

**THESE
POUR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

Soutenue publiquement le 15 octobre 2012

Par M. ABINAN Kouacou Yannick Olivier Armand

**Le paludisme aujourd'hui : thérapeutiques
et perspectives vaccinales**

Membres du jury :

Président : Pr DINE Thierry

Professeur de pharmacie clinique

Faculté des sciences pharmaceutiques et biologiques de Lille

Assesseurs :

- Mme ALIOUAT Cécile-Marie
Maitre de Conférences des Universités
Faculté des sciences pharmaceutiques et biologiques de Lille
- Mr HERMANN Emmanuel
Maitre de Conférences des Universités
Faculté des sciences pharmaceutiques et biologiques de Lille

Membre(s) extérieur(s) : Dr SKRZYPEK Alexis

Pharmacien titulaire - Pharmacie du parc à Louvres



Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille

3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE CEDEX
☎ 03.20.96.40.40 - 📠 : 03.20.96.43.64
<http://pharmacie.univ-lille2.fr>



Université Lille 2
Droit et Santé

Université Lille 2 – Droit et Santé

Président :	Professeur Xavier VANDENDRIESSCHE
Vice- présidents :	Professeur Alain DUROCHER Professeur Régis BORDET Professeur Patrick PELAYO Professeur Frédéric LOBEZ Professeur Monique CAPRON Professeur Salem KACET Madame Stéphanie DAMAREY Monsieur Pierre RAVAUX Monsieur Larbi AIT-HENNANI Monsieur Edouard DANJOU
Directeur Général des Services :	Monsieur Pierre-Marie ROBERT

Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques

Doyen :	Professeur Luc DUBREUIL
Vice-Doyen, 1 ^{er} assesseur :	Professeur Damien CUNY
Assesseurs :	Mme Nadine ROGER Professeur Philippe CHAVATTE
Chef des services administratifs :	Monsieur André GENY

Liste des Professeurs des Universités :

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	ALIOUAT	El Moukhtar	Parasitologie
Mme	AZAROUAL	Nathalie	Physique
M.	BAILLEUL	François	Pharmacognosie
M.	BERTHELOT	Pascal	Chimie Thérapeutique 1
M.	CAZIN	Jean-Louis	Pharmacologie – Pharmacie clinique
M.	CHAVATTE	Philippe	Chimie Thérapeutique 2
M.	COURTECUISSE	Régis	Sciences végétales et fongiques
M.	CUNY	Damien	Sciences végétales et fongiques
Mme	DELBAERE	Stéphanie	Physique
M.	DEPREZ	Benoît	Chimie Générale
Mme	DEPREZ	Rebecca	Chimie Générale
M.	DUPONT	Frédéric	Sciences végétales et fongiques
M.	DURIEZ	Patrick	Physiologie
M.	GARÇON	Guillaume	Toxicologie
Mlle	GAYOT	Anne	Pharmacotechnie Industrielle
M.	GESQUIERE	Jean-Claude	Chimie Organique
M.	GOOSSENS	Jean François	Chimie Analytique

Mme	GRAS	Hélène	Chimie Thérapeutique 3
M.	LEMDANI	Mohamed	Biomathématiques
Mme	LESTAVEL	Sophie	Biologie Cellulaire
M.	LUC	Gerald	Physiologie
Mme	MELNYK	Patricia	Chimie thérapeutique 2
Mme	MUHR – TAILLEUX	Anne	Biochimie
Mme	PAUMELLE-LESTRELIN	Réjane	Biologie Cellulaire
Mme	PERROY – MAILLOLS	Anne Catherine	Droit et déontologie pharmaceutique
Mlle	ROMOND	Marie Bénédicte	Bactériologie
Mme	SAHPAZ	Sevser	Pharmacognosie
M.	SIEPMANN	Juergen	Pharmacotechnie Industrielle
M.	STAELS	Bart	Biologie Cellulaire
M	TARTAR	André	Chimie Organique
M.	VACCHER	Claude	Chimie Analytique
M.	MILLET	Régis	Chimie Thérapeutique (ICPAL)

Liste des Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	BROUSSEAU	Thierry	Biochimie
M.	BRUNET	Claude	Pharmacologie
Mme	CAPRON	Monique	Immunologie
M.	DECAUDIN	Bertrand	Pharmacie Galénique
M.	DINE	Thierry	Pharmacie clinique
M.	DUBREUIL	Luc	Bactériologie
M.	DUTHILLEUL	Patrick	Hématologie
M.	GRESSIER	Bernard	Pharmacologie
M.	LUYCKX	Michel	Pharmacie clinique
M.	ODOU	Pascal	Pharmacie Galénique
M.	DEPREUX	Patrick	Chimie Organique (ICPAL)

Liste des Maitres de Conférences

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	AGOURIDAS	Laurence	Chimie thérapeutique 2
Mme	ALIOUAT	Cécile Marie	Parasitologie
Mme	AUMERCIER	Pierrette	Biochimie
Mme	BANTUBUNGI	Kadiombo	Biologie cellulaire
Mme	BARTHELEMY	Christine	Pharmacie Galénique
M.	BEGHYN	Terence	Chimie Thérapeutique 3
Mme	BEHRA	Josette	Bactériologie
M.	BERTHET	Jérôme	Physique
M.	BERTIN	Benjamin	Immunologie
M.	BLANCHEMAIN	Nicolas	Pharmacotechnie industrielle
M.	BOCHU	Christophe	Physique
M.	BRIAND	Olivier	Biochimie
Mme	CACHERA	Claude	Biochimie
M.	CARATO	Pascal	Chimie Thérapeutique 2
M.	CARNOY	Christophe	Immunologie
Mme	CARON	Sandrine	Biologie cellulaire
Mlle	CHABÉ	Magali	Parasitologie
Mlle	CHARTON	Julie	Chimie Organique
M	CHEVALIER	Dany	Toxicologie
M.	COCHELARD	Dominique	Biomathématiques
Mme	DANEL	Cécile	Chimie Analytique
Mme	DEMANCHE	Christine	Parasitologie
Mlle	DEMARQUILLY	Catherine	Biomathématiques
Melle	DUMONT	Julie	Biologie cellulaire
M.	FARCE	Amaury	Chimie Thérapeutique 2

Mlle	FLIPO	Marion	Chimie Organique
Mme	FOULON	Catherine	Chimie Analytique
Melle	GARAT	Anne	Toxicologie
M.	GELEZ	Philippe	Biomathématiques
M.	GERVOIS	Philippe	Biochimie
Mme	GRAVE	Béatrice	Toxicologie
Mme	GROSS	Barbara	Biochimie
Mme	HANNOTHIAUX	Marie-Hélène	Toxicologie
Mme	HELLEBOID	Audrey	Physiologie
M.	HENNEBELLE	Thierry	Pharmacognosie
M.	HERMANN	Emmanuel	Immunologie
M.	KAMBIA	Kpakpaga Nicolas	Pharmacologie
M.	KARROUT	Youness	Pharmacotechnie Industrielle
Mlle	LALLOYER	Fanny	Biochimie
M.	LEBEGUE	Nicolas	Chimie thérapeutique 1
Mlle	LEONHARD	Julie	Droit et déontologie pharmaceutique
Mme	LIPKA	Emmanuelle	Chimie Analytique
Mme	LORIN-LECOEUR	Marie	Chimie Analytique
Mme	MARTIN	Françoise	Physiologie
M.	MOREAU	Pierre Arthur	Sciences végétales et fongiques
M.	MOUTON	Nicolas	Physique
Mme	MUSCHERT	Susanne	Pharmacotechnie industrielle
Mme	NEUT	Christel	Bactériologie
Mme	PINÇON	Claire	Biomathématiques
M.	PIVA	Frank	Biochimie
Melle	PLATEL	Anne	Toxicologie
M.	RAVAUX	Pierre	Biomathématiques
Mme	RIVIERE	Céline	Pharmacognosie
Mme	ROGER	Nadine	Immunologie
M.	ROUMY	Vincent	Pharmacognosie
M.	SERGHERAERT	Eric	Droit et déontologie pharmaceutique
Mme	SIEPMANN	Florence	Pharmacotechnie Industrielle
Mlle	SINGER	Elisabeth	Bactériologie
Mme	STANDAERT	Annie	Parasitologie
M.	TAGZIRT	Madjid	Hématologie
Mme	THUILLIER	Pascale	Hématologie
Mme	VANHOUTTE	Geneviève	Biochimie
M.	WELTI	Stéphane	Sciences végétales et fongiques
M.	WILLAND	Nicolas	Chimie organique
M.	YOUS	Saïd	Chimie Thérapeutique 1
M.	FURMAN	Christophe	Pharmacobiochimie (ICPAL)
Mme	GOOSSENS	Laurence	Chimie Organique (ICPAL)

Liste des Maitres de Conférences - Praticiens Hospitaliers

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	ALLORGE	Delphine	Toxicologie
Mme	BALDUYCK	Malika	Biochimie
Mme	GOFFARD	Anne	Bactériologie
M.	LANNOY	Damien	Pharmacie Galénique
Mme	ODOU	Marie Françoise	Bactériologie

Professeurs Agrégés

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	MAYES	Martine	Anglais
M.	MORGENROTH	Thomas	Droit et déontologie pharmaceutique

Professeurs Certifiés

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	HUGES	Dominique	Anglais
Mlle	FAUQUANT	Soline	Anglais
M.	OSTYN	Gaël	Anglais

Professeurs Associé - mi-temps

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	ABADIE	Eric	Droit et déontologie pharmaceutique

Maîtres de Conférences ASSOCIES - mi-temps

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	BERTOUX	Elisabeth	Pharmacie Clinique -
M.	BRICOTEAU	Didier	Biomathématiques
M.	FIEVET	Pierre	Information Médicale
M.	FRIMAT	Bruno	Pharmacie Clinique
M.	MASCAUT	Daniel	Pharmacie Clinique
M.	WATRELOS	Michel	Droit et déontologie pharmaceutique
M.	ZANETTI	Sébastien	Biomathématiques

AHU

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	SIMON	Nicolas	Pharmacie Galénique



Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille

3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE CEDEX
Tel. : 03.20.96.40.40 - Télécopie : 03.20.96.43.64
<http://pharmacie.univ-lille2.fr>

L'Université n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses ; celles-ci sont propres à leurs auteurs.

