

MINISTERE DE L'EDUCATION
NATIONALE

REPUBLIQUE DU MALI

Un Peuple – Un But – Une Foi

UNIVERSITE DE BAMAKO



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

Année universitaire: 2005-2006

N°.....

TITRE:

**ETUDE DE ARGEMONE MEXICANA LINN DANS LE TRAITEMENT
TRADITIONNEL DU PALUDISME NON COMPLIQUE
DANS LE VILLAGE DE MISSIDOUYOU
REGION DE SIKASSO - MALI**

THESE

*Présentée et soutenue publiquement le 12 janvier 2006 devant la Faculté de Médecine, de
Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie du Mali*

Par Monsieur Oumar Moussa SIDIBE

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

JURY

Président :

Pr. Amadou DIALLO

Membres :

Pr. Amagana DOLO

Dr. Sergio GIANI

Directeur de Thèse :

Pr. Drissa DIALLO

MINISTÈRE DE L'ÉDUCATION

NATIONALE

UNIVERSITÉ DE BAMAKO

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PHARMACIE ET D'ODONTO-STOMATOLOGIE

Année universitaire: 2005-2006

N°.....

REPUBLIQUE DU MALI

Un Peuple – Un But – Une Foi



TITRE:

**ETUDE DE ARGEMONE MEXICANA LINN DANS LE TRAITEMENT
TRADITIONNEL DU PALUDISME NON COMPLIQUE
DANS LE VILLAGE DE MISSIDOUYOU
REGION DE SIKASSO - MALI**

THESE

*Présentée et soutenue publiquement le 12 janvier 2006 devant la Faculté de Médecine, de
Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie du Mali*

Par Monsieur Oumar Moussa SIDIBE

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

JURY

Président : Pr. Amadou DIALLO

Membres : Pr. Amagana DOLO

Dr. Sergio GIANI

Directeur de Thèse : Pr. Drissa DIALLO

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

ANNEE UNIVERSITAIRE 2005 – 2006

ADMINISTRATION

DOYEN : **MOUSSA TRAORE** - PROFESSEUR

1ER ASSESSEUR : **MASSA SANOGO** - MAITRE DE CONFERENCES

2ème ASSESSEUR : **GANGALY DIALLO** - MAITRE DE CONFERENCES AGREGE.

SECRETAIRE PRINCIPAL : **YEMENIGUE ALBERT DEMBELE** - MAITRE DE
CONFERENCES AGREGE.

AGENT COMPTABLE : **MADAME COULIBALY FATOUMATA TALL** –
CONTRÔLEUR DES FINANCES

LES PROFESSEURS HONORAIRES

Mr Alou BA	Ophtalmologie
Mr Bocar SALL	Orthopédie -Traumatologie - Secourisme
Mr Souleymane SANGARE	Pneumo-phtisiologie
Mr Yaya FOFANA	Hématologie
Mr Mamadou L. TRAORE	Chirurgie Générale
Mr Balla COULIBALY	Pédiatrie
Mr Mamadou DEMBELE	Chirurgie Générale
Mr Mamadou KOUMARE	Pharmacognosie
Mr Mohamed TOURE	Pédiatrie
Mr Ali Nouhoum DIALLO	Médecine interne
Mr Aly GUINDO	Gastro-Entérologie.

LISTE DU PERSONNEL ENSEIGNANT PAR D.E.R. & PAR GRADE

D.E.R DE CHIRURGIE ET SPECIALITES CHIRURGICALES

1. PROFESSEURS

Mr Abdel Karim KOUMARE	Chirurgie Générale
Mr Sambou SOUMARE	Chirurgie Générale
Mr Abdou Alassane TOURE	Orthopédie - Traumatologie, chef de D.E.R
Mr Kalilou OUATTARA	Urologie.
Mr Amadou DOLO	Gynéco-Obstétrique
Mr Alhousseini Ag MOHAMED	O.R.L.

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Djibril SANGARE	Chirurgie Générale
Mr Abdel Kader TRAORE Dit DIOP	Chirurgie Générale
Mr Abdoulaye DIALLO	Anesthésie - Réanimation
Mr Gangaly DIALLO	Chirurgie Viscérale
Mr Abdoulaye DIALLO	Ophtalmologie
Mamadou TRAORE	Gynéco-Obstétrique

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mme SY Aïda SOW	Gynéco-Obstétrique
Mr Salif DIAKITE	Gynéco-Obstétrique
Mr Filifing SISSOKO	Chirurgie Générale
Mr Sékou SIDIBE	Orthopédie -Traumatologie
Mr Abdoulaye DIALLO	Anesthésie - Réanimation
Mr Tiéman COULIBALY	Orthopédie - Traumatologie
Mme TRAORE J. THOMAS	Ophtalmologie

4.MAITRES ASSISTANTS

Mme DIALLO Fatimata S. DIABATE	Gynéco-Obstétrique
Mr Mr Sadio YENA	Chirurgie Générale
Mr Issa DIARRA	Gynéco-obstétrique
Mr Youssouf COULIBALY	Anesthésie - Réanimation
Mr Samba Karim TIMBO	ORL
Mme TOGOLA Fanta KONIPO	ORL

5.ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Mr Mamadou L. DIOMBANA	Stomatologie
Mr Nouhoum ONGOIBA	Anatomie & Chirurgie Générale
Mr Zanafon OUATTARA	Urologie
Mr Zimogo Zié SANOGO	Chirurgie Générale
Mr Adama SANGARE	Orthopédie - Traumatologie
Mr Sanoussi BAMANI	Ophtalmologie
Mr Doulaye SACKO	Ophtalmologie
Mr Ibrahim ALWATA	Orthopédie – Traumatologie
Mr Aly TEMBELY	Urologie
Mr Niani MOUNKORO	Gynécologie - Obstétrique
Mme Djénéba DOUMBIA	Anesthésie-Réanimation
Mr Lamine TRAORE	Ophtalmologie
Mr Mady MACALOU	Orthopédie -Traumatologie
Mr Tiémoko D COULIBALY	Odontologie
Mr Souleyman TOGORA	Odontologie
Mr Mohamed KEITA	ORL

D.E.R DE SCIENCES FONDAMENTALES

1. PROFESSEURS

Mr Daouda DIALLO	Chimie Générale & Minérale
Mr Bréhima KOUMARE	Bactériologie-Virologie
Mr Siné BAYO	Anatomie-Pathologie- Histoembryologie
Mr Amadou DIALLO	Biologie
Mr Moussa HARAMA	Chimie Organique
Mr Ogobara DOUMBO	Parasitologie – Mycologie

2.MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Yénimégué Albert DEMBELE	Chimie Organique
Mr Anatole TOUNKARA	Immunologie, chef de D.E.R
Mr Amadou TOURE	Histo - embryologie
Mr Flabou Bougoudogo	Bactériologie-Virologie
Mr Amagana DOLO	Parasitologie

3.MAITRES DE CONFERENCES

Mr Bakary M. CISSE	Biochimie
Mr Abdrahamane S. MAIGA	Parasitologie
Mr Adama DIARRA	Physiologie
Mr Mamadou KONE	Physiologie
Mr Massa SANOGO	Chimie Analytique
Mr Mahamadou CISSE	Biologie
Mr Sékou F.M. TRAORE	Entomologie médicale
Mr Abdoulaye DABO	Malacologie, Biologie Animale
Mr Ibrahim I. MAIGA	Bactériologie - Virologie

4.MAITRES ASSISTANTS

Mr Abdrahamane TOUNKARA	Biochimie
Mr Moussa Issa DIARRA	Biophysique
Mr Kaourou DOUCOURE	Biologie
Mr Bouréma KOURIBA	Immunologie
Mr Souleymane DIALLO	Bactériologie-Virologie
Mr Cheick Bougadari TRAORE	Anatomie-pathologie
Mr Lassana DOUMBIA	Chimie Organique
Mr Mounirou BABY	Hématologie
Mr Mahamadou A. THERA	Parasitologie

5. ASSISTANTS

Mr Mangara M BAGAYOGO	Entomologie Moléculaire Médicale
Mr Guimogo DOLO	Entomologie Moléculaire Médicale
Mr Abdoulaye TOURE	Entomologie Moléculaire Médicale
Mr Djibril SANGARE	Entomologie Moléculaire Médicale
Mr Mouctar DIALLO	Biologie-Parasitologie
Mr Bokary Y. SACKO	Biochimie
Mr Boubacar Traoré	Immunologie

D.E.R DE MEDECINE ET SPECIALITES MEDICALES

1. PROFESSEURS

Mr Abdoulaye Ag RHALY	Médecine Interne
Mr Mamadou K. TOURE	Cardiologie
Mr Mahamane K. MAIGA	Néphrologie
Mr Baba KOUMARE	Psychiatrie, chef de DER
Mr Moussa TRAORE	Neurologie
Mr Issa TRAORE	Radiologie
Mr Mamadou M. KEITA	Pédiatrie
Mr Hamar Alassane TRAORE	Médecine Interne
Mr Dapa Aly DIALLO	Hématologie
Moussa Y. MAIGA	Gastro-entérologie

2.MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Toumani SIDIBE	Pédiatrie
Mr Bah KEITA	Pneumo - Phtisiologie
Mr Boubacar DIALLO	Cardiologie
Mr Somita KEITA	Dermato - Léprologie
Mr Mr Abdel Kader TRAORE	Médecine Interne
Mr Siaka SIDIBE	Radiologie
Mr Mamadou DEMBELE	Médecine Interne

3.MAITRES DE CONFERENCES

Mr Mamady KANE	Radiologie
Mr Saharé FONGORO	Néphrologie
Mr Bakoroba COULIBALY	Psychiatrie

4.MAITRES ASSISTANTS

Mme Tatiana KEITA	Pédiatrie
Mme TRAORE Mariam SYLLA	Pédiatrie
Mr Adama D. KEITA	Radiologie
Mme SIDIBE Assa TRAORE	Endocrinologie
Mme Habibatou DIAWARA	Dermatologie

5. ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Mr Bou DIAKITE	Psychiatrie
Mr Bougouzié SANOGO	Gastro-entérologie
Mr Kassoum SANOGO	Cardiologie
Mr Seydou DIAKITE	Cardiologie
Mr Mahamadou B. CISSE	Pédiatrie
Mr Arouna TOGORA	Psychiatrie
Mme Diarra Assetou SOUCKO	Médecine interne
Mr Boubacar TOGO	Pédiatrie
Mr Mohamadou TOURE	Radiologie
Mr Idrissa A CISSE	Dermatologie

Mr Mamadou B DIARRA	Cardiologie
Mr Anselme KONATE	Hepato-gastro-enterologie
Mr Moussa T DIARRA	Hepato-gastro-enterologie
Mr Souleymane DIALLO	Pneumologie
Mr Souleymane COULIBALY	Psychologie
Mr Daouda K MINTA	Maladies infectieuses
Mr Soungalo DAO	Maladies infectieuses
Mr Cheick Oumar GUINTO	Neurologie

D.E.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

1.PROFESSEUR

Mr Boubacar Sidiki CISSE	Toxicologie
Mr Gaoussou KANOUTE	Chimie analytique, chef de D.E.R.

2.MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Ousmane DOUMBIA	Pharmacie Chimique
Mr Drissa DIALLO	Matières Médicales

3.MAITRES DE CONFERENCES

Mr Boulkassoum HAIDARA	Législation
Mr Elimane MARIKO	Pharmacologie

4.MAITRES ASSISTANTS

Mr Benoît KOUMARE	Chimie Analytique
Mr Alou KEITA	Galénique
Mr Ababacar I. MAIGA	Toxicologie
Mr Yaya KANE	Galénique

5. ASSISTANTS

Mme Rokia Sanogo	Pharmacognosie
Mr Saibou MAIGA	Législation
Mr Ousmane GOITA	Parasitologie Moléculaire

D.E.R. DE SANTE PUBLIQUE

1.PROFESSEUR

Mr Sidi Yaya SIMAGA	Santé Publique, chef de D.E.R.
---------------------	---------------------------------------

2.MAITRE DE CONFERENCES AGREGE

Mr Moussa A. MAIGA	Santé Publique
--------------------	----------------

3.MAITRE DE CONFERENCES

Mr Sanoussi KONATE **Santé Publique**

4.MAITRES ASSISTANTS

Mr Bocar G. TOURE	Santé Publique
Mr Adama DIAWARA	Santé Publique
Mr Hamadoun SANGHO	Santé Publique
Mr Massambou SACKO	Santé Publique
Mr Alassane A DICKO	Santé publique

5.ASSISTANTS.

Mr Samba DIOP	Anthropologie médicale
Mr Seybou DOUMBIA	Epidémiologie
Mr Oumar THIERO	Biostatistique

CHARGES DE COURS & ENSEIGNANTS VACATAIRES

Mr N'Golo DIARRA	Botanique
Mr Bouba DIARRA	Bactériologie
Mr Salikou SANOGO	Physique
Mr Boubacar KANTE	Galénique
Mr Souleymane GUINDO	Gestion
Mme DEMBELE Sira DIARRA	Mathématiques
Mr Modibo DIARRA	Nutrition
Mme MAIGA Fatoumata SOKONA	Hygiène du Milieu
Mr Mahamadou TRAORE	Génétique
Mr Yaya COULIBALY	Législation

ENSEIGNANTS EN MISSION

Pr. Doudou BA	Bromatologie
Pr. Babacar FAYE	Pharmacodynamie
Pr. Eric PICHARD	Pathologie Infectieuse
Pr. Mounirou CISSE	Hydrologie
Pr. Amadou Papa DIOP	Biochimie

DEDICACES

Je dédie ce travail tout d'abord à **ALLAH**

Le Tout Miséricordieux, le Très Miséricordieux.

« ...qui a enseigné par la plume [le calame], a enseigné à l'homme ce qu'il ne savait pas... »

(Sourate 96: L'ADHERENCE, verset 4 et 5)

A LA MEMOIRE DE : 

Mon frère **Harouna Sidibé**, victime du paludisme grave à l'âge de 9 ans et à la mémoire de toutes les victimes du paludisme.

- A MES PARENTS :

- Mon oncle **Namory Sidibé**, tu es plus qu'un père pour moi, tu fus la « clef » de la réussite de notre éducation aussi bien à la maison qu'à l'école. Ce travail est le produit de mes réactions à tous tes conseils et sacrifices. Qu'Allah puisse te compter parmi les élus du paradis!
- Ma mère **Sitan Keita**, Reine mère, femme des champs, femme de la campagne toi qui te lève avant toute la famille et qui se couche après tout le monde. J'espère que ce travail sera l'in floraison de l'espoir que tu as semé ! Tes soutiens je viendrais chercher le paradis sous tes pieds.
- Mon père **Moussa Sidibé**, tu m'as toujours manqué j'espère être un jour plus prêt de toi pour profiter plus de ta chaleur d'humanisme et de fils de suture entre les hommes. Que ce travail comble tes envies les plus ardents !
- A ma grand-mère chérie, **Sika Keita**, nous avons encore besoins de tes sages conseils
- A mes oncles paternels **Massaman et Falaye**, je ne puis assez vous remercier de m'avoir d'abord donné l'éducation qu'il me fallait, ensuite m'avoir aidé dans toutes mes entreprises que Dieu vous récompense par le paradis !
- A mes tantes **Sokona, Fadima, Kadidja, Nanténin, Fanta** etc votre tendresse et votre souplesse me marqueront à jamais, vous m'aviez accueilli chez vous sans problème depuis mes premiers jours à l'école, que Dieu fasse que je n'oublie pas ces moments.
- A ma tante et maman **Adama Ballo** et mon papa **Daouda Koné**, malgré difficultés du moment, vous m'avez accueilli et dorloté chez vous dans les moments durs de mon cycle universitaire, sans contre partie, puisse Allah combler vos vœux.

- A Mes frères et cousins, **Alou, Kondia, Hamidou, Namory, Moustapha, Youssouf**, et tout le reste à mon devoir d'aînée de vous servir d'exemple, je dois cette source intarissable de courage alimentée par vos soutient moral sans égal. Je voulais dire du courage a vous tous et bonne chance !
 - A mes sœurs et cousines **Aïssata, Kolessim, Saouda, Ramatou, Batoman, Oumou, Mariama, Salimata, Nanssa, Afoussata** et toutes les autres vous m'avez respecté comme un père, soyons unies à jamais comme les électrons d'un halogène ! Puisse ce travail aider notre famille. Faites mieux que moi...
 - A toutes mes belles-mères de la grande famille **Safiatou, Djénebou, Bintou, Sayon, Mamou, Sitan, Rokia** et à toutes mes tantes recevez ma profonde gratitude.
 - A mes frères et amis **Banouh, Cheick Oumar Koné, Soumi, Ballo, Cheick B, Modibo Sangaré, Diaby, Yassin, Soul, Goita, Dicko, Ousmane Soumbounou, Siratigui, Alou, Bassidy**, pour ne citer que cela !
 - A mes sœurs et amies, **Dalla, Aïcha Camara, Djélika Konaté, Bassan, Kaman, Fatim Doucouré, Kady, Djénéba, Hatoumata Sylla, Toutou**, pour ne citer que celles – ci.
 - A mes Amis et Camarades de la faculté, **Souleymane, Antoine, sétié, Tolo, Aly** du DMT et de la faculté pour ne citer que : **Dominique, Mamou, Mariam, Sira, Yacou, Saadatou, Guindo, Ami, Halimatou, Siabana, Aly**, et tous mes autres « collègues » depuis la maternelle, ce travail est la preuve d'une parfaite solidarité..
 - A **Younoussa, Yahaya, Issa, Bassirou, Ibrahim** et tous mes autres amis pour ne citer que ceux-ci !

MENTION SPECIALE

A l'**ONG Antenna Technologies** et à la Coopération Suisse pour l'appui technique et financier à ce travail et leur collaboration avec le DMT pour la valorisation des plantes médicinales.

Au **professeur Drissa Diallo** pour son travail sans faille dans la revalorisation de la médecine traditionnelle, et son l'assiduité dans formation estudiantine encore plus laborieuse aujourd'hui qu'hier qu'il en soit remercié.

Au **Docteur Sergio Giani et Docteur Rokia Sanogo**, pour leur disponibilité tout au long de ce travail. Docteur Sanogo, votre dynamisme, votre amour pour le travail bien fait et surtout vos encouragements pendant notre formation nous ont été très utiles.

A **tout le personnel du DMT**: du chef de service au planton, sans oublier Monsieur **Fagnan Sanogo**, qui a été au four et au moulin tout au long de ce travail, qu'Allah vous récompense de ce qu'il y a de mieux pour vous.

Au **Docteur Merlin Willcox**, pour son concours, sa vigilance et ses encouragements pendant tout le long de cette étude Nous n'oublierons jamais ces moments particulièrement instructifs que nous avons fait avec vous à Missidougou.

Au **Docteurs Jacque Falquet et Bertrand Graz** pour leur soutiens

A Tout le personnel du **laboratoire d'analyse biologique de HNPG** principalement au chef de service **Docteur Maïga**, pour leur apport dans ce travail.

Tout le personnel du laboratoire de Biochimie de l'INRSP, particulièrement **Dr Ami Koné** pour leur apport dans ce travail, Tous ceux qui m'ont aidé pendant les étude de Missidougou, **Diafara Berthé, Sanoussi Daffé, le Thérapeute Tiémoko Bengaly et sa femme.**

REMERCIEMENTS

Je remercie tout d'abord ma chère patrie le **Mali**

Mes remerciements vont ensuite à l'endroit de:

Tous **les enseignants** qui m'ont encadré de l'école primaire à la Faculté,

Tous les **Frères et sœurs de la LIEEMA** (Ligue Islamique des Elèves et Etudiants du Mali),

Tous les **frères et sœurs de l'ARHIM** (Association pour la Redynamisation de l'Héritage Islamique au Mandé),

Tous les **frères et sœurs** du bureau des jeunes **de la mosquée Awliya** de Kalaban Coura ACI,

Tous les **Militants de l'ADN** (l'association pour le développement du village de Niamé),

Tous mes cadets Stagiaires et thésards du DMT **Aminata Tounkara, Awa Coulibaly, Amadou Adiza, Alima, Marjorie, Nathalie**, pour leur encouragement et leur soutien morale.

Tous les personnels de la **Pharmacie ADEVI** de Kalaban Coura : **Docteur Yacouba Keita** pour sa contribution dans ma formation, son ami **Zoumana, Djibril Ouedrago, Mme Diarra, Mme Diallo, Seydou Coulibaly, Madou Cissé et la sœur Hatoumata Sylla**.

Hommage aux membres du jury

A notre maître et Président de jury **professeur Amadou DIALLO**,
Vice recteur de L'Université de Bamako,
Professeur titulaire en Biologie, Entomologiste vétérinaire, chargé de l'enseignement de Zoologie et de la Biologie médicale à la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontostomatologie, pour votre accueil chaleureux et votre disponibilité pour la cause des étudiants malgré vos multiples occupation, pour la spontanéité avec laquelle vous avez accepté de présider ce jury, Trouvez ici, cher maître, l'expression de notre profonde gratitude.

A notre maître et juge **professeur Amagana DOLO**,
Maître de conférence agrégé en Parasitologie, au Département d'Epidémiologie des Affections Parasitaires (DEAP), maître chargé de l'enseignement de la parasitologie à la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odontostomatologie, vous êtes une référence pour nous au sein de votre département. Votre présence dans ce jury nous honore beaucoup, trouvez ici nos sincères remerciements!

A notre maître et juge **Docteur Sergio GIANI** Pharmacien, Promoteur et chargé des programmes de l'ONG Aide au Développement de la médecine traditionnel (AIDMED), correspondant de l'ONG Antenna Technologies au Mali. Votre soutien à la valorisation de la médecine traditionnelle est incontestable, trouvez ici cher maître, nos sentiments de profonde gratitude.

A notre maître et directeur de thèse **professeur Drissa DIALLO**, maître de conférence agrégé de pharmacognosie, chef du Département Médecine Traditionnel, chargé de l'enseignement de la pharmacognosie et de phytothérapie à la FMPOS, votre désir pour le travaille bien fait, votre ponctualité et votre rigueur scientifique, sont entre autres des qualités enviées de tous, Vous nous avez acceptés dans votre service malgré nos multiples lacunes, trouvez ici nos sincères sentiments de reconnaissance.

SIGLES ET ABBREVIATIONS

- CIVD = Coagulation intravasculaire disséminée
Coll. = Collaborateurs
CSCOM = Centre de Santé Communautaire
DEE.1.2 = Décocté de l'échantillon E1 à 10%
DEE.2.2 = Décocté de l'échantillon E2 à 10%
DEE1.1 = Décocté de l'échantillon E1 selon la méthode du thérapeute
DEE2.1 = Décocté de l'échantillon E2 selon la méthode du thérapeute
DEMI = Décocté du thérapeute de Missidougou
DIAE1 = Digesté de l'échantillon E1 à 10%
DIAE2 = Digesté de l'échantillon E2 à 10%
DIAE3 = Digesté de l'échantillon E3 à 10%
DL50 = Dose létale à 50%
DME = Dose maximale sans effet toxique
DMT = Département Médecine Traditionnelle
DO = Densité optique
DPPH = 1-1- Diphényl-2-Picryl-Hydrazine
ETOH = Ethanol
ETP = Echec thérapeutique précoce
ETT = Echec thérapeutique tardif
G6PD = Glucose-6-phosphate déshydrogénase
IC50 = Concentration inhibitrice à 50 %
IM = Intra musculaire
INE1 = Infusé de l'échantillon E1 à 10%
INE2 = Infusé de l'échantillon E2 à 10%
INE3 = Infusé de l'échantillon E3 à 10%
INRSP = Institut National de Recherche en Santé Publique
IV = Intra veineuse
MAE1 = Macéré de l'échantillon E1 3 fois 24 heures
MAE2 = Macéré de l'échantillon E2 3 fois 24 heures
MAE3 = Macéré de l'échantillon E3 3 fois 24 heures
MTA = Médicament Traditionnel Amélioré
OMS = Organisation Mondiale de la Santé
Pdt = Pendant

PDV = Perdu de vue

PIB = Produit intérieur brut

RCA = Réponse clinique adéquate

RITAM = Research Initiative of Traditional and Antimalarial Method

SDRA = Syndrome de détresse respiratoire de l'adulte

VO = Voie Orale

Sommaire

Introduction.....	1
Motivations.....	3
Objectifs.....	3
PREMIERE PARTIE : GENERALITES.....	5
1-Généralités sur le paludisme.....	6
1.1 Définition.....	6
1.2 Historique.....	6
1.3 Agents pathogènes et vecteurs	6
1.4 Cycle parasitaire.....	9
1.5 -Mode de transmission.....	11
1.6 –Anatomopathologie.....	11
1.7 Formes cliniques.....	12
1.8 Diagnostique	19
1.9 Traitement	21
1.10- Prophylaxie.....	29
1.11-DMT et la recherche sur les plantes antipaludiques	33
2- Notion de toxicité.....	35
3- Généralités sur les antioxydants.....	36
3.1-Définition.....	36
3.2-Les sources des antioxydants.....	36
3.3-Rôles et mode d'action des antioxydants	40
3.4-Antioxydants et affections chroniques.....	40
3.5-Antioxydants et paludisme.....	40
3.6-Méthodes d'étude des antioxydants	41
4.Généralités sur <i>Argemone mexicana</i> Linn.....	42
4.1 Systématique.....	42
4.2 Autres Nomenclatures	43
4.3 Description botanique.....	43

4.4 Utilisation traditionnelle.....	43
4.5 Composition chimique.....	46
4.6 Pharmacologie.....	47
4.7 Toxicité.....	51

DEUXIEME PARTIE : TRAVAUX PERSONNELS

5-Méthodologie.....	54
5.1-Etude d'évaluation de l'évidence ethnométricale.....	54
5.1.1-Présentation de la zone de l'étude	54
5.1.2-Matériels utilisés.....	54
5.1.3-Critères d'inclusions.....	55
5.1.4-Critères d'exclusions.....	56
5.1.5-Procédure de recrutement.....	57
5.1.6-Suivi des patients	57
5.1.7-Traitement des patients.....	57
5.1.8-Considérations éthiques	58
5.1.9-Méthodes de laboratoire.....	58
5.1.10- Analyse des données.....	59
5.2-Etudes phytochimiques.....	60
5.2.1-Réactions en tubes.....	60
5.2.2-Dosage de certains constituants.....	65
5.2.3-Préparation des extraits.....	68
5.2.4-Chromatographie sur couche mince.....	71
5.2.5-Recherche des sucres dans les extraits.....	72
5.2.6- Ionogramme des extraits.....	73
5.2.7-Recherche des bactéries contaminant les extraits	76
5.3-Etude pharmacologique des extraits	77
5.3.1-Détermination de l'activité antioxydante.....	77
5.3.2-Détermination de l'activité antiplasmodiale <i>In vitro</i>	78
5.4.3-Détermination de la toxicité.....	79

6-Résultats.....	83
6.1 Etude de l'évidence ethnométricale	83
6.1.1-Inclusion et exclusion.....	83
6.1.2- Données démographiques	83
6.1.3- Groupes de doses.....	83
6.1.4-Doses réellement prises selon rapport du patient.....	84
6.1.5-Données cliniques et biologiques de base à J0.....	85
6.1.6-Résultats d'efficacité	88
6.1.7-Résultats d'innocuité.....	94
6.2 Etudes phytochimiques.....	98
6.2.1-Réactions en tube.....	98
6.2.2-Dosage de certains constituants.....	99
6.2.3-Rendement des extractions.....	100
6.2.4-Chromatographie sur couche mince (CCM).....	101
6.2.5-Les sucres identifiés	106
6.2.6-L'ionogramme des extraits.....	114
6.2.7-Résultats des recherches bactériologiques sur nos extraits... ..	116
6.3 Pharmacologie des extraits d' <i>Argemone mexicana</i> L.	117
6.3.1-Activité antiplasmodiale <i>In vitro</i>	117
6.3.2-Activité antiradicalaire.....	118
6.3.3- Toxicologie des extraits.....	119
COMMENTAIRES ET DISCUSSIONS.....	121
CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS	126
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	
ANNEXES	



INTRODUCTION

INTRODUCTION

Le paludisme est une maladie parasitaire causée chez l'homme par un protozoaire du genre *Plasmodium* transmis par le moustique du genre *Anopheles*.

Selon l'OMS en 2003, plus de 40% de la population mondiale vivant dans 102 pays sont exposés à un risque variable de paludisme et la moitié de cette population se trouve en Afrique sub-saharienne. On estime entre 300 et 500 millions de nouveaux cas par an. Le paludisme est la principale cause de mortalité chez les enfants de moins de cinq ans en Afrique (20%) et environ 90% des décès dus au paludisme surviennent en Afrique, principalement chez les jeunes enfants (OMS, 2005). Chaque année le paludisme est responsable de 20 à 50% d'admissions dans les services hospitaliers africains et les pays les plus pauvres ont les taux de mortalité et de morbidité les plus élevés (Willcox et coll., 2004). On estime à plus de 12 milliards de \$US, la perte annuelle de PIB due au paludisme en Afrique, alors qu'une fraction de cette somme suffirait à le maîtriser (OMS, 2005).

Au Mali, le paludisme est responsable de 33% des motifs de consultations dans les formations sanitaires et affecte dans 34,4% des cas les enfants de moins de 5 ans chez qui il est la cause de 45,7% des décès (Sacko et coll. 2003). Le neuropaludisme est responsable de 51,7% d'urgence pédiatrique (Doumbia, 1997).

A Sikasso en 2002, 83,3% des hospitalisations concernaient les enfants dont 92,7% étaient dues au paludisme grave, le paludisme grave représentait 65,8% des causes de mortalité liées au paludisme (Sangaré, 2003)

Ces chiffres nous montrent combien le paludisme reste encore un problème de santé publique dans le monde, particulièrement en Afrique et au Mali.

Actuellement environ 140 espèces de *Plasmodium* sont identifiées, elles sont capables d'infester divers hôtes. Cependant seules 4 espèces sont responsables du paludisme chez l'homme (*P. falciparum*, *P. malariae*, *P. vivax* et *P. ovale*). La forme la plus sévère du paludisme chez l'homme est due à *Plasmodium falciparum*, c'est l'espèce prédominante en Afrique au sud du Sahara et cette espèce est responsable de presque tous les décès dus au paludisme (Willcox et coll., 2004).

En absence d'un vaccin, la chimiothérapie est le seul recours contre la maladie. Mais le développement de la chimiorésistance du parasite aux antipaludiques les plus couramment utilisés pose un grand problème de santé publique. La recherche sur les plantes antipaludiques a pris une ampleur particulière depuis l'isolement de la quinine de l'écorce de *Cinchona spp.* et surtout de l'artémisinine d'une plante médicinale de la pharmacopée traditionnelle chinoise : *Artémisia annua* L.

25% de la population des pays atteints (et dans certaines régions, 75%) utilisent les plantes médicinales traditionnellement contre le paludisme, et plus de 1200 espèces de plantes sont utilisées de cette manière (Willcox et coll., 2004).

Au Mali à l'instar des autres pays d'Afrique les difficultés d'accès aux soins de la médecine moderne, l'insuffisance et la mauvaise répartition des personnels de santé moderne de même que les comportements socioculturels font que plus de 80% de la population font recours à la médecine traditionnelle pour traiter les affections courantes à partir des pharmacopées locales. Selon l'OMS, au Mali, le traitement de première intention pour 60 % des enfants atteints de forte fièvre due au paludisme fait appel aux plantes médicinales administrées à domicile (OMS, 2003)

Le Département Médecine Traditionnelle (DMT) de l'Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP), centre collaborateur avec l'OMS a déjà à son actif un Médicament Traditionnel Amélioré (MTA), le Malarial utilisé dans le traitement du paludisme simple est préparé à base de trois plantes : *Cassia occidentalis* Linn. (feuilles), *Lippia chevalieri* Moldenke (feuilles), *Spilanthes oleracea*, Jacq (capitules).

D'autres études sont en cours pour trouver d'autres antipaludiques plus efficaces.

Des études ethnobotaniques et rétrospectives à Sikasso et à Badiangara au Mali ont permis d'identifier certaines plantes utilisées dans le traitement du paludisme. Des patients ont été interrogés sur des résultats récents et sur leurs expériences dans l'utilisation de divers traitements du paludisme et les plantes qui ont donné de bons résultats ont été testées *in vitro* sur *Plasmodium falciparum*. La plante la plus active retrouvée chez les patients (dans l'enquête) et dans le test *in vitro* a été *Argemone mexicana* Linn (*Papaveraceae*), (Diallo et Coll., 2005) en effet parmi 58 extraits testés sur une souche K1 de *P. falciparum* chloroquino-résistante, *A. mexicana* a été la plus active avec une concentration inhibitrice à 50% (IC50) de 1µg/ml pour l'extrait

méthanolique et 1,22µg/ml pour l'extrait dichlorometanique de la partie aérienne contre 0,05 µg/ml pour la chloroquine (Sangaré, 2003)

Notre étude porte sur *Argemone mexicana* Linn (Papavéracée) utilisée dans le traitement du paludisme à *P. falciparum* non compliqué. Cette plante a fait l'objet de plusieurs recherches et publications à cause de la toxicité de ses graines responsables de nombreux cas d'épidémie d'hydropisie en Asie et en Amérique du nord où elle est originaire. Mais aussi à cause de son appartenance à la famille des Papavéracées, une famille qui fait l'objet de beaucoup d'investigations, l'espèce la plus importante est *Papaver somniferum* Linn dont le latex du fruit fournit l'opium.

Nous nous sommes proposés dans cette présente étude de faire une évaluation de l'évidence ethnomédicale de l'utilisation de *A. mexicana* dans le traitement du paludisme et de mener une étude de la phytochimie et des activités biologiques notamment l'activité antiplasmodiale et antioxydante, des différents extraits aqueux. Nous avons également effectué des tests de toxicité sur des extraits aqueux par la détermination de la dose léthale 50 en vu de contribuer à la mise au point d'un médicament traditionnel amélioré contre le paludisme.

MOTIVATIONS

Notre travail est motivé par :

- Le souci de participer au programme de recherche du Département Médecine Traditionnelle sur les plantes à activité antipaludique
- Le désir de participer au contrôle du paludisme (pour lequel les pays pauvres, surtout africains payent un lourd tribut) par la valorisation des plantes médicinales.

OBJECTIFS

OBJECTIF GENERAL

Etudier l'efficacité et l'innocuité des extraits aqueux à base de *A. mexicana* dans le traitement du paludisme à *Plasmodium falciparum* non compliqué.

OBJECTIFS SPECIFIQUES

- 1-Déterminer l'évolution clinique et parasitologique chez les patients traités avec le décocté de *Argemone mexicana* préparé par le thérapeute traditionnel à Missidougou.
- 2-Identifier les groupes chimiques, puis doser certains constituants présents dans différents échantillons des parties aériennes de *A. mexicana*.
- 3-Effectuer un contrôle de qualité sur les extraits aqueux
- 4-Determiner les activités antiplasmodiale, et antioxydante, des extraits aqueux de *A. mexicana*.
- 5-Déterminer la toxicité des extraits aqueux de *A. mexicana*.



GENERALITES

1. GENERALITE SUR LE PALUDISME:

1.1-Définition :

Le paludisme (palud = marais) ou malaria (= mauvais air) est une parasitose due à des hématozoaires du genre *Plasmodium* et transmise par des moustiques femelles du genre *Anopheles*. Il cause une maladie fébrile et hémolysante (AFEP, 1998).

1.2-Historique : L'existence de fièvres particulières, spécialement fréquentes dans les zones marécageuses, est connue depuis la plus haute antiquité. C'est à cette observation que le paludisme doit son nom en français ("palud" signifiant marécage en vieux français) ou encore en italien ou en anglais (malaria ou mauvais air).

Avec la découverte de l'Amérique en 1492, les conquistadores ont ramené du Pérou les écorces de *Cinchona spp* qui ont permis la première thérapeutique spécifique de cette affection dont l'agent causal n'a été découvert qu'en 1880, à Constantine, par un chirurgien militaire français, Alphonse Laveran (AFEP, 1998).

Dans les années qui ont suivi, plusieurs chercheurs italiens et anglais ont ensuite démontré que les Plasmodias sont transmis par la piqûre de certains moustiques dont les larves se développent précisément dans les eaux stagnantes. La lutte antivectorielle, l'assainissement des zones marécageuses ainsi que le traitement avec les sels de quinine ont permis l'éradication du paludisme en Europe. Lors de la seconde guerre mondiale, l'armée américaine a pu protéger ses troupes opérant dans le Pacifique grâce à la découverte des premiers antipaludiques de synthèse. Malheureusement, la plupart de ces médicaments sont devenus inefficaces à cause de la résistance de plus en plus importante des parasites. Le 20e siècle a été marqué par ailleurs par la survenue de résistances aux divers antipaludiques.

Un espoir récent est lié à de nouveaux antipaludiques dérivés de plantes de la pharmacopée chinoise. Enfin, la vaccination antipaludique a donné lieu à plusieurs essais dont les résultats demeurent encore très préliminaires.

1.3 Agents pathogènes et vecteurs : (voir Annexe 3)

Parmi les quatre plasmodies humaines, *P. falciparum*, est le plus fréquent et le plus dangereux c'est l'agent du paludisme des "tropiques". Son incubation est de 7 à 12 jours. Il est responsable de la fièvre tierce maligne, de l'accès pernicieux et de beaucoup d'autres complications comme : Neuropaludisme, convulsions généralisées, anémie, hypoglycémie, acidose métabolique, insuffisance rénale aiguë, œdème pulmonaire aigu, collapsus respiratoire, hémoglobinurie, hyperpyrexie, hyperparasitémie etc. Il évolue d'une seule tenue sans rechutes. Sa longévité est inférieure à un an.

P. vivax, et *P. ovale*, sont très proches ils ont été longtemps confondus et sont responsables de fièvre tierces bénignes. Schématiquement on peut dire que *P. vivax* remplace *P. ovale* là où cette dernière espèce n'existe pas (Asie). L'incubation chez l'homme est d'environ 15 jours pour *P. vivax* et peut s'étendre jusqu'à 9 mois ou plus il évolue avec des rechutes à brève ou à longue échéance suivant les souches, sa longévité est de deux ans au moins. Parcontre, pour *P. ovale* l'incubation peut être de 15 jours et s'étendre jusqu'à 4 ans. Les rechutes tardives sont possibles 5ans jusqu'à 40 ans après.

Pour *P. malariae*, sa distribution géographique est clairsemée, son incubation est environ 3 semaines chez l'homme. Il est responsable de fièvre quarte et parfois de néphropathies chroniques. Sa longévité est 3 ans au moins et peut atteindre 20 ans.

Les moustiques vecteurs appartiennent au genre *Anopheles*. Une soixantaine d'espèces d'anophèles ont été identifiées comme vecteur du paludisme.

- En Afrique les principales espèces sont : *A. gambiae* et *A. funestus*
- En Asie on peut citer *A. stephensi*, *A. farauti*, *A. sinensis*, *A. tellessarus*, et *A. minimus*
- En Amérique du sud on a principalement ; *A. albimanus*, *A. quadrimaculatus*, *A. darlingi*, et *A. freeborni*.

Les autres espèces d'anophèles qui peuvent héberger le *plasmodium* ne piquent pas l'homme mais d'autres mammifères. *A. gambiae* est l'espèce vectrice la plus répandue et qui sévit dans les régions où *P. falciparum* a une transmission intense. Dans certaines régions endémiques *A. gambiae* et *A. funestus* se relayent dans la transmission du paludisme à *P. falciparum*. Les mâles se nourrissent de nectars de

fleurs et des sucres de végétaux et femelles utilisent le sang des mammifères pour la maturation des œufs qu'elles portent, car les protéines sanguines y sont indispensables.

1.3.1-Systématique de l'Agents pathogènes (voir annexe 3)

Règne: animal
Phylum: *Apicomplexa*
Classe: sporozoaires
Sous-classe: *Coccidie*
Ordre : *Eucoccidis*
Sous-ordre : *Hoemosporina*
Famille: *Plasmodiidae*
Genre : *Plasmodium*



(Dans Kayentao et coll., 2005)

Figure N°1 : Photo d'un moustique piquant la nuit

1.3.2- systématique des vecteurs

Règne : Animal
Sous-règne : Métazoaires
Embranchement : Arthropodes
Sous embranchement : Tracheates
Classe : Insectes
Sous-classe : Pterygotes
Ordre : Diptères
Sous ordre : Nématocères
Familles : *Culicidae*
Genre : *Anopheles*

1.4-Cycle parasitaire :

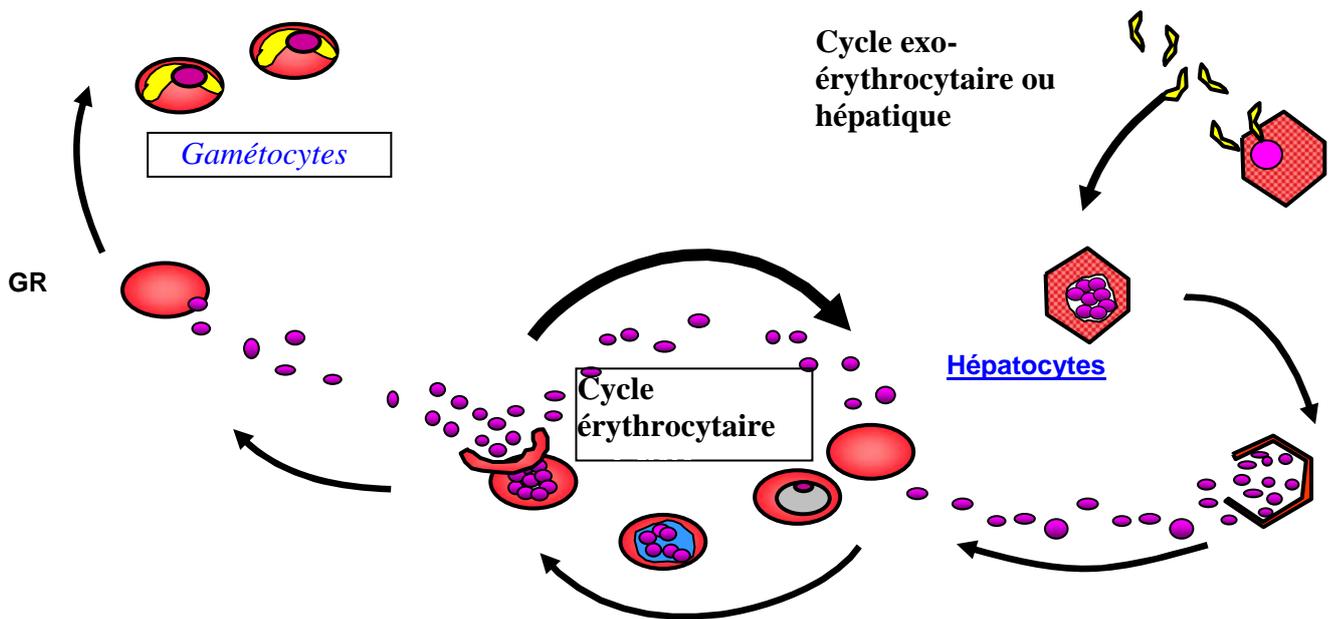
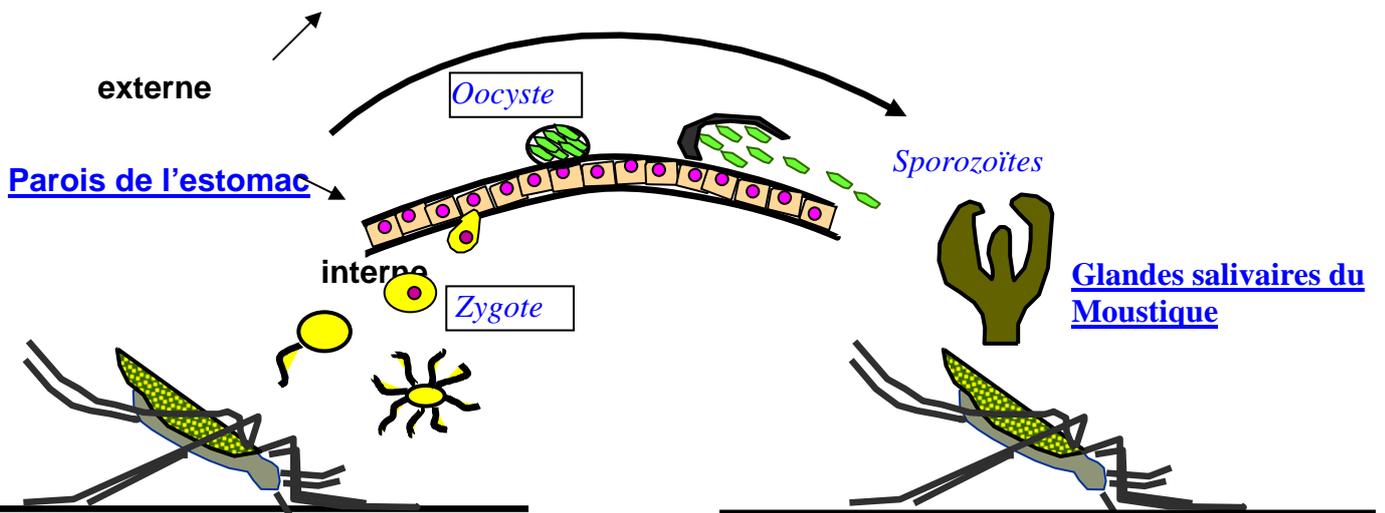
1.4.1-Chez l'homme : Lors d'une piqûre infestante l'anophèle inocule les sporozoïtes avec sa salive dans les capillaires de sa victime. En 24 heures ces parasites se retrouvent dans le foie et pénètrent dans les hépatocytes. Leur développement et leur multiplication repoussent en périphérie le noyau de la cellule qui finit par constituer une masse multinucléée appelée schizontes ou corps bleu. La cellule éclate, libère de nombreux mérozoïtes. Certains parasites restent quiescents dans les hépatocytes sans se transformer en corps bleu (hypnozoïtes). Après un temps variable, génétiquement déterminé, ils entrent en divisions. Ce phénomène n'existe que chez les espèces *P. vivax* et *P. ovale* ce qui explique les accès de rechutes tardifs.

