



**HAL**  
open science

# Paludisme et *Artemisia annua* : études d'un fléau mondial et d'une plante aux vertus prometteuses

Guillaume Gérardin

► **To cite this version:**

Guillaume Gérardin. Paludisme et *Artemisia annua* : études d'un fléau mondial et d'une plante aux vertus prometteuses. Sciences pharmaceutiques. 2021. hal-04042756

**HAL Id: hal-04042756**

**<https://hal.univ-lorraine.fr/hal-04042756v1>**

Submitted on 23 Mar 2023

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



**UNIVERSITÉ  
DE LORRAINE**

**BIBLIOTHÈQUES  
UNIVERSITAIRES**

## AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact bibliothèque : [ddoc-thesesexercice-contact@univ-lorraine.fr](mailto:ddoc-thesesexercice-contact@univ-lorraine.fr)  
(Cette adresse ne permet pas de contacter les auteurs)

## LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

[http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg\\_droi.php](http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php)

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>



UNIVERSITÉ  
DE LORRAINE



FACULTÉ  
DE PHARMACIE

UNIVERSITE DE LORRAINE  
2021

---

FACULTE DE PHARMACIE

**T H E S E**

Présentée et soutenue publiquement

le 23/04/2021, sur un sujet dédié à :

Paludisme et *Artemisia annua* : études d'un fléau mondial et d'une plante aux  
vertus prometteuses

pour obtenir

**le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie**

par Guillaume GERARDIN

né(e) le 25/06/1994

**Membres du Jury**

Président : M. Xavier BELLANGER, Maître de Conférences - Parasitologie, Mycologie médicale

Juges : Mme. Sandrine CAPIZZI, Maître de Conférences - Parasitologie

M. Éric RUSPINI, Pharmacien

M. Julien GRAVOULET, Pharmacien, Professeur associé

**UNIVERSITÉ DE LORRAINE  
FACULTÉ DE PHARMACIE  
Année universitaire 2020-2021**

***DOYEN***

Raphaël DUVAL

***Vice-Doyen***

Julien PERRIN

***Directrice des études***

Marie SOCHA

***Conseil de la Pédagogie***

Présidente, Brigitte LEININGER-MULLER

Vice-Présidente, Alexandrine LAMBERT

***Collège d'Enseignement Pharmaceutique Hospitalier***

Présidente, Béatrice DEMORE

***Commission Prospective Facultaire***

Président, Igor CLAROT

Vice-Président, Raphaël DUVAL

***Commission de la Recherche***

Présidente, Caroline GAUCHER

***Chargés de Mission***

***Communication***

***Innovation pédagogique***

***Référente ADE***

***Référente dotation sur projet (DSP)***

***Référent vie associative***

Aline BONTEMPS

Alexandrine LAMBERT

Virginie PICHON

Marie-Paule SAUDER

Arnaud PALLOTTA

***Responsabilités***

***Filière Officine***

***Filière Industrie***

***Filière Hôpital***

***Pharma Plus ENSIC***

***Pharma Plus ENSAIA***

***Pharma Plus ENSGSI***

***Cellule de Formation Continue et Individuelle***

***Commission d'agrément des maîtres de stage***

***ERASMUS***

Caroline PERRIN-SARRADO

Julien GRAVOULET

Isabelle LARTAUD,

Jean-Bernard REGNOUF de VAINS

Béatrice DEMORE

Marie SOCHA

Jean-Bernard REGNOUF de VAINS

Xavier BELLANGER

Igor CLAROT

Luc FERRARI

François DUPUIS

Mihayl VARBANOV

***DOYENS HONORAIRES***

Chantal FINANCE

Francine PAULUS

Claude VIGNERON

***PROFESSEURS EMERITES***

Pierre LEROY

Philippe MAINCENT

Claude VIGNERON

***PROFESSEURS HONORAIRES***

Jean-Claude BLOCK

Pierre DIXNEUF

***MAITRES DE CONFERENCES HONORAIRES***

Monique ALBERT

Mariette BEAUD

Chantal FINANCE  
Marie-Madeleine GALTEAU  
Thérèse GIRARD  
Pierre LABRUDE  
Vincent LOPPINET  
Alain NICOLAS  
Janine SCHWARTZBROD  
Louis SCHWARTZBROD

**ASSISTANTS HONORAIRES**

Marie-Catherine BERTHE  
Annie PAVIS

François BONNEAUX  
Gérald CATAU  
Jean-Claude CHEVIN  
Jocelyne COLLOMB  
Bernard DANGIEN  
Dominique DECOLIN  
Marie-Claude FUZELLIER  
Françoise HINZELIN  
Marie-Hélène LIVERTOUX  
Bernard MIGNOT  
Blandine MOREAU  
Dominique NOTTER  
Francine PAULUS  
Christine PERDICAKIS  
Marie-France POCHON  
Anne ROVEL  
Gabriel TROCKLE  
Maria WELLMAN-ROUSSEAU  
Colette ZINUTTI

**ENSEIGNANTS**

Section CNU

\*

Discipline d'enseignement

**PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS**

Danièle BENSOUSSAN-LEJZEROWICZ	82	Thérapie cellulaire
Béatrice DEMORE	81	Pharmacie clinique
Jean-Louis MERLIN	82	Biologie cellulaire
Jean-Michel SIMON	81	Economie de la santé, Législation pharmaceutique
Nathalie THILLY	81	Santé publique et Epidémiologie

**PROFESSEURS DES UNIVERSITES**

Ariane BOUDIER	85	Chimie Physique
Christine CAPDEVILLE-ATKINSON	86	Pharmacologie
Igor CLAROT	85	Chimie analytique
Joël DUCOURNEAU	85	Biophysique, Acoustique, Audioprothèse
Raphaël DUVAL	87	Microbiologie clinique
Béatrice FAIVRE	87	Hématologie, Biologie cellulaire
Luc FERRARI	86	Toxicologie
Pascale FRIANT-MICHEL	85	Mathématiques, Physique
Christophe GANTZER	87	Microbiologie
Frédéric JORAND	87	Eau, Santé, Environnement
Isabelle LARTAUD	86	Pharmacologie
Dominique LAURAIN-MATTAR	86	Pharmacognosie
Brigitte LEININGER-MULLER	87	Biochimie
Patrick MENU	86	Physiologie
Jean-Bernard REGNOUF de VAINS	86	Chimie thérapeutique
Bertrand RIHN	87	Biochimie, Biologie moléculaire

**MAITRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS**

Alexandre HARLE <sup>H</sup>	82	<i>Biologie cellulaire oncologique</i>
Julien PERRIN	82	<i>Hématologie biologique</i>
Loïc REPPÉL	82	<i>Biothérapie</i>
Marie SOCHA	81	<i>Pharmacie clinique, thérapeutique et biotechnique</i>

### **MAITRES DE CONFÉRENCES**

Xavier BELLANGER <sup>H</sup>	87	<i>Parasitologie, Mycologie médicale</i>
Emmanuelle BENOIT <sup>H</sup>	86	<i>Communication et Santé</i>
Isabelle BERTRAND <sup>H</sup>	87	<i>Microbiologie</i>
Michel BOISBRUN <sup>H</sup>	86	<i>Chimie thérapeutique</i>
Cédric BOURA <sup>H</sup>	86	<i>Physiologie</i>
Sandrine CAPIZZI	87	<i>Parasitologie</i>
Antoine CAROF	85	<i>Informatique</i>
Frédérique CHANGEY	87	<i>Microbiologie</i>
Sébastien DADE	85	<i>Bio-informatique</i>
Natacha DREUMONT <sup>H</sup>	87	<i>Biochimie générale, Biochimie clinique</i>
Florence DUMARCAY <sup>H</sup>	86	<i>Chimie thérapeutique</i>
François DUPUIS <sup>H</sup>	86	<i>Pharmacologie</i>
Reine EL OMAR	86	<i>Physiologie</i>
Adil FAIZ	85	<i>Biophysique, Acoustique</i>
Anthony GANDIN	87	<i>Mycologie, Botanique</i>
Caroline GAUCHER <sup>H</sup>	86	<i>Chimie physique, Pharmacologie</i>
Stéphane GIBAUD <sup>H</sup>	86	<i>Pharmacie clinique</i>
Thierry HUMBERT	86	<i>Chimie organique</i>
Olivier JOUBERT <sup>H</sup>	86	<i>Toxicologie, Sécurité sanitaire</i>

### **ENSEIGNANTS (suite)**

Section CNU

\*

*Discipline d'enseignement*

Alexandrine LAMBERT	85	<i>Informatique, Biostatistiques</i>
Julie LEONHARD <sup>H</sup>	86/01	<i>Droit en Santé</i>
Christophe MERLIN <sup>H</sup>	87	<i>Microbiologie environnementale</i>
Maxime MOURER <sup>H</sup>	86	<i>Chimie organique</i>
Coumba NDIAYE	86	<i>Epidémiologie et Santé publique</i>
Arnaud PALLOTTA	85	<i>Bioanalyse du médicament</i>
Marianne PARENT	85	<i>Pharmacie galénique</i>
Caroline PERRIN-SARRADO	86	<i>Pharmacologie</i>
Virginie PICHON	85	<i>Biophysique</i>
Sophie PINEL <sup>H</sup>	85	<i>Informatique en Santé (e-santé)</i>
Anne SAPIN-MINET <sup>H</sup>	85	<i>Pharmacie galénique</i>
Marie-Paule SAUDER	87	<i>Mycologie, Botanique</i>
Guillaume SAUTREY	85	<i>Chimie analytique</i>
Rosella SPINA	86	<i>Pharmacognosie</i>
Sabrina TOUCHET	86	<i>Pharmacochimie</i>
Mihayl VARBANOV	87	<i>Immuno-Virologie</i>
Marie-Noëlle VAULTIER <sup>H</sup>	87	<i>Mycologie, Botanique</i>
Emilie VELOT <sup>H</sup>	86	<i>Physiologie-Physiopathologie humaines</i>
Mohamed ZAIYOU <sup>H</sup>	87	<i>Biochimie et Biologie moléculaire</i>

### **PROFESSEUR ASSOCIE**

Julien GRAVOULET 86 *Pharmacie clinique*

**PROFESSEUR AGREGÉ**

Christophe COCHAUD 11 *Anglais*

<sup>H</sup> *Maître de conférences titulaire HDR*

*\* Disciplines du Conseil National des Universités :*

*80 : Personnels enseignants et hospitaliers de pharmacie en sciences physico-chimiques et ingénierie appliquée à la santé*

*81 : Personnels enseignants et hospitaliers de pharmacie en sciences du médicament et des autres produits de santé*

*82 : Personnels enseignants et hospitaliers de pharmacie en sciences biologiques, fondamentales et cliniques*

*85 ; Personnels enseignants-chercheurs de pharmacie en sciences physico-chimiques et ingénierie appliquée à la santé*

*86 : Personnels enseignants-chercheurs de pharmacie en sciences du médicament et des autres produits de santé*

*87 : Personnels enseignants-chercheurs de pharmacie en sciences biologiques, fondamentales et cliniques*

*11 : Professeur agrégé de lettres et sciences humaines en langues et littératures anglaises et anglo-saxonnes*

# **SERMENT DE GALIEN**

**En présence des Maitres de la Faculté, je fais le serment :**

**D'honorer ceux qui m'ont instruit(e) dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle aux principes qui m'ont été enseignés et d'actualiser mes connaissances**

**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 Déontologie, de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;**

**De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers la personne humaine et sa dignité**

**En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.**

**De ne dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession**

**De faire preuve de loyauté et de solidarité envers mes collègues pharmaciens**

**De coopérer avec les autres professionnels de santé**

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

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



« LA FACULTE N'ENTEND DONNER AUCUNE  
APPROBATION, NI IMPROBATION AUX OPINIONS  
EMISES DANS LES THESES, CES OPINIONS DOIVENT  
ETRE CONSIDEREES COMME PROPRES A LEUR  
AUTEUR ».

# REMERCIEMENTS

Je tiens en premier lieu à remercier ma directrice de thèse, Mme Capazzi, Maître de Conférences à la Faculté de Pharmacie de Nancy, pour m'avoir encadré et guidé tout au long de ce travail. Je la remercie pour sa disponibilité, ses encouragements ainsi que pour toutes ses connaissances qu'elle a partagées avec moi.

Je remercie mon président de thèse, M. Bellanger, Maître de Conférences à la Faculté de Pharmacie de Nancy, d'avoir accepté de présider mon travail.

J'adresse également mes remerciements aux deux pharmaciens qui ont accepté de juger cette thèse. Tout d'abord, M. Gravoulet, pour sa passion et ses connaissances qu'il m'a transmises tout au long de ces longues années d'études. Et enfin M. Ruspini, pour son investissement durant ma formation, pour avoir accepté de me suivre tout au long de mon parcours d'étudiant, pour l'engagement et l'énergie qu'il consacre à la profession ... un grand merci ! Sans vous, le pharmacien que je suis devenu aujourd'hui n'aurait pas été le même.

De façon plus personnelle, je tiens à remercier Mélanie, ma Mélanie ! Un soutien sans faille durant toutes ces années qui a fait naître entre nous une complicité rare. Au-delà du binôme complémentaire que nous avons formé durant nos études, tu es aujourd'hui mon âme sœur, je t'aime.

Je remercie toute ma famille, mon frère pour ses encouragements et tout particulièrement mes parents pour avoir toujours été là pour moi. Vous m'avez soutenu durant les moments difficiles, vous avez tout fait pour me mettre dans les meilleures dispositions. Voir la fierté dans vos yeux me rend extrêmement fier. C'est vous qui avez fait la personne que je suis devenue aujourd'hui. Je vous aime.

Une pensée particulière à mon grand-père, mon papi. Tu me surnommait « le pharmacien » depuis mon enfance, tu ne t'es pas trompé. J'aurais tellement voulu que tu vois la personne que je suis devenue, le vrai pharmacien.

Je remercie mes amis, et plus particulièrement Antoine, Antho, Laurent, Thomas, Claire, Charlotte, Camille, Shadé, Charlyne et Alice qui ont rendu ces années d'études moins pénibles et bien plus réjouissantes !

Enfin je remercie mes collègues de travail et mes patrons pour leur confiance et leur partage des valeurs de notre métier.

# Table des matières

Liste des Tableaux.....	5
Liste des Figures.....	6
Liste des Abréviations.....	7
Introduction.....	8
<b>1. Le paludisme.....</b>	<b>10</b>
1.1. La pathologie, histoire.....	10
1.1.1. Période empirique.....	10
1.1.2. Période naturaliste.....	11
1.1.3. Période chimique.....	12
1.1.4. Période actuelle.....	12
1.2. Epidémiologie : répartition géographique.....	13
1.3. Agents pathogènes du paludisme : <i>Plasmodium sp</i> .....	15
1.3.1. <i>Plasmodium falciparum</i> .....	15
1.3.2. <i>Plasmodium vivax</i> .....	16
1.3.3. <i>Plasmodium ovale</i> .....	16
1.3.4. <i>Plasmodium malariae</i> .....	17
1.3.5. <i>Plasmodium knowlesi</i> .....	17
1.4. Vecteur du paludisme : un moustique du genre <i>Anophèle</i> .....	17
1.5. Cycle de Plasmodium chez l'humain et le moustique.....	19
1.5.1. Cycle parasitaire chez l'humain.....	20
1.5.2. Cycle de reproduction chez le moustique.....	21
1.6. Physiopathologie du paludisme.....	21
1.6.1. Impact du paludisme sur les cellules sanguines.....	22
1.6.2. Impact du paludisme sur la rate.....	22
1.6.3. Impact du paludisme sur le foie.....	22
1.7. Invasion et première phase du parasite.....	23
1.8. Clinique du paludisme.....	24
1.8.1. Primo-invasion = accès palustre simple.....	24

1.8.2.	Accès palustre simple à fièvre périodique.....	24
1.8.3.	Paludisme viscéral évolutif .....	25
1.8.4.	Splénomégalie palustre hyperréactive.....	26
1.8.5.	Fièvre bilieuse hémoglobinurique.....	26
1.8.6.	Paludisme grave .....	27
1.8.7.	Critères de gravités retenus par l’OMS .....	28
1.9.	Immunité vis-à-vis du parasite .....	29
1.9.1.	Immunité naturelle contre le paludisme .....	29
1.9.2.	Immunité acquise contre le paludisme .....	29
1.10.	Diagnostic biologique et méthodes d’analyses du paludisme.....	30
1.10.1.	Signes d’orientation.....	31
1.10.2.	Diagnostic biologique direct .....	31
1.10.3.	Diagnostic biologique indirect .....	32
<b>2.</b>	<b>Molécules utilisées contre le paludisme.....</b>	<b>36</b>
2.1.	Traitement curatif et prophylactique de <i>Plasmodium sp</i> .....	36
2.1.1.	Traitements existants : prophylaxie ou curatif .....	36
2.1.2.	Mode d’action et mécanismes des antipaludiques .....	37
2.2.	Traitement curatif de l’accès palustre.....	38
2.2.1.	Prise en charge d’une forme non compliquée d’accès palustre .....	39
2.2.2.	Prise en charge de l’accès palustre grave .....	40
2.3.	Traitements préventifs de l’accès palustre.....	41
2.4.	Protection individuelle et lutte antivectorielle en prévention du paludisme .....	43
2.4.1.	Vêtements.....	43
2.4.2.	Moustiquaire imprégnée.....	43
2.4.3.	Insecticides .....	43
2.4.4.	Répulsifs cutanés.....	44
2.4.5.	Réduction des gîtes larvaires.....	45
2.4.6.	Moyens inefficaces de prévention contre le paludisme et les moustiques .....	45
2.5.	Vaccin contre le paludisme.....	46
2.6.	Résistances aux traitements antipaludiques.....	48
2.6.1.	Méthodes de référence d’évaluation de la résistance aux antipaludiques .....	48
2.6.2.	Les tests d’évaluation de la résistance aux antipaludiques .....	49

2.6.3.	Principale résistance du parasite : la chloroquine .....	50
2.6.4.	Autres résistances aux antipaludiques.....	52
2.6.5.	Facteurs favorisant l'émergence de résistances .....	52
2.6.6.	Conséquences des résistances aux antipaludiques .....	53
2.6.7.	Place de la phytothérapie.....	54
<b>3.</b>	<b>Utilisation de l'Armoise annuel dans le paludisme.....</b>	<b>55</b>
3.1.	Référence et histoire de l' <i>Artemisia annua</i> .....	55
3.2.	Caractéristiques botaniques et répartition de l' <i>Artemisia annua</i> .....	57
3.2.1.	Description d' <i>Artemisia annua</i> .....	57
3.2.2.	Répartition géographique de la plante.....	58
3.3.	Culture et récolte d' <i>Artemisia annua</i> .....	59
3.3.1.	Problématique rencontrée en culture .....	59
3.3.2.	Semis des graines d' <i>Artemisia annua</i> .....	60
3.3.3.	Plantation et entretien d'une culture d' <i>Artemisia annua</i> .....	60
3.3.4.	Récoltes des plantations d' <i>Artemisia annua</i> .....	61
3.3.5.	Stockage des récoltes .....	61
3.3.6.	Parties utilisées dans la plante .....	61
3.4.	Les composés chimiques présents dans <i>Artemisia annua</i> .....	62
3.4.1.	Artémisinine et autres sesquiterpènes .....	62
3.4.2.	Autres terpènes .....	63
3.4.3.	Autres composants .....	63
<b>4.</b>	<b>Artémisinine.....</b>	<b>65</b>
4.1.	Structure chimique et caractéristiques de l'artémisinine.....	65
4.2.	Extraction et isolement de l'artémisinine à partir d' <i>Artemisia annua</i> .....	66
4.2.1.	Extraction à partir de solvants organiques .....	66
4.2.2.	Autres techniques d'extraction de l'artémisinine.....	67
4.3.	Synthèse de l'artémisinine.....	67
4.3.1.	Synthèse totale de l'artémisinine.....	68
4.3.2.	Méthode hémisynthétique pour la production d'artémisinine.....	69
4.4.	Etude de la toxicité de l'artémisinine .....	70

4.4.1.	Toxicité générale et effets indésirables de l'artémisinine et de ses dérivés .....	70
4.4.2.	Toxicité de l'artémisinine et dérivés chez la femme enceinte .....	71
4.4.3.	Toxicité de l'artémisinine et dérivés chez l'enfant .....	72
4.5.	Métabolisme de l'artémisinine .....	72
<b>5.</b>	<b><i>Artemisia</i> sous forme de thés ou tisanes : intérêts et dangers .....</b>	<b>75</b>
5.1.	Efficacité et études cliniques avec <i>Artemisia annua</i> .....	75
5.1.1.	1986 – Etude de Chang et Al. ....	75
5.1.2.	2000 – 1 <sup>ère</sup> Etude de Mueller et Al. ....	76
5.1.3.	2004 – 2 <sup>ème</sup> Etude de Mueller et Al. ....	77
5.1.4.	2015 – Etude de Zime-Diawara et Al. ....	78
5.1.5.	2015 – Etude de Gbaguidi et al. ....	79
5.1.6.	2006 – Etude de Chougouo Kengne R.D et Al. ....	80
5.1.7.	2016 – Etude de Pedro Melillo de Magalhaes et Al. ....	80
5.1.8.	Conclusion des essais cliniques.....	81
5.2.	Les doses recommandées.....	81
5.3.	Danger lié à la consommation d' <i>Artemisia annua</i> .....	83
5.4.	Position de l'OMS et Autorités de Santé.....	84
	Bibliographie.....	87

## Liste des Tableaux

**Tableau 1:** Les différents antipaludiques commercialisés ..... 37

**Tableau 2:** Répulsifs recommandés pour lutter contre les anophèles selon l'âge ..... 44

**Tableau 3:** Efficacité des différents moyens de prévention contre les piqûres de moustiques45

## Liste des Figures

<b>Figure 1</b> : Évolution de la répartition mondiale de Plasmodium spp. entre 2000 et 2016 .....	15
<b>Figure 2</b> : Anophèles gambiae .....	18
<b>Figure 3</b> : Cycle biologique de l'Anophèle .....	19
<b>Figure 4</b> : Cycle du parasite du paludisme incluant 2 hôtes .....	19
<b>Figure 5</b> : Différentes méthodes de diagnostic utilisées par les laboratoires français en 2016 .....	30
<b>Figure 6</b> : Exemple d'une lame de frottis sanguin avant coloration .....	31
<b>Figure 7</b> : Exemple d'une lame de goutte épaisse avant coloration .....	32
<b>Figure 8</b> : Principe de fonctionnement d'un test de diagnostic rapide .....	33
<b>Figure 9</b> : Exemple d'un test de diagnostic rapide antigénique (Binax Now) .....	34
<b>Figure 10</b> : Introduction des antipaludiques et apparition des résistances (R) de P. falciparum .....	48
<b>Figure 11</b> : Plant d'Artemisia annua .....	56
<b>Figure 12</b> : Représentation d'un plant d'Artemisia annua et classification scientifique .....	57
<b>Figure 13</b> : Production de feuilles sèches d'Artemisia annua par continent (en millier de tonnes) .....	58
<b>Figure 14</b> : Evolution du prix de l'artémisinine en US Dollars / kg .....	59
<b>Figure 15</b> : Schéma d'une feuille d'Asteracea avec un trichome (à gauche) et image d'un trichome d'A. annua (à droite) .....	62
<b>Figure 16</b> : Structure de la molécule d'artémisinine .....	65
<b>Figure 17</b> : Voie synthétique utilisé par Schmid et Hofheinz .....	68
<b>Figure 18</b> : Voie synthétique utilisé par Xu et al. ....	68
<b>Figure 19</b> : Différentes synthèses synthèse totales de l'artémisinine avec leurs composés de départ ..	69
<b>Figure 20</b> : Procédé de synthèse biologique de l'acide artémisinique par Amyris .....	70
<b>Figure 21</b> : Parasitémie initiale de cinq individus atteint de paludisme dans l'étude de Mueller et Al.	76
<b>Figure 22</b> : Efficacité de la tisane d'Artemisia annua dans les différents groupes à J7, J14, J28 et J35 comparé au groupe traité par Quinine dans l'étude de Mueller et Al. 2004 .....	77
<b>Figure 23</b> : Evolution de la fréquence des symptômes chez les patients durant le traitement par Artemisia annua .....	78



## Liste des Abréviations

ACT(s)	Artemisinin based Combination Therapy = Thérapie(s) combinée(s) à base d'artémisinine
DDT	Dichloro-Diphényl-Trichloréthane
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
TAS	Tension Artérielle Systolique
Hb	Hémoglobine
Hte	Hématocrite
PCR	Polymerase Chain Reaction
IgM	Immunoglobulines M
HLA	Human Leukocyte Antigen
QBC	Quantitative Buffy Coat
TDR	Test Diagnostic Rapide
PfHRP2	<i>Plasmodium falciparum</i> Histidin Rich protein-2
pLDH	Lactate DésHydrogénase plasmodiale
LAMP	Loop Mediated Isothermal Amplification
ADN	Acide DésocyrinoNucléique
DHFR	DihydroFolate Réductase
DHPS	DiHydroPtéroate Synthase
ATU	Autorisation Temporaire d'Utilisation
G6PD	Glucose 6 Phosphate Déshydrogénase
DEET	N-diéthyl-3-méthylbenzamide
IR3535	Butylacétylaminopropanoate d'éthyle
KBR3023	Icaridine
PMDRBO	p-Menthane-3,8-diol
EMA	Agence Européenne des Médicaments
PfCRT	<i>Plasmodium falciparum</i> Chloroquine Resistance Transporter
pH	potentiel Hydrogène
DHA	DiHydroArtémisinine
ANSM	Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé
AMM	Autorisation de Mise sur le Marché

## Introduction

Le paludisme est une pathologie courante dans les zones tropicales et subtropicales. On estime qu'en 2018 elle a touché 218 millions de malades dans le monde. C'est une pathologie potentiellement mortelle lorsqu'elle n'est pas prise en charge à temps. En 2018, le nombre de morts imputable au paludisme est estimé à plus de 400 000, dont une très large majorité est des enfants de moins de 5 ans (67%, soient environ 270 000 décès). Le continent le plus atteint par cette maladie est sans conteste l'Afrique.

Plusieurs traitements existent, et de grandes découvertes ont rythmé la lutte contre ce parasite complexe et contre le moustique du genre *Anophèle* qui en est le vecteur. Mais les résistances perdurent toujours et obligent la science à innover sans cesse pour découvrir voire redécouvrir de nouvelles molécules thérapeutiques. C'est par exemple le cas d'une plante, *l'Artemisia annua*, qui a permis de mettre en œuvre un des traitements les plus efficaces à l'heure actuelle contre le paludisme : les ACTs. Cette plante est pourtant connue depuis des milliers d'années dans la médecine traditionnelle chinoise et son utilisation a révolutionné la lutte contre le parasite du genre *Plasmodium sp.* En effet, au-delà de la molécule active qui en a été extraite (l'artémisinine) et qui a permis la création des ACTs, l'utilisation de cette plante sous forme d'infusion aurait le pouvoir de guérir du paludisme voire même de prévenir les infections à *Plasmodium sp.* Cette simple utilisation sous forme de tisanes pourrait permettre aux populations les plus pauvres, qui sont également les plus touchées par le paludisme, de bénéficier d'un traitement efficace, peu cher, simple d'utilisation et accessible.

Mais dans un monde où les enjeux économiques et politiques rythment les grandes avancées scientifiques, où les sciences modernes suscitent bien plus d'intérêts que la médecine traditionnelle, cette utilisation est délaissée voire oubliée. Est-il envisageable, d'un point de vue éthique et sous le principe de précaution, d'empêcher ou d'interdire l'utilisation de cette plante si elle a le pouvoir de sauver des milliers de vies ? Un encadrement de son utilisation ne serait-il pas préférable ? Ou si cette plante représente un réel danger, tant dans l'apparition de résistance ou pour sa toxicité, ne serait-il pas judicieux, voire nécessaire, de mettre en œuvre des études claires et constructives à ce sujet ?

La première partie de cette thèse présentera les généralités sur le paludisme : l'histoire, l'épidémiologie, les différents parasites, le vecteur, les différents cycles et la clinique du paludisme. Le dépistage et l'immunité seront abordés dans la fin de cette première partie.

Dans une seconde partie, les traitements, les résistances et la prévention vis-à-vis de cette pathologie seront développés.

La troisième partie de cette thèse abordera le sujet de la plante *Artemisia annua*. Les caractéristiques botaniques, la culture, la récolte et les composés chimiques qu'elle renferme seront traités dans les différentes sous parties.

La quatrième partie abordera la molécule d'artémisinine : la structure, l'extraction, la synthèse et la toxicité.

Enfin, la cinquième et dernière partie sera consacrée à l'intérêt de la plante *Artemisia annua*, sous la forme de tisanes.