REMERCIEMENTS

Au Professeur Thierry DINE

Vous m'avez formé et m'avez permis d'acquérir des bases solides sur le métier de pharmacien. Vous me faites aujourd'hui le grand honneur de présider ce jury. Merci de m'avoir déjà consacré tant d'heures de travail. Merci de l'honneur que vous me faites en siégeant dans ce jury.

A Mme Cécile-Marie ALIOUAT

Merci d'avoir accepté de diriger ce travail. Vous avez discipliné mes idées, parfois confuses, lors de mes recherches pour cette thèse. Merci pour votre patience, votre sens de l'écoute et le temps que vous me consacrez. Trouvez ici l'expression de ma profonde gratitude. Merci pour l'honneur que vous me faites aujourd'hui en siégeant dans ce jury.

A Mr Emmanuel HERMANN

Merci d'avoir accepté de codiriger ce travail. Vous m'avez m'orienté, guidé et avez répondu à mes questions et mes mails (souvent matinaux). Merci pour l'honneur que vous me faites aujourd'hui en siégeant dans ce jury.

Au Dr Alexis SKRZYPEK

Vous m'avez accueilli dans votre officine et vous m'avez fait confiance pour être votre assistant. Merci d'avoir partagé avec moi vos connaissances, votre enthousiasme, votre motivation et votre bonne humeur. Merci pour l'honneur que vous me faites aujourd'hui en siégeant dans ce jury.

A mon père, parti trop tôt

Ton départ prématuré a laissé un grand vide. Merci de m'avoir accompagné, guidé, soutenu et de m'avoir montré le chemin. Merci d'avoir toujours veillé sur moi. Les mots seront toujours trop faibles pour traduire ma gratitude éternelle. Tu me manqueras toujours. Dors en paix cher Papa et que Dieu veille sur toi dans les cieux.

A ma très chère mère

Merci pour ton soutien, ton amour, ton aide, ton sourire et ta joie de vivre. Merci de m'avoir encadré et guidé. Sans toi, je ne serai surement pas là aujourd'hui. J'espère que tu trouveras dans ce travail, une infime partie de ma reconnaissance éternelle. Merci d'avoir été là et d'être là pour moi. Que le tout puissant veille sur toi et t'accorde grâce, joie, santé et bonheur. Je t'aime.

A mes frères Serge et Stéphane

Vous m'accompagnez depuis toujours dans les moments de joie comme de tristesse. Merci pour votre soutien, votre aide, votre patience et votre présence.

A ma famille

Merci d'être toujours là pour moi. Vous m'avez soutenu et poussé à aller toujours plus loin. Vous êtes là, présents encore aujourd'hui. Je ne vous remercierai jamais assez.

Au Dr Freddy ABINAN et au Dr Mohammed MAKHFI

Vous m'avez toujours accueilli dans vos pharmacies respectives avec joie et bonne humeur. Vous m'avez formé au noble métier de Pharmacien. Merci pour votre patience, vos conseils, vos enseignements et votre gentillesse. Merci pour tout. Particulièrement à toi Freddy, je voudrais te dire « Merci encore cher grand frère ».

A mes ami(e)s et collègues

La liste serait trop longue ... Vous me supportez depuis tant d'années. Merci d'être toujours aussi formidables. Mention spéciale à Romain PARAYE (Merci pour la photo des lames).

Table des matières

Table des abréviations	14
Table des figures.....	15
Table des tableaux	17
Introduction : Définition et approches.....	18
I. L'homme face au paludisme : Généralités sur la maladie.....	19
A. Les agents du paludisme chez l'homme	19
B. Les anophèles, vecteurs du paludisme	23
1. La reproduction	27
2. Le repas sanguin.....	27
3. Digestion et maturation	28
4. De la larve à l'adulte	29
C. Le cycle biologique des <i>Plasmodium</i> spp.	30
Les hypnozoïtes.....	32
D. Epidémiologie	33
1. Historique	33
2. Indices épidémiologiques et classification des zones endémiques	34
3. Répartition et impact du paludisme dans le monde.....	36
II. Le Paludisme chez l'homme : clinique, diagnostic et immunité	39
A. Phase d'incubation.....	39
B. La phase d'invasion	39
C. La phase d'état	39
1. Accès simple	39
2. Accès pernicieux ou neuro-paludisme.....	41
D. Formes particulières	45
1. Femme enceinte.....	45
a. Femme enceinte non immunisée	46
b. Paludisme et grossesse.....	46
2. Le paludisme de l'enfant	49
3. Paludisme viscéral évolutif	49
4. Paludisme post-transfusionnel	50
a. En zone non endémique	50
c. En zone endémique	51

E.	Complications	52
1.	Anémie grave	52
2.	Acidose métabolique	53
3.	Insuffisance rénale aigüe (IRA)	53
4.	Néphrite quartane.....	54
5.	Fièvre bilieuse hémoglobinurique.....	54
F.	Complications : Cas particulier de <i>P. knowlesi</i>	55
G.	Méthodes de diagnostic du paludisme	56
1.	Le prélèvement.....	56
2.	Les tests microscopiques	56
a.	Le frottis sanguin mince (FM).....	56
b.	La goutte épaisse.....	57
c.	Le QBC® Malaria Test.....	58
3.	Les nouvelles méthodes de diagnostic.....	59
a.	Les tests de diagnostic rapide (TDR)	59
a.1.	Le test ParaSight™-F	61
a.2.	Le test ICT® Malaria	61
a.3.	Le test OptiMAL™	62
a.4.	Le test Core™ Malaria Pan/Pv/Pf.....	62
a.5.	TDR : Cas particulier de <i>P. knowlesi</i>	63
b.	La <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR).....	66
c.	Conclusion sur les méthodes de diagnostic.....	66
H.	Développement de l'immunité chez l'homme.....	68
III.	Prise en charge thérapeutique du paludisme	69
A.	Arsenal thérapeutique.....	70
1.	Les différentes molécules antipaludiques.....	71
a.	Les amino-4-quinoléines.....	71
a.1.	Chloroquine.....	71
a.2.	Amodiaquine	72
a.3.	Pyronaridine ou malaridine.....	73
a.4.	Pipéraquine	74
b.	Les amino-8-quinoléines.....	74
b.1.	Primaquine	74
b.2.	Tafénoquine	75
b.3.	Pamaquine	76

c.	Les amino-alcools	76
c.1.	La Quinine	76
c.2.	Méfloquine	77
c.3.	Halofantrine	78
c.4.	Luméfantrine.....	79
d.	Les Sesquiterpènes	80
e.	Les antimétabolites	81
f.	Analogues de l'ubiquinone	83
g.	Les antibiotiques	84
2.	Résistances aux traitements	85
3.	Traitement curatif	87
a.	Paludisme à <i>P. vivax</i> , <i>P. ovale</i> , <i>P. malariae</i>	87
b.	Paludisme à <i>P. knowlesi</i>	88
c.	Paludisme à <i>P. falciparum</i>	88
d.	Fièvre bilieuse hémoglobinurique	90
e.	Paludisme congénital.....	90
4.	Mesures de prévention.....	90
a.	Mesures de protection	90
b.	Chimioprophylaxie	92
IV.	La vaccination antipaludique : Perspectives et réalités.....	94
A.	Intérêts et avantages de la vaccination en zone endémique	94
B.	Difficultés de conception	94
C.	Antigènes ciblés et les différents candidats vaccins	95
1.	Candidats vaccins et antigènes.....	95
a.	Stade pré-érythrocytaire	96
b.	Stade érythrocytaire asexué	96
c.	Action sur le stade sexué ou la transmission	97
2.	Les différentes phases de développement d'un vaccin antipaludique.....	98
D.	Le candidat-vaccin antipaludique RTS,S	99
1.	Introduction	99
2.	Le vaccin RTS,S.....	99
a.	Introduction	99
b.	La protéine de surface du sporozoïte (CSP)	100
c.	Les adjuvants : AS (Adjuvant Systems)	101
d.	Formulation	102

3.	Mécanisme de l'immunogénicité de RTS,S.....	103
a.	Réponse humorale : les anticorps anti-CSP	104
a.	Réponse cellulaire	105
4.	Evaluation des candidats vaccins RTS,S/AS	105
a.	Evaluation du candidat RTS,S/AS chez l'adulte	108
a.1.	Avec l'adjuvant AS02	108
a.2.	Avec l'adjuvant AS01	108
b.	Evaluation de RTS,S/AS chez les nourrissons et enfants.....	109
b.1.	Avec l'adjuvant AS02A	109
b.2.	Avec l'adjuvant AS02D	109
b.3.	Avec l'adjuvant AS01E	110
5.	Vaccin RTS,S/AS01E : premiers résultats de la phase 3	111
a.	Efficacité	112
b.	Immunogénicité et innocuité	115
b.	Discussions.....	117
c.	Conclusions préliminaires	119
	Conclusion	120
	Bibliographies	122

