une résistance à l'artémisinine a été détectée en 2008 dans cinq pays de la région du grand Mékong (Cambodge, Myanmar, Viet Nam, Thaïlande, Province du Yunnan) (3). Cette résistance est définie par le temps de clairance parasitaire (TCP) retardée après traitement avec l'artésunate en monothérapie ou avec les combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine (CTA) (4). L'OMS recommande aux pays d'endémie palustre de procéder à un suivi régulier de l'efficacité des médicaments antipaludiques tous les 24 mois, au niveau des sites sentinelles afin de détecter des modifications de leur efficacité thérapeutique et de pouvoir choisir les combinaisons les plus adaptées dans les politiques thérapeutiques nationales (5).

Dans les pays en voie de développement, 80% de la population n'a pas accès aux soins modernes. Cependant, ces régions présentent une biodiversité importante avec beaucoup de plantes d'intérêt thérapeutique surtout que les meilleurs antipaludiques d'aujourd'hui (quinine, artémisinine et dérivés) sont d'origine végétale. Plusieurs études ont porté sur l'efficacité thérapeutique *in-vivo* et *ex-vivo* des plantes médicinales contre le paludisme (6,7) en utilisant des extraits aqueux, des extraits alcooliques et même souvent des principes actifs de ces plantes.

De nombreuses espèces végétales sont connues et sont actuellement à l'étude pour leurs propriétés antipaludéennes. En voici quelques exemples parmi la longue liste des plantes étudiées, qui présentent des résultats intéressants et qui pourraient être utilisées comme traitement alternatif ou complémentaire : *Senna siamea*, *Eurycoma longifolia*, *Senna occidentalis*, *Azadirachta indica*, *Carica papaya*, *Cochlospermum*, *Tinctorium*,

Geissospermum lavea, *Argemone mexicana*, *Tinospora crispa*, *Aristolochia trilobata*, *Cucurma longa*.

Ces plantes médicinales sont utilisées sous formes de décoction, infusion, macération, poudre etc, sous recommandations des tradithérapeutes en fonction des régions et des coutumes ainsi que la posologie et les différentes parties de la plante à utiliser (feuilles, racines, tronc).

Au Mali, Diarra et al 2016 ont recensé 52 espèces végétales utilisées dans le traitement traditionnel du paludisme avec une prédominance de la famille des Caesalpiniaceae, les Rubiaceae, les Combretaceae. Parmi ces plantes, les espèces comme *Lippia chevalieri*, *Spilanthus oleracea* et *Mitragyna inermis* ont fait l'objet d'évaluation dans les structures spécialisées au Mali et une grande partie reste encore à évaluer pour une meilleure prise en charge du paludisme telle que *Cassia nigricans* qui est riche en polyphénols, flavonoïdes, dérivés d'antraquinones (8). C'est dans ce cadre que notre étude s'intéresse aux propriétés antipaludiques de l'extrait de *Cassia nigricans* sur *Plasmodium falciparum*.



OBJECTIFS

2. OBJECTIF

2.1 Objectif général :

Evaluer l'activité antipaludique du *Cassia nigricans* sur les souches sauvages de *Plasmodium falciparum*.

2.2 Objectifs spécifiques :

- Déterminer l'effet du solvant sur la croissance des souches sauvages *P. falciparum* en culture sur milieu RPMI.
- Déterminer l'activité antipaludique de l'extrait de *C. nigricans* sur les souches sauvages *P. falciparum*.



GENERALITES

3. GENERALITE

3.1 Définition

Le paludisme est une érythrocytopathie provoqué par le développement dans les hématies d'un parasite hématozoaire du genre *Plasmodium* transmis à l'homme par la piqûre infestant de l'anophèle femelle.

Le paludisme est déterminé par un protozoaire appartenant au genre *Plasmodium*. Il existe de nombreuses espèces de *Plasmodium*, touchant diverses espèces animales mais seulement cinq d'entre elles sont retrouvées en pathologie humaine. Il s'agit de *P. falciparum*, *P. malariae*, *P. ovale*, *P. vivax* et *P. knowlesi* parasite habituel des singes primates d'Asie qui vient de passer récemment chez l'homme. Ces espèces diffèrent par des critères biologiques, cliniques, leur répartition géographique et par leur capacité à développer de résistances aux antipaludiques.

L'efficacité des antipaludiques est mesurée au moyen d'études d'efficacité thérapeutique. Les études de l'efficacité thérapeutique sont des évaluations prospectives des réponses cliniques et parasitologiques au traitement du paludisme sans complications en observation direct.

3.2 Historique

Apparue au 19^e siècle, le terme paludisme provient du latin palus qui signifie « marais ». Le paludisme ou malaria est une maladie infectieuse due à un parasite du genre « *Plasmodium* » découvert par Alphonse Laveran, prix Nobel de physiologie et de médecine en 1907, le 6 novembre 1880 à l'hôpital militaire de Constantine en Algérie. Il étudie le cycle de reproduction du protozoaire en examinant des échantillons de sang au microscope et observe que la division du pathogène coïncide avec les fièvres. Il le présente sous le nom d'*Oscillaria malariae* à l'Académie des sciences en 1881. Ronald Ross, médecin anglais, démontre en 1897 que les moustiques du genre *anophèles* étaient les vecteurs de la malaria.

Le paludisme affecte l'humanité depuis le début de l'histoire de notre espèce, la maladie sévissait en Europe, en Amérique du Nord, en Angleterre, en Italie, entraînant une très grande mortalité.

3.3 Epidémiologie

Entre 2010 et 2015, l'incidence du paludisme a reculé de 21% au niveau mondial, et le taux de mortalité a baissé de 29% (1).

Le paludisme est un problème majeur de santé publique. On estime qu'il y eu, en 2016, 216 millions des cas de paludisme dans 91 pays, soit 5 millions de cas de plus qu'en 2015. Le paludisme a entraîné 445 000 décès en 2016, un chiffre similaire à celui de l'année précédente (446 000) (1).

La région africaine de l'OMS supporte une part disproportionnée de la charge mondiale de cette maladie avec 90% des cas et 91% des décès survenus (9).

En Afrique subsaharienne où la transmission du paludisme est intense les enfants de moins de cinq (5) ans représentent la population à risque. Le nombre de décès enregistrés chez ces enfants est passé de 440 000 en 2010 à 285 000 en 2016 toutefois le paludisme demeure un facteur majeur de mortalité, un enfant en meurt toutes les deux minutes (9).

3.5.3 Répartition géographique

➤ Dans le monde

En 2016, près de la moitié de la population mondiale étaient exposée au risque de contracter le paludisme. Le paludisme est considéré endémique dans 91 pays et territoires contre 108 en 2000 (1). La plupart des cas et des décès dus à cette maladie surviennent en Afrique subsaharienne. Les régions OMS de l'Asie du Sud-Est, des Amériques et de la Méditerranée orientale sont également affectées (9).

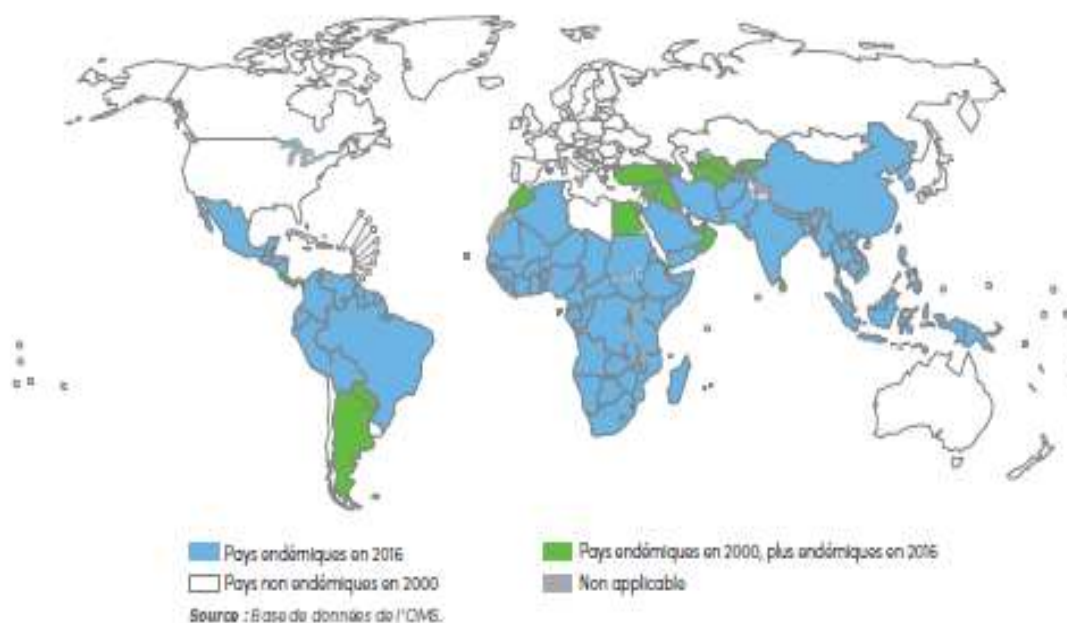


Figure 1 : Répartition du paludisme dans le monde en 2000 et en 2016 (1)

Le paludisme est la maladie parasitaire la plus répandue dans le monde. Il est au premier rang des priorités de l'OMS pour ses ravages et ses conséquences sociaux économiques.

La transmission du paludisme est élevée dans toute la zone intertropicale entre le 30° de latitude Nord et le 30° de latitude Sud :

- En Afrique intertropicale, dans tous les pays sauf le Lesotho : le paludisme est dû à *P. falciparum* et à *P. ovale*, ou plus rarement à *P. malariae* ;
- Dans l'Océan Indien : Madagascar, Archipel des Comores, Zanzibar,
- En Amérique latine, il y a une diminution globale des cas, sauf au Honduras, en Colombie, en Guyane française et au Surinam. Il y a une forte proportion d'infection à *P. vivax*,
- En Asie : dans tous les pays de l'Asie du sud-est, sauf à Brunei ; dans la plupart des centre-sud, en particulier Inde, Pakistan, Afghanistan, Bangladesh (9).

☞ **Au Mali**

La transmission du paludisme est endémique avec un pic saisonnier pendant la saison des pluies (Août-Novembre). Le paludisme est la première cause de consultation, d'hospitalisation et de mortalité dans les formations sanitaires (10).

3.5.4 Transmission

L'anophèle femelle injecte le parasite à l'homme, lors de son repas sanguin nécessaire à sa ponte, après avoir piqué un homme impaludé. La transmission du *Plasmodium* d'un homme à un autre se fait par l'intermédiaire du moustique. Il existe un seul cas de contamination interhumaine direct, c'est lorsqu'une femme enceinte infectée contamine son enfant par voie trans-placentaire.

La transmission nécessite des conditions climatiques, telles que le régime des précipitations, la température et l'humidité (température > 18° pour *P. falciparum*) et d'altitude (< 1500m en Afrique).

Il existe schématiquement cinq faciès épidémiologiques du paludisme en Afrique

- Le faciès équatorial dans la forêt et les savanes post-forestières : paludisme stable avec transmission pérenne et prémunition forte dès l'âge de 5 ans,
- Le faciès tropical dans les savanes humides : paludisme stable avec transmission saisonnière longue > 6 mois et une prémunition établie à 10 ans

- Le faciès sahélien des savanes sèches et des steppes : paludisme instable à transmission saisonnière courte < 6 mois, prémunition plus longue à établir liée à la régularité de la transmission,
- Le paludisme austral des plateaux du sud de l'Afrique : paludisme instable avec transmission saisonnière, immunité apparemment peu solide, risque d'épidémies,
- Le paludisme des montagnes entre 1000 et 1500 m : paludisme instable avec transmission limitée par la température (18°C), peu ou pas d'immunité, épidémies violentes (exemple : Burundi), grandes variations interannuelles (température et pluies), problème du réchauffement climatique (11).

3.4 Biologie

3.4.1 Le vecteur

Le vecteur de la maladie est un insecte femelle de l'ordre des diptères, de la famille de *Culicidae*, de la sous famille des *Anophelinae* et du genre *Anopheles*.

Parmi le genre Anophèle près de 500 espèces sont reconnues dont 41 vecteurs majeurs capables de transmettre le paludisme. La transmission est plus intense en Afrique où les vecteurs (*An. gambiae* et *An. arabiensis*) ont une durée de vie plus longue et ont une affinité pour l'homme (espèces anthropophiles) (12).

Au Mali, l'espèce *An. gambiae* est composée de 3 sous espèces : *An. gambiae s.s.*, *An. arabiensis* et *An. funestus* qui est composée de 3 formes chromosomiques « Bamako, savane et Mopti ». (TOURE et al 1983)

Systématique :

Il existe près de 3500 espèces répertoriées au sein de la famille des Culicidés qui regroupe l'ensemble des espèces connues sous le nom vernaculaire de moustiques.

3.4.2 Agent pathogène

Parasite protozoaire du genre *Plasmodium* du phylum des Apicomplexa. Le *Plasmodium* est un parasite intracellulaire amiboïde colonisant les hématies. Il est de l'ordre des *Heamosporidea*, ce dernier n'étant composé que d'une seule famille « *Plasmodidae* ».

Il existe plus de 140 espèces de *Plasmodium* qui se différencient par leur cycle évolutif, on rencontre habituellement quatre (4) espèces en pathologie humaine : *P. falciparum* ;

P. malariae ; *P. vivax* ; *P. ovale*. Une cinquième espèce *P. knowlesi* parasite des singes primates en Asie du Sud-Est est également capable d'infecter l'homme (13).