# 1. Le paludisme

## 1.1. La pathologie, histoire.

On peut distinguer 4 périodes dans l'histoire du paludisme (1) :

- La période empirique, de l'aube de l'humanité à 1880
- La période naturaliste, de 1880 à la Seconde Guerre mondiale
- La période chimique, de la Seconde Guerre mondiale aux années 1980
- La période actuelle, des années 1980 à aujourd'hui

### 1.1.1. Période empirique

Le paludisme ou « malaria » en anglais, est une pathologie qui touche l'espèce humaine depuis les débuts de l'humanité. La première trace de paludisme dans l'histoire a été découverte sur des momies de 3200 av.J.C, par des chercheurs qui ont retrouvé de l'ADN de *Plasmodium falciparum* (1). Dans les premiers écrits de l'histoire de l'Homme, on retrouve des allusions au paludisme : en 1500 av.J.C, des fièvres ressemblant fortement au paludisme ont été décrites par les égyptiens (2). Hippocrate (460 – 370 av.J.C), Galien (129 – 199) ou encore le romain Celsus (25 av.J.C – 55 ap.J.C) ont tous mentionné dans leurs écrits ces fièvres étranges, à l'allure intermittente, apparaissant à la fin de l'été, sans pour autant connaître leurs origines (1). On pensait à l'époque que ces fièvres étaient dues aux marais et eaux stagnantes bordant les villes. C'est d'ailleurs ce qu'avait remarqué Hippocrate qui conseillait de construire les villes et villages loin de ces zones (1) (3). Durant l'Histoire, plusieurs victimes célèbres étaient porteuses du paludisme et peut-être décédées des suites de ce parasite, comme Toutankhamon vers 1327 av.J.C., ou encore Alexandre le Grand plus tard en 323 av.J.C (2) (4). Cette pathologie a longtemps sévi en Europe causant des ravages comparables à ceux qu'elle cause actuellement en Afrique. Elle a ensuite été importée sans le savoir en Amérique via le commerce d'esclaves au XVIe siècle (5).

Le premier traitement du paludisme remonte à 186 av.J.C. Dans certaines régions de Chine, on commence à utiliser le qing hao su (artémisinine en Occident) sous forme de tisanes. C'est un remède extrait d'une plante : le qing hao ou *Artémisia annua* (2). Au XVIIe siècle, il semble que l'écorce de quinquina soit connue pour combattre les fièvres intermittentes (1). C'est le jésuite Don Francisco Lopez qui découvre les propriétés de cette arbre du Pérou déjà bien

connues des indiens pour soigner les fièvres (5). En effet, des découvertes ont permis de montrer que les incas utilisaient le quinquina sous forme de décoctions d'écorces pour soigner la fièvre (6).

Il faudra attendre le XVIII<sup>e</sup> siècle et les premières études scientifiques pour commencer à comprendre cette pathologie. Un nom lui sera donné : mal'aria signifiant « mauvais air » en italien (5), ou paludisme du latin « palus » : marais. A cette époque, les observateurs les plus aguerris avaient compris le lien étroit entre le paludisme et l'eau des marais, même si cela n'est pas l'origine exacte du paludisme. Au XVIII<sup>e</sup> siècle, les principes actifs du quinquina et l'agent pathogène sont donc toujours inconnus.

Au début du XIX<sup>e</sup> siècle (1820), les premiers traitements apparaissent, grâce notamment à l'isolement de la quinine par Pelletier et Caventou : c'est la découverte du principe actif. Cela permet la création de doses de traitement en donnant la dose exacte selon le poids des patients. Cependant l'agent pathogène demeure toujours inconnu (6) (7).

### **1.1.2. Période naturaliste**

Il faudra attendre la fin du XIX<sup>e</sup> siècle (1880), pour qu'un chercheur français, Alphonse Laveran, découvre que cette pathologie est due à un protozoaire. Il observera pour la première fois le parasite dans les globules rouges des malades (5). Cette découverte de Laveran sera ensuite confirmée quelques années plus tard aux Etats Unis par Osler en 1882, puis Abbott (1885) et enfin Sternberg (1886) (1). Cela représente les premières avancées significatives sur le paludisme et cette découverte lui ouvre les portes du prix Nobel de médecine en 1907. Il deviendra ainsi le premier français à recevoir ce titre (4) (8). S'en suivra ensuite la découverte du vecteur responsable par le britannique Ronald Ross en 1897 : un moustique du genre *anophèle* (4) (7).

Au début du XX<sup>e</sup> siècle, la quinine reste l'unique médicament contre le paludisme (5). Le XX<sup>e</sup> siècle est marqué par la recherche ainsi que la mise au point de nouveaux traitements antipaludiques. L'utilisation d'insecticides se met en place pour lutter contre le vecteur de la maladie. Le paludisme sera même utilisé pour lutter contre la syphilis au début du XX<sup>e</sup> siècle. Les médecins infectaient volontairement les patients pour provoquer de fortes fièvres et lutter contre les bactéries provoquant la syphilis. Le paludisme était ensuite traité par de la quinine (9).

En 1934, suite à la guerre qui a rendu l'approvisionnement en écorces de quinquina difficile, la première chloroquine de synthèse est mise au point par l'allemand Hans Andersag. C'est le premier antipaludique de la famille des amino-4-quinoléines (6). C'est un produit très efficace, peu cher et peu toxique qui sera massivement utilisé durant 50 ans. Désormais, avec les résistances à la chloroquine, son utilisation a considérablement diminué, sans qu'elle ne soit pour autant remplacée dans l'arsenal thérapeutique de la lutte contre le paludisme (1). S'en suivra en 1944 la découverte du proguanil par les scientifiques anglais Curd, Davey et Rose (10).

### **1.1.3. Période chimique**

Le début de cette période est marqué par la découverte de nouveaux traitements, mais également de nouveaux insecticides de synthèse qui marquent le début d'une nouvelle ère. En effet, la découverte de la pyréthrine ainsi que les propriétés insecticides du DDT entretiennent l'espoir d'une éradication (1).

En 1955, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) lance un programme pour éradiquer totalement le paludisme. Ce programme vise à pulvériser du DDT pour lutter contre le paludisme. Cette tentative d'éradication sera le premier échec dans la lutte contre le parasite (5).

Dans les années 1960, les premières souches de *Plasmodium falciparum* résistantes à la chloroquine apparaissent. Cela marque le début des résistances et le deuxième échec dans la lutte contre le paludisme.

### **1.1.4. Période actuelle**

En 2001, l'OMS recommande un nouveau schéma thérapeutique : les ACTs. Cela consiste à combiner une ancienne molécule connue depuis le IV<sup>e</sup> siècle par les chinois, l'artémisinine, avec une ou deux autres molécules antipaludéennes. Malheureusement, malgré une grande efficacité de ces traitements, des résistances sont déjà apparues en Asie, poussant les scientifiques à rechercher de nouvelles solutions (5).

De nos jours, le paludisme est décrit comme une parasitose due à des protozoaires hématozoaires, transmise par le parasite du genre *Plasmodium* dont le vecteur est le moustique femelle du genre *Anophèle*. A l'heure actuelle, cette pathologie fait toujours des ravages,

principalement sur le continent africain où l'on recense 92 % des cas du paludisme mondial en 2017 (11).

Aucun traitement ne permet de garantir à 100 % la guérison de ce parasite, surtout avec la résistance grandissante aux chloroquines qui ont été largement utilisées pour traiter les patients durant la seconde moitié du XX<sup>ème</sup> siècle. Cependant, de grandes avancées dans le domaine thérapeutique et prophylactique ont eu lieu dans les années 1970, notamment avec la découverte de composés comme l'artémisinine issue de l'armoise annuelle (*Artemisia annua*). Malheureusement, on ne voit que trop peu l'efficacité de ces avancées scientifiques sur les pays en voie de développement. Les remèdes à base de plantes, comme les tisanes, principalement utilisées dans la médecine traditionnelle, sont moquées et décriées par certains scientifiques et laboratoires pharmaceutiques. Cette plante est à l'heure actuelle au centre de nombreuses discussions et désaccords, quant à son utilisation en tisanes pour guérir du paludisme. De nombreuses études tentent à prouver son efficacité, voire même sa supériorité par rapport aux traitements recommandés, mais se heurtent aux grands groupes pharmaceutiques ainsi qu'aux instances de santé car elles ne sont pas toujours réalisées dans de bonnes conditions (12).

Désormais, au-delà des enjeux économiques, qui sont un poids important dans la balance, des questions d'éthique et d'efficacité rentrent en jeu concernant l'utilisation de cette plante dans le traitement du paludisme (13).

## 1.2. Epidémiologie : répartition géographique

Lorsque l'on parle de l'épidémiologie du paludisme, on se contente trop fréquemment d'énoncer les faits à l'échelle mondiale, en répertoriant les régions tropicales comme principales zones endémiques, ce qui n'est pas suffisant. Sur le terrain, le paludisme est une pathologie où de nombreux facteurs doivent être pris en considération, comme le taux d'humidité, l'altitude, les forêts, les régions côtières, les activités humaines, le vecteur... Tous ces facteurs influencent la répartition géographique de la pathologie au sein d'un même pays ou d'une même région, voire également d'un village à un autre (14).

Selon l'OMS, en 2019, 229 millions de cas de paludisme ont été répertoriés, pour 409 000 décès (15). C'est un chiffre en augmentation par rapport aux années précédentes (mais nombre de décès identique voir plus faible). Certains groupes de population, comme les jeunes enfants de moins de 5 ans, les femmes enceintes, les personnes immunodéprimées ainsi que les voyageurs

ont des risques plus importants de contracter le paludisme, mais également de déclarer un paludisme grave. 61 % des décès concernent des enfants de moins de 5 ans (11).

On estime que près de 40 % de la population mondiale est exposée au paludisme en 2019, ce qui représente environ 3,5 milliards de personnes vulnérables. Environ 90 pays sont concernés par cette maladie (16). Une écrasante majorité de ces cas surviennent en Afrique Subsaharienne. A l'heure actuelle, l'Afrique regroupe 92 % des cas de paludismes mondiaux et devance donc très largement la région Asie (5%) ainsi que la région méditerranée orientale (2%) (17). Toutefois, d'autres régions du monde sont également affectées, comme l'Amérique du Sud et l'Amérique Centrale.

En 2017, en Afrique, 4 pays représentent près de la moitié des cas. Il s'agit du Nigéria avec 25% des cas, suivi de la république démocratique du Congo avec 11% des cas, puis du Mozambique (5% des cas) et enfin de l'Ouganda avec 4% des cas (17).

En Europe, on parle principalement de paludisme d'importation. En France, entre 2000 et 2011, on remarque une chute du nombre de cas d'importation (8 000 cas estimés en 2000 contre 3560 en 2011). Mais ces chiffres sont depuis repartis à la hausse : on estime environ 5 280 cas pour 2017. La principale région de contamination de ces cas d'importation est l'Afrique subsaharienne dans 95 % des cas (18) (19).

A noter cependant l'émergence de nouveaux territoires touchés par le paludisme en Europe, comme la Grèce depuis 2011, où des cas d'infection par *P. vivax* ont été déclarés (cas autochtones, c'est-à-dire des cas où la personne a contracté la maladie sur le territoire national sans avoir voyagé dans une zone contaminée dans les 15 jours précédant les symptômes) (20). Il est important de noter que les formes graves et compliquées à *Plasmodium falciparum* sont de plus en plus fréquentes, et ce quelle que soit la région du globe dont on parle. Cela est dû à l'apparition de chimiorésistance, ainsi qu'à un retard de diagnostic et de thérapeutique de plus en plus fréquents (21).



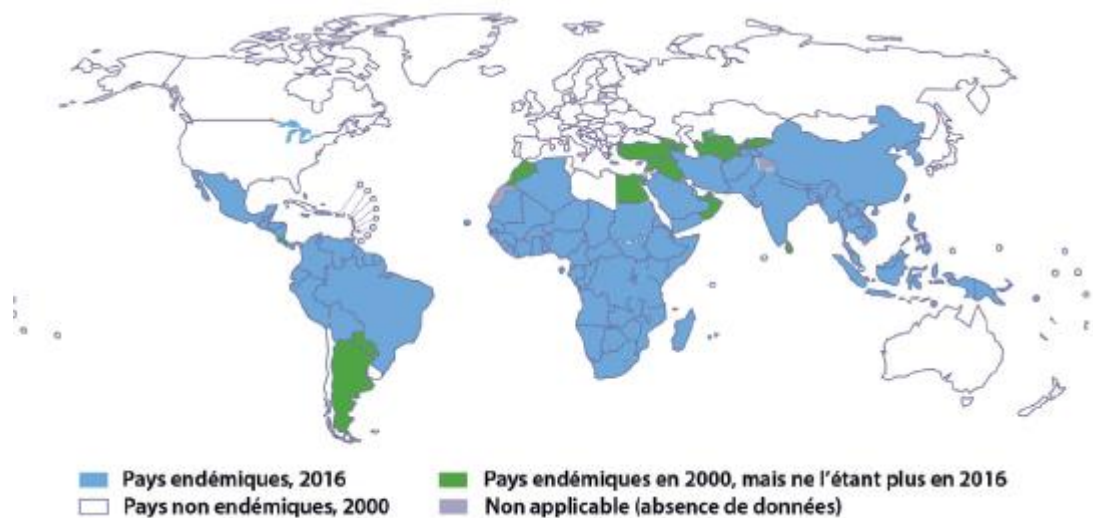


Figure 1: Évolution de la répartition mondiale de *Plasmodium* spp. entre 2000 et 2016 (19)

### 1.3. Agents pathogènes du paludisme : *Plasmodium* sp

Le paludisme est une pathologie infectieuse transmise par un parasite protozoaire du genre *Plasmodium* sp. Ce parasite est lui-même transmis par un moustique femelle du genre *Anophèle*. Il existe plus d'une centaine d'espèces de *Plasmodium* touchant diverses espèces animales comme les rongeurs, les singes ou les oiseaux, mais seulement cinq peuvent toucher l'homme. Ces cinq espèces se différencient par des critères biologiques, cliniques, géographiques ainsi qu'une capacité à développer des résistances aux antipaludiques propre à chacune. Chez les humains, les cinq espèces retrouvées sont : *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malaria*, *P. knowlesi*.

#### 1.3.1. *Plasmodium falciparum*

C'est l'agent responsable des fièvres tierces malignes (cycle érythrocytaire de 48 heures, c'est-à-dire un pic de fièvre toutes les 48 heures). Il est à distinguer de toutes les autres espèces de *Plasmodium* de par sa dangerosité et sa répartition. En effet, c'est l'espèce la plus répandue dans le monde, elle concerne 80 % des paludismes. C'est la plus dangereuse car c'est la seule qui tue (90 % des décès dus à un paludisme ont pour agent infectieux le *P. falciparum*) et une des seules qui développe des résistances aux antipaludiques. *P. falciparum* est responsable de formes cliniques graves comme les cas de neuropaludisme. Il y a une transmission durant toute l'année avec des pics saisonniers plus intenses. Pour que cette transmission ait lieu, il faut de la

chaleur et de l'humidité. Il n'y a pas de transmission en-dessous de 18°C et au-dessus de 1 500 mètres d'altitude. L'évolution du paludisme à *P. falciparum* se fait d'un seul tenant, sans rechute tardive. On note une incubation de 7 à 12 jours. En France, c'est l'espèce majoritairement observée, puisqu'elle concerne 80 % des cas de paludisme d'importation, c'est-à-dire des cas de paludisme contractés en zone à risque et déclarés au retour en France. La grande majorité de ces accès palustres se déclare dans les deux mois qui suivent le retour du pays endémique. (14) (22) (23)

### **1.3.2. *Plasmodium vivax***

Il est responsable de fièvres tierces bénignes (cycle érythrocytaire de 48 heures). On le trouve principalement en Amérique du Sud ainsi qu'en Asie. Il est beaucoup plus rare en Afrique, puisque la majorité de la population ne possède pas le récepteur membranaire Duffy négatif sur leurs érythrocytes, celui-ci étant nécessaire à l'infection par *P. vivax*. La transmission ne se fait pas en-dessous de 15°C. Il y a une période d'incubation de 11 à 15 jours, mais contrairement à l'infection par *P. falciparum*, des rechutes sont possibles durant 3 à 4 ans. C'est ce que l'on appelle des accès de reviviscence. Quelques cas de résistances médicamenteuses à la chloroquine sont observés de plus en plus fréquemment. (20)

Le paludisme à *P. vivax* n'est clairement pas une priorité pour les programmes de lutte, car il est considéré comme une infection bénigne. Il est moins meurtrier que le paludisme à *P. falciparum*. Il peut parfois être problématique chez les enfants et les femmes enceintes du fait des anémies provoquées. Même si le nombre de morts lié au paludisme diminue durant la dernière décennie, grâce à la lutte contre *P. falciparum*, le nombre de cas de paludisme à *P. vivax* a quant à lui augmenté. Ceci s'explique par une difficulté de détection à cause d'une faible quantité de parasites présent dans la circulation sanguine. (22)

### **1.3.3. *Plasmodium ovale***

C'est l'espèce la plus rare. On la retrouve en Afrique intertropicale du Centre et de l'Ouest, mais également dans certaines régions du Pacifique. Elle est très proche de *P. vivax* dans sa physiopathologie. En effet, il provoque des accès de fièvre bénigne tierce comme lui, mais la période d'incubation est de 15 jours minimum. Comme chez *P. vivax*, des rechutes tardives sont

possible jusqu'à 5 ans après l'infection. Il est coutume de dire que *P. ovale* remplace *P. vivax* en Afrique. (20) (22)

#### **1.3.4. *Plasmodium malariae***

Cette espèce est retrouvée sur les trois continents tropicaux (Afrique, Asie et Amérique du Sud) de façon très sporadique. Elle est différente des autres espèces par son incubation plus longue, de 15 à 21 jours, ainsi que des recrudescences pouvant être très tardives. On parle parfois de 20 ans en l'absence de traitement initial. Elle provoque des fièvres quartes, c'est-à-dire avec un cycle érythrocytaire de 72 heures. C'est une infection bénigne, mais qui peut tout de même provoquer des complications rénales. On parle alors de néphropathie quartane. (20) (22)

#### **1.3.5. *Plasmodium knowlesi***

Cette espèce est retrouvée en Asie du Sud Est, dans les zones forestières. Elle est liée à la répartition des singes macaques qui est habituellement l'hôte de ce parasite. Elle est différente des autres espèces de parasites avec un cycle érythrocytaire de 24 heures, qui provoque des fièvres quotidiennes chez les personnes infectées. Jusqu'à dans les années 2000, ce parasite se limitait à quelques cas de zoonoses, c'est-à-dire des cas de transmission de l'animal à l'être humain, mais depuis, des cas ont été fréquemment signalés chez l'humain. C'est même devenu l'espèce de *Plasmodium* la plus commune pour les cas autochtones déclarés en Malaisie. (20) (23)

### **1.4. Vecteur du paludisme : un moustique du genre *Anophèle***

Le vecteur n'est pas simplement une « seringue » pour injecter et diffuser l'agent pathogène d'un vertébré à un autre. C'est un point de passage obligatoire pour le développement ou la multiplication de l'agent pathogène (24).

C'est le moustique culicidé du genre *Anophèle* qui est à l'origine de la transmission du paludisme. Environ 500 espèces d'*Anophèles* ont été répertoriées, mais seulement une cinquantaine est capable de transmettre le paludisme (24). Seule la femelle hématophage transmet le paludisme lors de son repas sanguin. Elle ne pique qu'une fois le soleil couché, avec

une activité maximale entre 23 heures et 6 heures du matin, ce qui explique la grande efficacité que peut avoir une simple moustiquaire dans la prévention du paludisme. Le vol de l'*Anophèle* est silencieux et la piqûre est indolore. Le moustique peut parcourir jusqu'à trois kilomètres pour trouver un hôte où effectuer son repas sanguin. Cette recherche sera guidée par l'émission de gaz carbonique émanant de la peau, ainsi que d'odeurs corporelles dues à la transpiration. Selon certaines études récentes, les sujets déjà porteurs du parasite, en particulier de gamétocytes, c'est-à-dire la forme infectante pour le moustique, seraient également plus attractifs (25).



Figure 2: *Anophèles gambiae* (24)

Une fois le repas sanguin effectué, qui est nécessaire à la maturation des œufs, la femelle se rend dans un gîte de repos jusqu'à la maturation de ses œufs. Cela prend environ 48 heures. Une fois les œufs arrivés à maturité, la femelle recherche un point d'eau, le plus souvent douce, non agitée et non polluée, pour y pondre. Ce sont pour ces raisons que les anophèles sont principalement des moustiques dits ruraux, plutôt qu'urbains, même si durant ces dernières années, ce moustique a fait preuve d'une grande capacité d'adaptation pour s'implanter dans les villes. C'est ce point d'eau que l'on appelle « gîte larvaire » (20).

Une femelle alterne entre repas sanguin et ponte d'œuf tout au long de sa vie qui dure en moyenne un mois. Cependant, en cas de conditions non favorables, comme des températures trop basses, une sécheresse ..., la femelle peut attendre jusqu'à six mois pour pondre à nouveau. Cela assure le maintien de l'espèce, même dans des régions où les conditions climatiques ne sont pas optimales toute l'année (26).

Une fois les œufs pondus dans le gîte larvaire, une larve en sort. Cette larve vit exclusivement dans l'eau jusqu'à donner une nymphe qui devient elle-même un individu adulte. Cette maturation s'effectue en une dizaine de jours à 31°C. Le cycle continue ensuite avec les

individus adultes : les mâles fécondent les femelles, qui, une fois fécondées partent à la recherche d'un nouveau repas sanguin et d'un nouveau gîte larvaire (24) (27).

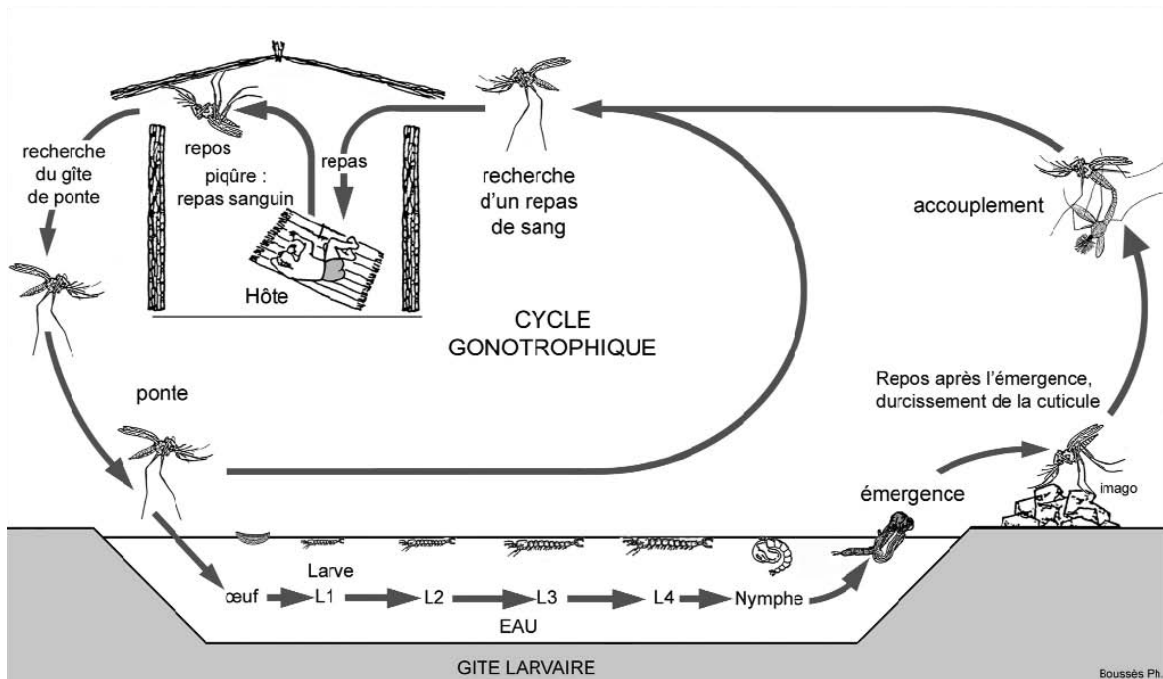


Figure 3: Cycle biologique de l'Anophèle (25)

### 1.5. Cycle de Plasmodium chez l'humain et le moustique

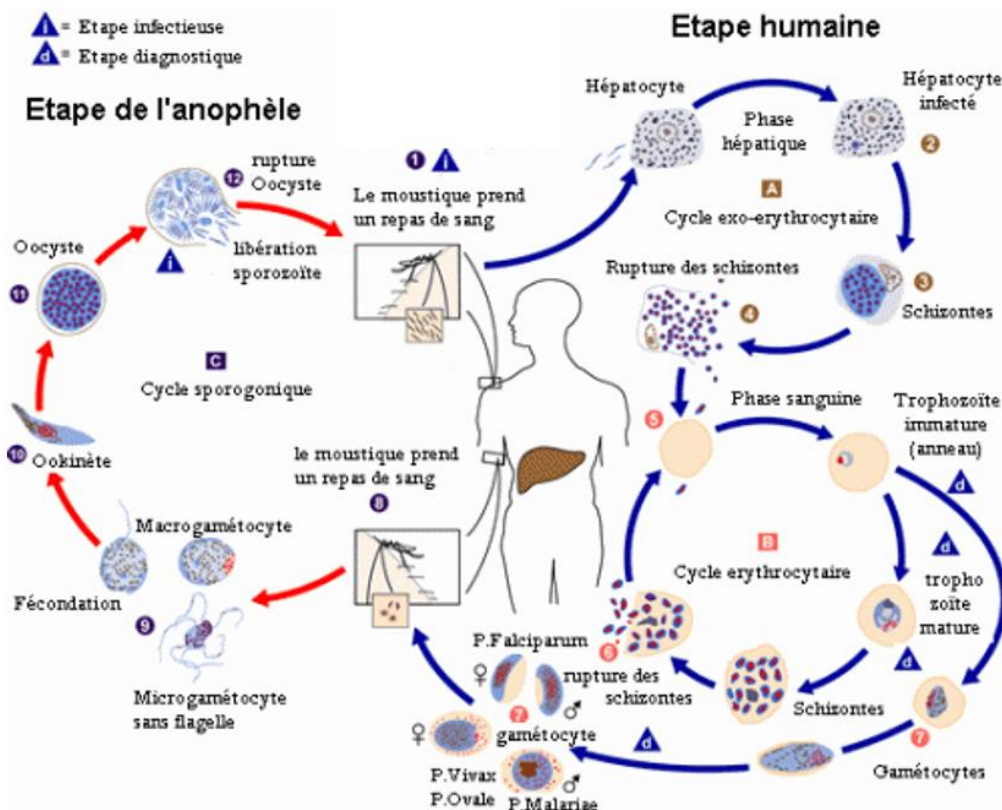


Figure 4: Cycle du parasite du paludisme incluant 2 hôtes (28)

Le cycle de *Plasmodium sp* est un cycle relativement complexe qui compte deux hôtes. La phase asexuée, également appelée schizogonie, se déroule chez un vertébré, comme l'homme ou l'animal. La phase sexuée ou sporogonie se déroule chez la femelle hématophage du moustique du genre anophèle. C'est ce que l'on nomme un cycle hétéroxène, c'est-à-dire que le parasite a besoin de plusieurs hôtes successifs pour compléter son cycle biologique (28).

### **1.5.1. Cycle parasitaire chez l'humain**

Le cycle chez l'homme est lui-même divisé en deux phases :

- une phase de schizogonie pré-érythrocytaire, aussi nommé phase hépatique.
- une phase de schizogonie érythrocytaire ou phase sanguine.

La phase hépatique correspond à la phase d'incubation, les patients sont asymptomatiques, alors que la phase sanguine correspond à la phase clinique de la pathologie.

#### **La phase de schizogonie pré-érythrocytaire ou phase hépatique :**

Lors de son repas sanguin, la femelle *Anophèle* inocule des sporozoïtes qui restent quelques minutes dans la peau et le sang. Une grande majorité est détruite par les macrophages, et la minorité restante parvient à atteindre les hépatocytes. Ils se transforment en schizontes pré-érythrocytaires (formes multi-nucléées) qui, après une maturation de 7 à 15 jours, éclatent pour libérer des dizaines de milliers de mérozoïtes dans le sang (20).

Dans les infections à *P. vivax* et *P. ovale*, certains sporozoïtes restent quiescents dans les hépatocytes, pouvant provoquer des rechutes tardives plusieurs années après l'inoculation du parasite. Ces formes de latences hépatiques sont appelées hypnozoïtes.

#### **La phase de schizogonie érythrocytaire ou phase sanguine :**

Une fois que les mérozoïtes sont dans la circulation sanguine, ils pénètrent dans les globules rouges pour se transformer en trophozoïtes, puis en schizontes. Cette maturation peut durer de 48 à 72 heures en fonction des espèces. Les schizontes ainsi formés détruisent et font éclater le globule rouge, ce qui libère de nouveaux mérozoïtes dans la circulation sanguine. Ces nouveaux mérozoïtes pénètrent à nouveau dans un globule rouge, et recommencent un cycle de réplication. C'est une boucle auto-entretenu (29).

C'est durant cette partie du cycle que les symptômes apparaissent. C'est l'accès palustre : le nombre de parasites accroit, la fièvre augmente. Lors de l'absence de traitement, les schizontes évoluent de façon synchronisée, c'est-à-dire qu'ils arrivent à maturation en même temps, détruisant un grand nombre de globules rouges de façon périodique. C'est ce qui provoque les fièvres tierces (48 heures pour *P. falciparum*, *P. vivax* et *P. ovale*) ou quartes (72 heures pour *P. malariae*). Cependant, avec les infections à *P. falciparum*, les fièvres sont moins synchrones. Cela est dû à une maturation de certains trophozoïtes qui se différencient en gamétocytes mâles et femelles. La suite de cette évolution a lieu chez le moustique (18).