Table des abréviations

- **ACT**: Artemisinin-based Combination Therapy
- **ADN** : Acide Désoxyribonucléique
- **AMM** : Autorisation de Mise sur le Marché
- **ATP**: Adénosine-5'-triphosphate
- **AVCI** : Année de vie corrigée de l'incapacité
- **AVI** : Années de Vie vécues avec une Incapacité
- **AVP** : Années de Vie Perdues à cause de la maladie ou d'un décès prématuré
- **AVS** : Antigènes variants de surface
- **CDC** : Centers for Disease Control and Prevention
- **CTA** : Combinaison thérapeutique à base d'artémisinine
- **DALY** : Disability Adjusted Life Year
- **ELISA** : Enzyme-Liked Immunosorbent Antibody
- **GR** : Globules Rouges
- **HbF** : Hémoglobine fœtale
- **HRP2** : Histidine-Rich Protein-2
- **ICAM-1** : Inter-cellular cell adhesion molecule-1
- **IP** : Indice Plasmodique ou Indice Parasitaire
- **IV** : Intraveineuse
- **IM** : Intramusculaire
- **LBP** : Lipid Binding Protein
- **LPS** : Lipopolysaccharides
- **MGG** : May-Grünwald, Giemsa (Technique de coloration)
- **MPL** : Monophosphoryl Lipid A
- **NADPH** : Nicotinamide Adénine Di nucléotide Phosphate
- **NIH** : National Institutes of Health
- **OMS** : Organisation Mondiale de la Santé
- **ONG** : Organisation Non Gouvernementale
- **PAG** : Paludisme Associé à la Grossesse
- **PABA** : Para-aminobenzoic acid
- **PCR** : Polymerase Chain Reaction
- **PfEMP-1** : *Plasmodium falciparum* Erythrocyte Membrane Protein-1
- **PfHRP-2** : *Plasmodium falciparum* histidine-rich protein-2
- **PIB** : Produit Intérieur Brut
- **pLDH** : parasite-lactate dehydrogenase
- **PPT** : Paludisme Post-Transfusionnel
- **TDR** : Tests de Diagnostic Rapide
- **SC** : Sous-cutanée
- **SI** : Système Immunitaire
- **SIDA** : Syndrome d'Immunodéficience Acquise
- **VIH** : Virus de l'Immunodéficience Humaine
- **WAIR** : Walter Reed Army Institute of Research

Table des figures

Figure 1 : Comparaison des différentes formes rencontrées au cours du cycle des <i>Plasmodium</i> spp. [10].....	22
Figure 2 : Morphologie d'un anophèle adulte [12], [13].....	24
Figure 3 : Cycle biologique des anophèles [11].....	26
Figure 4 : Moustique <i>Anopheles freeborni</i> pendant un repas sanguin [14].....	28
Figure 5 : Principaux stades de digestion du sang et de maturation des ovocytes [15].....	28
Figure 6 : Cycle biologique des <i>Plasmodium</i> spp. [16].....	30
Figure 7 : Cycle biologique des <i>Plasmodium</i> spp (détails) [10]	32
Figure 8 : La classification de la splénomégalie de Hackett [11]	35
Figure 9 : Répartition du paludisme dans le monde [29]	36
Figure 10 : Estimations des besoins de financement annuel au niveau mondial pour lutter contre le paludisme [32].....	38
Figure 11 : Physiopathologie des accès palustres simples [5].....	40
Figure 12 : Comparatif entre adulte et enfant (formes graves, fréquence et pronostic vital) [36].....	45
Figure 13 : Différences entre l'éclampsie et l'accès pernicieux chez la femme enceinte [37].....	48
Figure 14: Préparation d'un frottis mince et d'une goutte épaisse [10].....	57
Figure 15 : Goutte épaisse et frottis sanguin sur une lame [55].....	58
Figure 16 : Mode d'action commun des TDR du paludisme [56]	59
Figure 17 : Caractéristiques des principaux tests de diagnostic rapide [58]	60
Figure 18 : Interprétations des résultats du test Core™ Malaria [62].....	63
Figure 19 : Spécificités des liaisons des différents anticorps anti-pLDH [63].....	63
Figure 20 : Séquence d'acides aminés (AA) de la LDH de <i>P. knowlesi</i> (En bleu, les résidus d'AA spécifiques à <i>P. knowlesi</i> et <i>P. vivax</i> et en rouge, les résidus d'AA spécifiques à <i>P. knowlesi</i> et <i>P. falciparum</i>) [63].....	64
Figure 21 : Caractéristiques des performances des tests OptiMAL et Entebe MC lors de l'infection par <i>P. knowlesi</i> [64]	65
Figure 22 : Effets sur le cycle parasitaire des médicaments anti-malariques [67]	70
Figure 23 : Classification des médicaments anti paludiques selon le mécanisme d'action [36].....	71
Figure 24 : Structure chimique de la chloroquine [68]	71
Figure 25 : Structure chimique de l'amodiaquine [71].....	72
Figure 26 : Structure chimique de la Pyronaridine [73].....	73
Figure 27 : structure chimique de la pipéraquline [76].....	74
Figure 28 : Structure chimique de la Primaquine [80].....	74
Figure 29 : Structure chimique de la tafénoquine [81]	75
Figure 30 : Structure chimique de la Pamaquine [82].....	76
Figure 31 : Structure chimique de la Quinine [84].....	76
Figure 32 : Structure chimique de la Méfloquine [85]	77
Figure 33 : Structure chimique de l'halofantrine [86]	78
Figure 34 : structure chimique de la Luméfantrine (ou benflumetol) [87].....	79
Figure 35 : Structure de l'artémisinine et de ses dérivés [90]	80

Figure 36 : le qinghaosu (<i>Artemisia annua</i>) [91]	80
Figure 37 : Antifoliques et antifoliniques [90]	82
Figure 38 : chaine respiratoire mitochondriale.....	83
Figure 39 : Structure chimique de l'atovaquone [93]	83
Figure 40 : Structures chimiques des antibiotiques utilisés dans le paludisme [90]..	84
Figure 41 : Marqueurs moléculaires de résistance de <i>P. falciparum</i> aux antipaludiques [94]	86
Figure 42 : Cycle des <i>Plasmodium spp.</i> humains et antigènes visés [99]	95
Figure 43 : Représentation schématique de la CSP [126].....	100
Figure 44 : L'antigène vaccinal RTS,S [133].....	102
Figure 45 : Corrélation entre les titres d'anticorps anti-CSP et la protection contre l'infection [126].....	104
Figure 46 : Efficacité de RTS,S chez des volontaires non immuns contre la malaria [126]	106
Figure 47 : Résultats de l'efficacité de RTS,S/AS dans les différentes zones tests [126]	107
Figure 48 :Liste des centres d'études pour la phase III de RTS,S/AS01 [154]	111
Figure 49 : Méthode d'évaluation de RTS,S/AS01 lors de la phase 3 [155]	112
Figure 50 : Efficacité de RTS,S/AS01 contre les épisodes cliniques de paludisme chez 6000 enfants de 5 à 17 mois de l'étude [155]	113
Figure 51 : efficacité de RTS,S/AS01 contre un paludisme grave chez des enfants de 5 à 17 mois et chez le groupe commun (6 à12 semaines et 5 à 17 mois) [155]	114
Figure 52 : Incidence des évènements indésirables locaux et généraux rapportés au cours de la période 7 jours post-vaccination (après chaque dose), chez les enfants de 5-17 mois au moment du recrutement (population ITT) [156].....	116
Figure 53 : Déclaration des effets indésirables chez les enfants de 5-17 mois, 30 jours après la vaccination [156]	116
Figure 54 : Effets secondaires apparus après la première dose du vaccin RTS,S dans la « intention-to-treat population », en fonction des tranches d'âge [155]	117

Table des tableaux

Tableau 1 : Caractéristiques des différentes espèces du genre <i>Plasmodium</i> [5]	19
Tableau 2: Comparaison morphologique des espèces de <i>Plasmodium</i> sur frottis sanguin mince (coloration May-Grünwald Giemsa) [4]	21
Tableau 3 : Répartition géographique et importance épidémiologique des différents vecteurs du paludisme pour l'homme [11]	23
Tableau 4 : Classification de l'endémicité selon la monographie de l'OMS (Classification de Metselaar et Van Thiel, 1959) [11]	35
Tableau 5 : Les actions antipaludiques en Afrique sub-saharienne et leurs taux de rentabilité [30]	37
Tableau 6 : Critères de gravité du paludisme chez l'adulte (OMS 2000) [35]	43
Tableau 7 : Critères de gravité du paludisme chez l'enfant (OMS 2000) [35]	43
Tableau 8 : Critères de gravité du paludisme grave d'importation de l'adulte.....	44
Tableau 9 : Risque de développer un paludisme chez la femme enceinte selon le nombre de grossesse [5]	46
Tableau 10 : Parasitémie lors d'un épisode paludique chez des patients VIH positifs et VIH négatifs au Malawi [37]	48
Tableau 11 : Avantages et inconvénients des différentes techniques de diagnostic du paludisme	67
Tableau 12 : Techniques de diagnostic du paludisme en fonction des zones de transmission	67
Tableau 13 : Différents traitements curatifs du paludisme à <i>P. falciparum</i>	89
Tableau 14 : Efficacité relative des moyens de prévention disponibles contre les piqûres de moustiques [33].....	91
Tableau 15 : Concentrations des substances actives entrant dans la composition de répulsifs corporels jugés efficaces en fonction des tranches d'âge et de population [33]	91
Tableau 16 : Chimio prophylaxie antipaludique chez l'adulte et l'enfant selon les zones de chimiorésistances.....	92
Tableau 17 : Chimio prophylaxie antipaludique chez la femme enceinte	93
Tableau 18 : composition de différentes formulations de RTS,S/AS [133]	103
Tableau 19 : Résultats des études de phase II sur l'efficacité de RTS,S/AS chez les enfants et les nourrissons [133].....	109
Tableau 20 : Composition de la cohorte de l'analyse des résultats partiels de l'étude de phase III [155].....	113