3.4.3 Les espèces plasmodiales humaines

➤ *Plasmodium falciparum*

Espèce la plus dangereuse parmi celle infectant l'homme et la plus répandue dans le monde. Il est transmis toute l'année avec des recrudescences saisonnières dans les régions équatoriales. Sa transmission s'interrompt à une température < 18°C. L'évolution se fait après une incubation de 7 à 12 jours (14). Cette espèce a également développé une résistance aux antipaludiques d'usage couran (15).

Sur un frottis sanguin à *P. falciparum*, l'image se caractérise par sa monotonie, concernant l'hématie hôte c'est tous les globules rouges à tous stade de maturité qui sont parasitées, leur taille reste inchangée et peut être parsemé de petite moucheture caractéristique, les tâches de Maurer, coloré en rouge brun au Giemsa. Le pluri-parasitisme est fréquent au sein d'une hématie. L'aspect de la goutte épaisse est différent, les hématozoaires paraissent plus petit et sont en plus grand nombre.

➤ *Plasmodium malariae*

Il est retrouvé dans les régions tropicales et subtropicales d'Afrique, Asie du Sud et centrale mais son incidence par rapport au *P. falciparum* est faible. La période d'incubation est plus longue (15 à 21jours). Elle est impliquée dans des infections chroniques bénignes qui peuvent provoquer des réactions immunologiques entraînant parfois des complications rénales (16).

Le frottis sanguin se caractérise par un parasitisme pauvre, mais toutes les formes évolutives peuvent être vues. L'hématie hôte, généralement âgés avec une légère diminution de diamètre et une teinte plus cuivrée, est caractérisée par le pointillé de Ziemann qui n'est pas mis en évidence par les colorations usuelles.

En goutte épaisse le champ microscopique est enrichi, les jeunes trophozoïtes peuvent prendre l'aspect de ceux de *P. falciparum*, avec la présence constante de pigment malarique, les autres éléments restent inchangés.

➤ ***Plasmodium vivax***

Essentiellement en Amérique latine et en Asie, rarement en Afrique. Elle tolère les plus faibles températures que les autres espèces et s'adapte plus facilement aux climats plus tempérés. Sa période d'incubation est de 11 à 13 jours. Mais on peut observer des rechutes, dues au réveil des hypnozoïtes produits dans le foie pendant 3 à 4 ans.

Au frottis sanguin on a un panache intense dans lequel on peut trouver toutes les variétés évolutives. *P. vivax* attaque les jeunes hématies (réticulocytes), le pluri-parasitisme est rare, l'hématie parasitée subit précocement un remaniement, s'hypertrophie et tend à devenir polygonale avec apparition précoce de grain de Schüffner.

La goutte épaisse est aussi panachée et très enrichie, les trophozoïtes jeunes ont le même aspect que celui décrit précédemment, les autres éléments sont aisément reconnaissables.

➤ ***Plasmodium ovale***

Elle est retrouvée en Afrique intertropical du centre et de l'Ouest, c'est l'espèce la plus rare et très proche de *P. vivax*. Son incubation est de 15 jours minimum mais peut-être plus longue, jusqu'à 4 ans. Elle produit des hypnozoïtes comme *P. vivax*.

Les aspects de la goutte épaisse sont comparables à ceux de *Plasmodium vivax* et le diagnostic différentiel est difficile, voire impossible si le parasitisme est faible.

3.4.4 Cycle de développement du *Plasmodium*

Le cycle évolutif se déroule en deux (2) phases faisant intervenir deux hôtes :

- une phase de multiplication asexuée ou schizogonie qui se produit chez l'hôte vertébré qui est l'homme et
- une phase sexuée ou sporogonie chez l'anophèle femelle

☞ Cycle asexué chez l'homme

Il présente deux étapes : une hépatique ou exo-érythrocytaire et une sanguine ou érythrocytaire.

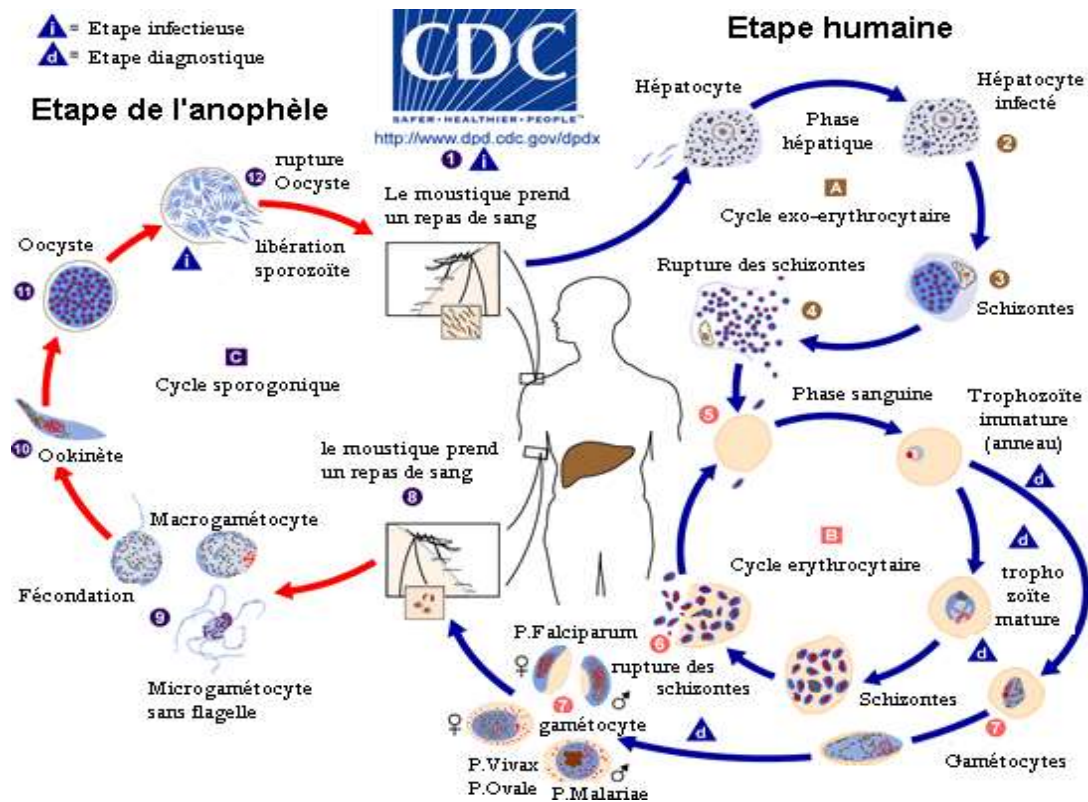


Figure 2 : Cycle biologique des espèces plasmodiales chez l'homme et le moustique

➤ Phase hépatique

Lors de son repas sanguin, l'anophèle femelle inocule chez l'homme les sporozoïtes présents dans ses glandes salivaires, ces derniers envahissent le sang et rejoignent le foie. Ainsi commence la phase exo-érythrocytaire en formant des schizontes hépatiques qui se multiplient par schizogonie. Cette phase est asymptomatique, des milliers de mérozoïtes sont générés par éclatement des schizontes hépatiques.

Elle dure 7 à 21 jours selon l'espèce plasmodiale. Chez le *Plasmodium vivax* et *P. ovale*, il existe une schizogonie retardée (hypnozoïtes) et la libération des mérozoïtes peut avoir lieu jusqu'à 18 mois plus tard.

➤ Phase sanguine

Les mérozoïtes libérés envahissent les globules rouges par endocytose et se transforment en trophozoïtes.

La maturation en schizonte (ou corps en rosace) via les formes trophozoïtes conduit à la destruction des hématies et à la libération de nouveaux mérozoïtes qui infectent de nouvelles hématies. Lors de la multiplication dans les hématies, le parasite produit au dépend de l'hémoglobine un pigment appelé hémozoïne.

L'érythrocyte infecté, subit des modifications de structure et de taille, il passe d'une forme biconcave à une forme globuleuse de sphère crénelée et sa déformabilité est diminuée.

Certains mérozoïtes, au bout d'un certain nombre de cycles schizogoniques sanguin, subissent une différenciation menant à la formation de gamétocytes mâles et femelles qui diffèrent par la taille du noyau et du cytoplasme. La maturation des gamétocytes a lieu chez l'homme et la fécondation dans l'estomac du moustique femelle.

☞ Cycle sexué

L'anophèle lors de son repas sanguin inocule les sporozoïtes tout en récupérant les gamétocytes infectés. Dans son estomac, les gamétocytes mâles (microgamétocytes) se transforment par ex flagellation et fécondent les gamétocytes femelles (macrogamétocytes) afin de former un zygote « ookinète ». Les ookinètes après 24 heures adhèrent à la paroi stomacale et la traversent en devenant des oocystes. Une fois mûr l'oocyste éclate et libère des sporozoïtes qui vont migrer vers les glandes salivaires de l'anophèle et sont prêts à être injectés lors d'une nouvelle piqûre. Le cycle de l'anophèle est de 10 à 40 jours selon la température extérieure et les espèces.

3.5 Diagnostic biologique

3.6.3 Diagnostic de présomption

L'hémogramme révèle une anémie de type hémolytique, normochrome ou hypochrome, avec ou sans réticulocytose. Au cours des accès aigus et dans les accès perniciose, on retrouve parfois une hyperleucocytose à polynucléaires neutrophiles remplaçant, la leuco-neutropénie habituelle, une thrombopénie est en rapport avec la séquestration splénique des plaquettes, tandis que dans les accès de reviviscence et le paludisme viscéral évolutif, une leucopénie est de règle, de même qu'une thrombopénie et une hyper gammaglobulinémie.

3.6.4 Diagnostic parasitologique

Il permet de mettre en évidence le parasite présent dans le sang, permettant de faire le diagnostic de certitude de l'infestation palustre, c'est un diagnostic d'urgence. Le diagnostic spécifique se base sur différentes techniques :

☞ La Goutte épaisse et le Frottis mince

Ils permettent d'établir un diagnostic d'espèce : la goutte épaisse est l'examen de référence, utilisée pour le diagnostic de routine, le seuil de détection d'hématies parasitées par

μl est 10 fois plus élevé que celle du frottis mince qui permet la confirmation de l'espèce parasitaire et l'étude morphologique des hématozoaires.

➤ Quantitative Buffy Coat

Mise au point par Becton-Dickinson, c'est une technique de coloration à l'aide de fluorochromes se liant à l'ADN, elle se base sur une centrifugation différentielle en présence d'acridine orange. Le malaria-test QBC nécessite un microscope à fluorescence et manque de spécificité.

3.6.5 Diagnostic immunologique

Ces méthodes constituent le diagnostic indirect du paludisme. Le principe d'IFI consiste à mettre en contact, un antigène figuré de parasite sur goutte épaisse et/ou sur frottis sanguin, et un sérum animal ou humain. Si ce sérum contient des anticorps spécifiques contre cet antigène le complexe immun persistera après le lavage, et sera fluorescent en lumière ultraviolet grâce au fluorochrome associé aux anticorps. Quant au principe d'ELISA, il consiste à fixer sur un support solide des éléments contenus dans le liquide biologique. Ensuite, les antigènes solubles sont détectés à l'aide d'un complexe immun marqué par l'enzyme, et sera révélé par addition d'un substrat spécifique de l'enzyme. Ces techniques apportent des informations précieuses qui permettent de confirmer le paludisme, lorsque la parasitémie a été réduite par exemple par un traitement anti palustre. Elles permettent également de suivre la guérison par la décroissance du taux des anticorps, et ont aussi un intérêt en zone d'endémie.

Le diagnostic immunologique ne peut remplacer le diagnostic parasitologique direct, du fait que les anticorps apparaissent avec un retard de plusieurs jours sur la parasitémie et disparaissent tardivement. Ne peuvent être utilisés pour un diagnostic de routine, mais surtout plus à des fins de recherches (20).

3.6.6 Les tests rapides de diagnostic : TDR

Les tests diagnostiques rapides du paludisme, parfois appelés " bandelettes réactives " ou " systèmes de diagnostic rapide " détectent les antigènes spécifiques (protéines) présents dans le sang des personnes infectées, et produits par les parasites.

Plusieurs tests de diagnostic rapide (TDR) par immunochromatographie sont disponibles. Ils sont classés en fonction du nombre d'antigènes détectés. La plupart, à l'exception de la série OptiMalt, permettent la mise en évidence de l'HRP2 (*Histidin Rich Protein 2*), spécifique de *P. falciparum* ; certains permettent la mise en évidence de la pLDH (*Plasmodium lactate déshydrogénase*) : Pf pour *P. falciparum*, Pv pour *P. vivax* ; Pan-LDH

commune aux quatre espèces plasmodiales. La sensibilité et la spécificité revendiquées par les constructeurs de ces tests sont comparables.

La forme la plus simple est celle d'une bandelette qui est placée dans des puits contenant du sang et/ou une solution tampon. La bandelette de nitrocellulose peut être placée dans une cassette en plastique ou sur une carte. Les tests rapides antigéniques sont simples d'utilisation, rapides et d'un apport précieux en poste isolé. Cependant, les tests rapides ont des limites :

- Les faux négatifs sont dus à une faible parasitémie de l'ordre de 100 parasites par μL , soit 0,002% d'hématies infectées. Or, il est fréquent de mettre en évidence en pathologie d'importation ou chez le voyageur non immun en zone d'endémie sous chimioprophylaxie non ou mal adaptée des parasitémies très faibles. Le résultat des TDR peut donc être faussement négatif.
- Les faux positifs, moins bien connus, sont dus à une lecture trop tardive après le dépôt des réactifs, à la présence d'auto anticorps ou de facteur rhumatoïde à des taux élevés. De plus, la persistance de la circulation de l'HRP2 après disparition des parasites du sang circulant est trouvée jusqu'à 15 jours après négativité des tests microscopiques. Ces tests ne doivent pas être employés seuls.