### **1.5.2. Cycle de reproduction chez le moustique**

Lorsqu'un homme est infecté par le paludisme, il a donc des gamétocytes qui circulent dans le sang. Lorsque le moustique ingère du sang pour son repas sanguin, il absorbe ces gamétocytes qui se transforment rapidement en gamètes mâles et femelles. Ces deux gamètes fusionnent pour former l'ookinète. C'est un œuf libre et mobile. Toutes ces étapes se passent dans le tube digestif du moustique. Cet ookinète quitte la lumière du tube digestif pour s'accrocher à la paroi externe de l'estomac et devenir un oocyste. C'est à l'intérieur de cet oocyste que les cellules parasitaires se développent et se multiplient. Ainsi, plusieurs centaines de sporozoïtes sont produits, et migrent ensuite dans les glandes salivaires du moustique (29). Ces sporozoïtes sont la forme infectante du paludisme. Ils seront inoculés lors des prochains repas sanguins du moustique. A noter que les cycles de développement du parasite varient entre les différentes espèces de *Plasmodium* et également en fonction des conditions climatiques. A 30°C le cycle dure environ 9 jours, alors qu'à 20°C il dure plutôt 20 jours pour *Plasmodium falciparum* (18).

### **1.6. Physiopathologie du paludisme**

La physiopathologie du paludisme fait l'objet de nombreuses recherches et travaux, mais reste à ce jour partiellement élucidée du fait de sa complexité et de son caractère plurifactoriel. Cependant, les conséquences du paludisme sur certains organes sont bien connues, notamment sur le foie et la rate, mais également sur les cellules sanguines.

### **1.6.1. Impact du paludisme sur les cellules sanguines**

Durant la phase de schizogonie érythrocytaire ou phase sanguine, on constate une hémolyse qui est responsable, en partie, de l'anémie d'installation progressive. Cette anémie peut revêtir un caractère grave dans certains cas, comme chez les enfants ou les femmes enceintes. C'est l'hémoglobine libérée par cette hémolyse qui est à l'origine de l'hémoglobinurie dans les infections de paludisme, notamment parce que le rein et le foie sont surchargés pour réussir à l'éliminer (20).

C'est l'utilisation de l'hémoglobine par le parasite qui est responsable de la fièvre. Le parasite utilise l'hémoglobine et l'a fait précipiter pour la transformer en hémozoïne qui est composée d'hèmes toxiques. Avant d'être libérée, elle est recouverte de protéines du parasite qui la rendent inactive. Lors de l'hémolyse, elle est libérée et est responsable de la fièvre. En effet, lorsqu'elle est relarguée dans le plasma, elle est phagocytée par les monocytes, les macrophages et les polynucléaires neutrophiles (30).

### **1.6.2. Impact du paludisme sur la rate**

Lors d'infection par le paludisme, la rate devient progressivement hypertrophique, molle et congestive. Cela est dû au rôle physiologique de la rate : elle tente de filtrer les globules rouges parasités. La rate participe donc au contrôle de la parasitémie. Elle parvient à filtrer efficacement les cellules infectées par des parasites adultes comme des schizontes. Cependant, elle filtre moins efficacement les cellules infectées par de jeunes parasites comme les trophozoïtes jeunes.

La couleur de la rate est également caractéristique, elle devient rouge foncé, voire même brune. Ce sont les pigments internalisés par les phagocytes qui sont à l'origine de cette couleur (20).

### **1.6.3. Impact du paludisme sur le foie**

Aucune lésion inflammatoire n'est notée durant la phase de schizogonie exo-érythrocytaire lors d'une infection par le paludisme. La destruction des hépatocytes passe donc inaperçue (14).



## 1.7. Invasion et première phase du parasite

- Transmission du paludisme du moustique à l'humain

La transmission se fait lors d'un repas sanguin, par le moustique Anophèle femelle. La période d'activité de l'Anophèle se situe entre le crépuscule et l'aube.

On peut noter la possible (mais rare) transmission du paludisme par voie sanguine. Cela peut être le cas lors de transfusion, d'accident d'exposition au sang ou bien lors d'échanges de seringues chez les toxicomanes. Cela reste rare puisqu'il faut des globules rouges frais et en parfait état pour que cette transmission ait lieu (20).

La transmission materno-fœtale est possible, mais également rare (15).

- Période d'incubation du paludisme

Elle correspond à la phase hépatocytaire de la pathologie, il y a une absence de symptômes chez le patient contaminé. La période d'incubation varie selon les espèces de *Plasmodium* en cause. Elle est de 7 à 15 jours pour *P. falciparum*, avec une majorité des cas entre 10 et 12 jours. Cette période s'étend de 12 à 18 jours pour *P. vivax* et *P. ovale*, alors que pour *P. knowlesi* elle est de 10 à 15 jours (31).

Il faut faire attention à ces délais pouvant être augmentés en cas de prise de traitements chimioprophylactique, ce qui risque de provoquer un retard de diagnostic qui peut potentiellement avoir des conséquences dramatiques sur la futur prise en charge (32).

- Période de contagiosité

Le moustique ayant eu un repas sanguin sur une personne contaminée devient infestant deux semaines après l'ingestion de *Plasmodium*. Il restera infestant durant toute la durée de sa vie, ce qui varie selon les régions et les conditions climatiques. On considère qu'un moustique vit environ un mois.

Pour les humains, il est possible d'infecter un moustique lorsque les gamétocytes sont présents dans le sang, soit 4 jours après une pique infestante pour *P. vivax* et *P. ovale*, et 15 jours pour *P. falciparum* et *P. malariae* (32).

## 1.8. Clinique du paludisme

### 1.8.1. Primo-invasion = accès palustre simple

C'est le type d'accès fébrile le plus retrouvé en France métropolitaine. Ceci peut s'expliquer par le fait qu'il y a peu de sujets immunisés et donc beaucoup de sujets « neufs » vis-à-vis du paludisme. Beaucoup de voyageurs sont donc touchés par cette forme.

Dans les zones endémiques, c'est la forme que l'on retrouve chez les jeunes enfants (14) (17).

#### - Symptômes de l'accès palustre simple

Ils se caractérisent par l'apparition d'une fièvre brutale ainsi qu'une sensation de malaise général. Il est possible d'avoir des céphalées. Des troubles digestifs sont fréquents. On parle d'ailleurs souvent « d'embarras gastrique fébrile » lors des infections de paludisme.

L'examen clinique est normal, le foie et la rate sont de taille normale, et donc non palpables. Tous ces éléments rendent le diagnostic difficile, et il n'est pas rare de passer à côté d'un diagnostic de paludisme. Par principe de précaution, il faut considérer que toute fièvre survenant dans les trois mois suivant le retour d'un voyage en zone impaludée est un paludisme jusqu'à preuve du contraire (20) (32).

### 1.8.2. Accès palustre simple à fièvre périodique

C'est la forme clinique qui correspond à la triade classique retrouvée dans l'accès palustre. Il y est décrit une succession de trois phases avec des frissons, chaleurs, sueurs qui surviennent tous les deux ou trois jours en fonction de l'espèce infectante. Elle est observée typiquement dans les infections à *P. vivax*, *P. ovale* et *P. malariae* à la suite d'un accès de primo-invasion non traitée. Cette forme peut également apparaître plusieurs années après l'épisode fébrile initial, c'est ce que l'on appelle un accès de reviviscence pour *P. vivax* ou *P. ovale*, ou accès tardif dans le cas de *P. malariae*. Une phase prodromique précède fréquemment ce type d'accès avec une lassitude et des troubles digestifs importants comme des nausées, des vomissements, des diarrhées. L'accès dure environ 10 heures et débute le soir dans la majorité des cas. On retrouve systématiquement le même schéma dans ce type d'accès (20) (33) :

- Stade frisson, durée d'environ une heure : le malade infecté a une sensation de froid intense et des tremblements. Il est parcouru de frissons violents et la fièvre s'élève et

dépasse les 39°C. On note une augmentation du volume de la rate provoquée par l'hyperactivité du système réticulo-histiocytaire, ainsi qu'une chute de la tension artérielle.

- Stade chaleur, durée de 3 à 4 heures : la température peut monter au-delà des 40°C. Le malade a la peau sèche et brûlante, et perçoit une sensation de chaleur étouffante. Cette phase est accompagnée de douleurs abdominales et de céphalées.
- Stade sueurs, durée de 2 à 4 heures : les sueurs sont abondantes et baignent le malade. Les urines sont foncées et la température chute brusquement pouvant parfois entraîner une phase d'hypothermie. La fin de la crise est marquée par une sensation de bien-être et d'euphorie.

En fonction de l'espèce de *Plasmodium*, le rythme des accès est différent. Cela correspond à la schizogonie érythrocytaire. On parlera de fièvre tierce ou de fièvre quarte, mais dans tous les cas, la répétition des accès s'accompagne d'une anémie et d'une splénomégalie croissante, qui peut dans de rares cas conduire à une rupture de la rate (20) (33).

- Fièvre tierce : caractérisée par un clocher thermique à J1, J3, J5 ... Elle correspond à une schizogonie érythrocytaire de 48h retrouvée lors des infections à *P. vivax* ou *P. ovale* appelée fièvre tierce bénigne. Mais elle peut également survenir dans les primo-invasions à *P. falciparum* où elle est dénommée « fièvre tierce maligne ». Dans ce dernier cas, une évolution vers un accès grave est toujours à craindre pour le patient.
- Fièvre quarte : clocher thermique apparaissant à J1, J4, J7 ... Elle correspond à une schizogonie érythrocytaire de 72h retrouvée seulement lors des infections à *P. malariae*.

### **1.8.3. Paludisme viscéral évolutif**

Le paludisme viscéral évolutif est une forme chronique du paludisme qui survient chez les personnes soumises à des infections massives, répétées et souvent mal traitées. Il touche principalement l'enfant âgé de 2 à 5 ans, mais peut également toucher l'adulte non prémuni, comme des expatriés sous chimioprophylaxie insuffisamment efficace. Au niveau clinique, on retrouve une anémie avec les symptômes typiques associés (pâleur, dyspnée, asthénie ...), une

fièvre latente dépassant rarement les 38°C (mais pouvant évoluer par poussées atteignant les 40°C), une splénomégalie importante, un ictère, et chez les enfants un retard de croissance (17).

Le diagnostic peut être difficile en raison du taux de parasitémie qui peut être faible, d'où l'intérêt de méthode « sensible » comme la PCR. La sérologie du paludisme est positive mais avec un taux d'anticorps inférieur à celui retrouvé dans la splénomégalie palustre hyper-réactive.

L'évolution de ce type de paludisme est très nettement favorable avec un traitement antipaludique prolongé (20) (33).

#### **1.8.4. Splénomégalie palustre hyperréactive**

La splénomégalie palustre hyper-réactive, également connue sous le nom de splénomégalie palustre hyper-immune ou maladie de Charmot du nom de la première personne l'ayant décrite, est une forme grave d'infection palustre chronique. Elle est provoquée par une réaction immunitaire intense à la suite d'infections répétées ou prolongées par *P. falciparum*. Des complexes immuns sur-stimulent alors la rate, ce qui entraîne une splénomégalie avec un hypersplénisme. Les lymphocytes B sont donc activés et sont à l'origine d'une production importante d'immunoglobulines M (IgM). Elle est principalement retrouvée chez l'adulte en zone hyper-endémique. Il existe tout de même quelques cas pédiatriques décrits dans la littérature (20).

La splénomégalie palustre hyper-réactive est caractérisée par une parasitémie très faible, voire nulle, rendant l'examen microscopique presque toujours négatif. La PCR présente donc un intérêt majeur pour le diagnostic, ainsi que la sérologie palustre qui est fortement positive.

L'évolution est très lente mais favorable avec un traitement antipaludique (33) (34).

#### **1.8.5. Fièvre bilieuse hémoglobinurique**

La fièvre bilieuse hémoglobinurique est une réaction immunoallergique qui se déclenche suite à la prise de nouveaux antipaludiques, et plus particulièrement de la quinine ou d'autres médicaments de structure chimique apparentée, comme l'halofantrine ou la méfloquine. Elle est marquée par un début brutal avec des lombalgies violentes, une prostration et de la fièvre.

Rapidement des vomissements alimentaires apparaissent puis deviennent bilieux. On retrouve un ictère hémolytique avec une anémie et une hémoglobinurie macroscopique avec des urines « couleur porto » causées par l'hémolyse intravasculaire (35).

Elle apparaît plus facilement chez un expatrié impaludé en zone d'endémie, prenant irrégulièrement les traitements de la famille des amino-alcools. La fièvre bilieuse hémoglobinurique contre-indique donc formellement l'utilisation de cette famille (33).

L'évolution dépend de la prise en charge et de la rapidité du diagnostic pour corriger l'anémie et reprendre une diurèse. Si le diagnostic tarde, la pathologie évolue vers une insuffisance rénale tout d'abord aiguë, puis qui peut évoluer vers une insuffisance rénale chronique par la suite (20).

### **1.8.6. Paludisme grave**

Le paludisme grave est l'évolution clinique de l'accès palustre à *P. falciparum* à redouter, car il est potentiellement mortel. Le décès est alors attribué à une défaillance viscérale à prédominance cérébrale. Ce type d'évolution concerne principalement certaines populations avec des facteurs de risques associés. C'est le cas des âges extrêmes (moins de 5 ans ou plus de 65 ans), des immunodéprimés, de la malnutrition, mais également des personnes considérées comme non immunisées vis-à-vis du parasite comme les femmes enceintes, les enfants de moins de 5 ans et les voyageurs (33).

Le mécanisme prépondérant du paludisme grave, également appelé neuropaludisme, est la séquestration des globules rouges parasités adhérant aux cellules endothéliales de l'hôte. Cette cyto-adhérence des globules rouges aux cellules endothéliales des capillaires engendre une cascade de phénomènes biologiques, provoquant en finalité l'atteinte cérébrale. La cyto-adhérence entraîne une diminution de la lumière capillaire et provoque une occlusion. Cette diminution du flux sanguin pose problème au niveau cérébral, car elle est responsable d'hypoxémie qui peut être aggravée par des anémies et des hypoglycémies, et provoquer de graves lésions cérébrales. Des atteintes d'autres organes, comme les reins, les poumons ou le foie, ainsi que des convulsions et des troubles de la conscience, peuvent également alourdir le tableau clinique et entraîner la mort en quelques heures (30).

L'évolution du paludisme grave reste préoccupante même avec un traitement adapté. Le taux de mortalité se situe aux alentours de 5 % à 10 %. Sans prise en charge, le neuropaludisme est mortel en 2 à 3 jours. La guérison est souvent obtenue sans séquelles chez l'adulte, mais on

considère que 2 % à 10 % des enfants touchés par le paludisme grave garderont des séquelles neurologiques définitives, comme des hémiplegies, une surdité, un tremblement des extrémités ou des troubles du comportement (13) (36).

### 1.8.7. Critères de gravités retenus par l’OMS

Il suffit d’un seul critère de gravité de l’OMS pour que la pathologie soit qualifiée d’accès palustre grave. Cependant, ces critères ont été établis en zone d’endémie. En France, une conférence consensus a eu lieu pour adapter ces critères au paludisme d’importation, ainsi qu’aux différents moyens des hôpitaux. Les critères les plus pertinents à prendre en compte ont ainsi été mis en rouge dans le tableau ci-dessous (37) :

<b>Troubles de la conscience</b>	Score de Glasgow modifié $\leq 9$ chez l’adulte et enfant de plus de 5 ans Score de Blantyre $\leq 2$ chez le petit enfant
<b>Convulsions répétées</b>	$\geq 2$ / 24 heures (malgré la correction de l’hyperthermie)
<b>Prostration</b>	Extrême faiblesse Chez l’enfant : « Impossibilité, de tenir assis pour un enfant en âge de le faire, ou de boire pour un enfant trop jeune pour tenir assis »
<b>Détresse respiratoire</b>	Définition clinique
<b>Ictère</b>	Clinique ou biologique (bilirubine $> 50 \mu\text{mol/L}$ )
<b>Hémoglobinurie macroscopique</b>	Urines rouges foncées ou noires Hémoglobinurie ou myoglobinurie à la bandelette Absence d’hématurie microscopique
<b>Collapsus circulatoire</b>	TAS $< 80$ mmHg chez l’adulte TAS $< 50$ mmHg chez l’enfant
<b>Œdème pulmonaire</b>	Définition radiologique
<b>Saignement anormal</b>	Définition clinique
<b>Anémie grave</b>	Adulte: Hb $< 7$ g/dL ou Hte $< 20$ % / Enfant: Hb $< 5$ g/dL ou Hte $< 15$ %
<b>Hypoglycémie</b>	Glycémie $< 2,2$ mmol/L
<b>Acidose métabolique</b>	pH $< 7,35$ ou bicarbonates $< 15$ mmol/L
<b>Hyperlactatémie</b>	Lactates plasmatiques $> 5$ mmol/L
<b>Hyperparasitémie</b>	$> 4$ % chez un sujet non immun
<b>Insuffisance rénale</b>	Créatininémie $> 265 \mu\text{mol/L}$ après réhydratation ou diurèse $< 400$ mL/24h chez l’adulte ( $< 12$ mL/kg/24h chez l’enfant)

## 1.9. Immunité vis-à-vis du parasite

L'immunité dans l'infection palustre est connue depuis plus de 100 ans. En effet, Ross avait déjà remarqué en 1911 que « *le sang de ceux qui survivent produit graduellement quelque chose qui a le pouvoir de réduire et peut être arrêter l'invasion parasitaire* ». C'est ce que l'on appelle un état de prémunition. Cet état est la réponse du système immunitaire à la pression exercée par le parasite sur celui-ci (1).

Malheureusement, même de nos jours, cette immunité vis-à-vis du paludisme ainsi que les mécanismes qui la provoque n'ont pas encore totalement été élucidés malgré des progrès incontestables, notamment grâce à la connaissance du génome de *P. falciparum*.

### 1.9.1. Immunité naturelle contre le paludisme

Elle reste de nos jours encore complexe et insuffisamment connue. On suppose qu'il existe des facteurs génétiques octroyant à certains sujets une immunité naturelle. Cependant cette immunité reste incomplète et partielle. Deux types de facteurs rentrent en jeu dans ce type d'immunité (38):

- Les facteurs érythrocytaires, comme des modifications de la chaîne  $\beta$  de l'hémoglobine ; c'est le cas des sujets porteurs du trait drépanocytaire (sujet AS = hétérozygote de la drépanocytose), les modifications des taux de synthèse des chaînes de globines (thalassémie) ou encore dans certaines modifications de la membrane des érythrocytes (groupe sanguin Duffy).
- Les facteurs non érythrocytaires, comme les groupes HLA, la variabilité de la réponse immune ainsi que les facteurs ethniques.

### 1.9.2. Immunité acquise contre le paludisme

Cette immunité, ou plutôt cet état de prémunition s'acquiert progressivement pour les sujets exposés continuellement aux piqûres infectantes. Il faut plusieurs années (environ 10 ans) pour la développer. De plus, elle n'est pas définitive. En effet, si un sujet voyage durant plusieurs années dans des zones où le paludisme n'est pas présent, il perd progressivement cette protection. On considère à l'heure actuelle qu'il faut deux à trois ans pour la perdre totalement.

Cet état de prémunition empêche ainsi la survenue des formes grave d'accès palustre mais ne permet pas d'être débarrassé totalement du parasite. C'est donc une immunité non stérilisante et fonction de l'espèce de *Plasmodium* (20).

C'est cette immunité qui explique que, dans les zones de transmission intense, le pic de mortalité a lieu chez les enfants de 5 mois à 2 ans. Durant les cinq premiers mois de leur vie, la protection maternelle a été transmise de la mère à l'enfant, lui conférant une protection. Après leurs 2 ans, les infections chroniques forcent l'enfant à développer une protection de plus en plus efficace contre le parasite.

Cette immunité joue un rôle primordial dans les zones où le paludisme est important car elle permet de réduire drastiquement le nombre de morts adultes (38).

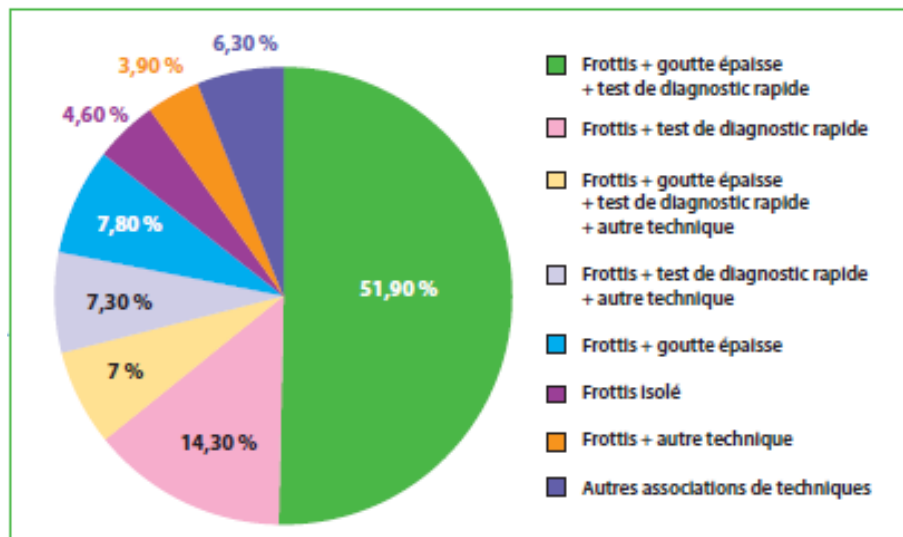


Figure 5 : Différentes méthodes de diagnostic utilisées par les laboratoires français en 2016 (39)

### 1.10. Diagnostic biologique et méthodes d'analyses du paludisme

Le diagnostic du paludisme chez un sujet atteint est un élément essentiel pour une bonne prise en charge. Un retard de diagnostic peut entraîner la survenue d'un accès palustre grave, c'est pourquoi une fièvre au retour d'un séjour en zone endémique, ou durant un séjour dans cette zone, doit conduire à une démarche diagnostique. En France, trois tests sont utilisés dans la majorité des diagnostics : le frottis mince, la goutte épaisse et le test de diagnostic rapide (détaillés ci-dessous).



### 1.10.1. Signes d'orientation

- Les signes d'orientation clinique : il faut considérer que « *toute fièvre au retour d'une zone d'endémie est un paludisme jusqu'à preuve du contraire* » (15).
- Les signes d'orientation biologique peuvent avoir une bonne valeur d'orientation. C'est le cas d'une thrombopénie (taux de plaquettes inférieur à 150 g/L) et d'une anémie. Cependant l'anémie peut être absente, c'est souvent le cas lors d'un accès de primo-invasion (39) (40).

### 1.10.2. Diagnostic biologique direct

C'est un diagnostic qui est basé sur des techniques microscopiques à la suite d'un prélèvement de sang périphérique. Il suffit de recueillir sur une lame de microscope quelques gouttes de sang par piqure au bout du doigt, du lobe d'oreille ou du talon.

#### - Frottis mince

C'est un examen de référence, simple à mettre en œuvre et obtenu par étalement d'une goutte de sang puis coloration par la méthode de May-Grünwald-Giemsa après une fixation à l'alcool. C'est la seule technique qui permet de détecter le parasite, de calculer la charge parasitaire et de différencier les différentes espèces de *Plasmodium*. Cependant la quantité de sang examiné par cette méthode reste faible comparée à la méthode par goutte épaisse, ce qui peut conduire à de faux négatif en cas de parasitémie faible puisque le seuil de détection est de 100 parasites/ $\mu$ L de sang (sensibilité de 10 à 30 fois moindre). Elle est plus rapide que le diagnostic par goutte épaisse avec un délai de réponse d'environ une heure, mais ce délai peut être augmenté en fonction du nombre de champs microscopiques analysés. La lecture doit comprendre au minimum 200 champs microscopiques et si le diagnostic par goutte épaisse n'est pas réalisable, il faut analyser 800 champs pour atteindre une sensibilité similaire. Pour ces différentes raisons, on recommande d'associer un frottis mince et une goutte épaisse pour le diagnostic (39) (40).



Figure 6 : Exemple d'une lame de frottis sanguin avant coloration (39)

### - **Goutte épaisse**

C'est une technique ancienne, délicate et nécessitant plus de temps pour sa réalisation, avec un délai de réponse inférieur à 2 heures. Elle repose sur l'observation de quelques microlitres de sang après une hémolyse et une coloration par la méthode Giemsa. Son principe est basé sur une concentration des parasites sur une surface moins étendue que le frottis, ainsi que sur une quantité de sang observée supérieure, ce qui rend sa sensibilité bien meilleure avec un seuil de détection à 10 parasites/ $\mu\text{L}$  de sang. Cependant cette méthode ne permet pas (ou difficilement) l'identification de l'espèce de *Plasmodium* (39) (41).



Figure 7 : Exemple d'une lame de goutte épaisse avant coloration (39)

### - **Fluorescence directe ou QBC malaria test®**

C'est une technique de concentration utilisant un fluorochrome, l'acridine orange, qui est un agent intercalant. Cet agent se fixe sur les noyaux parasitaires. L'échantillon sanguin est ensuite placé dans des microtubes capillaires puis il est centrifugé permettant ainsi la séparation des différentes couches cellulaires. Il ne reste plus qu'à observer la couche érythrocytaire à la lumière ultraviolette (480 nm) pour voir les hématies qui renferment de l'acridine orange. C'est une méthode qui présente une bonne sensibilité avec un seuil de détection de 10 parasites/ $\mu\text{L}$  de sang (équivalente à la goutte épaisse) mais qui nécessite du matériel, comme le microscope à fluorescence, mais qui ne permet ni de quantifier la parasitémie, ni de déterminer l'espèce de *Plasmodium* en cause. Cependant elle permet un délai de réponse rapide de l'ordre de 10 à 15 minutes (39) (40).

### **1.10.3. Diagnostic biologique indirect**

#### - Détection de protéines plasmodiales (antigènes) par immunochromatographie

Cette technique correspond au Test de Diagnostic Rapide (TDR) apparu dans les années 1990. Ce test a pour but de mettre en évidence la présence d'antigènes ou d'enzymes de *Plasmodium*

à partir d'une goutte de sang placée sur un support solide (cassette ou bandelette) où s'effectue ensuite une immunochromatographie. Relativement rapide (les résultats sont obtenus en 15 à 30 minutes), simple d'utilisation et peu coûteux, ces tests sont idéals dans le cadre de campagnes de dépistage à grande échelle où l'absence de moyen microscopique fait défaut. Ils ne sont cependant pas recommandés en première intention pour le diagnostic car leur sensibilité pour certains types de *Plasmodium* reste médiocre, notamment pour *P. ovale*, *P. malariae* et *P. knowlesi* et de fausses négativités peuvent être rencontrées en cas de parasitémie faible, on considère leurs seuils de détection à 100 parasites/ $\mu$ L (20) (39). En France, ce type de test est très largement utilisé dans les hôpitaux et laboratoires. En effet, les TDR sont utilisés dans plus de 80 % des diagnostics (figure 5). Ils sont le plus souvent associés à un frottis et à une goutte épaisse (51,9 % des cas) (figure 5).

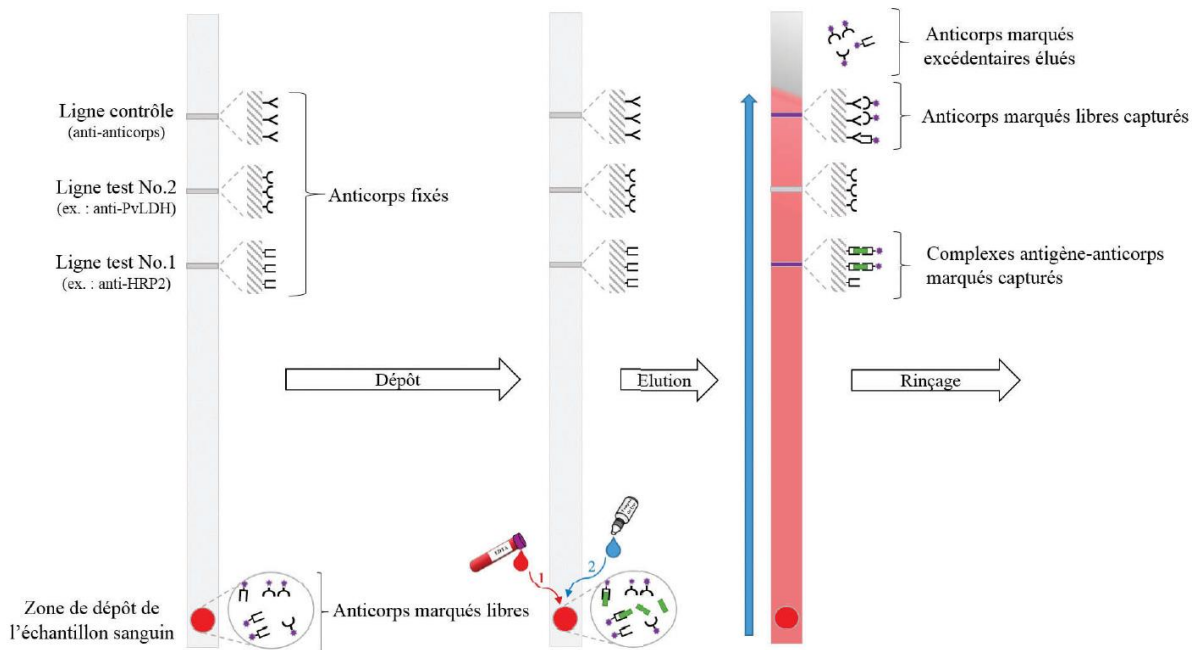


Figure 8 : Principe de fonctionnement d'un test de diagnostic rapide (40)

Les réactions des TDR utilisent 2 types de protéines : les spécifiques d'espèces et les pan-plasmodiales. Les protéines spécifiques d'espèces sont produites par les stades sanguins de *P. falciparum*. Une des principales protéines employées dans les TDR est *P. falciparum* Histidin Rich protein-2 (PfHRP2) qui est exprimée par *P. falciparum*. Il existe 2 protéines pan-plasmodiales utilisées, elles sont communes aux cinq espèces de *Plasmodium*. La première est l'aldolase plasmodiale qui possède une bonne sensibilité pour *P. falciparum* et *P. vivax* mais moindre pour les autres espèces. La seconde est la lactate déshydrogénase plasmodiale (pLDH).