Introduction : Définition et approches

Le paludisme est une des maladies infectieuses les plus meurtrières : l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) estime que le paludisme provoque près de 655 000 décès (marge comprise entre 537 000 et 907 000) chaque année et le décès d'un enfant toutes les 30 secondes en Afrique [1], [2], [3]. Il menace près de 3 milliards d'individus sur la planète et est responsable de quelques 200 millions de cas annuels dans le monde. Le continent africain est le plus touché avec plus de 81% des épisodes mondiaux soit près de 170 millions de cas [2]. La lutte antipaludique est donc un enjeu capital vu les ravages humains surtout mais aussi économiques que cette maladie occasionne.

Face à l'émergence et l'extension de la résistance à différents antipaludiques, de nouveaux axes de recherche ont été développés. L'arsenal thérapeutique préventif et curatif n'a bénéficié que de peu de nouvelles molécules ces dernières années. L'utilisation des dérivés de l'artémisinine sous forme de combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine (CTA) dans la prise en charge du paludisme constitue un espoir d'alternative aux différentes chimiorésistances.

Plusieurs équipes scientifiques travaillent également à l'élaboration de vaccins. De nombreux antigènes ont été ciblés pour l'élaboration de vaccins paludiques agissant sur les différents stades du développement du parasite aussi bien chez l'homme que chez le moustique. Les premiers essais de candidats vaccins s'étaient révélés jusqu'ici peu concluants.

Notre étude sur ces perspectives vaccinales portera principalement sur le candidat vaccin RTS,S le plus avancé, dont le développement clinique est actuellement en phase 3. Ce dernier est le fruit d'une collaboration entre GlaxoSmithKline Biologicals et différents partenaires dont le *Walter Reed Army Institute of Research* (WRAIR) et la fondation américaine PATH (*Program for Appropriate Technology in Health*) à travers le *Malaria Vaccine Initiative* (MVI).

I. L'homme face au paludisme : Généralités sur la maladie

A. Les agents du paludisme chez l'homme

Les agents du paludisme sont des Apicomplexa de la classe des sporozoaires et appartiennent au genre *Plasmodium*. Plusieurs espèces de *Plasmodium spp.* sont capables d'infecter l'homme. L'espèce *Plasmodium falciparum* est la cause majeure des décès dus au paludisme en entraînant des accès pernicieux pouvant être mortels. Les espèces *Plasmodium malariae*, *Plasmodium ovale* et *Plasmodium vivax* sont quant à elles la cause de morbidités^a importantes. En 2004, une cinquième espèce, *Plasmodium knowlesi* a été confirmée dans des cas humains de paludisme à Bornéo, aux Philippines et en Thaïlande [4].

Ces différentes espèces ont une répartition géographique et des caractéristiques différentes (Tableaux 1 et 2).

Espèces	Localisations	Types de fièvres	Complications
<i>P. falciparum</i>	Zones tropicales	Tierce maligne (la plus grave)	Accès pernicieux (Neuro-paludisme)
<i>P. vivax</i>	Asie du Sud-est Amérique du Sud	Tierce bénigne	-
<i>P. ovale</i>	Afrique centrale	Tierce bénigne	-
<i>P. malariae</i>	Zones tropicales (rares)	Quarte bénigne	Néphrite quartane
<i>P. knowlesi</i>	Asie du sud-est	Fièvre quotidienne	Défaillances rénales et hépatiques (jaunice)

Tableau 1 : Caractéristiques des différentes espèces du genre *Plasmodium* [5]

P. vivax et *P. falciparum* présentent la plus forte prévalence^b dans le monde d'aujourd'hui. Ces espèces sont à l'origine d'au moins 95% des infections palustres chez l'homme [4].

De ces 2 espèces, *P. falciparum* est à juste titre considérée comme la plus redoutable, en raison des taux élevés de mortalité^c qui lui sont associés, sa résistance à de nombreux antipaludéens et sa position dominante sur le continent

^a La morbidité définit le nombre de personnes dans une population souffrant d'une maladie donnée (ici le paludisme) pendant un temps donné, en général une année.

^b La prévalence exprime la proportion de personnes atteintes d'une certaine maladie à un moment donné dans une population donnée.

^c La mortalité définit le nombre de décès annuels rapportés au nombre d'habitants d'un territoire donnée.

africain, le plus impaludé et le plus touché par la pauvreté. *P. falciparum* est largement distribuée dans toute la ceinture tropicale du globe : Amérique, Afrique et Asie du sud-est. Elle est la cause la plus commune des infections et est responsable d'environ 80% de tous les cas de paludisme ainsi que 90% des décès [6]. Elle provoque une fièvre tierce maligne (qui survient toutes les 72h). Les accès palustres à *P. falciparum* peuvent évoluer vers des accès pernicioeux plus graves.

Quant à *P. vivax*, c'est l'espèce la moins exigeante en température et ayant l'aire de répartition la plus vaste sur la terre. Elle est responsable de la fièvre tierce bénigne. Exceptionnelle en Afrique subsaharienne, elle n'est pas si anodine qu'on le dit : des formes graves, voire mortelles, ont été rapportées en Inde et en Amazonie [7]. Des rechutes sont possibles jusqu'à 3 ans.

P. ovale sévit en Afrique centrale et est très proche de *P. vivax*. L'évolution du paludisme dû à cette espèce est bénigne, mais des rechutes tardives sont possibles (jusqu'à 5 ans).

Repartie dans les zones tropicales, *P. malariae* ne provoque que des « accès paludiques bénins » et est bien moins dangereux que les autres *Plasmodium spp.* Elle présente une répartition plus clairsemée, sensiblement identique à celle de *P. falciparum*. Elle est responsable de la fièvre quarte (qui survient tous les quatre jours) et d'accès de reviviscence même après un très long délai. Cette espèce est également à l'origine d'une complication rare mais pouvant être sévère : la néphrite quartane, que nous détaillerons par la suite.

Il est bien connu depuis plus d'une soixantaine d'années que certains parasites des singes du genre *Plasmodium* pouvaient se transmettre à l'homme dans des conditions de laboratoires [8], [9]. Un des agents parasitaires de *Macaca fascicularis* (le singe "kra"), *Plasmodium knowlesi*, a été impliqué ces dernières années dans de nombreux cas de paludisme en Asie du sud-est. La transmission est effectuée par piqûre d'*Anopheles leucosphyrus* qui se nourrit aussi bien sur l'homme que sur *M. fascicularis*. Morphologiquement indistinguishable de *P. malariae*, cette espèce a été différenciée grâce aux techniques de biologie moléculaire (PCR emboîtée ou nested-PCR). Confirmée pour l'instant chez l'homme que dans le sud-est asiatique (Vietnam, Thaïlande, Malaisie, Bornéo Singapour et l'île de Palawan aux Philippines), il est maintenant établi que *P. knowlesi* est en train de devenir un agent pathogène zoonotique humain qui pourrait poser des problèmes supplémentaires dans la lutte déjà difficile contre cette maladie. Comparés à *P. malariae*, les signes cliniques d'une infection à *P. knowlesi* sont plus marqués et la parasitémie, du fait du cycle de réplication court de 24h, croit très rapidement [4], [9]. *P. knowlesi* peut être responsable de cas mortels de paludisme, contrairement à *P. malariae* [4]. (Voir le chapitre Complications : Cas particulier de *P. knowlesi*)

Le tableau 1 et la figure 1 présentent d'une part une comparaison des différentes caractéristiques des principales espèces de *Plasmodium* infectieux pour l'homme et d'autre part une comparaison des différentes formes observées au cours du cycle biologique des *Plasmodium spp.*