Les mérozoïtes libérés gagnent la circulation sanguine, pénètrent par endocytose dans les hématies et deviennent chacun un trophozoïte. Les trophozoïtes se développent, grossissent et leur noyau se divise, on obtient des schizontes qui se chargent progressivement d'un pigment d'origine parasitaire, l'hémozoïne ou pigment malarique. La multiplication des noyaux forme dans l'hématie un corps en rosace qui dilaté et mûr, éclate, ce qui provoque l'accès thermique clinique. L'hémozoïne libérée est phagocytée par des leucocytes polynucléaires ou mononucléaires qui en deviennent mélanifères. Ils déversent cette charge pigmentaire dans les tissus au niveau des cellules du système monocyte-macrophage (cellule de Küpffer du foie et histiocytes de la rate).

Les mérozoïtes libérés vont parasiter d'autres hématies vierges et poursuivre le cycle intra-erythrocytaire. Ce cycle schizogonique dure 48 heures pour les fièvres tierces et 72 heures pour la fièvre quarte.

Après plusieurs schizogonies il apparaît dans les hématies des éléments sexués : les gamétocytes qui ne pourront poursuivre leur développement que s'ils sont absorbés par un anophèle femelle. Ainsi chez l'homme, on distingue deux cycles : l'un exo-erythrocytaire (intra hépatique), l'autre intra-erythrocytaire. Ces deux cycles sont asexués ou schizogoniques. (AFEP, 1998)

Chez l'anophèle



Chez l'Homme

Fig N°2 : Cycle des plasmodies (Dans Kayentao et coll., 2005)

1.4.2-Chez l'anophèle :

Lorsque l'anophèle femelle absorbe le sang d'un paludéen, il peut ingérer des gamétocytes et le cycle se poursuit ; les gamétocytes mâles et femelles absorbés arrivent au niveau de l'estomac du moustique où ils se transforment en gamètes. Le gamète mâle subit un processus d'exflagellation avant de féconder les gamètes femelles, on parle de gamogonie. Il en résulte un œuf (oocinète) qui traverse la paroi de l'estomac du moustique pour donner un oocyste puis le sporocyste. Ce dernier est un sac bourré de petits éléments fusiformes avec noyau, ce sont les sporozoïtes, le sac se rompt libère de nombreux sporozoïtes qui sont entraînés dans les glandes salivaires de l'anophèle. Le moustique est ainsi armé pour transmettre la maladie à un autre sujet sain.

1.5-Mode de transmission

Le Paludisme est transmis par la piqûre de l'anophèle femelle. Il faut noter la possibilité de transmission congénitale, transfusionnelle ou de contamination accidentelle chez le personnel médical manipulant du sang parasité. Ces modalités ne jouent aucun rôle épidémiologique.

1.6-Anatomopathologie : Certains organes comme ; la rate, le foie, le cerveau, et les reins sont le siège de lésions histologiques par hyperplasie des cellules macrophagiques qui contiennent des granulations noires de pigment malarique, l'hémozoïne.

- **La rate :** la rate devient hypertrophique et congestive au cours des accès graves par accumulation d'hémozoïne. Histologiquement, les sinus sont dilatés, encombrés d'érythrocytes parasités et des macrophages contenant des débris d'hématies. Dans le paludisme viscéral évolutif, la rate énorme est fibro-congestive, foncée à la coupe avec une hyperplasie lymphoïde et histiocytaire mais les parasites y sont rares.

- **Le foie :** dans le paludisme simple, on observe une hyperplasie des cellules de Küpffer surchargées d'hémozoïne, associés à des dépôts d'hémosidérine qui prennent la coloration de Perls. Ultérieurement des dépôts de pigments envahissent les espaces portes, au sein d'infiltrats lympho-histiocytaires. Lors de paludismes graves les hépatocytes présentent des signes de souffrances et parfois des fièvres rémittentes bilieuses ; dans ce cas une cholécystite alithiasique peut se manifester.
- **Le cerveau :** en cas de neuropaludisme on observe des lésions diffuses à point de départ vasculaire, dans un tissu œdémateux et hyperhémie. Les capillaires sont dilatés, encombrés d'hématies parasitées et entourées d'un infiltrat de lymphocytes et de cellules gliales chargées de pigments. Les méninges sont colorées en brun par le pigment malarique.
- **Les reins :** dans l'accès pernicieux, les capillaires glomérulaires et interstitiels sont encombrés d'hématies parasitées et l'on observe une hyperplasie endothéliale. La néphrite quartane de l'enfant est caractérisée par un épaississement irrégulier de l'endothéliale des capillaires glomérulaires et de la membrane basale, avec dépôts d'immuns complexes. Au cours de la fièvre bilieuse hémogloblinurique, il apparaît des lésions non spécifiques de tubulopathie aiguë.

1.7-Les formes cliniques:

1.7.1-La primo-invasion:

La primo-invasion intervient chez les enfants de 4 mois à 5ans ou chez un sujet des zones non atteintes (zones dans lesquels le paludisme a un risque limité ou a disparu ou n'a jamais sévi) transplantés dans une zone d'endémie palustre sans être soumise à une prévention correcte.

Pour ces conditions la phase d'incubation ou prépatente dure 7 jours au minimum et est cliniquement muette. L'invasion est marquée par la fièvre, le tableau clinique comporte : anorexie, douleur abdominale, nausées, parfois vomissements, diarrhée, associés à des céphalées et myalgies. A l'examen physique il y'a hépatomégalie surtout chez l'enfant, la rate est normale, les urines sont rares, foncées et peuvent contenir des protéines.

Ce paludisme de primo-invasion peut guérir en quelques jours à la suite d'un traitement correct mais non ou mal traité la fièvre persiste et devient intermittente avec apparition d'une splénomégalie. Le risque d'évolution vers l'accès pernicieux secondaire (annoncé par des céphalées intenses et des convulsions) est important pour *P. falciparum* mais la guérison spontanée est possible après plusieurs épisodes fébriles pour les autres espèces. L'apparition d'une splénomégalie modérée est de bon pronostic.

1.7.2- l'accès palustre simple :

Pour *P. vivax*, *P. malariae* et *P. ovale*, le tableau est typique et peut faire suite à un paludisme de primo-invasion non traité. L'accès est caractérisé par trois stades successifs et un rythme d'accès fébrile variable selon l'espèce plasmodiale.

- Stade de frissons ; la température s'élève à 39°C
- Stade de chaleur ; la peau devient sèche et brûlante, la température atteint 40 à 41°C
- Stade de sueurs ; on observe des sueurs abondantes, urines foncées, effondrement de la température, augmentation de la tension artérielle.

Lorsque l'accès palustre est rythmé par deux clochers thermiques séparés par un jour d'apyrexie on parle de fièvre tierce qui est bénigne et régulière pour *P. vivax* et *P. ovale* et peut être maligne et irrégulière si c'est dû à *P. falciparum*. La fièvre tierce correspond à une schizogonie de 48 heures se traduisant par les clochers thermiques.

Lorsque l'accès palustre est rythmé par deux clochers thermiques séparés par deux jours d'apyrexie (schizogonie de 72 heures se traduisant par un accès fébrile) on parle de fièvre quarte et est due à *P. malariae*.

La fièvre quarte est le faite d'accès irréguliers dus à *P. falciparum* ou d'une double tierce alternée relevant peut être de deux cycles schizogoniques décalés de 24 heures.

Une splénomégalie et une anémie progressivement croissantes accompagnent ces accès palustres.

Le tableau de l'accès palustre simple à *P. falciparum* est très variable et reproduit celui de nombreuses autres maladies. La fièvre est fréquente mais peut être aussi absente. Quand elle existe, elle est plutôt quotidienne que tierce et peut s'accompagner de

frissons ou non. Les frissons sont relativement rares au cours du paludisme à *P. falciparum* aigu.

Le patient se plaint fréquemment de fièvre, de maux de tête, de douleurs diverses, parfois de douleurs abdominales et de diarrhées. Chez le jeune enfant il y'a souvent refus de s'alimenter avec nausée et vomissement. Certains patients ont le foie et la rate palpables à l'examen physique. Les enfants ont entre 1,6 et 5,4 accès de paludisme chaque année, chiffre qui varie selon les conditions géographiques et épidémiologiques (OMS, 2005)

1.7.3-Paludisme grave : (OMS, 2001).

Le risque d'apparition d'un paludisme grave à *P. falciparum* est maximal chez le jeune enfant d'une zone de transmission intense et chez le sujet (voyageur quelque soit l'âge) d'une zone de faible transmission ou non affectée revenant d'une zone de transmission de *P. falciparum* et ramenant une infection palustre non diagnostiquée (OMS, 2001). Les critères de gravité avec signification pronostique sont : l'altération de la conscience, le collapsus cardiovasculaire, l'œdème pulmonaire et l'acidose métabolique. La présence de l'un ou de plusieurs de ces signes impose un transfert en réanimation. D'autres facteurs sont susceptibles d'assombrir le pronostic : le terrain (immunodépression, grossesse, splénectomie) et l'importance de la parasitémie (supérieure à 5% des hématies parasitées) (Pilly, 2000)

1.7.3.1-Chez l'adulte :

Le paludisme grave à *P. falciparum* peut se manifester par un état de confusion ou de somnolence accompagné d'une extrême faiblesse (prostration). Les manifestations suivantes peuvent apparaître :

- ✓ **Neuropaludisme** : c'est un accès palustre défini par un coma aréactif qui ne peut être rapporté à aucune autre cause chez un impaludé à *P. falciparum*. Il réalise une encéphalite fébrile aiguë dû au tropisme cérébrale de *P. falciparum* (schizogonie dans les capillaires intracérébraux). Les convulsions et les hémorragies rétinienne sont fréquentes; l'œdème papillaire est rare. Le cou peut être légèrement raide mais la rigidité de la nuque et la photophobie sont absentes. Le tableau neurologique le plus fréquent chez l'adulte est celui d'une lésion symétrique des mononeurones supérieurs.

On observe également des anomalies motrices, l'hépatosplénomégalie est fréquente, l'absence de réflexes abdominaux fait écarter les cas d'hystérie chez l'adulte atteint de fièvre et présentant une autre étiologie.

- ✓ **Anémie** : l'anémie est fréquente au cours du paludisme grave et souvent associée à une infection bactérienne secondaire. C'est une complication particulièrement importante du paludisme chez le jeune enfant et la femme enceinte.
- ✓ **Insuffisance rénale** : en tant que complication du paludisme l'insuffisance rénale ne touche pratiquement que l'adulte. On observe une augmentation de la créatinémie et de l'urémie, une oligurie et, finalement, une anurie due à une nécrose tubulaire aiguë. L'insuffisance rénale est en général de type oligurique, mais peut prendre une forme polyurique. Le mécanisme de la nécrose tubulaire aiguë observée au cours du paludisme n'est pas parfaitement connu. L'insuffisance rénale est dans la plupart des cas réversibles.
- ✓ **Hypoglycémie** : l'hypoglycémie est une manifestation importante du paludisme à *P. falciparum*. Elle peut s'observer chez trois groupes différents de patients qui parfois se recoupent :
 - Patients gravement atteints, jeunes enfants en particulier ;
 - Patients traités par la quinine ou la quinidine ayant provoqué une hyper insulïnémie quininique ;
 - Femmes enceintes, hypoglycémiques à l'admission ou après traitement par la quinine.
- ✓ **Troubles hydro électrolytiques** : les signes cliniques d'une hypovolémie (pression veineuse jugulaire basse, hypotension orthostatique et oligurie avec densité élevée des urines) et de déshydratation (sécheresse des muqueuses et peau ayant perdue sa consistance normale) chez un patient atteint de paludisme grave sont révélateurs de troubles hydro électrolytiques. La respiration de Kussmaul, est caractéristique d'une acidose (hyperventilation respiration ample et profonde) peut survenir chez un patient gravement atteint, choqué, hypoglycémique, hyperparasitémique ou insuffisant rénal. La perfusion est améliorée par la correction de l'hypovolémie.
- ✓ **Œdème pulmonaire** : l'œdème pulmonaire est une complication redoutable du paludisme grave, dont le taux de mortalité est élevé (plus de 80%). Il peut apparaître plusieurs jours après la mise en place de la chimiothérapie, au moment où l'état

général du patient s'améliore et où la parasitemie périphérique diminue. Dans la plupart des cas, le tableau est celui d'un syndrome de détresse respiratoire de l'adulte (SDRA), avec augmentation de la perméabilité capillaire pulmonaire. L'œdème pulmonaire est fréquemment associé à d'autres complications du paludisme et s'observe également dans le paludisme à *P. vivax*. Le premier signe de l'imminence de l'œdème pulmonaire est une augmentation du rythme respiratoire, lequel précède l'apparition des autres signes thoraciques. La pression de l'oxygène est diminuée. L'hypoxie peut entraîner des convulsions et la détérioration de l'état de conscience ; le patient peut mourir en quelques heures.

- ✓ **Collapsus circulatoire ("accès palustre algide")** : le tableau clinique du collapsus circulatoire comprend : un état de collapsus, avec une tension systolique inférieure à 80mmHg en décubitus (inférieur à 50mmHg chez l'enfant, la peau est froide, moite et cyanosée ; les veines périphériques sont constrictées ; le pouls est rapide et petit. Dans certains pays ce tableau est compliqué par une septicémie à bactéries à Gram négatif. Le collapsus circulatoire s'observe également chez le patient ayant un œdème pulmonaire ou une acidose métabolique, ainsi qu'après une hémorragie digestive massive ou une rupture de la rate. La déshydratation accompagnée d'hypovolémie peut aussi contribuer à l'hypotension. On recherche des sites d'infection associée : poumons, voies urinaires, méninges, sites d'injections intraveineuses, cathéters intraveineux.
- ✓ **Anomalies hémorragiques et coagulation intravasculaire disséminée** : on peut observer des hémorragies gingivales, des épistaxis, des pétéchies et des hémorragies sous conjonctivales. La CIVD, compliquée d'une hémorragie cliniquement importante, hématomèse ou méléna par exemple, survient chez moins de 10% des patients. Elle est plus fréquente chez le patient sans immunité des zones tempérées ayant un paludisme d'importation.
- ✓ **La thrombopénie** : est très fréquente au cours du paludisme à *P. falciparum* et généralement pas liés à d'autres anomalies de la coagulation. La plupart des temps elle ne s'accompagne pas d'hémorragie. Une fois le paludisme traité la numération plaquettaire revient à la normale.
- ✓ **Hyperpyrexie** : l'élévation de la température (39-40°C) est particulièrement fréquente chez l'enfant et peut contribuer à la survenue des convulsions et des modifications de l'état de conscience. Chez la femme enceinte, l'élévation de la température maternelle semble contribuer à la détresse fœtale. Au cours du

paludisme on peut rarement observer des températures très élevées (42°C et plus) qui peuvent laisser des séquelles neurologiques graves et définitives chez le patient ayant un coup de chaleur.

- ✓ **Hyperparasitémie** : pour les sujets non immunisés, les densités parasitaires élevées (> 5%) et la schizontémie périphérique sont généralement associées à la gravité de la maladie ; mais dans les pays de fortes endémicités, l'enfant partiellement immunisé peut tolérer des parasitémies étonnamment fortes (20-30%), souvent cliniquement muettes.

1.7.3.2-Chez l'enfant : un grand nombre de manifestations décrites chez l'adulte se retrouvent chez l'enfant, mais les complications les plus fréquentes et les plus graves de l'infection à *P. falciparum* sont : le neuropaludisme, l'anémie grave, la détresse respiratoire (l'acidose), et l'hypoglycémie.

Le paludisme grave chez l'adulte se diffère de celui de l'enfant par la fréquence et la durée des signes et symptômes : en effet les antécédents de toux, les convulsions, détresse respiratoire, l'hypoglycémie, anomalie du tronc cérébral sont plus fréquents chez les enfants que chez l'adulte. Par contre l'œdème pulmonaire, l'insuffisance rénale, les troubles de saignements sont plus fréquents chez l'adulte que chez l'enfant.

- ✓ **Neuropaludisme** : Le premier symptôme de neuropaludisme chez l'enfant est en générale la fièvre (37,5-41°C) ; ensuite l'enfant ne prend plus d'aliments, ni solide, ni liquide, les vomissements et la toux sont fréquents, la diarrhée est rare. Les symptômes précédant le coma peuvent être de très courte durée (un à deux jours en général). Chez certains enfants on observe un opisthotonos prononcé évoquant un diagnostic erroné de tétanos ou de méningite. 10 à 20% des enfants atteints de neuropaludisme meurent et 7 % des enfants qui survivent à la forme cérébrale (la forme la plus grave de la maladie, qui se caractérise par le coma et des convulsions) souffrent de problèmes neurologiques pendant le reste de leur vie : Faiblesse, cécité, troubles de l'élocution et épilepsie. (OMS, 2005)
- ✓ **L'anémie** : L'anémie est un signe d'appel fréquent en Afrique, son importance et sa vitesse d'évolution dépendent de la gravité et de la durée de la parasitémie. En cas d'hyperparasitémie, l'anémie peut évoluer rapidement vers la gravité ; elle est alors due à la destruction massive des hématies. Chez l'enfant gravement anémié on peut observer : une tachycardie, une dyspnée, des signes cérébraux (confusions,

agitation, coma et hémorragie rétiniennes), des signes d'acidoses (respiration profonde, parfois difficile), signes cardio-pulmonaires (rythme de galop, insuffisance cardiaque hépatomégalie et œdème pulmonaire. A cause de la résistance accrue des plasmodies aux antipaludiques une proportion importante d'enfants n'éliminent pas totalement la parasitémie après le traitement et continuent donc à être anémiques. L'anémie pernicieuse due au paludisme provoque entre 190 000 et 974 000 décès d'enfants de moins de 5 ans par an (OMS, 2005)

- ✓ **L'acidose** : La détresse respiratoire caractérisée par une respiration profonde, accompagnée par un tirage sous-costal évoque une acidose métabolique – une acidose lactique fréquemment. Elle accompagne le plus souvent une anémie ou un neuropaludisme, mais elle peut apparaître chez un enfant dont l'état de conscience n'est pas altéré. Dans tous les cas elle est associée à une augmentation du risque de décès.
- ✓ **L'hypoglycémie** : Quand t à l'hypoglycémie elle est particulièrement fréquente chez les enfants de moins de 3 ans et en cas de convulsions ou d'hyperparasitémie ou de coma profond. Cliniquement, elle passe facilement inaperçue, ses manifestations pouvant être semblables à celles du neuropaludisme
- ✓ **Déshydratation** : Les signes cliniques les plus parlants de la déshydratation bénigne à modérée sont chez l'enfant une diminution de la circulation périphérique, une sécheresse de la peau, une augmentation de l'urémie et une augmentation de la soif.

1.7.3.3-Chez la femme enceinte: Le tableau clinique du paludisme pendant la grossesse peut varier considérablement en fonction du degré d'immunité préexistant chez la femme. Le paludisme chez la femme enceinte doit être considéré comme grave et traité comme telle et rapidement, la pathologie est en effet plus grave, associée à une parasitémie intense et dangereuse pour la mère comme pour le fœtus. La femme enceinte non immunisée est prédisposée à toutes les manifestations décrites plus haut. Le risque d'avortement (au cours du paludisme grave), de mortinaissance, de prématuré et faible poids de naissance est accru. Le risque de paludisme grave notamment le neuropaludisme, est augmenté et la mortalité est élevée (2 à 10 fois plus qu'en absence de grossesse). Elle est particulièrement prédisposée à l'hypoglycémie et à l'œdème pulmonaire aigu.

La femme enceinte ayant une immunité relative, notamment la primigeste, est prédisposée à l'anémie sévère, mais les autres manifestations du paludisme grave sont inhabituelles.

Le paludisme à *P. falciparum* entraîne fréquemment des contractions utérines, provoquant une entrée en travail prématurée. Leur fréquence et leur intensité semblent liées à l'importance de la fièvre. La détresse fœtale est courante mais rarement diagnostiquée, le pronostic fœtal est très mauvais en cas de pathologie sévère. Le risque d'avortement et d'insuffisance pondérale à la naissance est augmenté, surtout pour la première grossesse. On observe des infections associées ; les pneumopathies et les infections des voies urinaires sont fréquentes.

- ✓ **L'hypoglycémie** : elle est généralement asymptomatique chez la femme enceintes et peut survenir à l'admission ou après la perfusion de quinine. Elle peut être associée à une bradycardie fœtale et d'autres signes de détresse fœtale. Quand la patiente est gravement malade, l'hypoglycémie est associée à une acidose lactique et à une mortalité élevée. Après administration de quinine, les anomalies comportementales, la sudation et la perte subite de conscience sont des manifestations habituelles.
- ✓ **Œdème pulmonaire** : il peut être présent à l'admission, mais aussi peut apparaître brutalement et sans signe avant coureur plusieurs jours après l'admission ou immédiatement après l'accouchement.
- ✓ **Anémie** : l'anémie chez la femme enceinte est associée à la mortalité et à la mortalité maternelle et périnatale ainsi qu'à un risque accru d'hémorragie fatale du post-partum. L'anémie palustre peut se compliquer d'une anémie ferriprive ou d'une anémie par carence en acide folique. La femme qui entre en travail très anémiée ou surhydratée peut faire un œdème pulmonaire après la délivrance.

1.7.4-Fièvre bilieuse hémoglobinurique : le paludéen déficient en G6PD (glucose-6-phosphate déshydrogénase) peut faire une hémolyse intravasculaire et une hémoglobinurie, déclenchées par la Primaquine et d'autres médicaments oxydants, même en l'absence de paludisme. La fièvre bilieuse hémoglobinurique ou l'hémoglobinurie palustre est peu fréquente et se présente chez l'adulte comme une pathologie grave, accompagnée d'anémie et d'insuffisance rénale.

Ces manifestations graves peuvent apparaître isolément ou, plus souvent, associées chez le même patient.

1.7.5-paludisme viscérale : Forme subaiguës ou chronique de l'infection, il s'observe rarement lors d'infections parasitaires répétées et/ou chez les sujets exposés à des infections par *P. falciparum* et se soumettant régulièrement à une prophylaxie par la chloroquine à laquelle les hématozoaires sont résistants. Tout se passe comme si l'expression aiguë, bruyant, du paludisme était écrêtée pour laisser place à une infection subintrante. Le tableau associe :

- Une anémie parfois intense avec ses complications,
- Un subictère parfois,
- Une splénomégalie constante,
- Une fébricule irrégulière à 38°C parfois absente,
- Une altération progressive de l'état général ; asthénie, anorexie, amaigrissement.

1.8-Diagnostic de paludisme :

1.8.1-Diagnostic clinique : l'élément majeur du diagnostic de paludisme est une forte présomption, en secteur d'endémie comme en secteur non endémique.

La géorepartition du paludisme n'étant pas uniforme, même dans les pays où sa présence est connue, il importe d'évoquer une exposition sur les arguments géographiques et la notion de voyage. On ne doit pas non plus négliger l'éventualité d'un paludisme transfusionnel ou transmis par une aiguille souillée. Le paludisme grave reproduit le tableau de nombreuses autres maladies, également fréquentes dans les pays impaludés, dont les plus importantes sont toutes les formes de méningites, la typhoïde et la septicémie. D'autres diagnostics différentiels doivent être évoqués : grippe, dengue, et autres arboviroses, hépatite, leptospirose, fièvres récurrentes, fièvres hémorragiques, typhus des broussailles, toutes les encéphalites virales (y compris la rage), gastro-entérites et, en Afrique, la trypanosomiase.

Chez la femme enceinte, le paludisme doit être distingué des infections de l'utérus, des voies urinaires ou du sein.

Chez l'enfant, les convulsions palustres doivent être distinguées des convulsions fébriles, au cours desquelles le coma ne dure habituellement pas plus d'une demi-heure alors qu'il faut attendre 30 à 60mn après la phase convulsive palustre pour que certains enfants retrouvent un état de conscience normal.

1.8.2-Diagnostic parasitologique :

La mise en évidence de l'hématozoaire est seule capable d'apporter une certitude dans le diagnostic et ceci se fait, grâce au frottis mince et à la goutte épaisse colorés par le Giemsa ou le May Grunwald- Giemsa ou les deux associés.

- ✓ **Examen direct** : cette technique utilisée par Laveran, consiste à observer sans coloration une goutte de sang entre la lame et la lamelle d'un microscope.
- ✓ **Frottis mince** : on étale une goutte de sang (1ml) sur une lame après séchage (par ventilation ou à l'air libre) à l'abri des mouches, on le colore soit avec la technique du May Grünwald-Giemsa, soit par la technique du R.A.L. on obtient un étalement monocouche des hématies colorées. La lecture se fait à l'objectif 100 avec immersion. Cette technique permet un diagnostic rapide d'espèce de stade et du degré de parasitemie mais souvent difficile en cas de faible parasitémie.
- ✓ **Goutte épaisse** : une goutte de sang est déposée sur une lame, le sang est defibriné, les hématies lysées par le colorant et aussi par trituration de la goutte de sang avec le coin d'une autre lame par un mouvement circulaire pendant quelques secondes. La plage de sang ainsi formée est colorée avec du Giemsa. La lecture se fait au microscope à l'objectif 100 avec immersion. Cette technique permet une concentration des plasmodies sur la lame, donc une identification rapide du parasite même en cas de parasitémie faible. Le cytoplasme apparaît coloré en bleu et le noyau en rouge. Le diagnostic d'espèce est difficile à cause de la destruction des hématies et la déformation des plasmodies.

En général, plus la densité parasitaire est élevée dans le sang périphérique, plus le risque de pathologie grave, présente ou à venir, est grand, et surtout chez les sujets sans immunité. Il faut noter que certains sujets peuvent faire un paludisme grave ou même fatal avec une parasitemie périphérique très faible. Par contre il est très rare que la goutte épaisse soit véritablement négative lorsqu'on retrouve à l'autopsie du patient une séquestration tissulaire massive des parasites.

Il est très important de surveiller toutes les 4 à 6 heures la parasitémie pendant les 2 à 3 jours du traitement. La valeur pronostique de la numération parasitaire peut être considérablement améliorée en déterminant le stade évolutif du parasite dans le frottis du sang périphérique. Le pronostic est aggravé, quelle que soit l'importance de la parasitémie si les stades matures prédominent. En général, si plus de 50% des plasmodies du sang périphérique sont au stade de très petit anneau (diamètre du noyau inférieur à 50% du diamètre de la couronne cytoplasmique), le pronostic est relativement mauvais. L'observation du pigment dans les polynucléaires du sang périphérique est un indicateur pronostique obtenu extrêmement rapide et relativement exact, en particulier chez l'enfant anémié et dans le paludisme grave associé à une parasitémie mineure ou inexistante. En effet si plus de 5% des polynucléaires contiennent du pigment visible, le pronostic est aggravé.

Plusieurs tests de diagnostic rapide nouveaux sont maintenant disponibles mais sont plus coûteux et ne remplacent toutefois pas la microscopie qui reste la méthode de référence pour le diagnostic du paludisme grave et pour la surveillance de la prise en charge, dans la mesure où ils n'apportent pas les précieux éléments d'information mentionnés ci-dessus.

1.8.3-Paramètres hématologiques et biochimiques :

L'anémié est normocytaire et peut être «sévère» (hémoglobine < 4g/dl). La thrombopénie (<100 000 plaquettes/ μ l) est généralement retrouvée et une hyperleucocytose périphérique s'observe au cours des formes particulièrement graves. On peut retrouver une élévation de la créatinémie, de la bilirubinémie et d'enzymes comme les aminotransférases et la 5'-nucléotidase. Le taux des enzymes hépatiques est bien inférieur à celui qu'on observe avec les hépatites virales aiguës. Il y a acidose dans les formes graves, avec une concentration en bicarbonates et un pH faible au niveau du plasma capillaire. Les troubles hydro électrolytiques (Na, K, Cl, Ca, et P) sont variables. La teneur du sang et du liquide céphalo-rachidien en acide lactique est souvent élevée chez l'adulte comme chez l'enfant, proportionnellement à la gravité de la maladie.

1.9-Traitement :

Le traitement repose sur l'utilisation de molécules antipaludiques qu'on peut classer selon leurs propriétés pharmacologiques, leurs propriétés chimiques, leurs origines. Ces molécules sont utilisées en fonction du stade de la maladie et de la sensibilité du parasite aux antipaludiques.

1.9.1-Classification des médicaments antipaludiques :

1.9.1.1-Classification selon leurs propriétés pharmacologiques :

- **Les schizonticides** : ils sont actifs sur les schizontes, inactifs sur les gamètes. Ils sont utilisés dans le traitement curatif des accès palustres, mais n'empêchent pas la transmission de la maladie. Ce sont : la quinine, et ses sels, les amino-4 quinoléines, les biguanides et dérivés, les diaminopyrimidines, et les sulfamides.
- **Les gamétocides** : ils ont peut d'intérêt thérapeutique pour le paludéen car ne sont actifs que sur les gamètes. Mais intéressant sur le plan prévention au niveau de la collectivité car empêchent la transmission de la maladie. Ce sont principalement les amino-8 quinoléines.

Certains antipaludiques comme l'Artémisinine et ses dérivés auraient à la fois les activités schizonticides et gamétocides.

1.9.1.2-Classification selon la famille chimique :

- **Les méthanol quinoléines** : la quinine et la méfloquine
- **Les amino-4 quinoléines** : la chloroquine et l'amodiaquine
- **Les amino-8 quinoléines** : la primaquine
- **Les antifoliniques** : Les biguanides et les diaminopyrimidines (pyriméthamine et triméthoprime).
- **Les antifoliques** : sulfadoxine, sulfalène, dapsons.
- **Les phénanthrènes méthanols** : halofantrine
- **Les aryles - amino-alcool** : artémisinine et dérivés (artéméter, artésunate).

Certains antibiotiques de la famille des Cyclines (doxycilline, tetracyline) ou des macrolides (érythromycine, josamycine, la clarithromycine...) sont utilisés en association avec les schizonticides dans les régions de polychimiorésistance)

1.9.1.3-Classification selon l'origine :

- **Origine naturelle** : quinine, artémisinine et dérivés.
- **Origine synthétique** : la méfloquine, chloroquine, amodiaquine, primaquine, halofantrine, les antifoliques et les antifoliniques.

1.9.1.4- Remarque sur quelques médicaments antipaludiques :

- **La quinine** : Elle reste à l'heure actuelle le médicament de première intention du traitement du paludisme grave presque partout dans le monde. Elle doit être toujours administrée en perfusion lente, mais jamais en bolus intraveineuse et la dose charge ne doit pas être administrée si le patient a reçu de la quinine, la quinidine ou la méfloquine dans les 12 heures précédentes. Elle peut être administrée également par voie IM, diluée à 60–100mg/ml, elle est sans danger pendant la grossesse. Les effets secondaires bénins sont fréquents et notamment le cinchonisme (acouphènes, surdité, vertiges, nausées, malaise, agitation et vision brouillée) ; La toxicité cardiovasculaire et neurologique grave sont rare. L'hypoglycémie est l'effet indésirable fréquent le plus grave. Devant une intoxication quininique présumée, le charbon activé, par voie orale ou donné par sonde naso-gastrique, accélère l'élimination.
- **Artémisinine** : L'artémisinine et ses dérivés peuvent être administrés par voie rectale. L'artémisinine en suppositoire s'est révélée hautement efficace dans les essais cliniques conduits au Vietnam chez des adultes et des enfants atteints de paludisme grave, à la posologie de 10-40mg/kg de poids corporel. La réponse thérapeutique s'est révélée aussi rapide qu'après administration parentérale d'artésunate et d'artéméther, et les suppositoires ont été bien tolérés. Les dérivés de l'artémisinine ne provoquent pas d'hypoglycémie chez la femme enceinte, cependant il y a peut d'informations sur leur utilisation chez la femme enceinte.
- **Artésunate** : Il existe sous forme orale intramusculaire et intraveineuse ; il est rapidement absorbé et la négativation parasitaire est accélérée par rapport à la quinine. L'artésunate est bien toléré sans effet indésirable, local ou général connu.
- **Artéméther** : Il existe sous forme intramusculaire et intraveineuse son efficacité, ses effets secondaires et sa disponibilité sont comparables à ceux de l'artésunate, sauf qu'en raison de sa présentation sous forme liposoluble, il risque d'être mal absorbé ou de façon inconstante après administration IM au patient gravement malade.

- **La chloroquine** : toujours recommandée dans les zones de chimiosensibilités (ou donc le médicament est sensible) pour la prophylaxie de l'infection à *Plasmodium falciparum* elle est en outre active sur les trois autres espèces. Des rétinoopathies ont été décrites lors de traitements prolongés, ce qui explique la nécessité de contrôles ophtalmologiques régulières lors de traitements au long cours.
- **Halofantrine** : sa demi-vie est courte, présentée sous forme de comprimés ou sirop elle aussi active que la méfloquine sur les souches chloroquino-résistante, et habituellement mieux tolérée, toute fois l'halofantrine peut allonger l'espace QT corrigé, et favoriser la survenue de troubles graves du rythme ventriculaire avec mort subite. Avant sa prescription un interrogatoire doit rechercher une cardiopathie, préexistante, même bénigne, des antécédents personnels de perte de connaissances familiaux, de mort subite qui constituent des contre indications. La réalisation d'un électroencéphalogramme préalable à sa prescription est indispensable, mais sa normalité ne présage pas l'absence de survenu d'accidents. Ce produit est contre-indiqué en cas d'allongement congénital ou médicamenteux de l'espace QT corrigé et l'hypovitaminose B1. il est contre-indiqué chez l'enfant de moins de 10kg et la femme enceinte ou allaitant, le médicament doit être prise en dehors des repas.
- **La sulfadoxine-pyriméthamine** : est réservé au traitement curatif car les effets secondaires peuvent être sévères (aplasie médullaire, syndrome de Lyell), il existe de nombreux cas de résistance.
- **L'amodiaquine** : Des effets secondaires graves (agranulocytose, hépatites toxique) font qu'actuellement il est principalement utilisé dans les combinaisons thérapeutiques.
- **Le proguanil** : est bien toléré, il peut être utilisé dans la prophylaxie en association avec la chloroquine ou l'atovaquone.
- **Méfloquine** : la méfloquine est efficace contre toutes les formes plasmodiales, y compris les souches polychimiorésistantes de *P. falciparum*. Sa structure est comparable à celle de la quinine. Des populations parasitaires spontanément résistantes ont été signalées en divers points des tropiques. Elle n'existe qu'en comprimés. La toxicité se manifeste par des gênes abdominales, des nausées, des vertiges, de l'insomnie et un malaise général. La psychose aiguë et une

encéphalopathie transitoire accompagnée de convulsions sont des effets secondaires graves, mais généralement de courte durée. Après le paludisme grave, un syndrome neurologique post paludique a été signalé au Vietnam, où la méfloquine était utilisée en complément de traitement parentéral (par l'artésunate et l'artéméther). Elle est contre indiquée chez la femme enceinte ou allaitante, chez les sujets prenant des β -bloquants, chez ceux ayant des antécédents psychiatriques ou de convulsions et chez les enfants de moins de 5 kg.

1.9.2- Accès palustre simple :

Tableau I : chimiothérapie du paludisme non compliqué (Dans Foumakoye, 2004)

Molécule	Dosage	posologie	observation
Amodiaquine	Cp à 153 mg	10mg/kg pdt 3 jours	A prendre après les repas
Chloroquine	Cp séc. à 100 et 300mg, amp inj à 100mg	10 mg/kg J1 et J2 puis 5 mg/kg au J3	A prendre pdt les repas
Halofantrine	Susp buv. 20mg/ml Cp à 250 mg	24 mg/kg pdt 24h en 3 prises	A prendre à distance des repas
Méfloquine	Cp quadri séc. à 250 mg	15 à 25 mg/kg pdt 24h en 2 à 3 prises	A prendre pdt les repas
Proguanil Atovaquone	+ Cp à 100 mg/250 mg	4 Cp en prise unique pdt 3 jours (adlt)	A prendre avec un repas ou une boisson lactée
Quinine	Cp 125 et 500 mg Amp inj 125, 250 et 500 mg 245 et 490 mg	8 mg/kg 3fois par jour pdt 7 jours 8 mg/kg 3fois par jours	Surveiller la glycémie surtout chez les enfants et les femmes enceintes
Sulfadoxine+ pyriméthamine	Cp à 500/25 mg Amp inj à 500/ 25 mg	2 à 3 Cp ou amp en une seule administration (adlt)	Si effets secondaires arrêter définitivement le t3
Artémisinine	Cp à 200 mg suppo à 100, 200, 300, 400, 500 mg	20 mg/kg en 2 prises au J1 puis 10 mg/kg pdt 6 jours	
Artéméther	Cp à 50 mg Amp inj à 80 mg/ml et 40 mg/ml	4 mg/kg au J1 puis 2 mg/kg pdt 6 jours	
Artésunate	Cp à 50 mg	2Cp matin et soir le	

Molécule	Dosage	posologie	observation
	Amp à 60mg/ ml	J1 et 1Cp matin et soir du J2 au J5	

La guérison clinique et parasitologique est obtenue en 2 à 3jours. La voie parentérale n'est indiquée qu'en cas d'intolérance digestive ; on administre la quinine en IV(perfusion lente) ou IM ou à défaut de la chloroquine ou de la sulfadoxine-pyriméthamine en IM.

1.9.3-Paludisme grave : (OMS, 2001) C'est un traitement d'urgence qui doit être antiparasitaire et symptomatique.

1.9.3.1-Traitement antiparasitaire: la chloroquinorésistance est maintenant presque mondiale et il est par conséquent conseillé de traiter tous les patients atteints de paludisme grave par la quinine ou, si indiqué, un dérivé de l'artémisinine. La réaction au traitement doit être surveillée par des examens cliniques fréquents.

-Pour un paludisme chloroquinorésistant ou de sensibilité inconnue ; on utilise la quinine :

- **Chez l'adulte :** dichlorhydrate de quinine, 20mg de sel/kg de poids corporel (dose charge) dilué dans une solution de glucose isotonique à la dose de 10ml/kg de poids corporel, passé en 4 heures en perfusion intraveineuse; 8 heures après le début de l'administration de la dose charge, donner une dose d'entretien de quinine, de 10mg de sel/kg de poids corporel, passé en 4 heures. Cette dose d'entretien sera renouvelée toutes les 8 heures, calculées à partir du début de la perfusion précédente, tant que le patient ne peut pas avaler ; administrer ensuite la quinine en comprimés, 10mg de sel/kg de poids corporel toutes les 8 heures pour atteindre 7 jours de cure, ou une dose unique de 25mg/kg de poids corporel de sulfadoxine et 1,25mg/kg de poids corporel de pyriméthamine (maximum 1500mg de sulfadoxine et 75mg de pyriméthamine).
- **Chez l'enfant :** dichlorhydrate de quinine, 20mg de sel/kg de poids corporel (dose charge) dilué dans une solution isotonique à la dose de 10ml/kg de poids corporel, passé en 4 heures en perfusion intraveineuse; 12 heures après le début de l'administration de la dose charge, donner une dose d'entretien de quinine, de 10mg de sel/kg de poids corporel, passé en 2 heures. Cette dose d'entretien sera renouvelée toutes les 12 heures, calculées à partir du début de la perfusion

précédente, tant que le patient ne peut pas avaler ; administrer ensuite la quinine en comprimés, 10mg de sel/kg de poids corporel toutes les 8 heures pour atteindre 7 jours de cure ou une dose unique de 25mg/kg de poids corporel de sulfadoxine et 1,25mg/kg de poids corporel de pyriméthamine. Si la perfusion intraveineuse est impossible avec la quinine, on peut envisager l'administration intraveineuse ou de suppositoires d'artémisinine/artésunate aux posologies suivantes :

- **Pour artésunate :** 2,4 mg/kg de poids corporel (dose charge) par voie intraveineuse, suivi d'une dose d'entretien de 1,2 mg/kg de poids corporel à 12 heures puis à 24 heures, puis 1,2 mg/kg de poids corporel tous les jours pendant 6 jours. Si le patient peut avaler, la dose quotidienne sera administrée par voie orale.
- **Pour artéméther :** 3,2 mg/kg de poids corporel (dose charge) par voie intraveineuse, suivi d'une dose d'entretien de 1,6 mg/kg de poids corporel tous les jours pendant 6 jours. Si le patient peut avaler, la dose quotidienne sera administrée par voie orale.
- **Artémisinine en suppositoires :** 40mg/kg de poids corporel (dose charge) par voie rectale puis 20mg/kg de poids corporel 24, 48 et 72 heures plus tard, suivi d'un antipaludique oral
- **Artésunate en suppositoires :** La dose de 200 mg par voie rectale à 0, 12, 24, 36, 48, et 60 heures une dose de charge de 4mg /kg de poids corporel administrée par voie rectale, suivie de 2mg/kg de poids corporel à 4, 12, 48, et 72 heures a été utilisée au Vietnam. Ce traitement doit être suivi d'un antipaludique oral

En dernier recours à défaut de quinine (usage parentéral), d'artésunate ou d'artémisinine (à usage parentéral ou suppositoires) on peut utiliser la quinidine : 15mg de base/kg de poids corporel (dose charge), passé en 4 heures en perfusion intraveineuse; 8 heures après le début de l'administration de la dose charge, donner une dose d'entretien de 7,5mg de base/kg de poids corporel, passé en 4 heures. Cette dose d'entretien sera renouvelée toutes les 8 heures, calculées à partir du début de la perfusion précédente, tant que le patient ne peut pas avaler ; administrer ensuite la quinine en comprimés, 10mg de sel/kg de poids corporel toutes les 8 heures pour atteindre 7 jours de cure ou, une dose unique de 25mg/kg de poids corporel de sulfadoxine et 1,25mg/kg de poids corporel de pyriméthamine.

-pour un paludisme chloroquinosensible : on utilise la chloroquine : 10mg de base/kg de poids corporel, en solution isotonique, passé en 8 heures en perfusion intraveineuse à vitesse constante, suivi de 15 mg/kg de poids corporel les 24heures suivantes. Ou à la posologie de 5mg de base/kg de poids corporel, en solution isotonique, passé en 6 heures en perfusion intraveineuse à vitesse constante, renouveler l'administration toutes les 6 heures, 5 fois au total (équivalent à 25mg de base/kg de poids corporel en continu en 30 heures). Si la perfusion intraveineuse est impossible; chloroquine, 3,5 mg de base/kg de poids corporel, toutes les 6 heures, par voie intramusculaire ou sous-cutanée ou la quinine ou dérivé de l'artémisinine.

1.9.3.2- Traitement des complications :

- ✓ **Coma (neuropaludisme) :** maintenir les voies aériennes dégagées ; placer le patient sur le côté, exclure les autres causes traitables de coma (hypoglycémie, méningo-encéphalite bactérienne) , éviter les traitements adjuvants potentiellement dangereux tels que corticoïdes, héparine, et adrénaline.
- ✓ **Convulsions chez l'adulte :** maintenir les voies aériennes dégagées ; traiter par le diazépam par voie intraveineuse (0,15mg/kg de poids corporel) ou rectale (0,5 mg/kg de poids corporel), par la paraldéhyde intramusculaire (0,1 mg/kg de poids corporel) pour la paraldéhyde , utiliser une seringue en verre si non en plastique mais à usage unique.
- ✓ **Anémie grave :** Transfuser du sang total frais ou un concentré globulaire.
- ✓ **Insuffisance rénale aiguë :** exclure une déshydratation ; maintenir un équilibre liquidien rigoureux ; recourir à la dialyse si indiquée.
- ✓ **Hypoglycémie :** mesurer la glycémie, et faire une injection de 50ml de dextrose à 50% (1ml/kg de poids corporel chez l'enfant) suivie d'une perfusion de dextrose à 5%ou 10%.
- ✓ **Acidose métabolique :** exclure ou traiter une hypoglycémie, une hypovolémie ou une septicémie à bacilles Gram négatif. Administrer rapidement une solution isotonique à la dose de 20 ml/kg de poids corporel ou 10ml/kg poids corporel de sang total administrer en 30mn si la concentration de l'hémoglobine est < 5g/dl
- ✓ **Œdème pulmonaire aigu :** éviter de surhydrater le patient, le relever le patient, mettre sous oxygène. Si l'œdème pulmonaire résulte d'une surhydratation, arrêter les apports liquidien intraveineux ; donner un diurétique (du furosémide 40mg par

voie intraveineuse) et faire une saigné de 3ml/kg de poids corporel qui sera recueillie dans une poche à sang.

- ✓ **Choc, accès palustre algique** : il fait penser à une septicémie à Gram négatif, faire des hémocultures ; donner un antibiotique par voie parentérale ; corriger les troubles hémodynamiques.
- ✓ **Hémorragies spontanées et coagulopathie** : transfuser du sang total frais ou des facteurs de coagulations donner de la vitamine K 10mg par voie IV
- ✓ **Hyperpyrexie** : administrer un antipyrétique (paracétamol, 15mg/kg de poids corporel ; Appliquer une compresse tiède et ventiler.
- ✓ **Hyperparasitémie**: Donner la dose initiale par voie parentérale ; devant d'autres signes de gravité, envisager une exsanguino-transfusion.
- ✓ **Fièvre bilieuse hémoglobinurique** : poursuivre le traitement antipaludique, transfuser du sang frais si nécessaire.
- ✓ **Pneumopathie d'aspiration** : donner des antimicrobiens par voie parentérale ; changer la position du patient ; utiliser la physiothérapie et l'oxygénothérapie.