Certains TDR ciblent pLDH spécifique de certaines espèces, comme la Pv pLDH qui cible *P. Vivax* (figure 9) ou la Pf pLDH qui cible *P. falciparum*. (39)

Le principe des TDR est relativement simple. Une goutte de sang est appliquée sur le site de dépôt où le fabricant a préalablement déposé des anticorps marqués. Un tampon de lyse jouant le rôle d'agent d'élution est ensuite ajouté, ce qui permet la migration des différents complexes immuns par capillarité. Ces complexes sont ensuite stoppés par d'autres anticorps fixés sur la bandelette et forment une bande colorée (figure 8). Il est ensuite possible de définir si le patient est atteint ou non. Dans l'exemple de la figure 8, il est possible de constater que seules les lignes test N°1 et ligne contrôle ont réagi (pas de coloration pour la N°2), le patient souffre donc d'un paludisme à *P. falciparum*. (40) (42)

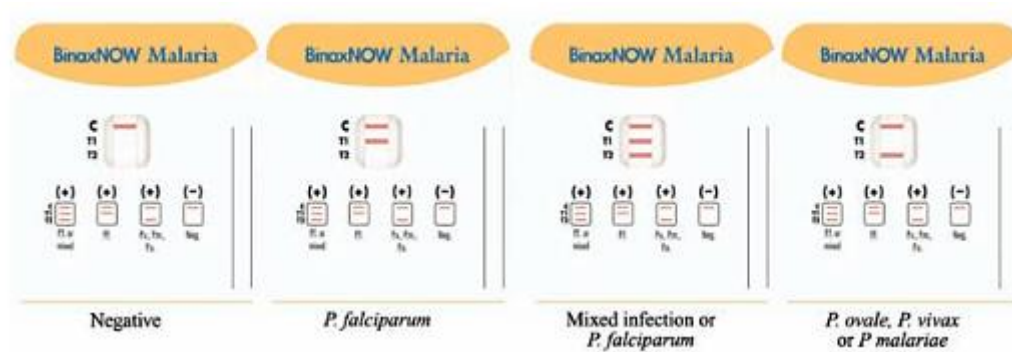


Figure 9: Exemple d'un test de diagnostic rapide antigénique (Binax Now) (42)

#### - Détection d'acide nucléique

La réaction en chaîne par polymérase ou PCR est une technique de détection basée sur la recherche d'acide nucléique spécifique de chaque espèce de *Plasmodium* ou de séquences communes au genre *Plasmodium*. Elle permet une identification efficace des espèces (même en cas de co-infection), la quantification de la charge parasitaire et rend possible la détection de très faibles parasitemies grâce à une sensibilité très élevée (seuil de détection de 0,005 à 1 parasites/ $\mu$ L de sang). Malgré tous ces avantages, c'est une technique qui reste longue avec un délai de réponse de plus de deux heures et très coûteuse à mettre en œuvre, rendant son utilisation rare dans le diagnostic d'urgence.

Une nouvelle technique, la « Loop Mediated Isothermal Amplification » (LAMP) permet de considérablement réduire le délai de rendu des résultats comparé à la PCR (environ 40 minutes). Elle possède une sensibilité quasiment identique à cette dernière (seuil de détection de 0,2 à 2 parasites/ $\mu$ L de sang) et pourrait permettre à la biologie moléculaire de retrouver une place de

choix dans le diagnostic du paludisme. Elle ne permet cependant pas le diagnostic d'espèce (39)(40).

- Détection d'anticorps

La sérologie est très rarement utilisée dans la démarche diagnostique, il ne faut pas la confondre avec les tests antigéniques. Les anticorps sont produits seulement 10 à 20 jours après le premier contact avec le parasite par les plasmocytes issus des lymphocytes B. C'est une démarche qui peut être utile dans les formes chroniques de paludisme qui associe une réponse immunologique marquée et une faible charge parasitaire, comme le paludisme viscéral évolutif ou la splénomégalie palustre hyperactive qui sont des pathologies diagnostiquées dans leurs grandes majorités chez des sujets résidant dans des zones endémiques et non chez les voyageurs. La sérologie peut également servir à mettre en évidence un contact antérieur avec le parasite (diagnostic rétrospectif) puisque sa positivité peut perdurer jusqu'à 2 ans après l'épisode infectieux ainsi que dans la prévention du paludisme transfusionnel (les hématies renfermant le parasite) (39) (43).

## 2. Molécules utilisées contre le paludisme

A l'heure actuelle, il existe diverses molécules et associations de principes actifs pour le traitement du paludisme pouvant également être utilisées en prophylaxie. Le traitement ainsi que la chimioprophylaxie n'ont cessé d'évoluer depuis les années 1950.

Malheureusement, au cours de son évolution, le parasite a lui aussi réussi à s'adapter, et l'une des difficultés majeures de notre époque réside actuellement dans la progression des formes résistantes de *P. falciparum* (particulièrement à la chloroquine, utilisée massivement dans la deuxième moitié du 20<sup>ème</sup> siècle), ce qui de nos jours pose un sérieux problème de santé publique.

### 2.1. Traitement curatif et prophylactique de *Plasmodium sp*

#### 2.1.1. Traitements existants : prophylaxie ou curatif

Il existe diverses molécules pour lutter contre le paludisme. Ces molécules peuvent être utilisées en prophylaxie (principalement chez les voyageurs), mais également en traitement curatif. Le choix du traitement dépendra donc des zones de voyages dans le cas de la prophylaxie, et des signes de gravité clinique dans le cas d'un traitement curatif (44).

L'objectif du traitement sera double : traiter la phase aiguë de la pathologie et empêcher les accès de reviviscences tardifs dus à des formes dormantes hépatiques.

Les traitements les plus récents reposent sur des combinaisons à base d'artémisinine. C'est ce que l'on appelle les ACT pour « Artemisinin-based Combination Therapy » (45) (46).

Tableau 1: Les différents antipaludiques commercialisés (44) (47)

Famille	DCI	Nom spécialité	Classe pharmaceutique	Mode d'action	Traitement / Prophylaxie
Dérivés quinoléiques	Quinine	Quinamax® Surquina®	Amino-alcools	Schizonticides rapide	Curatif
	Méfloquine	Lariam®	Amino-alcools	Schizonticides rapide	Prophylaxie + Curatif
	Chloroquine	Nivaquine®	Amino-4 quinoléines	Schizonticides rapide	Curatif + Prophylaxie
	Primaquine	/	Amino-8 quinoléines	Gametocytocides	Curatif
Antifolate	Proguanil	Paludrine®	Buguanide	Schizonticides lent	Prophylaxie
Association à base d'antifolate	Proguanil + chloroquine	Savarine®	Buguanide + Amino-4 quinoléines	Schizonticides lent	Prophylaxie
	Proguanil + atovaquone	Malarone®	Biguanide + Naphtoquinone	Schizonticides lent	Curatif + Prophylaxie
Artémisinine	Artésunate	Malacef®	Sesquiterpènes	Schizonticides rapide	Curatif
ACT (combinaison Artémisinine + dérivés quinoléique)	Luméfantrine + artémether	Riamet®	Amio-alcools + sesquiterpène	Schizonticides rapide	Curatif
	Pipéraquine + arténimol	Eurartésim®	Amino-4 quinoléines + sesquiterpène	Schizonticides rapide	Curatif
Antibiotique	Doxycycline	Doxy® Doxypalu® Granudoxy®	Tetracycline	Schizonticides	Prophylaxie

### 2.1.2. Mode d'action et mécanismes des antipaludiques

Actuellement, il existe 3 principaux modes d'actions. Le premier, les schizonticides, représentent la plupart des antipaludiques. Il faut ainsi différencier les schizonticides sanguins qui suppriment les schizontes dans la circulation sanguine et les schizonticides tissulaires qui ont une action durant la phase hépatique. Le second mode, les gametocytocides, détruisent les formes sexuées du parasite. Enfin le troisième mode concerne les sporontocides qui bloquent le cycle sporogonique chez l'*Anophèle* (47) (48).

Quant aux différents mécanismes d'action des antipaludiques, ils sont encore pour certains mal connus. A ce jour, il existe quatre mécanismes décrits. Une meilleure connaissance de ces mécanismes pourrait permettre une lutte plus efficace contre le parasite (49).

#### 2.1.2.1. Les lysosomotropes

Les lysosomotropes sont représentés par les amino-4-quinoléiques, les amino-alcools ainsi que les dérivés de l'artémisinine.

Les amino-4-quinoléiques et les amino-alcools visent spécifiquement la vacuole digestive du parasite en s'accumulant dans celle-ci, et empêchent la digestion de l'hémoglobine. Durant le processus classique de protéolyse de l'hémoglobine, la ferriprotoporphyrine IX est libérée. Elle est ensuite transformée rapidement en hémozoïne, car elle se révèle toxique pour les membranes

du parasite. C'est en empêchant cette transformation que les différentes molécules détruisent le parasite.

Dans le cas des dérivés de l'artémisinine, c'est la production de radicaux libres au niveau de la vacuole digestive qui favorise ce phénomène de destruction (47)(50).

#### 2.1.2.2. Les antimétabolites

Les antimétabolites sont représentés par les biguanides et les naphtoquinones. Les biguanides inhibent la voie métabolique de synthèse de l'acide folique du parasite, ce qui altère la biosynthèse des pyrimidines et donc celle de l'ADN. La croissance des *plasmodiums* est ainsi stoppée. Les naphtoquinones ont un mécanisme relativement similaire en bloquant directement la biosynthèse des pyrimidines via les mitochondries et donc celle de l'ADN.

Il existe deux cibles de blocage : la DiHydroFolate Réductase (DHFR) et la DiHydroPtéroate Synthase (DHPS).

L'apparition de résistance à ces molécules est rapide, c'est pourquoi il faut les utiliser en association pour une meilleure efficacité (47) (51).

#### 2.1.2.3. Les antibiotiques

Les antibiotiques utilisés dans les traitements et la prévention du paludisme sont essentiellement des cyclines. La doxycycline est la plus utilisée. Ils agissent sur le ribosome 70S, inhibent la synthèse des protéines et provoquent une dérégulation du taux de protéines (47).

#### 2.1.2.4. Les gamétocytocides

Les gamétocytocides sont représentés par les amino-8-quinoléines. C'est une classe peu utilisée du fait de sa toxicité. Ils inhibent la transformation des gamétocytes présents dans le sang en gamètes chez les moustiques, ce qui bloque le cycle et la transmission de l'espèce plasmodiale (47).

## 2.2. Traitement curatif de l'accès palustre

Toute fièvre au retour d'un séjour dans un pays endémique, associée ou non à d'autres symptômes doit faire évoquer le diagnostic de paludisme, même si un traitement chimioprophylactique a été mis en place durant le séjour.



Le traitement délivré au patient doit prendre en compte différents aspects pour être le plus efficace possible :

- les critères liés au patient, tels que son âge et la zone de provenance géographique
- les critères liés à l'espèce plasmodiale ainsi qu'aux différents traitements prophylactiques ou curatifs déjà pris par le passé.

Il est toujours recommandé d'effectuer les examens microscopiques avant de commencer un traitement. Un examen clinique n'est pas suffisant pour instaurer un traitement, sauf si aucun autre examen n'est possible.

Un traitement en ambulatoire chez le patient sera toujours à privilégier dans les formes non compliquées, mais divers critères sont à respecter : diagnostic d'espèce certain, absence de facteur de mauvaise observance, absence de facteur de risque, disponibilité de l'antipaludique, suivi possible à J3 et J7, proximité d'un centre hospitalier ainsi que parasitémie < 2% (52).

### **2.2.1. Prise en charge d'une forme non compliquée d'accès palustre**

Une forme non compliquée de paludisme se traduit par un épisode aigu de paludisme avec une absence de signes de gravité.

#### 2.2.1.1. Prise en charge chez l'adulte (forme non compliquée)

##### ✓ Pour *Plasmodium falciparum* :

Le traitement de première intention est une combinaison à base de dérivés de l'artémisinine (ACT). Il existe deux associations possibles avec Artémether + Luméfantine (Riamet®) ou avec Arténimol + Pipéraquline (Eurartésim®).

En deuxième ligne, en cas d'intolérance, de contre-indication ou d'échec thérapeutique, c'est l'association Proguanil + Atovaquone (Malarone®) qui est recommandée.

En traitement de dernière intention car toxique, c'est la quinine qui est utilisée, mais avec un suivi strict du patient basé sur des frottis sanguins, ainsi que des gouttes épaisses aux 3ème, 7ème et 28ème jour, afin de vérifier l'efficacité du traitement (44)(52).

##### ✓ Pour *Plasmodium vivax, ovale, malariae et knowlesi* :

Les traitements de première intention sont la chloroquine (Nivaquine®) ou un dérivé de l'artémisinine. Cependant, il ne faut les utiliser qu'en cas de certitude du diagnostic

d'espèce. Le dérivé de l'artémisinine devra être privilégié en cas de retour de voyage dans une zone de chloroquino-résistance, comme l'Asie du Sud-Est.

Concernant les accès de reviviscence possibles avec *P. vivax* et *P. ovale*, ils sont traités avec une molécule active sur les formes « dormantes » hépatiques, comme la primaquine, uniquement disponible en ATU nominative (autorisation temporaire d'utilisation). Une absence de déficit en G6PD (glucose-6-phosphate déshydrogénase) est à écarter avant le début de ce traitement pour éviter un risque de non efficacité du traitement (52) (53).

#### 2.2.1.2. Prise en charge chez l'enfant (forme non compliquée)

✓ Pour *Plasmodium falciparum* :

Les dérivés de l'artémisinine sont la première ligne de traitement recommandé. L'association atovaquone + proguanil (Malarone®) et la méfloquine (Lariam®) peuvent également être utilisés en deuxième intention.

Chez l'enfant, il est préférable de débiter le traitement à l'hôpital, puis de le poursuivre en ambulatoire si cela est possible (54).

✓ Pour *Plasmodium vivax, ovale, malariae et knowlesi* :

L'atovaquone + proguanil (Malarone®) ou la chloroquine sont indiqués en première ligne. La primaquine est également utilisable dans les mêmes conditions que chez le patient adulte (54).

#### 2.2.1.3. Prise en charge chez la femme enceinte (forme non compliquée)

Il doit toujours y avoir une hospitalisation chez la femme enceinte. Durant le premier trimestre de grossesse, les traitements de premières intentions sont la quinine, ainsi que l'atovaquone + proguanil (Malarone®). A partir du deuxième trimestre, c'est l'association artéméther + luméfántrine (Riamet®) qui est conseillée (55) .

### 2.2.2. Prise en charge de l'accès palustre grave

Tout cas de paludisme grave doit impérativement faire l'objet d'une hospitalisation en urgence, soit dans une unité de soins intensifs, soit dans une unité de réanimation.

Les formes compliquées représentent 10% des cas de paludisme et sont le plus souvent causées par *P. falciparum* (46) (37).

#### 2.2.2.1. Prise en charge chez l'adulte (forme grave)

La mise en place du traitement doit être immédiate et repose sur l'administration en intraveineuse d'artésunate (Malacef®). Après trois jours, le traitement pourra être poursuivi *per os* si l'état du patient le permet avec un traitement d'ACT (30).

A défaut d'artésunate (Malacef®) intraveineux, la quinine peut être utilisée en perfusion.

#### 2.2.2.2. Prise en charge chez l'enfant et la femme enceinte (forme grave)

La prise en charge est identique à celle de l'adulte. Les doses de charge sont exclues chez les enfants (54).

### 2.3. Traitements préventifs de l'accès palustre

La prévention contre le paludisme est aujourd'hui indispensable pour les voyageurs se déplaçant dans des zones à risques. Le pharmacien d'officine est un acteur essentiel de cette prévention qui s'articule autour de deux grands axes : la chimioprophylaxie et la lutte contre les piqûres de moustiques. Pour cela, il doit désormais se référer aux recommandations sanitaires du Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire, et non plus aux différents documents qui classaient les régions en différents groupes (groupe 1, 2 ou 3), en fonction du risque de transmission, car ceux-ci ne sont plus valables. En effet, les résistances à certains traitements ont provoqué des changements de recommandation.

Dans les zones à faible risque, la protection personnelle antivectorielle peut être suffisante pour une protection efficace.

En revanche, dans les zones à risque modéré, voire élevé de transmission, seule, elle n'est pas suffisante. Il faudra ajouter une chimioprophylaxie antipaludique qui sera à adapter individuellement à chaque voyageur.

Il est important de signaler que des mesures personnelles de lutte antivectorielle, même complémentées par une chimioprophylaxie antipaludique, ne garantissent pas une protection

absolue aux voyageurs. Il sera donc important de signaler toute fièvre au retour d'une zone d'endémie palustre, et ce, durant 3 mois (56).

### **Chimio prophylaxie antipaludique**

La chimioprophylaxie antipaludique vise principalement à réduire les infections à *P. falciparum*, car ce sont les plus dangereuses et les plus mortelles. La pertinence d'une chimioprophylaxie repose sur une analyse du voyage (climat, saison, durée du séjour, activités), mais également du profil du patient (âge, sexe, état de santé, poids, grossesse ...). Dans tous les cas, la chimioprophylaxie ne peut être délivrée que sur ordonnance (57).

Deux types de voyages sont à distinguer (56) :

- Le séjour « conventionnel » : c'est le séjour touristique, de moins d'un mois, avec nuit à l'hôtel et visite de lieux touristiques.
- Le séjour « non conventionnel » : c'est le séjour de plus d'un mois, dans des conditions de logements plus précaires (tente, zones rurales). C'est plus souvent le cas des missions humanitaires, militaires ou routard.

Il existe 5 schémas prophylactiques recommandés (56) :

- ✓ Pour *P. falciparum* trois médicaments sont possibles. L'association proguanil + atovaquone (Malarone®), la doxycycline (Doxypalu®) et la méfloquine (Lariam®). Le choix dépendra de la tolérance et de la facilité d'utilisation. Il est également important de prendre en compte le facteur économique. En effet, ces molécules ne sont pas remboursées.
- ✓ L'association chloroquine + proguanil (Savarine®) est rarement utilisée car son efficacité est limitée. Elle est recommandée uniquement en cas de contre-indication aux trois traitements précédents.
- ✓ La chloroquine est indiquée si le patient voyage dans la zone Amérique Tropicale ou Caraïbes. Il faut s'assurer de l'absence de résistance avant de s'orienter vers cette classe médicamenteuse.

## **2.4. Protection individuelle et lutte antivectorielle en prévention du paludisme**

La protection individuelle est indispensable même si un traitement chimioprophylactique a été démarré, car aucune des protections n'est fiable à 100%.

La lutte contre le moustique est primordiale dans la prévention du paludisme. Les vecteurs du paludisme, les anophèles femelles, piquent de la tombée de la nuit au lever du soleil. C'est donc durant cette période qu'il faut se protéger au maximum (58).

### **2.4.1. Vêtements**

Il est recommandé de porter des vêtements longs, couvrants, épais, et dans l'idéal imprégnés d'insecticide à base de pyréthrianoïde ou de répulsif. La protection du bas des jambes et des chevilles est primordiale (44) (59) (60).

### **2.4.2. Moustiquaire imprégnée**

L'utilisation de moustiquaires imprégnées est la meilleure protection pour dormir. Elles possèdent à la fois un effet insecticide et un effet insectifuge. Cependant, il faut que la moustiquaire soit en bon état et bien utilisée (bordée sous le matelas ou reposant sur le sol), afin que son efficacité soit totalement assurée. Il est possible d'acheter des moustiquaires déjà imprégnées ou de le réaliser soi-même. La durée d'efficacité est en général de 6 mois et le produit résiste aux lavages.

Il est également possible d'installer des moustiquaires grillagées aux portes et aux fenêtres. Elles empêchent les moustiques de pénétrer à l'intérieur du domicile et assurent une bonne protection (44) (59) (60).

### **2.4.3. Insecticides**

Les insecticides peuvent être une solution efficace de lutte contre le moustique en complément d'autres moyens de prévention. On les trouve sous forme de diffuseurs électriques à brancher à

l'intérieur des maisons. Il est nécessaire de changer régulièrement la tablette ou la recharge d'insecticides pour préserver leur efficacité (44) (59) (60).

#### 2.4.4. Répulsifs cutanés

Les répulsifs cutanés ont pour but d'éloigner les moustiques et autres insectes, mais sans les tuer. Il faut les appliquer sur toutes les parties découvertes du corps, visage compris, en prenant soin de ne pas en ingérer ou d'en mettre dans les yeux. Leur efficacité est variable en fonction de la transpiration, de la concentration, de la baignade ou de l'application de crème solaire (qui diminue l'efficacité), et varie généralement en fonction de la durée (protection de 4 à 12 heures).

Concernant les différentes molécules, quatre ont reçu un avis favorable : le DEET, IR3535, KBR3023 et PMDRBO. Chez la femme enceinte il faut privilégier l'IR3535.

Tableau 2 : Répulsifs recommandés pour lutter contre les anophèles selon l'âge (56)

Nombre maximal d'application(s) quotidienne(s)						
Substance active et concentration		À partir de 6 mois et tant que l'enfant ne marche pas	Dès que l'enfant marche et jusqu'à 24 mois	> 24 mois à 12 ans	> 12 ans	Femmes enceintes
DEET <sup>2,3</sup> (N1,N-diéthyl-m-toluamide)	10 à 20%		Posologie en fonction des indications de l'AMM	Posologie en fonction des indications de l'AMM	Posologie en fonction des indications de l'AMM	Utilisable uniquement si risque de maladie vectorielle  Posologie en fonction des indications de l'AMM
	30 à 50%			Posologie en fonction des indications de l'AMM	Posologie en fonction des indications de l'AMM	Utilisable uniquement si risque de maladie vectorielle  Posologie en fonction des indications de l'AMM
IR3535 <sup>4</sup> (N-acétyl-N-butyl-β-alaninate d'éthyle)	20%	1*	2*	2*	3*	3*
	25 à 35%			2*	3*	
KBR3023 <sup>5</sup> (Carboxylate de Sec-butyl 2-(2-hydroxyéthyl) pipéridine-1 / Icaridine)	20%			2*	3*	3*
	25%			2*	3*	
PMDRBO <sup>5</sup> (mélange de cis- et trans-p-menthane-3,8 diol) ou 2-Hydroxy-α,α,4-triméthylcyclohexanemethanol	19 à 20%	1*	2*	2*	3*	
	25%	1*	2*	2*	3*	

Le nombre d'applications par jour dépend de l'âge du patient : une fois par jour pour un enfant de 6 mois à l'âge de la marche, puis deux fois par jour de l'âge de la marche à 12 ans, et enfin trois fois par jour à partir de 12 ans (44) (59) (60).

#### 2.4.5. Réduction des gîtes larvaires

Dans les pays où le paludisme est omniprésent, il est nécessaire de limiter la densité de moustiques. Il est possible de réduire ces gîtes larvaires en aménageant l'environnement, avec des travaux de drainage, ou en limitant les points d'eau stagnante. La lutte chimique est utilisée pour détruire les gîtes larvaires avec des insecticides. Des moyens plus originaux sont également apparus, comme l'introduction de prédateur pour les moustiques, ou le lâcher de mâles stériles (44) (59) (60).

#### 2.4.6. Moyens inefficaces de prévention contre le paludisme et les moustiques

Ce sont des moyens de lutte très répandus pour certains, mais qu'il ne faut pas utiliser dans les pays impaludés. Les huiles essentielles, l'homéopathie, les bracelets anti-moustiques, les appareils à ultrasons, ou encore les serpentins fumigènes sont tous à bannir dans la prévention du paludisme. Certains peuvent avoir une légère efficacité, mais de quelques minutes seulement, ce qui n'est pas efficace dans la protection individuelle (56).

Tableau 3: Efficacité des différents moyens de prévention contre les piqûres de moustiques (56)

<b>Moyens les plus efficaces</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Moustiquaire imprégnée d'insecticide pour un berceau ou une poussette pour un enfant avant l'âge de la marche</li> <li>• Moustiquaire imprégnée d'insecticide</li> <li>• Moustiquaires grillagées aux fenêtres et portes</li> <li>• Répulsifs cutanés</li> </ul>
<b>Moyens de bonne efficacité</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Vêtements imprégnés d'insecticide</li> <li>• Diffuseur électrique d'insecticide (à l'intérieur)</li> </ul>
<b>Moyens d'efficacité relative</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Raquettes électriques</li> <li>• Pulvérisation intra-domiciliaire de « bombes » insecticides (disponibles dans le commerce)</li> <li>• Climatisation</li> <li>• Ventilation</li> <li>• Serpentin fumigène (extérieur)</li> <li>• Moustiquaire non imprégnée d'insecticide</li> </ul>
<b>Moyens inefficaces à ne pas utiliser</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• les bracelets anti-insectes pour se protéger des moustiques et des tiques</li> <li>• les huiles essentielles dont la durée d'efficacité, généralement inférieure à 20 minutes, est insuffisante</li> <li>• les appareils sonores à ultrasons, la vitamine B1, l'homéopathie, les rubans, papiers et autocollants gluants sans insecticide</li> </ul>

## 2.5. Vaccin contre le paludisme

A l'heure actuelle, après l'échec des mesures antivectorielles ou des traitements médicamenteux, un vaccin antipaludique efficace semble être l'option la plus probable en vue de l'éradication mondiale du paludisme. Malheureusement, malgré de nombreux espoirs suscités par les différents candidats vaccins, aucun à ce jour ne peut revendiquer une efficacité suffisante vis-à-vis du paludisme. Pour considérer un vaccin comme pleinement efficace, il faut que la réponse immunitaire qu'il engendre surpasse l'immunité naturelle acquise par l'exposition au parasite. Cependant, même un vaccin à l'efficacité modeste peut, à ce jour, être une solution pour diminuer le fardeau qu'est le paludisme en Afrique (61).

Trois types de vaccins pourraient voir le jour :

- Le vaccin pré-érythrocytaire. Il bloque complètement l'infection en empêchant les parasites d'atteindre le sang. Celui-ci bloquerait donc la pathologie ainsi que la transmission.
- Le vaccin qui cible la phase sanguine de la pathologie. Il empêche la pathologie de se développer au niveau clinique mais ne prévient pas l'infection.
- Enfin le vaccin qui cible le stade sexuel de la pathologie. Il bloque ainsi la transmission mais n'empêche ni l'infection ni le développement au niveau clinique de la pathologie (61).

Un vaccin s'est démarqué des autres, tant dans le monde médiatique (financement par la fondation Bill Gattes et soutien par l'OMS) que dans le monde scientifique. Ce vaccin dénommé RTS,S/AS1 est le seul parmi plus de 30 candidats vaccins à avoir reçu un avis scientifique favorable de la part de l'Agence Européenne du Médicament (EMA) en 2015. L'OMS a ensuite recommandé son utilisation selon un schéma de 3 doses à 1 mois d'intervalle puis une dose administrée 15 à 18 mois après la troisième dose chez des enfants de 5 à 17 mois. Il s'adresse essentiellement aux populations pédiatriques dans les zones de forte transmission pour l'instant. C'est un vaccin qui cible le stade pré-érythrocytaire du parasite, mais son efficacité ne dépasse pas les 40 % et tombe parfois à des taux bien inférieurs ... ce qui soulève de nombreuses interrogations dans le mode scientifique quant à son utilisation systématique. Dans le cadre de son essai clinique de phase 3 de 2009 à 2014, l'OMS a annoncé que le vaccin permettait d'éviter 39 % d'infections palustres simples et 29 % de paludismes graves (11) (62) (63).