	<i>P. falciparum</i>	<i>P. vivax</i>	<i>P. ovale</i>	<i>P. malariae</i>	<i>P. knowlesi</i>
Taille et forme des globules rouges infectés	Normales	Augmentation du volume érythrocytaire (x2) ; forme du GR parfois ovale	Volume érythrocytaire normal à augmenté; forme du GR souvent ovale (comète)	Volume érythrocytaire petit à normal ; forme du GR normale	Taille et forme normales (Compactes)
Eléments parasitaires les plus caractéristiques dans le sang périphérique	Trophozoïtes jeunes, Hématies poly parasitées;	GR infectés élargis ; 12 à 24 mérozoïtes dans chaque schizonte	GR infectés de formes variables (normaux à agrandis, ovales) ; 8 à 12 mérozoïtes par schizonte	Taille normale des GR infectés ; 6 à 12 mérozoïtes par schizonte	Trophozoïtes, schizontes et gamétocytes ressemblant à ceux de <i>P. malariae</i> , excepté que les schizontes contiennent jusqu'à 16 mérozoïtes
Stades parasitaires présents dans le sang périphérique	Anneaux et gamétocytes	Tous	Tous	Tous	Tous
Trophozoïtes jeunes	Anneau de chromatine délicat, souvent au bord des GR	Anneau jusqu'à 1/3 du diamètre des globules rouges ; noyau de chromatine plus large que <i>P. falciparum</i> , Apparition rapide des granulations de Schüffner	Similaire à <i>P. vivax</i>	Plus petit que <i>P. vivax</i> ;	2 noyaux de chromatine
Trophozoïtes matures	Absent du sang périphérique, présence de tâches de Maurer	Granulations fines de Schüffner de couleur, pigment brun-doré	Similaire à <i>P. vivax</i> ; pigment brun-noir	Forme du cytoplasme variable (bande ou drapeau) Pigment brun-noir	Forme légèrement amoeboïde du cytoplasme
Schizontes	Absent du sang périphérique	12 à 24 mérozoïtes	8 à 12 mérozoïtes	6 à 12 mérozoïtes, parfois en forme de marguerite	10 à 16 mérozoïtes
Gamétocytes	Forme croissant ou en « banane »	Forme ronde à légèrement ovale	Forme ronde à légèrement ovale	Forme ronde à légèrement ovale	Forme ronde à légèrement ovale

Tableau 2: Comparaison morphologique des espèces de *Plasmodium* sur frottis sanguin mince (coloration May-Grünwald Giemsa) [4]

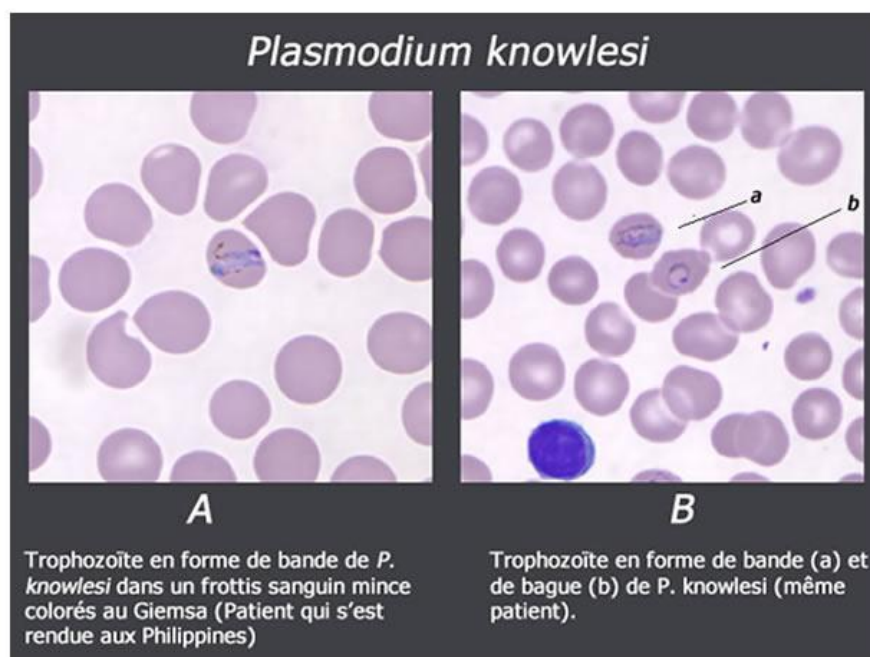
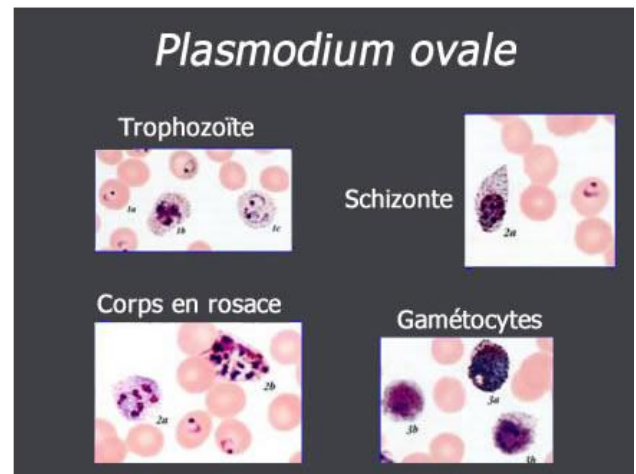
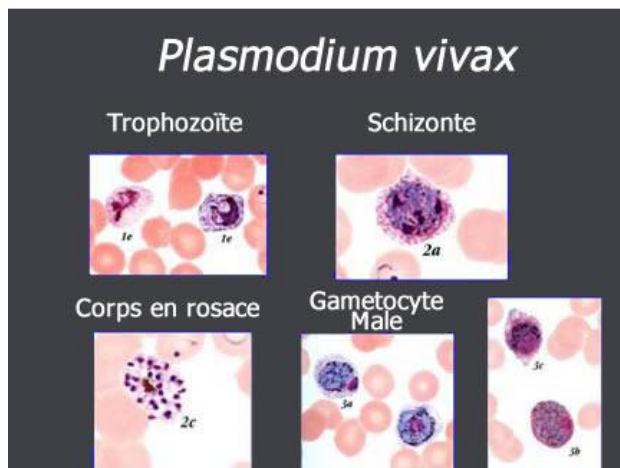
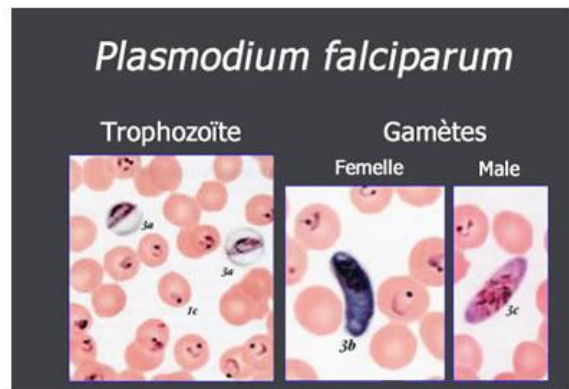
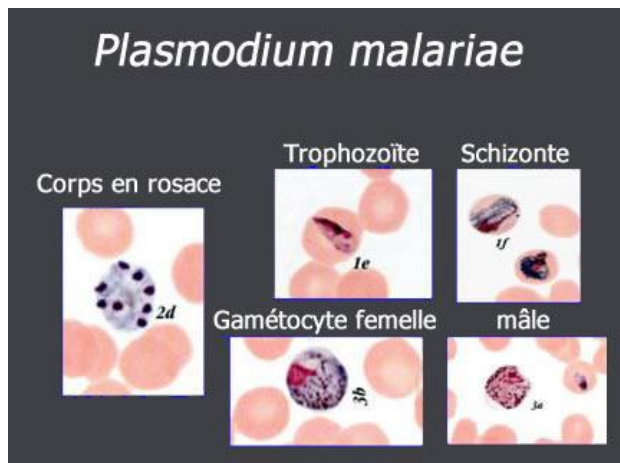


Figure 1 : Comparaison des différentes formes rencontrées au cours du cycle des *Plasmodium* spp. [10]

B. Les anophèles, vecteurs du paludisme

Les vecteurs des *Plasmodium spp.* de mammifères sont des moustiques de la famille des *Culicidae*, sous famille des *Anophelinae*, du genre *Anopheles*. Il existe plus de quatre cent espèces mais seules soixante-dix à quatre-vingt parmi elles sont considérées comme des vecteurs des parasites du paludisme.

Zones	Vecteurs principaux	Vecteurs d'importance locale	Vecteurs secondaires ou non confirmés
Afrotropicale	<i>An. gambiae s.s.</i> <i>An. arabiensis</i> <i>An. funestus</i> <i>An. nili s.l.</i> <i>An. Moucheti</i>	<i>An. melas</i> <i>An. merus</i> <i>An. mascarensis</i> <i>An. paludis</i> <i>An. pharoensis</i>	<i>An. brunnipes</i> <i>An. rivulorum</i> <i>An. hargreavesi</i> <i>An. coustani</i>
Australienne	<i>An. faranti n°1</i> <i>An. punctulatus</i> <i>An. Koliensis</i>		
Orientale	<i>An. minimus A et C</i> <i>An. dirus A et D</i> <i>An. balabacensis</i> <i>An. flavirostris</i> <i>An. maculates</i> <i>An. sundaicus</i> <i>An. aconitus</i> <i>An. fluviatilis S</i> <i>An. culicifacies A,C,D,E</i> <i>An. Stephensi</i>	<i>An. leucosphyrus</i> <i>An. sawadwongporni</i> <i>An. willmori</i> <i>An. pseudowillmori</i> <i>An. dirus BC</i> <i>An. barbirostris</i> <i>An. letifer</i> <i>An. campestris</i> <i>An. philippinensis</i> <i>An. nivipes</i> <i>An. kumingensis</i>	<i>An. litoralis</i> <i>An. mangyanus</i> <i>An. donaldi</i> <i>An. annularis</i> <i>An. tessellatus</i> <i>An. vagus</i> <i>An. varuna</i> <i>An. subpictus</i>
Paléarctique	<i>An. anthropophagus</i> <i>An. sinensis</i> <i>An. labranchiae</i> <i>An. sacharovi</i> <i>An. atroparvus*</i> <i>An. superpictus</i> <i>An. Sergenti</i>	<i>An. sicaulti</i> <i>An. messae*</i> <i>An. melanoon*</i> <i>An. maculipennis*</i>	<i>An. claviger*</i> <i>An. plumbeus</i> <i>An. dthali</i> <i>An. hyrcanus</i> <i>An. pulcherrimus</i>
Américaines	<i>An. darling</i> <i>An. albimanus</i> <i>An. pseudopunctipennis</i> <i>An. aquasalis</i> <i>An. nuneztovari</i> <i>An. quadrimaculatus</i>	<i>An. vestitipennis</i> <i>An. (K) bellator</i> <i>An. (K) cruzi</i> <i>An. (K) homunculus</i> <i>An. (K) neavei</i> <i>An. freeborni</i> <i>An. hermsi</i> <i>An. deaneorum</i>	<i>An. gabaldoni</i> <i>An. oswaldi</i> <i>An. albitaris</i> <i>An. triannulatus</i> <i>An. braziliensis</i> <i>An. marajoara</i> <i>An. allopha</i>

* Espèces qui se trouvent dans des régions où le paludisme a été éradiqué et qui ne jouent aucun rôle dans l'épidémiologie du paludisme actuellement.