1.9.4-Résistances aux antipaludiques

Les antipaludiques en monothérapie (traitement fondé sur un seul médicament) perdent rapidement leur efficacité. A certains endroits, le paludisme est résistant à toutes les thérapies de première intention qui sont financièrement accessibles. Il importe de suivre l'ampleur et la propagation de la pharmacorésistance pour parvenir à la juguler. La résistance à un médicament n'est pas nécessairement uniforme à l'échelle d'un pays et il peut subsister des poches régionales où la résistance l'emporte, où le médicament reste efficace. Toutefois, les victimes du paludisme et les dispensateurs de soins ignorent trop souvent si le paludisme auquel ils ont affaire est résistant ou non. Par conséquent, il faut cerner les zones de pharmacorésistance et, le cas échéant, recommander et fournir des médicaments de substitution. Pour ce faire, l'OMS aide les pays à cartographier la pharmacorésistance et leur recommande de s'orienter vers un nouveau traitement efficace lorsque ou avant que le niveau de résistance aux médicaments utilisés dépasse 15 %, et de ne pas les laisser excéder 25% (OMS, 2005)

1.10-Prophylaxie :

La prévention du paludisme repose sur la chimioprophylaxie et la protection contre la piqûre des moustiques. Elle est individuelle et collective. Le Mali présente des zones à risque épidémique :

- ❖ Le septentrion malien : Gao, Tombouctou, Kidal.
- ❖ La bande sahélienne : Kayes, Nioro et Yélimané, Nara.
- ❖ Les zones urbaines à forte densité populationnelle. (Toukara, 2005)

1.10.1-Prophylaxie individuelle: la chimioprophylaxie doit prendre en compte la répartition géographique de la chimiorésistance et doit être modifiée régulièrement en fonction de l'évolution de celle-ci. Selon leur degré de résistance, les pays impaludés sont classés en trois groupes qui correspondent aux trois zones définies par l'OMS

- Pays du groupe I : zones sans chloroquinorésistance.
- Pays du groupe II : zones de chloroquinorésistance rare ou modérée.
- Pays du groupe III : zones de chloroquinorésistance fréquentes ou de multirésistance.

Tout individu migrant dans une zone d'endémie palustre doit donc se renseigner sur le niveau de résistance de la région visitée.

➤ **Pour les séjours inférieurs à 3 mois ;**

- ✓ Dans un pays du groupe I : Chez l'adulte la meilleure prophylaxie consiste à prendre un comprimé de chloroquine dosé à 100 mg chaque jour 6 jours sur 7 (1,5 mg/kg/jour) dès le jour du départ pendant toute la durée du séjour et 2 mois après le retour. Chez l'enfant le sirop peut remplacer le comprimé.
- ✓ Dans un pays du groupe II : chloroquine ; trois comprimés par semaine (5mg/kg/semaine) plus proguanil 200mg/jour (3mg/kg/jour). Garder en réserve, en cas d'accès palustre ; un traitement curatif par la quinine ou le sulfadoxine-pyriméthamine ou la méfloquine ou l'halofantrine ou encore un dérivé de l'artémisinine.
- ✓ Dans un pays du groupe III : on peut utiliser l'association chloroquine-proguanil ou la méfloquine à la posologie de 1 comprimé de 250mg par semaine (4mg/kg) à débiter 8 jours avant le départ en raison de son délais d'action et afin de s'assurer l'absence

d'effets secondaires et poursuivre pendant 1 mois après le retour ou l'association l'atovaquone-proguanil, ou la doxycycline.

➤ **Pour les séjours supérieurs à 3 mois** ; deux zones sont considérées :

- ✓ **Zones de chloroquino-sensibilité** : un comprimé de chloroquine dosé à 100 mg chaque jour 6 jours sur 7 (1,5 mg/kg/jour) dès le jour du départ pendant toute la durée du séjour et 2 mois après le retour.
- ✓ **Zones de chloroquino-résistance**: Il y a une possibilité d'absence de chimioprophylaxie si le séjour est prolongé (supérieur à 2 ans), la Méfloquine sera utilisée ou atovaquone-proguanil ou encore doxycycline (1 comprimé de 100mg/jour). Dans ces situations, renforcer les mesures de protection contre les piqûres d'anophèle (moustiquaires imprégnées d'insecticides, répulsifs, vêtements adaptés) et avoir un traitement présomptif rapide par la quinine, la méfloquine, l'halofantrine ou l'artémisinine et ses dérivés en cas de fièvre, constitue plus que jamais actuellement une mesure fondamentale de prophylaxie individuelle.

Il faut noter que la chimioprophylaxie :

- N'empêche pas l'impaludation ;
- Ne constitue qu'un traitement préventif des accès cliniques ;
- Permet l'apparition d'accès à *P. falciparum* lorsque la prophylaxie est prématurément arrêtée lorsque la souche est résistante aux médicaments utilisés ;
- Ne met pas à l'abri d'un accès de reviviscence à longue échéance de *P. vivax* ou *P. ovale*

Au décours du traitement curatif d'un accès palustre dû à *P. falciparum*, on prescrira une prophylaxie couvrant les 30 jours qui suivent. Après un accès à *P. vivax* ou *P. ovale*, une thérapeutique visant à la destruction des formes exo-érythrocytaires devrait être prescrite. Mais en l'absence de produit mieux toléré que les amino-8-quinoléines, elle n'est actuellement pas réalisable.(AFEP, 1998),

Tableau II : Prophylaxie chez l'enfant.

Molécule	Présentation	Posologie	Commentaires
Chloroquine	sirop 25 mg/5 mL	< 8,5 kg 12,5 mg/j 9-16,5 kg 25 mg/j 17-33 kg 50 mg/j	attention aux intoxications accidentelles

Chloroquine	Comprimés sécables de 100 mg	33,5-45 kg 75 mg/j	Attention aux intoxications accidentelles.
		9-16,5 kg 25 mg/j	
		17-33 kg 50 mg/j	
Proguanil	comprimés 100 mg	< 8,5 kg 25 mg/j	.
		9-16,5 kg 50 mg/j	
		17-33 kg 100 mg/j	
Méfloquine	comprimés 50 mg	33,5-45 kg: 150 mg/j	contre-indication: en dessous de 15 kg (en prophylaxie) et en cas d'antécédents de convulsions
		15-20 kg 50 mg 1 fois/semaine	
		21-30 kg 100 mg 1 fois/semaine	
		31-45 kg 200 mg 1 fois/semaine	

Cas particuliers :

- Femmes enceintes : une femme enceinte ne doit se rendre en zone impaludée qu'en cas d'absolue nécessité. On peut utiliser un traitement présomptif intermittent avec la sulfadoxine – pyriméthamine (deux doses de SP, le 4e et le 7e mois de la grossesse).
- Enfant : il ne faut emmener des nourrissons ou des jeunes enfants dans une zone impaludée qu'en cas d'absolue nécessité. Dans les zones endémiques la prophylaxie se limite à la protection contre la piquûre de moustique ; utilisation de moustiquaire imprégnée, pas de chimioprophylaxie.
- Populations migrantes: Ces sujets, lorsqu'ils se rendent dans leurs pays d'origine, doivent bénéficier de la même chimioprophylaxie que les autres sujets non immuns.

1.10.2- prophylaxie collective :

Elle comporte :

- Protection des collectivités. Pour les enfants de 0 à 5 ans et les femmes enceintes, le traitement préventif intermittent (TPI) qui consiste à administrer à toutes les femmes enceintes au moins deux doses de traitement préventif avec un antipaludique efficace lors des consultations prénatales régulières est actuellement préféré à la chimioprophylaxie systématique afin de ne pas entraver l'apparition de

l'immunité et de prévenir l'émergence des chimiorésistances. On a pu vérifier l'innocuité, le caractère économique et l'efficacité de cette approche. Une évaluation du traitement préventif intermittent faite au Malawi a montré qu'il s'accompagnait d'une baisse des infections placentaires (de 32 à 23 %) et du nombre des cas de faible poids de naissance (de 23 à 10 %). Elle a également révélé que 75 % de toutes les femmes enceintes recourraient à ce traitement s'il leur était proposé (OMS, 2005) La généralisation de l'utilisation de moustiquaires imprégnées d'insecticide est également proposée. Elle permet de réduire à la fois le nombre des cas de paludisme et le taux de mortalité chez les femmes enceintes et leurs enfants, chez les enfants de moins de 5 ans, elle réduit de 20 % la mortalité, quelle qu'en soit la cause. Une étude portant sur une zone de forte transmission au Kenya a établi que les femmes qui dorment chaque nuit sous une moustiquaire imprégnée d'insecticide pendant leurs quatre premières grossesses ont quatre fois moins d'enfants prématurés ou ayant un faible poids de naissance (OMS, 2005) L'emploi d'une moustiquaire imprégnée bénéficie en outre au nourrisson qui dort avec sa mère en réduisant son exposition au paludisme

- Assainissement des pays impaludés. Il demande de grands moyens économiques souvent au-dessus des possibilités des pays en voie de développement qui sont les plus touchés. On peut citer le contrôle des marécages, des marigots et autres lieux de prolifération des moustiques.
- Destruction des anophèles. Elle consiste à lutter contre les adultes au moyen de dérivés chimiques et plus particulièrement d'insecticides de contact.

L'apparition d'une résistance des anophèles aux insecticides de contact et d'une résistance des hématozoaires aux antipaludiques de synthèse rend difficile cette prophylaxie collective.

Les mesures de protection contre les moustiques sont celles qui présentent le meilleur rapport bénéfice/risque. Effectives dès la tombée de la nuit, particulièrement utiles pour les jeunes enfants, elles reposent sur le port de vêtements amples et couvrants, l'utilisation correcte de répulsifs et d'insecticides efficaces (prudence chez l'enfant et la femme enceinte), la mise en place, chaque fois que possible, d'une moustiquaire imprégnée (OMS, 2005)

1.11- DMT et la recherche sur les plantes antipaludiques

1.11.1-Le Malarial un MTA contre le paludisme :

La réalisation du Malarial 1 a été le résultat des recherches entreprises dans les années 70 pour l'élaboration d'un MTA a base de *Spilanthes oleracea*. Le Malarial 1 a aboutit au Malarial 2 puis au Malarial 3 tous trois étaient composés de *Mitragyna inermis*, *Lippia chevalieri* et *Spilanthes oleracea* et seules les proportions variaient. C'est à partir de 1980 que le DMT remplaça *M. inermis* par *Cassia occidentalis* et testa le Malarial 4 et le Malarial 5. Ce dernier a été agréé par le conseil scientifique de l'INRSP au début des années 90. (Bocoum, 2001)

Actuellement le Malarial est un mélange de poudre de feuilles de *Cassia occidentalis* (activité antipyrétique) *Lippia chevalieri* (aromatisant) *Spilanthes oleracea* (activité antiparasitaires)

- *Cassia occidentalis* Linn (feuilles) = 62% antipyrétique
- *Lippia chevalieri* Moldenke (feuilles) =32% aromatisant
- *Spilanthes oleracea*, Jacq (capitules) = 6% action antiplasmodiale

Le Malarial est ensuite reparti en sachets de 10 g et vendu en paquets de 11 sachets au DMT et dans les Pharmacies. Il est consommé en décoction pendant la crise de paludisme à raison d'un sachet matin et soir pendant les 4 premiers jours puis une décoction par jour les 3 jours suivants.

Deux études expérimentales ont été réalisées au DMT afin de déterminer l'efficacité du Malarial 5

En 1987, mise en place d'un essai clinique visant à comparer l'effet du Malarial à celui de la Chloroquine.

En 1993, le laboratoire de parasitologie de la Faculté de Pharmacie de Marseille a réalisé en collaboration avec le DMT et l'Ecole National de Médecine et de Pharmacie de Bamako, des expérimentations *in vitro* et *in vivo* destinées à mesurer l'efficacité du Malarial.

Ces expériences ont permis de montrer que l'activité antiplasmodiale *in vitro* du Malarial 5 est similaire sur les souches de *P. falciparum* sensible à la chloroquine et sur des souches résistantes.

Des expérimentations *in vivo* sur des souris infectés par *P. berghei* et traitées par voie orale avec différents décoctés ont montré une évolution plus lente du taux de parasites chez les souris traitées qui s'est traduit par une survie de 2 à 3 jours par rapport aux souris non traitées.

Cette étude a permis de démontrer que l'activité antiplasmodiale *in vitro* du Malarial 5 est surtout due à *L. chevalieri* et à *S. oleracea*. Sur la base de ces résultats les auteurs ont suggéré de modifier les proportions du mélange en augmentant les proportions du *Spilanthes* qui passa de 4% à 6% dans la nouvelle formule. (Bocoum, 2001)

Selon les travaux de Guindo en 1987 et de Dumbia en 1997, le Malarial agit très rapidement sur les symptômes du paludisme mais agit légèrement sur le parasite.

Tableau III : IC50 du Malarial et ses constituants sur deux souches de *P. falciparum*

Médicaments ou extraits testés	IC50 sur les souches de <i>Plasmodium falciparum</i> (µg/ml)	
	aqueux	
Malarial	FCC2 chloroquine sensible	FZR chloroquine résistante
	600	470
<i>C. occidentalis</i>	660	580
<i>L. chevaleri</i>	300	380
<i>S. oleracea</i>	180	200
Chloroquine	0,03	0,27

D'autres plantes utilisées dans le traitement traditionnel du paludisme au Mali comme *Mitragyna inermis* (feuilles), *Glinus oppositifolicus* (partie aérienne), et *Nauclea lactifolia* (écorces de tronc) ont tous donné des IC50 supérieures à 500µg/ml pour l'extrait aqueux sur des souches de *P. falciparum* (Traoré, 1999).

1.11.2-Argemone mexicana Linn:

Des études ethnobotaniques et rétrospectives des résultats des études cliniques à Sikasso et à Badiangara au Mali ont permis d'identifier certaines plantes utilisées dans le traitement du paludisme. Des patients ont été interrogés sur des résultats récents et sur leurs expériences dans l'utilisation de divers traitements du paludisme et les plantes

qui ont donné de bons résultats ont été testées *in vitro* sur *Plasmodium falciparum* (Diallo et coll., 2005). La plante la plus active retrouvée chez les patients (dans l'enquête) et dans le test *in vitro* a été *A. mexicana* (Papavéracée). En effet parmi 58 extraits testés sur une souche K1 de *P. falciparum* chloroquino-résistante, *A. mexicana* a été la plus active avec une concentration inhibitrice à 50% (IC50) de 1µg/ml pour l'extrait méthanolique contre 0,05 µg/ml pour la chloroquine et 1,22µg/ml pour l'extrait dichlorometanique de la partie aérienne (Sangaré, 2003). *A. mexicana* est utilisée comme antipaludique dans plusieurs pays africains comme le Bénin, le Mali, et le Soudan. Son efficacité *in vitro* sur *P. falciparum* a été confirmée par plusieurs études. Mais il n'y a pas eu d'étude clinique pour déterminer son innocuité et son efficacité chez les humains.

Des études phytochimiques réalisées sur la partie aérienne de *A. mexicana* Linn ont révélé : 2,7% d'alcaloïdes totaux, la présence des hétérosides cardiotoniques, des composés réducteurs avec des réactions franchement positives, les tanins, les benzoquinones, les coumarines, les mucilages, les stérols et triterpènes ont donné des réactions positives moins franches. Les recherches ont été négatives pour les alcaloïdes des solanacées, les dérivés anthracéniques libres, les hétérosides cyanogénétiques, les caroténoïdes, les anthocyanes et les leucoanthocyanes. (Sangaré, 2003)

2- NOTION DE TOXICITE :

Les effets toxiques d'une substance varient considérablement selon sa nature, l'organe cible et son mécanisme d'action. Ces effets constituent la résultante d'interactions biochimiques entre la substance toxique et/ou ses métabolites et les structures de l'organisme. Une meilleure connaissance de ces caractéristiques permet d'améliorer l'évaluation des risques potentiels pour la santé et facilite le développement de mesures rationnelles dans la prévention et le traitement (Timbo, 2003).

Il existe des drogues dont l'administration peut provoquer des phénomènes d'intolérance ou d'allergie, d'autres plantes exercent leur effet thérapeutique à des doses voisines de celles pour lesquelles on observe des phénomènes toxiques on dit que la marge thérapeutique est réduite L'usage clinique d'une drogue est toujours

précédé d'un test de toxicité afin d'établir le risque encouru par l'homme lors de l'administration du produit (Fané, 2002).

L'étude de la toxicité aiguë permet d'exprimer la dose qui tue 50 % des animaux d'expérience (DL50) ainsi que dose minimale létale (DML) la plus petite dose qui tue un animal, ou encore la dose maximale sans effet toxique (DME) c'est à dire la dose la plus élevée pour laquelle aucun effet toxique n'est relevé par rapport au lot témoin (Traoré, 1999).

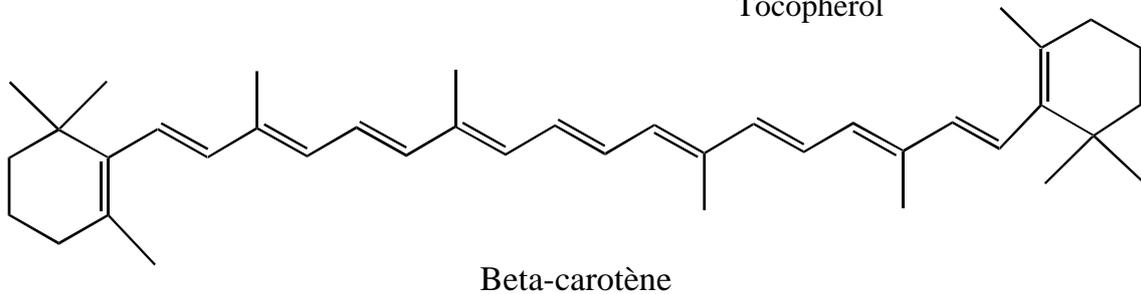
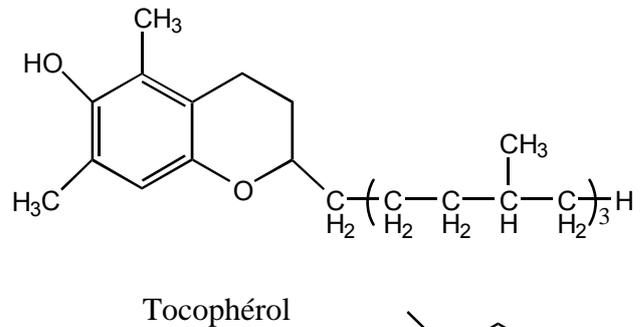
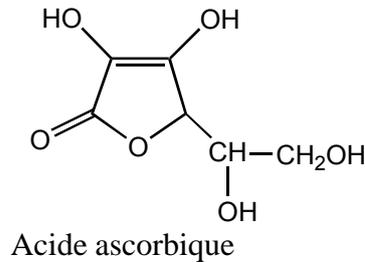
3-GENERALITE SUR LES ANTIOXYDANTS :

3.1-Définitions :

- ✓ **Antioxydant** : il se définit comme toute substance qui, lorsqu'elle est présente en faible concentration comparée à celle du substrat oxydable, retarde ou prévient de manière significative l'oxydation de ce substrat. Lorsque les espèces réactives de l'oxygène sont générées *in vivo*, de nombreux antioxydants interviennent.
- ✓ **Radicaux libres** : ce sont des molécules ou des atomes ayant un ou plusieurs électrons non appariés, ce qui les rend extrêmement réactifs. Ils tentent par conséquent de dérober au plus vite un électron à un autre composé, afin d'obtenir de nouveau des électrons appariés et de devenir un composé stable. La molécule qui doit céder un électron mute à son tour en radical libre et devient réactive. (Coene, 2004)

3.2-Les sources des antioxydants : On distingue deux principales sources :

- **L'alimentation** : ce sont l'acide ascorbique (vitamines C) et le tocophérol (vitamine E), les caroténoïdes ou provitamine A (bêta caroténoïdes et alpha caroténoïdes lutéine, lycopène), les polyphénols (flavonoïdes, tanins, anthocyanes acides phénoliques, phyto-oestrogènes), les oligo-éléments (Sélénium, manganèse, zinc et cuivre) ces derniers sont les éléments constitutifs et activateurs des enzymes

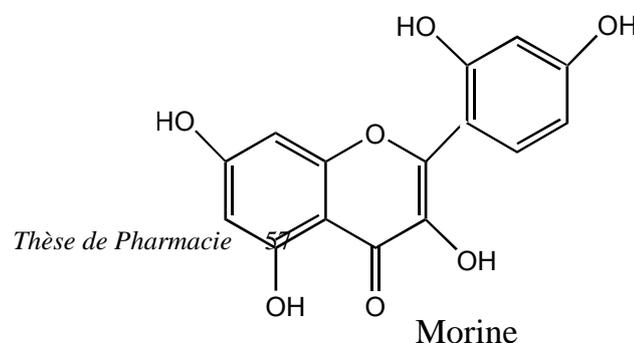


- **Sources endogènes** : enzymes (superoxyde dismutase (SOD) et le glutathion peroxydase (GSHPx)), protéines (ferritine, transferrine, albumines) et aussi les oligo-éléments. (Cœne, 2004).

Les plantes et les médicaments peuvent être également des sources d'antioxydants. En effet plusieurs agents thérapeutiques comme les anti-inflammatoires non stéroïdiens, les antihyperlipoprotéinémiques, les bêta – bloquants et les antihypertenseurs ont été évalués pour leur propriété antioxydante. (Ekoumou, 2003)

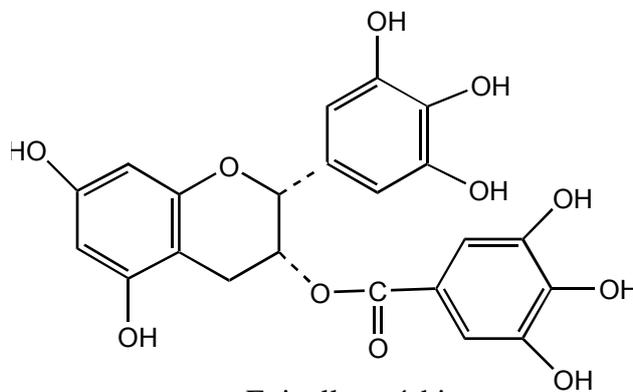
Les antioxydants naturels sont présents dans toutes les plantes supérieures et dans toutes les parties de la plante. On peut citer :

- **Les flavonoïdes** : ils constituent un groupe de métabolites secondaires le plus



répandu et le plus étudié, ils sont largement présents dans les fruits, les légumes, le thé etc. En plus de leur rôle déterminant dans le système de défense comme antioxydant ils ont de nombreuses activités biologiques :Anti-inflammatoires, antivirales, effets protecteurs sur le foie comme la Morine. Des flavonoïdes comme l'hespéridine et la rutine renforcent les parois des capillaires et préviennent l'infiltration dans les tissus voisins. Les isoflavones à effet oestrogénique sont efficaces dans le traitement des troubles liés à la ménopause.([Boullard, 2001](#); [Ekoumou, 2003](#))

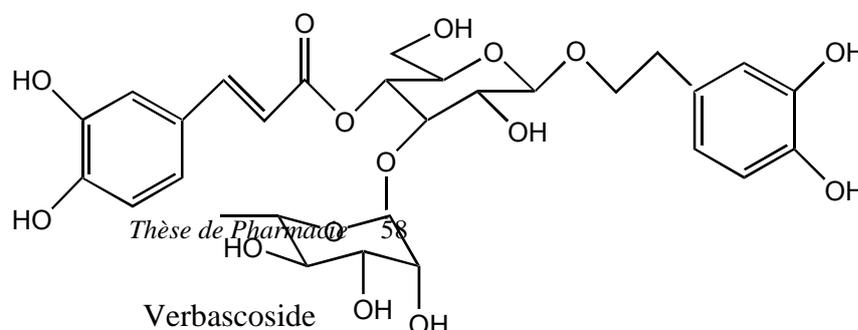
- **Les tanins** : les tanins hydrolysables et les procyanidines présentent des propriétés antioxydantes significatives. Toutes les plantes contiennent des tanins en un degré plus ou moins élevé. Ils agissent en donneurs de protons face aux radicaux libres



Epigallocatechine

lipidiques produit lors de la peroxydation. Des radicaux tanniques plus stables sont alors formés, ce qui a pour conséquence de stopper la réaction en chaîne de l'auto oxydation lipidique. Ils sont donc très bons capteurs de radicaux libres. On a pu démontrer qu'ils inhibent aussi bien l'auto oxydation de l'acide ascorbique et du linoléate que la peroxydation lipidique des mitochondries du foie et des microsomes. ([Ekoumou, 2003](#)). Les tanins contractent les tissus en liants les protéines et en les précipitant d'où leur emploi pour « tanner » les peaux. Ils permettent de stopper les hémorragies et de lutter contre les infections ([Boullard, 2001](#)). Le thé vert présente des polyphénols à activité anti-mutagène prouvée c'est le cas du gallate d'(-)-épigallocatechine.

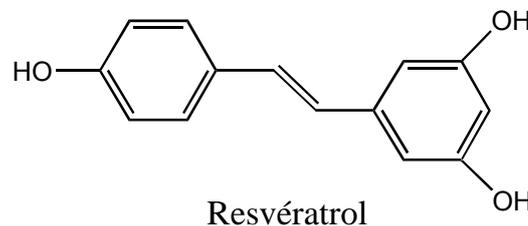
- **Les dérivés d'acide phénolique et composés phénoliques**, sont généralement



des dérivés d'acide hydroxycinnamique, dérivés d'acide coumarique, caféique, férulique et chlorogénique. Ils sont présents dans de nombreux fruits et légumes et captent les radicaux superoxydes du système NADPH/ méthosulfate de phénazine. Ils sont anti-mutagènes par blocage de la nitrosation des amines aussi bien *in vitro* que *in vivo*. Parmi les glucosides, ceux du phénylpropane ont montré une forte

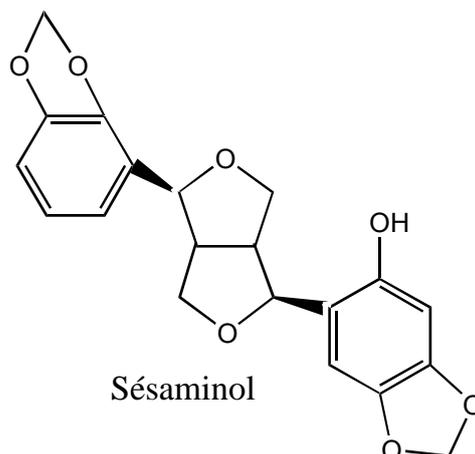
activité anti-oxydante, le Verbascoside inhibe l'auto-oxydation de l'acide linoléique, la peroxydation lipidique microsomale et capte le DPPH.

Le Resvératrol, stilbène isolé du raisin possède des propriétés anti-oxydantes et inhibe



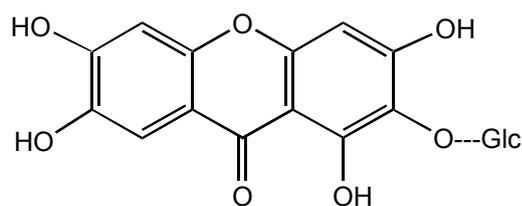
le développement des lésions préneoplastiques chez la souris.

- **Les lignanes** : les dérivés bifuranyles des graines de sésame (*Sesamum indicum* DC., Pedaliaceae) sont les plus étudiés du point de vue de leur activité antioxydante. Les lignanes diarylfuranofuraniques tels que le sésaminol ont démontré des



propriétés antioxydantes expliquant ainsi la stabilité de l'huile de sésame

- **Les xanthones** : des études sur la mangiferine ont démontré que ces polyphénols possèdent de très intéressantes propriétés inhibitrices sur la peroxydation lipidique. Ce sont également des capteurs des radicaux libres (anions superoxydes)



Mangiférine

- **Les coumarines** : ils manifestent leurs propriétés antioxydantes par la prévention de la peroxydation des lipides membranaires. Ils captent également les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes. Les coumarines du mélilot (*Melilotus sp.* Légumineuses) fluidifient le sang soignent les affections cutanées (bergaptènes) sont vasodilatateurs coronariens (khelline) (Boullard, 2001).
- **Les caroténoïdes** : ils forment un groupe de pigments liposolubles et contribuent à la coloration jaune, rouge et orange des fruits et légumes. On les retrouve souvent dans les plantes alimentaires. Les caroténoïdes réagissent avec l'oxygène singulet, les radicaux peroxydes et acolytes en capturant les radicaux libres.

3.3-Rôles et mode d'action des antioxydants : Les antioxydants réagissent avec les radicaux libres et rendent ainsi inoffensifs si l'équilibre entre les radicaux libres et les antioxydants est perturbé, les radicaux libres peuvent alors causer des dommages à l'organisme. On parle de stress oxydant. Les antioxydants ont divers mode d'action :

- Un antioxydant peut empêcher l'oxydation d'un autre substrat en s'oxydant plus rapidement que celui et en le préservant ainsi de l'oxydation.
- Les antioxydants arrêtent la réaction en chaîne qui préside la multiplication des radicaux libres.
- La SOD transforme l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène qui sous l'action du catalase donne de l'oxygène (O₂) et de l'eau (H₂O).
- Le glutathion peroxydase (GHSPx) est une enzyme qui détruit les peroxydes lipidiques. Il réagit avec le radical d'acide gras avant que celui-ci ne puisse réagir avec un nouvel acide gras et déclencher une réaction en chaîne oxydante.
- D'autres antioxydants absorbent l'énergie excédentaire de l'oxygène singlet pour la transformer en chaleur. Exemple : la bêta carotène, lycopène.

3.4-Antioxydants et affections chroniques: des études récentes ont montré que la consommation des anti-oxydants pouvait réduire la survenue de certaines affections chroniques fréquentes dont les maladies cardiovasculaires et le cancer. Mais cela ne signifie pas qu'il faut une supplémentation de l'alimentation en antioxydants car le mécanisme moléculaire de leurs effets protecteurs n'est pas suffisamment connu (Coene, 2004).

3.5- Antioxydants et paludisme: actuellement beaucoup d'études sont en cours pour déterminer le rôle des antioxydants dans le traitement du paludisme. Selon Hemmer et Coll. en 2005, le paludisme grave à *P. falciparum* a été associé à une activation des neutrophiles et des monocytes, à une élévation du taux de cytokines et à des dommages au niveau des cellules endothéliales. Ils ont également rapporté que des études *in vitro* ont montré que les neutrophiles peuvent être activés par des produits du parasite du paludisme et par les cytokines de l'hôte. Et que l'activation des neutrophiles et ces produits sécrétoires pourrait non seulement produire l'activité antiparasitaire mais aussi des dommages au niveau des cellules endothéliales qui peut être néfaste pour certains organes dans le paludisme grave. Hemmer et coll. ont trouvé dans leur étude que les sérums de patients paludéens rassemblés avec les neutrophiles déclenche une destruction des cellules endothéliales qui peut être prévenue par les antioxydants et les inhibiteurs d'enzymes protéolytiques *in vitro*. (Hemmer et coll., 2005).

La cytotoxicité des polynucléaires assurant la destruction des microorganismes étrangers s'explique par leur capacité de générer en intracellulaire de grandes quantités d'espèce oxygénée active (EOA) mais aussi à libérer à partir de leurs granules des enzymes protéolytiques élastase collagénase et de la myéloperoxydase (MPO). Indépendamment de cette action, les polynucléaires neutrophiles peuvent aussi s'activer sous l'action de stimuli extérieurs dont le parasite du paludisme. Les produits de cette activation sont à la fois libérés dans le milieu extracellulaire et ils s'attaquent dès lors à des tissus ou organes sains. Une élévation des taux plasmatiques de MPO et de l'élastase montrant une intense activation leucocytaire est la preuve indirecte d'une production des EOA dans ces situations pathologiques. Le stress oxydatif provoque également une hémolyse des globules rouges. Le taux d'hémolyse est proportionnel à la quantité d'antioxydant présent dans les érythrocytes (Pincemail, et coll., 1999)

3.6-Méthodes d'étude des antioxydants :

3.6.1-Test de réduction du DPPH :

Le 1, 1 –diphenyl 1, 2- picrylhydrazyle (DPPH) est un radical stable et présente une absorption spécifique à 517 nm qui confère une coloration violette. Lorsque le DPPH est réduit par un capteur de radicaux, sa couleur disparaît. L'activité de substances anti-radicalaires est mise en évidence par la révélation sur des chromatogrammes de taches décolorées sur un fond violet à l'aide du DPPH (Ekoumou, 2003).

3.6.2-Test mesurant l'activité oxydante au moyen de caroténoïdes :

Les plaques CCM sont préparées de la manière que pour le test du DPPH, puis giclées avec une solution chloroformique de bêta carotène. la plaque CCM est ensuite exposée sous une lampe UV à 254 nm jusqu'à décoloration de celle-ci . Les zones antioxydantes apparaissent en jaune sur fond blanc les substances colorées en jaune peuvent donner des faux positifs (Ekoumou, 2003).

3.6.3-Test mesurant l'activité antioxydante contre le lysosome : il consiste en l'oxydation des lysosomes par le 2, 2-azobis, 2-amidinopropène (Ekoumou, 2003)

4-GENERALITE SUR Argemone mexicana L. :

4.1-Systematique : (Sangaré, 2004)

Règne : Végétal

Sous Règne : Eucaryotes

Embranchement : Spermatophytes

Sous Embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Ordre : Ranunculales

Famille : Papavéracée

Genre : Argemone



Espèce : mexicana

Argemone mexicana Linn Papavéracée

Rameau florifère

(Willcox, 2004)



Fleur



fruit



graines

Figure N°2: *Argemone mexicana* Linn (Papavéracée)

Le genre *Argemone* comporte 12 espèces les principales sont : *A. alba* Lestib, *A. platyceras* Link. & Otto, *A. grandiflora* Sweet et *Argemone mexicana*. Linn

4.2-Nomenclature:

- **Français** : Argémone mexicaine
- **Anglais**: Mexican prickly poppy, Yellow poppy
- **Bambara**: Bozo Bo, Niénidjéni
- **Indien**: Satyanashi
- **Senoufo**: Kakontapia
- **Malinké**: Tombo Sama
- **Peulh**: simsimji

4.3-Description botanique:

Argemone mexicana est une herbe annuelle ramifiée et dressée, qui atteint 1m de hauteur. La base est ligneuse, les feuilles sont alternes, sessiles, et glabres lancéolés avec le bord lobé et dentellé, ces dents sont terminées par des pointes épineuses. Les fleurs sont terminales ; ils ont 2,5 à 5 cm de diamètre avec des sépales verts et des pétales jaune vif. Les fruits sont des capsules rectangulaires et ovoïdes avec de nombreuses épines dressées ou étalées. Le latex est jaune. La graine est brun noirâtre, ronde et nette. Ces graines ressemblent aux graines de Moutarde (*Brassica compestris*) qui fournissent l'huile de Moutarde. Raison pour la quelle celles-ci sont accidentellement ou intentionnellement adultérées par les graines de *A. mexicana*.

Argemone mexicana est originaire de la partie méridionale de l'Amérique du Nord. Elle vit en petit peuplement en générale près des villages et campements, c'est une espèce anthropogène.

4.4-Utilisations traditionnelles:

Tableau III: Usages traditionnels de *A. mexicana*

Organes utilisés	Formes d'utilisation	Indication / Pharmacologique	Action	Lieu d'utilisation et référence
Feuilles		Entéralgies (boisson), douleur musculaire (bain local) et la gonorrhée		Sénégal oriental (Kerharo et Adams ; 1974)
	Décoction	Constipation Mal fonctionnement hépatique, et jaunisse. Paludisme simple		Côte d'Ivoire (Burkill, 1997) Côte d'Ivoire, Burkina Faso (Burkill, 1997) Mali-Sikasso (Sangaré,2003)
Tiges	Infusion	Toux		Gambie (Burkill, 1997)
	Ecrasées	Inflammation		(Burkill, 1997)
Racines	Infusion	Diurétique		(Burkill, 1997)
	Infusion	Stimulant voir excitant, Antihelminthique		(Burkill, 1997)
	Décoction	mal de dent, douleur des yeux, écoulement urétral		en Inde, (Burkill, 1997)
Suc	Macération	Blennorragies, troubles hépatobiliaires, fièvre bilieuse hématurique.		(Kerharo et Adam, 1974)
	ND*	Sédatif, antiémétique		(Burkill, 1997)
	ND	Otite (en instillation)* Affection oculaire		aux USA (Kerharo et Adam, 1974)
Graines	ND	opacité de la cornée		Inde
	Infusion de 15 g/litre	Diurétiques purgatives		(Kerharo et Adam, 1974)
Huile	ND	Diarrhée, vomissement	dysenterie,	(Burkill, 1997)
	30gouttes sur un morceau de sucre pure	Constipation et insomnie		(Kerharo et Adam, 1974)
Partie aérienne	Décoction	Infections cutanées, plaies syphilitiques, chancres, eczéma		Sénégal, Afrique du Sud (Burkill, 1997)
		Diurétique diaphorétique Plaies, maladies oculaires, eczéma		(Kerharo et Adam, 1974)
Partie aérienne**		Œdème des membres inférieurs		(Burkill, 1997)
Feuilles et racine	Décocté ou macéré	Syphilis, écoulement urétral		(Burkill, 1997)
		Calmant entéralgique, splénomégalie		(Adjanooun et col, 1981)

*ND= non déterminé ; ** associée à *Trichilia emetica* (Miliaceae)

Toutes les parties de *A. mexicana* ont une utilisation médicinale. Ces utilisations regroupées dans le tableau VIII ; font appelle à ses propriétés calmantes, diurétiques, cholagogues et cicatrisantes :

4.5-Composition chimique:

La chimie de *A. mexicana* est dominée par la présence de nombreux alcaloïdes dans les différents organes, les plus connus peuvent être rattaché à trois groupes, les teneurs en ces différentes bases sont variables.

Tableau IV: Répartition des alcaloïdes dans les différents organes de *A. mexicana* (Verma et coll. en 2001)

Groupes	Alcaloïdes	Organes
Protoberbérine	Berbérine	Feuilles, tiges, graines
	Coptisine	Racines
Protopine	Protopine	Feuilles, tiges, graines
	Allocryptopine	Racines
Benzophénanthridine	Sanguinarine	Huile de graine
	Dihydrosanguinarine	Huile de graine
	Chélérythrine	Racines
	Dihydrochélérythrine	Racines

Tableau V: concentration relative des principaux alcaloïdes dans les graines de *A. mexicana* (Verma et coll. en 2001)

Alcaloïdes	concentrations relatives en %
Dihydro-sanguinarine	87
Sanguinarine	5
Berbérine	0,5
Protopine	0,12
Cheletrythine	0,03
Coptisine	0,13

En plus des alcaloïdes signalés, on retrouve également :

- **Dans les graines :** huile 22 à 40% du poids sec, matières azotés, amidon, eau, sels minéraux, cellulose, sucres, gomme.
- **Dans la plante entière :** les racines contiennent du saccharose et les feuilles de la vitamine C ; la poudre de feuilles séchées et tiges renferme : des corps gras (alcool cérylique, β -sistostérol ...), des acides organiques solubles dans l'eau (acide tartrique, acide succinique, acide citrique, acide malique), des

aminoacides libres et combinés, des monosaccharides (glucose et fructose) et des sels minéraux.

- **Dans les fleurs :** trois dérivés flavoniques ont été retrouvés (isorhamnétine, isorhamnétine-3-glucoside et isorhamnétine-3,7- diglucosides).

4.6-Pharmacologie:

Les études pharmacologiques effectuées sur *A. mexicana* ont porté sur les organes, les alcaloïdes totaux et aussi sur des alcaloïdes spécifiques.

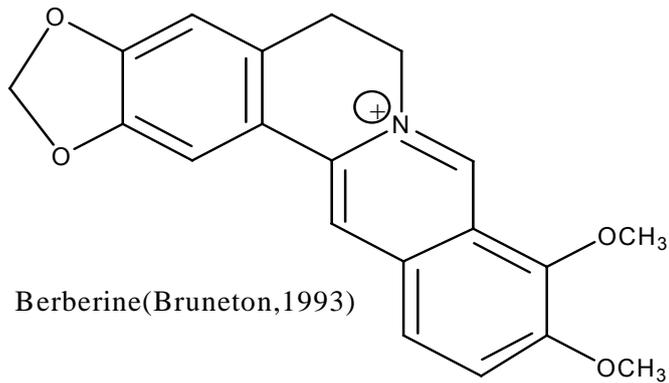
4.6.1-Les organes : la plante entière est réputée hypotenseur, narcotique (Boullard, 2001) diaphorétique, diurétique (Kerharo et Adam, 1974), les graines sont toxiques pour les animaux mais aussi pour l'homme. Les graines sont utilisées à dose thérapeutique pour ses propriétés diurétique et purgative (Kerharo et Adam, 1974), antiémétique (Burkill, 1997) laxative (Boullard, 2001). Dans Kerharo et Adam, en 1974, il est rapporté que Feng et coll. ont expérimentés pharmacologiquement un extrait aqueux et un extrait alcoolique préparés de la feuille et de la tige à la concentration de 1g/ ml sur des lapins, chiens, souris, la rate. Ces extraits ont exercé une action dépressive sur la pression sanguine du chien. Non toxiques pour la souris même à des doses supérieures à 1 ml par voie intra péritonéale et sont sans action sur l'utérus isolé de rate. Ils agissent à 1ml, le duodénum de lapin ; et à la dose de 0,1 ml l'intestin de cobaye. L'extrait alcoolique inhibe les activités spontanées du cœur isolé à la dose de 0,1 ml. De plus l'extrait alcoolique diminue le débit sanguin de la patte postérieure du rat, et montre un blocage de l'activité ganglioplégique sur l'intestin de cobaye (Kerharo et Adam, 1974). Les feuilles et la tige ont également des propriétés antibactérienne, antivirale, hypotensive (par vasodilatation), spasmogénique et stimulant utérin (Boullard, 2001). Les feuilles sont laxatives, la tige diurétique, les racines stimulantes voir excitantes (Burkill, 1997), l'extrait de ses capsules constitue un excellent hypnotique, et antitussif, le latex est anticoagulant, les racines antiblénorrhagique, et les feuilles sont anti-inflammatoires pour les yeux, cicatrisant pour les ulcères mais également embryotoxique (Boullard en 2001),

4.6.2-Les alcaloïdes totaux : Les alcaloïdes totaux représentent 0,125% de poudre sèche de tiges-racines. Ces alcaloïdes totaux stimulent tous les muscles lisses et se comportent comme antagoniste de l'acétylcholine, de l'histamine et de la 5-hydroxy tryptamine. Ils possèdent une action ocytocique, l'atropine, agents adrénergiques

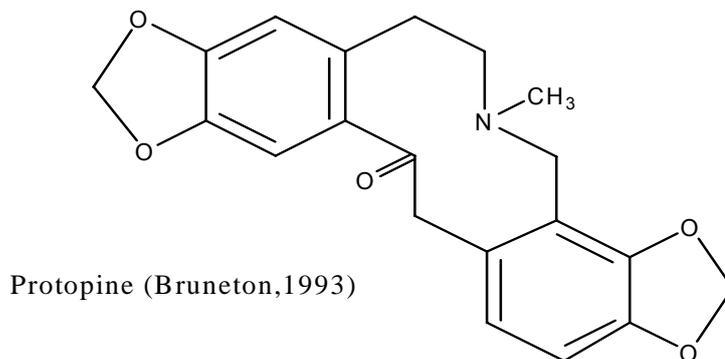
bloquants et histaminiques ne modifient pas la réponse sur la pression sanguine. L'occlusion carotidienne réflexe est inhibée, mais la réponse à l'acétylcholine et aux catécholamines reste affectée. Le totum alcaloïdique est antagoniste de la narcose barbiturique et potentialise la stimulation métamphétaminique de la mobilité spontanée chez la souris. Il produit aussi un léger blocage neuromusculaire du diaphragme et montre une action anti-cholinergique sur les muscles striés de la grenouille (Kerharo et Adam, 1974).