Plusieurs motifs poussent à croire en la faisabilité d'un vaccin (64) :

- ✓ Une immunité naturelle parvient à être acquise après plusieurs années de pression sur le système immunitaire par le parasite.
- ✓ Les mères immunes transmettent des anticorps maternels conférant une protection de plusieurs semaines à quelques mois à leurs nouveau-nés.
- ✓ Des essais ont prouvé une protection vaccinale grâce à l'injection de sporozoïtes irradiés.
- ✓ Des essais ont montré l'immunisation d'animaux et d'Hommes grâce à des vaccins ADN ou avec des protéines recombinantes, mais dont l'efficacité était insuffisante, ou la durée de l'immunité trop courte pour avoir un intérêt en Santé Publique.

Cependant, plusieurs problèmes rendent difficile l'élaboration de ce vaccin (64) :

- ✓ La stratégie du parasite pour échapper au système immunitaire
- ✓ L'existence de différentes espèces de *Plasmodium*
- ✓ Les multiples stades de développement du parasite
- ✓ La labilité de l'immunité acquise après plusieurs années de pression du parasite sur le système immunitaire.
- ✓ Le grand nombre d'antigènes exprimés
- ✓ La mise au point de vaccin sur des modèles animaux plutôt qu'à la suite d'essais cliniques pouvant biaiser la sélection d'antigènes, en écartant des antigènes candidats vaccins non efficaces chez l'animal, mais efficaces chez l'homme.
- ✓ Le manque d'intérêts économiques des grandes industries pharmaceutiques face à des populations défavorisées touchées par la pathologie.

Un vaccin antipaludique efficace pourrait avoir de nombreux avantages. Il compléterait et augmenterait l'arsenal thérapeutique à disposition pour lutter contre le paludisme dans les zones de fortes endémies. Il permettrait de contourner et de diminuer les résistances croissantes aux différents antipaludiques. L'administration d'un vaccin est également moins contraignante que la chimioprophylaxie pour les patients. Tous ces avantages rendent le vaccin antipaludique particulièrement attractif et pourrait devenir le moyen de lutte principale contre le parasite. En attendant, dans la mesure où ce vaccin ne répond pas encore aux exigences, l'utilisation de la plante *Artemisia annua* pourrait permettre à ces populations de posséder et d'accéder à un traitement peu coûteux et efficace dans la lutte contre le fléau qu'est le paludisme en Afrique.

## 2.6. Résistances aux traitements antipaludiques

Les résistances aux différents antipaludiques posent d'énormes problèmes de Santé Publique et obligent les praticiens à faire évoluer leurs attitudes thérapeutiques. C'est un frein économique important, plus particulièrement dans les pays pauvres où le paludisme est omniprésent. Elles sont apparues dans le courant des années 1960, avec notamment les résistances à la chloroquine. *Plasmodium falciparum* développe des résistances à quasiment tous les antipaludiques actuels, y compris les plus récents, comme les combinaisons à base d'artémisinine (figure 10).

La connaissance des mécanismes de résistances paraît aujourd'hui primordiale. Elle permet d'identifier de nouveaux marqueurs pour de futurs traitements, de développer des molécules ayant pour but de diminuer les résistances, et d'identifier des marqueurs pour les suivis et l'étude de ces résistances (49).

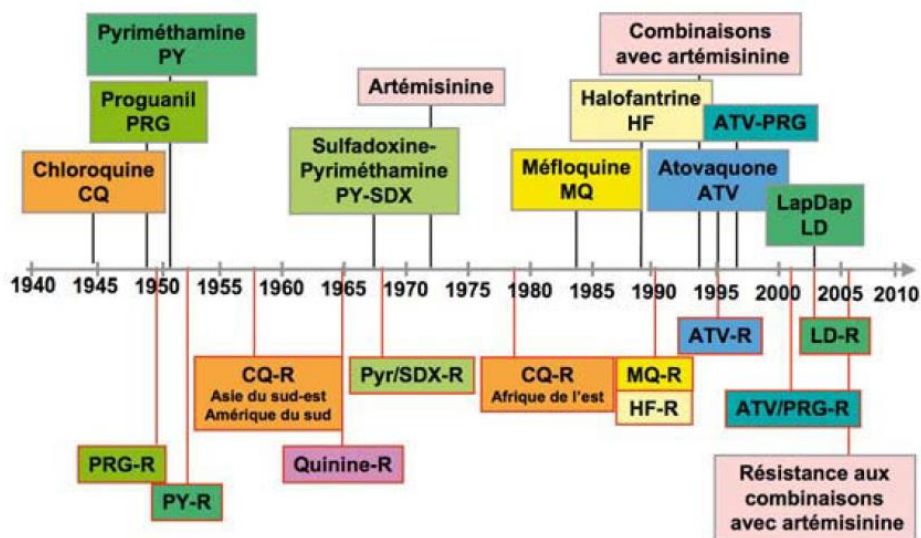


Figure 10 : Introduction des antipaludiques et apparition des résistances (R) de *P. falciparum* (49)

### 2.6.1. Méthodes de référence d'évaluation de la résistance aux antipaludiques

Différentes méthodes sont utilisées pour évaluer la sensibilité de *P. falciparum* aux antipaludiques et contrôler les résistances. L'OMS a défini en 1973 la résistance « *comme la capacité du parasite à survivre et/ou à se multiplier en dépit de l'administration et de l'absorption d'un médicament donné à doses égales ou supérieures à celles habituellement recommandées mais dans les limites de la tolérance du malade.* (15) »

La méthode de surveillance de référence des résistances est le test *in vivo* de l’OMS. C’est un test élaboré en 1965 puis révisé de nombreuses fois (la dernière révision datant de 2001). La confirmation de la résistance nécessite la preuve :

- ✓ Que les parasites sont recrudescents chez un patient ayant récemment reçu un traitement adéquat à des doses adaptées.
- ✓ Que la concentration sanguine efficace du médicament ou de ses métabolites actifs a été maintenue durant au moins quatre cycles parasitaires.

Ces conditions ont pour but d’éviter des résistances qui peuvent être dues à des différences de pharmacocinétique individuelle (13)(49).

## **2.6.2. Les tests d’évaluation de la résistance aux antipaludiques**

A l’heure actuelle, il existe 3 méthodes pour évaluer l’efficacité et la résistance d’un médicament : le test *in vivo*, le test *in vitro* et les tests moléculaires. Seul le test *in vivo* est recommandé par l’OMS (65).

### 2.6.2.1. Tests de résistances *in vivo*

Ils consistent à administrer une dose standard d’un antipaludique déterminé à une population de malades infectés par *P. falciparum*, et de suivre durant 28 jours la disparition des symptômes et l’évolution de la parasitémie.

Ces tests ont certaines limites notamment dues à leurs dépendances à :

- ✓ L’observance, la posologie et la qualité du médicament administré doivent être strictement contrôlés pour chaque essai.
- ✓ Des variations interindividuelles pharmacocinétiques.
- ✓ L’immunité acquise naturellement par certains patients qui provoque un biais dans le résultat.
- ✓ L’état nutritionnel du patient qui influence très nettement le résultat pour certaines molécules.
- ✓ La sensibilité et la spécificité de diagnostic des rechutes, qui peuvent également être confondues avec une nouvelle infection.

Les tests *in vivo* sont donc les seuls essais recommandés par l’OMS. Il nécessite cependant un suivi long (28 jours) avec des ressources humaines et logistiques importantes. Ils ne permettent de tester qu’un seul médicament par patient, et qu’un petit nombre de molécules par essai clinique (49) (65).

#### 2.6.2.2. Tests de résistances *in vitro*

Les tests *in vitro* sont basés sur la culture d’isolats de *Plasmodium falciparum*. Ils servent à mesurer l’inhibition de la croissance des parasites en culture, en fonction de différentes concentrations déterminées d’antipaludiques.

Ces tests permettent d’étudier et d’analyser la sensibilité de plusieurs antipaludiques en même temps, tout en effaçant plusieurs des contraintes des tests *in vivo*, comme les variations interindividuelles, l’observance ou encore l’état nutritionnel (66).

Les principales barrières de ces tests sont le facteur économique, la complexité ainsi que la nécessité d’infrastructures importantes. Ils imposent également un travail avec des parasites vivants, ce qui nécessite la mise en œuvre de règles de biosécurité importantes (49).

Les résultats des tests *in vitro* ne sont pas toujours liés aux tests *in vivo* et difficilement reproductibles d’une équipe à l’autre. C’est pour ces raisons qu’ils ne sont pas utilisés par l’OMS dans l’élaboration des protocoles cliniques, mais seulement pour de la surveillance de chimiosensibilité (65).

#### 2.6.2.3. Tests de résistances moléculaires

Ces tests se basent sur l’identification de variants génétiques, réalisés sur de l’ADN de parasites, à partir de méthode de génotypage. L’essor récent de la biologie moléculaire, ainsi qu’une meilleure connaissance du génome de *Plasmodium falciparum*, ont permis à ces tests de voir le jour. Le but étant de détecter les modifications des gènes qui sont responsables des résistances aux antipaludiques (49) (65).

### **2.6.3. Principale résistance du parasite : la chloroquine**

C’est la principale molécule de la classe des amino-4-quinoléique. Elle est apparue après la Seconde Guerre Mondiale et reste très utilisée du fait de son efficacité et de son faible coût.

Malheureusement, des résistances sont rapidement apparues dans les années 1960, sans que cette molécule ne soit remplacée dans l'arsenal thérapeutique (49).

Les premiers cas de résistances à la chloroquine sont apparus en Amérique du sud et en Asie, puis se sont rapidement répandus en Afrique et dans les autres pays touchés par le paludisme. Cette augmentation de la résistance à la chloroquine est intimement liée à une augmentation de la mortalité dans les zones touchées, ainsi qu'à l'explosion du coût des soins (x10 avec les ACT). Il est possible de conclure à une chloroquinorésistance s'il y a une persistance du parasite dans les hématies après 7 jours de traitement bien conduits.

Il est extrêmement difficile de chiffrer et quantifier la chloroquinorésistance car la fréquence d'un pays à l'autre peut être très variable. Des différences de répartitions au sein du même pays sont évoquées dans certaines publications, c'est par exemple le cas au Cambodge où la chloroquinorésistance est une des plus élevée au monde dans la région du Sud-Ouest mais relativement faible au Nord-Est. De façon globale, on considère que la chloroquinorésistance est stabilisée autour de 40 à 60%, mais peut atteindre les 80 à 90% dans certaines régions du globe (67).

Les propriétés de la chloroquine sont liées à son accumulation dans l'hématie parasitée, et plus particulièrement dans la vacuole digestive. A l'intérieur de l'hématie, le parasite se nourrit de l'hémoglobine, dont la dégradation produit un composé toxique : la ferriprotoporphyrine IX. C'est en sécrétant une protéine qui se lie à la ferriprotoporphyrine IX que le parasite s'en protège, et c'est en empêchant cette liaison que les amino-4-quinoléiques agissent (68).

Plusieurs hypothèses ont vu le jour pour expliquer la résistance de *P. falciparum* à cette classe médicamenteuse, mais toutes s'accordent sur le fait que c'est un efflux rapide de la molécule qui est à l'origine de la résistance. Différents gènes qui codent pour des protéines de transport semblent impliqués, mais c'est la mutation du gène PfCRT (Plasmodium falciparum Chloroquine Resistance Transporter) située sur le chromosome 7, et qui code pour une protéine assurant l'efflux, qui apparait comme la clé de cette résistance. La mutation Lys76Thr du gène PfCRT est la plus déterminante (multiplication du risque de résistance par 7,2 et présente dans toutes les souches résistantes) même si d'autres mutations du même gène sont très souvent associées (69) (70).

Trois théories ont vu le jour sur la résistance de la chloroquine :

- ✓ Défaut d'accumulation dans la vacuole digestive dû à une altération des gradients de pH et/ou de perméabilité membranaire.
- ✓ Défaut de pénétration reposant sur l'inhibition de pompes à protons comme l'échange  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ .
- ✓ Défaut de liaison de la chloroquine à la ferriprotoporphyrine IX.

#### **2.6.4. Autres résistances aux antipaludiques**

Les résistances aux antifolates ont fait leur apparition. Elles concernent essentiellement le proguanil et la pyriméthamine. Cependant, en cas de souches résistantes au proguanil, il est possible de les traiter avec la pyriméthamine, et inversement, puisque les deux médicaments inhibent la dihydrofolate réductase, mais en se fixant de manières différentes sur le site d'action.

Quelques cas de résistances de *P. vivax* ont été décrites, notamment vis-à-vis de la chloroquine dans les années 1990, mais également à d'autres molécules, comme la primaquine, la quinine ou encore le proguanil et la pyriméthamine. Heureusement, à l'heure actuelle, ces résistances restent dans des proportions nettement moins importantes que les résistances concernant *P. falciparum* (67).

L'utilisation de l'artémisinine depuis une vingtaine d'années sous la forme des ACTs a contribué à faire baisser le taux de mortalités. Mais des résistances commencent également à voir le jour. Elles se caractérisent par une clairance parasitaire retardée (temps nécessaire pour que la parasitémie soit réduite de moitié), ainsi qu'une recrudescence élevée. Elles semblent liées à un mécanisme de quiescence/dormance du parasite qui serait capable de stopper son cycle cellulaire. Le gène Pfk13 est le marqueur moléculaire lié à la résistance de l'artémisinine. Cependant, l'utilisation des ACTs reste possible et efficace tant que la molécule qui leur est associée reste active (71).

#### **2.6.5. Facteurs favorisant l'émergence de résistances**

Le développement des résistances chez *Plasmodium falciparum* est dû à sa grande diversité génétique induit par un nombre élevé de mutations dans son génome (au cours d'un cycle

érythrocytaire de *Plasmodium falciparum*, l'ADN se réplique cinq fois en 48 heures et la probabilité de mutations par nucléotide est de  $10^{-8}$ ). Associées à un nombre très important de parasites chez un sujet contaminé, on obtient toutes les conditions pour que des résistances apparaissent. En effet, même si les erreurs de réplifications de l'ADN conférant des résistances thérapeutiques sont extrêmement rares, elles finissent par apparaître, puis par être sélectionnées par pression médicamenteuse (69).

Les mutations non létales et non silencieuses pour le parasite sont capables de lui conférer des avantages pour la survie. C'est le cas des mutations lui donnant la capacité d'échapper au système immunitaire, de survivre en présence d'un antipaludique, ou bien de se répliquer plus rapidement. Un clone résistant est ainsi créé et transmettra la résistance à ses descendants.

La vitesse et la fréquence de développement de ces mutations sont dépendantes des caractéristiques de la molécule employée, des conditions d'utilisation des médicaments et du contexte épidémiologique (49).

Les autres facteurs pouvant induire l'apparition de résistances sont :

- ✓ La mauvaise utilisation des antipaludiques (automédication, mauvaise observance) peut être provoquée par les effets indésirables de différentes molécules (comme un prurit intense en cas de forte parasitémie avec la chloroquine, des vomissements avec la méfloquine) ou bien par des arrêts trop précoces des traitements.
- ✓ Une indisponibilité de traitement efficace provoquant l'utilisation de monothérapie.
- ✓ L'utilisation de produits de contrefaçon sous dosés, voire avec l'absence de principe actif, qui permet au parasite de survivre à des concentrations moindres d'antipaludique, et de sélectionner des clones résistants.
- ✓ Les diagnostics erronés qui conduisent à l'utilisation d'antipaludiques non justifiée et qui favorisent donc l'adaptation des parasites.
- ✓ Les facteurs pharmacologiques : les molécules à demi-vie longue, ne réduisant que faiblement la charge parasitaire, sont plus sujettes à l'apparition de résistances.

#### **2.6.6. Conséquences des résistances aux antipaludiques**

La résistance aux différents antipaludiques est apparue comme une menace, mettant à mal les efforts réalisés jusque-là dans la lutte contre le parasite. Ils ont fait exploser la mortalité et le

coût global dûs au paludisme dans le monde. Les échecs thérapeutiques et le recours à des médicaments plus coûteux sont une des facettes du côté financier, mais il y a également un coût social à prendre en considération entraîné par la perte de jours de travail liée à la maladie. Le continent africain est de loin le plus touché, aussi bien du côté financier que du côté humain, car il regroupe plus de 90% des cas de paludisme (13) (65).

### **2.6.7. Place de la phytothérapie**

A l'heure actuelle, la phytothérapie n'a ni sa place parmi les recommandations de la communauté scientifique ni à l'OMS. Les traitements à base d'ACTs sont désormais considérés comme les plus efficaces. Mais, dans un paysage thérapeutique de plus en plus complexe et dans des régions du monde où l'accès aux soins est difficile, voire inexistant, la phytothérapie semble être un moyen de lutte plus qu'intéressant. Deux plantes, *l'Artemisia annua* et *l'Artemisia Afra*, sont actuellement à la base de nombreuses recherches et études cliniques, visant à montrer leur efficacité, voire même leur supériorité, comparée à certains traitements déjà existants. De plus, elles seraient à l'origine d'une économie non négligeable pour les habitants de ces régions qui vivent avec de très faibles moyens financiers.



### 3. Utilisation de l'Armoise annuel dans le paludisme

Cette plante a révolutionné la lutte contre le paludisme. En effet, au-delà de ses propriétés connues depuis longtemps sous la forme de tisanes dans le traitement du paludisme et des fièvres, elle a permis la découverte d'un composé qui est à l'origine des ACTs : l'artémisinine. Encore de nos jours, le principal moyen d'obtention de ce composé reste l'extraction à partir de la plante *Artemisia annua*, ce qui fait de la culture de l'*Artemisia annua* un véritable marché mondial où la demande est souvent bien supérieure à l'offre. Ce nouveau marché mondial pourrait permettre aux populations les plus pauvres et les plus touchées par le paludisme de profiter d'une nouvelle économie tout en possédant un moyen de lutte efficace contre le *Plasmodium* qui fait des ravages dans les pays concernés.

#### 3.1. Référence et histoire de l'*Artemisia annua*

L'artémisia, qing hao en Chine (qui signifie littéralement « herbe bleu-vert »), est une plante utilisée dans la médecine traditionnelle chinoise depuis l'Antiquité. On considère même que cette herbe est aussi vieille que la Chine ! A l'époque, elle était utilisée pour ses propriétés fébrifuges (72).

La première mention de cette plante a été retrouvée sur un manuscrit de soie datant de -168 av. JC, dans la tombe de la dynastie Mawangdui Han. Cet ouvrage relate des remèdes pour soigner 52 types de maladies. Il est considéré comme le plus ancien livre de médecine chinoise ayant survécu. On y retrouve l'*Artemisia* pour le soin des hémorroïdes où la plante est utilisée dans une préparation avec de l'urine (73).

En 200 – 300 après J.C, l'*Artemisia* a été décrite comme « capable de traiter les croûtes, les démangeaisons, les plaies, de détruire les poux et d'éliminer les échauffements internes, les contrariétés, la fièvre et d'améliorer la vue » dans un ouvrage intitulé « Herbal Classic » de Shen Nong (73).

En 340 après J.C, l'*Artemisia* est mentionnée pour la première fois contre le paludisme par l'auteur Ge Hong dans un ouvrage de prescriptions pour les traitements d'urgence (« A Handbook of Prescriptions for Emergencies »). Le remède consistait à faire tremper une poignée d'*Artemisia* dans environ 1 ou 2 litres d'eau, de presser et filtrer la préparation obtenue et de la boire (72) (74).

Cependant, dans chacun des divers récits, aucune différence n'est mentionnée entre les espèces d'*Artemisia*. Il est donc impossible de savoir s'il parle de la même espèce. C'est Li Shizhen, un célèbre herboriste chinois qui, suite à un travail sur d'anciens ouvrages de 1552 à 1578 attribua un nom à chacune des deux espèces dans un livre intitulé « Compendium of Materia Medica ». Il nomma le qinghao l'herbe bleu-vert et le huanghuahoa, l'herbe jaune pâle. Aujourd'hui, les botanistes les nomment respectivement *Artemisia annua* et *Artemisia apicea* (73).

Plus tard en 1798, une décoction associe l'*Artemisia annua* à du Carapax Trionycis dans le but de traiter les épisodes de paludisme dans un ouvrage intitulé Wenbing Tiaobian. Plusieurs tentatives de confirmation ont eu lieu durant les décennies suivantes pour valider son activité antipaludique, à l'aide de procédés d'extraction à chaud, mais elles ont toutes échoué. La raison de cet échec est la non solubilité de l'artémisinine dans l'eau ou dans l'éther (73).

Ce n'est qu'en 1971 qu'une équipe de chercheurs, dirigée par le professeur Youyou Tu, développe un procédé d'extraction à basse température, et parvient à isoler le principe actif de l'*Artemisia*, l'artémisinine. Deux ans plus tard, l'équipe du professeur Youyou Tu aboutit à la synthèse de la dihydroartémisinine. De nombreux autres dérivés sont ensuite rapidement synthétisés en Chine. Cependant, les pays occidentaux ne mesurent pas encore l'importance de cette découverte et refusent son utilisation.

Ce n'est que durant les années 1990 et début 2000 que les laboratoires occidentaux s'y intéressent et commencent à l'utiliser, notamment avec les combinaisons à base d'artémisinine qui montrent une efficacité remarquable. Ils seront utilisés à grande échelle en Afrique au début des années 2000 (75).



Figure 11: Plant d'*Artemisia annua* (75)

## 3.2. Caractéristiques botaniques et répartition de l'*Artemisia annua*

Le genre *Artemisia* est composé de nombreuses espèces. Celle que nous étudierons ici est l'*Artemisia annua* ou « Armoise annuelle » car c'est elle qui est à l'origine de l'artémisinine et qui possède les propriétés antipaludiques les plus intéressantes.

### 3.2.1. Description d'*Artemisia annua*

*Artemisia annua* est une plante annuelle, herbacée de la famille des *Asteraceae*. Elle mesure de 40 à 150 centimètres de haut et peut atteindre 250 centimètres lors de conditions de culture optimale. Comme la plupart des *Asteracea*, c'est une plante très aromatique. Elle est de couleur verte lorsqu'elle est jeune, et devient marron jaunâtre en vieillissant (73).

La tige est dressée, glabre et très ramifiée avec un diamètre moyen de 6 mm. La tige inférieure devient légèrement ligneuse en vieillissant.

Les feuilles de 4 à 7 cm de long et 1,5 à 3 cm de large sont vert-clair, dentelées, alternes et bipennatiséquées (deux fois divisées), voire tripennatiséquées (trois fois divisées). Elles ont une très forte odeur lorsqu'elles sont froissées (76).

Les inflorescences sont situées aux extrémités et forment de larges panicules en grappe d'épillets. Les capitules ont un diamètre de 2 mm et sont brièvement pédonculés. Les fleurs jaunes verdâtres apparaissent d'août à octobre et sont différenciées en femelles, disposées à l'extérieur du capitule et en fleurs hermaphrodites, disposées au centre du capitule. Cela permet une meilleure pollinisation par le vent (74).



#### Scientific classification

Kingdom:	Plantae
Division:	Magnoliophyta
Class:	Magnoliopsida
Order:	Asterales
Family:	Asteraceae
Genus:	<i>Artemisia</i>
Species:	<i>A. annua</i>

Figure 12 : Représentation d'un plant d'*Artemisia annua* et classification scientifique (74)

Les fruits sont de minuscules akènes ovoïdes de couleur marron clair. Chaque akène ne contient qu'une seule graine.

### 3.2.2. Répartition géographique de la plante

Originnaire des régions tempérées d'altitude d'Asie (1000 / 1500 mètres) et plus particulièrement de la Chine, *Artemisia annua* s'est aujourd'hui rependue dans le monde entier. On la trouve aisément à l'état sauvage dans toute la Chine, ainsi qu'en Sibérie, au Vietnam et en Inde (77).

On la rencontre également à l'état sauvage en Europe et sur le continent Américain depuis qu'elle y a été introduite.

En France, *Artemisia annua* est considérée comme une mauvaise herbe. Elle pousse d'août à octobre, et on la trouve facilement sur le bord des chemins ou dans les terrains vagues en région parisienne et dans le sud du pays (Hérault, Var, Isère ...) (78).

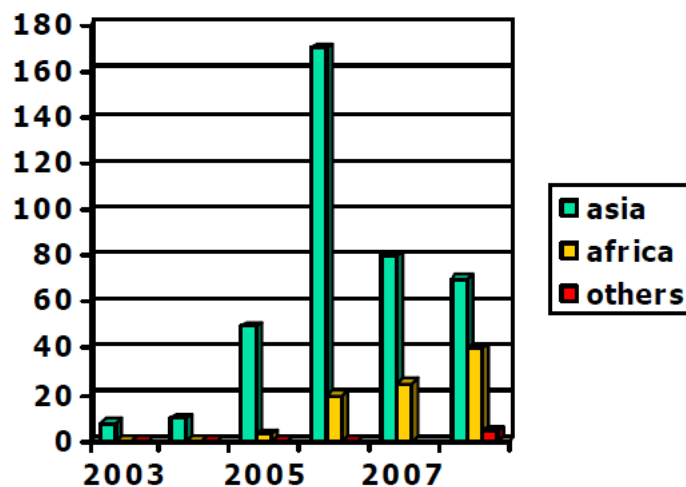


Figure 13: Production de feuilles sèches d'*Artemisia annua* par continent (en millier de tonnes) (79)

Elle est cultivée à grande échelle dans quelques pays comme la Chine, la Tanzanie, le Kenya ou le Vietnam pour un usage industriel. D'autres pays se sont lancés dans des cultures à de plus petites échelles suite à la pénurie mondiale de Coartem® en 2004, c'est notamment le cas de pays d'Afrique ou d'Amérique du Sud (figure 12) (79). On remarque bien cette augmentation de production après la pénurie sur le graphique (figure 12). Par exemple, le nombre de producteurs en Chine a été multiplié par 8 après cette pénurie, passant de 10 producteurs à 80. Même situation pour le Vietnam qui est passé de 3 producteurs en 2004 à 20 producteurs en 2006 (79).

Suite à cette pénurie de 2004, le prix de l'artémisinine a considérablement augmenté. Il est passé de 230 US Dollars / kg en 2003 à 1100 US Dollars / kg en 2004/2005. Par la suite, une production plus conséquente associée à une demande plus modérée en ACTs a entraîné une chute du prix qui a atteint 180 US Dollars / kg en 2007/2008 (figure 13). A partir de cette pénurie, la production d'*Artemisia annua*, et plus particulièrement d'artémisinine est devenue un véritable marché mondial (79).

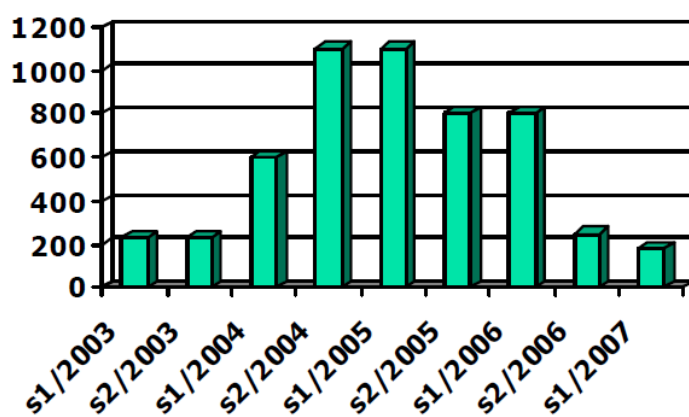


Figure 14: Evolution du prix de l'artémisinine en US Dollars / kg (79)

### 3.3. Culture et récolte d'*Artemisia annua*

#### 3.3.1. Problématique rencontrée en culture

*Artemisia annua* est une plante photopériodique à floraison dite « à jour court », c'est-à-dire qu'elle n'a pas besoin d'une longue exposition pour entamer son cycle de floraison. Ceci est un problème pour les cultures d'*A. annua*, car une floraison précoce met fin à la période végétative et bloque le développement de sa biomasse (80).

Il est très difficile, voire impossible de contrôler la fécondation de la plante due à une castration des plants très délicate, ainsi qu'une synchronisation de la floraison des différents génotypes.

Enfin, l'hybridation des plants est instable, ce qui rend difficile la création d'hybride au rendement supérieur, plus résistant à la chaleur ou moins gourmand en eau.

Malgré tout, plusieurs recherches sur le développement de plantes hybrides sont en cours, et ont déjà permis d'améliorer la culture, le rendement ainsi que la teneur en artémisinine qui a atteint 1,6 %. C'est par exemple le cas de la variété « Apollon » qui produit pratiquement le double de poids humide par plante, ou encore de la variété sélectionnée par Mediplant (société

suisse) qui permet d'obtenir une teneur de 1,6 % en artémisinine dans les feuilles. L'objectif sera d'atteindre les 2 % dans les prochaines années (77).

### **3.3.2. Semis des graines d'*Artemisia annua***

Les périodes de semis sont très variables et dépendantes de la région de plantation. Dans un climat continental, le semis peut s'effectuer de la fin de l'hiver au milieu du printemps. En climat tropical, c'est durant la saison des pluies que le développement est le plus propice.

Il est possible de semer directement en terre, mais cette technique engendre beaucoup de pertes à cause de la graine de très petite taille. Cette perte n'est pas négligeable avec le coût des semences hybrides. Il est donc préférable de semer en pépinière, puis de repiquer les plants trois semaines plus tard (80).

Il est important que la terre soit toujours humide pour une bonne germination de la graine, mais l'excès d'eau n'est pas bon pour la plante (78).