Tableau 3 : Répartition géographique et importance épidémiologique des différents vecteurs du paludisme pour l'homme [11]

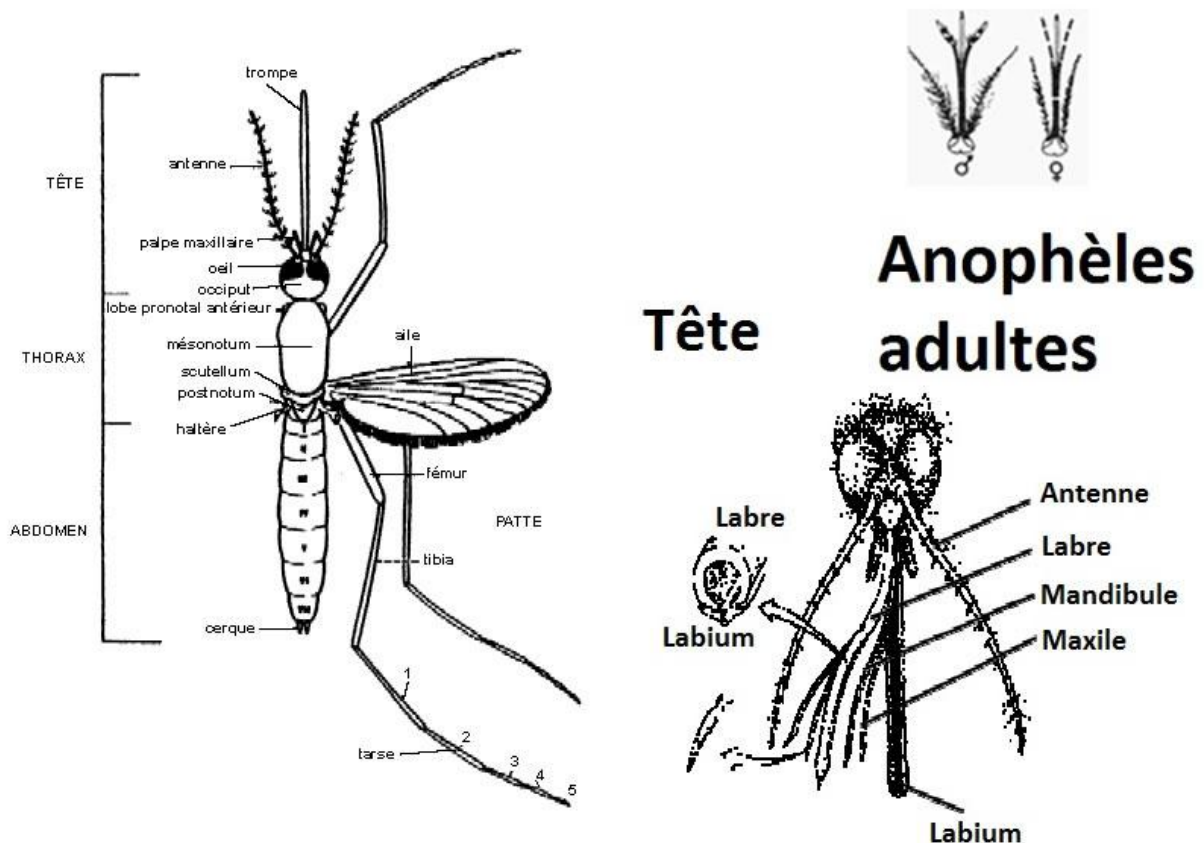


Figure 2 : Morphologie d'un anophèle adulte [12], [13]

Les adultes anophèles ont un corps caractérisé en trois parties : la tête, le thorax et l'abdomen.

La tête globuleuse comprend les yeux, les antennes et la trompe (Figure 2). Les antennes sont composées de 3 différents segments. Dans le 3^{ème} segment, s'insèrent des soies courtes chez la femelle (antennes glabres) ou très longues chez le mâle (antennes plumeuses). Les antennes plumeuses du mâle jouent un rôle olfactif dans la recherche de la femelle. La trompe est composée chez la femelle de 3 pièces impaires : l'épipharynx, l'hypopharynx et le labium (enveloppe souple protégeant les pièces buccales au repos et qui se replie sur la trompe lors des repas) et de 4 pièces paires et symétriques : 2 mandibules en haut et 2 maxilles en bas. Les femelles sont hématophages (se nourrissent de sang). Cela joue un rôle fondamental dans la production des œufs et la ponte et donc dans la transmission de la maladie. L'appareil buccal de la femelle a en effet la capacité de pomper le sang par un canal alimentaire et en même temps d'injecter de la salive à contre-flot par le canal salivaire lors de la piqûre. Ces deux canaux, contenus dans la trompe, sont acérés en biseau à l'extrémité de la tête. La femelle peut ainsi récupérer des éléments protéiques (hémoglobine), des gamétocytes (mâles et femelles) et injecter au même moment des sporozoïtes (présent dans la salive).

Chez le mâle, on ne retrouve que l'épipharynx, le labium ainsi que 2 palpes maxillaires de part et d'autre de la trompe et de même longueur que cette dernière. Les anophèles mâles, se nourrissant exclusivement de nectar de fleurs, de jus

sucrés et d'exsudats végétaux, les autres pièces buccales foreuses sont atrophiées chez ces derniers.

Le thorax est formé de 3 segments (prothorax, mésothorax et métathorax), comportant chacun une paire de pattes. Le mésothorax porte la paire d'ailes et le métathorax les balanciers (ou haltères servant de gyroscopes pour l'équilibre en vol).

La dernière partie (l'abdomen) est composée de segments (10 segments dont 8 visibles extérieurement). Les sept premiers segments sont identiques et la différenciation mâle/femelle est visible sur les derniers segments. Chez la femelle, l'orifice anal est dorsal et l'orifice génital est ventral. Chez le mâle, c'est l'inverse dû à une rotation de 180° des derniers segments. L'orifice anal est ainsi ventral et l'orifice génital dorsal.

Les anophèles sont des insectes volants au stade mais elles ont toutes débuté par des stades larvaires aquatiques (Figure 3). Les anophèles adultes vivent d'une semaine (mâle) à trois semaines (femelle) en moyenne [5]. Le phénomène de diapause hivernale peut augmenter leur longévité. Ce phénomène correspond à une phase dans laquelle les processus physiologiques et biologiques sont ralentis, en réponse anticipée à des changements de température ou à d'autres variations de l'environnement. L'insecte réduit ainsi ses besoins en nourriture et rallonge sa durée de vie.

L'enchaînement (piqûre du moustique - maturation des ovocytes – ponte) se répète plusieurs fois au cours de la vie de l'anophèle et caractérise le cycle gonotrophique ou trophogonique^d. Ce cycle dure 2 à 3 jours (durée variable suivant la température extérieure) et nécessite la présence d'eaux douces ou eaux stagnantes (Figure 3).

^d Le cycle gonotrophique est l'intervalle entre deux repas sanguins.