4.6.3-Les alcaloïdes : ce sont probablement les principes actifs de *Argemone mexicana* on peut citer : la berbérine, la sanguinarine, la protopine, l'allocryptopine, la dihydrosanguinarine

4.6.3.1-La berbérine : la berbérine est douée de propriétés bactériostatiques à faible dose, bactéricide à dose plus forte. *In vitro*, elle est active sur de nombreux germes (staphylocoques, streptocoques, mais également sur *Proteus*, *Salmonella*, *Vibrio*, etc.). Elle est aussi fongicide et toxique à l'égard de *Plasmodium*, les *Leishmanies* et divers protozoaires. Elle diminue le péristaltisme intestinal (Bruneton, 1993). La berbérine n'est pas très toxique, chez les chats et les chiens sa toxicité est d'environ 0,025g/kg par voie intraveineuse. A la dose de 2mg/kg, la berbérine exerce une action déprimante et vasodilatatrice sur le cœur. Elle déprime l'activité respiratoire et stimule les muscles lisses de différents organes : intestin, utérus, bronches, les propriétés antibiotiques ont été confirmées par plusieurs auteurs, en France Lambin et Bernard ont beaucoup insisté sur ses propriétés bactériostatiques sur *Mycobacterium tuberculosis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, *Eberth typhosa* (Kerharo et Adam, 1974). La berbérine à dose faible est bon dépresseur de la douleur mais à forte dose paralyse le système nerveux central elle est hallucinogène. Elle a été recommandée comme adjuvant de la quinine dans le traitement du paludisme où elle libère les parasites des tissus internes vers la circulation périphérique qui s'exposent ainsi à l'action de la quinine, jouant ainsi le rôle d'agent provocateur mais l'action antiplasmodiale proprement dit n'a pas été démontré. Par contre elle est active sur *la Leishmania* (Burkill en 1997)

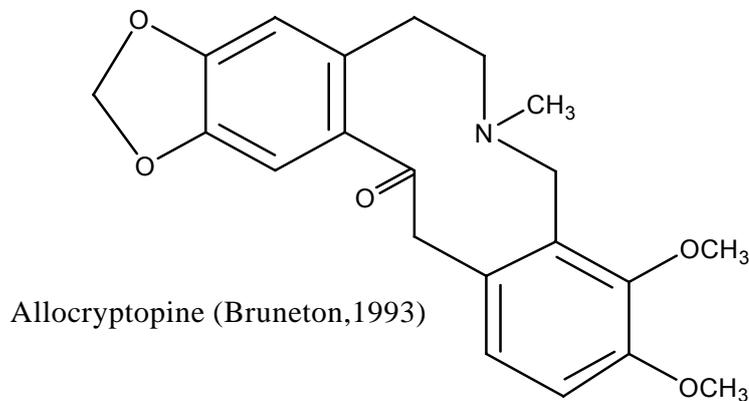


4.6.3.2-La protopine: la protopine est spasmolytique, anticholinergique, antiarythmique, et antibactérienne, elle augmente la fixation de l'acide gamma-aminobutyrique sur ses récepteurs centraux (Bruneton, 1993). La protopine provoque des bradycardies chez la grenouille et chez le lapin même si la pression sanguine reste dans les normes chez le lapin, alors qu'on s'attend à une accélération des réflexes cardiaques, chez la grenouille, des contractions irrégulières apparaissent aux fortes doses avec fibrillation ventriculaire. La protopine exerce aussi une action puissante, mais de brève durée, sur l'utérus. Il faut signaler que Bose et coll., ont trouvé que la protopine possède des activités stimulantes sur le cœur, les muscles striés et lisses, la respiration et la pression sanguine, (Kerharo et Adams, 1974)

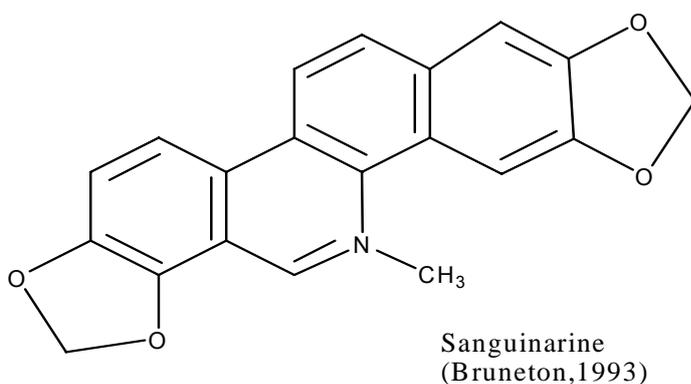


4.6.3.3-Allocryptopine : on peut retrouver cet alcaloïde sous deux formes chez les végétaux (α et β) la forme α étant la seule pharmacologiquement active, selon certains auteurs c'est la forme α qui est présente dans l'argémone, et la forme β pour d'autres. Du point de vue pharmacologique l' α -allocryptopine ralentit le cœur de rat et de grenouille et prolonge la systole. Elle ralentit aussi les battements du cœur chez les chats et les lapins aux doses de 10-20mg/kg , provoque le blocage du cœur chez la grenouille à des doses plus élevées. Il s'agit là d'une action directe sur le

myocarde, non affectée par l'atropine, l'acétylcholine, la physostigmine ou la pilocarpine. Les propriétés antifibrillantes de l' α -allocryptopine seraient selon certains cliniciens plus efficaces que celles de la quinine dans les arythmies à fibrillation et flutter auriculaire. (Kerharo et Adam, 1974)



4.6.3.4-La sanguinarine : la sanguinarine est en partie responsable de la toxicité de l'huile de graine d'argémone. Elle stimule le cœur isolé de la grenouille, du cobaye et autres mammifères, mais n'a aucun effet sur la pression sanguine du chien, sur l'intestin isolé, et sur l'utérus gravide du cobaye. Ses trois actions sont : anti-adréraline, effets histo-pathologiques sur la cornée, l'angle de filtration, la rétine et la peau, et des effets sur l'équilibre tissus-fluide. L'hydrosanguinarine même à forte dose n'est pas toxique. (Kerharo et Adam, 1974). Elle est douée de propriétés antimicrobiennes, antifongique et anti-inflammatoire (œdème de la patte du Rat). Inhibiteur de l'ATPase Na / K dépendent et inotrope positif, c'est une molécule qui interagit avec les acides nucléiques. Le chlorure de sanguinarine est utilisée en bains de bouches et dentifrices, surtout au Etats Unis : se fixant de manière sélective sur la plaque dentaire, il en inhibe 98% des bactéries à des concentrations variant entre 1 et 16 $\mu\text{g/ml}$ (Bruneton, 1993)



4.7-Toxicité de A . mexicana Linn :

Beaucoup d'études sur *A. mexicana* ont surtout porté sur la toxicité de cette plante qui est signalée à diverses reprises comme étant toxique pour l'homme et les animaux et pouvant entraîner la mort par hémorragies intestinales qui seraient due principalement à la consommation du latex et des graines. En effet, l'huile de moutarde qui est utilisée pour la cuisson des aliments est très souvent contaminée par l'huile de la graine de *A. mexicana* ou la graine qui contamine les céréales comme le blé. Beaucoup de cas d'intoxications ont été signalés à travers le monde : la première été signalée à Calcutta en Inde en 1877 (Singh et coll., 1999), puis s'en est suivi d'autres cas au Cap, Afrique du Sud entre 1946 et 1947, qui a fait 4 victimes sur 12 intoxiquées, chez les poules en Australie (Kerharo et Adam, 1974). Deux épidémies touchant Delhi et alentours avec 65 morts pour la seule la ville de Delhi en 1998, (Verma et coll., 2001) ; à Saptari au Népal en 1996 (Singh et coll., 1999).

Le mécanisme de la toxicité de l'huile d'argémone n'est pas encore claire mais différentes hypothèses ont expliqué cette toxicité plus ou moins par celle de la sanguinarine (Verma et coll., en 2001)

Inhibition de Na^{} et K^{*} ATPase

*dégradation de la membrane cellulaire par des réactions d'oxydations et la peroxydation des lipides

*Inhibition de l'activité de l'ADN polymérase

*Accumulation de pyruvate due à une glucogenolyse accrue.

L'empoisonnement qui débute brutalement sans signes avant coureurs se traduit rarement par le symptôme diarrhée - vomissements, mais plus souvent par de la constipation et par des troubles de la vision. Les premiers symptômes de l'empoisonnement sont caractérisés par des douleurs et des oedèmes, mais la véritable épidémie commence avec l'apparition de sarcoïdes, légères diarrhées et légers oedèmes des jambes. Il a été montré chez le Rat que la DL50 du chlorure de sanguinarine est de 1,66 g/kg (per os) ; ce même animale ne semble pas souffrir d'une dose quotidienne de 0,6 mg/Kg de sanguinarine pendant 30 jours. La toxicité est beaucoup plus marquée par voie IV (29mg/kg) (Kerharo et Adam, 1974)



TRAVAUX PERSONNELS

5-METHODOLOGIE :

Nous avons effectué une étude ethnomédicale conduite à Missidougou de Septembre à Octobre 2004 chez un thérapeute utilisant *Argemone mexicana* dans le traitement du paludisme, puis nous avons effectué une étude phytochimique sur des échantillons de *A. mexicana* récoltés dans trois localités du Mali et sur la décoction du thérapeute ; des extraits aqueux préparés à partir de ces différents échantillons ainsi que le décocté du thérapeute ont été testés *in vitro* à l'Institut des Maladies Tropicales de Bâle sur la souche K1 chloroquine résistante de *P. falciparum*. Nous avons également étudié la toxicité aiguë de l'extrait le plus actif et du décocté du thérapeute.

5. 1 ETUDE D'ÉVALUATION DE L'ÉVIDENCE ETHNOMÉDICALE

L'étude de l'évaluation de l'évidence ethnomédicale qui a été conduite à Missidougou chez le thérapeute traditionnel Mr. Tiémoko Bengali était basée sur le protocole de l'OMS en 1996. Elle avait pour objectif de déterminer l'efficacité clinique et l'innocuité de la décoction de *A. mexicana* dans le traitement du paludisme à *P. falciparum* non compliqué et a concerné 84 patients.

5.1.1- Présentation de la zone d'étude :

Missidougou est un village de 400 habitants environs, majoritairement peuplé par les Sénoufo. Situé à la frontière Mali-Burkina Faso dans la commune de Finkolo, région de Sikasso, il est à 70 Km de l'Hôpital régional, le poste de santé du Mali le plus proche est à 40 Km (à Finkolo) et la moitié de cette route est impraticable surtout en période hivernale (période de transmission intense du paludisme). Il n'y a pas de transport public sur cette route. Le chef de ce village est un thérapeute traditionnel qui utilise *Argemone mexicana* Linn en décoction dans le traitement du paludisme.

5.1.2-Matériels :

Le laboratoire a été abrité dans une case en banco avec sol cimenté (environ 3x3m), devant, se trouvait un hangar utilisé comme salle d'attente. Tout le système électrique était alimenté par deux plaques (panneaux solaires) connectés en parallèle et disposés sur le toit de la case.

➤ Le mobilier était constitué par :

- Deux tables de travail et des chaises.
- Un lit pour consultation.

➤ Les appareils de laboratoire étaient composés de :

- Deux microscopes binoculaires pour les parasitémies, la numération des plaquettes et globules blancs.
- Deux centrifugeuses une pour la centrifugation des sérums et l'autre pour les hématocrites.
- Un électrocardiographe de type Cardisuny 501SA
- Un glucomètre de type Ascensia Elite

L'eau de Javel était préparée sur place à l'aide d'une cellule HCD (Made by Antenna)

L'eau filtrée était obtenue à l'aide d'un filtre à eau.



Figure N°3 : Photo du Laboratoire de Missidougou (J. Falquet)

De la droite vers la gauche : Dr. Merlin Willcox, Pr. Drissa Diallo, l'étudiant Thésard.

5.1.3-Critères d'inclusion:

5.1.3.1 La maladie :

- Patient diagnostiqué par le thérapeute traditionnel comme atteint de paludisme.
- Paludisme symptomatique non-complicé après examens cliniques du médecin.
- Goutte épaisse positive avec une parasitémie > 2000/µl et <200 000/µl de sang à *Plasmodium falciparum* pur confirmé par recherche d'hématozoaires sur frottis mince
- état fébrile (température axillaire > 37.5°)
- Absence de sévère malnutrition

5.1.3.2- Les malades :

- Patients adultes ayant donné leur consentement éclairé ou mineurs et ayant reçu le consentement des parents ou du tuteur, traités pour un épisode de paludisme non-complicé avec le décocté de *A. mexicana* par le tradithérapeute.
- Patients pour qui on pouvait raisonnablement atteindre une bonne observance du traitement et un suivi suffisant.

5.1.4-Critères d'exclusion :

6.1.4.1- La maladie:

- Paludisme compliqué ou grave,
- Porteurs sains de parasites ou paludisme asymptomatique,
- Présence de certaines pathologies associées telles que des infections microbiennes.
- Diagnostic clinique d'une autre cause de l'état fébrile (par exemple, pneumonie, infection urinaire).

5.1.4.2- Les malades :

- Patients n'ayant pas donné leur consentement.
- Femmes enceintes et enfants de moins de 3 mois
- Patient inapte à revenir pour le suivi.

5.1.4.3-Traitements :

- Pathologies nécessitant la prise de médicament(s) qui pourraient interférer avec

le schéma thérapeutique de l'étude, par exemple, tétracycline, doxycycline, minocycline, clindamycine, érythromycine, antihistaminiques tricycliques, antidépresseurs tricycliques,

- Inhibiteurs des canaux calciques.
- Prise dans la semaine précédente de : sulfadoxine-pyriméthamine, méfloquine, amodiaquine, halofantrine, quinine, atovaquone-proguanil, pyronaridine, dérivé d'artémisinine ou n'importe quel autre médicament antipaludique.

5.1.5-Procédures d'inclusion :

Pour tout patient se présentant au tradithérapeute et qu'il a diagnostiqué comme impaludé, des recherches d'hématozoaires sur goutte épaisse et frottis mince ont été réalisées pour confirmation diagnostique, identification du parasite et évaluation de la parasitémie. Les patients ayant franchis cette étape ont été examinés par un médecin moderne pour rechercher des infections associées dont le traitement peut interférer sur celui du paludisme, puis invités à consentir pour l'inclusion dans l'étude. Après sélection et consentement éclairé du patient ou de son représentant, un numéro lui a été affecté selon l'ordre d'entrée dans l'étude.

5.1.6 – Suivi des patients:

Le suivi après inclusion se faisait sur 28 jours (au J1, J2, J3, J7, J14 et au J28) et les patients suivis étaient invités à revenir au centre dès qu'il y a problème. Dans ces situations après examen clinique, la parasitémie était vérifiée et la suite du suivi décidée en fonction de l'état du patient et selon les critères de jugements définis par l'OMS en 1996 ([voir annexe 5](#)).

Des examens biochimiques (GOT, GPT, Créatinémie), parasitologiques (goutte épaisse, frottis mince), hématologiques (hématocrite), l'électrocardiogramme étaient réalisés sur les patients suivis en fonction de leur âge et leur aptitude à se prêter à ces examens. Des interrogatoires et des examens physiques étaient également effectués à chaque jour de suivi.

5.1.7 - Traitement des patients:

Au J0 après les examens de base le patient était ensuite invité à prendre sa dose de décocté de Argémone chez le thérapeute. La prise de la décoction est suivie et la dose notée, pour les posologies journalières multiples, les doses étaient écrites après interrogatoires du patient au jour de suivi suivant. Au cours de l'étude nous avons regroupé les patients du thérapeute en 3 groupes selon la dose et la posologie du traitement prescrit par le thérapeute. Les premiers patients ont été traité avec une prise de la décoction par jour pendant 3 jours (groupe A). Un second groupe a reçu sa dose du traitement en deux prises par jour pendant sept jours (groupe B), le troisième groupe (groupe C) a été traité à la dose de 4 prises par jour pendant les 4 premiers jours puis 2 prises par jours pendant 4 jours.

Les échecs thérapeutiques ont été traités par la chloroquine, la sulfadoxine-pyriméthamine ou avec l'association luméfantine-Artéméter.

Un stock de médicament d'urgence était disponible en vu prendre en charge les cas d'urgence de paludisme ou d'autres maladies qui se présentait à l'équipe.

5.1.8 – Considérations éthiques :

Le protocole de l'étude a été présenté au comité d'éthique à Bamako qui a donné son autorisation. Une note d'information au patients, rédigée en français a été distribuée aux patients inclus dans l'étude (voir annexe4). Le consentement des patients était oral et enregistré par les témoins présents. Tout patients inclus dans l'étude ont reçu une explication détaillée relative au déroulement de l'étude.

5.1.9 - Méthodes de laboratoire:

Les prélèvements veineux ont été réalisés chez les patients âgés chez qui ont pouvait facilement accéder à la veine.

- Les gouttes épaisses étaient colorées avec du Giemsa à 10% pendant 10mn, le décompte des parasites a été fait en utilisant le protocole de l'OMS (voir annexe 7).
- Frottis minces fixés au méthanol avant coloration au Giemsa servait à identifier l'espèce plasmodiale en cause. Les étalements (frottis mince et goutte épaisse)

sont examinés indépendamment par deux personnes. En cas de désaccord entre les résultats, en particulier si la parasitémie diffère d'un facteur de deux au moins ou s'il y a désaccord sur l'espèce, ils sont confiés à un expert indépendant pour examen.

- L'hématocrite a été mesuré en utilisant les tubes de micro hématocrites dans une centrifugeuse la lecture est également faite par au moins deux techniciens et la moyenne arithmétique est effectuée.
- Les globules blancs et les plaquettes ont été comptés en utilisant le protocole standard de l'OMS avec la cellule de Malassez (voir annexe 8 et 9)
- La glycémie a été mesurée en utilisant un glucomètre de type ASCENSIA ELITE.
- Des prélèvements de sang veineux ont été centrifugés et les sérums envoyés à l'hôpital régional de Sikasso pour la détermination des transaminases (ASAT et ALAT) et la créatinémie.
- L'électrocardiogramme a été réalisé sur place à l'aide d'une machine Cardisuny 501SA single Channel electrocardiograph (Fukuda M, kogyo Co Ltd, Japon) et analysé manuellement. Il n'a pas été fait de façon régulière pour les enfants de moins de 5 ans.
- Les patients ont été pesés à l'inclusion à l'aide d'une balance électronique et poids noté
- Des prélèvements sanguins ont été réalisés systématiquement sur papier filtre à l'inclusion. Pour les patients qui négatives leur parasitémie au cours du suivi et qu'on observe des parasites au cours du suivi, un deuxième confetti était réalisé et les deux ont été envoyés au MRTC/DEAP à Bamako (Point G) pour les analyses PCR. Cela pour connaître les patients ayant fait une recrudescence ou une reinfestation.

5.1.10 – Analyse des données

L'interprétation des résultats a été effectuée avec le programme EPI INFO ; 6e version française après compilation de toutes les données relatives aux patients inclus dans l'étude.

L'évaluation des résultats a été définie par le RITAM avec le guidelines for studies on traditional antimalarial remedies qui est basé sur la définition de l'OMS en 1996.

5.2.-ETUDE PHYTOCHIMIQUE:

Pour les études phytochimiques nous avons récolté 4 échantillons de *A. mexicana* constitués par la partie aérienne de la plante.

- ✓ **Echantillon 1 (E1)** : cet échantillon récolté à Blendio le 01 janvier 2005 sans les graines a été préalablement broyé à l'aide d'un mortier traditionnel puis séché à l'ombre dans la salle des matières premières du DMT avant d'être pulvérisé en poudre fine de couleur vert-bronze moyen. Pour la pulvérisation nous avons utilisé le broyeur de type SM2000 OSY 1430 μ m.
- ✓ **Echantillon 2 (E2)** : Partie aérienne de la plante avec graines récoltée à Missidougou et à Zitonosso le 22 novembre 2004 puis séché avant d'être pulvérisé dans les mêmes conditions que E1. La poudre obtenue était fine de couleur vert clair.
- ✓ **Echantillon 3 (E3)**: est constitué par la partie aérienne, de *Argemone mexicana* récolté à Mountougoula et alentour le 06 février 2005. Cet échantillon a été séché et pulvérisé dans les mêmes conditions que E1. La poudre obtenue était de couleur vert-bronze moyen.
- **Blendio** (cercle de Sikasso) situé à 320 km de Bamako, est le lieu de récolte du premier échantillon étudié lors de la première phase de cette étude.
- **Missidougou** est le village de la commune de Finkolo cercle de Sikasso ayant abrité les études d'évaluation de l'évidence ethnomédicale.
- **Mountougoula** un village situé à 20 Km de Bamako où *Argemone mexicana* est également utilisé dans le traitement du paludisme.

5.2. 1- Réactions en tubes:

5.2.1.1-Alcaloïdes :

- ✓ **Solution à analyser** : 10g de la poudre ont été introduit dans un erlenmeyer de 250 ml, puis nous y avons ajoute 50ml de H₂SO₄ a 10%. Après agitation nous l'avons laissé macérer pendant 24 heures à la température du laboratoire. Nous avons ensuite filtré et complété le filtrat à 50 ml avec de l'eau distillée.
- ✓ **Caractérisation** : Nous avons introduit 1 ml de filtrat dans deux tubes à essais au filtrat du tube N° 1 nous avons ajouté 5 gouttes du réactif de Dragendorff et 5

gouttes du réactif de Mayer dans le second tube, l'apparition d'un précipité montre la présence d'alcaloïde, qui est confirmée par une extraction.

5.2.1.2-Composés polyphénoliques :

Dans un tube à essai, introduire 5 ml d'infusé à 5% et ajouter 1ml de solution aqueuse de FeCl₃ à 1%. La présence des tanins se matérialise par une coloration verdâtre ou bleu noirâtre.

5.2.1.2.1-Tanins catéchiques :

A 5ml de l'infusé à 5%, ajouter 5ml d'HCl concentré. Ce mélange est porté à ébullition pendant 15mn. L'apparition d'un précipité rouge soluble dans l'alcool isoamylique, indique la présence de tanins catéchiques.

5.2.1.2.2-Tanins galliques : réaction de Stiasny :

A 30 ml de l'infusé à 5%, ajouter 15 ml de réactif de Stiasny (10 ml de formol à 40% et 5ml de HCl concentré) et chauffer au bain-marie à 90°C pendant 15mn environ. Le filtrat est ensuite saturé par 5g d'acétate de sodium pulvérisé; ajouter goutte à goutte 1ml d'une solution de FeCl₃ à 1%. L'obtention d'un précipité montre la présence de tanins galliques.

Filtrer et saturer 10 ml du filtrat d'acétate de sodium obtenu. Ajouter quelques gouttes de FeCl₃ à 1%. L'apparition d'une teinte bleu noire indique la présence de tanins galliques non précipités par le réactif de Stiasny.

52.1.2.3-Flavonoïdes :

A l'infusé à 5% présentant une coloration plus ou moins foncée, ajouter 5 ml de H₂SO₄ à 10%, puis, une base (NH₄OH). Si la coloration s'accroît par acidification, puis vire au bleu violacé en milieu basique, nous sommes en présence des anthocyanes.

5.2.1.2.3.1 Réaction à la cyanidine :

Introduire dans un tube à essai 5ml d'infusé à 5%, et ajouter 5ml d'alcool chlorhydrique (éthanol à 95° alcoolique, eau distillée, HCl concentré à parties égales en volume) ; puis, quelques copeaux de magnésium et 1ml d'alcool isoamylique.

L'apparition d'une coloration, rassemblée, rose orangée (flavones) ou rose violacée (flavonones) ou rouge (Flavonols, flavanonols) dans la couche surnageante d'alcool isoamylique indique la présence d'un flavonoïde libre (génines). Les colorations sont moins intenses avec les hétérosides flavoniques.

5.2.12.3.2 Leucoanthocyanes :

Effectuer la réaction à cyanidine sans ajouter les copeaux de magnésium et chauffer au bain-marie pendant 15mn. La présence d'une coloration rouge-cérise ou violacée indique une réaction positive. En présence des catéchols nous avons une teinte brun rouge.

5.2.1.3-Dérivés anthracéniques :

5.2.1.3.1. Anthraquinones libres : A 1g de poudre, ajouter 10 ml de chloroforme et chauffer ce mélange pendant 3mn au bain-marie. Le filtrat obtenu est ensuite complété à 10 ml avec du chloroforme.

A 1ml de l'extrait chloroformique ainsi réalisé, ajouter 1ml de NH₄OH et agiter. La coloration plus ou moins rouge indique la présence d'anthraquinones libres.

5.2.1.3.2. Anthraquinones combinées :

➤ **Les O- Hétérosides:** Au résidu de la drogue épuisée par le chloroforme, sont ajoutés 10ml d'eau, 1ml d'HCl concentré, puis, le tube à essai est maintenu au bain-marie bouillant pendant 15mn.

A 5 ml de l'hydrolysat obtenu, ajouter 5 ml de chloroforme et agiter. A la phase organique, ajouter 1ml de NH₄OH dilué : la présence d'anthraquinones est révélée par la coloration rouge plus ou moins foncée.

La réaction peut être plus poussée par addition à 5 ml de l'hydrolysate, 3 à 4 gouttes de FeCl₃ à 10%, puis agiter avec 5 ml de chloroforme.

A la phase chloroformique, ajouter 1 ml de NH₄OH dilué et agiter. En présence de produits d'oxydation des anthranols ou des anthrones, la coloration rouge est plus intense que précédemment.

➤ **C - Hétérosides:** Au résidu de la drogue épuisée par le chloroforme ajouter 10ml d'eau, puis, ajouter encore 1ml de FeCl₃ à 10%. Après ébullition au bain-marie pendant 30 minutes, agiter avec 5ml de chloroforme. A cette phase est ajouté 1ml de NH₄OH dilué. Une coloration rouge plus ou moins intense indique la présence de génines d'hétérosides.

5.2.1.4-Stérols et triterpènes :

La solution utilisée est obtenue à partir de 1g de poudre et 20 ml d'éther, laissés en macération de 24 heures, puis, le filtrat est complété à 20 ml avec de l'éther. Après avoir évaporé à sec 10 ml de l'extrait, dissoudre le résidu dans 1ml d'anhydride acétique, puis, dans 1ml de chloroforme. La solution obtenue est partagée entre deux tubes à essai l'un servant de témoin.

Mettre au fond du second tube à essai, à l'aide d'une pipette 1 à 2ml de H₂SO₄ concentré. A la zone de contact des deux liquides, il y a formation d'un anneau rouge brunâtre ou violet, la couche surnageante devenant verte ou violette révèle la présence de stérols et de triterpènes.

5.2.1.5-Caroténoïdes :

Evaporer à sec 5ml de l'extrait et ajouter 2 à 3 gouttes d'une solution saturée de trichlorure d'antimoine dans le chloroforme. Il se développe en présence de caroténoïdes une coloration bleue devenant rouge par la suite.

5.2.1.6. Hétérosides cardiotoniques :

5.2.1.6.1-Préparation de la solution à analyser :

Introduire 1g de poudre dans un tube à essai, ajouter 10 ml d'éthanol à 60° alcoolique et 5 ml d'une solution d'acétate neutre de plomb à 10%. L'ensemble est porté à ébullition pendant 10 minutes. Le filtrat est ensuite récupéré.

5.2.1.6.2-Characterisation :

Agiter le filtrat avec 10 ml de CHCl₃ dans un tube à essai, en évitant la formation d'une émulsion. Après décantation dans une ampoule à décanter, la phase chloroformique est soutirée à l'aide d'une pipette, puis, partagée entre trois tubes à essai et évaporée au bain-marie jusqu'à sec. Les résidus sont repris avec 0.4 ml d'isopropanol.

Dans les trois tubes, ajouter respectivement 1ml de réactif de Baljet, 1ml de réactif de Kedde et 1ml de réactif de Raymond-Marthoud. Ensuite, introduire dans chaque tube, 2 gouttes de KOH à 2% dans l'éthanol à 80° alcoolique. Après une dizaine de minutes de contact, la présence de cardénolides, est révélée par les colorations suivantes :

- Tube 1 : orangé.
- Tube 2 : rouge violacé.
- Tube 3 : violet fugace.

5.2.1.7-Saponosides :

5.2.1.7.1-Préparation de la solution à analyser (Décocté à 1%) :

Porter à ébullition 100 ml d'eau distillée dans un erlenmeyer de 250 ml et y projeter 1g de poudre, maintenir en ébullition modérée pendant 15 minutes. Le filtrat est ajusté à 100 ml

5.2.1.7.2-Caractérisation :

Dans une série de 10 tubes à essai numérotés de 1 à 10, répartir successivement 1, 2,....10 ml du décocté à 1% préparé. Ajuster le volume dans chaque tube à 10 ml avec de l'eau distillée. Ensuite, chaque tube est agité dans le sens de la longueur pendant 15 secondes à raison de 2 agitations par seconde. Après avoir laissé au repos pendant 30 minutes, la hauteur de la mousse est mesurée dans chaque tube. L'indice de la mousse est donné par le calcul :

$$\text{Indice de mousse} = \frac{1000}{\text{Numéro du tube où la hauteur de mousse mesure 1cm}}$$

6.2.1.8-Composés réducteurs :

Introduire 5 ml de décocté aqueux à 10%, dans un bêcher de 100 ml et évaporer au bain-marie jusqu'à sec. Au résidu obtenu, ajouter 1 ml de réactif de Fehling (0,5 ml de réactif A et 0,5 ml de réactif B, mélange extemporané). Un précipité rouge brique indique la présence de composés réducteurs.

5.2.1.9-Oses et holosides :

Introduire 5 ml du décocté à 10%, dans un bêcher de 100 ml. Au résidu obtenu après une évaporation à sec au bain-marie, ajouter 2 à 3 gouttes de H₂SO₄ concentré et 5 minutes après,

3 à 4 gouttes d'alcool saturé avec du thymol. L'apparition d'une coloration rouge révèle la présence d'oses et holosides.

5.2.1.10-Mucilages :

Introduire 1 ml du décocté à 10%, dans un tube à essai et ajouter 5 ml d'alcool absolu. Après une dizaine de minutes, l'obtention d'un précipité floconneux par mélange, indique la présence de mucilages.

5.2.1.11-Coumarines :

5 ml d'extrait étheré obtenu après une macération de 24 heures sont évaporés à l'air libre, puis repris avec 2 ml d'eau chaude. La solution est partagée entre 2 tubes à essai. Ajouter dans l'un des tubes, 0,5 ml de NH₄OH à 25%.

La présence d'une fluorescence intense dans le tube où il a été ajouté de l'ammoniaque indique la présence de coumarines sous un rayonnement ultra violet à 366 nm.

5.2.1.12- Hétérosides cyanogénétiques :

5ml d'un mélange à volume égal d'eau et de toluène sont ajoutés à un gramme de poudre. Bien agiter, nettoyer la partie supérieure du tube à essais et y fixer à l'aide d'un bouchon le papier picrosodé fraîchement préparé. La présence d'hétérosides cyanogénétiques est indiquée par une coloration rouge plus ou moins rapide du papier picrosodé.

5.2.2- Dosage de certains constituants :

5.2.2.1-Alcaloïdes totaux :

L'extraction des alcaloïdes est fondée, en règle sur le fait qu'ils existent habituellement dans la plante à l'état de sels et sur la basicité, c'est-à-dire sur la solubilité différentielle des bases et des sels dans l'eau d'une part et dans les solvants organiques d'autre part.

Nous avons utilisé la méthode d'extraction par un solvant en milieu alcalin.

- 10g de la drogue pulvérisée est humectée par une solution de NH₄OH à 50% (pendant 30mn à 1heure) qui déplace de leurs combinaisons salines : les bases ainsi libérées sont ensuite solubilisée dans 50ml de chloroforme en deux tranches de 25ml.
- Le chloroforme contenant les alcaloïdes bases est séparé du marc par filtration et agité avec 2 fois 25ml de l'acide chlorhydrique 5%. Les alcaloïdes se solubilisent dans la phase aqueuse acide sous forme de sels tandis que les impuretés restent dans la phase chloroformique.

- La solution aqueuse est alcalinisée jusqu'à odeur avec de l'ammoniaque (NH₄OH) à 50% puis extraite de nouveau par du chloroforme. Cette solution chloroformique est concentrée au Rotavapor à sec dans un ballon préalablement taré. La masse obtenue est désignée par M (masse d'alcaloïdes totaux extraits)
- Le pourcentage en alcaloïdes totaux (%AT) est calculé par la formule suivante :

$$\%AT = \frac{100 \times M}{PE}$$

PE= Prise d'essai M= masse d'alcaloïdes totaux extraits

NB : la réaction de Dragendorff sur la phase aqueuse de la dernière extraction chloroformique négative traduit une extraction complète des alcaloïdes.

5.2.2.2-Substances extractibles par l'eau :

Matériel :

- Balance analytique de précision (type SARTORIUS)
- Un rotavapor
- Ballon de concentration

Nous avons fait une décoction pendant 15mn avec 1g de poudre et 20ml d'eau. Le filtrat est introduit dans un ballon préalablement taré et concentré à sec au Rotavapor. Le ballon est ensuite pesé et la masse du résidu déduite.

5.2.2.3 Dosage de l'eau :

5.2.2.3.1-Dosage de l'eau par entraînement azéotropique :

Matériel :

- Ballon de 250 millilitres.
- Réfrigérant à reflux tube droit de 20 centimètres de long
- Tube cylindre gradué
- Chauffe ballon

Mode opératoire : 5g de poudre sont portés à ébullition pendant 1heure dans un système de réfrigérant à reflux avec 100ml de toluène et 1ml d'eau distillée. Après 30mn de repos, le niveau de l'eau N1 est noté. L'ébullition est reprise a nouveau pendant 1heure puis 30minutes de repos. Le niveau N2 est encore noté. L'augmentation du niveau d'eau correspond à la quantité d'eau contenue dans la prise d'essai qui est ensuite rapporté à 100g.

5.2.2.3.2-Dosage de l'eau par gravimétrie :

Matériel :

- o Balance analytique de précision (type SARTORIUS)
- o Four
- o Verre de montre
- o Pince
- o Spatule métallique
- o Capsules en verre
- o Dessiccateur

Mode opératoire : 5 prises d'essais de masse variant entre 1 et 2g de poudre sont introduites dans 5 creusets tarés et sont placés dans le four à la température de 105°C pendant 24 heures. Après refroidissement dans un dessiccateur nous les avons pesés et la perte de masse observée correspond à la quantité d'eau perdue. La moyenne est calculée et rapportée à 100 g.

5.2.2.4-Dosage des cendres :

5.2.2.4.1-Dosage des cendres totales : les prises d'essais du dosage de l'eau par gravimétrie ont été réintroduites dans le four et calcinées à 600°C pendant 6 heures. Après refroidissement dans un dessiccateur nous les avons pesés. La quantité de cendre obtenue est pesée et la moyenne rapportée à 100g de prise d'essai.

5.2.2.4.2-Dosage des cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique à 10% : La cendre totale de la prise d'essais est recueillie dans une capsule. On y ajoute 20ml d'acide chlorhydrique à 10% puis on porte l'ensemble à l'ébullition au bain-marie pendant 15mn. Le résidu est alors recueilli sur un filtre sans cendre dans un creuset taré et calciné au four à 600°C pendant 6 heures. Après refroidissement dans un

dessiccateur nous l'avons pesé et la masse de cendre obtenue est rapportée à 100g de prise d'essai.

5.2.2.4.3-Dosage des cendres sulfuriques à 50% : 3 prises d'essais de masse variant entre 1 et 2 g de poudre sont introduites dans 3 creusets tarés et sont placés dans le four à la température de 600°C pendant 6 heures. Après calcination et refroidissement dans un dessiccateur, la masse de cendre obtenue est rapportée à 100 g de prise d'essai.

5.2.3-Préparation des extraits :

Matériel :

- Un canari
- Balance de précision de type AND
- Un Rotavapor
- Un lyophilisateur
- Des chauffe ballons
- Un bain-marie
- Des ballons de décoction, concentration et de lyophilisation.
- Des erlenmeyers
- Spatules, flacons propres et stériles
- Un thermomètre

5.2.3.1-Décoction du thérapeute de Missidoukou :

Nous avons rapporté une décoction préparée par le tradithérapeute de Missidoukou.

Le thérapeute met une quantité de la plante dans le canari qu'il tasse (Photo N°1 et 2). Il y ajoute une quantité suffisante d'eau jusqu'à l'apparition du niveau d'eau à la surface, puis l'ensemble est mis en ébullition pendant environ 3 heures (Photo N°3). La décoction est filtrée et la solution obtenue est prête pour être administré aux patients après refroidissement.



Photo 1

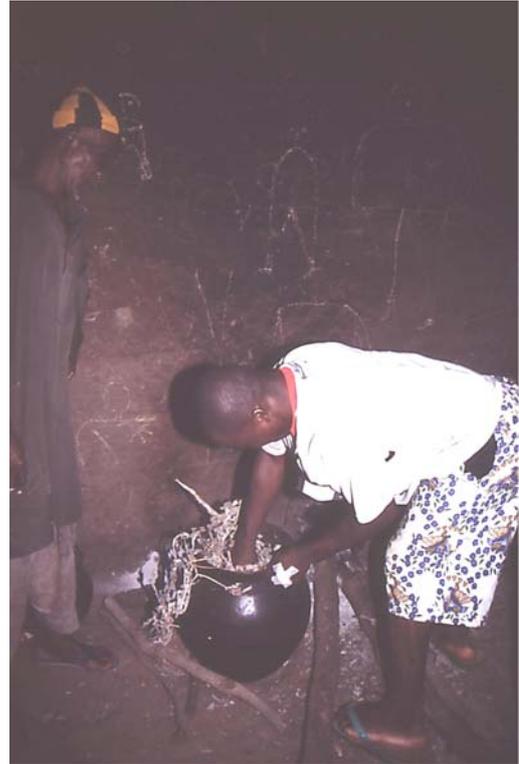


Photo 2



Photo 3

Figure N°4 : Préparation du décocté de *A. mexicana* à Missidougou

Ce décocté a été introduit chaud dans des bidons et fermé hermétiquement puis acheminé au laboratoire de phytochimie du DMT où a été conservée au congélateur durant nos études. Le décocté a été lyophilisé.

5.2.3.2-Décoction selon la méthode du thérapeute :

100 g des échantillons E1 et E2, et 50 g de E3 ont été mis en décoction dans respectivement dans 2775 ml et 1387,5 ml pour E3 pendant 3 heures (Proportion obtenue après reproduction de la méthode de décoction du Thérapeute de Missidougou). Les solutions extractives ont été concentrées au Rotavapor sous pression réduite à 50°C. Ces extraits ont été lyophilisés. Les extraits lyophilisés d'aspect pâteux ont été conservés **dans des flacons propres et stériles.**

5.2.3.3-Macération à l'eau

Nous avons utilisé 20 à 50 g de poudre de drogue selon l'échantillon et 200 à 500 ml d'eau distillée ont été introduits dans un erlenmeyer et soumis à une agitation pendant 24h à la température ambiante puis filtrée. Cette opération a été reprise 3 fois de suite. Le filtrat total a été concentré au Rotavapor et lyophilisé.

5.2.3.4-Décoction à 10%

20, 100 ou 300 g de poudre de drogue selon les échantillons avec des volumes d'eau distillée correspondants à 10% ont été portés à ébullition pendant 15 minutes et filtrés après refroidissement. Les filtrats ont été concentrés au Rotavapor puis lyophilisés.

5.2.3.5-Infusion à 10% :

10, 20 à 50 g de poudre de drogue selon l'échantillon utilisé ont été ajoutés à un volume d'eau bouillante correspondant à 10% de dilution. Les mélanges ont été ensuite filtrés après 15 minutes de contact. Les filtrats ont été concentrés au Rotavapor puis lyophilisés.

5.2.3.6-digestion à 10% :

Des prises d'essai de 10 à 50 g selon la nature de l'échantillon ont été ajoutées à des volumes (correspondants à une dilution de 10%) d'eau distillée chauffée et

maintenue à 50° pendant 1heure. Les filtrats obtenus a été concentrés et lyophilisés.

5.2.3.7-Extraction liquide-liquide :

Nous avons dissout 2 g de décocté de Missidoukou lyophilisé dans 100 ml d'eau distillée. La solution aqueuse a été agitée avec 25ml d'éther de pétrole puis nous l'avons laissé décanter dans une ampoule à décanter avant de récupérer la phase étherée. Cette phase étherée a été ensuite concentrée au Rotavapor, récupérée dans un flacon propre et stérile puis évaporée à sec à la température ambiante du laboratoire.

La phase aqueuse de l'extraction à l'éther a été agitée avec le dichlorométhane puis avec l'acétate d'éthyle en utilisant la phase aqueuse de l'extraction au dichlorométhane. Les phases organiques ont été concentrées au Rotavapor et les extraits récupérés dans des flacons stériles.

5.2.4- Chromatographie sur couche mince (CCM)

5.2.4.1- Matériels et réactifs

- Balance analytique de précision type SARTORIUS
- Plaque chromatographique de silicagel
- Cuve et couvercle
- Micropipettes de 10 μ l
- Séchoir de type Solis
- Lampe UV type DESAGA Min UVIS
- Pulvérisateur, règle et crayon
- Système de solvant :
 - Butanol – acide acétique – eau (BAW) (60 :15 :25)
 - Ethanol 96% - acide chlorhydrique (95 : 5)
- Révélateur : réactif de Godin, réactif de Dragendorff.
- extrait ethanologique de *Chelidonium majus* riche en sanguinarine fourni par *Falquet J.*
- Chlorure de berbérine fournie par (*Fluka, tech.*)

5.2.4.2- Mode opératoire : Nous avons dissout 10 mg de chaque extrait dans un ml d'un mélange de méthanol et d'eau à volume égal et déposé 10 μ l de chaque extrait

sur la plaque qui a été placée dans une cuve contenant le solvant d'éluion. Après migration, les plaques ont été séchées et les substances chimiques identifiées sous UV 254 ont été encerclées en traits pleins et celles identifiées à 366 nm ont été encerclée en pointillés.

Les plaques ont été enfin pulvérisées avec le réactif de Godin puis chauffées à l'aide du séchoir jusqu'à la mise en évidence des substances chimiques sous diverses colorations ou avec le réactif de Dragendorff.

Chaque substance a été identifiée par son facteur de rétention (Rf) dans un système de solvant précis, sa fluorescence sous UV et sa coloration après révélation.

5.2.5-Récherche des sucres dans les extraits :

5.2.5.1- Matériels et réactifs :

- Balance analytique de précision type SARTORIUS
- La poudre de peau de vache (protéines)
- Eau distillée
- Verreries (bêcher, erlenmeyer, entonnoir etc.)
- Agitateur magnétique
- Un chromatographe en phase gazeuse de type GC 8000 Séries avec un intégrateur de type VARIAN et un système de séchage sous azote
- Un ventilateur
- Une étuve
- Un lyophilisateur
- Des solutions de travail (méthanol 4M dans 1ml de HCl, le méthanol anhydre, le mannitol, le triméthyl silane (TMS).

5.2.5.2 Mode opératoire :

Nous avons d'abord éliminé les tanins de nos extraits qui peuvent gêner la chromatographie des sucres après méthanolyse par la formation des complexes.

✓ **Elimination des tanins :**

A une prise d'essai de 100mg d'extrait lyophilisé nous avons ajouté 200mg de poudre de peau de bœuf. L'ensemble est mis en macération sous agitation dans 10ml d'eau distillée puis filtré. Les filtrats sont partagés dans de petits flacons stériles et lyophilisés.

✓ **Méthanolyse:**

Pour chaque extrait nous avons introduit 2mg de lyophilisat dans un flacon stérile nous y avons ajouté 1ml d'acide chlorhydrique dans du méthanol 4 M (1 x 1ml) puis 200µl de mannitol. Les flacons contenant le mélange ont été ensuite placés à l'étuve à 80°C pendant 24 heures. La présence de pression dans les flacons est vérifiée 30mn et 1heure après le début de l'incubation à l'étuve.

✓ **Chromatographie en phase gazeuse (CPG) :**

Après un premier séchage sous azote l'extrait ayant subi la méthanolyse, un second séchage est réalisé sur ce résidu dissout dans 1ml de méthanol anhydre et ce résidu est repris avec 100 µl de Triméthyl silane. A l'aide d'une micropipette nous avons injecté 1 µl de cette solution dans le chromatographe en phase gazeuse de type CG 8000 séries dans les conditions suivantes :

- Débit de l'Hélium : 2 ml par minute
- La pression est de 65 KPa pour l'hydrogène, 90 KPa pour l'air et 80 KPa pour le gaz vecteur
- La température est réglée à 310°C pour l'injecteur ; à 260° C pour le détecteur et à 140° C pour la colonne SB 100

Un intégrateur permet de traduire les sucres identifiés en pic sur papier en fonction de leur temps de rétention. Et l'aire des pics est proportionnel à la quantité de sucre.

Les sucres sont identifiés par comparaison des temps de rétention et des aires obtenus à partir des pics et ceux des sucres standard.

5.2.6-Ionogramme des extraits :

L'ionogramme a été réalisé au laboratoire de biochimie de l'INRSP. L'analyse consistait à doser les ions magnésium, calcium, potassium, sodium et ferrique dans

les cendres totales de nos différents échantillons et dans certains de nos extraits. Pour cela une prise d'essai de 1g de chaque extrait a été réduite en cendre par calcination au four réglée à 600°C pendant 6 heures. Les cendres obtenues ont été dissoutes dans 5 ml d'eau distillée, après filtration, les ions ont été recherchés sur le filtrat.

- **Dosage du magnésium (Mg²⁺) :**

Principe :

Il consiste au dosage colorimétrique du magnésium dans un échantillon donné. L'ion magnésium réagit avec la calmagite en milieu alcalin pour donner un complexe de couleur rose.

L'intensité de la coloration, mesurée à 520 nm est proportionnelle à la concentration de magnésium dans l'échantillon

La présence d'EGTA (acide bis – (aminoéthyl) – glycol - éther N, N, N', N' – tétraacétique) supprime l'influence du calcium.

Calcul de la concentration de l'ion dans l'échantillon

$$\text{Concentration de l'échantillon (mmol/l)} = \frac{\text{DO échantillon}}{\text{DO étalon}} \times n$$

n = concentration de l'étalon

- **Dosage du calcium (Ca²⁺) :**

Principe

C'est le dosage colorimétrique du calcium total dans un échantillon donné. L'ion calcium réagit avec l'indicateur bleu de méthylthymol (BMT) en milieu alcalin.



L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de calcium présent dans l'échantillon.

L'hydroxy-8-quinoléine élimine l'interférence du magnésium. Le polyvinylpyrrolidone (PVP) élimine l'interférence des protéines.

$$\text{Concentration de l'échantillon (mmol/l)} = \frac{\text{DO échantillon}}{\text{DO étalon}} \times n$$

n = concentration de l'étalon

- **Dosage du Fer :**

Principe:

Il consiste au dosage colorimétrique du Fer dans la substance à 240nm en présence de guanidine et en milieu acide avec l'hydroxylamine comme réducteur et la (pyridyl – 2) – 3 bis – (phényl – 4 acide sulfonique) – 5,6 di-acide sulfonique – 5',5'', triazine – 1,2,4 , sel monosodique (FerroZineR).

Calcul de la concentration de l'ion dans l'échantillon

$$\text{Concentration de l'échantillon } (\mu\text{mol/l}) = \frac{\text{DO échantillon} - \text{DO blanc échantillon}}{\text{DO étalon}} \times n$$

n = concentration de l'échantillon

- **Dosage K⁺ et Na⁺ :**

Nous avons utilisé un spectrophotomètre de flamme à dilution automatique.

Principe :

La nébulisation d'un échantillon à travers une flamme entraîne une excitation des atomes et provoque le passage des électrons d'une couche (ou sous-couche) à une sous-couche immédiatement supérieure. L'électron en revenant à son niveau d'énergie initiale restitue cette énergie sous forme de photon. Les photons émis par les atomes donnent un flux de lumière qui passe au travers d'un filtre interférentiel et qui est ensuite mesuré par un photomultiplicateur.

Les concentrations en sodium, potassium ou lithium sont affichées en temps réel sur

L'unité est le meq/l.

5.3-Recherche des bactéries contaminant des extraits :

- **Matériels :**
- Extraits aqueux lyophilisés
- Décoction de *A. mexicana* (en solution)
- Milieux de culture et d'identification des Bactéries

- Etuve
- Autres petits matériels de laboratoire

Méthode :

Nous avons travaillé sur 23 extraits lyophilisés de *Argemone mexicana* Linn. Les extraits lyophilisés ont été dissous dans de l'eau distillée stérile. Nos extraits liquides ont été ensuiteensemencés sur deux milieux de culture :

- Gélose de Drygalski
- Gélose ANC (acide nalidixique, colistine)

Les géloses ont été ensuite mises en incubation à l'étuve à 37°C pendant 24 heures et en atmosphère carbonique pour les géloses ANC. Les colonies observées sur différentes cultures ont été identifiées par :

- Microscopie, après coloration Gram
- Leurs caractères biochimiques sur les sucres à l'aide de la galerie API 20E ou API 20NE.