### **3.3.3. Plantation et entretien d'une culture d'*Artemisia annua***

La plantation en champs s'effectue lorsque les plants font 10 à 15 centimètres de hauteur et est échelonnée sur 5 à 7 mois. Une préparation du sol est conseillée pour obtenir de bon taux d'artémisinine. A ce titre, un apport N/P/K (azote, phosphore, potassium) de 60/60/50 par hectare semble idéal. Il n'est pas recommandé de planter plus de 3 plants/m<sup>2</sup> pour obtenir un bon rendement. Durant la pousse, les plants doivent être étêtés pour leur permettre de s'étoffer correctement (77).

L'*Artemisia* est une plante qui demande des températures tempérées chaudes, mais également de l'humidité, car elle craint la sécheresse. Après germination, la mise en place d'un arrosage important est nécessaire, environ trois fois par semaine, tout en évitant l'égorgement qui est nocif pour les plants. Des canaux d'irrigation peuvent être installés pour contrôler l'apport d'eau (80).

Un désherbage régulier doit être réalisé, car l'*Artemisia* supporte mal la compétition avec d'autres végétaux, ce qui pourrait baisser son rendement (80).

### **3.3.4. Récoltes des plantations d'*Artemisia annua***

Pour optimiser la récolte, il faut suivre la variation de la teneur en artémisinine dans les feuilles. Elle varie en fonction du climat, des variétés utilisées et des conditions de culture.

Plusieurs études ont montré que la teneur en artémisinine augmente progressivement durant la culture, pour atteindre son maximum juste avant la floraison. C'est donc durant cette période que les plants sont récoltés en les coupant à la base (81).

Un arrêt de l'irrigation deux semaines avant la récolte semble augmenter de 20% à 30% le taux d'artémisinine (82).

Un séchage rapide est recommandé pour éviter une dégradation de l'artémisinine qui est un composé sensible. Un simple séchage au soleil avec un retournement journalier a été recommandé par l'OMS, ce qui a l'avantage d'être simple et économique (77).

### **3.3.5. Stockage des récoltes**

L'artémisinine est une molécule peu stable qui craint l'humidité et la chaleur. Une température supérieure à 20°C dans un environnement humide fragilise le groupement endopéroxyde, ce qui provoque une baisse du taux d'artémisinine. Cependant, si le taux d'humidité des feuilles est inférieur à 12%, elles peuvent se conserver durant plusieurs mois (80).

Même avec des conditions de stockage optimisées, le taux d'artémisinine baisse rapidement avec le temps. Il est donc conseillé de procéder rapidement à son extraction.

### **3.3.6. Parties utilisées dans la plante**

L'artémisinine est principalement retrouvée dans la partie supérieure de la plante, c'est-à-dire dans les cinquante derniers centimètres, ce qui est dû à la présence particulièrement abondante de poils glandulaires, également appelés trichomes. Ce sont les organes de stockage de l'artémisinine. On les retrouve à la surface des feuilles, des fleurs et légèrement sur la tige. Ces poils ont également pour fonction de protéger la plante vis-à-vis des animaux herbivores, en lui donnant un goût amer, ce qui la rend moins appétissante pour ces derniers (83).



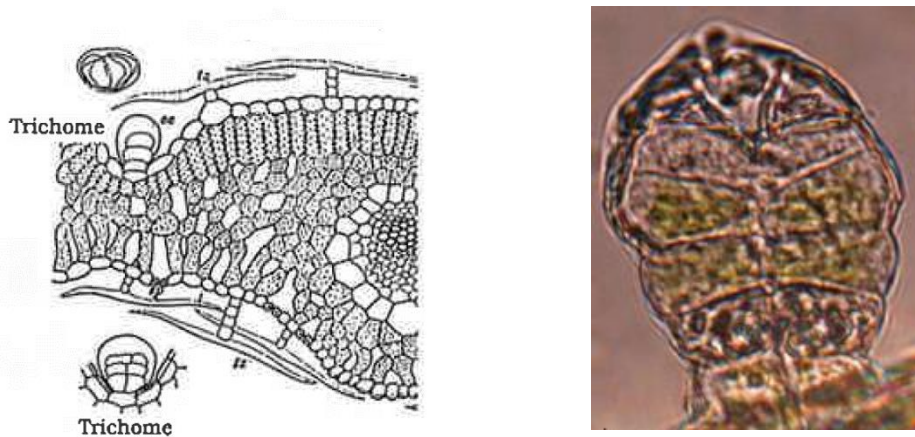


Figure 15: Schéma d'une feuille d'Asteracea avec un trichome (à gauche) et image d'un trichome d'*A. annua* (à droite) (84,86)

On retrouve donc, dans différentes proportions, de l'artémisinine dans toutes les parties aériennes de la plante. Cette teneur peut varier de 0,01 % à 1,5 % (exprimée par rapport au poids sec de la plante) (84). En revanche, ce composé est totalement absent des parties souterraines de la plante (85).

Concernant son utilisation sous forme de tisanes, ce sont les feuilles séchées qui sont principalement utilisées. Elles sont infusées durant plusieurs minutes dans de l'eau bouillante, puis ingérées par le patient (86).

### 3.4. Les composés chimiques présents dans *Artemisia annua*

*Artemisia annua* renferme de nombreux composés chimiques qui ont été très largement étudiés par la communauté scientifique durant ces dernières années, du fait des propriétés exceptionnelles de cette plante contre le paludisme. Ces substances (très nombreuses) se retrouvent principalement au niveau des parties aériennes de la plante. Parmi elles, on retrouve des sesquiterpènes (dont le plus connu est l'artémisinine qui est responsable de l'activité antiplasmodiale), des flavonoïdes, des coumarines, ainsi que d'autres composés terpéniques. Nous allons ici détailler les principaux composés, car à ce jour près de 600 ont été identifiés dans *Artemisia annua* (87) (88).

#### 3.4.1. Artémisinine et autres sesquiterpènes

Ils représentent à ce jour un peu plus de soixante composés de l'*Artemisia annua*. Le plus connu de tous est sans aucun doute l'artémisinine qui a montré une activité antiplasmodiale



spectaculaire, et a révolutionné les traitements contre le paludisme. D'autres sesquiterpènes sont également présents en grande quantité dans l'*Artemisia annua*, c'est le cas de l'acide artémisinique qui pourrait permettre une production moins onéreuse d'artémisinine, ou encore de l'arctandiol B. Ils forment à eux trois les métabolites secondaires majeurs de cette espèce (73).

Il serait réducteur d'associer cette activité antiplasmodiale uniquement à l'artémisinine. En effet, de plus en plus d'études montrent que cette activité est en réalité une synergie de plusieurs composés, comme par exemple l'interaction des sesquiterpènes avec les flavones présents dans *Artemisia annua*, ou encore l'action d'autres terpènes, comme le nérolidol qui bloque le développement du parasite au stade intra-érythrocytaire (87) (88).

### **3.4.2. Autres terpènes**

#### **- Monoterpènes**

Ils sont les constituants majeurs de l'huile essentielle avec le  $\beta$ -caryophyllène (qui est un sesquiterpène) et lui procure sa forte odeur aromatique. La plante peut contenir jusqu'à 3% de cette huile au niveau des feuilles. On retrouve ces composés dans des proportions très variables en fonction de la provenance géographique de la plante.

Les principaux composés de cette famille sont l'artémisia cétone, l'artémisia alcool et le camphre. Ce sont des composés volatiles qui possèdent des propriétés antibactériennes, antioxydantes et répulsives contre les insectes. De plus, l'artémisia cétone pourrait jouer un rôle dans l'inhibition de la formation de l'hémozoïne (73,88).

### **3.4.3. Autres composants**

#### **3.4.3.1. Coumarines**

De nombreuses coumarines ont été isolées ces dernières années. Les deux principales sont la scopolétine et la scopoline. Elles ont un effet sur le métabolisme et augmentent l'effet antiplasmodique, ce qui contribue à la synergie d'action des différents composés (73).

#### 3.4.3.2. Flavonoïdes

*Artemisia annua* est une source très riche de flavonoïdes comme la plupart des plantes de la famille des astéracées. Plus d'une quarantaine ont été identifiées à ce jour. Parmi ces différents flavones, plusieurs ont été reconnues comme des composés potentialisant l'effet de l'artémisinine, ce qui encouragerait à utiliser la plante dans sa totalité, comme sous forme d'infusion par exemple. En effet, même si utilisés seuls les flavonoïdes n'ont qu'un faible effet antipaludique, associés à l'artémisinine, ils augmenteraient son efficacité de 50%. C'est le cas de la casticine, de l'artémétine, du chrysosplénol et de la chrysosplénétine par exemple (73).

Avec une culture difficile et dépendante des conditions climatiques ainsi que des rendements relativement faibles, la synthèse chimique de l'artémisinine semble être une solution idéale pour faire face au besoin mondial croissant de ce composé. Malheureusement, la complexité de synthèse de cette molécule justifie encore à l'heure actuelle la culture de l'*Artemisia annua* pour en extraire les composés actifs. De plus, cette culture fait désormais partie de l'économie mondiale, où le prix de l'*Artemisia* évolue sans cesse et où les besoins ne cessent de croître (87,88).

## 4. Artémisinine

Depuis sa découverte le 8 novembre 1972, l'artémisinine a fait l'objet de nombreuses recherches et études. Son utilisation a été évaluée dans plusieurs pathologies, dont le paludisme en priorité. A ce jour, elle reste le traitement le plus efficace vis-à-vis du paludisme grâce au ACTs.

### 4.1. Structure chimique et caractéristiques de l'artémisinine

L'artémisinine est une lactone sesquiterpénique de formule moléculaire  $C_{15}H_{22}O_5$ . Elle contient un groupe peroxy- qui est rarement retrouvé dans la nature.

D'après les dernières publications, un consensus a été plus ou moins accepté pour la numérotation de la molécule. Son nom chimique est donc : (3R,5 $\alpha$ S,6R,8 $\alpha$ S,9R,12S,12 $\alpha$ R)-octahydro-3,6,9-triméthyl-3,12-époxy-12H-pyrano[4,3-j]-1,2-benzodioxepin-10(3H)-un (73).

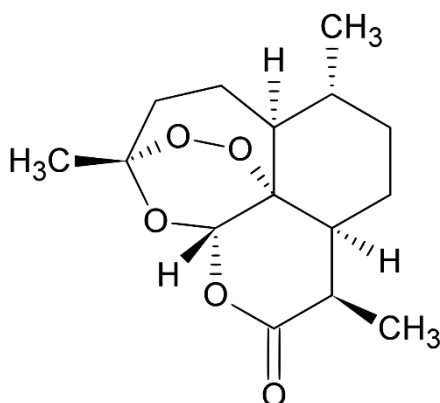


Figure 16: Structure de la molécule d'artémisinine (73)

On la trouve sous forme de cristal à aiguille blanche ou sous forme de poudre blanche. Son point de fusion est situé à 156-157 °C et son poids moléculaire est de 282. Elle est insoluble dans l'eau, très peu soluble dans l'huile et soluble dans le chloroforme, l'acétone, l'acétate d'éthyle, le benzène, l'éthanol et l'éther (89).

Au niveau de sa structure chimique, l'artémisinine comporte 4 cycles :

- le cycle A : c'est un cyclohexane en forme chaise
- les cycles B et C : ce sont tous deux des hétérocycles saturés
- le cycle D : c'est une lactone en chaise tordue

La stabilité de la molécule est assurée par l'alternance de liaisons carbone – oxygène longues/courtes, mais également par l'alternance d'atomes de carbone et d'hydrogène (88).

## **4.2. Extraction et isolement de l'artémisinine à partir d'*Artemisia annua***

Encore de nos jours, la grande majorité de l'artémisinine utilisée dans les traitements provient de ressources naturelles. Cela est notamment dû aux difficultés de préparation, au faible rendement ainsi qu'au coût élevé de la synthèse chimique.

La première extraction de l'artémisinine à partir d'*Artemisia annua* a eu lieu en 1972 par une équipe chinoise. On ne connaît pas la méthode utilisée à cette époque, mais elle a permis de récolter les premiers grammes d'artémisinine (73).

En 1974, plusieurs équipes de chercheurs chinois ont mis en place un procédé d'extraction utilisant l'essence comme solvant, ce qui rendait plus simple l'extraction de l'artémisinine. Ce procédé consiste, à partir d'une poudre de feuilles d'*Artemisia annua*, à procéder à une extraction à l'essence. Par la suite, une concentration sous vide est effectuée afin d'obtenir les premiers cristaux bruts d'artémisinine, puis une recristallisation à l'éthanol permet d'obtenir la forme finale de l'artémisinine sous forme de cristaux blancs. Cette méthode a permis d'extraire plusieurs dizaines de kilos d'artémisinine (90).

En 1975, la découverte de la structure chimique de l'artémisinine marque un tournant dans l'extraction de celle-ci. La connaissance de sa structure, ainsi que ses propriétés physiques et chimiques, permettent d'améliorer les différentes méthodes d'extractions et de séparations (73).

### **4.2.1. Extraction à partir de solvants organiques**

Durant les années suivantes, l'essence est remplacée par l'éther, le chloroforme, le n-hexane ou encore les éthers de pétrole dans plusieurs études. Il a été démontré que ce dernier est le plus approprié pour l'extraction de l'artémisinine, en raison de sa récupération plus aisée. Cette évolution a également permis une amélioration du rendement, ainsi que la mise en place d'un protocole précis : pour 1 g de poudre de feuilles, il faut utiliser 60 ml de solvant, à une température de 50°C durant 2 heures, et sous une agitation de 800 tr/min.

D'autres méthodes avec une extraction à partir de n-hexane ont été proposées. Elles consistent à extraire l'artémisinine avec du n-hexane durant 48 heures, à évaporer le solvant puis, après un lavage, à passer l'extrait sur une chromatographie sur gel de silice, en utilisant des concentrations croissantes d'acétate d'éthyle comme éluant.

Cette technique présente plusieurs avantages. Elle permet d'obtenir une artémisinine extrêmement pure (plus de 99 %), permet de séparer les différents composés grâce à un ordre bien précis d'élution (acide artémisinique, artémisinine, artéannuine B), et enfin, affiche des rendements plus que corrects (73).

#### **4.2.2. Autres techniques d'extraction de l'artémisinine**

##### 4.2.2.1. Extraction au solvant assisté par micro-ondes

Les micro-ondes permettent un chauffage interne qui crée des mouvements thermiques à l'intérieur des molécules intracellulaires, ce qui aboutit à une rupture cellulaire et permet donc aux différents composés d'entrer en contact plus rapidement avec le solvant extracteur (73,84).

##### 4.2.2.2. Extraction de fluide supercritique

Cette technique utilise un fluide à une température et à une pression supérieure à la pression critique. C'est un procédé à haute performance et avec des perspectives très intéressantes au niveau industriel, grâce à sa capacité d'extraction de médicament en très faible teneur, ainsi qu'à son procédé simple et facilement ajustable (73,84).

##### 4.2.2.3. Chromatographie à contre-courant à grande vitesse

C'est une technique récente qui permet une séparation à haute efficacité en peu de temps. Elle est basée sur la séparation de corps dissous entre deux phases liquides non mélangées. C'est un type de chromatographie qui emploie des fluides spéciaux, car les deux phases sont liquides, il n'y a donc aucune phase solide (73,84).

### **4.3. Synthèse de l'artémisinine**

L'artémisinine est formée dans *Artemisia annua* à partir de farnésyl-pyrophosphate, qui est le précurseur des sesquiterpènes. Après plusieurs étapes, le farnésyl-pyrophosphate se transforme

en dihydrocostunolide, puis en acide artémisinique. Cet acide artémisinique donne ensuite l'artéannuine B après des réarrangements moléculaires, des oxydations et une lactonisation (91).

#### 4.3.1. Synthèse totale de l'artémisinine

Grâce à son efficacité remarquable dans le traitement du paludisme, et à son utilisation thérapeutique de plus en plus importante, la synthèse de l'artémisinine a été, et reste encore aujourd'hui d'actualité pour de nombreuses équipes de chercheurs.

La première synthèse totale de l'artémisinine est publiée en 1983 par Schmid et Hofheinz. Ils ont établi un procédé en 13 étapes aboutissant à la synthèse d'artémisinine à partir d'isopulégol (73).

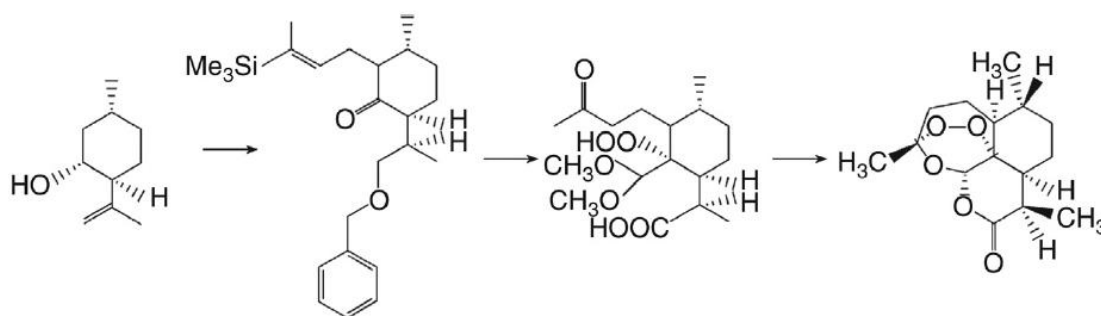


Figure 17: Voie synthétique utilisé par Schmid et Hofheinz (73)

La seconde synthèse est publiée un peu plus tard, par Xu et al. à partir du citronellal. Celle-ci s'effectue en 20 étapes (73).

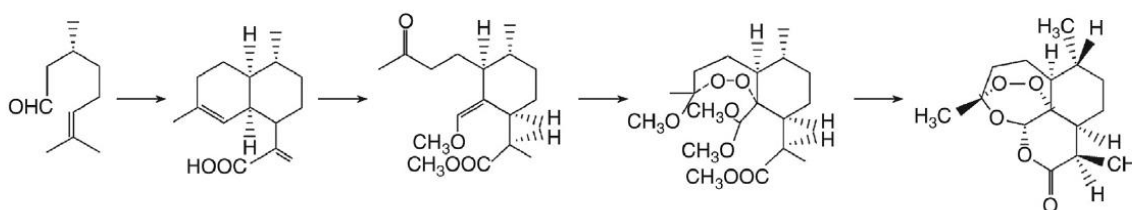


Figure 18: Voie synthétique utilisé par Xu et al.

Plusieurs autres voies ont été découvertes dans les années suivantes (Avery et al. 1987 / 1992, Ravindranathan 1990, Liu et al. 1993, Yadav et al. 2003), mais aucune ne parvient à satisfaire. Leur mise en œuvre d'une grande complexité, une conformation de la molécule très complexe (sept centres chiraux et fonction peroxyde,), ainsi qu'un rendement faible ne permettent pas encore la mise en place d'une production à grande échelle (73,92).

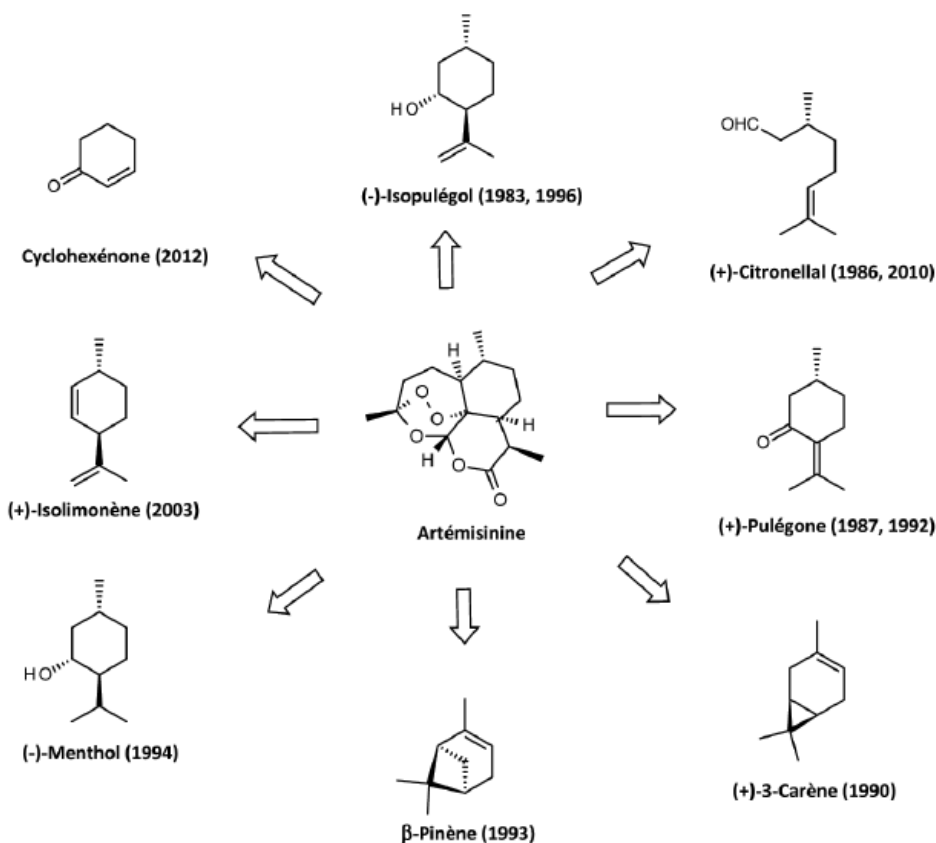


Figure 19: Différentes synthèses synthèses totales de l'artémisinine avec leurs composés de départ (92)

#### 4.3.2. Méthode hémisynthétique pour la production d'artémisinine

Cette méthode de production consiste à extraire l'acide artémisinique directement de la plante afin de le transformer chimiquement en artémisinine. C'est une méthode qui a fortement attiré l'attention de la communauté scientifique, car ce précurseur (l'acide artémisinique) est présent à des taux dix fois supérieurs à l'artémisinine dans *l'Artemisia annua*. Malheureusement, cette approche ne permet pas une production suffisante d'artémisinine à cause d'un rendement d'extraction très variable. Avec ce procédé, seulement 10 % de la demande mondiale pourrait être satisfaite (93).

Une autre méthode originale a vu le jour récemment. Elle consiste à produire directement l'acide artémisinique grâce à la fermentation d'un microorganisme génétiquement modifié. En 2006, la start-up Amyris, en relation avec l'équipe universitaire de Berkeley (professeur J.D Keasling), a créé une méthode à partir de levures génétiquement modifiées qui permettent d'obtenir des concentrations élevées en acide artémisinique (92).

Cette méthode comprend une voie mévalonique génétiquement modifiée qui permet d'aboutir au farnésyl-phosphate, celui-ci est ensuite transformé en amorphadiène par une synthase, puis une oxydation a lieu grâce à un cytochrome P450 monooxygénase d'*Artemisia annua* qui, après trois oxydations, permet d'obtenir l'acide artémisinique (92).

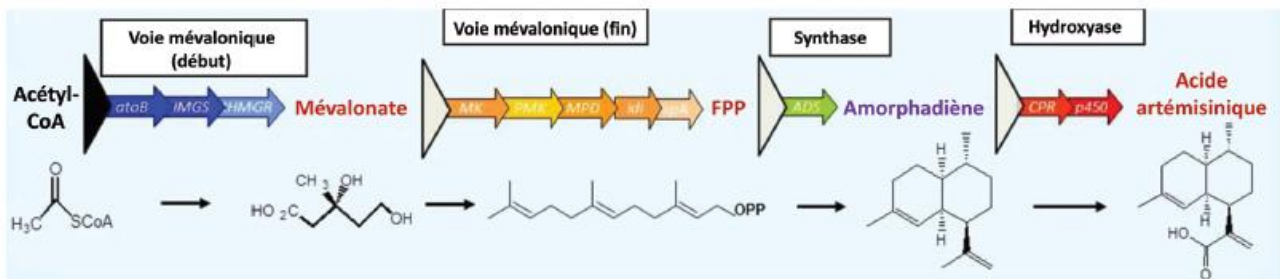


Figure 20: Procédé de synthèse biologique de l'acide artémisinique par Amyris (92)

Cependant, cette méthode ne permet pas d'obtenir une teneur en acide artémisinique qui pourrait faire l'objet d'une production industrielle. Elle a donc été améliorée au cours des années suivantes, en ajoutant les gènes codants pour deux enzymes (responsables d'étape d'oxydation) directement dans les levures génétiquement modifiées. Par la suite, un procédé amélioré a été mis en place à partir de levure de boulangerie (*Saccharomyces cerevisiae*) (92).

A l'heure actuelle, le procédé industriel est en marche (dirigé par Sanofi), mais la production d'artémisinine reste fortement dépendante de la culture de l'Armoise annuelle, et donc des aléas climatiques, du transport et de l'extraction.

## 4.4. Etude de la toxicité de l'artémisinine

### 4.4.1. Toxicité générale et effets indésirables de l'artémisinine et de ses dérivés

L'artémisinine et ses dérivés possèdent une excellente tolérance, ainsi qu'une toxicité faible (73).



Chez l'animal, à des doses supérieures aux doses thérapeutiques, les études montrent une toxicité neurologique, une toxicité cardiaque ainsi qu'une toxicité hématologique.

Chez l'Homme, le nombre d'effets indésirables graves semble peu courant, mais il faut nuancer cette affirmation, car il existe peu de données fiables pouvant être analysées, du fait d'une utilisation principale dans des pays qui ne possèdent pas de système efficace de pharmacovigilance. En effet, plusieurs études récentes tendent à montrer une toxicité cardiaque non négligeable avec un allongement de l'espace QT, ainsi qu'un risque d'arrêt cardiaque. Déjà mis en avant lors des études sur l'animal, ces effets indésirables cardiaques, que l'on pensait moins fréquents chez l'Homme, semblent aujourd'hui plus courants et à prendre en considération lors de l'initiation d'un traitement contre le paludisme par des dérivés de l'artémisinine (94,95).

Quelques effets indésirables peu graves et courants sont à signaler avec les dérivés de l'artémisinine. C'est les cas de céphalées, de nausées et vomissements, de troubles digestifs et de vertiges.

#### **4.4.2. Toxicité de l'artémisinine et dérivés chez la femme enceinte**

Peu d'études existent quant à l'utilisation de l'artémisinine et de ses dérivés chez la femme enceinte. Si les études chez l'humain ont conclu à une absence d'effets tératogènes ou mutagènes, des effets de résorption fœtale ont été observés lors d'études sur des rongeurs. La crainte que ces effets se produisent chez l'Homme a poussé plusieurs instances à ne pas recommander l'utilisation de l'artémisinine et de ses dérivés durant la grossesse.

La période de toxicité maximale pour l'embryon se situe entre la troisième et la neuvième semaine de grossesse (96).

Après plusieurs études de cas documentés, l'OMS a conclu à une absence d'effet sur la croissance fœtale ou sur le développement des nouveaux nés exposés durant la grossesse à l'artémisinine. L'utilisation de l'artémisinine est donc recommandée en première intention dans le traitement du paludisme chez la femme enceinte au deuxième et troisième trimestre de grossesse, au même titre que la quinine. Cependant, une utilisation durant le premier trimestre de grossesse n'est toujours pas recommandée (97).

Le traitement par artémisinine durant l'allaitement ne pose aucun problème, car les composés ne passent pas dans le lait maternel. L'artémisinine peut donc être indiquée dans les traitements du paludisme chez la femme allaitante.

#### **4.4.3. Toxicité de l'artémisinine et dérivés chez l'enfant**

Les enfants représentent une des catégories de la population la plus touchée par le paludisme. Dans les zones à forte transmission, comme en Afrique par exemple, c'est durant cette période que l'immunité partielle se met en place. Les enfants touchés sont donc encore fragiles, et un grand nombre d'infections palustres se terminent par un décès.

Cependant, peu d'études sur l'efficacité et la toxicité des médicaments sont disponibles chez les enfants, principalement pour des raisons éthiques. Il existe par ailleurs très peu de formes pédiatriques de traitements antipaludiques, ce qui entraîne l'utilisation des comprimés pour adultes que l'on divise pour obtenir les doses souhaitées. La seule toxicité retrouvée chez des enfants provient d'erreurs de dosage avec de faibles effets indésirables, comme des troubles digestifs et des vertiges.

Chez les enfants, les traitements à base d'artémisinine sont désormais mieux connus et bien tolérés avec une faible toxicité (98).

#### **4.5. Métabolisme de l'artémisinine**

Les différentes études pharmacocinétiques sur l'artémisinine ont été effectuées en majorité chez des adultes. Très peu d'études concernent les enfants et encore moins les nourrissons, mais il existe une forte corrélation entre la pharmacocinétique et le poids. C'est pour cette raison que les doses sont exprimées en mg/kg.

Les concentrations d'artémisinine qui permettent d'obtenir une inhibition de 50% de la croissance parasitaire sont de l'ordre de 3 à 30  $\mu\text{g.L}^{-1}$ . Les dérivés de l'artémisinine sont quant à eux beaucoup plus actifs. L'artéméther, ainsi que l'arté-éther sont deux fois plus actifs, et la dihydroartémisinine, ainsi que l'artésunate sont quatre à cinq fois plus actifs (73).