3.6.7 La Polymerase Chain Reaction (PCR)

C'est une technique de biologie moléculaire, basée sur la sélection puis l'amplification d'un gène spécifique du parasite à partir d'amorces spécifiques de ce gène. Elle a l'avantage de pouvoir détecter une souche spécifique du parasite par des gènes spécifiques ou après digestion du produit de PCR avec des enzymes de restriction spécifiques. Elle permet la détection des parasitémies très faibles. Elle est utilisée pour le diagnostic du paludisme et en enquête de masse. Cependant, si son utilisation ne nécessite pas une ponction veineuse, elle n'est réalisable que dans des laboratoires spécialisés et son coût est très élevé.

3.6 Manifestation du paludisme (21)

3.7.3 La forme "classique"

L'accès palustre, fièvre intermittente à fréquence variable plus ou moins caractéristique du *Plasmodium* infestant. La fièvre survient lors de l'éclatement des hématies et de la libération des mérozoïtes.

3.7.4 Accès pernicleux

C'est la forme suraiguë du paludisme à *P. falciparum*, susceptible de tuer rapidement le malade en absence de traitement. C'est une urgence médicale. Le début est brutal (crise convulsive, coma) avec fièvres, troubles de la conscience, du comportement, hémoglobinurie.

3.7.5 Fièvre bilieuse hémoglobinurique

Survenant parfois après prise de quinine motivée par un accès fébrile, cette fièvre s'accompagne d'hémoglobinurie et d'ictère. Il y a hémolyse brutale et massive. Cette forme est devenue rare.

3.7.6 Rechute

Elles peuvent se produire plusieurs années ou dizaines d'années après un accès palustre, sauf pour *P. falciparum* dont les hépatozoïtes ne peuvent rester dans le foie.

3.7 Traitement du paludisme

Les antipaludiques ou antimalariques sont des médicaments de synthèse chimique ou extraits de plantes destinés à traiter ou prévenir le paludisme. *Plasmodium falciparum* est devenu résistant à de nombreux antipaludéens (ex. chloroquine, et à d'autres antipaludéens selon son origine géographique : méfloquine, sulfadoxine, pyriméthamine, ...).

3.7.1 Classification des antipaludiques (14)

Les antipaludiques sont classés en fonction de leur mode d'action ou la structure chimique.

Tissus

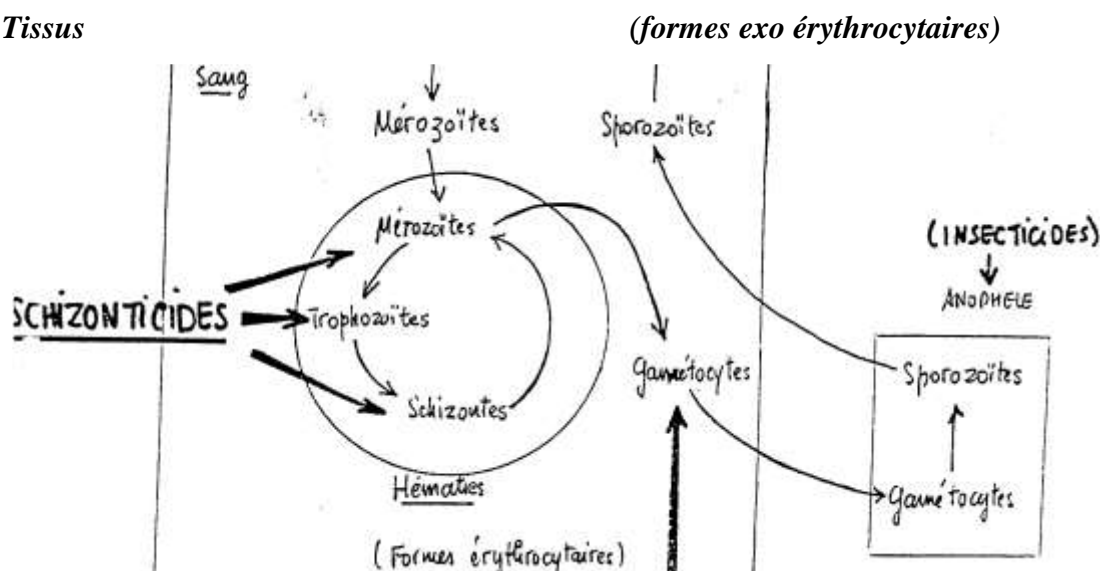


Figure 3 : Mécanisme d'action des antipaludiques

➡ Schizonticide érythrocytaires :

- ✓ **Amino-4-quinoléines** : chloroquine (Nivaquine®), amodiaquine (Flavoquine®), pipéraquline.
- ✓ **Amino-alcools** : quinine (Quinimax®, Surquina®, Quinine Lafranc®), méfloquine (Lariam®), halofantrine (Halfan®), luméfantrine.
- ✓ **Sesquiterpènes** : artémisinine et ses dérivés : dihydroartémisinine, artéméther, artésunate.
- ✓ **Antimétabolites**:
 - **Antifoliques** : sulfadoxine, dapsone,
 - **Antifoliniques** : proguanil (Paludrine®), pyriméthamine (Malocideâ),
 - **Antibiotiques** : cyclines (Doxypalu®, Granudoxy®Gé, Vibraveineuse®), clindamycine (Dalacine®, Zindacine®),
 - **Analogues de l'ubiquinone** : atovaquone

➡ Schizonticides intrahépatiques

- ✓ **Amino-8-quinoléines** : primaquine (Primaquine®), tafénoquine.
- ✓ **Antimétabolites** : proguanil, cyclines.

➡ Gamétocytocides

- ✓ **Amino-8-quinoléines** : primaquine (Primaquine®), tafénoquine.

➡ Associations d'antipaludiques à effet synergique schizonticide

L'action synergique schizonticide de plusieurs molécules permet d'augmenter l'efficacité des médicaments antimalariques et d'obtenir une protection mutuelle des produits contre l'acquisition de résistance des plasmodies, essentiellement de *P. falciparum*.

Certaines de ces associations sont déjà anciennes :

- Quinine + tétracyclines en zones de quininorésistance (forêts d'Asie du sud-est et Amazonie)
- Sulfadoxine + pyriméthamine (Fansidar®)
- Méfloquine + sulfadoxine + pyriméthamine (Fansimef®, utilisé en Asie du sud-est),
- Chloroquine + proguanil (Savarine®, utilisée en chimioprophylaxie seulement),

Les « nouveaux » antimalariques sont tous associés, au moins en bithérapie :

- soit en associations libres (2 sortes de comprimés) : artésunate + sulfadoxine/pyriméthamine (Arsudar®), artésunate + amodiaquine (Arsucam®), artésunate + méfloquine (Artequin®) ;
- soit en associations fixes (FDC : fixed dose combination) : atovaquone + proguanil (Malarone®), chlorproguanil + dapsoe (Lapdap®), artéméther + luméfantine (Coartem®/Riametâ), artésunate + amodiaquine (AS/AQ®, Coarsucam®), artésunate + méfloquine (AS/MQ®).

3.7.2 Modes d'action des antipaludiques (16)

➡ Inhibition de la digestion de l'hémoglobine dans la vacuole nutritive du *Plasmodium*

- 1) Chloroquine, amodiaquine, pipéraquline
- 2) Quinine, méfloquine, halofantrine, luméfantine

➡ Alkylation des métabolites de l'hémoglobine, production de radicaux libres : artémisinines

Blocage de la fabrication des acides nucléiques :

- 1) Cytochrome bc → baisse d'ATP : atovaquone
- 2) Inhibition de la DHPS : sulfadoxine, dapsoe (antifoliques)
- 3) Inhibition de la DHFR : pyriméthamine, cycloguanil (antifoliques)

➡ Pharmacocinétique des antipaludiques couramment utilisés

- ✓ La Quinine : c'est un schizonticide endo-érythrocytaire

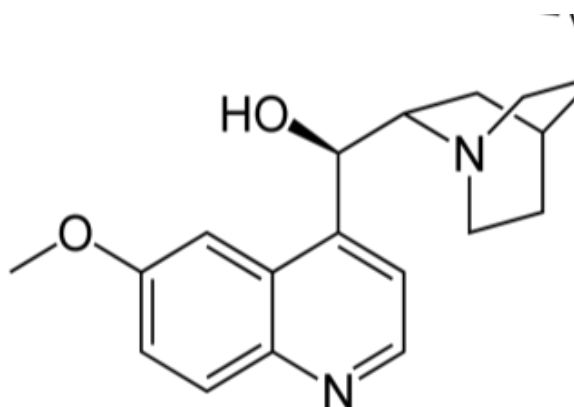


Figure 4 : Structure chimique de la quinine

Traitement de référence des formes graves de paludisme à *P. falciparum* (par voie IV puis orale durant 7 jours).

Elle se présente sous plusieurs formes (injectables, comprimés, suppositoires) suivant la gravité du tableau clinique, la voie d'administration et la posologie sont différentes :

- En cas d'accès simple : posologie classique de 24 mg/kg/j. (en pratique 8 mg/kg de quinine toutes les 8 heures, pendant 7 jours, injectable ou per os),
- En cas de critères de gravité, la dose de charge : 17 mg/kg de quinine en 4 heures. Puis une dose d'entretien de 8 mg/kg en 4 heures. Toutes les 8 h, en perfusion intraveineuse obligatoire, pendant 7 jours,
- Si le paludisme est contracté en zone de quinorésistance (Asie du sud-est, Amazonie) : adjoindre la doxycycline, 200 mg/j ou la clindamycine, 10 mg/kg toutes les 8 heures.

Elle peut s'administrer par voie intra-rectale biquotidienne : 15 à 20 mg/kg de quinine diluée (Quinimax® solution injectable), à renouveler éventuellement 12 heures après.

Métabolisme : par CYP3A4

Elimination : rénale, 20% sous forme inchangée, 80% sous forme de métabolites dont un actif, d'où l'adaptation de posologie chez les insuffisants rénaux **(23)**.

Effets indésirables : (23)

Ils sont dose-dépendants :

- Fréquent, peu grave : cinchonisme (acouphènes, vertiges, céphalées, troubles de la vision, baisse aigüe de l'acuité auditive, troubles digestifs, vasodilatation périphérique).
- Hypoglycémie par augmentation de la sécrétion d'insuline.

Les signes de toxicité surviennent pour des concentrations plasmatiques élevées lors d'accès palustres graves. Ce sont principalement :

- Toxicité cardiovasculaire : trouble de la conduction, troubles du rythme, allongement de l'espace QT,
- Toxicité oculaire perte passagère de vision par atteinte des cellules rétiniennes,
- Toxicité auditive : altération de l'audition pour des fréquences élevées, acouphènes,
 - Toxicité neurologique : vertiges,
 - Toxicité cutanées photosensibilisation,
 - Toxicité hématologique

✓ **Méfloquine :**

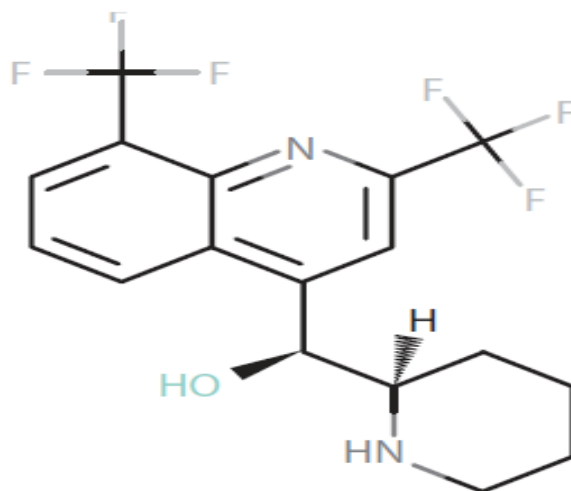


Figure 5 : Structure chimique de la Méfloquine

Traitement des accès non compliqués à *P. falciparum* s'effectue seulement par voie orale 25mg/kg en 3 prises un seul jour.

Absorption orale : On observe une bonne biodisponibilité (85%) augmentée par prise d'aliments et une très forte fixation aux protéines plasmatiques (98%).

Métabolisme : par CYP3A4 en métabolites inactifs.

Élimination : lente <10% sous forme inchangée dans les urines, 90% dans les fèces, T_{1/2} ≈15-22 jours (20).

Effets indésirables : (20)

Les effets indésirables sont relativement fréquents mais bénins, ce sont des troubles neuropsychiatriques qui peuvent survenir plusieurs semaines après l'arrêt du traitement du fait de la longue demi-vie de la méfloquine. Ces effets neuropsychiatriques (1/2000 en traitement curatif et 1/15000 en prophylaxie) sont : confusion, agitation, insomnie, vertiges, convulsions, diplopie, troubles de la conscience. Ils sont vraisemblablement dose-dépendants et favorisés par la prise d'alcool.

Autres effets indésirables : effets digestifs 7-20% (nausées, vomissements, douleurs abdominales, diarrhées). La méfloquine peut entraîner des troubles du rythme cardiaque, le plus souvent des bradycardies.

Dérivés de l'artémisinine : artéméther, artésunate, dihydroartémisinine

L'artémisinine est extraite d'une plante chinoise *Artémisia annua* (*qinghaosu*) utilisée par la médecine traditionnelle chinoise comme antipaludéen.