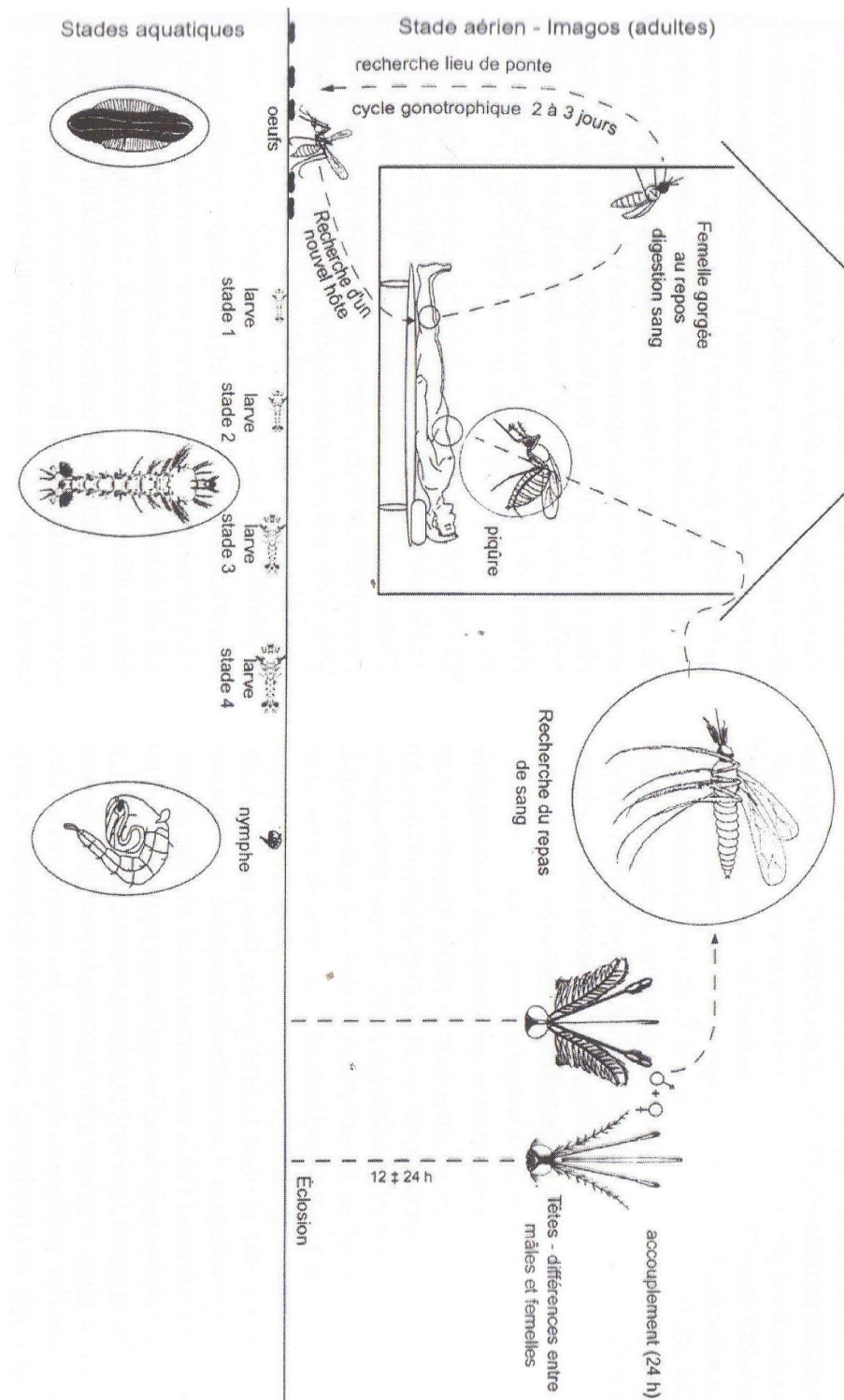


Figure 3 : Cycle biologique des anophèles [11]

Quelles sont en détails les différentes étapes qui rythment la vie des anophèles et participent à leur cycle biologique ?

1. La reproduction

Une fois le stade imago (adulte) atteint, l'accouplement s'effectue au bout de quelques jours (souvent 1 à 2 jours). Les femelles ne s'accouplent qu'une fois durant leur vie contrairement aux mâles. Les spermatozoïdes, stockés dans une spermathèque chez la femelle, seront utilisés lors des pontes suivantes pour féconder les œufs durant leur passage dans l'oviducte.

La reproduction est un maillon essentiel du cycle biologique des anophèles. Le repas sanguin, qui apporte les éléments nutritifs (protéines) nécessaires au développement des œufs, participent également à la pérennisation de l'espèce.

2. Le repas sanguin

Les mâles se nourrissent de substances sucrées récoltées dans la nature, alors que les femelles ont besoin d'éléments protéiques (hémoglobine) pour la maturation de leurs œufs. Ce besoin sera assouvi lors du repas sanguin sur un hôte vertébré. La femelle prélève un certain volume sanguin et injecte en même temps la salive contenant des sporozoïtes. Le sang prélevé, environ 1 à 2,5 microlitre (μl) est alors concentré par diurèse et cela s'observe par libération d'un liquide clair et transparent par l'anus lors du repas sanguin [11] (Figure 4).

Les anophèles piquent essentiellement la nuit, entre 22 h et 3 h du matin, mais aussi en début de soirée (18h-20h) lorsque le soleil commence peu à peu à se retirer. Les moustiques sont attirés par la température corporelle, le gaz carbonique de l'air expiré et aussi les kairomones^e qui agissent comme des stimuli olfactifs. Ces dernières expliquent ainsi pourquoi certaines personnes ou certaines zones du corps seront beaucoup plus ciblées par les moustiques.

Chez certaines espèces, les piqûres, donc le repas sanguin, se font essentiellement à l'intérieur des maisons (anophèle endophile) comme c'est le cas pour *Anopheles gambiae*. A l'inverse, les piqûres peuvent s'effectuer essentiellement à l'extérieur des maisons (anophèle exophile). *Anopheles albimanus*, présente en région américaine, en est un exemple (Tableau 3).

^e Les kairomones sont des substances chémiochimiques produites par un être vivant, libérées dans l'environnement, qui déclenche une réponse comportementale chez une autre espèce et dont l'effet est négatif pour l'espèce émettrice. [163]

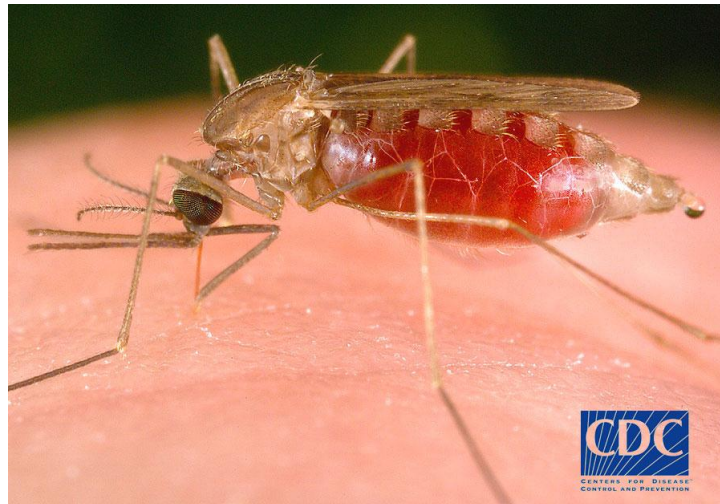


Figure 4 : Moustique *Anopheles freeborni* pendant un repas sanguin [14]

Après ce repas sanguin, l'anophèle entre en phase de digestion. Quelles en sont les caractéristiques ?

3. Digestion et maturation

La femelle, gorgée de sang après son repas, entre en phase de repos souvent non loin du sujet piqué, au cours de laquelle il y a une digestion du sang prélevé et la maturation des ovocytes. Celles-ci s'accompagnent de changements morphologiques au niveau de l'abdomen, présentés ci-dessous.

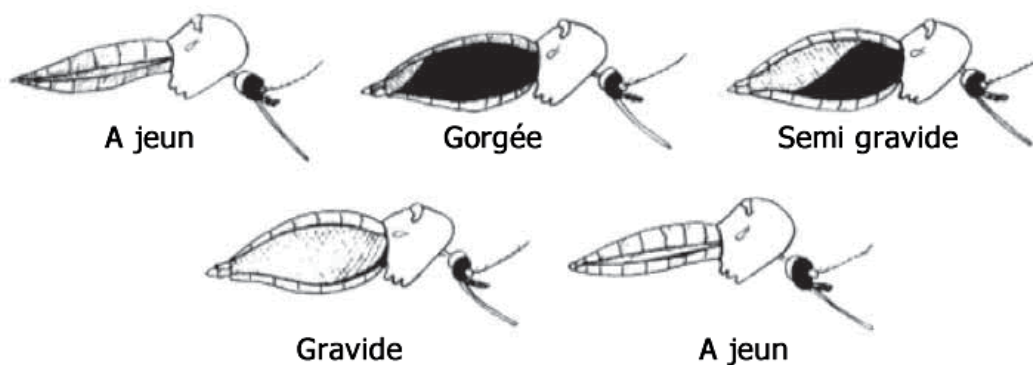


Figure 5 : Principaux stades de digestion du sang et de maturation des ovocytes [15]

On peut distinguer ainsi chez l'anophèle femelle un abdomen de différentes formes :

- Normal ou effilé chez la femelle non gorgée (à jeun)
- Gonflé et rouge chez la femelle qui vient de prendre un repas sanguin
- Noirâtre à la jonction abdomen-thorax (sang digéré) et blanc dans la partie distale (œufs en cours de développement) chez la femelle semi-gravide
- Entièrement blanc et gonflé chez la femelle gravide prête à pondre.

4. De la larve à l'adulte

Le cycle gonotrophique est un des éléments de base du cycle biologique des anophèles. Il est de durée variable entre les femelles qui n'ont pas encore pondu (dites « nullipares ») et celles qui ont déjà effectué au moins une ponte ou oviposition (dites « pares »).

Après les premières étapes (piqûre, digestion, maturation), la femelle cherche un lieu d'oviposition, souvent des zones humides avec des eaux stagnantes. Elle va pondre, directement à la surface de l'eau, une cinquantaine voire une centaine d'œufs tous les 2 à 3 jours (durée du cycle trophogonique).

Ces œufs qui éclosent en 24 à 48 heures, laissent ensuite place aux larves qui muent en nymphes puis en insectes adultes (ou imago).