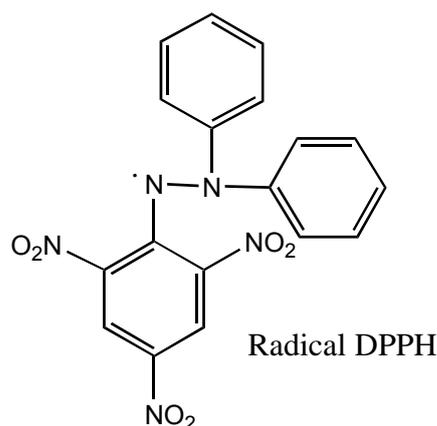
5.4-TESTS BIOLOGIQUES DES EXTRAITS :

5.4.1-Détermination de l'activité antioxydante :

Nous avons utilisé la CCM pour déceler les composés à activité antioxydante dans les extraits.

Ce test est basé sur le principe de la réduction d'un radical stable; le 1,1-diphényl -2-picrylhydrazyle (DPPH) qui présente une absorption spécifique à 517 nm ce qui lui confère une couleur violette. Lorsque le DPPH est réduit par un capteur de radicaux, sa couleur disparaît, les composés actifs apparaissant sous forme de tâches jaunes sur fond violet.

Nous avons utilisé des plaques de silicagel et déposé 10 µl d'une solution de 10 mg d'extrait dans 1ml du mélange méthanol- eau (1:1).Le développement des plaques a



été réalisé dans le système de solvant Butanol - acide acétique - eau BAW (60:15:25). Après migration, les plaques ont été révélées avec la solution de DPPH à 2mg/ml dans le méthanol. Un résultat positif se traduit par des spots de couleur jaune blanc sur fond violet.

5.4.2-Détermination de l'activité antiplasmodiale *in vitro* :

La détermination de l'activité antiplasmodiale *in vitro* a été réalisé à l'Institut des maladies Tropicales de Bâle en Suisse.

Matériels :

- Espèce standard: la souche K1 de *Plasmodium falciparum* résistante à la chloroquine et à la pyriméthamine.
- Médicament témoin: Chloroquine (Sigma C6628)
- Conditions standard :
 - o Milieu de culture : RPMI 1640 avec 5% d'Albumax
 - o Plaque : Coster™ 96
 - o Incubation : Chambre humide contenant du CO₂ ; O₂ ; N₂ à la proportion (4 ; 3 ; 93) à 37°C
 - o Hypoxantine [3H] avec une radioactivité de 0,5µCi
 - o Betaplate™ liquid scintillation counter (Wallac, Zurich, Switzerland)
 - o Fibre de verre
- Les extraits ont été dissoutes dans de l'eau distillée en raison de 10mg/ml.
- Bain-marie ultrason.

Le test de modification de l'incorporation de [3H]-hypoxanthine a été utilisé

Mode opératoire

La plaque de microdilution utilisée est constituée de 96 puits arrangés dans une matrice de 8 rangées (A à H) et 12 colonnes (1 à 12). Le milieu de culture a été introduit dans chaque puits de la plaque. 100µl de la solution d'extrait préparée et versée dans l'un des deux puits adjacents dans la rangée B de la plaque, un système de dilution automatique est utilisé pour former des doubles séries de dilution dans chaque colonne. Six autres composés sont accommodés ainsi avec chaque plaque. A la fin, la rangée A reste libre de toute drogue et chaque drogue est présente en double dans les colonnes avec 7 concentrations de la rangée B à H. les concentrations les plus élevées se trouvent dans la rangée B et les plus faibles se trouvent dans la rangée H. Un volume constant de suspension de globules rouges humains infectés par des souches K1 de *Plasmodium falciparum* résistantes à la chloroquine et au pyriméthamine est ajouté à chaque puit du microtitreur excepté 4 derniers puits de la rangée A qui ne contenant ni drogue ni parasites servent de contrôle d'érythrocytes non infestés.

Les plaques sont ensuite incubées pendant 48h à 37°C. Après cette période d'incubation 100µl de l'isotope (hypoxanthine [3H]) est ajouté à chaque puit et les plaques sont remises en incubation pendant 24h à 37°C. Les acides nucléiques sont ensuite collectionnés et la radioactivité est calculée en utilisant la Betaplate™. L'incorporation de l'hypoxanthine est utilisée comme un index de multiplication des parasites. Les hématies sont récupérées par centrifugation, lavées sur le filtre en fibre de verre avec de l'eau distillée et observées au microscope pour déterminer le taux de parasitémie. L'inhibition est déterminée par une méthode graphique en courbe de concentration d'extrait par rapport au pourcentage d'inhibition

$$\% \text{ d'inhibition} = \frac{\% \text{ de schizontes dans les puits testés}}{\% \text{ de schizontes dans les puits témoins}}$$

IC50 et le coefficient de corrélation (R2) correspondant sont déterminés graphiquement en utilisant la droite de régression représentant le pourcentage d'inhibition en fonction du logarithme décimal de la concentration de l'extrait traité.

5.5-Détermination de la toxicité

La cytotoxicité a été déterminée à l'Institut des Maladies Tropicales de Bâle et la toxicité aiguë a été déterminée au DMT

5.5.1- Détermination de la cytotoxicité :

La cytotoxicité des extraits est évaluée sur des cellules coliques humaines (HCT), des cellules de la lignée KB, MC F7.

Les cellules sont cultivées dans les mêmes conditions que le *Plasmodium falciparum*, en remplaçant le sérum humain par 5 % de sérum fœtal de Veau. Pour la détermination de la toxicité *in vitro*, les cellules sont distribuées dans 96 puits de plaque à raison de 15.103 cellules par puit dans 100 µl. Ensuite 100 µl de milieu de culture contenant des concentrations variées d'extraits sont ajoutés.

La croissance des cellules est estimée par incorporation de [3H] hypoxanthine après 48 heures d'incubation exactement comme pour la période de contact du *Plasmodium falciparum*.

L'incorporation de [3H] hypoxanthine là où il y a l'extrait est comparé avec des cultures contrôles sans extrait.

5.5.2-Toxicité aiguë :

Matériel Animal:

Nous avons utilisé des souris blanches de type OF1 mâle et femelle fournis par le Centre National d'Appuis à la lutte contre la Maladie (CNAM).

Matériels et réactifs :

- o Balance analytique de précision
- o Sonde gastrique, seringue et aiguille
- o Cages en polyéthylène
- o Extraits de *A. mexicana*
- o Eau distillée stérile

Méthode : Evaluation de la DL50 par voie orale

Nous avons travaillé sur deux décoctés :

- Décocté du thérapeute de Missidougou
- Décocté aqueux de l'échantillon de Blendio selon la méthode du thérapeute qui a été le plus actif selon le test antiplasmodial *in vitro*

Dans une première phase, nous avons utilisé 3 lots de 6 souris de poids variant entre 20 et 25g pour lesquelles nous avons utilisé la dose de 2791,8 mg/kg pour deux lots de 6 souris pour les deux extraits. Le troisième lot de souris a reçu de l'eau distillée à raison de 25 ml/kg de poids. Nous avons observé les souris après gavage pendant 2 heures puis chaque jour pendant trois jours afin de noter les symptômes de l'intoxication et la létalité.

Puis en une deuxième phase nous avons testé une seconde dose de 3205 mg/kg de la décoction du thérapeute sur un lot de 10 souris de poids variant entre 21 et 26 g.

6-RESULTATS :

6.1-ETUDE DE L'EVIDENCE ETHNOMEDICALE :

6.1.1-Inclusion et exclusion :

Du 19 septembre au 24 novembre 2004, période de transmission intense du paludisme dans la région de l'étude, 245 patients ont été diagnostiqués avec « Sumaya » (paludisme) par le thérapeute traditionnel et ont été dépistés au laboratoire pour inclusion dans l'étude. 65,71 % des patients (161) ont été exclus principalement pour parasitémie faible (48,16%) et aussi pour :

- Goutte épaisse négative (12,24%)
- Autres maladies dont le traitement pouvait interférées sur celui du paludisme (2,05%)
- Autres raisons (3,26%)

84 Patients ont été initialement inclus dans l'étude, deux ont été exclus pour retrait de consentement et un exclu pour avoir préalablement fait un échec au traitement du thérapeute dans la semaine d'inclusion.

6.1.2-Données démographiques :

Tableau I: Répartition des patients en fonction de l'âge, le sexe, et les groupes de dose.

Groupes de doses	Groupe A	Groupe B	Groupe C	Total	Signi stat
Sexe masculin	47,8%	50,0%	47,1%	48,3%	P=0,78
Age moyen (en année)	3,69	4,74	3,25	3,89%	P=0,86

Les patients étaient très jeunes avec un âge moyen inférieur à 5ans. Le sexe féminin était dominant dans les groupes A et C alors que l'égalité était parfaite dans le groupe B.

6.1.3- Groupes de doses : Trois groupes de doses ont été définis par intention de traitement.

Tableau II : Répartition des patients par groupes de doses

Groupes de doses	Nombre de patients inclus	Dates d'inclusion
A	23	Du 19 sept. au 26 sept. 2004
B	41	Du 27 sept. au 17 oct. 2004
C	17	Du 18 oct. au 27 oct. 2004
Effectif	81	Du 19 sept au 27 oct. 2004

A = une prise par jour pendant 3 jours.

B = deux prises par jour pendant 7 jours.

C = quatre prises par jour pendant 4 jours puis deux prises par jour pour 4 jours.

Un patient du groupe C a pris le traitement pendant 24 jours et n'a donc pas été considéré dans les calculs du groupe C.

NB :Trois patients ont reçu un bain avec le décocté : 1 du groupe A et 2 du groupe B
Les doses rapportées ont été calculées pour chaque patient. Nous en avons déduit les doses totales prises par patient en ml/kg puis en mg/kg de poids corporels (Tableau III et IV).

Tableau III: Variation des doses totales de décocté prises (en ml de décoction) par les patients en fonction du poids corporel (ml / kg)

Doses (ml/kg)	Groupe A	Groupe B	Groupe C
Dose totale minimale	6,5	28,1	23,8
Dose totale maximale	25,7	162,0	333,0
Dose totale moyenne	12,9	84,6	152,0

Tableau IV: Variation des doses totales de décocté prises (en mg extrait lyophilisé) par les patients en fonction du poids corporel (mg/kg)

Doses (mg/kg)	Groupe A	Groupe B	Groupe C
Dose minimale	71,5	309,1	261,8
Dose maximale	282,7	1782	3663
Dose moyenne	141,9	930,6	1672

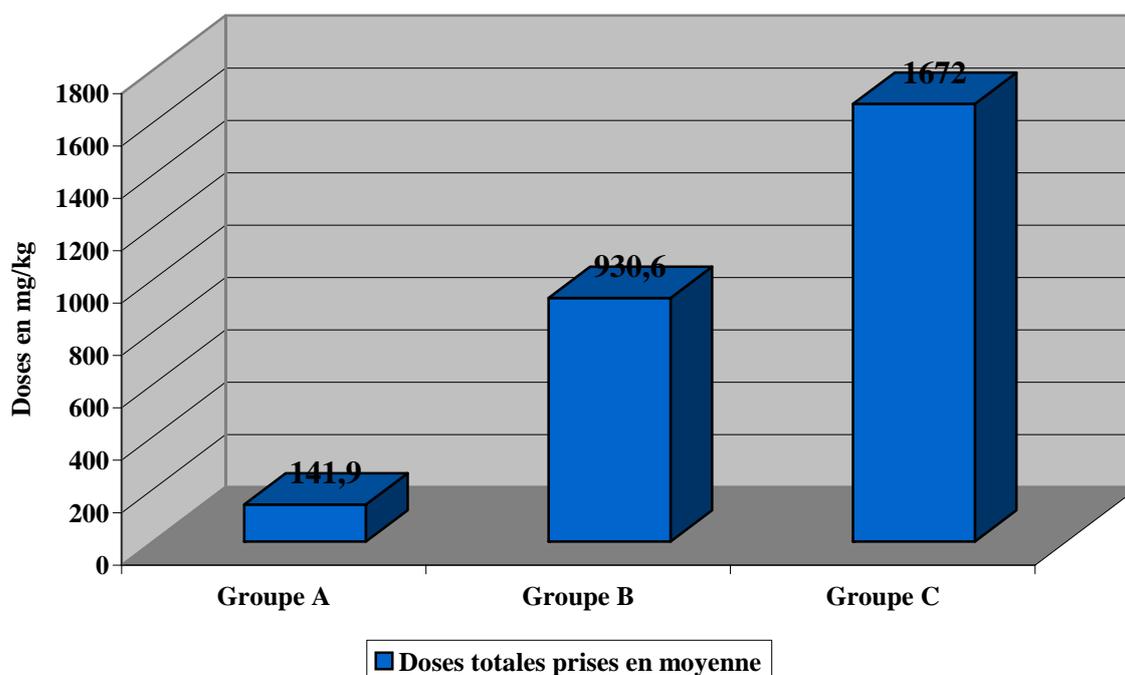


Fig1: Dose totale moyenne prise par patient en mg d'extrait lyophilisé par kg de poids corporel.

Les patients du groupe B ont pris une dose moyenne 6,5 fois plus élevée que les patients du groupe A et seulement 1,8 fois moins que les patients du groupe C. (Tableau V et Fig1)

6.1.4-Données cliniques et biologiques de base (J0) :

- **Motif de consultation :**

Tableau V : Fréquence des motifs de consultations à l'inclusion

Symptômes	Fréquence (n)	Fréquence (%)
Fièvre	71	87,67
Céphalées	3	3,70
Céphalées et vomissement	2	2,47
vomissement	2	2,47
Frissons et vomissement	1	1,23
Diarrhée et vomissement	1	1,23
frissons	1	1,23

La fièvre était le principal motif de consultation avec 87,67% suivi des céphalées (3,70%)

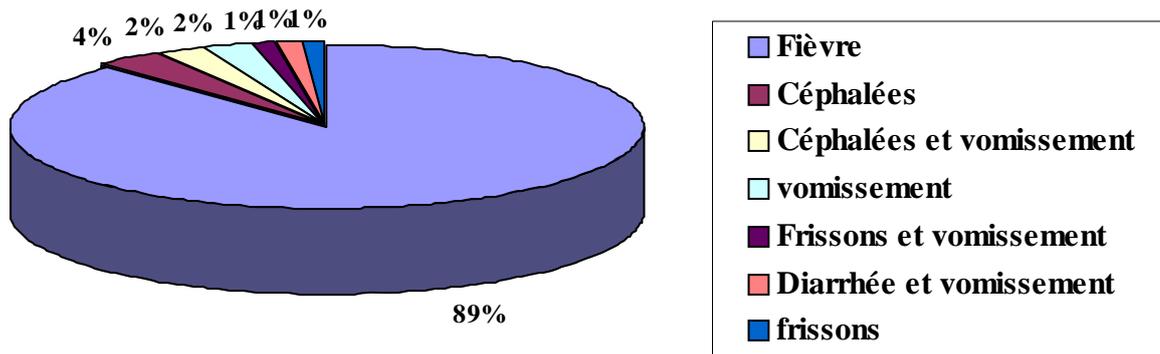


Fig2: Fréquence des symptômes au J0

• **Examens cliniques au J0 :**

Tableau VI : Examens cliniques de base (J0) en fonction des groupes de dose

Examens cliniques	Groupe A	Groupe B	Groupe C	Signifi statist
Température moyenne (°C)	38,4	37,8	37,8	P=0,02
Fréquence cardiaque moyenne (mn)	144	135	134	P=0,14
Nombre moyen des symptômes	5,9	5,7	3,9	P=0,03
Présence de splénomégalie	56,5%	27,5%	17,6%	P = 0.005
Présence d'hépatomégalie	13%	10%	6%	NS

Le tableau VI montre que, les trois groupes de dose sont comparables. Mais il y'avais tout de même un pourcentage de plus élevé de patients présentant une

splénomégalie dans le groupe A par rapport aux autres groupes il en est de même que pour la température. La fréquence ou l'importance de ces signes cliniques diminue du groupe A au groupe C, donc du début à la fin de l'inclusion dans l'étude. Cela peut s'expliquer par l'affluence des patients aux centres les premiers jours de l'inclusion, l'équipe débordant par le nombre de patient, décida de donner la priorité aux patients les plus fébriles et les enfants.

- **Examens biologiques de base (J0) :**

- ✓ **Examens parasitologiques au J0**

Tableau VII : Parasitémies moyennes chez les patients au J0 par groupe de dose.

Groupes de doses	Groupe A	Groupe B	Groupe C
Moyennes géométriques des parasites comptés par µl de sang à J0	22 284	13 335	38 726

La moyenne géométrique de la parasitémie d'inclusion dans le groupe C est en moyenne 1,7fois plus élevée que dans le groupe A et presque trois fois plus élevée que dans le groupe B.

- ✓ **Examens hématologiques au J0 :**

Tableau VIII: Moyenne des données hématologiques chez les patients à l'inclusion en fonction des groupes de doses

Examens (moyenne)	Groupe A	Groupe B	Groupe C	Signif statist
Hématocrite (%)	32,7	30,6	27,8	P=0,03
Leucocytes (x10 ⁹ /l)	9,80	9,27	10,19	P=0,67
Plaquettes (x10 ⁹ /l)	231	205	214	P=0,64

- ✓ **Examens biochimiques au J0:**

Tableau IX : Moyenne des données biochimiques à J0

Examens (moyenne)	Groupe A	Groupe B	Groupe C	Signif statist
Glucose (mmol/l)	5,7	5,6	6,3	P=0,3
ASAT(ui/l)	44,9	48,1	37,5	P=0,35
ALAT(ui/l)	22,7	27,0	19,2	P=0,08
Créatinine (mg/dl)	0,64	0,98	0,30	P=0,003

ASAT= Aspartate amino – transférase ALAT= Alanine amino – transférase

Sur le plan hématologique et biochimique il n'y a pas de différence cliniquement significative entre les patients des trois groupes de doses à l'inclusion. mais la différence entre les créatinémies moyennes dans les deux groupes est significative du point de vu statistique ($< 0,05$) sans qu'elle ne le soit du point de vu clinique (les valeurs étant normales).

6.1.5-Résultats d'efficacité:

6.1.5.1-Efficacité clinique:

Tableau X: Evolution des températures moyennes au cours du traitement par groupes de doses

Jours	Groupe A	Groupe B	Groupe C
J0	38,4	37,8	37,8
J1	36,7	36,9	36,7
J2	37,0	36,8	36,7
J3	36,5	36,4	36,6
J7	36,4	36,3	36,3
J14	36,6	36,3	36,3
J28	36,2	36,1	36,2

La clairance de la fièvre est environ 1 jour dans tous les groupes

Tableau XI: Evolution du nombre de symptômes au cours du traitement par groupes de doses

Jours	Groupe A	Groupe B	Groupe C
J0	5,9	5,7	3,9
J1	1,8	3,0	2,6
J2	2,1	2,3	3,0
J3	0,5	1,5	1,3
J7	0,6	1,4	1,3
J14	0,8	0,9	1,2
J28	0,0	1,0	0,7

Les symptômes ont presque disparus au J3 du traitement

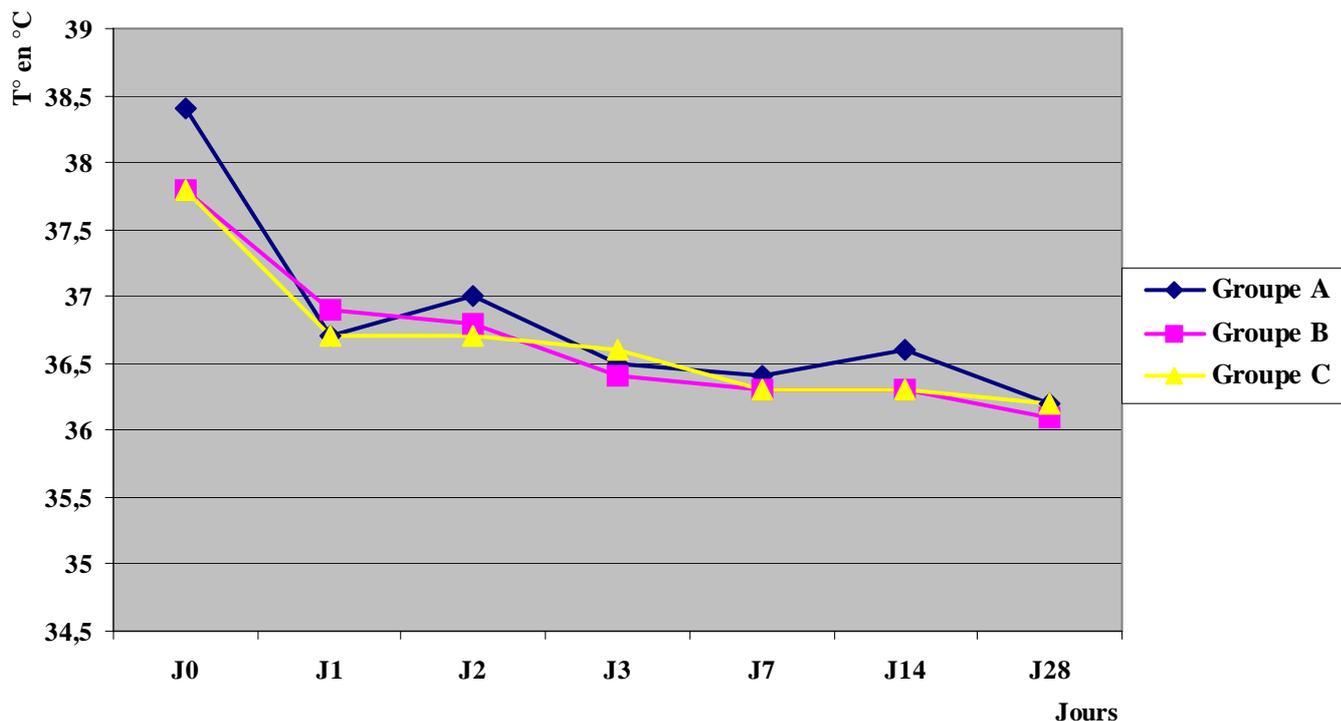


Fig3: Variation de la moyenne des températures en fonction des groupes de doses
 En moyenne la température est revenue à la normale dès le deuxième jour du traitement. Mais cette évolution du nombre moyen des symptômes et de la température moyenne par jour donne seulement une idée sur leur ampleur, mais ne montre pas la valeur réelle de leur clairance car les échecs thérapeutiques sont systématiquement traités et ne sont plus considérés dans les calculs.

Tableau XII: Efficacité du traitement au J14 en fonction des groupes de doses

Groupes de doses	Groupe A	Groupe B	Groupe C	Signif stat
RCA	35%	72.5%	64.7%	P = 0.02
ETP	22%	15%	11.8%	P= 0.80
ETT	35%	12.5%	23.5%	P = 0.19
PDV	9%	0%	0%	-
Effectif	23	40	17	

NB : RCA=Réponse clinique adéquate, ETP= Echec thérapeutique précoce, ETT= Echec thérapeutique tardif, PDV = Perdu de vue

Les résultats cliniques à J14 (par intention de traitement) rapportés dans le Tableau XI montrent une différence statistiquement significative entre le groupe A (35% de RCA) et le groupe B (72,5% de RCA) parcontre cette différence est moins importante

entre le groupe B et le groupe C.

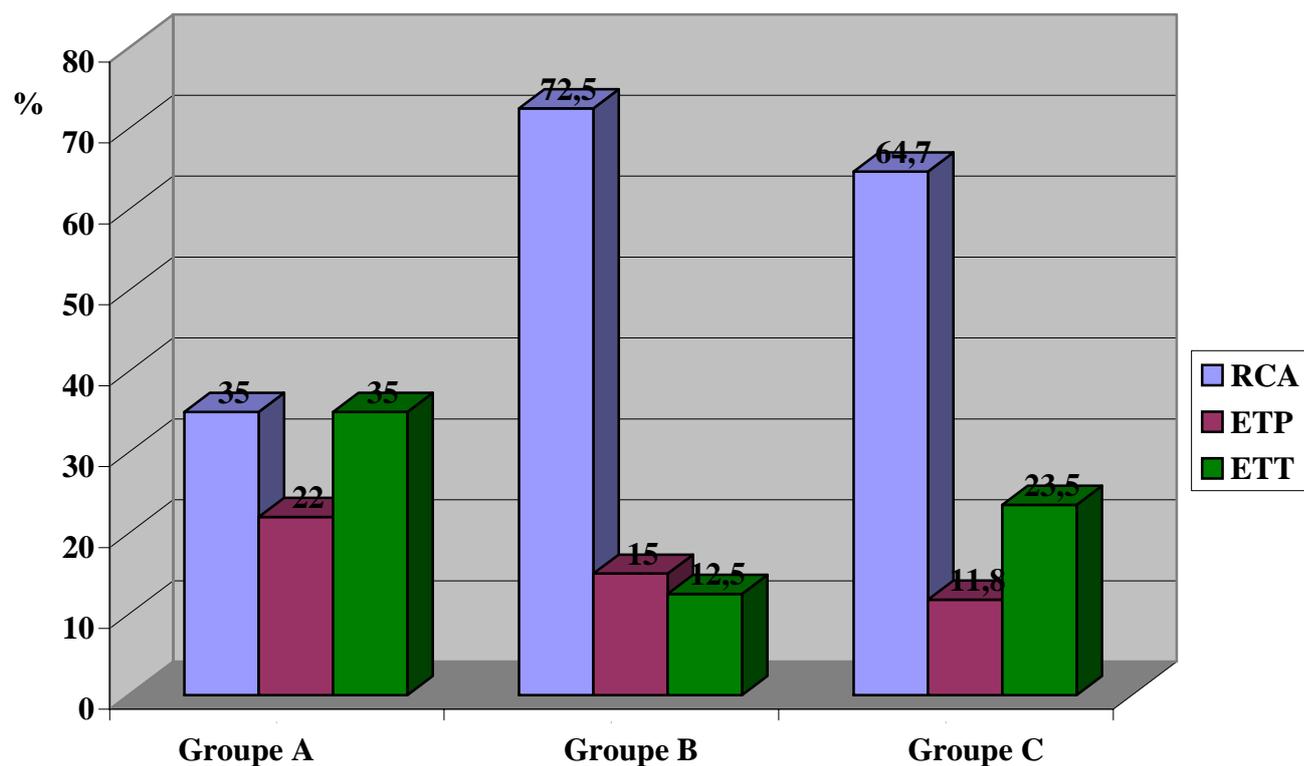


Fig4: Résultats cliniques des patients par groupes de doses à J14

Tableau XIII: Efficacité clinique du traitement à J14 par dose réellement prise en mg d'extrait par kg de poids corporel.

Dose prise (mg/kg)	Dose X (< 308)	Dose Y (308-1430)	Dose Z (>1430)	Signif stat
RCA	38%	69%	79%	P=0,013
ETP	29%	17%	0%	P=0,072
ETT	25%	14%	21%	P=0,54
PDV	8,3%	0	0	P=0,09
Effectif	24	42	14	

Le Tableau XIII montre une réelle dose dépendance de l'efficacité clinique du traitement avec 79% de RCA et 0% de ETP pour les doses supérieures à 1430 mg/kg de poids corporel contre 38% de RCA et 29% de ETP pour les doses inférieures à 308 mg/kg de poids corporel.

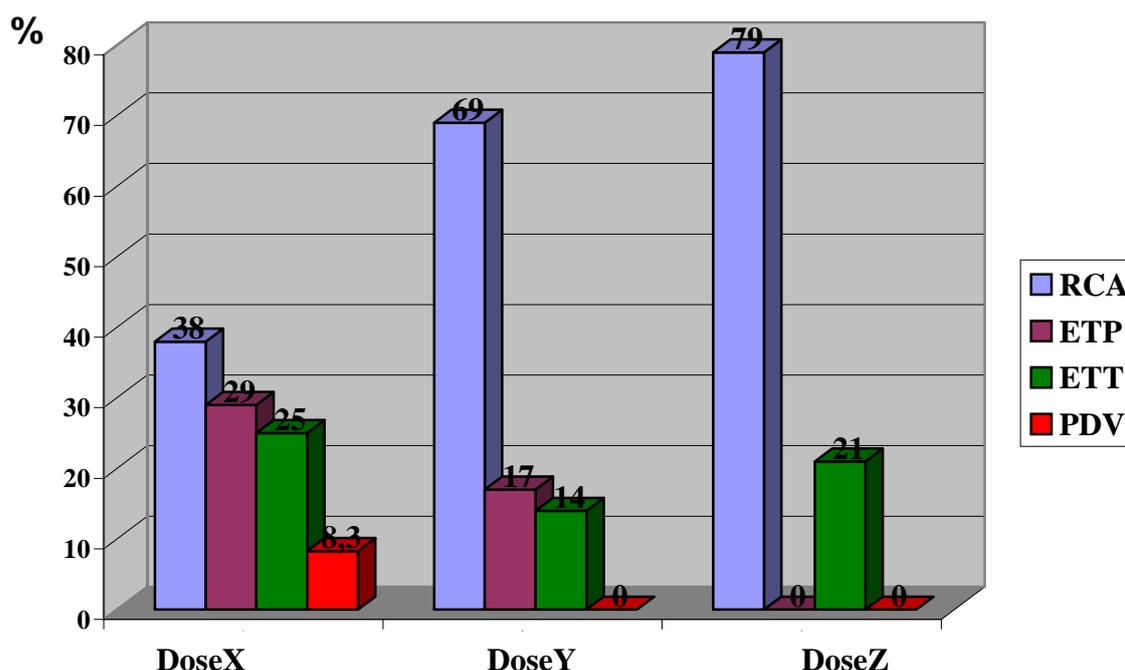


Fig 5: Efficacité clinique à J14 en fonction des doses réelles prises selon rapport des patients

Tableau XIV: Pourcentage de patient avec RCA à J14 en fonction de l'âge et des groupes de doses.

Age	Nombre de patients	de Groupe A	Groupe B	Groupe C	Signif stat
< 1an	20	29%	55%	33%	NS
1-5 ans	44	25%	71%	73%	0.01
> 5 ans	16	75%	89%	67%	NS
effectif	80	23	40	17	

Le Tableau XIV montre une nette amélioration de l'efficacité du traitement en fonction des tranches d'âge. En effet dans la tranche d'âge comprise entre 1 et 5ans il y a une différence importante entre le groupe A (25%) et le groupe B (71%). Cette différence est insignifiante entre les groupes B et C. Le nombre de patients d'âge inférieur à 1an et supérieur à 5 ans pour cette étude est trop petit pour qu'on identifie statistiquement une différence significative par rapport aux dosages. Cependant les patients d'âge inférieur à 1 an sont de moitié moins propice à faire une réponse clinique adéquate que ceux de 5 ans ou plus.

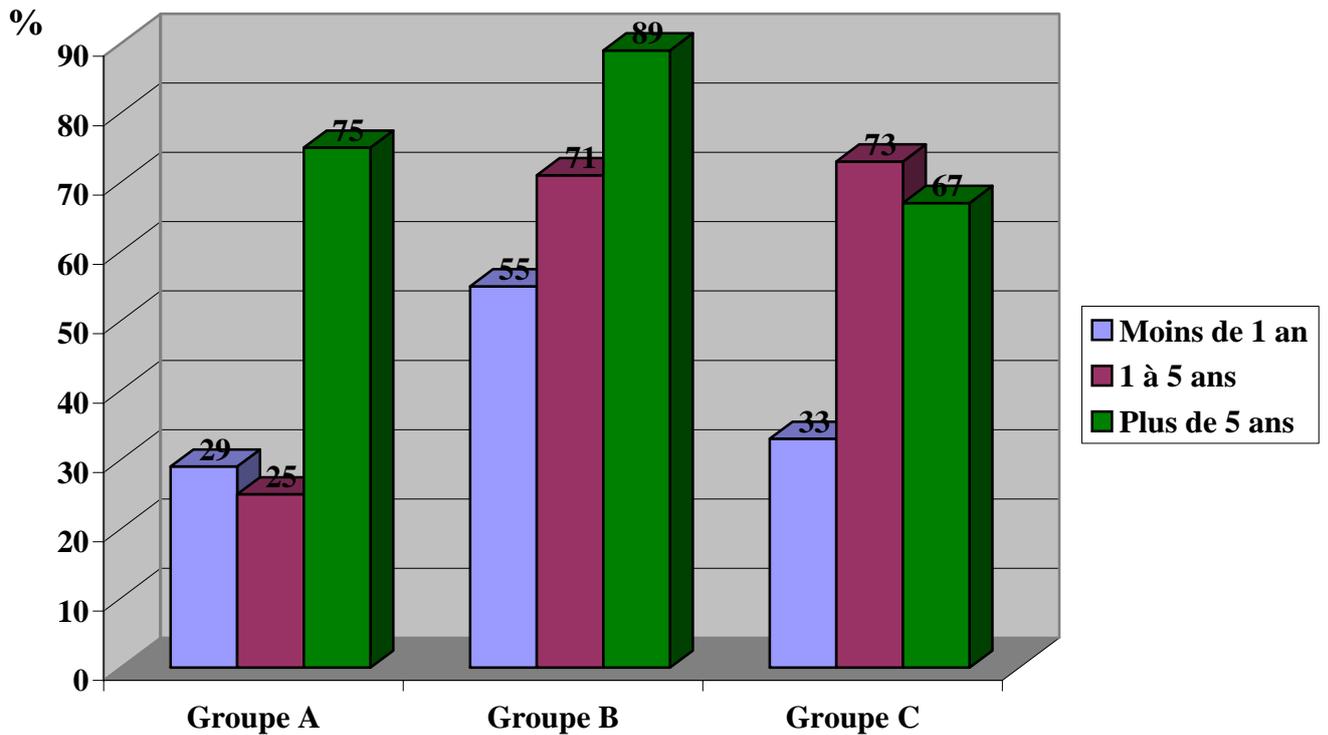


Fig.6: Pourcentages des patients ayant fait RCA à J14 en fonction de la tranche d'âge et des groupes de doses.

Pour les patients ayant fait ETP, des convulsions répétées (signe de complication) ont été rapportées chez un seul. L'examen biologique a rapporté une hyperparasitémie et s'est bien rétabli après un traitement avec l'association artémether-lumefantrine. Les autres cas d'échec thérapeutique ont été traités avec soit la chloroquine soit l'association sulfadoxine-pyriméthamine.

Tableau XV : Résultats cliniques au J28 des patients ayant fait RCA au J14

	Groupe A	Groupe B	Groupe C
RCA	56%	86%	91%
ETT	34%	14%	9%

Parmi les patients ayant fait une réponse clinique au J14, 91% ont fait une RCA au J28 dans le groupe C contre 86% dans le groupe B et 56% dans le groupe A

6.1.5.2-Efficacité parasitologique:

Tableau XVI : Evolution des moyennes géométriques des parasitémies par groupes de doses pour les patients ayant fait RCA

Jours de suivi	Groupe A	Groupe B	Groupe C
J0	23714	14859	35075
J2	1778	1268	12331
J3	1000	789	5333
J7	133	174	231
J14	178	452	187
J28	1,6	161	1520

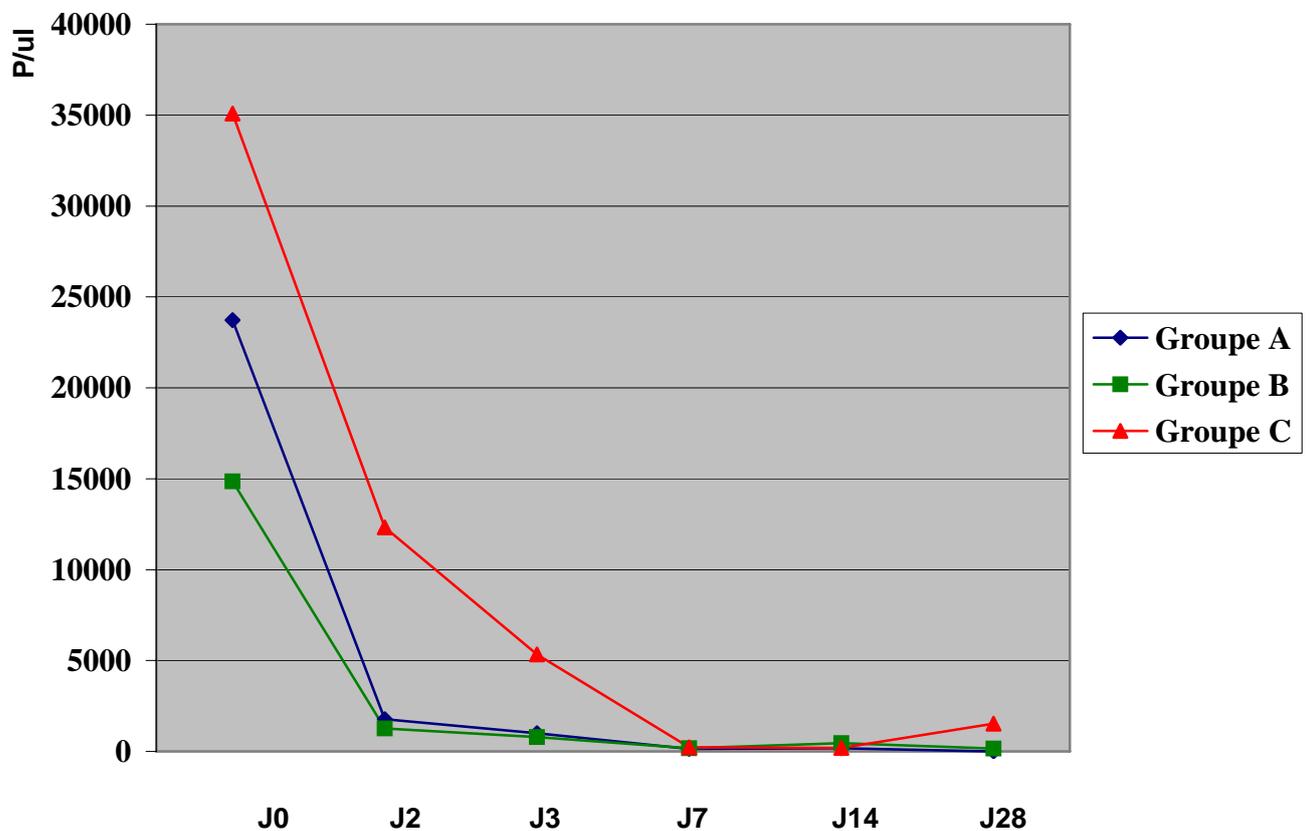


Fig7: Evolution de la moyenne géométrique des parasitémies en fonction des groupes de doses chez les patients ayant fait RCA.

La baisse de la parasitémie moyenne est très considérable entre J0 et J7 avec une très légère remontée entre J14 et J28 pour le groupe de dose C.

Tableau XVII : Parasitémie au J14 des patients avec RCA

Parasitémie	Groupe A	Groupe B	Groupe C	Total
0	0	4	3	7
1-100	4	4	0	8
100 – 499	2	4	2	8
500 – 1999	1	5	3	9
2000 – 15000	0	9	2	11
>15 000	1	3	1	4

La majorité des patients avec RCA au J14 avait encore une parasitémie mesurable et seulement 4 patients tous du groupe B ont eu une parasitémie au J14 supérieur à la parasitémie d'inclusion (2000 parasites/ μ l de sang). Malgré le petit nombre par groupe de dose seul 4 (14%) des patients du groupe B et 3 (27%) du groupe C ont eu une clairance complète de parasite au J14. Parmi ceux-ci 5 patients ont eu une parasitémie mesurable au J28. Parmi les PCR réalisées seul un patient était de ce groupe de 5 patients et son résultat a montré une recrudescence.

Au total la PCR a été réalisée pour 6 patients et les résultats ont donné :

- 4 cas de recrudescence : dont 2 patients du groupe C et 1 patient dans les groupes A et B.
- 2 cas de réinfestation : dont 1 patient dans les groupes A et B.

6.1.6-Résultats d'innocuité :

Les patients ont été interrogés sur tous nouveaux symptômes enregistrés. Un possible lien avec le traitement a été recherché de même que la sévérité de l'effet dit adverse.

6.1.6.1-Données cliniques : La toux et la diarrhée ont été rapportées chez 17 à 25% des patients de chaque groupe. Tous ces effets adverses étaient jugés « légers » ou « modérés ».

Tableau XVIII: Répartition des effets adverses en fonction des groupes de doses

Groupes de doses	Groupe A	Groupe B	Groupe C	Signif statist
Diarrhée	13%	3%	18%	P = 0.09
Toux	4%	20%	0%	P = 0.22
Rhinorrhée	0%	5%	0%	NS
Total	17%	25%	18%	

Aucun de ces patients n'a du arrêter le traitement à cause d'un effet adverse. Il n'y a pas de corrélation entre ces divers effets adverses et les doses élevées du décocté. Par ailleurs la période de Septembre à Novembre est une période de forte prévalence d'affections respiratoires qui se manifestent par des symptômes de toux et de rhinorrhée.

Tableau XIX : Description des effets adverses observés

	Diarrhée	Toux
Nombre de cas	7	9
Durée de l'effet (jours)	1 à 3	1 à 7
Effets « certainement » ou « probablement » pas liés au traitement	3	3
Lien « possible » ou « probable » de l'effet avec le traitement	4	6
Doses moyennes prises (mg/kg) par les patients avec ces effets adverses	1134,1	905,3

Tableau XX : Moyennes des paramètres ECG au cours du traitement en fonction des doses

Paramètres	Jours	Groupe A	Groupe B	Groupe C	Signif statis
FC	J0	90	118	116	P = 0.20
	J3	63	101	92	P = 0.25
	J7	NF	89	91	P = 0.78
	J14	NF	78	94	P = 0.77
QTc	J0	412	358	375	P = 0.08
	J3	406	362	464	P = 0.04
	J7	NF	388	415	P = 0.7
	J14	NF	394	348	P = 0.14
effectif		2	7	4	P = 0.20

L'électrocardiogramme a été effectué chez 13 patients :

Des changements significatifs ont été observés uniquement chez 2 patients du

groupe C qui ont pris des doses supérieures aux doses prescrites. Ils ont développé des intervalles QT corrigés supérieurs à 500 ms au J3 et qui sont revenus à la normale aux J7 et J14 ceux-ci étaient accompagnés d'un aplatissement des ondes T de même que l'apparition des ondes U. Des tests réalisés sur les sérums de quelques-uns de ces patients ont révélé des taux sériques de potassium normaux.

6.1.6.2-Données biologiques :

✓ **Examens hématologiques:** les résultats hématologiques peuvent être observés dans le Tableau XXI.

Tableau XXI: Moyennes des paramètres hématologiques en fonction des groupes de doses

Paramètres	Jours	Groupe A	Groupe B	Groupe C	Sig stat*
Hématocrite (%)	J0	32.7	30.6	27.8	P = 0.03
	J3	NF	28.8	26.8	P = 0.69
	J7	NF	30.6	27.2	P = 0.14
	J14	32.4	30.4	30.7	P = 0.43
	J28	36.0	32.4	32.7	P = 0.33
Leucocytes (x10⁹/l)	J0	9.80	9.23	10.19	P = 0.67
	J3	7.59	7.94	8.15	P = 0.71
	J7	7.47	10.16	9.33	P = 0.28
	J14	NF	8.15	9.22	P = 0.43
Plaquettes (x10⁹/l)	J0	231	205	214	P = 0.64
	J3	200	196	174	P = 0.49
	J7	194	306	295	P = 0.01
	J14	NF	239	339	P = 0.009

Les hématocrites lus chez 42 patients du J0 à J14 dont 23 lus également au J28 ont montré globalement une tendance à l'augmentation donc une amélioration de l'anémie.

Il n'y a pas de différence significative en moyenne entre les globules blancs comptés chez les patients quel que soit le groupe de dose considéré. Par contre dans la numération plaquettaire les valeurs chez les patients au J7 et J14 sont nettement plus élevées que celles du J0.

Examens biochimiques:

Tableau XXII: Moyennes des paramètres biochimiques en fonction des groupes de doses

Paramètres	Jours	Groupe A	Groupe B	Groupe C	Sig stat
ASAT (iu/l)	J0	44.9	48.1	37.5	P = 0.35
	J3	37.0	47.9	25.3	P = 0.02
	J7	49.1	40.9	17.4	P = 0.009
	J14	NF	30.1	22.5	P = 0.4
ALAT (iu/l)	J0	22.7	27.0	19.2	P = 0.08
	J3	16.7	27.9	13.5	P = 0.12
	J7	31.6	36.5	9.3	P = 0.003
	J14	NF	24.2	10.5	P = 0.01
Créatinine (mg/dl)	J0	0.64	0.98	0.34	P = 0.003
	J3	0.63	0.47	0.24	P = 0.007
	J7	0.75	0.45	0.59	P = 0.07
	J14	NF	0.45	0.39	P = 0.59

Tableau XXIII : Moyennes des paramètres biochimiques en fonction des doses réellement prises en mg/kg de poids corporel

Paramètres	Jours	<308	308- 1430	>1430	Sig stat*
ASAT (iu/l)	J0	47.5	44.7	37.1	P = 0.61
	J3	37.0	46.8	28.5	P = 0.06
	J7	49.1	37.2	20.8	P = 0.08
	J14	NF	26.9	26.3	P = 0.67
ALAT (iu/l)	J0	26.1	24.2	18.0	P = 0.67
	J3	16.7	26.1	18.7	P = 0.39
	J7	31.6	31.6	14.8	P = 0.15
	J14	NF	22.2	10.3	P = 0.034
Créatinine (mg/dl)	J0	0.63	0.85	0.41	P = 0.035
	J3	0.63	0.45	0.25	P = 0.013
	J7	0.75	0.43	0.69	P = 0.108
	J14	NF	0.46	0.35	P = 0.27

Ces paramètres ont pu être analysés pour 24 patients du J0 à J7 et à J14 également pour certains. Il n'y a pas de différence significative entre les dosages de

créatinémie réalisés au J0 et ceux des autres jours sauf chez deux patients qui avaient une créatinémie élevée au J0 et qui est revenue à la normale au cours des autres jours de test.