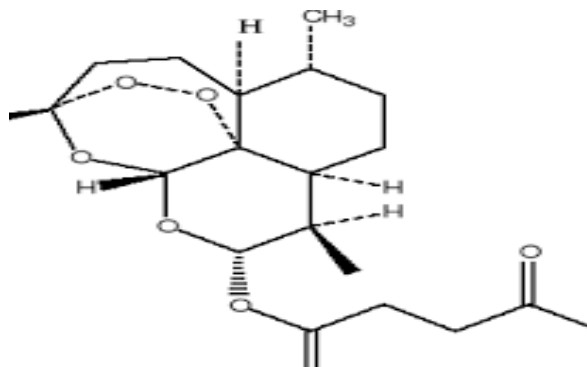
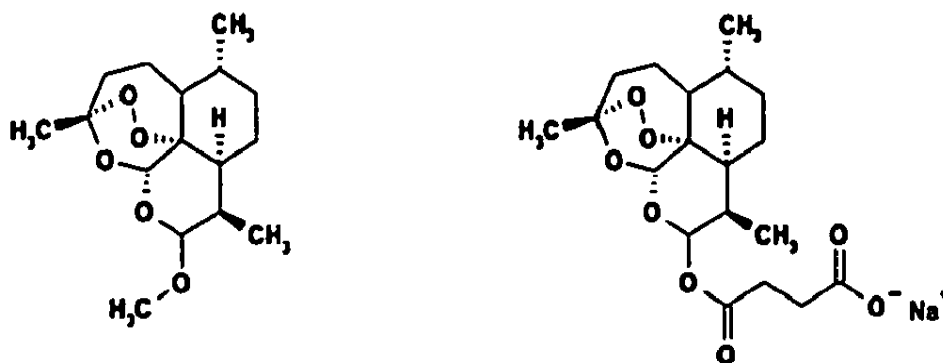


Figure 6 : Structure chimique de l'artémisinine



Artéméther

Artésunate de sodium

Figure 7 : Structure chimique de l'artéméther et l'artésunate

Ce sont des schizonticides actifs sur les souches de *Plasmodium* résistants aux autres antipaludéens. Leur pont peroxydes intra-moléculaire, en présence de Fe, donne des radicaux libres qui détruisent le parasite intra-érythrocytaire.

Absorption orale : l'absorption est rapide, le pic de concentration est atteint en 2 heures, la fixation aux protéines plasmatiques est de 95%.

Métabolisme : ils sont métabolisés par le CYP3A4 et CYP2C19 en dihydroartémisinine, métabolite actif, puis en métabolites inactifs, l'artéméther induit son propre métabolisme.

Elimination : Ils sont éliminés sous formes de métabolites dans les urines et les fèces. Le temps de demi-vie $T_{1/2}$ de l'artéméther et la dihydroartémisinine est d'environ 2 heures (20).

Effets indésirables : (20)

- Ils sont bien tolérés,
- Allergie dans 1 cas sur 3 000,
- Dans de rares cas, des palpitations, céphalées, étourdissement, toux, douleurs abdominales, arthralgie, myalgie en cas de surdosage.

✓ **La Luméfantrine :**

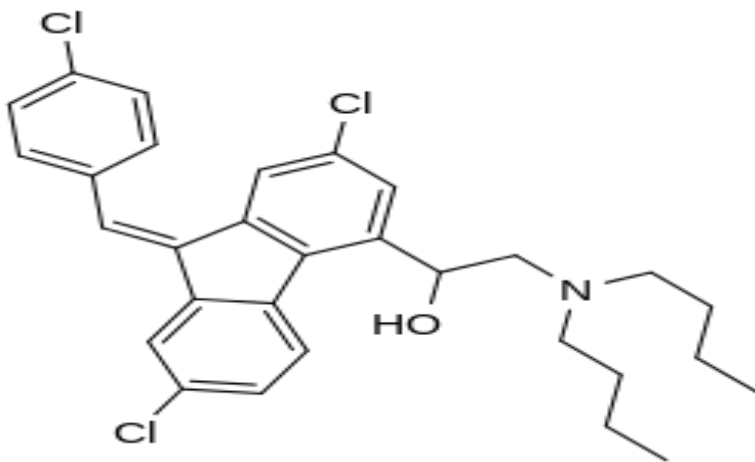


Figure 8 : Structure chimique de la luméfantrine

Absorption : Elle débute 2 heures après son administration, la luméfantrine est un composé très lipophile. Le pic de concentration est atteint 6-8 heures après son administration. Un repas riche en graisse augmente d'un facteur 2, l'absorption de la luméfantrine chez un impaludé. A jeun, le taux d'absorption est inférieur à 10% donc toujours prendre avec un repas ou avec une boisson lactée.

Métabolisme : elle est métabolisée en desbutyl-luméfantrine par le CYP3A4, métabolite 5-6 fois plus antipaludéen que la luméfantrine *in vitro*, ce métabolite ne représente que 1% de l'exposition systémique à la luméfantrine,

Elimination : elle est fécale, principalement sous forme inchangée. La luméfantrine inhibe le CYP2D6. Son temps de demi-vie $T_{1/2}$ = 2-3 jours.

Effets indésirables :

Essentiellement, troubles digestifs, élévation modérée des transaminases et souvent des troubles du rythme ventriculaire.

La Primaquine (Prima quiné®) :

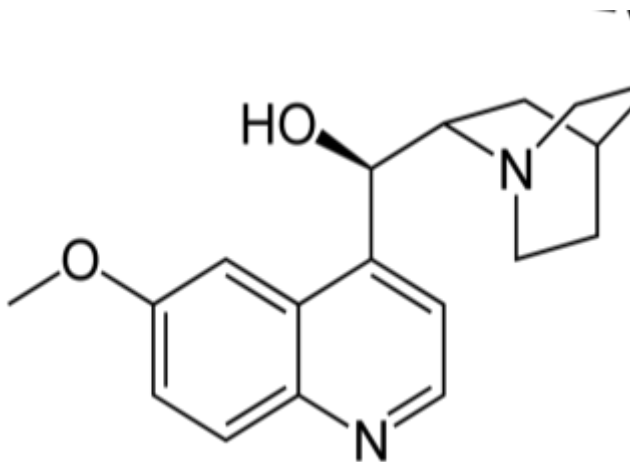


Figure 9 : Structure chimique de la primaquine

La primaquine est le seul gamétocytocide disponible qui « efface » les gamétocytes de *P. falciparum* matures chez l'homme, empêchant ainsi la transmission de l'hématozoaire aux moustiques.

Effets indésirables :

Les troubles digestifs, méthémoglobinémie, agranulocytose, hémolyse chez les sujets ayant un déficit en G6PD.

L'hémolyse due à la primaquine est dose-dépendante chez les déficitaires en G6PD (20).

Dérivés de l'artémisinine en monothérapie : (21)

- ✎ **Artéméther** (Paluther®) : c'est un dérivé de l'artémisinine utilisé seul par voie injectable. Il se présente en ampoules pour l'injection intramusculaire profonde (ampoules de 40 mg/0,5 ml et 80 mg/1 ml). Prescrit dans les formes graves à *P. falciparum* à la posologie de 1,6 mg/kg toutes les 12 heures à J1 (3,2 mg/kg/24h), puis 1,6 mg/kg/24h de J2 à J5. Il peut être utilisé dans des régions peu médicalisées, compte tenu de son mode d'administration par voie IM. Il est bien toléré.
- ✎ **Artésunate** : L'OMS recommande l'utilisation de l'artésunate IV en première intention dans le paludisme grave à *P. falciparum* chez l'enfant et l'adulte. L'artésunate existe sous forme de poudre pour injection et des gélules rectales. Son administration se fait selon la posologie de 2,4 mg/kg à heure 0, heure 12, heure 24 et toutes les 24 heures pendant 3 jours. Le relais est pris par un antipaludique oral après 3 jours.

✓ **La sulfadoxine-pyriméthamine (Fansidar®) : (21)**

Il se présente en comprimés à 500 mg de sulfadoxine et 25 mg de pyriméthamine ; posologie : 3 comprimés en une prise (adulte), enfant : 1 comprimé/10 kg. Absorption orale lente complète des 2 molécules

Concentration efficace de pyriméthamine présente pendant 2 semaines.

Cette combinaison a une toxicité hématologique et cutanée.

✓ **Association atovaquone + proguanil (Malarone®) : (21)**

Elle est prescrite dans le traitement du paludisme simple à *P. falciparum* et en chimio prophylaxie du paludisme à *P. falciparum*.

Elle agit sur les souches hépatocytaires de *P. falciparum* ; cette association est bien tolérée malgré quelques troubles digestifs signalés.

La posologie dans le traitement de l'accès simple : 8 mg/kg/j pendant 3 jours en prise unique quotidienne.

Soit 4 comprimés chez l'adulte par jour s'il a plus de 40 kg de poids,

- Comprimés chez l'adulte de 31 à < 40 kg,
- Comprimés chez l'adulte de 21 à < 30 kg,
- 1 comprimé chez l'adulte de 11 à < 20 kg.

Chez l'enfant de moins de 11 kg : 2 comprimés par jour chez l'enfant de 5 à < 9 kg,

- Comprimés par jour chez l'enfant de 9 à < 11 kg de poids.

Les différents dosages sont :

- Dosage adultes et enfants > 40 kg : comprimés à 250 mg d'atovaquone et à 100 mg de proguanil;
- Dosage enfants de 11 à 40 kg : comprimés à 62,5 mg d'atovaquone et à 25 mg de proguanil.

✓ **Combinaison thérapeutique à base d'artémisinine**

Elles sont recommandées par l'OMS pour le traitement du paludisme non compliqué. Elles comportent un médicament d'action rapide et de courte durée de vie (dérivés de l'artémisinine) et un autre médicament partenaire d'action lente et de longue durée de vie.

- **Association artéméther + luméfantrine (Coartem®/Riamet®) : (11)**

Cette association se présente en comprimés à 20 mg d'artéméther et à 120 mg de luméfantrine. La posologie est de 4 comprimés en 2 prises par jour pendant 3 jours (dose adulte). Il n'est pas utilisé en chimioprophylaxie.

Les effets secondaires sont des troubles du sommeil, des céphalées, des étourdissements, des troubles digestifs, un prurit. Il n'y a pas de cardiotoxicité.

Présentation pédiatrique : Coartem® dispersible formulation pédiatrique.

- **Association artésunate + amodiaquine : (21)**

Cette association se trouve sous forme **libre** (Arsucam®) et sous forme fixe (AS/AQ®, Coarsucam®). La posologie est d'une prise par jour pendant 3 jours.

Il y a quatre dosages selon l'âge :

- 3-11 mois 1 comprimé AS/AQ 25 mg/67,5 mg ;
- 1 à 6 ans 1 comprimé 50 mg/135 mg ;
- 7 à 13 ans 1 comprimé 100 mg/270 mg ;
- 14 ans et au-dessus, 2 comprimés (100 mg/270 mg).

- **Association artésunate + méfloquine : (21)**

L'association existe également en association libre (Artequin®) ou en association fixe (AS/MQ®). La posologie est d'une prise par jour pendant 3 jours. Il se présente en comprimés AS/MQ de 25mg/50mg et 100mg/200mg.

- **Dihydroartémisinine + pipéraquline :**

Elle se présente en comprimé 320 mg/40 mg (Eurartesim®), efficace et bien tolérée.

L'Eurartesim® est prescrit selon le poids :

- adulte de 75-100 kg, 4 comprimés à 320/40mg par prise unique par jour pendant 3 jours ;
- adulte de 36 à 75 kg, 3 comprimés
- enfant de 5 à 7 kg, ½ comprimé.

3.7.2 Politique de traitement

Le paludisme est une maladie évitable dont on guérit. L'objectif premier du traitement est d'obtenir l'élimination rapide et totale des plasmodies dans le sang. Du point de vue de la santé publique, le traitement permet de réduire la transmission de l'infection en diminuant le réservoir infectieux, et éviter l'apparition et la propagation d'une résistance aux antipaludiques.

↳ **Traitement de l'accès palustre simple à *P.falciparum***

L'OMS recommande les combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine (CTA) en première ligne de traitement du paludisme non compliqué causé par *P. falciparum* associant deux (2) principes actifs qui ont des modes d'actions différents : Artesunate - Amodiaquine (AS-AQ) ; Artemether – Luméfantrine (Coartem®/Riamet®) ; Artesunate - Méfloquine (AS-MQ) dans les pays en voie de développement.

Le traitement à base d'artémisinine doit s'étendre sur au moins trois (3) jours. Pendant le premier trimestre de la grossesse, le traitement dure 7 jours avec la Quinine + Clindamycine.

Chez les enfants de moins de 25Kg traités avec la dihydroartémisinine + Pipéraquline, ils doivent recevoir au minimum de 2,5mg/kg de poids corporel de dihydroartémisinine par jour et 20mg/kg de poids corporel de pipéraquline par pendant trois (03) jours.

Pour les patients co-infectés au VIH/SIDA, l'OMS recommande d'éviter les associations :

- Artesunate + SP si le patient est traité avec du Cotrimoxazole (triméthoprime plus sulfaméthoxazole) ;
- Artesunate + amodiaquine si le patient est traité avec Efavirenz ou Zidovudine.

Vu la résistance de *P.falciparum* à l'artémisinine dans les pays de la sous-région du Grand Mékong, le traitement par CTA s'étend sur six (6) jours au lieu de trois (3).

↳ **Traitement de l'accès palustre grave**

Le paludisme grave doit être traité avec l'artésunate injectable par voie intraveineuse ou intramusculaire pendant au moins 24 heures tant chez l'adulte que chez l'enfant, suivi d'une CTA durant trois (3) jours une fois que le patient peut tolérer des médicaments par voie orale.

L'administration de l'artésunate se fait à raison de 3mg/kg de poids corporel chez les enfants de moins de 20kg et 24mg/kg de poids corporel chez le grand enfant et l'adulte.