Enfin, l'infection elle-même semble interférer sur les paramètres pharmacocinétiques. C'est principalement le cas lors de la phase aiguë de la pathologie où la clairance et le volume de distribution sont diminués.

L'absorption de l'artémisinine est rapide par voie orale avec une concentration maximale (C<sub>max</sub>) d'environ deux heures mais la biodisponibilité reste faible comparée à la forme intramusculaire (biodisponibilité d'environ 30 %). L'alimentation ne modifie pas la pharmacocinétique (99).

L'artésunate et l'artéméther sont deux composés bien distincts, mais qui aboutissent à la formation du même composé actif qu'est la dihydroartémisinine (DHA). Ils sont rapidement absorbés avec une C<sub>max</sub> de moins d'une heure pour l'artésunate, et d'environ deux heures pour l'artéméther après une prise par voie orale. Ce délai est réduit à moins de 30 minutes lorsque la voie intraveineuse est utilisée (94).

L'artémisinine possède un volume de distribution de 37 L/kg et traverse les barrières hématoencéphaliques et placentaire.

L'arthéméther est fortement fixé aux protéines plasmatiques avec un taux de fixation de 70 à 95 %. Il possède un volume de distribution apparent de 700 L/kg. Il est distribué à parts égales entre le plasma et les érythrocytes, et diffuse faiblement dans le liquide céphalo-rachidien.

L'artésunate est lié à 75 % aux protéines plasmatiques et possède un volume de distribution plus faible que l'artéméther (inférieur à 1 L/kg) (99).

Il est métabolisé dans le foie en différents métabolites qui sont tous inactifs en raison de la perte de la fonction endopéroxyde (Deoxyartémisinine, Dihydroxydihydroartémisinine ...). Différents cytochromes sont impliqués comme le cytochrome P450 par exemple.

L'artésunate est rapidement hydrolysé en DHA dans le tractus digestif (par l'acidité) et par les estérases hépatiques. L'artéméther est quant à lui déméthylé en DHA par les cytochromes P450, 3A4 et 3A5. La dihydroartémisinine est par la suite métabolisée par glucuroconjugaison (73,99).

La demi-vie d'élimination de l'artémisinine est située entre 2 et 5 heures. Elle est éliminée par les urines et les selles. Au bout de 48 heures, on peut considérer que l'artémisinine est totalement éliminée de l'organisme (100).

La demi-vie d'élimination de l'artésunate est rapide, elle est d'environ 1 heure. Concernant l'artéméther, elle est plus longue et se situe entre 3 et 11 heures. La demi-vie de la DHA quant à elle est relativement courte, puisqu'elle est d'environ 3 heures (100).

## **5. *Artemisia* sous forme de thés ou tisanes : intérêts et dangers**

Si l'utilisation de l'*Artemisia annua* sous forme de tisanes est issue de la médecine traditionnelle chinoise et connue depuis plus d'un millier d'années, elle n'en reste pas moins d'actualité à notre époque. Notamment parce qu'elle pourrait permettre à certaines populations pauvres d'accéder facilement à un traitement efficace et peu cher pour traiter les accès palustres non compliqués, là où les traitements modernes souvent chers et peu accessibles posent problème. Cependant, le nombre d'études traitant du sujet reste encore faible, même si de plus en plus sont publiées. La qualité des différentes études est également à prendre en compte, et les conclusions sont donc parfois à nuancer.

L'OMS et les différentes instances de santé internationales se sont jusqu'à maintenant opposées à l'utilisation d'*Artemisia annua* sous la forme d'infusions ou sous d'autres formes, avec pour arguments un manque d'efficacité, un risque accru d'apparition de résistance, des effets indésirables cardiaques, et un contrôle difficile de la dose d'artémisinine administrée aux patients. Mais, pour certaines associations, les raisons principales sont d'ordres politique et économique, avec la protection des grands groupes pharmaceutiques.

### **5.1. Efficacité et études cliniques avec *Artemisia annua***

Il est difficile de comparer les différents essais cliniques réalisés avec *Artemisia annua* dans le traitement du paludisme, pour différentes raisons. Tout d'abord, le type de préparation utilisée varie (infusion, poudre de plante, préparation alcoolique ...), la dose utilisée est variable et la durée du traitement n'est jamais équivalente. De plus, le suivi n'est pas toujours rigoureux.

#### **5.1.1. 1986 – Etude de Chang et Al.**

Ainsi, la toute première étude clinique digne de ce nom avec *Artemisia annua* remonte à 1986, dans l'ouvrage « Pharmacology and applications of chinese materia medica » de Chang et Al. (101). Dans cette étude, l'auteur utilise une préparation alcoolique diluée obtenue à partir de la plante fraîche, et le taux de guérison est de 100%. Cependant, le résultat est à nuancer, car il n'y a pas de suivi. On ne connaît ni le taux de rechutes, ni sur quels éléments les auteurs se

basent pour définir la guérison. On ne sait pas non plus sur quels critères les auteurs se sont appuyés pour inclure les malades dans l'étude. Plus tard, quelques études plus rigoureuses ont été réalisées et servent de « référence » malgré la présence de plusieurs biais.

### 5.1.2. 2000 – 1<sup>ère</sup> Etude de Mueller et Al.

C'est notamment les cas des études publiées par Mueller et Al. en 2000 et 2004 (102,103). Dans la publication de 2000 (102), les auteurs comparent deux modes de préparation de la tisane : l'une effectuée par infusion (1L d'eau bouillante versé directement sur 5 grammes de plantes sèches infusées durant 15 min) et l'autre par décoction (5 grammes de plantes sèches dans 1L d'eau porté à ébullition durant 5 min). Un échantillon total de 70 patients, 22 pour le groupe « infusion » et 48 pour le groupe « décoction », reçoit les différentes tisanes durant 4 jours (1L de tisane par jour).

Les auteurs s'attendaient à une faible efficacité de la méthode par décoction avec une destruction supposée de l'artémisinine, ce qui n'a pas été le cas ; le taux de guérison s'avère tout de même inférieur à la méthode par infusion, qui reste donc le mode de préparation recommandé. Le taux de guérison dans cette étude atteint 92% selon les auteurs, mais il faut cependant nuancer ces résultats.

En effet, il n'y a pas de groupe témoins, le suivi des patients s'arrête après quelques jours seulement, la durée de traitement entre les deux groupes diffère sans raison (un jour d'écart) et le taux de recrudescence n'est pas connu. De plus, cette étude comporte plusieurs biais si l'on se base sur les recommandations de l'OMS pour les critères d'inclusion des patients (parasitémie minimum de 2000 formes asexuées/ $\mu$ L de sang ou températures axillaire  $\geq 37,5$  °C) (65). En effet, dans cette étude, les auteurs nous illustrent grâce à un graphique (figure 21) la parasitémie initiale d'un groupe de patients. Pour la plus élevée, elle atteint 140

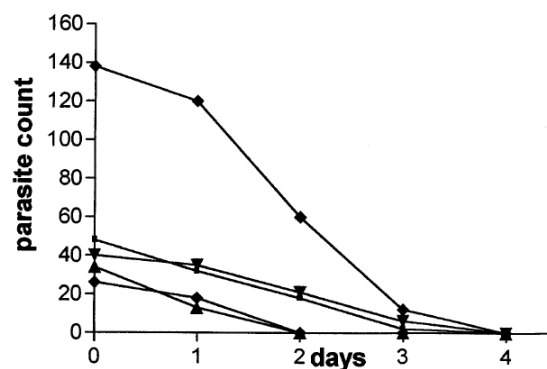


Figure 21: Parasitémie initiale de cinq individus atteint de paludisme dans l'étude de Mueller et Al. (102)

trophozoïtes/0,38 µL de sang, ce qui correspond environ à 400 trophozoïtes/µL de sang. Cette valeur représente 5 fois moins que le seuil de 2000/µL recommandé par l’OMS.

Le deuxième biais important à prendre en considération dans cette étude est le taux de guérison. Les auteurs annoncent un taux minimum de 92% de guérison, mais ne se basent que sur la guérison clinique au dernier jour de l’administration des tisanes, sans aucun suivi des patients par la suite. On ne connaît donc pas le taux de rechutes des patients.

Cette étude sur un faible échantillonnage, avec des critères d’inclusion peu fiables, une absence de groupe témoin et de double aveugle ne permet donc pas de conclure à une efficacité de la tisane d’*Artemisia annua*. Elle laisse cependant entrevoir des espoirs, mais nécessitant confirmation dans d’autres études mieux menées.

### 5.1.3. 2004 – 2<sup>ème</sup> Etude de Mueller et Al.

Dans cette nouvelle étude, trois groupes de patients sont formés. Le biais d’inclusion concernant les patients avec une parasitémie inférieure à 2000/µL de sang, ainsi que l’absence de suivi ont été corrigés, ce qui permet de respecter les conditions décrites par l’OMS. Le taux de recrudescence est un problème dans ces travaux de 2004 (103).

Cette étude évalue la différence d’efficacité en fonction de la dose de plantes utilisée. Un groupe de 39 patients reçoit une infusion préparée à partir de 5 grammes de plantes par litre, un autre groupe de 33 patients reçoit une infusion préparée à partir de 9 grammes de plantes par litre.

**Table 1** Efficacy of a seven day treatment with *Artemisia annua* preparations in uncomplicated *Plasmodium falciparum* malaria compared with quinine

	<i>Artemisia annua</i> tea (5 g herb/d)	<i>Artemisia annua</i> tea (9 g herb/d)	Quinine (1500 mg/d)
Cure rate day 7	30/39 (77%)	23/33 (70%)	39/43 (91%)
Cure rate day 14	20/35 (57%)	18/31 (58%)	35/39 (90%)
Cure rate day 28	12/32 (38%)	11/30 (37%)	31/36 (86%)
Cure rate day 35	11/32 (34%)	9/30 (30%)	27/34 (79%)
Symptoms <sup>a</sup>			
Fever	31/34 (91%)	26/32 (81%)	34/37 (92%)
Chills	23/25 (92%)	18/18 (100%)	24/24 (100%)
Fatigue	29/33 (88%)	19/26 (73%)	23/33 (70%)
Vertigo	17/21 (81%)	18/20 (90%)	21/27 (78%)
Nausea	11/12 (92%)	5/6 (83%)	7/11 (64%)
Joint pain	22/24 (92%)	19/22 (86%)	18/19 (95%)
Vomiting	6/7 (86%)	4/4 (100%)	13/17 (76%)
Headache	26/30 (87%)	22/30 (73%)	34/39 (87%)
Abdominal pain	8/8 (100%)	10/12 (83%)	12/14 (86%)
Diarrhoea	1/1 (100%)	1/1 (100%)	0/0

<sup>a</sup> No. of patients with symptom improved or resolved on day 3/no. of patients with symptom on day 0.

Figure 22: Efficacité de la tisane d’*Artemisia annua* dans les différents groupes à J7, J14, J28 et J35 comparé au groupe traité par Quinine dans l’étude de Mueller et Al. 2004 (103)

De plus, un suivi sur 35 jours, ainsi qu'une comparaison avec un traitement à base de quinine (groupe 3) sont présents dans cette étude.

Les résultats sur l'efficacité de l'infusion à la fin du traitement sont inférieurs à la précédente étude (77% pour le premier groupe et 70% pour le second à J7), et également nettement inférieur à la quinine (guérison à 91%), mais reste à des taux satisfaisants. Le suivi sur 35 jours a révélé un taux de recrudescence important (43% pour le premier groupe et 40% pour le second groupe). Les auteurs ont donc pu conclure à la supériorité de la quinine. La monothérapie par *Artemisia annua* ne peut être recommandée en substitution des traitements modernes, mais celle-ci mérite tout de même des études plus approfondies. De plus, dans certaines populations, où l'accès aux traitements modernes est quasiment impossible pour des raisons financières, l'*Artemisia annua* pourrait jouer un rôle important dans la lutte contre le paludisme.

#### 5.1.4. 2015 – Etude de Zime-Diawara et Al.

Dans cette étude menée au Bénin, les patients ont reçu une tisane de 12 grammes par litre d'*Artemisia annua* sur 7 jours. La dose est divisée en 4 prises de 250 ml par jour chez les adultes et 4 doses de 125 ml chez les enfants. 130 patients ont débutés l'essai, mais seulement 108 ont suivi le traitement en intégralité, et ont été surveillés jusqu'au terme de l'essai à J28 (104).

Les critères d'inclusion ou d'exclusion de l'étude comportent plusieurs biais si l'on se réfère aux critères de l'OMS. Ainsi le nombre minimum de 2000 formes asexuées/ $\mu$ l n'est pas respecté (1000 à 65300 formes asexuées/ $\mu$ l dans l'étude). Les vomissements répétés ou datant de moins de 24 heures, qui doivent normalement conduire à l'exclusion du patient, n'ont également pas

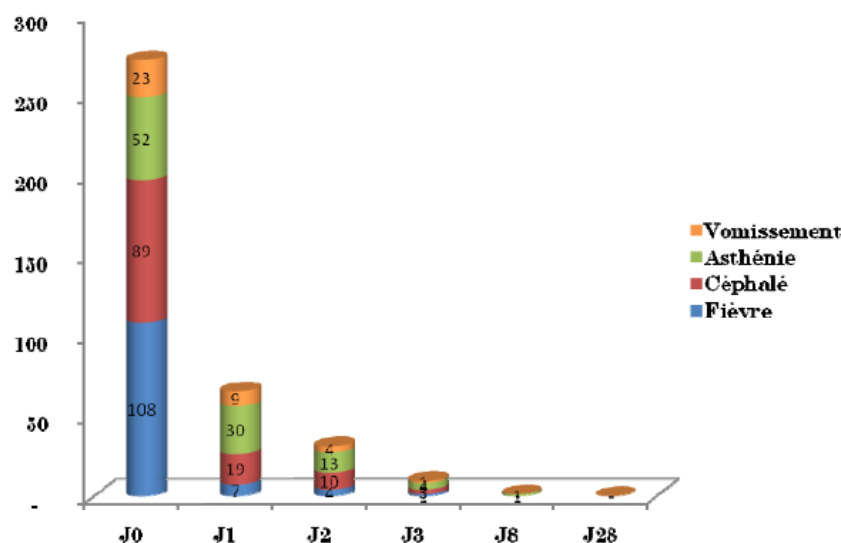


Figure 23 : Evolution de la fréquence des symptômes chez les patients durant le traitement par *Artemisia annua* (104)



été respectés dans cette étude dans laquelle 23 patients présentaient des vomissements à son initiation (figure 23).

Les auteurs précisent tout de même que les patients étaient surveillés après l'administration de la tisane, afin de pouvoir leur redonner une dose en cas de vomissements.

L'absence de thrombopénie dans les résultats à J0 des patients n'est pas caractéristique d'un paludisme simple, même si l'on peut constater une augmentation des plaquettes entre J0 et J28 (Tableau 4). Le diagnostic de paludisme simple peut donc être remis en cause.

Tableau 4 : Evolution des constantes hématologiques entre J0 et J28 (104)

Paramètres Mesurés	Prélèvement à J <sub>0</sub>	Prélèvement à J <sub>28</sub>	p-value
	Moyenne (IC)	Moyenne (IC)	
Hématocrite	37,58 ± 0,9	39,08 ± 0,91	< 0,05
Erythrocytes	4742804 ± 129435	5043177 ± 194248	< 0,05
Leucocytes	5337,66 ± 773,04	5138,6 ± 429,88	NS
Neutrophiles	53,54 ± 2,68	117,36 ± 128,14	< 0,05
Lymphocytes	43,44 ± 2,72	44,21 ± 2,48	NS
Monocytes	1,23 ± 0,21	0,93 ± 0,12	NS
Basophiles	-	-	-
Eosinophiles	1,94 ± 0,2	1,57 ± 0,2	NS
Plaquettes	182686,9 ± 13522	230452,8 ± 13686,8	< 0,05

NS = Non Significatif

### 5.1.5. 2015 – Etude de Gbaguidi et al.

Dans chacune des études, la dose journalière en artémisinine administrée aux patients varie de 47 mg à 94 mg. C'est 7 à 10 fois inférieur à la dose thérapeutique de l'artémisinine seule, ce qui force à croire que ce n'est pas seulement cette molécule qui a un effet antipaludique, mais bien un ensemble de molécules qui potentialisent l'action. Il y a également plusieurs pro-drogues qui peuvent expliquer ce phénomène.

C'est ce qu'ont montré Fernand Gbaguidi et Al. dans une publication parue en 2015 (105). Dans cette étude où les auteurs effectuent des tests *in vitro* et *in vivo* chez la souris infectée par *P. berghei*, deux formes d'utilisation d'*Artemisia annua* sont évaluées : un extrait aqueux et un extrait alcoolique. Après 4 jours de traitement, l'efficacité de l'extrait aqueux s'est révélée identique à l'efficacité de l'artémisinine pure (dosée à 140 mg/kg), alors que cet extrait aqueux n'est dosé qu'à seulement 20 mg/kg en artémisinine. L'extrait alcoolique (teneur en artémisinine de 20 mg/kg également) était quant à lui plus efficace que les 2 autres, ce qui est expliqué par une teneur en sesquiterpènes et flavonoïdes supérieure. Les auteurs ont donc

conclu que l'artémisinine n'était pas la seule substance active contre le paludisme, puisque même d'autres espèces d'*Artemisia* dépourvues d'artémisinine possèdent une activité antipaludique (c'est notamment le cas d'*Artemisia afra*). On peut même parler de « polythérapie » contre le paludisme selon les auteurs, grâce aux huiles essentielles et aux autres sesquiterpènes présents dans cette plante. De plus, ils ont remarqué une solubilité augmentée avec les extraits alcooliques de la plante, grâce à la présence d'autres molécules de la plante comme les flavonoïdes ou les saponosides. Selon les auteurs, les différents extraits peuvent donc être utilisés par les populations défavorisées pour se soigner du paludisme.

#### **5.1.6. 2006 – Etude de Chougouo Kengne R.D et Al.**

Une étude de 2006 de Chougouo Kengne R.D et Al. (106) relate l'utilisation de tisanes (infusion) comparée à d'autres traitements. 4 groupes de patients sont constitués ; le premier groupe reçoit de l'artésunate, le second de l'artésunate + amodiaquine, le troisième une tisane d'*Artemisia annua* durant 5 jours, et le quatrième cette même tisane mais durant 7 jours. Dans cette étude, les auteurs annoncent un taux de réussite supérieur à 80% dans tous les groupes hormis le groupe n°3 (tisane durant 5 jours) avec un taux de guérison de 71%. Ils ont donc conclu que les prises de tisane d'*A. annua* devait durer au minimum 7 jours pour être satisfaisante.

#### **5.1.7. 2016 – Etude de Pedro Melillo de Magalhaes et Al.**

Malheureusement, dans la plupart des études, il manque un suivi rigoureux du patient pendant au moins 28 jours. Dans la publication récente de Pedro Melillo de Magalhaes et Al. de 2016 (107), on retrouve justement ce suivi de 28 jours. De plus, il y a une comparaison avec un traitement de référence qu'est l'artéméther-luméfántrine (Coartem®). Au bout de 3 jours de traitement avec le thé d'*Artemisia annua*, la parasitémie de tous les patients devient négative, ce qui confirme les résultats des différentes études précédentes. Cependant, comme dans de nombreuses monothérapies à l'artémisinine, après 14 à 21 jours, plus de la moitié des patients traités (57%) ont présenté une résistance de type I, c'est-à-dire une résistance causée par une sélection d'individus résistants, et une réapparition de la parasitémie. Les autres patients du groupe thé ont présenté des résistances de type II (certains individus n'ont pas été exposé au médicament) et type III (mutations de plasmodium qui interagissent avec le médicament). Mais

les dangers suite à la consommation de thé d'*Artemisia* sont à nuancer. L'apparition de résistance à l'artémisinine et à l'artésunate après avoir consommé du thé d'*Artemisia annua* est quasiment impossible. En effet, avec les connaissances sur le mécanisme d'action de l'artémisinine, on sait aujourd'hui que celle-ci agit principalement de manière physique en cassant les ponts endo-péroxydes.

#### **5.1.8. Conclusion des essais cliniques**

Chacun des différents essais cliniques évoqués a donc mis en valeur une efficacité clinique des différentes formes d'*Artemisia annua*, et plus particulièrement sous la forme de tisanes. Cependant, de nombreux biais persistent dans les différentes études (critère d'inclusion, suivi des patients, recrudescence ...), et la plupart ne sont pas menées en double-aveugle, ou alors celui-ci n'est pas mis en place de façon optimale, ce qui les rend difficilement interprétables. De plus, lorsque l'*Artemisia annua* sous forme de tisanes est comparée à des traitements déjà présents dans différentes études, les résultats sur son efficacité sont favorables aux molécules déjà existantes.

A ce jour, il n'existe aucun consensus sur la dose de plantes à utiliser, ni sur la durée de traitement, ou encore sur la technique de préparation à mettre en œuvre.

Tous ces essais cliniques montrent le formidable potentiel de cette plante, et invite à de plus larges recherches, tant pour des raisons économiques que pour des raisons de Santé Publique. Pour cela, la mise en place d'études et d'essais bien encadrés avec des protocoles clairement définis, des critères d'inclusion et un suivi strict, sont plus que nécessaires pour confirmer ou infirmer que l'*Artemisia annua* sous la forme de tisanes ou sous d'autres formes, a le pouvoir de guérir du paludisme et de changer ainsi des millions de vies. Il est cependant déconseillé, de par les différents essais cliniques menés, de conseiller l'utilisation de l'*Artemisia annua* en prophylaxie, ou en traitement curatif, lorsqu'un autre traitement est disponible.

### **5.2. Les doses recommandées**

Actuellement, aucun consensus n'existe concernant la dose de plantes à utiliser pour la préparation des tisanes. La plupart des études utilise une dose de plantes sèches variant de 5 grammes par litre d'eau à 12 grammes par litre d'eau, mais il serait possible de monter à des

doses supérieures, sans que cela ne soit bénéfique pour le patient. Il est ensuite recommandé de consommer 250 mL de cette préparation toutes les 6 heures durant 5 à 7 jours. Comme vu précédemment, l'étude de Mueller et Al. de 2004 (103) a testé deux dosages de tisane (l'une dosée à 5 grammes de feuilles sèches par litre pour le groupe 1, et l'autre à 9 grammes de feuilles sèches par litre pour le groupe 2). On aurait pu s'attendre à une meilleure efficacité du groupe de patients traités avec les 9 grammes de plantes sèches. Pourtant, cela n'a pas été le cas. En effet, le groupe 1 (tisane à 5 g/L) a révélé un taux de guérison supérieur au second groupe (77% de guérison à 7 jours pour le groupe à 5g/L contre 70% pour le groupe à 9g/L). Il n'est donc pas possible de mettre en avant une efficacité supérieure en fonction de la dose de plantes sèches. Il faut cependant noter un taux de recrudescence inférieur dans le groupe 2 (40% de recrudescence dans le groupe 2 contre 43% dans le groupe 1) qui pourrait, peut-être, s'expliquer par cette différence de dose.

Dans une autre étude de Zime-Diawara et Al. datant de 2015 (104), il est justement question d'une tisane à une dose de 12 grammes de plantes sèches par litre d'eau sur 7 jours. Dans cette étude, les auteurs relatent un taux de guérison à 100 % à J28. Ils expliquent ce très bon résultat grâce à la dose de plantes sèches supérieure aux autres études, malgré des taux d'artémisinine inférieurs (0,30% dans cette étude contre 1,40% dans les études de Mueller et Al. (103)). Les auteurs appuient donc l'hypothèse selon laquelle d'autres composés, tels que les coumarines, les flavonoïdes ou encore les sesquiterpènes, jouent un rôle essentiel dans l'activité antipaludique et l'absorption de cette plante.

Il est donc difficile de déterminer une dose bien précise de plantes pour les préparations. Il est nécessaire de prendre en compte la teneur en artémisinine de la plante, mais celle-ci ne semble pas être le seul paramètre déterminant. En effet, des doses de plantes supérieures, mais moins riches en artémisinine semblent apporter des résultats satisfaisants, ce qui amène à traiter le problème de la dose au cas par cas. Les auteurs semblent néanmoins s'accorder sur le fait qu'une dose minimale de 5 grammes de plantes sèches par litre d'eau est nécessaire dans les traitements antipaludiques à base de tisanes de feuilles d'*Artemisia annua*.

### 5.3. Dangers liés à la consommation d'*Artemisia annua*

Il est important de signaler que l'utilisation d'*Artemisia annua* n'est pas sans risque. En effet, comme toutes plantes médicinales qui possèdent des propriétés thérapeutiques, elle renferme des principes actifs qui, selon la concentration et la dose ingérée, peuvent provoquer divers effets indésirables. C'est un des problèmes majeurs avec l'Armoise annuelle qui incite plusieurs Instances de Santé comme l'OMS à déconseiller son utilisation.

La composition des plants d'*Artemisia annua* dépend grandement du lieu, de la récolte, des conditions de cultures et de stockage. Il est donc difficile de connaître la concentration des différents composés de la plante sans des études poussées. Cela peut être un danger pour les femmes enceintes (principalement durant leur 1<sup>er</sup> trimestre de grossesse) ou les jeunes enfants qui consomment des tisanes d'*Artemisia annua* avec un risque de surdosage en artémisinine par exemple. Cette incertitude sur la composition et la quantité de principes actifs a également fait apparaître la crainte d'apparition de résistances accrues de *Plasmodium* vis-à-vis de l'artémisinine. Il n'y a cependant à ce jour aucune étude qui montre un lien entre l'apparition de résistances et la consommation d'*Artemisia annua* (108).

Récemment, l'agence de santé néozélandaise a alerté sur les potentiels effets indésirables cardiaques que peut provoquer la consommation d'*Artemisia annua*. Elle a ainsi signalé l'observation de deux patients qui ont présentés des troubles du rythme cardiaque, avec notamment, un allongement de l'espace QT ainsi qu'un arrêt cardiaque pour l'un d'eux suite à la consommation de produits naturels qui contenaient des extraits d'*Artemisia annua*. Il n'est cependant pas précisé s'il s'agit de tisanes, de gélules de poudres ou d'autres formes. Selon leurs conclusions, « *la consommation de ce type de produit expose à des troubles du rythme cardiaque graves et potentiellement mortels ; ils sont donc à éviter* ». Ces effets indésirables sont attendus de par la composition de la plante qui contient de l'artémisinine, molécule déjà connue pour ses dangers cardiaques (109).

Ces conclusions et ces observations sont toutes fondées et légitimes en raison de la connaissance de la plante, du parasite et de sa capacité à s'adapter aux différents traitements utilisés. Cependant, elles ne sont recevables que pour les pays développés où le paludisme est peu présent et où l'accès aux soins et aux traitements sont facilités.

Le réel danger de cette plante vient de son utilisation en automédication, ainsi que du manque d'études bien menées concernant son utilisation.

## 5.4. Position de l'OMS et Autorités de Santé

La position de l'OMS concernant l'utilisation de l'*Artemisia annua* dans la prévention ou dans le traitement du paludisme, que ce soit sous forme de tisanes ou sous forme de gélules, est très claire : son usage est prohibé par l'OMS. De plus, cette consommation pourrait, selon eux, avoir des conséquences dangereuses pour les voyageurs, comme pour les populations locales. Cette position est également mise en avant par d'autres instances comme l'ANSM ou encore dans les recommandations sanitaires pour les voyageurs de Santé Publique France (56).

Dans son communiqué, l'OMS avance plusieurs arguments pour déconseiller l'utilisation de l'*Artemisia annua* dans la prise en charge du paludisme :

- Aucune étude clinique sérieuse et méthodologiquement contrôlée n'a montré la preuve que l'*Artemisia annua* ou autres espèces d'*Artemisia* pouvaient guérir ou prévenir l'accès palustre.
- L'innocuité des préparations et de leurs utilisations ne sont pas établies.
- Aucune Autorisation de Mise sur le Marché (AMM) n'a été accordée en Europe pour des produits à base d'*Artemisia* visant à lutter contre le paludisme.
- L'utilisation de produits à base d'*Artemisia* en prophylaxie chez les voyageurs est en augmentation constante. Cette utilisation pourrait entraîner un grave retard de prise en charge, et donc une évolution vers un paludisme grave.
- L'utilisation de produits à base d'*Artemisia* pourrait entraîner l'apparition de résistance par pression de sélection.

Cependant, l'OMS a-t-elle une position neutre et objective pour juger et interdire l'utilisation d'*Artemisia annua* dans la prise en charge du paludisme ? Cette plante, pourtant utilisée depuis plusieurs millénaires en Chine, n'est-elle pas au cœur d'un conflit entre Santé Publique et économie ? La question mérite d'être posée dans un monde où la santé est un secteur économique à part entière (question soulevée dans le documentaire « malaria Business »)

Le budget de l'OMS a considérablement évolué durant les dernières décennies. Avant, il était financé à 50 % par des fonds publics, ceux-ci ne représentent désormais plus que 20% du budget. Ils ont été remplacés par des fonds privés, laissant supposer des pressions économiques sur certaines décisions prises.