7 patients tous du groupe B ont eu une élévation légère et transitoire des transaminases aux J3 et J7 qui sont redevenues normales au J14.

6.2 ETUDE PHYTOCHIMIQUE:

6.2.1-REACTIONS EN TUBES

Tableau XXIV: Groupes chimiques caractérisés dans la partie aérienne de différents échantillons de *Argemone mexicana* L. et dans le décocté du thérapeute de Missidougou.

RECHERCHES		RESULTATS	INTERPRETATIONS			
			E1	E2	E3	DEMI
Alcaloïdes	Dragendorff	Précipités	+++	+++	+++	++
	Mayer	Précipités	+++	+++	+++	++
Composés réducteurs		Précipités rouge-brique	++	+++	-	-
Coumarines		Fluorescence verte	+++	++	+++	+++
Hétérosides cardiotoniques	Baljet	Coloration orange	+	+	+++	+++
	Kedde	Coloration rouge orange	-	-	+	-
	Raymond- Marthoud	Coloration violet fugace	-	-	+	-
Oses et holosides		Coloration rouge	+++	+++	+++	+++
Polyuronides		Précipités floconneux	++	++	+	+++
Saponosides		Mousse (indice)	< 100	< 100	<100	125
Stérols et triterpènes		Couche surnageante verte	+++	+++	+++	-
tanins	FeCl ₃	Précipités brun verdâtre	+++	++	+++	+++
	HCl	Précipités rouges	+++	+++	+++	+++
	Stiasney	Précipités	++	++	+++	+++

E1= partie aérienne de *A. mexicana* récoltée à Blendio

E2= partie aérienne de *A. mexicana* récoltée à Missidougou

E3= partie aérienne de *A. mexicana* récoltée à Mountougoula

DEMI = décocté de *A. mexicana* par le thérapeute de Missidougou

Dans la partie aérienne de différents échantillons nous avons retrouvé, les coumarines les oses et holosides, les stérols et triterpènes et les tanins avec des réactions franchement positives. La réaction avec les hétérosides cardiotoniques a été moins franche avec les échantillons de Blendio et Missidougou qu'avec l'échantillon de Mountougoula inversement les polyuronides ont donné une réaction moins franche avec l'échantillon de Mountougoula qu'avec ceux de Blendio et de Missidougou. La recherche des composés réducteurs a été négative pour

l'échantillon de Mountougoula. Les recherches ont été négatives pour les dérivés anthracéniques les hétérosides cyanogénétiques, les caroténoïdes les anthocyanes et les leucoantocyanes. Dans le décocté du thérapeute de Missidougou nous avons remarqué l'absence de composés stéroïdiens et triterpeniques de même que les composés réducteurs et une présence un peu plus importante des glycosides cardiotoniques et des saponosides par rapport aux échantillons de Blendio et de Missidougou. Ce qui peut expliquer les variations observées dans l'électrocardiogramme de quelques patients du groupe C qui ont pris une forte dose au cours du traitement.

6.2.2-Dosage de certains constituants :

Tableau XXV: Pourcentages de certains dans différents échantillons.

Pourcentage de certains constituants (%)		E1	E2	E3
Eau	Par la méthode gravimétrie (%)	4,04	4,96	5,54
	Par la méthode azéotrope (%)	4.00	6.00	5.00
Substance extractible par l'eau (%)		34.00	39.00	13.4
Cendre totale (%)		14.07	12.44	13.05
Cendre chlorhydrique (%)		0.81	0.97	1.16
Cendre sulfurique (%)		16.37	17.10	17.28

La teneur en eau est de $5 \pm 1\%$ dans nos échantillons. L'échantillon E3 contient 2 fois moins de substances extractibles à l'eau que les autres échantillons. Il n'y a pas différence significative entre les taux de cendres des échantillons.

Tableau XXVI: Dosage des alcaloïdes (%)

Alcaloïdes Totaux	E1	E2	E3	DEMI
Dans la poudre	0.28	0.28	0.35	-
Dans le décocté	0,20	0,24	0,6	0,1a

L'échantillon Mountougoula (E3) contient 0,35% d'alcaloïdes totaux contre 0,28% dans les échantillons Blendio (E1) et Missidougou (E2), contre 0,1% dans le décocté du thérapeute de Missidougou

E1 = échantillon de *A. mexicana* récolté à Blendio

E2 = échantillon de *A. mexicana* récolté à Missidougou

E3 = échantillon de *A. mexicana* récolté à Mountougoula

DEMI = décocté de *A. mexicana* par le thérapeute de Missidougou

a = alcaloïdes totaux dans le décocté en solution de DEMI

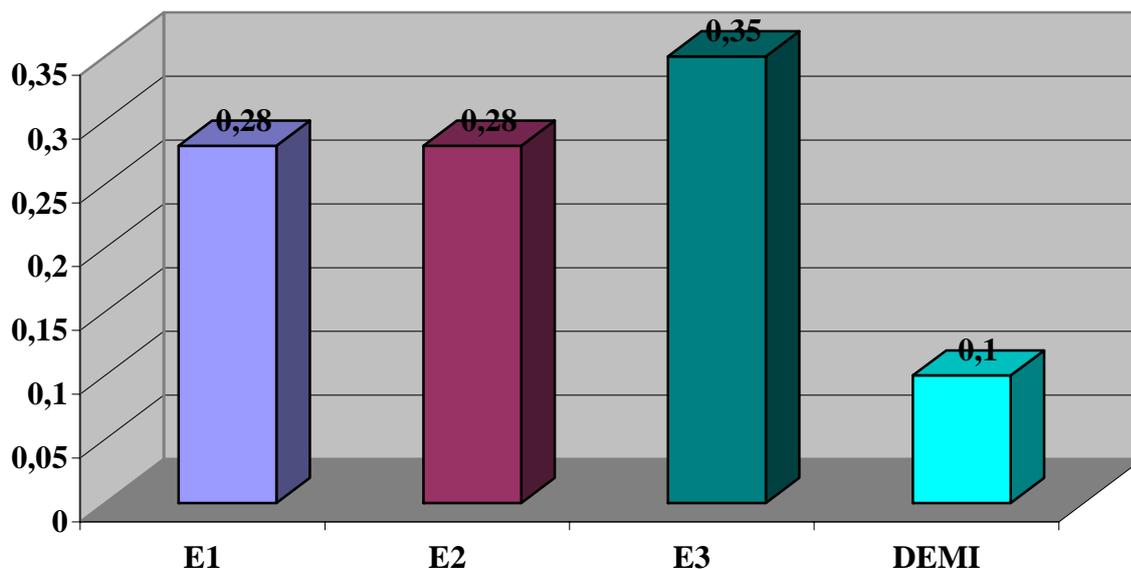


Fig8: Pourcentage des alcaloïdes totaux

6.2.3-Rendement des extractions :

Tableau XXVII: Rendement des extractions

Extraits	Rendement (%)
Décocté du thérapeute de Missidougou (DEMI)	9,14
Décocté de l'échantillon 1 par la méthode du thérapeute (DEE1.1)	38,80
Décocté de l'échantillon 2 par la méthode du thérapeute (DEE2.1)	24,71
Décocté de l'échantillon 1 à 10% (DEE.1.2)	35,45
Décocté de l'échantillon 2 à 10% (DEE.2.2)	25,40
Digested de l'échantillon 1 à 10% (DIAE1)	28,40
Digested de l'échantillon 2 à 10% (DIAE2)	35,80
Digested de l'échantillon 3 à 10% (DIAE3)	26,26
Infusé de l'échantillon 1 à 10% (INE1)	38,20
Infusé de l'échantillon 2 à 10% (INE2)	30,45
Infusé de l'échantillon 3 à 10% (INE3)	32,22
Macéré de l'échantillon 1 Pdt 72heures (MAE1)	35,85
Macéré de l'échantillon 2 Pdt 72heures (MAE2)	36,80
Macéré de l'échantillon 3 Pdt 72heures (MAE3)	26,94

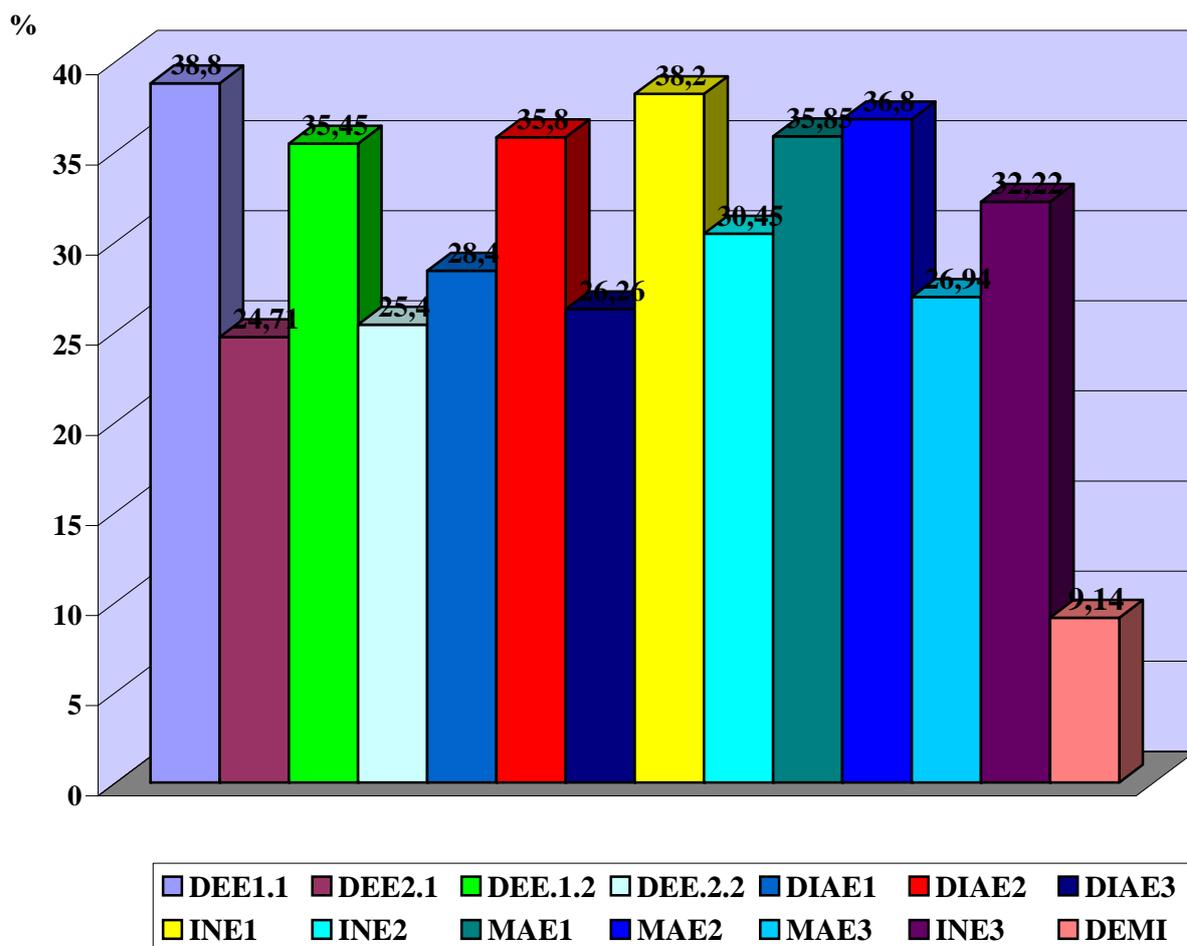


Fig9: Rendements des extractions

Le rendement d'extraction le plus élevé a été obtenu avec l'échantillon de Blendio avec 38,80% et 38,20% respectivement pour la décoction pendant 3 heures et l'infusé à 10%.

6.2.4- Chromatographie sur couche mince (CCM) :

Dans le système de solvant Butanol : acide acétique : eau (60 :15 :25)

➤ **Chromatographie des extraits aqueux.**

Tableau XXVIII :

Extraits	Rf	Taches			
		255 nm	366 nm	Godin	Dragendorff
DEMI	0,35	-	Bleu violet clair	-	-
DEE1.1	0,35	-	Bleu violet clair	-	-
	0,55	-	Verte	-	-
	0,57	Visible	-	-	Rouge
DEE2.1	0,35	-	Bleu violet clair	Grisâtre	-
	0,55	-	Verte	-	-

Extraits	Rf	Taches			
		255 nm	366 nm	Godin	Dragendorff
DEE3.1	0,57	Visible	-	-	Rouge
	0,35	-	Bleu violet clair	Grisâtre	-
	0,55	-	Verte	-	-
DEE1.2	0,57	Visible	-	-	Rouge
	0,35	-	Bleu violet clair	-	-
	0,51	-	Orange	-	-
DEE2.2	0,57	Visible	Verte	-	Rouge
	0,35	-	Bleu violet clair	Grisâtre	-
	0,37	-	-	Grisâtre	-
DEE3.2	0,45	Visible	-	-	-
	0,51	-	Orange	-	-
	0,53	-	-	-	Rouge
DEE3.2	0,57	Visible	verte	-	Rouge
	0,35	-	Bleu violet clair	-	-
	0,37	-	-	Grisâtre	-
DIAE1	0,51	-	Orange	-	-
	0,57	Visible	verte	-	Rouge
	0,51	-	Orange	-	-
DIAE2	0,58	Visible	verte	-	Rouge
	-	-	-	-	-
	0,35	-	Bleu violet clair	-	-
DIAE1	0,37	-	-	Grisâtre	-
	0,45	Visible	-	-	-
	0,57	Visible	Verte	-	Rouge
DIAE2	0,35	-	Bleu violet clair	-	-
	0,45	Visible	-	-	-
	0,53	-	-	-	Rouge
DIAE3	0,57	Visible	verte	-	Rouge
	0,35	-	Bleu violet clair	-	-
	0,50	-	Orange	-	-
INE1	0,57	visible	Verte	-	Rouge
	0,34	-	Bleu violet clair	-	-

Extraits	Rf	Taches			
		255 nm	366 nm	Godin	Dragendorff
INE2	0,37	-	-	Grisâtre	-
	0,51	-	Orange	-	-
	0,57	visible	Verte		Rouge
	0,35	-	Bleu violet clair	Grisâtre	-
	0,37	-	-	Grisâtre	-
	0,51	-	Orange	-	-
	0,53	-	-	-	Rouge
INE3	0,57	Visible	verte		Rouge
	0,35	-	Bleu violet clair	Grisâtre	-
	0,37	-	-	Grisâtre	-
	0,51	-	Orange	-	-
MAE1	0,57	Visible	verte	-	Rouge
	0,37	-	-	Grisâtre	-
	0,51	-	Orange	-	-
MAE2	0,57	Visible	Verte	-	Rouge
	0,51	-	Orange	-	-
	0,53	-	-	-	Rouge
MAE3	0,57	Visible	Verte	-	Rouge
	0,87	-	Jaune clair	-	-
	0,50	-	Orange	-	-
	0,57	Visible	Verte		Rouge
	0,87	-	Jaune clair	-	-

➤ **Chromatographie sur couche mince des alcaloïdes totaux :**

Tableau XXIX :

Extraits	Rf	Taches		
		255 nm	366 nm	Dragendorff
Extrait EtOH de <i>C. majus</i>	0,44	Visible	Bleu violet	Rouge
	0,50	Visible	orange	-
	0,55	Visible	Verte	Rouge
	0,56	Visible	-	Rouge
	0,65	Visible	Bleu violet	Rouge

Extraits	Rf	Taches		
		255 nm	366 nm	Dragendorff
	0,81	Visible	Bleu Violet	-
Chlorure de berbérine	0,56	Visible	Verte	rouge
Alcaloïdes DEMI	0,44	-	Bleu violet	-
	0,50	Visible	Orange	-
	0,55	-	Verte	-
	0,57	Visible	-	Rouge
	0,65	-	Bleu violet	-
Alcaloïdes DEE1.1	0,81	-	Bleu violet	-
	0,55	-	Verte	-
	0,57	Visible		Rouge
Alcaloïdes DEE2.1	0,44	-	Bleu violet	-
	0,55	-	Verte	-
	0,57	Visible	-	Rouge
	0,81	-	Bleu violet	-
Alcaloïdes DEE3.1	0,44	Visible	Bleu violet	-
	0,50	Visible	Orange	-
	0,55	-	Verte	-
	0,57	Visible	-	Rouge
	0,65	-	Bleu Violet	-
	0,81	Visible	Bleu violet	-
	0,50	-	Orange	-
Alcaloïdes E1 (poudre)	0,55	-	Verte	-
	0,57	Visible		Rouge
	0,37	-	Bleu violet clair	-
Alcaloïdes E2 (poudre)	0,50	-	Orange	-
	0,57	Visible	verte	Rouge
	0,81	-	Bleu violet	-
Alcaloïdes E3 (poudre)	0,37	-	Bleu violet clair	-

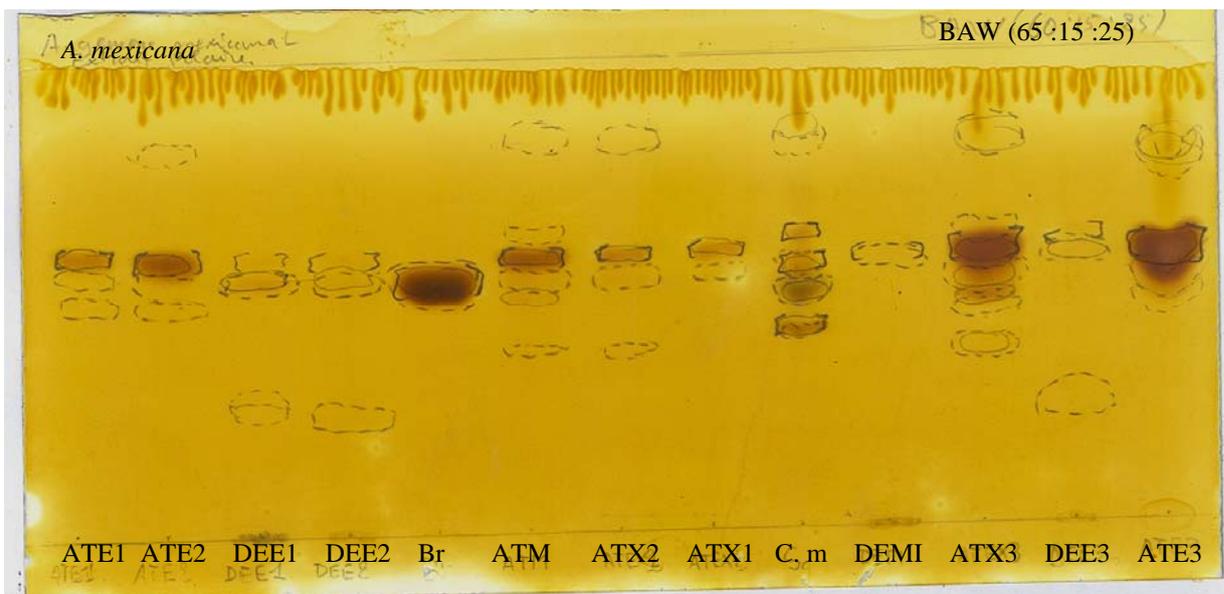


Fig 10 : Chromatogramme de certains extraits polaires de *A. mexicana*

Système de solvant : BAW (65 :15 :25),

Révélateur : Dragendorff, les taches rouges peuvent être des alcaloïdes.

Témoins : Chlorure de Berbérine (Br), extrait éthanolique de *C. majus*

Dans système de solvant BAW (60 : 15 :25) tous nos extraits ont donné des taches rouges après révélation avec le réactif de Dragendorff au Rf de 0,57 et une fluorescence verte à 0,55 sous UV à 366nm, caractérisant le chlorure de berbérine utilisé comme témoin. Et qui a donné une tache visible et une fluorescence verte sous UV respectivement à 255nm et 366 nm et une tache rouge après révélation avec le réactif de Dragendorff au Rf de 0,56. Ce qui confirme la présence de la berbérine dans tous nos extraits aqueux et alcaloïdes totaux. La tache observée après révélation avec le réactif de Dragendorff était plus intense avec les échantillons de Mountougoula ce qui confirme la forte teneur en alcaloïdes totaux de cet échantillon par rapport aux autres. La sanguinarine identifiée dans l'extrait éthanolique de *Chelidonium majus* (utilisée comme témoin) a donnée après observation sous UV une tache visible à 255 nm, fluorescence bleu violet à 366 nm et une tache rouge après révélation avec le réactif de Dragendorff avec un Rf de 0,65. Au même facteur frontale (0,65) nous avons observé sous UV à 366 nm une fluorescence bleu violet dans les alcaloïdes totaux extraits du décocté du thérapeute de Missidougou, du décocté des échantillons de Mountougoula et de Missidougou mais sans donner de tache rouge bien visible avec le réactif de Dragendorff. Nous avons observé des florescences bleu violet également aux Rf de 0,44 et 0,81 pour l'extrait éthanolique

témoin de *C. majus* et aussi pour les alcaloïdes totaux du décocté du thérapeute de Missidougou, des décoctés des échantillons de Mountougoula et de Missidougou. Des taches rouges ont été observées également au facteur frontal de 0,53 après révélation avec le réactif de Dragendorff pour tous les extraits aqueux de l'échantillon de Missidougou.

Les florescences bleu violet clair et orange observées sous UV à 366 nm aux Rf respectives de 0,35 et 0,51 et les taches grisâtres à 0,35 et 0,37 après révélation au réactif de Godin peuvent être des composés polyphénoliques qui sont très abondants dans nos extraits aqueux selon les résultats de nos réactions en tube.

Tableau XXX: Chromatographie sur couche mince des alcaloïdes totaux ; système de solvant ; éthanol 96% ; HCl 0,2% (95 : 5)

Extraits	Rf	Fluorescence à 366 nm	Tache avec Dragendorff
Extrait*EtOH de <i>C. majus</i>	0,75	Bleu violet	Rouge
	0,68	Bleu violet	Rouge
	0,25	Verte	Rouge
	0,17	Bleu violet	Rouge
Chlorure de berbérine	0,22	Verte	Rouge
Alcaloïdes DEMI	0,25	Verte	Rouge
	0,18	Bleu violet	Rouge
Alcaloïdes Extrait E1	0,25	Verte	Rouge
Alcaloïdes extrait E2	0,25	Verte	Rouge
	0,18	Bleu violet	Rouge
Alcaloïdes extrait E3	0,64	Bleu violet	Rouge
	0,25	Verte	Rouge
	0,18	Bleu violet	Rouge
Alcaloïdes E1	0,25	Verte	Rouge
Alcaloïdes E2	0,25	Verte	Rouge
Alcaloïdes E3	0,75	Bleu violet	Rouge
	0,25	Verte	Rouge
	0,18	Bleu violet	Rouge
DEMI	0,25	verte	Rouge
DEE1.1	0,25	Verte	Rouge
DEE2.1	0,25	Verte	Rouge
DEE3.1	0,25	Verte	Rouge

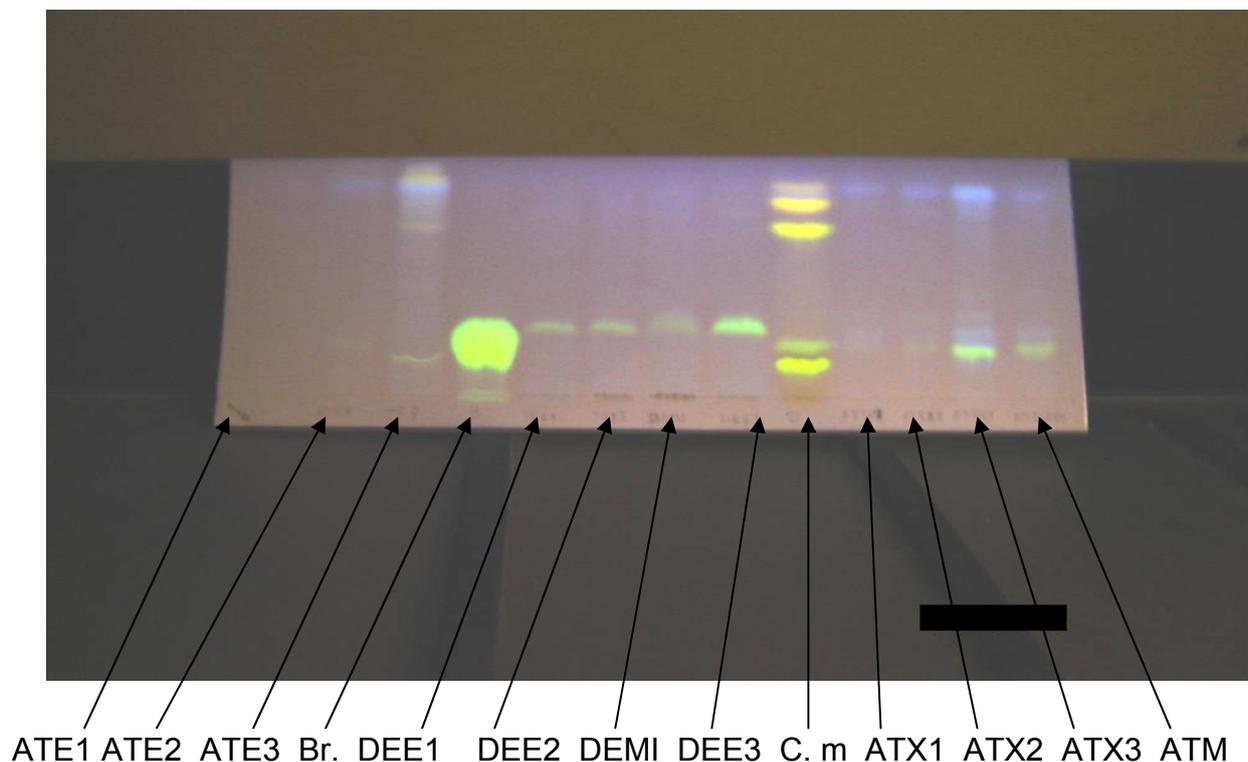


Fig.11 : Photo d'un chromatogramme des extraits polaires de *A . mexicana*

- Système de solvant: Ethanol 96%: HCl 0,2% (95 : 5)
- Plaque de silicagel en Aluminium
- Dépôt 10 μ l
- Observation à l'UV 366 nm

Berbérine en fluorescence verte et la sanguinarine en fluorescence jaune or

Avec le système de solvant de migration éthanol 96% : acide chlorhydrique 0,2% (95 : 5), nous avons observé des taches rouges avec le réactif de Dragendorff et une fluorescence verte sous UV 366 nm au Rf de 0,25 pour tous nos extraits migrés dans ce système. En effet le chlorure de berbérine utilisé comme témoin a été identifié au Rf de 0,22 avec une fluorescence verte sous UV 366 nm et une tache verte avec le réactif de Dragendorff ce qui confirme encore une fois la présence de la berbérine dans nos extraits. Après comparaison des Rf de l'extrait éthanolique témoin de la sanguinarine avec ceux des autres extraits migrés dans ce solvant, nous pouvons affirmer la présence de la sanguinarine dans les alcaloïdes totaux extraits du décocté de l'échantillon de Mountougoula (au Rf de 0,64 avec fluorescence bleu violet à 366nm, tache rouge avec le réactif de Dragendorff) et d'un autre alcaloïde dans les alcaloïdes totaux extraits de la poudre de l'échantillon de Mountougoula (au Rf de 0,75 avec les mêmes caractéristiques que la sanguinarine). Un autre alcaloïde a été identifié au Rf de 0,18 (avec fluorescence bleu violet à 366nm et taches rouges à la révélation avec le réactif de Dragendorff) dans les alcaloïdes totaux extraits des

poudres des échantillons de Missidougou et de Mountougoula et alcaloïdes totaux extraits des décoctés des mêmes échantillons. Nous remarquons l'absence d'alcaloïdes autre que la berbérine dans tous les extraits de l'échantillon de Blendio qui est le seul échantillon exempté de graine.

6.2.5-Les sucres identifiés dans les extraits :

Nous avons recherché les sucres dans 12 de nos extraits composés par les macérés et les décoctés de la partie aérienne de *A. mexicana* de différentes localités du Mali. Les sucres les plus rencontrés sont Galactose, Xylose, le Glucose et l'acide galacturonique. Les décoctés étaient plus riches en sucre que les macérés.

Tableau XXXI: sucres obtenus dans les décoctés

SUCRES	DEE1.1	DEE2.1	DEE3.1	DEE1.2	DEE2.2	DEE3.2	TRR
Arabinose	+	-	+	+	+	+	0,3256
Rhamnose	-	-	-	+	-	-	0,3695
Xylose	+	+	+	+	+	-	0,4771
Mannose	+	-	+	+	+	-	0,7189
Galactose	+	+	+	+	+	+	0,8086
Acide galacturonique	+	+	+	+	+	+	0,9185
Glucose	+	+	+	+	+	+	0,9513
A. glucuronique	+	+	+	+	+	-	0,9666

Tableau XXXII: sucres obtenus dans les macérés

SUCRES	MAE1	MAE2	MAE3	TRR
Arabinose	+	-	-	0,3256
Rhamnose	-	-	-	0,3695
Xylose	+	-	+	0,4771
Mannose	+	+	-	0,7189
Galactose	+	-	+	0,8086
A. galacturonique	+	+	+	0,9185
Glucose	+	+	-	0,9513
A. glucuronique	-	+	-	0,9666

(+) = Présence et (-) = absence

Tableau XXXIII: Décocté du thérapeute de Missidougou

Sucres	AR	% de sucres
Xylose	0,258	8,66
Mannose	0,958	32,15
Galactose	0,917	30,77
Glucose	0,847	28,42

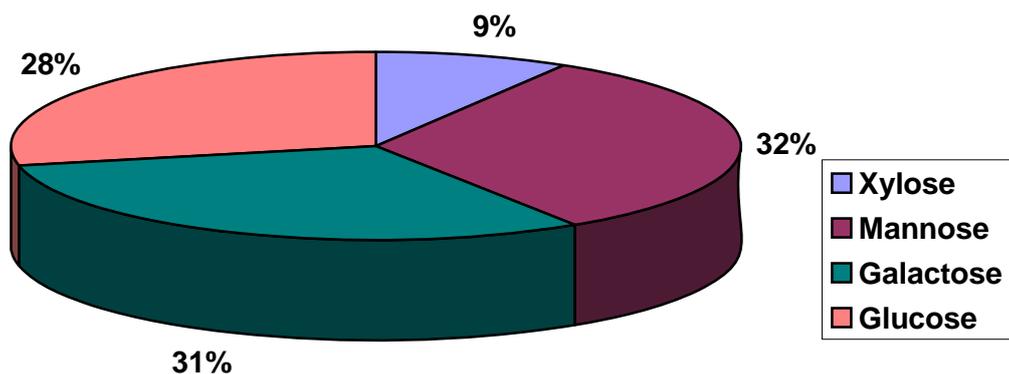


Fig 12: Sucres identifiés dans le décocté du thérapeute

Tableau XXXIV Décocté de l'échantillon 1 pendant 3 heures

Sucres	AR	% de sucres
Arabinose	0,029	2,80
Xylose	0,061	5,88
Mannose	0,040	3,86
Galactose	0,052	5,01
A. galacturonique	0,547	52,75
Glucose	0,201	19,38
A. glucuronique	0,107	10,32

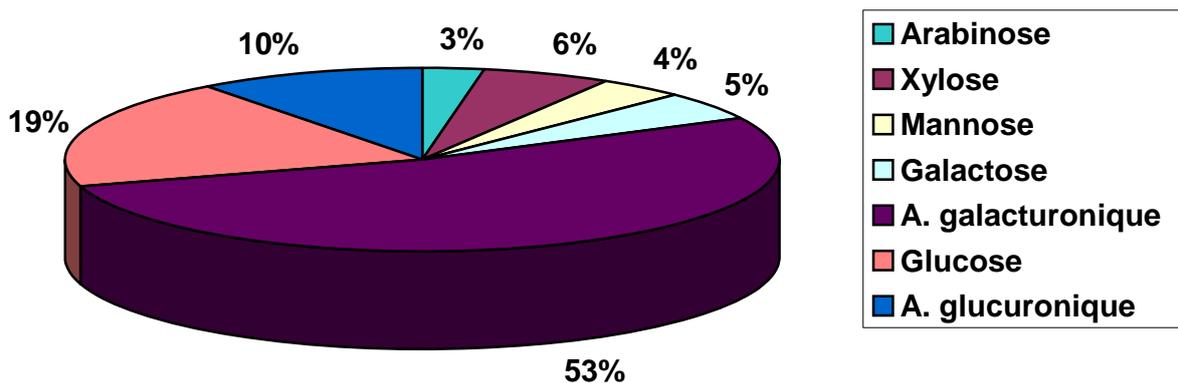


Fig13: Pourcentage de sucres dans le décocté de E1 par la méthode du thérapeute

Tableau XXXV: Décocté aqueux de l'échantillon 2 pendant 3 heures

Sucres	AR	% de sucres
Xylose	0,039	6,22
Galactose	0,030	4,78
A. galacturonique	0,410	65,40
Glucose	0,134	21,37
A. glucuronique	0,014	2,23

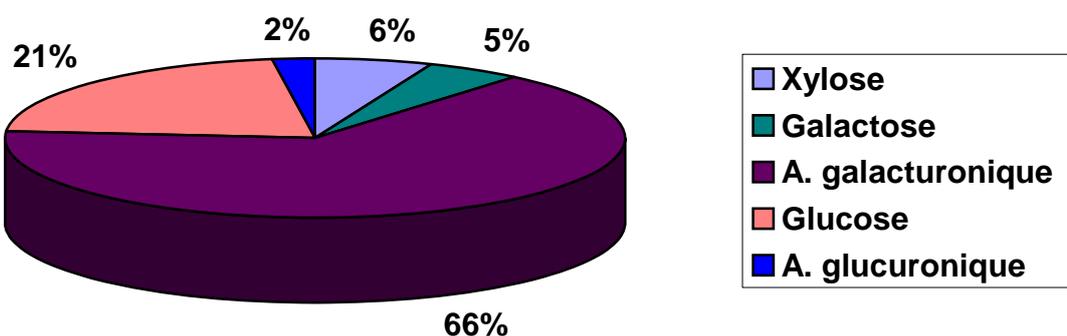


Fig14: Sucres identifié dans le décocté de l'échantillon 2 pendant 3 heures

Tableau XXXVI : Décocté de l'échantillon 3 pendant 3 heures

Sucres	AR	% de sucres
Arabinose	0,044	4,18
Xylose	0,080	7,60
Mannose	0,024	2,28
Galactose	0,021	2,00
A. galacturonique	0,675	64,09
Glucose	0,200	19,00
A. glucuronique	0,009	0,85

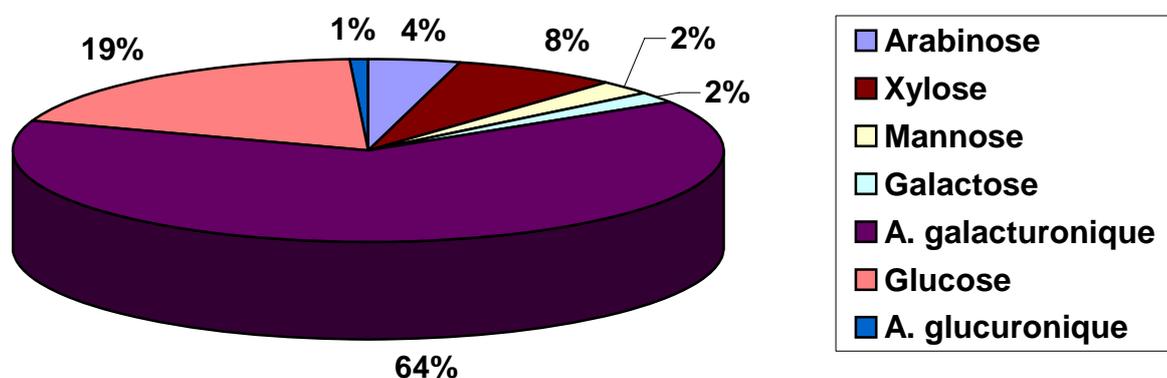


Fig15: Pourcentage des sucres dans le décocté aqueux de E3 pendant 3heures

Tableau XXXVII:Décocté de l'échantillon 1 à 10%

Sucres	<u>AR</u>	% de sucres
Arabinose	0,022	5,94
Rhamnose	0,002	0,54
Xylose	0,044	11,89
Mannose	0,027	7,30
Galactose	0,037	10,00
A. galacturonique	0,017	4,59
Glucose	0,190	56,77
A. glucuronique	0,011	2,97

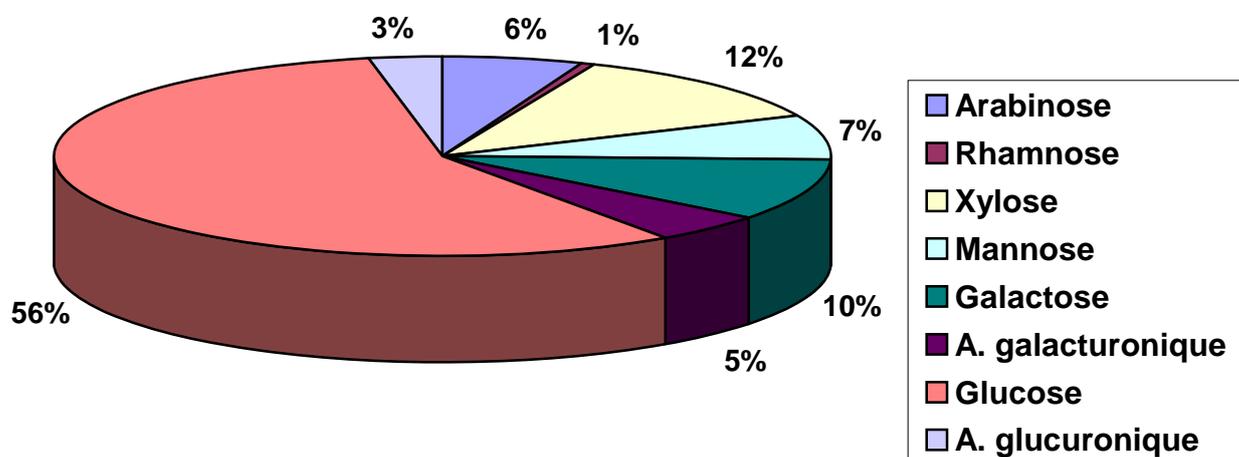


Fig16: Pourcentage des sucres de le décocté aqueux à 10% de E1

Tableau XXXVIII: Décocté aqueux de l'échantillon 2 à 10%

Sucres	TRR	AR	% de sucres
Arabinose	0,321	0,018	8,82
Xylose	0,473	0,034	15,52
Galactose	0,801	0,027	12,33
Glucose	0,948	0,120	54,80
A. glucuronique	0,969	0,020	9,13

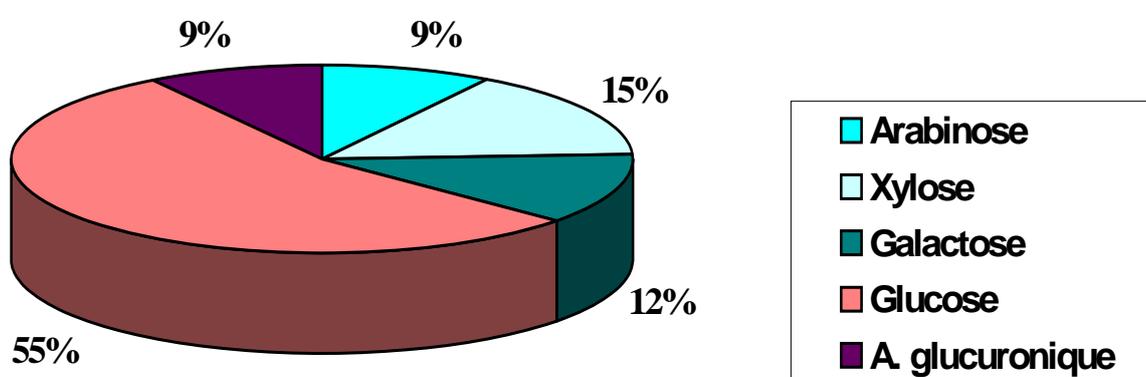


Fig17: Pourcentage des sucres dans le décocté aqueux de E2 à 10%

Tableau XXXIX: Décocté aqueux de l'échantillon 3 à 10%

Sucres	TRR	AR	% de sucres
Arabinose	0,327	0,047	17,87
Galactose	0,813	0,027	10,27
A. galacturonique	0,916	0,149	56,65
Glucose	0,953	0,040	15,21

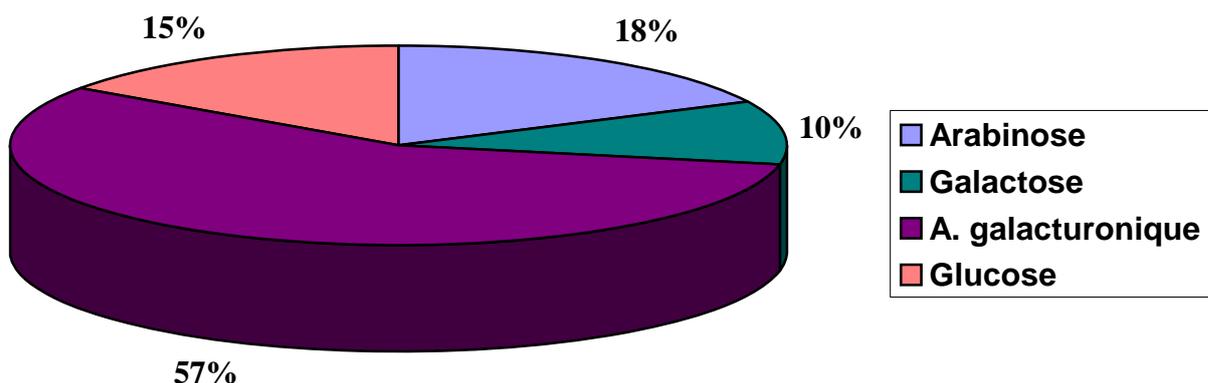


Fig18: Pourcentage des sucres dans le décocté aqueux de E3 à 10%

Tableau XL: Macéré aqueux de l'échantillon 1

Sucres	TRR	AR	% de sucres
Arabinose	0,320	0,008	5,26
Xylose	0,472	0,026	17,10
Mannose	0,710	0,008	5,26
Galactose	0,799	0,023	15,13
A. galacturonique	0,911	0,068	44,75
Glucose	0,943	0,019	12,50

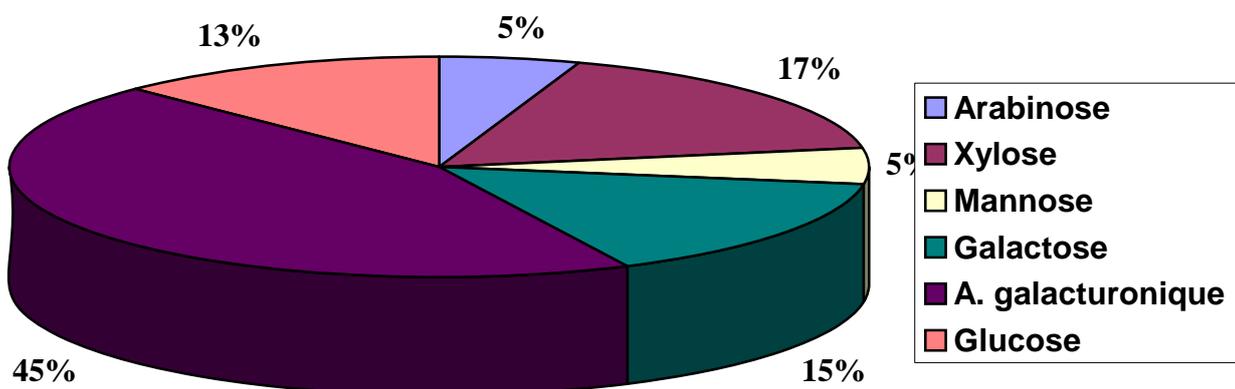


Fig19: Pourcentage des sucres dans le macéré aqueux de E1

Tableau IXL : Macéré aqueux de l'échantillon 2

Sucres	TRR	AR	% de sucres
Rhamnose	0,362	0,014	12,72
Mannose	0,706	0,019	17,27
A. galacturonique	0,926	0,051	46,36
Glucose	0,952	0,015	13,63
A. glucuronique	0,961	0,011	10,00

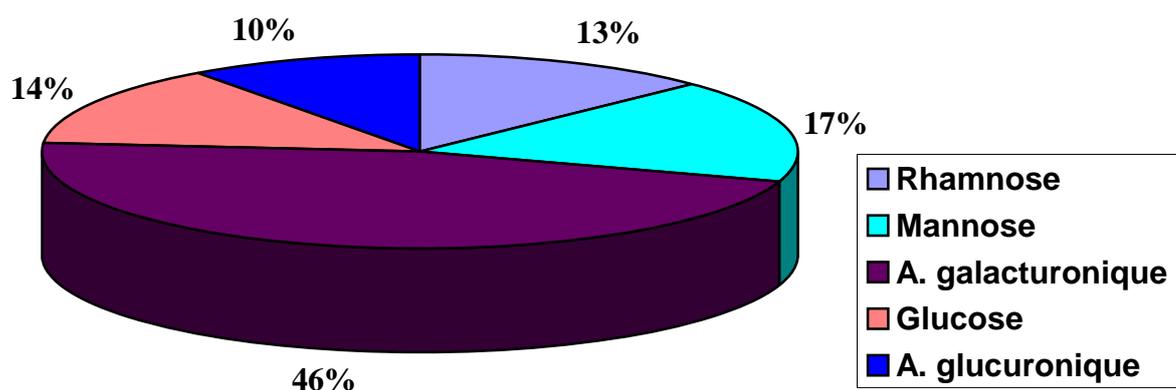


Fig 20: Pourcentage des sucres dans le macéré aqueux de E2

Tableau VIII L: Macéré aqueux de l'échantillon 3

Sucres	TRR	AR	% de sucres
Xylose	0,476	0,026	33,77
Galactose	0,804	0,020	25,97
A. galacturonique	0,915	0,031	40,26

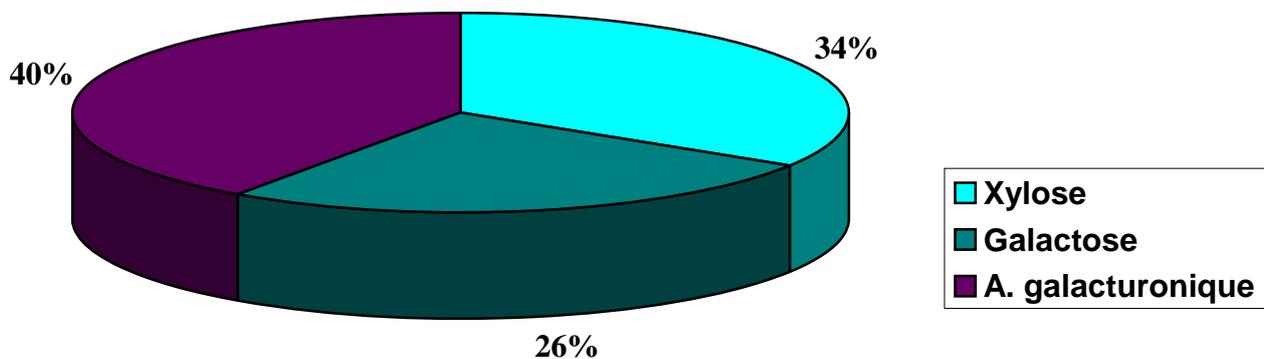


Fig 21: pourcentage des sucres dans le macéré aqueux de E3

La richesse de nos échantillons en oses et holosides dans le screening phytochimique est confirmée par la chromatographie en phase gazeuse qui a montré une diversité de nos extraits aqueux en sucres. Les sucres les plus abondants sont : l'arabinose, le mannose, le xylose, le glucose, le galactose, l'acide galacturonique, et l'acide glucuronique. Le glucose, présent dans nos décoctés à des pourcentages avoisinants les 20% et atteignant 50% dans les décoctés à 10% est très important dans le traitement du paludisme en prévenant l'hypoglycémie, qui est responsable d'une grande part de la mortalité liée au paludisme et touchant très souvent les patients gravement atteints, jeunes enfants en particulier, patients traités par la quinine ou la quinidine ayant provoqué une hyper insulinémie quininique, femmes enceintes, hypoglycémiques à l'admission ou après traitement par la quinine. Le galactose 2 est également présent dans tous nos extraits sauf le macéré de E2 le mannose et le xylose sont présents partout sauf dans quelques extraits de l'échantillon E3, l'acide galacturonique absent dans le décocté du thérapeute et le décocté de E3 est présent partout ailleurs. Il faut signaler que le thérapeute ajoutait du sucre alimentaire (saccharose) pour les enfants.