Lorsque le traitement injectable d'artésunate ne peut-être administrer, les enfants de moins de six (6) ans doivent recevoir l'artésunate par voie rectale.

➤ **Traitement De l'accès palustre simple aux autres espèces plasmodiales : (22 et 23)**

Lorsque l'espèce plasmodiale n'est pas connue avec certitude, le traitement peut se faire avec le protocole de traitement du paludisme simple à *P. falciparum*. Dans les zones où le *Plasmodium* a déjà été déclaré résistant la chloroquine, le traitement se fera avec les CTAs.

Afin de prévenir les rechutes, la primaquine devrait être ajoutées au traitement ; le dosage et la fréquence d'administration devront être ajustés en fonction de l'activité enzymatique de la glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PD) dans le cas de *P. vivax* et *P. ovale*.

3.7.3 Prophylaxie

a) Lutte vectorielle

Elle est essentiellement basée sur :

- L'aménagement de l'environnement destiné à diminuer le nombre de gîtes anophéliens,
- La technique de l'insecte stérile : elle permet l'éradication ou la diminution d'une population d'insectes, les mâles irradiés par un rayonnement gamma (bombe au Cobalt 60) deviennent sexuellement stériles à cause de mutations dominantes au niveau du sperme.
- Les aspersions intra-domiciliaires d'insecticides à effet rémanent,
- Les moustiquaires imprégnées d'insecticides : outil majeur de prévention du paludisme au niveau communautaire, stratégie de lutte recommandée par l'OMS. Mais la résistance des vecteurs est préoccupante, et il est nécessaire de ré-imprégner régulièrement les moustiquaires pour maintenir leur efficacité. Actuellement, il y a un développement de moustiquaires imprégnées d'insecticides de longue durée d'action (MILDA) [OLYSET®, PERMANET®] avec une efficacité de 5 ans.
- Les ports de vêtements imprégnés d'insecticides (utilisés par les armées)
- Les répulsifs (insecticides ou repellents). Beaucoup de répulsifs sont disponibles sur le marché. Deux produits sont recommandables en pratique : le DEET et le KBR 3023.

b) Chimio prophylaxie des expatriés et des voyageurs :

La prophylaxie médicamenteuse est indispensable pour les zones à *P. falciparum*. Elle n'est pas efficace à 100%. Elle doit être prise pendant tout le séjour et après le retour pendant une durée variant avec l'antipaludique.

✓ **Schéma prophylactique pour l'adulte suivant les groupes 1, 2 ou 3 :**

- **Pays du groupe 1 :** chloroquine (Nivaquine®) 100 mg/j, séjour + 4 semaines après,
- **Pays du groupe 2 :** association chloroquine (100 mg/j) + proguanil (200 mg/j) (Savarine®) 1 comprimé par jour, séjour + 4 semaines après ; ou association atovaquone + proguanil (Malarone®) : dose chez les sujets de plus de 40 kg : 1 comprimé adulte (250 mg/100 mg) par jour, séjour + une semaine après.
- **Pays du groupe 3 :** trois choix sont possibles :
 - Choix n°1 : Lariam®, comprimés à 250 mg, 1 comprimé par semaine, 10 jours avant + séjour + 3 semaines après,
 - Choix n°2 : Malarone® : même dose que pour les pays du groupe 2, séjour + une semaine après,
 - Choix n°3 : doxycycline (Doxypalu®, Granulodoxyl®Gé), comprimés à 100 et 50 mg: 100 mg chez l'adulte et chez l'enfant de plus de 8 ans ou pesant plus de 40 kg, 50 mg chez l'enfant de plus de 8 ans pesant moins de 40 kg, séjour+ 4 semaines après.
 - Schéma prophylactique chez la femme enceinte suivant les groupes 1, 2 ou 3 :
 - Pays du groupe 1 : Nivaquine®
 - Pays du groupe 2 : Savarine® ou Malarone®,
 - Pays du groupe 3 : séjour déconseillé, si séjour indispensable : Lariam® ou Malarone®
 - Schéma prophylactique Nivaquine chez l'enfant
- **Pays du groupe 1 :** Nivaquine®
- **Pays du groupe 2 :** association chloroquine (Nivaquine®) 1,5 mg/kg/j + proguanil (Paludrine®) 3 mg/kg/j (la Savarine® n'étant prescrite qu'à partir de 15 ans) ou Malarone®, comprimé enfant (62,5 mg/25 mg) suivant poids : 1 cp/j de 11 à 20 kg, 2 cp/j de 21 à 30 kg, 3 cp/j de 40 kg à heure fixe et en prise unique
- **Pays du groupe 3 :** si poids > 15 kg ou âge > 3 ans : Lariam®; alternative : doxycycline si > 8 ans ou Malarone® si poids entre 11 kg et 40 kg : de 11 à 20 kg 1cp/j, de 21 à 30 kg : 2cp.j, de 31 à 40 kg : 3 cp/j. Si enfant < 11 kg, ½ cp/j de 5 < 7 kg (hors AMM), ¾ cp/j de 7 < 11kg (hors AMM).

La chimioprophylaxie doit être poursuivie pendant 4 semaines après le retour, sauf pour le Lariam® pendant 3 semaines et pour la Malarone® pendant une semaine seulement, ce court délai

s'expliquant par l'activité schizonticide de la Malarone® dans les formes tissulaires de *P. falciparum* en développement dans le foie.

c) Traitement Préventif Intermittent (TPI) des femmes enceintes et des enfants des pays en développement

Le traitement préventif intermittent (TPIp) consiste dans l'administration intermittente et systématique d'antipaludiques : amodiaquine ou sulfadoxine-pyriméthamine (SP) chez les femmes enceintes à titre prophylactique. La chimioprophylaxie est recommandée par l'OMS pendant la grossesse, associée aux moustiquaires imprégnées, dans les zones de haute transmission d'endémie palustre. La SP est utilisée préférentiellement lors des visites prénatales (femmes enceintes ayant plus de 16 semaines d'aménorrhée). Il faut prescrire deux doses de TPIp séparées d'au moins un mois, 3ème dose si la femme enceinte est séropositive, trois comprimés de SP en prise unique.

Le traitement préventif intermittent chez les enfants (TPIe) réduit la prévalence de l'infection palustre. La chimiothérapie du paludisme saisonnier (CPS) est recommandée chez les nourrissons de 3-11 mois et les enfants de 12-69 mois. Elle associe amodiaquine et sulfadoxine-pyriméthamine. Chez les nourrissons : un demi-comprimé de 153 mg d'AQ une fois par jour pendant 3 jours et une dose unique d'un demi-comprimé de 500/25 mg de SP. Chez l'enfant, un comprimé entier de 153 mg d'AQ une fois par jour pendant 3 jours et une dose unique d'un comprimé entier de 500/25 mg de SP. La CPS est prescrite pendant la période durant laquelle le risque de contracter le paludisme est le plus élevé pour les enfants : par exemple au Mali en Août, Septembre et Octobre, donc en trois occasions à un mois d'intervalle. La CPS doit être couplée à l'utilisation des moustiquaires imprégnées, ce qui permet de réduire de façon substantielle le paludisme maladie, le paludisme infection et l'anémie. La mise en œuvre du traitement préventif intermittent du paludisme chez les enfants de moins de 5 ans (TPIe) est très lente : sur les 16 pays auxquels l'OMS a recommandé d'adopter le TPIe, 6 seulement l'ont fait.

d) Effets indésirables des médicaments anti malariques en chimioprophylaxie :

Tous les médicaments antimalariques utilisés en chimioprophylaxie : chloroquine, méfloquine, doxycycline, chloroquine + proguanil, atovaquone + proguanil ont des effets indésirables, neuropsychiques, digestifs, cutanés, en règle non graves. La méfloquine a la plus haute proportion de manifestations neuropsychiques surtout chez les femmes (céphalées, vertiges, troubles psychiques : tendance dépressive, confusion, obnubilation, anxiété, hallucinations). L'association chloroquine + proguanil a la plus haute proportion de troubles cutanés (prurit, éruptions). Tous entraînent des troubles digestifs. La photosensibilité à la doxycycline est dose dépendante, non significative à 50 mg, peu significative à 100 mg, fréquente à 200 mg. Une des

complications potentielles de la doxycycline est la diarrhée à *Clostridium difficile*, elle est très rare et ne doit pas faire éliminer ce médicament dans cette indication.

3.7.3 Etude de *Cassia nigricans*



Figure 10 : Le *Cassia nigricans*

a) Systématique (24)

Règne : Végétal

Embranchement : Spermaphyte

Sous-embranchement : Angiosperme

Classe : Dicotyledones

Ordre : Léguminosae

Famille : Caesalpiniacea

Genre : *Cassia*

Espèce : *nigricans*

Synonymes : *Chamaecrista nigricans vahl* (21)

Noms vernaculaire (24)

- Jala ninkuma (Mali, bambara)
- Mbèndum (Sénégal, wolof)
- Arazantia (Burkina-Faso, moore)
- Sila talo (Gambie, manding):
- Nya'ngal bubu (Niger, zarma)
- Madacin kasa (Nigeria, hausa)
- Kadekolé (Tchad, ngambai)
- Macarra bubel (Guinée- bissau, fula)
- Casse noircissante (France)
- Black grain (En)

b) Origine et répartition

Largement réparti en Afrique tropicale, *Cassia nigricans* est également présent en Asie occidentale et en Inde. Il apparaît dans toutes les régions tropicales et subtropicales comme adventice spontanée, et parfois on le trouve même en Australie.

c) Description botanique (25)

La plante est une herbe annuelle ligneuse ou un sous-arbrisseau érigé entre 1,22m et 1,52m de haut avec de petites fleurs jaunes. Elle a des tiges pubescentes velues et brunes contenant de la moelle. Les feuilles ont 10-18 paires de folioles oblongues symétriques. Chaque feuille a environ 15-26mm de long et 5-6mm de large. La nervure est centrale, le rachis et le pétiole ont environ 7cm de long. Le pétiole a une glande ellipsoïdale de 2mm de long. La base des feuilles est arrondie et apicule. Les racèmes sont solitaires ou jumelés avec un racème axillaire et l'autre supra-axillaire. La gousse est aplatie et avec des valves oblongues se recourbant à la déhiscence. Les graines à l'intérieur sont au nombre de dix (26,27).

6.2 Constituants chimiques (25)

Les propriétés médicinales des espèces de *Cassia* sont dues au fait qu'ils contiennent des dérivés hydroxy-antraquinone. La valeur médicinale de ces plantes se trouve dans les constituants phytochimiques bioactifs qui produisent une action physiologique définie sur le corps humain et animal. Certains de ces constituants les plus importants sont les glycosides, les alkaloïdes, les flavonoïdes, tannins, stéroïdes, terpénoïdes, les huiles essentielles et composés

phénoliques (28,29). Les espèces de *Cassia* sont des sources riches en polyphénols, dérivés d'antraquinones (30, 31, 32, 33), flavonoïdes (34) et polysaccharides (35).

d) Usages (25)

Cassia nigricans Vahl a quelques applications en médecine traditionnelle en Afrique notamment au Nigéria, spécialement dans le Nord du pays. Ces racines et feuilles sont utilisées au Sénégal et en Guinée-Bissau comme agent antipaludique et substitut de la quinine. Les feuilles pulvérisées ajoutées à la nourriture améliorent l'appétit et agissent comme fébrifuge ; et une décoction préparée à partir des feuilles de la plante est utilisée comme un lavage et fumigation dans la fièvre. Une infusion est donnée pour le traitement du mal de gorge. L'infusion de racine est administrée comme purgatif et vermifuge au Sénégal, en Guinée Conakry et au Tchad (26, 27). Les feuilles de *Cassia nigricans* sont censées posséder des activités analgésiques, antiulcéreuses et anti-œdémateuses et ils sont bénéfiques dans le traitement des troubles gastro-intestinaux (26, 36). Une pincée des feuilles broyées est prise avec de l'eau pour le traitement des ulcères gastroduodénaux (37). *Cassia nigricans* est utilisé au Ghana pour contrôler les insectes nuisibles des céréales et des légumineuses (38).



METHODOLOGIE

4. METHODOLOGIE

Elle repose sur quatre (4) éléments qui sont :

- La préparation de l'extrait de *Cassia nigricans*,
- La préparation du milieu de culture en variant la concentration du solvant,
- La préparation des isolats congelés de *P. falciparum* en vue de leur culture et enfin
- L'évaluation de la viabilité et le test in-vivo de l'efficacité des extraits de *Cassia nigricans*.

Ce travail a été conduit au Laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée (LBMA) par l'unité de parasitologie.

4.1. Echantillonnage

Les échantillons utilisés : 28 souches sauvages de *Plasmodium falciparum*.

Les souches ont été prélevées sur les patients atteints de paludisme simple.

Ces échantillons sont issus des 214 collectés au cours de l'étude du programme ICEMR effectuée à Dioro entre Juin 2014 et Décembre 2016.

Extrait de *Cassia nigricans* :

L'extrait alcoolique des feuilles de *Cassia nigricans* sous forme de patte est obtenu par une série de réactions chimiques établies dans le laboratoire de Chimie de la Faculté de Science et Technique (FAST) de Bamako.

4.2. Préparation des solutions et milieux de culture

a) Solution de NaCl à 12% et à 0,16% :

- Pour 50ml de NaCl à 12%

$$12\% \rightarrow \frac{12}{100} \rightarrow 0,12$$

Pour la décongélation il faut 0,1V de NaCl à 12% et nous voulons en préparer pour 50ml ce qui nous conduit au calcul suivant :

$$0,12 \times 0,1 \times 50 = 0,6$$

Nous diluons 0,6g de NaCl en poudre dans 50ml d'eau distillée pour obtenir le NaCl à 12%.