## Conclusion

Le paludisme est un fléau mondial et c'est la moitié de la population mondiale qui y est exposée. Cette pathologie qui est devenue un véritable problème de Santé Publique, pèse désormais très lourd sur l'économie des pays touchés. Plusieurs actions à l'échelle mondiale ont tenté de l'éradiquer, comme la lutte contre le moustique du genre *Anophèle*, la recherche de nouvelles molécules ou la création d'un vaccin, mais à ce jour elles ont toutes systématiquement échoué.

Des traitements prophylactiques efficaces afin de se prémunir contre le paludisme pour les voyageurs existent. Cette option n'est pas envisageable au long cours pour les populations qui vivent en zones endémiques. Les combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine (ACT) représentent aujourd'hui un traitement efficace pour lutter contre le paludisme, avec une absence de résistance (pour le moment) ; mais ces traitements restent onéreux et inaccessibles pour les populations les plus touchées par le paludisme.

Une plante a soulevé beaucoup d'espoir ces dernières décennies : *Artemisia annua*. Si elle a tout d'abord permis la découverte de l'artémisinine, et donc la mise en place des ACTs, elle a également fait espérer un remède bon marché et accessible sous la forme d'infusion pour les populations locales.

Malheureusement, cet espoir fut de courte durée, car plusieurs organisations s'opposent fermement à l'utilisation de cette plante sous la forme de tisane. Elle est même classée dans la liste des plantes interdites en France, et donc introuvable dans les pharmacies ou herboristeries. Pourtant, plusieurs études ont obtenu des résultats intéressants et encourageants. Cependant, un manque de rigueur est souvent reproché. Plusieurs arguments contre l'utilisation de cette plante ont vu le jour ces dernières années : le principe de précaution, car il existe un manque de recul et peu d'études cliniques fiables ; une toxicité mal établie ; un risque de sélection de résistances ; un risque de retards de prise en charge ... Tous ces arguments sont recevables lorsque l'on dispose d'un traitement prophylactique ou thérapeutique fiable ayant reçu une AMM et d'un accès facile aux soins. Ce n'est malheureusement pas le cas des populations les plus touchées par le paludisme. Aussi, dans ce cas, l'utilisation des infusions d'*Artemisia annua* peut être et devrait être une alternative envisageable. Si une simple infusion de plantes peut permettre à un continent comme l'Afrique de diminuer considérablement le nombre de décès imputé au paludisme, alors tous ces arguments ne sont plus recevables.

Une coordination ainsi qu'une transparence entre les différents pays, les organisations politiques, économiques ou de santé, et les grands groupes pharmaceutiques sont plus que jamais nécessaires pour lutter contre ce fléau mondial qu'est devenu le paludisme. Sans un effort commun, aucun résultat positif ne pourra être attendu.



## Bibliographie

1. Mouchet J, Carnevale P, Coosemans M, Julvez J, Manguin S, Richard-Lenoble D, et al. Biodiversité du paludisme dans le monde. Montrouge (Hauts-de-Seine): John Libbey Eurotext; 2004.
2. Le Généraliste. Le paludisme, le " mauvais air " de la peur [Internet]. Le Généraliste. 2014 [cité 23 août 2018]. Disponible sur: [https://www.legeneraliste.fr/actualites/article/2014/08/17/le-paludisme-le-mauvais-air-de-la-peur\\_248916](https://www.legeneraliste.fr/actualites/article/2014/08/17/le-paludisme-le-mauvais-air-de-la-peur_248916)
3. Prugnolle F, Renaud F, Durand P, Rogier C, Toty C, Fontenille D. Vaincre le paludisme - Histoire de la paludologie. Doss Thématiques IRD Inst Rech Pour Dév [Internet]. 2012 [cité 10 nov 2020]; Disponible sur: [http://www.suds-en-ligne.ird.fr/paludisme/pdf/1-histoire\\_paludologie.pdf](http://www.suds-en-ligne.ird.fr/paludisme/pdf/1-histoire_paludologie.pdf)
4. Cox FEG. History of Human Parasitology. Clin Microbiol Rev. oct 2002;15(4):595-612.
5. Lafont G. Le paludisme : l'histoire [Internet]. 2016 [cité 27 nov 2019]. Disponible sur: <https://www.reseau-canope.fr/corpus/video/le-paludisme-1%E2%80%99histoire-190.html>
6. Institut Pasteur de Madagascar. Les grandes dates de l'histoire du paludisme [Internet]. Santé & Médecine présenté à; 00:34:11 UTC [cité 9 juill 2018]. Disponible sur: <https://fr.slideshare.net/atelier-paludisme/madji-s2>
7. Le Généraliste. Le paludisme, le « mauvais air » de la peur - partie 2 [Internet]. Le Généraliste. 2014 [cité 23 août 2018]. Disponible sur: [https://www.legeneraliste.fr/actualites/article/2014/08/23/le-paludisme-le-mauvais-air-de-la-peur-2\\_249181](https://www.legeneraliste.fr/actualites/article/2014/08/23/le-paludisme-le-mauvais-air-de-la-peur-2_249181)
8. CDC - Centers for Disease Control and Prevention. The History of Malaria, an Ancient Disease [Internet]. 2017 [cité 24 août 2018]. Disponible sur: <https://www.cdc.gov/malaria/about/history/index.html>
9. Nobel Lectures, Physiology or Medecine. Julius Wagner-Jauregg - Biographical [Internet]. NobelPrize.org. 1965 [cité 24 août 2018]. Disponible sur: <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1927/wagner-jauregg/facts/>
10. Le généraliste. Le paludisme, le « mauvais air » de la peur - partie 3 [Internet]. Le Généraliste. 2014 [cité 23 août 2018]. Disponible sur: [https://www.legeneraliste.fr/actualites/article/2014/08/30/le-paludisme-le-mauvais-air-de-la-peur-3\\_249446](https://www.legeneraliste.fr/actualites/article/2014/08/30/le-paludisme-le-mauvais-air-de-la-peur-3_249446)
11. OMS - Organisation Mondiale de la Santé. Paludisme OMS 2019 [Internet]. 2019 [cité 27 nov 2019]. Disponible sur: <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/malaria>
12. La Maison de l'Artemisia. La Maison de l'Artemisia - Etudes Cliniques [Internet]. 2019 [cité 27 nov 2019]. Disponible sur: <https://maison-artemisia.org/Maison-Artemisia-Cliniques.pdf>

13. Sanner A. L'artémisinine et ses dérivés : apports de la médecine traditionnelle chinoise dans la lutte contre le paludisme chimiorésistant et perspectives contemporaines. 2008.
14. Association Française des Enseignants de Parasitologie et Mycologie (ANOFEL). Le paludisme [Internet]. 2016 [cité 27 juill 2018]. Disponible sur: <http://campus.cerimes.fr/parasitologie/enseignement/paludisme/site/html/1.html>
15. OMS - Organisation Mondiale de la Santé. Paludisme [Internet]. 2020 [cité 10 nov 2020]. Disponible sur: <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/malaria>
16. INRS - Institut national de recherche et de sécurité. Paludisme [Internet]. 2019 [cité 3 déc 2019]. Disponible sur: [http://www.inrs.fr/publications/bdd/eficatt/fiche.html?refINRS=EFICATT\\_Paludisme](http://www.inrs.fr/publications/bdd/eficatt/fiche.html?refINRS=EFICATT_Paludisme)
17. Aubry P, Gaüzère B-A. Médecine Tropicale - Paludisme [Internet]. 2019 [cité 11 déc 2019]. Disponible sur: <http://medecinetropicale.free.fr/cours/paludisme.pdf>
18. Argy N, Houzé S. Épidémiologie et cycle parasitaire d'un fléau mondial, le paludisme. *Actual Pharm.* mars 2018;57(574):18-20.
19. Ministère des Solidarités et de la Santé. Paludisme [Internet]. Ministère des Solidarités et de la Santé. 2019 [cité 17 nov 2020]. Disponible sur: <https://solidarites-sante.gouv.fr/soins-et-maladies/maladies/maladies-infectieuses/article/paludisme>
20. ANOFEL - Association Française des Enseignants de Parasitologie et Mycologie. Le paludisme [Internet]. 2014 [cité 22 août 2018]. Disponible sur: <http://campus.cerimes.fr/parasitologie/enseignement/paludisme/site/html/cours.pdf>
21. Santé Publique France. Bulletin épidémiologique hebdomadaire - Recommandations sanitaires pour les voyageurs. 2019.
22. Poostchi M, Silamut K, Maude R, Jaeger S, Thoma G. Image analysis and machine learning for detecting malaria. *Transl Res* [Internet]. 12 janv 2018 [cité 18 août 2018];194. Disponible sur: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S193152441730333X>
23. Trudel L, Couillard M, Laboratoire de santé publique du Québec. Identification morphologique des parasites de la malaria: cahier de stage [Internet]. Montréal, Qué.: Laboratoire de santé publique du Québec; 2005 [cité 10 nov 2020]. Disponible sur: <http://www.deslibris.ca/ID/201312>
24. Pages F, Orlandipradines E, Corbel V. Vecteurs du paludisme: biologie, diversité, contrôle et protection individuelle. *Médecine Mal Infect.* mars 2007;37(3):153-61.
25. Ambroise-Thomas PP, Carnevale P, Robert V, Roux PJ. Les anophèles: Biologie, transmission du Plasmodium et lutte antivectorielle [Internet]. Marseille: IRD Éditions; 2017 [cité 17 nov 2020]. Disponible sur: <http://books.openedition.org/irdeditions/10374>
26. Leke R, Mbacham W, Tallah E. Guide pratique de la lutte contre le paludisme. 2010.
27. Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française (SPILF). Prise en charge et prévention du paludisme d'importation. 2017;71.

28. CDC - Centers for Disease Control and Prevention. CDC - Malaria [Internet]. 2020 [cité 11 nov 2020]. Disponible sur: <https://www.cdc.gov/malaria/about/biology/index.html>
29. Lafont G. Le paludisme : le corps [Internet]. 2016 [cité 11 nov 2020]. Disponible sur: <https://www.reseau-canope.fr/corpus/video/le-paludisme-le-corps-192.html>
30. Argy N, Houzé S. Paludisme grave : de la physiopathologie aux nouveautés thérapeutiques. *J Anti-Infect.* mars 2014;16(1):13-7.
31. Haute Autorité de Santé (HAS). Le paludisme. 2016;104.
32. Pilly E, Collège des universitaires de maladies infectieuses et tropicales (France). *Maladies infectieuses et tropicales.* Paris: Alinéa Plus; 2015.
33. Danthu C. Le paludisme, une symptomatologie aspécifique. *Actual Pharm.* mars 2018;57(574):21-4.
34. Maazoun F, Deschamps O, Barros-Kogel E, Ngwem E, Fauchet N, Buffet P, et al. Splénomégalie palustre hyper-réactive. *Rev Médecine Interne.* nov 2015;36(11):753-9.
35. Bouldouyre M-A, Dia D, Carmoi T, Fall KB, Chevalier B, Debonne J-M. Une fièvre bilieuse hémoglobinurique de gravité moyenne. *Médecine Mal Infect.* juin 2006;36(6):343-5.
36. Gbadoé AD, Kini-Caussi M, Koffi S, Traoré H, Atakouma DY, Tatagan-Agbi K, et al. Évolution du paludisme grave de l'enfant au Togo de 2000 à 2002. *Médecine Mal Infect.* janv 2006;36(1):52-4.
37. Organisation mondiale de la santé. *La prise en charge du paludisme grave: guide pratique.* Genève: OMS; 2013.
38. Obi RK, Okangba CC, Nwanebu FC, Ndubuisi UU, Orji NM. Premunition in *Plasmodium falciparum* malaria. 2010;5.
39. Durieux M-F. Diagnostic biologique du paludisme. *Actual Pharm.* mars 2018;57(574):25-9.
40. Desoubreaux G, Chandénier J. Diagnostic biologique du paludisme d'importation. *Rev Francoph Lab.* déc 2017;2017(497):34-43.
41. MANGIN S. *Diagnostic du paludisme dans un dispensaire au Bénin.* 2016.
42. Stauffer WM, Cartwright CP, Olson DA, Juni BA, Taylor CM, Bowers SH, et al. Diagnostic Performance of Rapid Diagnostic Tests versus Blood Smears for Malaria in US Clinical Practice. *Clin Infect Dis.* 15 sept 2009;49(6):908-13.
43. Houzé S. Paludisme : gestion des immuno-tolérants dans la prévention du risque transfusionnel. *Transfus Clin Biol.* sept 2019;26(3):192-4.
44. Fougère É, Faucher J-F. Traitement et prophylaxie du paludisme en pratique. *Actual Pharm.* mars 2018;57(574):36-9.

45. Fougere É, Buxeraud J. Les médicaments antipaludiques. Actual Pharm. mars 2018;57(574):30-5.
46. Dalibon P. Médicaments du paludisme. Actual Pharm. avr 2016;55(555):40-5.
47. CNPM - Collège National de Pharmacologie Médicale. Antipaludéens : Les points essentiels [Internet]. 2017 [cité 15 nov 2020]. Disponible sur: <https://pharmacomedicale.org/medicaments/par-specialites/item/antipaludeens-les-points-essentiels>
48. Dardé M-L, Fougere É, Buxeraud J. Les antipaludiques. Actual Pharm. déc 2018;57(581):27-37.
49. Pradines B, Dormoi J, Briolant S, Bogreau H, Rogier C. La résistance aux antipaludiques. Rev Francoph Lab. mai 2010;2010(422):51-62.
50. Leyour J-B. Le paludisme, un exemple d'adaptation parasitaire : mise au point sur la maladie. 2016.
51. Danis M. Antipaludiques - mode d'action et résistance.pdf. 2008.
52. WHO - World Health Organization. Guidelines for the treatment of malaria. [Internet]. 2015 [cité 15 nov 2020]. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK294440/>
53. Imbert P. Nouveaux traitements du paludisme simple. Arch Pédiatrie. mai 2013;20(5):H98-9.
54. Pull L, Bellettre X, Michel JF, Bouchaud O, Siriez JY. Traitement du paludisme grave et du paludisme non compliqué à *P. falciparum* chez l'enfant en France. Arch Pédiatrie. nov 2013;20(11):1260-4.
55. OMS - Organisation Mondiale de la Santé. Le paludisme chez les femmes enceintes [Internet]. WHO. World Health Organization; 2017 [cité 15 nov 2020]. Disponible sur: [http://www.who.int/malaria/areas/high\\_risk\\_groups/pregnancy/fr/](http://www.who.int/malaria/areas/high_risk_groups/pregnancy/fr/)
56. Santé Publique France. Recommandations sanitaires pour les voyageurs - Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire. 2019.
57. Fougere É. Chimio prophylaxie du paludisme. Actual Pharm. 2019;4.
58. Agence de la santé publique du Canada. Mesures de prévention des piqûres et éducation en matière de paludisme : Recommandations canadienne pour la prévention et le traitement du paludisme (malaria) [Internet]. 2017 [cité 10 déc 2020]. Disponible sur: <https://www.canada.ca/fr/sante-publique/services/ccmtmv/recommandations-canadienne-prevention-traitement-paludisme-malaria/chapitre-3-prevention-mesures-prevention-piqures.html>
59. Sacoun E. Recommandations sur la prophylaxie du paludisme. OptionBio. nov 2009;20(426):8.
60. Buxeraud J. Mise en place d'une prophylaxie efficace du paludisme. 2008;7.

61. Thera MA, Plowe CV. Vaccines for malaria: how close are we? *Annu Rev Med.* 2012;63:345-57.
62. Thera MA. Développement clinique d'un vaccin antipaludique de stade sanguin et diversité antigénique de *Plasmodium Falciparum* à Bandiagara, Mali. 2015.
63. Thera MA, Doumbo OK, Coulibaly D, Laurens MB, Ouattara A, Kone AK, et al. A field trial to assess a blood-stage malaria vaccine. *N Engl J Med.* 15 sept 2011;365(11):1004-13.
64. Staudt E-A. Un Vaccin contre le Paludisme : obstacles, espoirs et avancées. 2009.
65. OMS - Organisation Mondiale de la Santé. Evaluation et Surveillance de l'efficacité des antipaludiques pour le traitement du paludisme. 2004.
66. Académie nationale de médecine. Les antipaludiques actuels : résistances, nouvelles stratégies [Internet]. 2007 [cité 10 déc 2020]. Disponible sur: <https://www.academie-medecine.fr/les-antipaludiques-actuels-resistances-nouvelles-strategies/>
67. Le Bras J. Chimiorésistance de *Plasmodium falciparum*. 1999;
68. Le Bras J, Musset L, Clain J. Les résistances aux médicaments antipaludiques. *Médecine Mal Infect.* août 2006;36(8):401-5.
69. Krogstad D, Gluzman I, Kyle D, Oduola A, Martin S, Milhous W, et al. Efflux of chloroquine from *Plasmodium falciparum*: mechanism of chloroquine resistance. *Science.* 27 nov 1987;238(4831):1283-5.
70. Trape J-F, Pison G, Preziosi M-P, Enel C, du Loû AD, Delaunay V, et al. Impact of chloroquine resistance on malaria mortality. *Comptes Rendus Académie Sci - Ser III - Sci Vie.* août 1998;321(8):689-97.
71. Benoit-Vical F, Paloque L, Augereau J-M. *Plasmodium falciparum* resistance to artemisinin-based combination therapies (ACTs): Fears of widespread drug resistance. 2016;(3):14.
72. Hsu E. Reflections on the « discovery » of the antimalarial qinghao. *Br J Clin Pharmacol.* juin 2006;61(6):666-70.
73. Tu Y. De *Artemisia annua* L. aux artémisinines: la découverte et le développement des artémisinines et des agents antipaludiques. 2019.
74. de Ridder S, van der Kooy F, Verpoorte R. *Artemisia annua* as a self-reliant treatment for malaria in developing countries. *J Ethnopharmacol.* déc 2008;120(3):302-14.
75. Aftab T, Ferreira JFS, Khan MMA, Naeem M, éditeurs. *Artemisia annua - Pharmacology and Biotechnology.* Berlin: Springer; 2013. 292 p.
76. Ferreira JFS, Simon JE, Janick J. *Artemisia annua* : Botany, Horticulture, Pharmacology. In: Janick J, éditeur. *Horticultural Reviews* [Internet]. Oxford, UK: John Wiley & Sons,

Inc.; 2010 [cité 13 déc 2020]. p. 319-71. Disponible sur: <http://doi.wiley.com/10.1002/9780470650622.ch6>

77. OMS - Organisation Mondiale de la Santé, éditeur. WHO monograph on good agricultural and collection practices (GACP) for *Artemisia annua* L. Geneva: WHO; 2006. 49 p.
78. Sougnez A. Etude des principaux facteurs de la production de l'armoise annuelle (*Artemisia Annua* L.) sur le domaine de l'organisation « Le Relais - Sénégal » à Yendane (région de Thies, Sénégal) : Effet de la densité et de la fertilisation. :81.
79. OMS - Organisation Mondiale de la Santé. WHO informal consultation with manufacturers of artemisinin-based pharmaceutical products in use for the treatment of malaria.pdf. 2007.
80. Blanc B, Weniger B, Nicolas J-P. Réflexions autour de la culture d'*Artemisia annua* et de la production d'artémisinine. *Ethnopharmacologia*. 2008;(41).
81. Simonnet X, Quennoz M, Carlen C. Influence of postharvest treatments on the artemisinin content of leaves of *Artemisia annua*. *Acta Hort.* oct 2016;(1125):395-8.
82. Jha P, Ram M, Khan MA, Kiran U, Mahmooduzzafar, Abdin MZ. Impact of organic manure and chemical fertilizers on artemisinin content and yield in *Artemisia annua* L. *Ind Crops Prod*. mars 2011;33(2):296-301.
83. Tellez M, Canel C, Rimando A, Duke S. Differential accumulation of isoprenoids in glanded and glandless *Artemisia annua* L.pdf. *Phytochemistry*. 1999;
84. Kohler M. Extraction et analyse de principes actifs d'origine végétale: application à l'artémisinine extraite de « *Artemisia annua* » L. 1999 [cité 15 déc 2020]; Disponible sur: <https://archive-ouverte.unige.ch/unige:104546>
85. Endrias A. Bio-raffinage de plantes aromatiques et médicinales appliqué à l'*Hibiscus sabdarif* L. et à l'*Artemisia annua*. 2006.
86. Olsson ME, Olofsson LM, Lindahl A-L, Lundgren A, Brodelius M, Brodelius PE. Localization of enzymes of artemisinin biosynthesis to the apical cells of glandular secretory trichomes of *Artemisia annua* L. *Phytochemistry*. juin 2009;70(9):1123-8.
87. Cornet-Vernet L, Couquiaud L. *Artemisia*: une plante pour éradiquer le paludisme. 1re édition. Arles: Actes sud; 2018. 177 p. (Domaine du possible).
88. Brown GD. The Biosynthesis of Artemisinin (Qinghaosu) and the Phytochemistry of *Artemisia annua* L. (Qinghao). *Molecules*. 28 oct 2010;15(11):7603-98.
89. Alejos-Gonzalez F, Qu G, Zhou L-L, Saravitz CH, Shurtleff JL, Xie D-Y. Characterization of development and artemisinin biosynthesis in self-pollinated *Artemisia annua* plants. *Planta*. oct 2011;234(4):685-97.
90. Chekem L, Wierucki S. Extraction de l'artémisinine et synthèse de ses dérivés: artésunate et artéméther. *Phytothérapie*. avr 2007;5(2):90-5.
91. Sabitha D. Total Synthesis of Artemisinin. 2003;15.




92. Turconi J, Mackiewicz P. Paludisme et hémisynthèse industrielle de l'artémisinine. *Actual Chim.* 2018;
93. Vil' V, Yaremenko I, Ilovaisky A, Terent'ev A. Synthetic Strategies for Peroxide Ring Construction in Artemisinin. *Molecules.* 11 janv 2017;22(1):117.
94. Lebrun Vignes B. Les antimalariques pharmacologie, pharmacocinétique et toxicité chez l'adulte.pdf. Ed Sci Médicales Elsevier. 1999;
95. Haut Conseil de la Santé Publique. Place de l'artésunate injectable dans le traitement du paludisme grave chez l'adulte et l'enfant. 2013.
96. OMS - Organisation Mondiale de la Santé. Assessment of the safety of artemisinin compounds in pregnancy: report of two informal consultations convened in 2007. World Health Organization; 2007.
97. Nosten F. Paludisme et grossesse : un dilemme thérapeutique. *médecine/sciences.* oct 2009;25(10):867-9.
98. OMS - Organisation Mondiale de la Santé. Le paludisme chez les enfants de moins de cinq ans [Internet]. WHO. World Health Organization; [cité 15 déc 2020]. Disponible sur: [http://www.who.int/malaria/areas/high\\_risk\\_groups/children/fr/](http://www.who.int/malaria/areas/high_risk_groups/children/fr/)
99. Jullien V. Pharmacocinétique des antipaludiques. 2012;5.
100. Collège National de Pharmacologie Médicale. Pharmacomédicale.org [Internet]. 2017 [cité 15 déc 2020]. Disponible sur: <https://pharmacomedicale.org/medicaments/par-specialites/item/artemether>
101. Pharmacology and Application if Chinese Materia Medica [Internet]. WORLD SCIENTIFIC; 1986 [cité 19 déc 2020]. Disponible sur: [http://www.worldscientific.com/doi/abs/10.1142/9789814503143\\_0036](http://www.worldscientific.com/doi/abs/10.1142/9789814503143_0036)
102. Mueller MS, Karhagomba IB, Hirt HM, Wemakor E. The potential of *Artemisia annua* L. as a locally produced remedy for malaria in the tropics: agricultural, chemical and clinical aspects. *J Ethnopharmacol.* déc 2000;73(3):487-93.
103. Mueller MS, Runyambo N, Wagner I, Borrmann S, Dietz K, Heide L. Randomized controlled trial of a traditional preparation of *Artemisia annua* L. (Annual Wormwood) in the treatment of malaria. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* mai 2004;98(5):318-21.
104. Zime-Diawara H, Sissinto-Savi de Tove Y, Akogbeto O, Ogouyemi-Hounto A, Gbaguidi F, Kinde-Gazard D, et al. Etude de l'efficacité et de la tolérance d'une tisane à base de *Artemisia annua* L. (Asteraceae) cultivée au Bénin pour la prise en charge du paludisme simple. *Int J Biol Chem Sci.* 22 juill 2015;9(2):692.
105. Zime-Diawara H, Ganfon H, Gbaguidi F, Yemoa A, Bero J, Jansen O, et al. The antimalarial action of aqueous and hydro alcoholic extracts of *Artemisia annua* L. cultivated in Benin: In vitro and in vivo studies. 2015;7.

106. Chougouo Kengne RD, Kouamouo J, Moyou Somo R, Penge On'Okoko A. Etude comparative de l'efficacité thérapeutique de l'Artesunate seul ou en association avec l'amodiaquine et de la tisane d'Artemisia annua cultivée à l'ouest de Cameroun. 2006;
107. Magalhães PM de, Figueira GM, Souza JM de, Ventura AMR, Ohnishi MD de O, Silva DR da, et al. Artemisia annua : A New Version of a Traditional Tea under Randomized, Controlled Clinical Trial for the Treatment of Malaria. Adv Biosci Biotechnol. 2016;07(12):545-63.
108. COULOMB D. La promotion de l'Artémisia contre le paludisme inquiète l'OMS. Quotid Médecin [Internet]. 21 oct 2019 [cité 21 mars 2021]; Disponible sur: <https://www.lequotidiendumedecin.fr/specialites/infectiologie/la-promotion-de-lartemisia-contre-le-paludisme-inquiete-loms>
109. Prescrire. Extraits de la plante Artemisia annua : risques cardiaques graves. Prescrire. 2021;(41):114-5.



## DEMANDE D'IMPRIMATUR

Date de soutenance : 23 Avril 2021

<p style="text-align: center;"><b>DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE</b></p> <p>présenté par : GERARDIN Guillaume</p> <p><u>Sujet</u> : Paludisme et <i>Artemisia annua</i> : études d'un fléau mondial et d'une plante aux vertus prometteuses</p> <p><u>Jury</u> :</p> <p>Président : M. Xavier BELLANGER, Maître de Conférences      Directeur : Mme. Sandrine CAPIZZI, Maître de Conférences      Juges : M. Julien GRAVOULET, Pharmacien      M. Éric RUSPINI, Pharmacien</p>	<p style="text-align: center;">Vu, Nancy, le 16.03.2021</p> <p style="text-align: center;">Le Président du Jury      Directeur de Thèse</p> <p style="text-align: center;">M. BELLANGER      M. CAPIZZI</p> 
<p style="text-align: center;">Vu et approuvé, Nancy, le 22.03.2021</p> <p style="text-align: center;">Doyen de la Faculté de Pharmacie de l'Université de Lorraine,</p>  <p style="text-align: center;"><i>Pr. Raphaël DUVAL</i></p>	<p style="text-align: center;">Vu, Nancy, le 23.03.21</p> <p style="text-align: center;">Le Président de l'Université de Lorraine,</p>  <p style="text-align: center;"><i>Pierre MUTZENHARDT</i></p> <p>N° d'enregistrement : 11644 C</p>

N° d'identification :

**TITRE**

Paludisme et *Artemisia annua* : études d'un fléau mondial et d'une plante aux vertus prometteuses

Thèse soutenue le 23/04/2021

Par Guillaume GERARDIN

6. **RESUME :**

Le paludisme reste un problème majeur de Santé Publique en 2021. Selon les estimations de l'OMS, près de la moitié de la population mondiale vit dans une zone endémique. L'augmentation du flux de voyageurs en zones impaludées a également considérablement augmenté durant les dernières décennies, ce qui favorise le risque de paludisme d'importation. De nombreux progrès dans la prévention mais également dans la thérapeutique ont redonné espoir dans cette lutte complexe contre le parasite *Plasmodium* transmis par le moustique *Anophèle*. C'est par exemple le cas d'une plante, l'*Artemisia annua*, qui a permis de mettre au point un des traitements les plus efficaces à ce jour : les ACTs. C'est grâce à l'isolement de son principe actif en 1970, l'artémisinine, que les ACTs sont nés. Mais cette plante, connue depuis plusieurs millénaires dans la Pharmacopée chinoise a également le pouvoir de prévenir et de guérir le paludisme sous forme de tisanes. Elle peut ainsi permettre aux populations locales, souvent trop pauvres et isolées, de bénéficier d'un traitement efficace, bon marché et disponible sur place dans la lutte contre ce parasite. Malheureusement, peu d'études sur les tisanes d'*Artemisia annua* sont disponibles et plusieurs grandes instances se sont opposées à son utilisation.

**MOTS CLES :** PALUDISME, MALARIA, ARTEMISIA, ARMOISE, ANOPHELE, MOUSTIQUE, PLASMODIUM, ARTEMISININE

Directeur de thèse	Intitulé du laboratoire	Nature
Directeur : CAPIZZI Sandrine Co-Directeur : BELLANGER Xavier	Faculté de Pharmacie Nancy	Expérimentale <input type="checkbox"/> Bibliographique <input checked="" type="checkbox"/> Thème <input type="checkbox"/>

**Thèmes**

**1 – Sciences fondamentales**

**3 – Médicament**

**5 - Biologie**

**2 – Hygiène/Environnement**

**4 – Alimentation – Nutrition**

**⑥- Pratique professionnelle**