6.2.6-Ionogramme des extraits : le dosage des ions a été effectué sur les 4 échantillons récoltés, la décoction du thérapeute de Missidougou et aussi sur les différentes formes d'extraction réalisées sur l'échantillon récolté à Missidougou. Nous avons dosé le calcium (Ca²⁺), le magnésium (Mg²⁺): , Le sodium (Na⁺), le potassium (K⁺) et le fer (Fe²⁺).

6.2.6.1-Dosage des ions dans les échantillons de différentes localités:

➤ **Tableau :VIII Masse des ions dans 100mg de poudre:**

Partie aérienne de <i>Argemone mexicana</i> Linn en poudre	Masse des ions (en µg) dans 100mg de poudre				
	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Na ⁺	K ⁺	Fe ²⁺
Echantillon de Blendio	13,16	7,90	11,84	1201,32	15,79
Echantillon de Missidougou	27,07	3,18	14,33	2082,80	98,73
Echantillon de Mountougoula	91,33	4,64	40,25	2380,80	38,70
Besoins quotidiens (Bouvenot et Coll., 1994)	0,5 à 1g	5 à 7 mg/kg/j	1g	< 1g	1 à 2g

6.2.6.2-Dosage Des ions dans les extraits:

Tableau VII: Masse des ions dans 100mg d'extrait:

Extraits	Masse d'ions (en µg) dans 100mg d'extrait				
	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Na ⁺	K ⁺	Fe ²⁺
Décocté du thérapeute	268,82	17,92	152,33	11720,43	224,01
Infusé de l'échantillon de Missidougou	63,32	13,46	40,39	3016,16	49,37
Digesté de l'échantillon de Missidougou	22,16	13,30	75,35	2907,80	48,76
Décocté 10% de E2	48,23	14,47	43,41	3265,17	53,05
Décocté (méthode du thérapeute) de E2	65	10	85	3662	30
Macéré de l'échantillon de Missidougou	100	10	85	3460	55
Besoins quotidiens (Bouvenot et Coll., 1994)	0,5 à 1g	5 à 7 mg/kg /j	1g	< 1g	1 à 2g

Le taux de calcium est plus élevé dans l'échantillon de Mountougoula par rapport aux autres échantillons et le décocté du thérapeute est le plus riche parmi les extraits et est 4 fois plus riche que décocté de l'échantillon de Missidougou. Le calcium représente le cation le plus important de l'organisme (entre 1 et 2 kg de calcium chez un adulte), mais seule une petite partie joue un rôle dans l'équilibre cellulaire et la transmission nerveuse. L'échantillon de Blendio est le plus riche en magnésium, le magnésium est un cation principalement intra cellulaire qui est mis en jeu dans de nombreuses réactions enzymatiques de l'organisme. L'échantillon de Mountougoula est le plus riche en ion sodium (Na⁺) qui est très important dans le maintien de l'hydratation d'un organisme. Il représente l'essentiel des cations (ions positifs) du milieu extra cellulaire. Son rôle est important dans l'hypertension artérielle, et dans le maintien de l'hydratation chez le patient insuffisant cardiaque. La natrémie représente schématiquement le rapport entre la quantité de sel et la quantité d'eau présente dans l'organisme. Les variations de sa concentration traduisent soit une modification de la quantité de sodium ou d'eau dans l'organisme. L'échantillon de Mountougoula également le plus riche en potassium, il est très important dans l'organisme et représente le principal cation (ions positifs) du milieu intra cellulaire. Ses anomalies sont fréquemment à l'origine de troubles cardio-vasculaires.

L'échantillon de Missidougou est plus riche en fer, Le fer est un élément très important du sang. Il entre dans la composition de l'hémoglobine qui permet l'oxygénation de tous les tissus. En cas d'anémie par hémolyse (cas du paludisme) l'apport du fer est déterminant pour le bon rétablissement du patient.

6.2.7-Résultats des recherches bactériologiques sur les extraits :

Les cultures qui n'ont pas donné de colonie sur les deux milieux ont été considérées comme stériles. Et celles qui ont donné des colonies, les bactéries responsables ont été identifiées et les résultats sont portés dans le tableau suivant.

TableauVL Extraits ayant donné des colonies sont signalés dans le tableau

Extrait	Nature de l'extraction	de Identification bactéries	des Caractéristiques des bactéries	Bactéries identifiées
DIAE3	Digestion de E3	Colonies blanches sur le milieu ANC, et ramifiées	Bacilles G+, fins	<i>Nocardia</i> spp
INE3	Infusé de E3	Colonies blanches sur le milieu ANC, et ramifiées	Bacilles G+, fins	<i>Nocardia</i> spp
MAE3	Macéré de E3	Colonies blanches sur le milieu ANC, et ramifiées	Bacilles G+, fins	<i>Nocardia</i> spp
DEMICA	Décocté thérapeute décomposition	Colonies blanches sur le milieu ANC, coloration de Gram, API 20E, API 20NE	Bacilles lactose-	G-, <i>Agrobacter radiobacter</i>

- La bactérie *Agrobacter radiobacter* est non pathogène pour l'homme mais s'attaque aux plantes, la principale espèce *Agrobacterium tumefaciens* est responsable de nombreuses phytopathologies chez de nombreux végétaux ligneux et des plantes herbacées. Sa présence dans le décocté montre sa résistance considérable à la chaleur.
- Le ***Nocardia*** spp comprend 5 espèces : (*Nocardia asteroides*, *N. brasiliensis*, *N. caviae*, *N. transvalensis*, *N. ottisdiscaviarum*,). Saprophyte du sol, il provoque une maladie appelée nocardiose qui est une maladie sporadique occasionnelle

répandue dans le monde entier (mycétome) qui se transmet à l'homme et aux animaux par inhalation de poussière contaminée; par contamination des tissus sous-cutanés par une blessure par pénétration (épines, écharde); cas rares de transmission nosocomiale après une chirurgie.

6.3-Tests Biologiques des extraits de *Argemone mexicana* L

6.3.1- Test sur *P. falciparum* in vitro;

Tableau IVL: Concentrations inhibitrices à 50% des extraits de *Argemone mexicana* testés à l'institut des maladies tropicales de Bâle.

Codes	Extraits aqueux	IC50 in vitro (µg/ml)	IC50 in vitro de la Chloroquine (µg/ml)
DEE1.1	Décocté de E1 selon la méthode thérapeute	17,687	0,067
DEE1.2	Décocté de E1 à 10 % pendant 15 minutes	37,899	0,0594
DEE2.1	Décocté de E2 selon la méthode thérapeute	19,975	0,067
DEE2.2	Décocté de E2 à 10 % pendant 15 minutes	25	0,0594
DE3C	Décocté de E3 selon la méthode thérapeute concentré au Rotavapor	21.649	0,067
DE3NC	Décocté de E3 selon la méthode thérapeute non concentré	21,734	0,067
DIAE1	Digesté de E1 à 10%	38,578	0,067
DIAE2	Digesté de E2 à 10%	33.299	0,067
INE2	Infusé de E2 à 10%	>50	0,067
MAE1	Macéré aqueux de E1à 10% pendant 72heures	>50	0,067
MAE2	Macéré aqueux de E2 à 10%pendant 72heures	35.27	0,0594
DEMIC	Décocté du thérapeute concentré au Rotavapor	41.69	0,0594
DEMINC	Décocté du thérapeute de Missidougou non concentré	36.75	0,0594

Conditions expérimentales :

- **Solvant utilisé :** H₂O
- **Souche de *Plasmodium* :** *P. falciparum* K1 au stade IEF
- **Médicament témoin :** Chloroquine

Il n'y a pas de différence significative entre les échantillons de différentes provenances par contre la durée de la décoction semble avoir un effet sur l'activité antiplasmodiale des extraits. En effet la décoction pendant 3 heures de l'échantillon de Blendio a été la plus active parmi les extraits testés.

6.3.2-Activité anti-radicalaire.

Les extraits migrés sur une plaque de silicagel avec comme système de solvant butanol - acide acétique - eau (60 : 15 :25) ont été révélés au DPPH.

Tableau IVL :

<u>Extraits testés</u>	<u>Rf</u>	<u>Taches</u>
DEE1.1	0,41	Jaune
DEE2.1	0,41	Jaune
DEE3.1	0,41	Jaune
DEE1.2	0,41	Jaune
DEE2.2	0,41	Jaune
DEE3.2	0,41	Jaune
DIAE2	0,41	Jaune
INE2	0,41	Jaune
ATEI	0,68	Jaune
ATE2	0,68	Jaune
ATE3	0,68	Jaune

Les extraits de l'échantillon de Missidougou, excepté le Macéré, et tous les décoctés, excepté le décocté du thérapeute se sont montrés actifs avec le DPPH en donnant une tache jaune sur fond pourpre au Rf de 0,41. les alcaloïdes totaux se sont montrés également actifs au Rf de 0,68.

6.3.3-Toxicologie des extraits :

6.3.3.1- Cytotoxicité:

Ces tests réalisés à l'institut des maladies tropicales de Bâle ont été effectués sur tous nos extraits aqueux

La méthode de cytotoxicité L6 a été utilisée et la drogue de référence était la podophyllotoxine. Selon les résultats obtenus ont donné des IC50 toujours supérieures à 90µg/ml pour tous les extraits quelque soit le solvant de dilution utilisé (eau ou le diméthyl sulfoxyde) et la drogue de référence variait de 0,009 à 0,01µg/ml.

6.3.3.2-Toxicité aiguë :

Nous n'avons observé aucun signe de toxicité chez ces souris au bout de 72 heures d'observation.

La DL50 est donc supérieure à 3,205g/kg d'extrait soit 7,73g de poudre de la plante par kg de poids corporel.



COMMENTAIRES ET
DISCUSSIONS

COMMENTAIRES ET DISCUSSIONS :

Dans la littérature *A. mexicana* a eu sa réputation à cause de la toxicité de sa graine qui a été liée à plusieurs épidémies d'hydropisies avec de nombreux cas de décès en Asie et Amérique du nord d'où il est originaire. Très peu d'auteurs ont rapporté l'activité antipaludique.

Notre présente étude fait suite à celle réalisée par Sangaré en 2003 sur la prise en charge du paludisme par les thérapeutes traditionnels dans les aires de santé de Kendié (Badiangara) et de Finkolo A.C (Sikasso) ce travail avait permis d'identifier un certain nombre de plantes utilisées dans le traitement traditionnel du paludisme, *A. mexicana* a été la plante la plus active *in vitro* avec une concentration inhibitrice à 50% (IC50) de 1µg/ml pour l'extrait méthanolique contre 0,05 µg/ml pour la chloroquine. (Sangaré, 2003)

Notre objectif principal dans ce travail était d'étudier l'efficacité et l'innocuité de la partie aérienne de *A. mexicana* dans le traitement du paludisme à *Plasmodium falciparum* non compliqué et contribuer ainsi à la mise en place d'un médicament traditionnel amélioré à base de cette plante.

Pour ce faire nous avons effectué une étude de l'évidence ethnomédicale de la plante à Missidougou, un village de la région de Sikasso (frontière Mali – Burkina Faso). Des échantillons de *A. mexicana* récoltés dans trois localités différentes du Mali, et le décocté du thérapeute nous ont permis de faire un screening phytochimique et de préparer des extraits aqueux pour les tests biologiques.

Les résultats de l'étude de l'évidence ethnomédicale qui a concerné 81 patients ont montré une relative efficacité de *A. mexicana* dans le traitement traditionnel du paludisme non compliqué lorsqu'il est pris pendant au moins sept jours avec une dose totale moyenne de 930,6 mg d'extrait par kg de poids corporel, répartie en deux prises par jour (groupe B) cette posologie semble être plus efficace cliniquement qu'une prise de 141,9 mg d'extrait par kg de poids corporel, répartie en une prise par jour pendant trois jours (groupe A). Par contre une posologie 1672 mg d'extrait par kg de poids corporel répartie en quatre prises par jour pendant 4 jours puis deux prises par jour pendant 4 jours ne semble pas être plus efficace et serait même associée à une toxicité cardiaque mise en évidence par les changements observés dans l'électrocardiogramme de deux patients du groupe C. Ces changements semblent être dus à un effet direct du décocté (indépendant d'une

quelconque augmentation de la kaliémie) du fait que le thérapeute n'enlevait pas les graines de la plante lors de la préparation. En effet, au Népal une tachycardie persistante a été observée chez 15 patients sur 17 souffrant d'une épidémie d'hydropisie à la suite de la consommation d'huile de moutarde contaminée par l'huile de la graine d'*Argemone mexicana*. L'alcaloïde toxique mis en cause (la sanguinarine) se trouve uniquement dans les graines (Singh et coll., 1999). Une dose élevée de ce décocté contenant les alcaloïdes toxiques ou d'autres constituants cardiotoxiques (hétérosides cardiotoniques) serait donc en cause.

Les autres paramètres étudiés ne présagent pas une quelconque toxicité hépatique, rénale, et pour la moelle osseuse et la tendance est même à un possible effet bénéfique pour le succès du traitement du fait de l'amélioration de l'anémie et une augmentation des plaquettes sanguines au cours du traitement.

L'interprétation de la réponse thérapeutique selon l'âge des patients donne de mauvais résultats pour les enfants de moins de 1 an comparativement aux enfants de 1 à 5 ans ou supérieur à 5 ans ce qui peut s'expliquer d'une part par l'inaptitude de ces enfants à prendre une dose suffisante de la décoction (refus de s'alimenter en cas de fièvre) et d'autre part, la défense immunitaire antiplasmodiale chez ces enfants est encore très peu développée. La dose dépendance est bien visible avec une différence significative RCA entre les patients des groupes A et B d'âges compris entre 1 et 5 ans (25% dans le groupe A et 71% dans le groupe B) de même que pour les patients de plus de 5ans (75% dans le groupe A et 89 % dans le groupe B).

Sur le plan efficacité parasitologique la réduction de la parasitémie est plus importante avec la décoction de *Argemone mexicana* (98,83% dans le groupe B entre J0 et J7) comparé au Malarial (69,39% entre J0 et J7) (Guindo, 1988 et Dombia, 1997). La négativation de la parasitémie chez 7 patients au J14, dont 4 du groupe B et 3 du groupe C (Tableau XVI) montre une réelle activité de cette décoction sur les parasites du paludisme. Ces résultats très encourageants sont confirmés par les tests *in vitro* réalisés sur cette décoction du thérapeute (IC50 =36,75µg/ml) contre 0,0594 µg/ml pour la chloroquine et peuvent être améliorés avec les conditions d'extractions (17,687µg/ml pour une décoction réalisé au DMT selon la méthode du thérapeute). La décoction faite pendant au moins 3 heures semble être plus active que celle faite pendant 10 minutes. Le Malarial largement utilisé dans le traitement du paludisme a une IC50 = 600µg/ml contre 180 µg/ml pour son constituant le plus actif (*S. oleracea*). D'autres plantes utilisées dans

le traitement traditionnel du paludisme au Mali comme *Mitragyna inermis* (feuilles), *Glinus oppositifolicus* (partie aérienne), et *Nauclea lactifolia* (écorces de tronc) ont toutes des données des IC50 supérieures à 500µg/ml pour l'extrait aqueux sur des souches de *P. falciparum* (Traoré, 1999).

Les études phytochimiques réalisées sur les différents échantillons n'ont pas montré de différences significatives entre les échantillons, seul les composés réducteurs étaient absents dans l'échantillon de Mountougoula. La présence de certains groupes chimiques comme les tanins, les coumarines, hétérosides cardiotoniques, les stérols et triterpènes confirme les multiples utilisations traditionnelles de la plante notamment dans le traitement de la blénorrhagie, diarrhée, affections cutanées, affections dentaires et oculaires, comme astringente, antiseptiques, diurétique et antidiarrhéiques, antiémétique etc. Nous avons trouvé des teneurs en eau et en cendre similaires pour tous les échantillons récoltés. En effet tous nos échantillons ont une teneur en eau inférieure à 7% ce qui pourrait empêcher la prolifération des micro-organismes dans la plante sèche au cours de la conservation. Cependant les recherches réalisées sur les extraits ont montrées une possible prolifération des bactéries (*Nocardia spp*) dans les extraits préparés à basse température (digestés, macérés, et infusion) à base de plante préalablement contaminée par ces microorganismes et même des décoctés mal conservés. Nous avons trouvé un pourcentage d'alcaloïdes totaux plus élevé dans l'échantillon de Mountougoula par rapport aux autres échantillons. Pour autant que ces différences soient significatives, ce qui reste à prouver, cela pourrait s'expliquer par le fait que les constituants d'une plante peuvent varier en qualité et en quantité d'une région à une autre, et d'une saison à une autre.

La chromatographie en phase gazeuse nous a permis d'identifier dans nos extraits des sucres (glucose, le mannose, le galactose etc.) dont l'apport chez un impaludé est capital dans la prévention de certaines complications du paludisme comme l'hypoglycémie (généralement chez les femmes enceintes et les jeunes enfants), collapsus circulatoire par acidose métabolique et aussi l'acidose.

La présence de certains ions dans nos extraits (Fer, calcium, magnésium, sodium, potassium) serait un complément de l'alimentation dans la prévention de certaines complications du paludisme comme l'anémie, les troubles hydro électrolytiques et la déshydratation. Notons que les minéraux travaillent en synergie et qu'une supplémentation excessive de l'un peut entraîner une carence de l'autre. Par

exemple, un excès de manganèse, de calcium ou de potassium sous forme de suppléments pourrait entraîner une carence en magnésium. Cependant l'apport de ces différents minéraux ne couvre pas les besoins de l'organisme. Par exemple la dose journalière du décocté du thérapeute (le plus riche en Fer) rapporte moins de 1% du besoin quotient en fer. En plus c'est le fer non hémelique (biodisponibilité < 5%) et les tanins qui peuvent diminuer considérablement l'absorption.

La chromatographie sur couche mince nous a permis en présence de témoin d'identifier l'alcaloïde toxique (la sanguinarine) au Rf de 0,65 dans le BAW (60 :15 :25) et à 0,64 dans le système éthanol 96% ; HCl 0,2% (95 : 5) dans les alcaloïdes totaux extraits des décoctés des échantillons de Mountougoula et de Missidougou. Et seulement par sa florescence sous UV à 366 nm pour les décoctés des mêmes échantillons. La berbérine qui est supposée être la substance active sur le *Plasmodium* a été identifiée dans tous nos extraits au Rf de 0,67 et sous UV avec une fluorescence verte.

L'activité antioxydante des décoctés serait un apport important pour la réussite du traitement antiplasmodial. Car les neutrophiles activés par les parasites déclanchent une destruction des cellules endothéliales qui peut être prévenue par les antioxydants et les inhibiteurs d'enzymes protéolytiques *in vitro*. (Hemmer et coll., 2005). Les parasites du paludisme par la lyse massive des globules rouges entraîneraient un stress oxydatif chez la victime, en effet Onigbinde et coll., en 2005 ont montré que la combinaison (chloroquine – acide ascorbique) réduirait de façon significative le stress oxydative provoqué par *P. berghei* chez les souris par rapport à la chloroquine utilisée seule. Les antioxydants pourraient atténuer les dommages sur les cellules endothéliales du à l'activation leucocytaire provoquée par les parasites (Pincemail, et coll., 1999). Actuellement il y'a beaucoup d'investigations visant à prouver l'apport des antioxydants dans les traitements antipaludiques.

La dose totale moyenne de décocté (exprimée en mg d'extrait lyophilisé par kg de poids corporel) prise par les patients du groupe B a été multipliée par trois (soit 2791,8 mg/kg) et administrée en une seule prise à des souris blanches de type OF1. Ceci n'a donné aucun signe d'intoxication chez ces souris après 72heurs d'observation. Cette même dose a été utilisée pour le décocté de l'échantillon de Blendio préparé selon la méthode du thérapeute de Missidougou. La seconde dose testée pour le décocté du thérapeute correspondait à 7 fois la dose journalière maximale prise par les patients du groupe de dose C (soit 3205mg/kg), administrée également en une dose unique a un lot de 10 souris de même type, elle n'a montré

aucun signe d'intoxication en 72heurs d'observation. Nous pouvons ainsi affirmer que les extraits peuvent être considérés comme peu dangereux, ne provoquant pas de toxicité aiguë jusqu'à une dose de 3g/kg d'extraits ce qui correspond à 7,73g de poudre de la partie aérienne sans graines de *A. mexicana*.

La matière première bien conservée, préparée, selon la méthode du thérapeute présente en générale une bonne activité et une relative non toxicité aussi bien chez les patients (étude ethnomédicale) que dans nos études expérimentales aux doses thérapeutiques. Les effets toxiques cardiaques observés chez deux patients pourraient s'expliquer par la dose élevée, la présence de certains constituants dans nos extraits comme les hétérosides cardiotoniques, les alcaloïdes, et surtout le fait que le thérapeute n'enlevait pas la graine au moment de la préparation de la plante. Par ailleurs les résultats de la DL50 montrent que les extraits ne sont pratiquement pas toxiques ce qui pourrait être dû à leur richesse en d'autres constituants comme les tanins, les sucres qui peuvent diminuer l'absorption digestive des alcaloïdes (la propriété des tanins d'insolubiliser les alcaloïdes).

Pour dire que une plante peut contenir une substance toxique et son antidote.



CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS

CONCLUSION

Face aux problèmes économiques que pose le paludisme aux pays pauvres et africains en particulier,

Face aux problèmes de pharmacorésistance rencontrés dans le traitement de cette maladie,

Le développement de la recherche sur les plantes antipaludiques reste un espoir pour atténuer le coût du traitement et aussi permettre la découverte d'autres molécules naturelles.

Au cours de notre présente étude nous avons apporté notre modeste contribution pour une meilleure connaissance sur les plantes à activité antipaludique.

C'est ainsi qu'à Missidougou, nous avons évalué l'évolution parasitologique et clinique chez 81 patients atteints de paludisme pendant 28 jours et traités localement par le thérapeute et chef du village avec un décocté de la partie aérienne de *A. mexicana*.

Nous avons obtenu 72,5% de réponse clinique adéquate au J14 (dont 86% ont fait une RCA au J28) avec une dose totale moyenne de 930,6 mg en masse d'extrait par kg de poids corporel répartis en 2 prises par jour pendant 7jours. Ces résultats sont encore plus intéressants avec les patients plus âgés avec une réponse clinique adéquate au J14 de 89% pour ceux d'âge supérieur à 5 ans, et moins bons pour les enfants de moins de 1an (55% de RCA). Avec les doses supérieures à 1430 mg/kg nous avons obtenu 79% de RCA sans toute fois enregistrer d'échec thérapeutique précoce.

D'autre part nous n'avons pas observé de modification montrant une quelconque toxicité rénale, hépatique ou hématologique. Il n'est pas certain que les effets adverses observés (toux, diarrhée) étaient dans tous les cas liés au traitement à base de cette plante. Mais des modifications significatives ont été observées dans l'électrocardiogramme de 2 patients du groupe C qui ont pu se prêter a cet examen. Ils ont eu un allongement de l'intervalle QTc au J3 qui est revenu à la normale au J7 et au J14 (signifiant un risque de tachycardie ventriculaire) et accompagné d'un aplatissement des ondes T de même que l'apparition des ondes U. Cet effet pourrait être dû au fait que le thérapeute n'avait pas l'habitude d'enlever les graines au moment de la préparation du décocté.

La seconde phase de notre travaille réalisée au laboratoire du Département de Médecine Traditionnelle nous a permis de rechercher les différents groupes chimiques sur 3 échantillons récoltés dans 3 localités du Mali (Missidougou, Blendio

et Mountougoula). Il n'y a pas de différence significative entre les différents échantillons du point de vue composition chimique, l'échantillon de Mountougoula était plus riche en alcaloïdes totaux que les autres. Le dosage de certains constituants (éléments minéraux, sucres) dans différents échantillons et extraits aqueux a montré un apport considérable de *A. mexicana* en certains sucres et oligo-éléments comme le glucose, le galactose, le fer, le magnésium dont le rôle est incontestablement important chez les malades atteints de paludisme.

Nous avons également recherché les agents contaminant nos extraits et nous avons trouvé qu'une extraction à basse température (macération, digestion voir infusion) et/ou une mauvaise conservation des extraits pouvaient laisser proliférer certains germes (comme les bactéries du genre *Nocardia* et *Agrobacter*) contaminant des végétaux mais pouvant être dangereux pour la santé humaine.

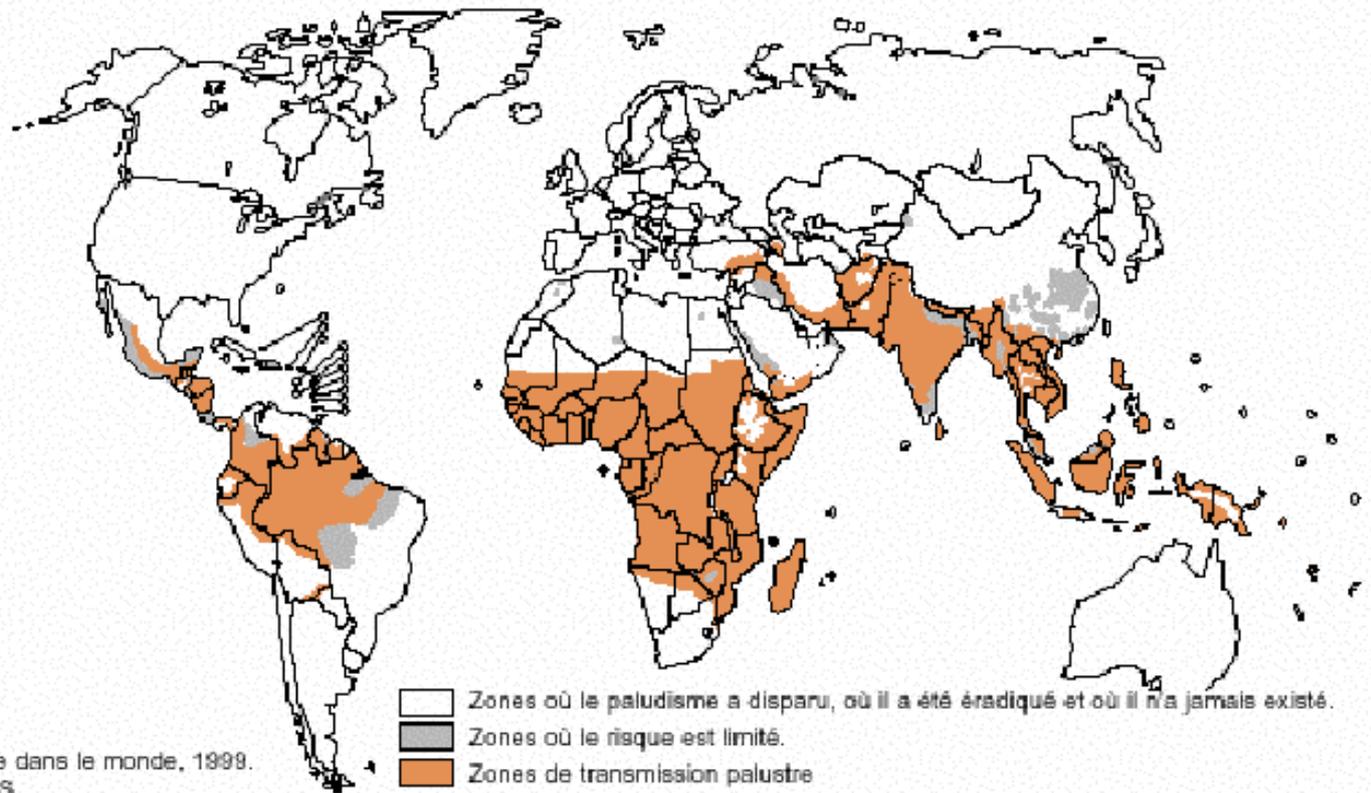
A. mexicana avec une IC50 de 1µg/ml pour l'extrait méthanolique (Sangaré, 2003) et une IC50 de 17, 687µg/ml pour le décocté aqueux est vingt six (26) plus actif que le Malarial et onze (11) fois plus actif *in vitro* que le constituant le actifs du Malarial (*S. oleracea*) sur la souche *P. falciparum* chloroquine résistante. Son activité antiradicalaire est également un atout pour cette plante.

Jusqu'à 7,73g de poudre de la partie aérienne (sans la graine) par Kg de poids corporel, on peut dire que la plante ne présente relativement pas de toxicité aiguë.

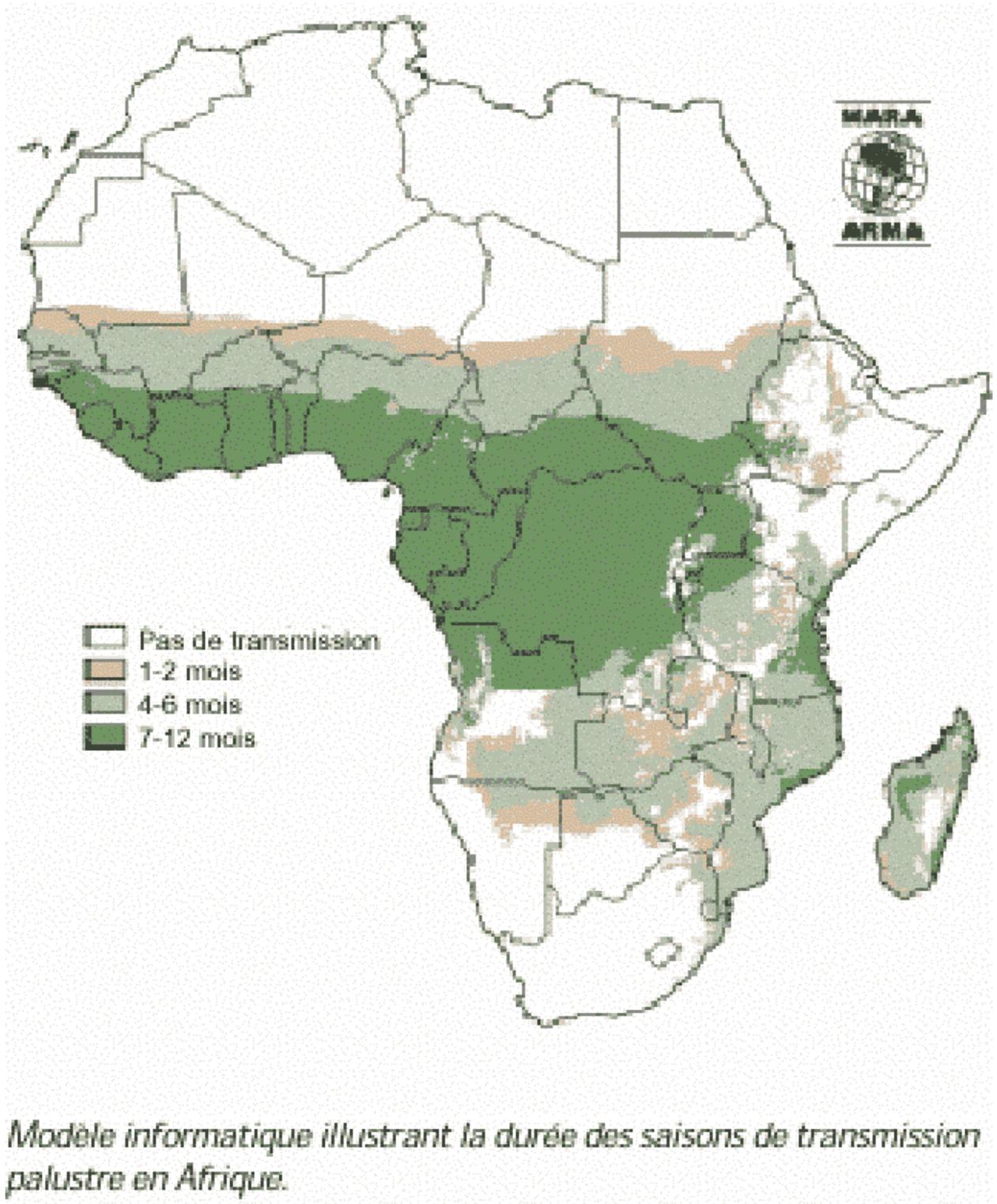
RECOMMANDATIONS

- ✓ **Aux décideurs du DMT :** la poursuite des investigations sur les plantes antipaludiques en générale et *A. mexicana* en particulier afin d'aboutir à un médicament traditionnel amélioré plus efficace que le Malarial.
- ✓ **Aux autorités politiques :** d'investir encore plus dans la recherche en générale et sur les plantes médicinales qui regorgent de potentialités.
- ✓ **Aux thérapeutes et toutes personnes qui utilisent cette plante:**
 - D'utiliser les parties aériennes de cette plante sans la graine, bien séchées et bien conservées.
 - Il est préférable d'utiliser ce traitement chez les enfants de plus de 5ans.

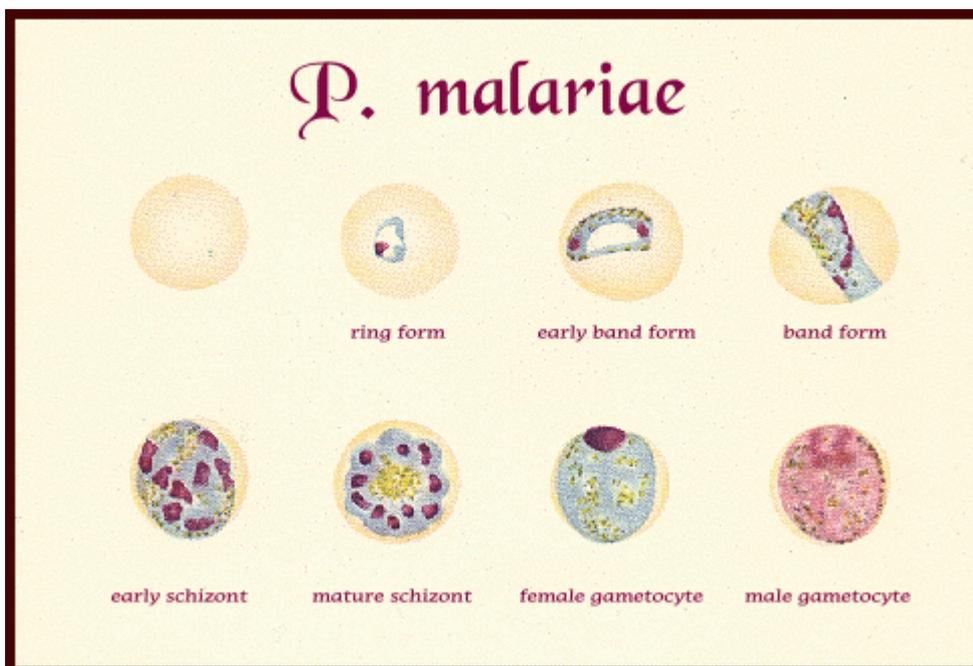
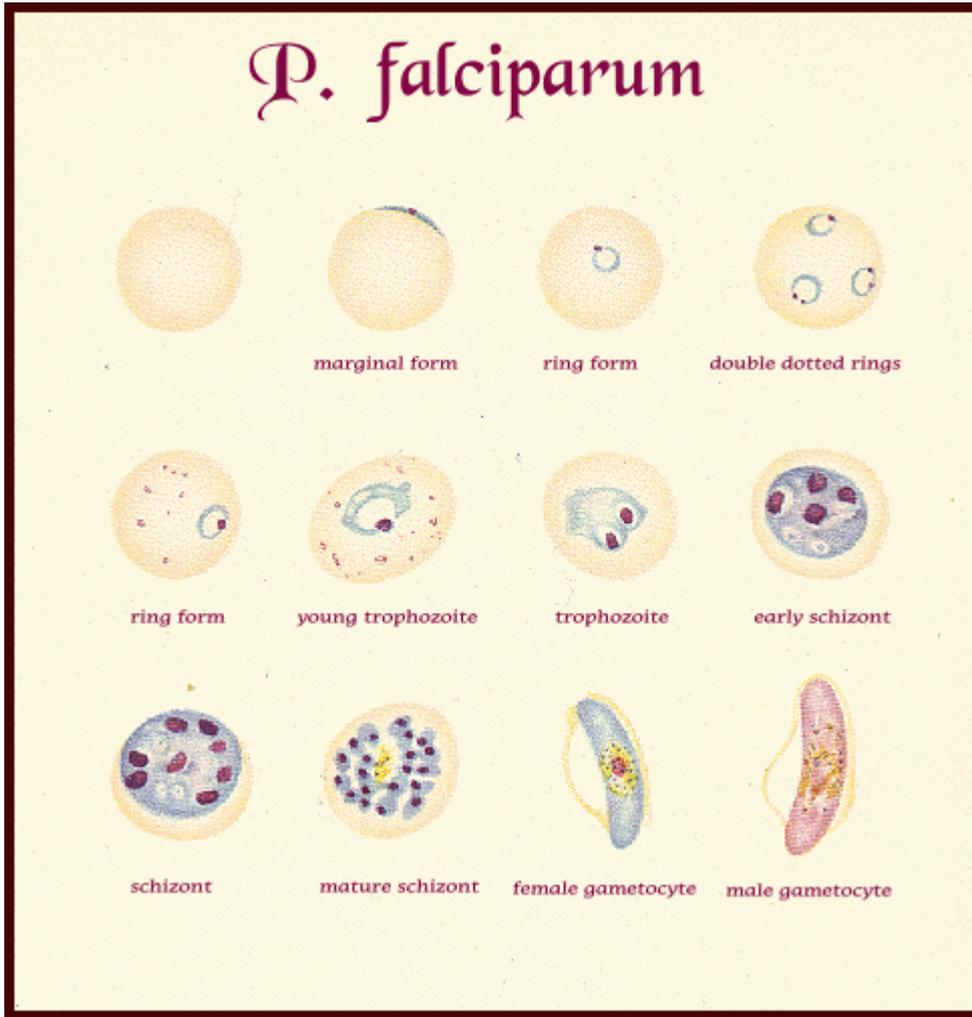
ANNEXE 1- la géorepartition du paludisme dans le monde et en Afrique.



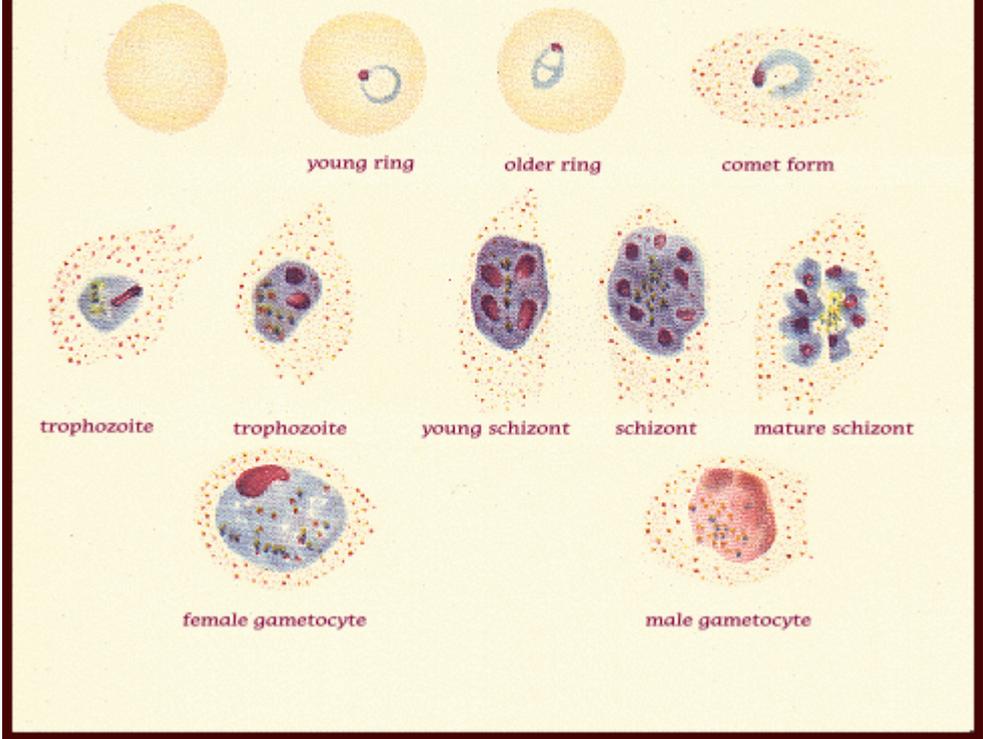
Ci-dessus: Le paludisme dans le monde. Le paludisme est endémique dans les régions tropicales et subtropicales.



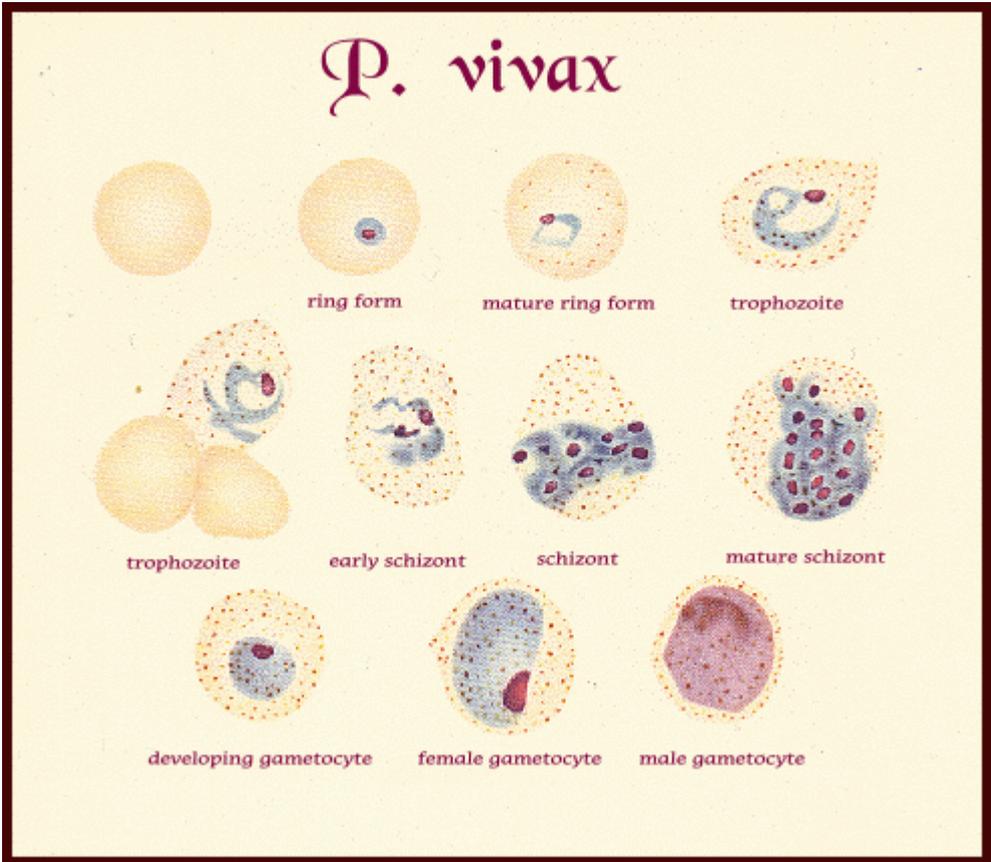
ANNEXE 2 les différentes espèces plasmodiales pathogènes pour l'homme



P. ovale



P. vivax



Annexe 3
CAHIER D'OBSERVATION MEDICALE
Essai Missidougou 2004

Date d'inclusion : ____ - ____ - ____	Date de termination : ____ - ____ - ____
N° d'inclusion :	Résultat final :

Nom du patient: Prénom :

Nom du Chef de Famille :

Date de naissance : ____ - ____ - ____ (jour/mois/année)

Age en années :

Sexe : Masculin Féminin

Si femme d'âge reproductif – date de dernière menstruation :

Si > 28 jours, faire teste de grossesse. Résultat =

Température : ____ . ____ °C Numéro de code des lames : ____

Parasitémie par microlitre : _____ (doit être ≥2000, mais <250 000)

Espèce : _____ (doit être *P. falciparum* pure)

Consentement écrit obtenu ? OUI NON (doit être OUI)

Diagnostic du tradipraticien :

Traitement prescrit par le tradipraticien :

Adresse physique (en détail), village :

Distance du domicile au centre:

Résidence permanente durant les 24 derniers mois :

Séjour dans d'autres régions dans les 3 derniers mois :

ANAMNESE (J0)

Motif de consultation :

Date des premiers symptômes : ____ - ____ - ____

Symptômes dans les dernières 24 heures : *Remplir Colonne pour J0 du tableau de suivi*

	Symptôme	Présent ou absent, détails
Système resp.	Toux	
	Dyspnée	
	Douleur de poitrine	
ORL	Douleur d'une oreille	
	Mal à la gorge	
	Rhinorrhée	
Abdomen	Maux de ventre	
	diarrhée	
Système urinaire	dysurie	
	Hématurie / hémoglobinurie	
	fréquence urinaire	
Autres		

Antécédents médicaux :

Maladie(s) nécessitant un traitement au long cours :

Autres :

Nombre d'attaques de paludisme dans la vie :

Date de dernier état fébrile traité comme paludisme:

Début :

Fin :

Médicaments : Prise de médicaments ou de plantes médicinales, dans le dernier mois, y compris à titre préventif :

Médicament ou plante	Date de dernière prise	Dose par jour	Durée de traitement	Prescripteur	<u>Indication ?</u>	<u>Amélioration ?</u>

Allergie médicamenteuse ?