- Pour 50ml de NaCl à 0,16%

$$0,16\% \rightarrow 0,16/100 \rightarrow 0,016$$

Pour la décongélation il faut 10 V de NaCl à 0,16% comme nous allons en préparer pour 50ml, on effectue le calcul suivant :

$$0,016 \times 10 \times 50 = 8$$

Nous diluons 8g NaCl en poudre dans 50ml d'eau distillée pour obtenir le NaCl à 0,16%

b) Préparation du milieu RPMI

Pour préparer 1 litre de RPMI complet, nous utilisons le protocole suivant :

- Remplir un flacon d'un litre avec 950 ml d'eau de culture tissulaire
- Ajouter 10,44g de RPMI
- Ajouter 5,94g HEPES
- Ajouter 50 mg hypoxanthine/ 1 ml 5 N NaOH/9ml d'eau distillée (l'hypoxanthine doit être dans NaOH pour être en solution)
- Ajouter 0,5ml de gentamicine et l'éthanol puis filtrer
- Ajouter 50ml Albumax I 5%
- Ajouter 56ml de Bicarbonate de sodium 3,6% (faire des aliquotes stérilisées par filtration et Ph de 7,4)
- Filtrer
- Ajouter 50ml de sérum inactivé par la chaleur (56°C/1heure) qu'on peut stocker à – 20°C et 4°C pendant une semaine
- Préparer 3,6% de Bicarbonate de sodium : mettre 18g dans 500ml d'eau distillée, filtrer, faire une aliquote et congeler
- Préparer Albumax II 5% : 25g dans 500ml de RPMI

Suivre le même procédé mais nous préparons une quantité de 150ml :

1 litre → 1000ml, pour obtenir les quantités pour 150ml nous effectuons l'opération suivante pour obtenir un diviseur : $1000/150 = 6,6666667 \cong 7$

Nous utilisons 7 comme diviseur.

- HEPES : $5,94g/7 \rightarrow 0,848g$

- Hypoxanthine : 50mg/7 → 7,14mg ; 1ml/7 → 0,14ml NaOH ; 9ml/7 → 1,28ml d'eau distillée
- Gentamicine : 0,5ml/7 → 0,071ml
- Albumax I 5% : 50ml/7 = 7,14ml ;
- Bicarbonate de sodium à 3,6% : 56ml/7 = 8ml ;
- Sérum inactivé : 50ml/7 = 7,14 ml

Après les calculs nous procédons à la préparation du milieu RPMI

c) Dilution du DMSO

Le diméthylsulfoxyde (DMSO) est utilisé comme solvant de l'extrait de *Cassia nigricans* à plusieurs concentrations qui sont : 100% ; 1% ; 0,5% ; 0,1%.

Le stock de DMSO est à 100%. Réaliser différentes dilutions avec le RPMI pour obtenir les concentrations de 1% ; 0,5% et 0,1% à travers le tableau suivant :

Tableau I : Différentes dilutions

Concentration du DMSO	100 % (100ml)	1 % (100ml)	0,5 % (100ml)	0,1 % (100ml)
Dilutions	100 ml DMSO	1ml (DMSO) + 99 ml(RPMI)	0,5 ml (DMSO) +99,5ml(RPMI)	0,1ml (DMSO) +99,9 ml(RPMI)

4.3. Viabilité des souches de *P. falciparum*

a) Protocole de décongélation des souches

Les parasites conservés dans le glycerolytes a -80°C sont décongelés selon le protocole suivant :

- ✚ Ajouter goutte à goutte de 0,1V de 12% NaCl aux souches conservées dans le glycérolyte puis laisser reposer pendant 5 minutes.
- ✚ Ajouter goutte à goutte 10V de 1,6% NaCl puis laissé reposer pendant 5 minutes
- ✚ Centrifuger à 7500 rpm pendant 5 minutes.
- ✚ Enlever le surnageant et suspendre le culot avec 10V du milieu de culture incomplet puis centrifuger pendant 5 minutes 7500 rpm.

Enlever le surnageant et ajouter au culot 10 V du sérum AB.

Réaliser un frottis mince de chaque échantillon pour déterminer la parasitémie.

b) Culture des parasites sur milieu RPMI :

Après la sélection des échantillons et la décongélation, nous procédons à la culture des parasites sur le milieu RPMI complet. Utiliser les plaques de cultures stérilisées, chaque puits contient 150µl de RPMI + 50µl d'échantillon.

La plaque est placée dans la chambre de culture gazéifiée (5% CO₂, 5% O₂, 90% N₂) pendant deux minutes. La chambre est à son tour mise dans l'incubateur à CO₂ à 37°C pendant 72 heures.

Durant l'incubation effectuer régulièrement des frottis minces à chaque 24 h. Les lames sont colorées avec le May Grunwald Giemsa 10% pendant 15 mn puis la lecture se fait avec le microscope photonique de la marque MOTIC.

c) Frottis mince

Réalisation du frottis mince :

Après avoir pipeté le mélange contenu dans le puits, transférer 20µl du mélange dans un tube 1,5 centrifuger durant 5min à 12000rpm ;

Déposer le culot sur une lame en verre dépoli à l'aide d'une pipete, sur laquelle nous avons consigné les informations du mélange et la date.

La lame d'étalement reposant sur une surface dure et plane, mettre en contact le bord d'une deuxième lame propre avec le culot et on le laisse repartir le long du bord.

Pousser fermement la 2^e lame en la tenant inclinée à 45°C le long de la 1^{ère} lame. Veiller à ce que les lames restent en contact régulier pendant l'étalement.

Secher l'étalement ensuite fixer le frottis en plongeant la lame dans l'hétanol 70°.

Ensuite nous passons à la coloration avec le May Grunwald Giemsa à 10%

Pour 100ml de May Grunwald Giemsa 10% : nous diluons 10ml de May Grunwald Giemsa dans 90ml d'eau distillée.

Plonger les lames dans le Giemsa 10% durant 15 minutes, rincer à l'eau simple puis passer à la lecture.

d) Lecture

Les résultats sont révélés par une densité parasitaire calculée par la formule suivante :

$$\text{Nombre de parasites par } \mu\text{l} = \% \text{ d'hématie parasitées} \times 45000$$

Exemple : on compte 16 hématies parasitées sur 5 champs microscopique d'environ 300 hématies, le pourcentage d'hématie parasitée est donc : $(16 \times 100) / (5 \times 300) = \underline{1,06 \%}$

Le nombre de parasites par μl est donc $1,06 \times 45000 = \underline{48000 \text{ par } \mu\text{l}}$.

Durant la lecture nous prenons des photos avec le logiciel installé sur un ordinateur connecté au microscope.

4.4. Effet du solvant sur la croissance de *P. falciparum* cultivé sur milieu RPMI

Pour déterminer l'action du solvant sur la croissance de *P. falciparum*, les souches de parasites sont mises en présence du diméthylesulfoxyde sur milieu RPMI ;

Mélanger dans chaque puits de 200 μl : 150 μl de DMSO + 50 μl d'échantillon.

Réaliser la culture avec les différentes concentrations du DMSO : 100% ; 1% ; 0,5% ; 0,1%.

Cette culture sert de contrôle du solvant.

Les plaques suivent le même procédé d'incubation et de lecture comme avec le RPMI.

4.5. Effet de *Cassia nigricans* sur la croissance de *P. falciparum* cultivé sur milieu RPMI

Diluer la patte de *Cassia nigricans* à la concentration maximale de 125 $\mu\text{g/ml}$ selon (6). Les dilutions sont réalisées avec les différentes concentrations de DMSO.

Nous procédons à la culture avec dans chaque puits 100 μl de RPMI, 50 μl d'extrait de *Cassia nigricans* et 50 μl de parasites.

Les plaques sont mises en incubation pendant 72h en présence de gaz ; réaliser un frottis à chaque 24h et procéder à la lecture des lames (idem RPMI).

Pour chaque souche de parasite nous avons utilisé trois puits comportant les traitements écrits dans le tableau suivant :

Tableau II : Distribution des différents traitements

Puits 1 (contrôle culture)	Puits 2 (contrôle solvant)	Puits 3 (Test)
RPMI (150 µl)	DMSO 0,1% (150 µl)	RPMI 100 µl
Parasite (50 µl)	Parasite (50 µl)	Parasite (50 µl)
		Ech50 µl
200 µl	200 µl	200 µl



Figure 11 : Plaque de culture (Costar®, USA)



Figure 12 : Incubateur à CO₂ (VWR, Série 1001 502, Modèle 2325_2)

Une chambre de culture cellulaire avec la température, le taux d'humidité, le volume de CO₂ qui sont réglables pour permettre une bonne incubation.

4.6. Mesure de l'efficacité des extraits de *Cassia nigricans*

Nous avons pris comme indicateur d'efficacité lorsque le parasite n'arrive pas à se multiplier c'est-à-dire que les trophozoïtes ne se multiplient pas en schizontes par conséquent nous allons évaluer les stades parasitaires pour déterminer la présence ou l'absence des schizontes.

La présence de l'activité sera indiquée par l'absence de schizonte ou probablement de mérozoïtes qui résulteraient de la rupture du schizonte.

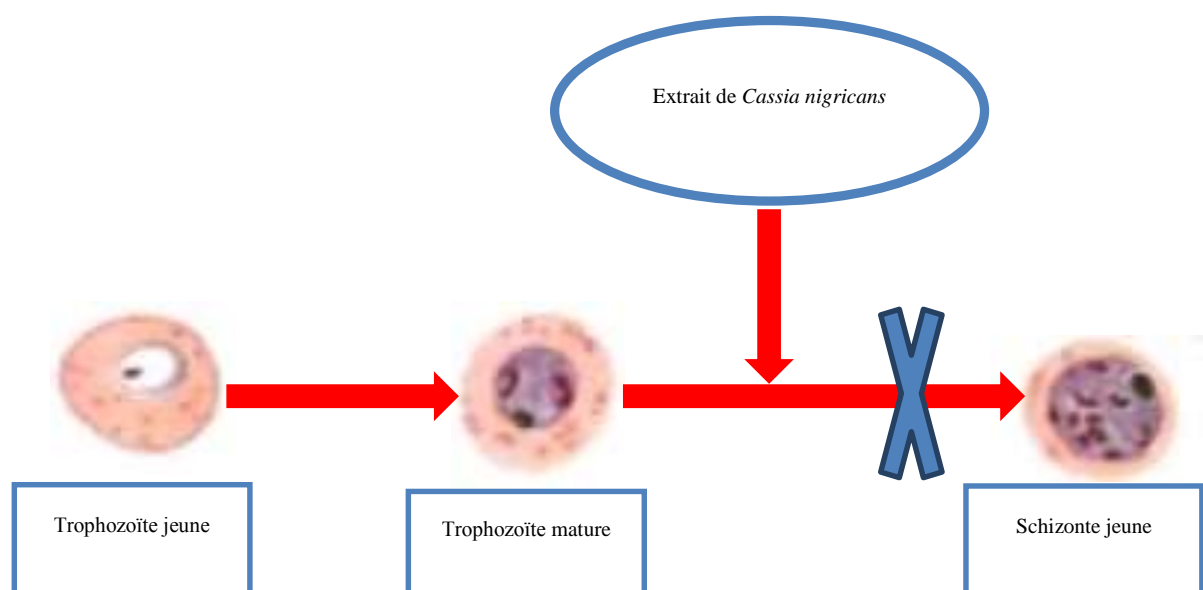


Figure 13 : Inhibition de la schizogonie par l'action de l'extrait de *Cassia nigricans*

5. RESULTATS

5.1. Viabilité des souches de *P. falciparum* sur le milieu RPMI

Au total 28 souches ont été décongelées et cultivées sur le milieu RPMI.

Le tableau III montre l'évolution de la parasitémie sur le milieu RPMI après la décongélation durant 72 heures.

Tableau III : Evolution de la densité parasitaire (p/μl) des souches de *P. falciparum* sur milieu RPMI

ID	Parasitemie/μl après décongélation	RPMI		
		24h	48h	72h
3KB0150	3250	2050	27000	3100
3KB0141	2500	1850	5985	8000
3KB0139	3725	7800	18000	21000
3KB0042	6275	9000	23875	36800
3KB0043	12125	9000	18000	22375
3KB0044	3500	5175	8000	11000
3KB0046	2950	4000	8175	6025
3KB0053	5325	4000	8000	2000
3KB0055	4000	5985	9000	11875
3KB0149	12025	15175	23000	25600
3KB0151	3125	5015	45000	48275
3KB0156	6125	5000	8000	5200
3KB0152	2350	6725	11000	8225
3KB0154	1875	1375	11250	16000
3KB0155	21000	18975	82350	91350
3KB0157	1825	2565	3475	1975
3KB0159	9875	8985	13075	14750
3KB0161	28150	30150	39000	46175
3KB0195	5150	6875	18250	1975
3KB0196	9875	8985	16175	18750
3KB0197	5675	5175	9000	11000
3KB0198	4600	7515	9375	10400
3KB0199	2000	3525	5985	7875
3KB0200	2075	6000	11250	10950
3KB0201	3850	4100	7375	8400
3KB0202	1800	2000	6000	7500
3KB0212	3925	5825	45000	48275
3KB0213	3000	4850	8000	9675

Les souches présentent une parasitémie après décongélation. Parmi ces 28 isolats nous avons testés seulement l'isolat 3KB0042 qui avait une parasitémie 6275 trophozoïtes/μl de sang. Nous avons observé la présence des parasites à 24 heures, 48 heures, 72 heures lorsque le milieu RPMI est utilisé seul.