Médicament :

Nature de l'allergie:

EXAMEN PHYSIQUE INITIAL (J0)

fait

par

.....

Signes généraux :

Poids : ____ . ____ kg

Examen physique:

Appareil		OUI	NON
Tête et cou :	Ictère ?		
	Anémie ?		
	Adénopathie ?		
	Rigidité du Cou ?		
Peau :	Œdème ?		
	Eruption ?		
	Signes de rougeole ?		
Système respiratoire :	Fréquence respiratoire :	____ par min	Profonde / normale
	Signes de détresse :		
	Percussion :		

	Auscultation :		
Système cardiovasculaire :	Fréquence cardiaque	___ par min	régulier / irrégulier
	Tension		
	Auscultation :		
Abdomen :	Douleur à la palpation ?		
	Défense ?		
	Masse ?		
	Hépatomégalie ?		
	Splénomégalie ?		
ORL	Gorge Inflammée?		
	Amygdales aggrandies ?		
Tympan	Couleur	Droit :	Gauche :
	Luminosité		
	Relief		
	Pus ?		

Examen urinaire :

Glucose	Bilirubine	Corps cétoniques	Densité	Hématies	pH	Protéines	Urobilinogen	Nitrite	Leucocytes

Autres signes observés:

Conclusion sur l'état clinique:

- Accès simple :
- Paludisme avec signes de danger :
- Autre diagnostic :

***Le malade est-il en état de recevoir son traitement en ambulatoire ? OUI
NON***

Pour Inclusion :

OUI

NON

Si exclu, raison :

TRAITEMENT (J0)

Dose donnée de AM :

Plante fraîche ou sèche ?

Mode de préparation :

Heure à laquelle le malade a reçu les médicaments : __ :__

Réaction du patient :

Le malade a-t-il vomi avant 30 minutes ? OUI NON

*Si oui, à quelle heure a-t-on donné la deuxième dose de médicaments ?
__ :__*

Le malade a-t-il vomi avant 30 minutes ? OUI NON

(Si oui, exclure le malade et prendre en charge avec injection intramusculaire)

ENREGISTREMENT DES EFFETS ADVERSES

Date de début de l'effet secondaire: _____

Date de rémission de cet effet: _____

Sévérité de l'effet secondaire:

- Léger : tolérable, malade ambulant;
- modéré : désagréable, mais malade toujours ambulant
- sévère : empêche le malade de fonctionner normalement
- fatal

Description systématique d'effet(s) secondaires :

Cause (selon médecin et tradipraticien):

- Certainement pas lié au traitement
- Lien peu probable au traitement
- Possiblement lié au traitement
- Probablement causé par le traitement
- Très probablement causé par le traitement

Le malade a-t-il dû arrêter l'essai à cause de cet effet adverse ? OUI NON

SUIVI CLINIQUE

Jour:	0	1	2	3		7		14		28
Date										
Fait par :										
Signes de danger ou de malaria grave										
Ne peut pas boire										
Vomit tout										
Convulsions										
Trouble de conscience, léthargie										
Ne peut pas s'asseoir / se tenir debout										
Oligurie ou anurie										
Urine noire										
Hémorragies spontanées										
Symptômes dans les 24 heures précédentes										
Fièvre (non chiffrée par le patient)										
Sueurs										
Frissons										
Céphalées										
Arthralgie										
Faiblesse										
Fatigue										
Vertige										
Appétit (↓, N, ↑)										
Nausée										
Vomissements										
Sommeil (↓, N, ↑)										
Autres (détailler)										
Effets secondaires:										
Examen										
Température										
Respirations										
Auscultation des poumons										
Traitement donné										
Heure										
Vomissement dans les 30 minutes										
Prise de AM hier										

Autre traitement pris										
Raisons pour exclusion ou perte au suivi										

RESULTATS D'ANALYSES DE LABORATOIRE

JOUR	0	1	2	3		7		14		28
Date										
No de code										
Espèce (technicien A)		X	X							
Parasitémie (technicien A)										
Initiales (A)										
Espèce (technicien B)		X	X							
Parasitémie (technicien B)										
Initiales (B)										
Parasitémie (technicien C)										
Initiales (C)										
Parasitémie moyenne géométrique –										
BIOCHIMIE										
Glucose (mmol/l)		X	X	X	X	X	X	X	X	X
ASAT (ui/l)		X	X					X		X
ALAT (ui/l)		X	X					X		X
Sodium (mmol/l)		X	X					X		X
Potassium (mmol/l)		X	X					X		X
Créatinine (mg/l)		X	X					X		X
HEMATOLOGIE										
Hématocrite (%)		X	X							
Plaquettes – x10 ⁹ /l		X	X							
Leucocytes – x10 ⁹ /l		X	X							

INTERPRETATION DE L'ECG

Interprété par :

Chaque ECG sera affiché d'un numéro de code et sera lu indépendamment par deux chercheurs. En cas de différences d'opinion, on passera l'ECG à un troisième expert pour leur interprétation.

Numéro de code de l'ECG				
Date				
Jour				
Intervalle RR (s)				
FC (par min)				
Rythme				
Axe				
Espace PR (ms)				
Durée du QRS (ms)				
Intervalle QT (s) en dérivation II				
QTc (s) (QT / $3\sqrt{RR}$)				
Ondes P				
Complexes QRS				
ST				
Ondes T				
Ondes U				
Conclusion				

Fiche de Dosage

Nom du patient :

Heure	Dose	0	1	2	3	4	5	6	7
Matin	Verre(s)								
	ml								
Midi	Verre(s)								
	ml								
Soir	Verre(s)								
	ml								
Nuit	Verre(s)								
	ml								
Dose totale par jour (ml)									

Le patient a-t-il continué le traitement après le J7 ? OUI / NON

Si oui, écrire ci-dessous la dose reçue après le J7, et incorporer ceci dans le calcul de la dose totale reçue au cours du traitement.

Dose totale reçue pour le cours du traitement (ml) :

Dose totale par poids du patient (ml/kg) :

Annexe 4 : : Feuille d'information pour les patients inclus à l'inclusion.

Essai Missidougou 2004 : Feuille d'information pour les patients

But de cet essai

Les chercheurs du DMT ont sélectionné une plante et ont montré à travers des recherches au laboratoire que les extraits de la plante tuent les parasites du paludisme. La plante est couramment employée par la population locale. Maintenant nous souhaitons suivre le progrès de patients qui choisissent de prendre cette plante comme traitement antipaludique, pour déterminer son efficacité et son innocuité.

Bénéfices de votre participation à l'étude

Vous bénéficierez d'un suivi plus proche, pour 28 jours. J0-J3: vous recevrez du tradipraticien les traitements habituels et serez suivi quotidiennement. J7-J28 : vous serez suivi une fois par semaine pour savoir l'état général de votre santé, faire un prélèvement de sang et un électrocardiogramme (une mesure totalement indolore). Si le traitement échoue, ou si votre maladie empire, vous pouvez revenir à tout moment. On vous offrira un traitement alternatif. Tous ces suivis et tous les traitements par rapport à cette étude seront gratuits. Vous aurez le droit de consulter les données médicales qui vous concernent auprès des médecins impliqués dans l'étude. Cependant, la participation ne donne droit à aucune indemnité financière.

Risques et inconvénients de votre participation à l'étude

Comme nous l'avons expliqué ci-dessus, vous devrez revenir au centre de santé plusieurs fois, pour votre suivi, des prélèvements de sang et des électrocardiogrammes. Si vous ne pouvez pas revenir, nous ne pouvons pas vous accepter dans cette étude, mais vous serez toutefois soignés normalement par le tradipraticien.

Le consentement écrit des patients signifie qu'ils donnent autorisation aux médecins et scientifiques d'analyser leurs données médicales, ceci dans le respect total de la confidentialité. Ces données ne seront consultées que par les personnes autorisées qui gèrent cet essai clinique.

Un effet secondaire rattaché à la prise du traitement pourrait être enregistré. Nous vous suivrons de près, avec des examens cliniques et des prélèvements de sang réguliers pour détecter d'éventuels effets adverses. Vous êtes libres d'abandonner l'essai à tout moment sans explication; toutefois, si vous décidez d'arrêter l'essai à cause d'un effet adverse, nous vous demandons de nous en avertir, et de nous détailler quel(s) effet(s) adverse(s) vous avez vécu, afin d'aider les autres malades.

Alternatives

Ceci est une étude de recherche. Vous n'êtes pas du tout obligé à y participer. Si vous choisissez de ne pas y participer, le tradipraticien vous traitera comme il le ferait normalement. Votre décision n'affectera pas vos droits, votre santé ou votre prise en charge.

Pour toute information complémentaire, avis médical, ou traitement alternatif, prière de contacter le tradipraticien, ou l'investigateur.

Personnes responsables :

Dr Drissa Diallo (DMT, Bamako)

Dr Jacques Falquet (Antenna, Genève, Suisse)

Dr Merlin Willcox (RITAM, Angleterre)

Feuille de consentement

Je soussigné,, ai pris connaissance de l'explication destinée aux patients prenant part à l'essai clinique sur le paludisme.

J'ai pu parlé librement, sans contraintes avec le tradipraticien et le médecin responsable.

J'ai reçu des compléments d'information concernant l'essai en question. On veut prouver à travers cet essai clinique l'efficacité et l'innocuité du traitement traditionnel « Jéni-guéni ». On a besoin de cet essai clinique pour prouver cela.

J'accepte librement de participer à l'essai clinique, et accepte également de me soumettre au traitement. J'ai reçu les explications nécessaires concernant le déroulement de l'essai clinique, la durée du traitement, le suivi clinique et prélèvements de sang.

Malgré mon consentement de participer à l'essai clinique, je peux arrêter de mon propre gré l'essai clinique sur ma personne, ceci durant le traitement ou le suivi, sans changer le traitement que je recevrai.. Si je veux interrompre ma participation à l'étude, je m'engage à en informer le tradipraticien.

Le

Nom et prénom(s)

Signature ou marque :

(signature de parent ou tuteur pour les enfants de moins de 16 ans)

ANNEXE 5 : Manuel des Opérations

J0 - SCREENING INITIAL

1. Prendre patients avec température $\geq 37,5$ °C, ou symptômes de fièvre, que le tradipraticien va traiter avec la plante (en priorité enfants < 5 ans). Faire goutte épaisse et frottis mince. Numéroter les lames selon le registre du laboratoire.
2. Exclure immédiatement si :
 - a. parasitémie < 2000 parasites par microlitre
 - b. espèce autre que *P. falciparum*, ou infection mixte
3. Expliquer l'étude au patient, et demander leur consentement pour participer. Leur demander de signer la feuille de consentement (consentement verbal avec empreinte de doigt pour patients illettrés, empreinte de parent pour les mineurs).
4. Si le patient donne son consentement, faire :
 - a. anamnèse (p1-2 et 5),
 - b. examen clinique (p2-3),
 - c. ECG (pas enfants < 5 ans)
 - d. Bilan urinaire,
 - e. prélèvement de sang (5ml): prendre
 - i. une goutte pour faire la glycémie immédiatement,
 - ii. une goutte sur le papier filtre (pour éventuel PCR en cas de rechute entre J14 et J28)
 - iii. une goutte pour faire une goutte épaisse et un frottis mince supplémentaire (numéroter selon le numéro d'inclusion),
 - iv. 4ml dans le tube à hémolyse, pour analyses biochimiques. Centrifuger celui-ci aussitôt, puis enlever le serum avec une pipette, et mettre dans un nouveau tube.
 - v. 1ml dans le tube avec EDTA (pour examen hématologique).
5. Si on ne trouve aucun critère d'exclusion, inclure le patient dans l'étude. Donner un numéro d'inclusion : par exemple 01 pour le premier patient, 02 pour le deuxième, et ainsi de suite. Numéroter toutes les analyses avec le numéro d'inclusion suivi de la lettre « A ». Noter les échantillons à transporter dans le registre des échantillons.
6. Observer et noter le traitement. Dire au patient de revenir s'il vomit avant 30 minutes. Donner les doses suivantes pour prendre dans les 24 heures.
7. Demander au patient de revenir le lendemain (les patients qui habitent très loin – prévoir arrangement).Résumé des critères d'inclusion et d'exclusion

Critères d'inclusion :

i) La maladie :

- Paludisme symptomatique à *Plasmodium falciparum* pur (les infections mixtes seront exclues) confirmé par recherche d'hématozoaires sur frottis mince et goutte épaisse, avec une parasitémie $\geq 2000/\mu\text{l}$ de sang
- Température axillaire $\geq 37,5$ °C

- Absence de sévère malnutrition,
- Patient ne présentant pas d'emblée des signes de paludisme compliqué ou grave (voir annexe 3).

ii) Les malades :

- Patients des deux sexes de tous les ages,
- Patients adultes ayant donné leur consentement éclairé par écrit, ou mineurs ayant reçu le consentement des parents ou du tuteur (consentement verbal avec empreinte de doigt pour patients illétrés).
- Patients en qui on a confiance par rapport à l'observance du traitement ainsi que pour le suivi.

Critères d'exclusion

i)- La maladie :

- Paludisme compliqué ou grave (voir annexe 3),
- Porteurs sains de parasites ou paludisme asymptomatique,
- Présence de certaines pathologies associées telles que des infections microbiennes.
- Diagnostic clinique d'une autre cause de l'état fébrile (par exemple, pneumonie, infection urinaire).

ii) Les malades :

- Femmes enceintes,
- Patients n'ayant pas donné leur consentement.

iii) Traitements :

- Pathologies nécessitant la prise de médicament(s) qui pourraient interférer avec le schéma thérapeutique de l'étude, par exemple, tétracycline, doxycycline, minocycline, clindamycine, érythromycine, antihistaminiques tricycliques; antidépresseurs tricycliques, inhibiteurs des canaux calciques.
- Prise dans la semaine précédente de : sulphadoxine-pyriméthamine ; mefloquine ; amodiaquine ; halofantrine ; quinine ; atovaquone-proguanil ; pyronaridine ; ou n'importe quel dérivé d'artémisinine.

SUIVI – J1

Article I.

Article II. Interrogatoire du patient :

Article III. 1. Remplir tableau de suivi (p5).

2. Si il y a signes de danger ou de paludisme sévère (voir annexe 2), répéter la goutte épaisse et le frottis mince.

Numéroter avec le numéro d'inclusion puis la lettre « B ».

S'il y a parasitémie en présence de signes de danger – enregistrer Echec thérapeutique précoce. Donner traitement alternatif.

3. Si le patient a eu un effet secondaire, remplir la fiche sur les effets adverses (p4, voir aussi annexe 1).

Traitement

MAINTENANT OBSERVEZ LA DEUXIEME DOSE DE TRAITEMENT.

Enregistrer l'heure à laquelle le malade a reçu les médicaments.

Si le malade vomit avant 30 minutes, répéter la dose.

Si le patient vomit une deuxième fois avant 30 minutes, l'exclure et le prendre en charge avec injection intramusculaire. Rapporter la prise en charge dans le tableau de suivi.

N'OUBLIEZ PAS DE LEUR DEMANDER DE REVENIR A LA MEME HEURE DEMAIN.

SUIVI – J2

Interrogatoire du patient : Remplir tableau de suivi (p5).

Examen parasitologique : Répéter frottis mince et goutte épaisse.

Numéroter avec le numéro d'inclusion puis la lettre « B » (ou si on a déjà utilisé cette lettre, la lettre suivante de l'alphabète).

Noter le numéro de code des lames sur la fiche d'analyses (p6).

Enregistrer échec thérapeutique précoce, et donner traitement alternatif, si :

(a) Il y a parasitémie en présence de signes de danger ou de paludisme grave (annexe 3)

(b) la température est de $\geq 37.5^{\circ}\text{C}$, et la parasitémie est plus élevée qu'au J0.

Traitement : MAINTENANT OBSERVEZ LA DEUXIEME DOSE DE TRAITEMENT.

Enregistrer l'heure à laquelle le malade a reçu les médicaments.

Si le malade vomit avant 30 minutes, l'exclure et le prendre en charge avec injection intramusculaire. Rapporter la prise en charge dans le tableau de suivi.

N'OUBLIEZ PAS DE LEUR DEMANDER DE REVENIR A LA MEME HEURE DEMAIN.

SUIVI – J3

Interrogatoire du patient :

1. Remplir tableau de suivi (p5).
2. Si le patient a eu un effet secondaire, remplir la fiche sur les effets adverses (p4).

Bilan parasitologique et paraclinique

1. Prélèvement de sang (5ml) :
 - i. une goutte pour faire la glycémie immédiatement,
 - ii. une goutte pour faire une goutte épaisse et un frottis mince
 - iii. 5ml dans le tube à hémolyse, pour analyses biochimiques. Centrifuger celui-ci aussitôt, puis enlever le serum avec une pipette de 1ml, et mettre dans un nouveau tube.
 - iv. 1ml dans le tube avec EDTA (pour examen hématologique).
 - v. Hématocrite

2. **ECG** : Répéter ECG une heure après la prise de médicament.
Numéroter avec le numéro d'inclusion puis la lettre « C » .

Numéroter avec le numéro d'inclusion puis la lettre « C » (ou si on a déjà utilisé cette lettre, la lettre suivante de l'alphabet).

Enregistrer échec thérapeutique précoce, et donner traitement alternatif, si :

(a) Il y a parasitémie en présence de signes de danger (voir annexe 3).

(b) Il y a parasitémie, et la température est $\geq 37.5^{\circ}\text{C}$

N'oubliez pas de leur demander de revenir à la même heure au jour 7 (dans 4 jours), ou plus tôt s'il y a des problèmes.

SUIVI – J7

Interrogatoire du patient :

1. Remplir tableau de suivi (p5).
2. Si le patient a eu un effet secondaire, remplir la fiche sur les effets adverses (p4).

Bilan parasitologique et paraclinique

1. Prélèvement de sang (5ml) :

- i. une goutte pour faire une goutte épaisse et un frottis mince
- ii. 5ml dans le tube à hémolyse, pour analyses biochimiques. Centrifuger celui-ci aussitôt (p5), puis enlever le serum avec une pipette de 1ml, et mettre dans un nouveau tube.
- iii. 1ml dans le tube avec EDTA (pour examen hématologique).
- iv. Hématocrite

2. ECG – surtout si l' ECG du J3 avait des anomalies qui n'étaient pas présentes au J0.

Numéroter avec le numéro d'inclusion puis la lettre « D » (ou si on a déjà utilisé cette lettre, la lettre suivante de l'alphabet).

Noter le numéro de code des lames sur la fiche d'analyses (p8).

Enregistrer échec thérapeutique tardif et donner traitement alternatif, s'il y a encore parasitémie, et :

a) La température est de $\geq 37.5^{\circ}\text{C}$, ou

b) Il y a signes de danger ou paludisme grave.

N'oubliez pas de leur demander de revenir à la même heure au jour 14 (dans une semaine), ou plus tôt s'il y a des problèmes.

VISITE INATTENDUE – J4 A J13

Interrogatoire du patient :

1. **Remplir tableau de suivi (p5).**
2. Si le patient a eu un effet secondaire, remplir la fiche sur les effets adverses (p4).

Bilan paraclinique

Répéter frottis mince et goutte épaisse.

Numéroter avec le numéro d'inclusion puis la lettre « E » (ou si on a déjà utilisé cette lettre, la lettre suivante de l'alphabète).

Noter le numéro de code des lames sur la fiche d'analyses (p8).

Enregistrer échec thérapeutique tardif et donner traitement alternatif, si il y a encore parasitémie, et :

a) La température est de $\geq 37.5^{\circ}\text{C}$, ou

b) Il y a signes de danger ou paludisme grave (annexe 3).

N'oubliez pas de leur demander de revenir à la même heure au JOUR 7 et 14 (ou plus tôt s'il y a toujours des problèmes).

SUIVI – J14

Interrogatoire du patient :

1. Remplir tableau de suivi (p5).

2. Si le patient a eu un effet secondaire, remplir la fiche sur les effets adverses (p4).

Bilan paraclinique

1. Prélèvement de 1ml de sang pour analyses hématologiques dans tube EDTA.
2. 4ml de sang pour bilan biochimique (surtout les patients qui ont pris le traitement pour 7 jours, et ceux qui avaient des anomalies dans leurs analyses au J7).
3. hémocrite
4. Utiliser une goutte pour faire un frottis mince et une goutte épaisse. Noter le numéro de code des lames sur la fiche d'analyses (p8).

Enregistrer échec thérapeutique tardif et donner traitement alternatif, s'il y a encore parasitémie, et :

c) La température est de $\geq 37.5^{\circ}\text{C}$, ou

d) Il y a signes de danger ou paludisme grave.

Numéroter avec le numéro d'inclusion puis la lettre « E » (ou si on a déjà utilisé cette lettre, la lettre suivante de l'alphabète).

Noter le numéro de code des lames sur la fiche d'analyses (p8).

N'oubliez pas de leur demander de revenir à la même heure au JOUR 28 (DANS DEUX SEMAINES), OU PLUS TÔT S'IL Y A DES PROBLÈMES.

VISITE INATTENDUE – J15 A J27

Interrogatoire du patient :

1. Remplir tableau de suivi (p5).

2. Si le patient a eu un effet secondaire, remplir la fiche sur les effets adverses (p4).

Bilan paraclinique

Répéter frottis mince et goutte épaisse.

Numéroter avec le numéro d'inclusion puis la lettre « F » (ou si on a déjà utilisé cette lettre, la lettre suivante de l'alphabète).

Noter le numéro de code des lames sur la fiche d'analyses (p8).

S'il y a parasitémie, prendre prélèvement de sang sur un morceau de papier filtre pour PCR.

Si le patient a des symptômes avec la parasitémie, donner traitement alternatif.

N'oubliez pas de leur demander de revenir au J28, ou plus tôt s'il y a des problèmes.

SUIVI – J28

Interrogatoire du patient :

1. Remplir tableau de suivi (p5).

2. Si le patient a eu un effet secondaire, remplir la fiche sur les effets adverses (p4).

Bilan parasitologique et paraclinique

Prélèvement capillaire pour goutte épaisse, frottis mince, et hématoците.

Prélèvement veineux seulement s'il y avait des anomalies au J14.

Utiliser une goutte pour faire frottis mince et goutte épaisse.

Numéroter avec le numéro d'inclusion puis la lettre « F » (ou si on a déjà utilisé cette lettre, la lettre suivante de l'alphabète).

Noter le numéro de code des lames sur la fiche d'analyses (p8).

S'il y a parasitémie, prendre prélèvement de sang sur papier filtre pour PCR.

Si le patient a des symptômes avec la parasitémie, donner traitement alternatif.

N'oubliez pas de les remercier pour leur participation à l'essai.

Annexe6 : Signes de danger et de paludisme grave

Signes de Danger (OMS 1996):

1. Ne peut pas boire
2. Vomit TOUT (après chaque fois qu'il boit, ne retient rien)
3. Convulsions récentes (deux ou plus en 24h)
4. Perte de conscience ou léthargie
5. Ne peut pas s'asseoir ou se tenir debout

Classification du paludisme grave : (OMS 2000)

1. Risque immédiat de mort :
 - a. Ne peut pas s'asseoir ou se tenir debout
 - i. Mais pleinement conscient
 - ii. Avec léthargie ou trouble de conscience
 - iii. En coma
 - b. Détresse respiratoire (évaluer l'enfant quand il ne pleure pas):
 - i. Légère : récession intercostale
 - ii. Grave : récession marquée des os de la poitrine, ou respiration profonde (acidotique)
2. Risque de détérioration clinique :
 - a. Hémoglobine <5g/dL, ou hématocrite <15%
 - b. Deux convulsions ou plus en 24h
3. Vomissement persistant
4. Autres manifestations définissant le paludisme grave (en absence d'une autre cause confirmée):
 - a. Hypoglycémie (<2.2mmol/L)
 - b. Ictère
 - c. Hémoglobinurie (urine noire)
 - d. Hémorragies anormales (ne pas compter une simple épistaxie chez un patient qui se porte bien).
 - e. Insuffisance rénale : oligurie (<12ml/kg par 24 heures) ou créatinine >265µmol/l, qui persiste après réhydratation.

Tout patient présentant un ou plus de ces signes sera exclu de l'essai, ou, s'il a déjà été inclus, est compté comme un échec thérapeutique, sera retiré de l'essai et est hospitalisé.

Annexe 7 : Enregistrement des effets adverses

Détermination de la cause :

1. Certainement pas lié au traitement
L'effet est clairement lié à d'autres facteurs, comme l'état clinique du patient, ou une autre intervention thérapeutique.
2. Lien peu probable au traitement
L'effet est probablement dû à d'autres facteurs, et ne correspond pas aux effets connus du traitement.
3. Possible lié au traitement
L'effet :
 - suit l'administration du médicament (enregistrer l'heure d'administration, et l'heure de l'apparence de l'effet)
 - *et / ou* correspond aux effets connus du traitement
 - *mais* aurait pu être causé par d'autres facteurs, comme l'état clinique du patient, ou une autre intervention thérapeutique.
4. Probablement causé par le traitement
L'effet :
 - suit l'administration du médicament (enregistrer l'heure d'administration, et l'heure de l'apparence de l'effet)
 - *et / ou* correspond aux effets connus du traitement
 - *et* ne pourrait pas être causé par d'autres facteurs, comme l'état clinique du patient, ou une autre intervention thérapeutique.
5. Très probablement causé par le traitement
L'effet :
 - suit l'administration du médicament (enregistrer l'heure d'administration, et l'heure de l'apparence de l'effet)
 - *et / ou* correspond aux effets connus du traitement
 - *et* ne pourrait pas être causé par d'autres facteurs, comme l'état clinique du patient, ou une autre intervention thérapeutique
 - *et* suit immédiatement l'administration du médicament, ou s'améliore quand on arrête la prise du médicament.

Suivi des Effets Adverses

1. Continuer le suivi jusqu'à disparition de l'effet adverse
2. Investigation pour en déterminer la cause
3. Enregistrer en détail l'effet adverse et son évolution

Notification des effets adverses sévères

Tout effet adverse sévère doit être rapporté dans les 24 heures au moniteur clinique et au coordonnateur du projet, même si on considère que l'effet n'est pas lié au traitement.

On doit cependant continuer à respecter l'anonymat du patient.

Annexe 8: Protocole Pour Comptage de la Parasitémie

1. Commencer en haut à gauche de la goutte épaisse, et choisir une partie propre et bien colorée de la goutte épaisse.
2. Compter tous les leucocytes dans le champ de vue, puis tous les parasites.
3. Continuer dans le prochain champ de vue. S'il y a beaucoup de saletés dans un champ de vue, continuer au prochain sans rien compter.
4. En général, compter le nombre de parasites par 200 leucocytes.
5. S'il y a beaucoup de parasites, s'arrêter quand on a compté 500 parasites.
6. S'il y a moins de 10 parasites pour 200 leucocytes, compter jusqu'à 500 leucocytes.
7. Avant de déclarer une goutte épaisse négative, examiner 100 champs de vue.
8. Calcul de la parasitémie :
(Nombre de parasites x 8000) / nombre de leucocytes
9. Accord entre les résultats A et B :
 $\frac{1}{2}A < B < 2A$
10. Calcul de la moyenne géométrique des résultats A et B :
 $\sqrt{(A^2 + B^2) / 2}$
11. S'il y a désaccord entre A et B, demander à une troisième personne de vérifier la parasitémie. Prendre alors la moyenne géométrique des deux résultats les plus proches.

Annexe 9 : Protocole pour énumération des globules blancs

1. Préparer dans un tube 190 microlitres de liquide de dilution pour globules blancs (utiliser pipette de 200 mcl ajustée au 190).
2. Bien mélanger le sang dans le tube EDTA (50mcl d'EDTA dans chaque tube). En prendre 10mcl (utiliser la pipette de 100 mcl ajustée à 009), et bien mélanger avec le liquide de dilution.
3. Mettre une lamelle sur la cellule Malassez. Remplir un des carreaux avec la dilution de globules blancs. Il faut recommencer si le liquide dépasse les marges, ou s'il y a une bulle d'air.
4. Reposer pendant au moins 2 minutes. Laisser la cellule dans une boîte de Petri contenant un coton mouillé, pour éviter l'évaporation du liquide.
5. Préparer le microscope : baisser le condensateur, et fermer le diaphragme. Mettre en place l'objectif x10.
6. Faire la mise au point. On doit voir les carreaux de la cellule, et de petits points noirs irréguliers, qui correspondent aux noyaux des globules blancs. En commençant en haut à gauche, compter tous les globules blancs dans tous les carrés. Pour ceux qui tombent sur les bords, compter seulement ceux sur le bord inférieur et sur le bord gauche.
7. Calculer le nombre de globules blancs par litre : multiplier le nombre compté par 0.02. Le nombre obtenu est le nombre de globules blancs x10⁹/l. Par exemple : si on a compté 400 leucocytes, le nombre par litre est de 8,0 x10⁹ (c'est à dire 8000 par microlitre).
8. Enregistrer dans le cahier des résultats l'heure de l'énumération, le nombre de globules blancs comptés, et le nombre x10⁹/l.
9. Si une deuxième personne vérifie le comptage, la différence entre les deux résultats ne doit pas dépasser 20% de la moyenne des deux résultats.

Annexe10: Protocole pour énumération des plaquettes

1. Faire l'énumération des plaquettes dès que possible après la prise de sang. On ne devrait pas attendre plus de 2 heures, si possible.
2. Préparer dans un tube la solution d'oxalate d'ammonium 1,0%. Filtrer cette solution tous les jours avant de commencer, avec la filtre sur la seringue. Utiliser la pipette de 200 mcl ajustée à 198, 5 fois, pour donner 990 microlitres dans chaque tube.
3. Bien mélanger le sang dans le tube EDTA. En prendre 10mcl (utiliser la pipette de 200 mcl ajustée à 009), et bien mélanger avec le liquide de dilution.
4. Mettre une lamelle sur la cellule Malassez. Remplir un des carreaux avec la dilution de plaquettes. Il faut recommencer si le liquide dépasse les marges, ou s'il y a une bulle d'air.
5. Reposer pendant au moins 20 minutes. Laisser la cellule dans une boîte de Petri contenant un coton mouillé, pour éviter l'évaporation du liquide.
6. Préparer le microscope : baisser le condensateur, et fermer le diaphragme. Mettre en place l'objectif x40.
7. Faire la mise au point. On doit voir les carreaux de la cellule, et de petits points transparents et brillants, qui correspondent aux plaquettes. Ne pas compter les saletés ou les globules rouges (ils devraient être éclatés par l'oxalate d'ammonium, mais il en reste parfois). Choisir une rangée de carrés, et compter toutes les plaquettes dans cette seule rangée. Pour celles qui tombent sur les bords, compter seulement celles sur le bord inférieur et sur le bord gauche.
8. Le nombre de plaquettes comptées est le nombre $\times 10^9/l$. La normale est de 150 – 400 $\times 10^9/l$. Cependant, on voit souvent une thrombopénie avec le paludisme. Il n'y a pas de risque d'hémorragie à moins que le niveau soit très bas (<20).
9. Enregistrer dans le cahier des résultats l'heure de l'énumération, le nombre de plaquettes comptées, et le nombre $\times 10^9/l$.
10. Si une deuxième personne vérifie le comptage, la différence entre les deux résultats ne doit pas dépasser 20% de la moyenne des deux résultats.

ANNEXE 11 : COMPOSITION DES REACTIFS

COMPOSITION DES REACTIFS

Réactif de MAYER

Iodure de potassium -----: 25 g
Chlorure mercurique -----: 6,77 g
Eau distillée qsp -----: 500ml

Réactif de DRAGENDORFF

Nitrate de bismuth pulvérisé : 20,80 g
Iode-----: 38,10 g
Iodure de sodium anhydre ---: 200 g
Eau distillée qsp -----: 1000 ml
Agiter pendant 30 mn.

Réactif de GUIGNARD (papier picrosodé)

Acide picrique -----: 1 g
Carbonate de Sodium -----: 10 g
Eau distillée -----: 100ml

Réactif de KEEDE

Acide dinitro 3 5 benzoïque ----: 1 g
Ethanol à 95° qsp-----: 100ml

Réactif de RAYMOND MARTHOUD

1-3dinitrobenzène -----: 1 g
Ethanol à 96° qsp-----: 100ml

Réactif de BALJET

Acide picrique -----: 1 g
Ethanol 50° qsp -----: 100

Réactif de FEHLING

Solution A: CuSO₄ -----: 35 g
Eau distillée -----: 500 ml
H₂SO₄-----: 5 ml

Laisser refroidir et compléter à un litre avec l'eau distillée.

Solution B: Sel de Seignette -----: 150 g
Eau distillée -----: 500 ml

Refroidir et ajouter 300 ml de lessive non carbonaté et compléter à un litre avec l'eau distillée.

NB: mélanger les deux solutions à volume égale au moment de l'emploi.

Réactif de GODIN

Solution A: Vanilline-----: 1 g

Ethanol à 95 %-----: 1000 ml

Solution B: Acide perchlorique-----: 3 ml

Eau distillée-----: 100 ml

Mélanger les deux solutions au moment de l'emploi ensuite pulvériser les plaques avec une solution de H₂SO₄ à 10%.

Réactif de DPPH

1-1 diphenyle 2 picril hydrazyle 2 mg par ml de méthanol

Formule nutritionnelle des souris (Traoré et coll., 1983)

Farine de maïs-----: 50kg

Pâte d'arachide-----: 20kg

Son de mil-----: 1705kg

Lait en poudre-----: 7kg

Poudre de poisson-----: 3kg

Feuilles de salade pilées--: 2kg

Sel de cuisine-----: 0,5kg

Eau qsp-----: 100kg

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **Adjanohoun E., Ahyi A.M., Ake Assi L., Floret J., Guinko S., Koumaré M., Raynal J. (1981).** Médecine traditionnelle et Pharmacopée contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Mali. ACCT éd, Paris, 59p.
2. **Association française des Enseignants de Parasitologie (AFEP) .** (1998). Parasitologie Mycologie. Format utile éd, Paris, 108-126p.
3. **Bocoum M., (2001),** contribution à l'étude phytochimique de *Spilanthes oleracea* Jacq (*Asteraceae*)Thèse de Pharmacie, Bamako, 65p.
4. **Boullard B. (2001).** Plantes médicinales du monde Réalités et croyances, ESTEM, Paris, 53p.
5. **Bouvenot G., Devulder B., Guillevin L., Queneau P., Schaeffer A., (1994) Abrégés** Pathologie médicale, Pneumologie, Néphrologie, Cancérologie, Nutrition édition Masson, Paris 506p.
6. **Bruneton. J. (1993),** Pharmacognosie Phytochimie des plantes médicinales, Technique et documentation –Lavoisier, éd, Paris 915p.
7. **Burkill H. M., (1997),** The useful plants of west tropical Africa Vol.4, 2e éd, Royal Botanic. Gardenskew P400-402.
8. **Coene I., (2004) Les antioxydants et l'alimentation,** Nutrition Information Center NICE, Symposium, 23 octobre 2004, Bruxelles, Belgique. Nutrinfo, N°4, 2004. www.nice-info.be
9. **Diallo D., Graz B., Falquet J., Traoré A. K., Giani S., Mounkoro P. P., Berthé A., Sacko M., Diakité C., (2005),** Malaria treatment in remote areas of Mali : use of modern and traditionel medcines, patient outcome, The royal society of Tropical Medicine and Hygiène, Elvevier Ltd, P7, 335.
10. **Doumbia, S. (1997).** Etude des plantes antipaludiques au Mali. Thèse Pharmacie, Bamako, 78p.

- 11. Ekoumou C. (2003)**, Etude phytochimiques et pharmacologique de 5 recettes traditionnelles utilisées dans le traitement des infections urinaires et la cystite, Thèse de Pharmacie, Bamako, 145p
- 12. Fané S. (2002)**. Etude de la toxicité de certaines plantes vendues sur le marché du district de Bamako. Thèse pharmacie, Bamako, 130 P
- 13. Foumakoye G. A., (2004)** Etude phytochimique de l'activité antipaludique d'une recette utilisée dans le traitement traditionnel du paludisme au Niger, Thèse de Pharmacie, Bamako, 79p
- 14. Guindo M., (1988)**. Contribution à l'étude du traitement traditionnel du " Suma" (Paludisme). Thèse de Pharmacie, Bamako Ecole Nationale de Médecine et de Pharmacie du Mali.
- 15. Hemmer C. J., Lehr H. A., Westphol K., Unverrich M., Kratzius M., and Reisinger E. C., (2005)**, plasmodium falciparum Malaria: réduction of endothelial cell apoptotic, Infection Immunity, American society for microbiology, W. A. petri, vol 73, N°3
- 16. INRSP/DMT (2004)**, Document de Politique National de Médecine Traditionnelle, Bamako.
- 17. Kayentao K., Maïga H. I., Traoré B., Ongonbo A., Dountabe D., Doumbo S., Bâ M., (2005)** Paludisme pendant la grossesse, Impact et perspectives de lutte, Malaria Research & Training Center, Présentation, Journée africaine de lutte contre le paludisme, 25 au 27 Avril 2005, Bamako, Mali.
- 18. Kerharo, J. et Adam, (1974)**. La pharmacopée sénégalaise traditionnelle plantes médicinales et toxiques. Editions Vigot et frères, Paris, 1011p.
- 19. Ministère de la Santé de la Solidarité et des Personnes Agées (MSSPA) (1998)**, Formulaire Thérapeutique National, édition Donnya, Bamako.

- 20.O.M.S., (2000)** Principes Méthodologiques généraux pour la recherche et l'évaluation relative à la médecine traditionnelle. Genève, P79.
- 21.O.M.S., (2001).**Vade-mecum pour la Prise en charge du Paludisme Grave. 2e éd, GRA/O.M.S, Genève, P70
- 22.Onigbinde A.O., Iyawe H.O.T., Aina O.O., (2005).**, Effect of Chloroquine and Ascorbic Acid Interaction on the Oxidative Stress Status of *Plasmodium berghei* Infested Mice, International Journal of Pharmacology 2 (1): 1- 4.
- 23.Pilly E., (2000)** Association des Professeurs de Pathologie Infectieuse et Tropicale, Maladies infectieuses et tropicales 2M2 17e édit. Montmorency, P 117, 118, 436-440.
- 24.Pincemail J., Meurisse M., Limet R., Defraigne JO., (1999)** Cancerologie : Méthodes d'évaluation du stress oxydatif chez l'homme :Importance en matière de prévention., Medi Sphère., N°95, 4p.
- 25.Sacko M., Touré A., Tohon S., Udom B. B., Decosas J., Timmerman N., (2003)** Mission consultative de faire reculer le paludisme (FRP) Mali, RBM, Mission consultative rapport final, www.rbm.who.int/partnership/country/docs/WAfrica/reaping_mali.pdf.
- 26.Sangaré D., (2003)** Etude de la prise en charge du paludisme par les thérapeutes Traditionnels dans les airs de santé de Kendié (Badiangara) et de Finkolo A.C (Sikasso). P105, Thèse de Pharmacie, Bamako.
- 27.Singh R., Faridi M. M. A., Singh K., Siddiqui R., Bhatt N., Karna S., (1999),** Epidemic Dropsy in Eastern Region of Nepal, Journal of Tropical Pediatrics, Oxford, vol.45, 13p.
- 28.Timbo B., (2003)** Etude phytochimique et des activités biologiques de *Trichilia emetica* Vahl (*Miliaceae*) – Thèse Pharmacie, Bamako 108p.

29. **Toukara M.**, Politique National de lutte contre le paludisme, Présentation du PNL, Journée africaine de lutte contre le paludisme, 25 au 27 Avril 2005, Bamako, Mali.
30. **Touré P.**, (2003) Médicament traditionnel amélioré au Mali, Réseau Médicament & Développement (ReMeD), Paris, N°27, 13 – 14.
31. **Traoré F.** (1999). Evaluation de l'activité antimalarique de *Glinus oppositifolius* (L.). A.D.C., *Nauclea latifolia* (SM.), *Mitragyna inermis* (WILLD.) O. KUNTZE, trois plantes utilisées en médecine traditionnelle au Mali. Thèse de doctorat, Marseille II, 199 P.
32. **Verma S. K., Dev G., Tyagi A. K., Goomber S., Jain G.V., (2001),** *Argemone mexicana* poisoning: autopsy findings of two cases, Forensic Science International, Ram Prastha, Vol.115, 135-141p
33. **Willcox M., Bodeker G., and Rasoanaivo P., (2004)** Traditional Medicinal Plants and Malaria, CRC Press LLC, USA Vol.4 P431
34. www.impact-malaria.com paludisme, information pour le grand public
35. www.pasteur.fr/sante/cmed/voy/histpay.html Prophylaxie chez l'adulte
36. www.rbm.who.int/, (16/06/05) Faire reculer le paludisme, Organisation mondiale de la Santé.
37. www.urml-reunion.net/index.html 12e conférence de consensus en thérapeutique anti-infectieuse de la société de pathologie infectieuse de langue française, HIA Bégin, saint Mandé- 14 avril 1999.
38. www.votre-enfant.com/, (5/4/2005), 3-13. Principales maladies parasitaires.
39. www.who.int/entity/mediacentre/fr. Médecine traditionnelle, Aide mémoire N°134 révisé en mai 2003

FICHE SIGNALÉTIQUE

Nom: SIDIBE

Prénom: Oumar Moussa

Titre de la thèse: Etude de *Argemone mexicana* Linn. (*papaveraceae*) dans le traitement traditionnel du paludisme non compliqué dans le village de Missidougou Région de Sikasso Mali

Année : 2005-2006

Ville de la soutenance : Bamako

Pays d'origine : Mali

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

Secteur d'activité : Pharmacognosie

Notre travail a porté sur l'étude de l'efficacité et l'innocuité de la partie aérienne de *A. mexicana* dans le traitement du paludisme à *Plasmodium falciparum* non compliqué. C'est une herbe annuelle ramifiée et dressée, qui atteint 1m de hauteur. Originaire de la partie méridionale de l'Amérique du Nord. C'est une espèce anthropogène. Elle est traditionnellement utilisée pour la prise en charge des maladies telles que les diarrhées, l'inflammation, troubles hépatobiliaires, fièvre bilieuse hématurique etc.

Nous avons procédé à une étude de l'évidence ethnomédicale de la plante à Missidougou, un village de la région de Sikasso (frontière Mali – Burkina Faso), un screening phytochimique et biologique.

L'étude de l'évidence ethnomédicale qui a concerné 81 patients a montré une relative efficacité de *A. mexicana* dans le traitement traditionnel du paludisme non compliqué lorsqu'il est administré à la dose totale moyenne de 930,6 mg d'extrait par kg de poids corporel pendant au moins sept jours avec deux prises par jour. Dans l'ensemble nous avons obtenu 72,5% de réponse clinique adéquate (RCA) au J14 (dont 86% ont fait une RCA au J28). Ces résultats sont encore plus intéressants avec les patients d'âge supérieur à 5 ans (89% de RCA au J14).

Du point de vue screening phytochimique nous avons retrouvé les alcaloïdes, tanins, les coumarines, hétérosides cardiotoniques, les stérols et triterpènes étaient plus abondants. Nous avons trouvé dans les extraits aqueux des sucres et ions bénéfiques pour le malade du paludisme.

Certains extraits ont présenté une activité antioxydante, l'extrait aqueux le plus actif *in vitro* sur *P. falciparum* souche K1 chloroquine résistante a été le décocté selon la méthode du thérapeute avec une IC50= 17,687 µg/ml, les extraits préparés n'ont pas donné de toxicité aiguë.

Mots clés : Médecine traditionnelle, *Argemone mexicana*. Etude ethnomédicale, Paludisme, Phytochimie, antioxydant, antiplasmodiale, Mali.

SERMENT DE GALIEN

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

- **D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;**
- **D'exercer dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.**
- **De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et de 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'opprobres et méprisé de mes confrères si j'y manque.**