4.7. Impact du DMSO sur la croissance des souches de *P. falciparum*

Nous avons utilisé le Diméthyle Sulfoxyde (DMSO) afin qu'il permette de libérer les composés chimiques des extraits de plante (39). Nous avons estimé les concentrations optimales permettant la croissance des parasites.

Tableau IV : Impact du Diméthyle sulfoxyde (DMSO) sur la culture

Temps DMSO Concentration	Identifiant	J0	24H	48H	72H
100%	3KB0156	4950	0	0	0
1%	3KB0139	8250	0	0	0
0,5%	3KB0042	3900	1025	2225	1800
0,1%	3KBOO42	3900	1625	4875	3925

Dans ce tableau nous remarquons que les parasites étaient viables jusqu'à 72H avec les concentrations de DMSO de 0,1% et 0,5%. La culture n'était pas possible avec une concentration de 100% et de 1% du DMSO. Par contre elle était optimale à 0,1% et 0,5%.

4.8. Impact de *Cassia nigricans* sur la croissance des souches de *P. falciparum*

Le tableau V montre les résultats de la culture de *Plasmodium falciparum* en fonction de l'extrait de *Cassia nigricans* et du Diméthylsulfoxyde utilisé comme solvant à des concentrations de 0,1% et 0,5% pendant 72 heures

Tableau V : Impact du DMSO + Extrait de *Cassia nigricans*

Temps Traitements	Identifiant	J0	24H	48H	72H
RPMI+Parasites	3KB0042	3900	2725	4200	
RPMI+DMSO (0,1%) + Parasites	3KB0042	3900	1625	4875	3925
RPMI+DMSO (0,5%) + Parasites	3KB0042	3900	1025	2225	1800
RPMI+Parasites + DMSO (0,1%)+Extrait	3KB0042	3900	0	0	0
RPMI+Parasites + DMSO (0,5%)+Extrait	3KB0042	3900	0	0	0

Notre échantillon contient 3900 trophozoïtes avant la mise en culture donc au temps 0 ; le RPMI étant notre milieu de culture, est utilisé comme contrôle (ne contenant pas de DMSO ni d'extrait de *Cassia nigricans*) dont nous voyons une évolution de la parasitemie entre 24H et 48H d'incubation.

En présence du DMSO à 0,1% et 0,5% les parasites sont vivants en culture avec une évolution de la parasitémie à 48 heures et 72 heures. Ce milieu ne contient pas d'extrait de *C. nigricans*. Par contre avec le milieu de culture contenant les extraits de *C. nigricans* avec une concentration de DMSO à 0,1% et 0,5% les parasites n'arrivent pas à se multiplier après une culture sur 72 heures. Aucun parasite n'était visible à 24 heures après la culture.

A travers ce tableau nous pouvons dire que le DMSO à faible concentration (0,5% ou 0,1%) n'a pas d'impact sur l'évolution de *P. falciparum*, par contre l'extrait de *Cassia nigricans* ne permet pas la viabilité des parasites donc les parasites ne se multiplient plus.

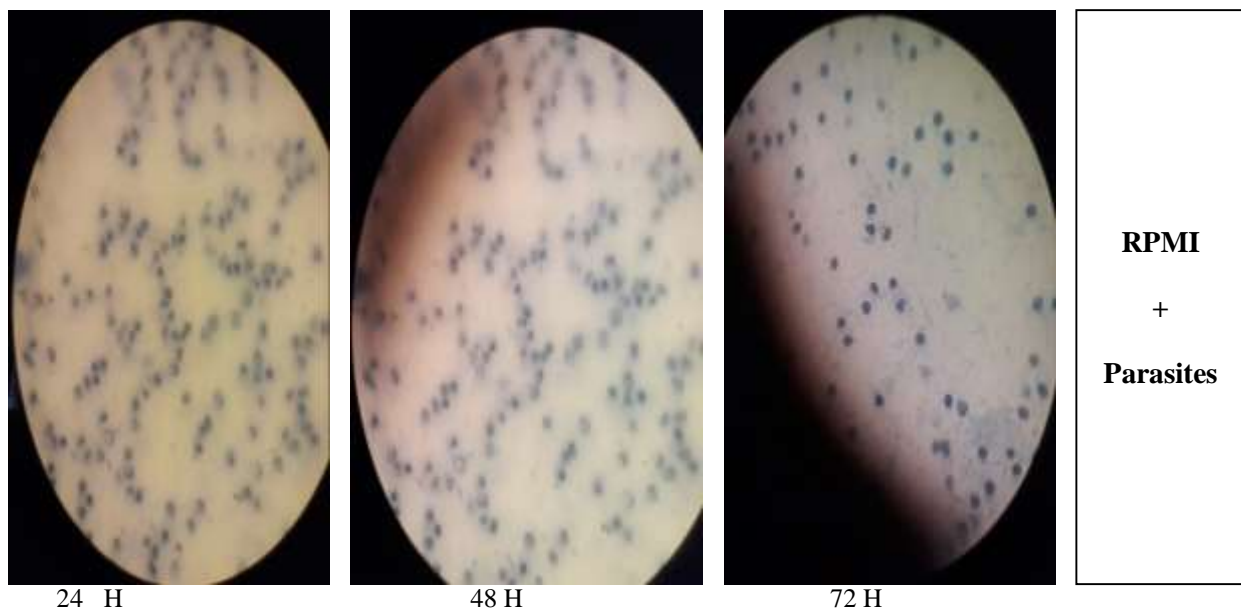


Figure 14 : Milieu RPMI + Parasites

Nous avons mis les isolats de 3KB0042 uniquement dans le milieu RPMI et nous avons observé pendant 72 heures. Avant la culture les isolats de *P. falciparum* étaient tous sous forme de jeunes trophozoïtes. A 24 heures, nous avons observé des trophozoïtes âgés ou en état de multiplication. A 48 heures, les trophozoïtes matures ont été observés. A 72 heures, il y a la présence des trophozoïtes âgés.

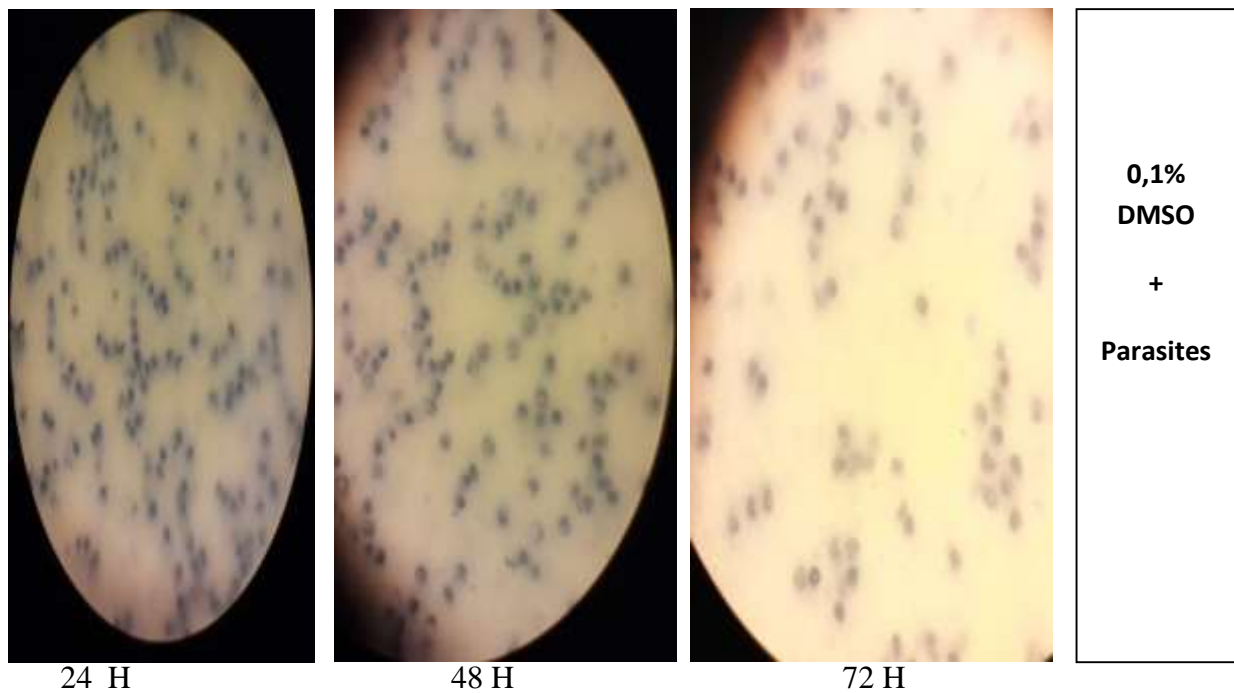


Figure 15 : Milieu RPMI + 0,1% DMSO + Parasites

Nous avons mis les isolats 3KB0042 en présence du milieu RPMI contenant le DMSO à 0,1% que nous avons observés pendant 72 heures. Avant la culture les isolats de *P. falciparum* étaient tous sous forme de jeunes trophozoïtes. Après 24 heures, nous observons la maturation des trophozoïtes. A 48 heures, nous remarquons la présence de trophozoïtes jeunes dans le champ microscopique. A 72 heures, il y a présence de trophozoïtes en voie de maturation.

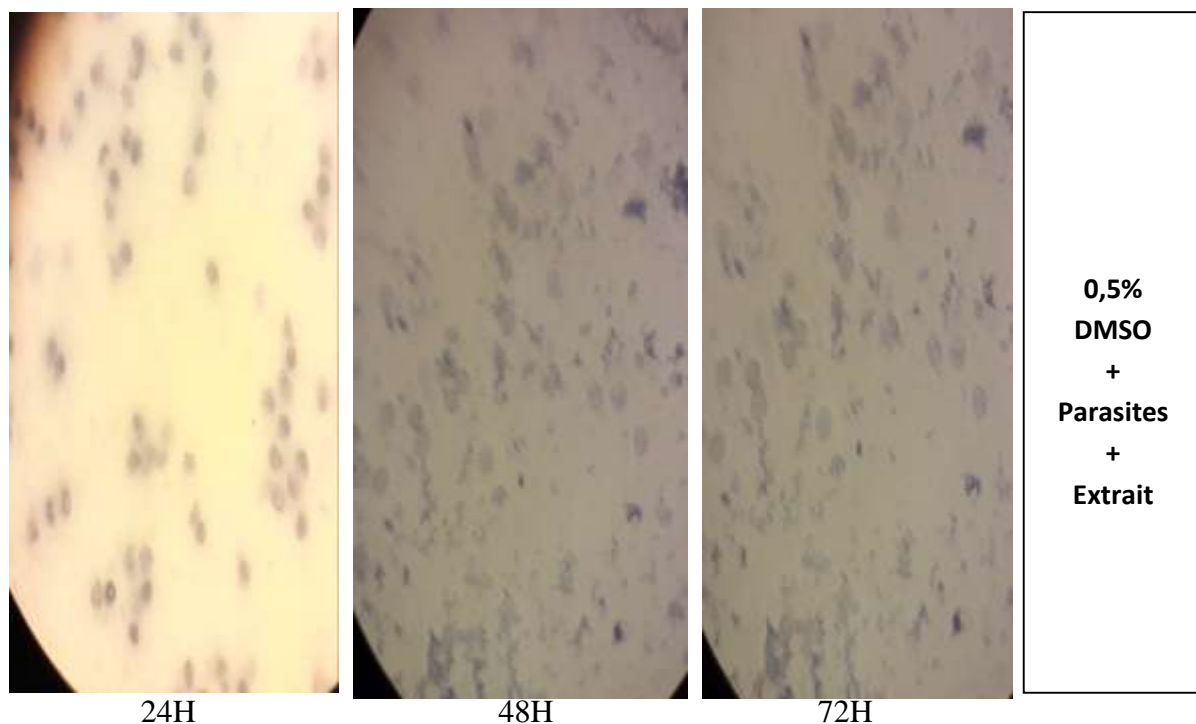


Figure 16 : Milieu RPMI + 0,5% DMSO + Parasites + Extrait de *C. nigricans*

Nous avons soumis les isolats 3KB0042 aux extraits de *Cassia nigricans* contenus dans le milieu RPMI avec le solvant à 0,5% et nous avons suivis pendant 72 heures. Avant la culture, les isolats de *P. falciparum* étaient tous sous forme de jeunes trophozoïtes. Après 24 heures, les isolats de *P. falciparum* étaient rabougris et avec des cytoplasmes réduits. A 48 heures, les cellules plasmodiales étaient altérées, le noyau n'étant pas bien coloré avec le giemsa et indiquant ainsi des cellules mortes. A 72 heures, aucune structure ressemblant à un parasite n'était visible dans le champ microscopique.



**COMMENTAIRES
& DISCUSSION**

6. COMMENTAIRES ET DISCUSSION

Le but de notre étude était de voir l'activité antipaludéenne de *Cassia nigricans* sur des souches de *Plasmodium falciparum*.

6.1. Lieu d'étude

Notre étude s'est déroulée au LBMA précisément sur les souches de *Plasmodium falciparum* collectées à Dioro du projet ICEMR lors de l'étude d'efficacité de l'artemether et luméfantrine.

6.2. Méthodologie

Nous avons utilisé 28 souches de *Plasmodium falciparum*.

Ces échantillons sont issus des 214 collectés au cours de l'étude du programme ICEMR effectuée à Dioro entre Juin 2014 et Décembre 2016.

L'extrait alcoolique des feuilles de *Cassia nigricans* sous forme de patte est obtenu par une série de réaction chimique établit dans le laboratoire de chimie de la faculté de science et technique (FAST) de Bamako.

Les parasites conservés dans le glycerolytes a -80°C sont décongelés selon le protocole (page 47).

Après la sélection des échantillons et la décongélation nous procédons à la culture.

La culture se fait selon plusieurs traitements pour une confirmation de l'expérience, pour cela nous avons effectué un contrôle du milieu (Cc), un contrôle du solvant (Cs) et enfin le test (T). Le solvant est le diméthylsulfoxyde (DMSO) qui est utilisé à plusieurs concentrations qui sont 100 % ; 1% ; 0,5% ; 0,1%. Ces différentes dilutions ont été réalisées avec le RPMI.

Les différents tests ont été faits en trois phases, nous avons fait d'abords avec la concentration de DMSO à 100% après 1% en fin 0,5 % et 0,1%.

6.3. Résultat

Nous avons utilisé 28 souches de *P. falciparum* pour notre étude, toutes présentaient une parasitémie après décongélation. Pour vérifier que ces parasites étaient viables, nous les avons cultivés sur milieu RPMI ; le milieu RPMI utilise un système tampon au bicarbonate, il a démontré une large applicabilité pour soutenir la croissance de nombreux types de cellule en culture.

Le milieu est préparé selon le protocole de *West African ICEMR* ;

Après 72 heures d'incubation à 37°C, nous constatons que la parasitémie est évolutive après chaque 24 heure ce qui nous amène à dire que les parasites sont vivants.

Le diméthylesufoxyde DMSO est un solvant organique soufré doté de propriétés de solubilisation. Le DMSO peut transporter une grande quantité de molécules et les diffuser dans l'organisme et à travers les membranes cellulaires. Nous l'utilisons comme solvant de l'extrait de *Cassia nigricans*.

Le DMSO à la concentration de 100% et 1% ne permet pas aux parasites de vivre et de se multiplier.

Alors qu'avec les concentrations de DMSO de 0,1% et 0,5% nous remarquons que les parasites étaient viables jusqu'à 72H (**Tab V**).

Nous pouvons dire que le DMSO à faible concentration (0,5% ou 0,1%) n'a pas d'impact sur l'évolution de *P. falciparum*, et permettrait ainsi la diffusion des molécules de l'extrait de *C. nigricans* à travers les membranes parasitaires. Aucune croissance de *P. falciparum* sur le milieu RPMI en présence d'extrait de *C. nigricans* n'a été observée au cours de cette étude. Cela denote de l'activité inhibitrice de la schizogonie par les molécules de *C. nigricans*.

Nos résultats vont dans le même sens que celui de R. Sadou Nassirou et collaborateur qui ont utilisés la méthode de l'OMS/2001 ou test de Mark III pour déterminer l'activité antiplasmodiale de *Cassia nigricans* et d'autres plantes issues de la pharmacopée du Niger ; l'activité antiplasmodiale des différents extraits est révélée par la variation de l'inhibition de la croissance (IC₅₀) (**40**)

Ainsi que l'étude d'Obiageri O. Obodozie et al. Qui ont étudié l'activité antiplasmodiale de *Cassia nigricans*, 1,3,8-trihydroxy-6-méthyl-9,10-anthracenedione sur le *Plasmodium falciparum*. (**41**)



CONCLUSION & RECOMMENDATIONS



CONCLUSION & RECOMMENDATIONS

7. CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

Conclusion

Le paludisme continue d'être un véritable problème de santé publique. Son contrôle concerne aussi l'évaluation *in vivo* et *ex vivo*

Notre étude montre que *Plasmodium falciparum* ne peut pas se multiplier en présence de l'extrait de *Cassia nigricans*. La concentration optimale de DMSO comme diluant se situe entre 0,5% à 0,1% du milieu RPMI.

A travers nos résultats nous pouvons dire que l'extrait de *Cassia nigricans* possède des propriétés antiplasmodiales.

Dans le future *Cassia nigricans* pourrait faire partir des nouvelles molécules développées dans la lutte contre le paludisme.

Recommandations

Au terme de notre test, nous recommandons :

❖ Au Laboratoire de chimie :

De procéder à l'évaluation chimique des composés organiques de *Cassia nigricans* ;

❖ Au LBMA :

- Poursuivre le test à fin d'estimer la concentration inhibitrice 50 (CI₅₀) ;
- Tester *Cassia nigricans* sur les souches résistantes à la chloroquine (comme exemple)
- Travailler en collaboration avec le Labo de chimie pour mettre en place une plate-forme d'évaluation des plantes médicinales antipaludiques ;

❖ Au programme national de lutte contre le paludisme PNLP :

- Développer des réflexions sur la phytothérapie qui présente beaucoup de vertus non exploitées en plus des moyens de traitement par les molécules industrielles.



REFERENCES

8. REFERENCE

1. Rapport sur le paludisme dans le monde Décembre 2016/ disponible sur www.who.int/malaria/media/world-malaria-report-2017/fr
2. Paludismes- Principaux faits- OMS (27 Mars 2019)
3. World Health Organization. World malaria report 2013. Geneva :WHO, 2014/ diponible sur www.who.int
4. Status report on artemisinin and ACT resistance; Septembre 2015. WHO/HTM/GMP.2015/ disponible sur www.who.int
5. Rapport 2009 sur le paludisme dans le monde. www.who.int
6. Grace I. Olasehinde et al. In vitro studies on the sensitivity pattern of *Plasmodium falciparum* to anti-malarial drugs and local herbal extracts. *Malaria Journal* 2014, 13:63/ disponible sur [http:// www.malariajournal.com](http://www.malariajournal.com)
7. G.F. Nsonde-Ntandou et al. Screening chimique et efficacité thérapeutique de quelques plantes utilisées contre le paludisme en médecine traditionnelle à Brazzaville
8. Mamadou L. Diarra et al. Plantes médicinales utilisées dans le traitement traditionnel du paludisme à Bamako (Mali). Août 2016 ; *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 10 (4) : 1534-1541.// www.ifgdg.org
9. OMS Aide-mémoire n°94 Novembre 2017/ disponible sur www.who.int
10. Mali Enquête sur les Indicateurs du Paludisme (EIPM) 2015 [MIS 24]- The DHS Program / disponible sur [https : // www.dhsprogram.com](https://www.dhsprogram.com)> pubs
11. Médecine tropicale Paludisme Actualités 2016/ Professeur Pierre Aubry, Docteur Bernard-Alex Gauzère./ disponible sur www.medecinetropicale.com
12. Vecteurs et facteurs d'environnement du paludisme. Mouchet Jean (1999) *Transfusion clinique et biologiques*,6, 35-43. ISSN 1246-7820

13. *Plasmodium knowlesi* malaria in human is widely distributed and potentially life threatening. Janet Cox-Singh, PhD, Timothy M.E. Davis, MBBS, DPhil [...], and Balbir Singh, PhD;
14. Paludisme. Association Française des Enseignants de Parasitologie et Mycologie (ANOFEL 2014) / Université Médicale Virtuelle Française/ disponible sur www.campus.cerimes.fr/site/html/cours
15. Genome sequence of the human malaria parasite *Plasmodium falciparum*. Gardner MS, et al. Nature.2002/ www.ncbi.nlm.nih.gov
16. *Plasmodium malariae* and *Plasmodium ovale*- the 'bashful' malaria parasite. Ivo Mueller, Peter A Zimmerman, John C Reeder. *Trands in parasitology* 23(6), 278-283, 2007
17. . Tchomtchoua AS. Etude de la réinfection à *Plasmodium falciparum* chez les enfants âgés de 1-9 an de Missira après clairance parasitaire en zone endémique nord saharienne du Mali. [Thèse de Pharmacie]. [Bamako]: USTT-B; 2008.
18. Marc GENTILINI. *Medecine Tropicale*. 5^{ème} édition-1993
19. Pr Pichard E Semaine thématique paludisme : Antipaludiques. Semaine thématique présenté à; 2003 Décembre Pharmacologie Clinique DCEM3.
20. Dr Filisetti D, Pr Monassier L. « Les antipaludéens ». 2012 Janv.; Faculté de Médecine de Strasbourg, Module de Pharmacologie Clinique DCEM3
21. . Microsoft Word - paludisme.doc - paludisme.pdf [Internet]. [cité 28 Avril 2015]. Disponible sur: <http://medecinetricale.free.fr/cours/paludisme.pdf>
22. GAN, Linda Seo Hwee et LOH, Jin Phang. Rapid identification of chloroquine and atovaquone drug resistance in *Plasmodium falciparum* using high-resolution melt polymerase chain reaction. *Malaria journal*, 2010, vol. 9, no 1, p. 1
23. OMS/ Rapport sur le paludisme dans le monde 2018// [www.who.int](http://www.who.int/malaria) < malaria < report
24. MOGODE DEBETE, Judith; Etude phytochimique et pharmacologique de *Cassia nigricans* Vahl (Caesalpiniaceae) utilisé dans le traitement des dermatoses au Tchad / Thèse de pharmacie 2004-2005 page 107, 109

25. Phytochemical constituents and bioactivities of the extracts of *Cassia nigricans* Vahl: A review R. G. Ayo/ Journal of Medicinal Plants Research Vol.4 (14), pp. 1339-1348 July, 2010/ disponible sur <http://www.academicjournals.org/JMPR>
26. Daziel JM (1948) Useful plants of West Tropical Africa. Crown Agents for the Colonies, London, pp. 178-180
27. Irvine FR (1961) Woody Plants of Ghana (With Special Reference to Their Uses) Oxford University Press, London, pp. 285-286
28. Harbone JB (1984) Phytochemical methods, Second edition, Chapman and Hall, London, pp.8-33
29. Edeoga HO, Okwu DE, Mbaebie BO (2005) Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants. Afr. J. Biotechnol, 4 (7): 685
30. Tiwari RD, Yadava OP (1971) The flavonoids of *Cassia javanica* flowers, Phytochemistry, 10: 2256-2263
31. Yen GC, Chen HW, Duh PH (1998) Extraction and identification of an antioxidative component from *Jue mingzi* (*Cassia tora* L.) J. Agric. Food Chem. 46: 820-824
32. Bahorun T, Neergheen VS, Aruoma OI (2005). Phytochemical constituents of *Cassia fistula*. Afr. J. Biotechnol. 4 (13): 1530-1540
33. George K, Jayaprakasam B, Dalavoy SS, Nair MG (2008) Pest-managing activities of plants extracts and anthraquinones from *Cassia nigricans* from Burkina Faso. Bioresour. Technol. 99(6): 2037-2045
34. Singh J, Tiwari RD (1980) Anthraquinones and flavonoids of *Cassia laevigata* roots. Phytochemistry 19: 1253-1254
35. Singh J. (1982). Two chromones glycosides from *Cassia multijuga*. Phytochemistry, 21: 1177-1179

36. Aka PA, Nwambie AI (1993) Nigerian plants with anticonvulsant property. *Fitoterapia*, 64: 42-44
37. Aka PA, Orisakwe LE, Nwafor SV, Gamaniel KS (1998b) Prospects of natural plants products as antiulcer agents. *J. Pharmaceut. Res. Dev.* 3(2): 57-62
38. Belmain SR, Neal GE, Ray DE, Golob P (2001) Insecticidal and vertebrates toxicity associated with ethnobotanicals used as post-harvest protectants in Ghana. *Food Chem. Toxicol.* 39: 287-291
39. Kathrin-Maria Roy, *Ullmans Encyclopedia of Industrial Chemistry, Sulfoxes and Sulfoxide*, Wiley-VCH Verlag, 2000
40. R. Sadou Nassirou <<Evaluation in vitro de l'activité antiplasmodiale d'extraits de plantes issues de la pharmacopée traditionnelle du Niger: *Sebastiania chamaelea* (L.) Müll.Arg., *Euphorbia hirta* L., *Cassia occidentalis* L., et *Cassia nigricans* (Vahl) Greene<< *International Journal of Innovation and Applied Studies* ISSN 2028-9324 Vol. 10 No 2, Feb 2015, pp. 498-505
41. Obiageri O. Obodozie << Antiplasmodial Principles from *Cassia nigricans*<< *Pharmaceutical Biology* 2004, Vol 42, No 8, pp. 626—628<< (2004)

RESUME

Introduction

Le paludisme est un fléau dans le monde, il touche une grande partie de l'Afrique subsaharienne où il continue de faire des ravages. Mais grâce à l'avancer des recherches, les plantes médicinales représentent de nouvelles alternatives accessibles pour ces populations.

Résultat

L'activité antipaludique de *Cassia nigricans* est évaluée sur l'échantillon 3KB0042 sélectionné parmi les 28 souches sauvages de *Plasmodium falciparum* issues de l'étude du programme ICEMR de Dioro (2014-2016).

Les parasites sont cultivés sur le milieu RPMI uniquement. Sur 72 heures, les parasites sont viables avec une croissance linéaire.

Le DMSO est le solvant utilisé pour permettre la libération des principes actifs du *Cassia nigricans*. Les concentrations optimales de Diméthylsulfoxyde utilisées pour la culture se situent entre 0,5% et 0,1%.

La culture des parasites en présence de l'extrait de *Cassia nigricans* dilué dans le DMSO (0,5% et 0,1%) et en présence du RPMI ne permet pas la viabilité des parasites. Les parasites ne se multiplient plus.

Conclusion

Les propriétés antipaludiques de l'extrait de *Cassia nigricans* sont exploitables.



ANNEXES

ANNEXES

SERMENT DE GALIEN

Je jure en présence des maîtres de la Faculté, des conseillers de l'ordre des Pharmaciens et de mes chers condisciples.

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;

D'exercer dans l'intérêt de la santé publique ma profession, avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine. En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

Je le jure !