Les larves d'anophèles vivent sous la surface de l'eau et respirent par des stigmates, en restant parallèles à la surface de l'eau (à la différence des moustiques du genre *Culex* qui sont perpendiculaires). Elles se nourrissent d'algues et de micro-organismes.

Dans le stade suivant, la puppe ou nymphe est constituée d'un céphalothorax et d'un abdomen replié en forme de virgule. La respiration est assurée par deux trompes qui connectent le céphalothorax à la surface de l'eau. L'alimentation est assurée par les réserves.

Une fois les transformations morphologiques de ce stade terminées (métamorphose), le tégument de la face dorsale se déchire et laisse échapper le jeune adulte (imago). C'est le stade imaginal ou adulte. On distingue alors clairement les différentes parties du corps détaillées plus haut, avec la tête munie des yeux et des antennes, le thorax (qui porte les ailes et pattes) et l'abdomen.

Les conditions environnementales (température, humidité, altitude ...) jouent un rôle important sur le cycle trophogonique des anophèles et la transmission du paludisme. Par exemple, suivant la température et le climat, les œufs peuvent éclore en 24 à 48h en zone tropicale ou en 2 à 3 semaines en climat tempéré. De même, on constate une réduction de la transmission du paludisme avec l'altitude.

Les anophèles constituent les vecteurs du paludisme. Du repas sanguin à l'émergence d'un nouvel adulte, ils participent à la transmission des *Plasmodium spp.*

Quelles sont les modalités de transmission à l'homme de ces agents infectieux et les caractéristiques de leur cycle biologique ?

C. Le cycle biologique des *Plasmodium* spp.

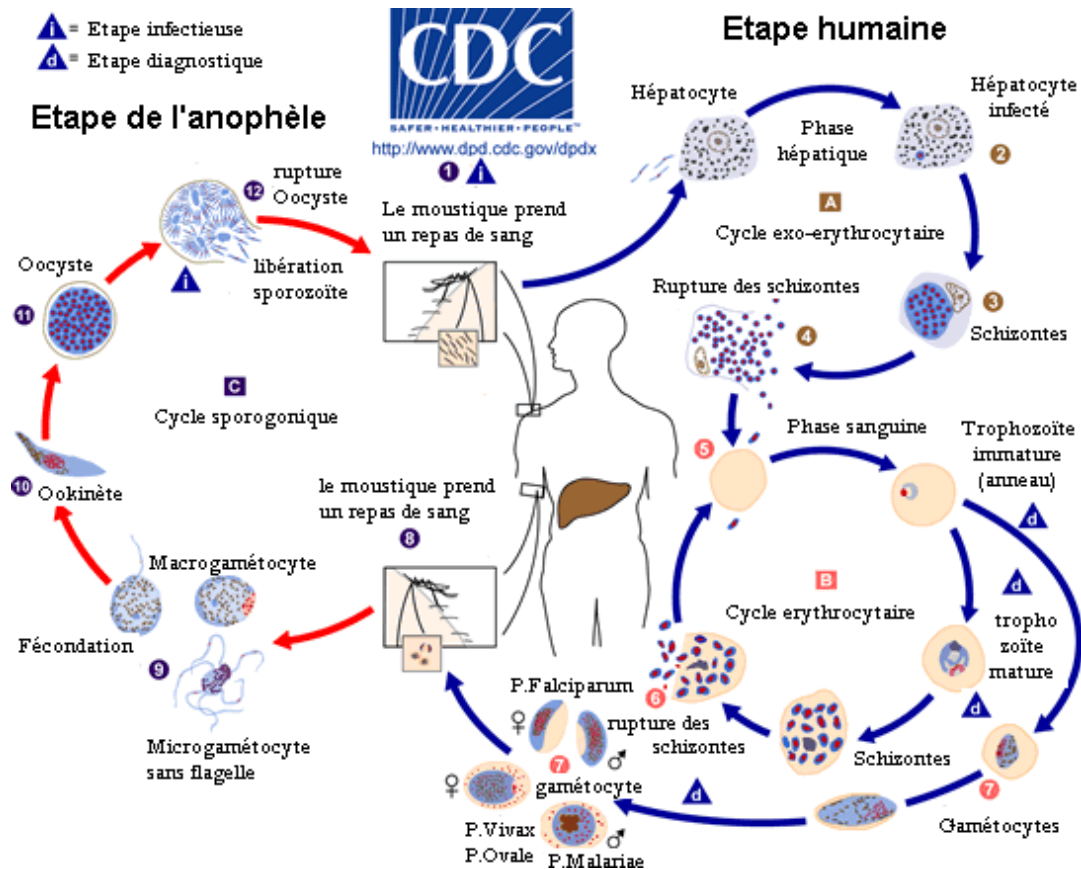


Figure 6 : Cycle biologique des *Plasmodium* spp. [16]

L'homme, le parasite et l'anophèle sont les trois éléments de ce cycle interactif. Ces interactions homme<>parasite<>vecteur, qui ne se déroulent que dans un milieu favorable à la transmission de la maladie, constituent le complexe pathogène du paludisme.

Schématiquement, ce cycle biologique se décompose en une phase asexuée (schizogonie^f) qui se déroule chez l'homme et deux phases (sexuée puis asexuée, gamogonie^g et sporogonie^h, respectivement) qui débutent chez l'homme et se terminent chez le moustique.

Comme indiqué précédemment, la femelle anophèle prélève du sang par piqûre pour récupérer des éléments protéiques (hémoglobine) nécessaires à la maturation de ses œufs. Elle inocule simultanément les parasites (sporozoïtes) avec le liquide salivaire, dans lequel ils sont présents. De nombreux sporozoïtes sont détruits par les macrophages (dans les cellules de Kuppfer), mais les survivants envahissent très

^f La schizogonie est la phase de multiplication asexuée dans le foie et les hématies permettant la formation de mérozoïtes ou schizontes.

^g La gamogonie ou gamétogonie ou encore gamétogénèse est un mode de reproduction sexuée permettant la formation des gamètes mâles et femelles.

^h La sporogonie est un mode de reproduction asexuée où le zygote résultant de la fusion des gamètes mâle et femelle connaît de multiples divisions cellulaires qui produisent des sporozoïtes.

rapidement les cellules hépatiques (au bout d'une trentaine de minutes) où ils vont se multiplier.

Chez certaines espèces (*P. vivax* et *P. ovale* surtout), il existe une forme dormante dite « hypnozoïte » pour laquelle le passage au stade suivant (schizonte) n'est pas immédiat mais est différé dans le temps (Voir le chapitre Les hypnozoïtes).

Pour la plupart des espèces, le parasite démarre donc immédiatement la schizogonie dans les cellules du foie. Il y a alors production des schizontes hépatiques : c'est la schizogonie pré-érythrocytaire ou exo-érythrocytaire ou encore intra-hépatique. (Figure 6, zone A)

A maturité, soit environ 8 à 10 jours après leur formation, chaque schizonte hépatique éclate et libère des milliers de mérozoïtes qui quittent le foie pour pénétrer dans les hématies où ils se transforment en trophozoïtes ou « anneaux ». Les parasites subissent alors une nouvelle phase de multiplication asexuée ou schizogonie érythrocytaire pour former des schizontes ou « rosaces » dont chacun comporte une dizaine de noyaux-fils (Figure 6, zone B). Chaque noyau se différencie en mérozoïte qui pourra contaminer un autre globule rouge et ainsi initier un nouveau cycle de schizogonie érythrocytaire.

Une fois à l'intérieur des hématies, les mérozoïtes se multiplient jusqu'à les faire éclater de façon synchrone toutes les 24h (1j), 72h (3j) ou 96h (4j) suivant l'espèce de *Plasmodium* sp.. Ce délai, correspondant à l'intervalle de temps entre la pénétration du parasite dans le globule rouge et l'hémolyse de ce dernier, définit également la fréquence des accès fiévreux. On assiste donc à des fièvres qui surviennent soit toutes les 72h (fièvre tierce avec *P. falciparum*, *P. vivax* et *P. ovale*) soit toutes les 96h (fièvre quarte pour *P. malariae*) soit encore quotidienne avec *P. knowlesi*. En éclatant, l'hématie libère des dizaines d'autres mérozoïtes qui parasitent à leur tour d'autres hématies saines et le cycle schizogonique érythrocytaire recommence.

Après plusieurs cycles érythrocytaires chez l'hôte humain, certains trophozoïtes (immatures) se transforment en trophozoïtes matures puis gamétocytes mâles ou femelles (gaméto-cytogénèse), précurseurs de gamètes qui seront ingérés par le moustique lors de la piqûre (Figure 6, zone B - étapes 5 et 7). C'est la première étape de la gamogonie. Les gamétocytes n'évoluent pas chez l'homme et assurent la pérennisation de l'espèce en restant plusieurs mois dans le sang du malade et en étant infectant pour l'anophèle.

Dans l'estomac du moustique, ces gamétocytes se différencient en gamètes mâles et femelles (gamétogénèse ou gamogonie). La fusion de ces gamètes mûres donne un œuf mobile ou ookinète qui traverse l'épithélium de l'estomac du moustique et forme un oocyste sur la face externe de l'estomac (Figure 6, section C). A l'intérieur de l'oocyste, la multiplication asexuée reprend pour former des milliers de sporozoïtes. C'est la sporogonie. Finalement, l'oocyste mûr éclate et les sporozoïtes libérés migrent vers les glandes salivaires (en 9 à 15 jours) d'où ils seront inoculés à l'homme lors de la prochaine piqûre (Figure 7).

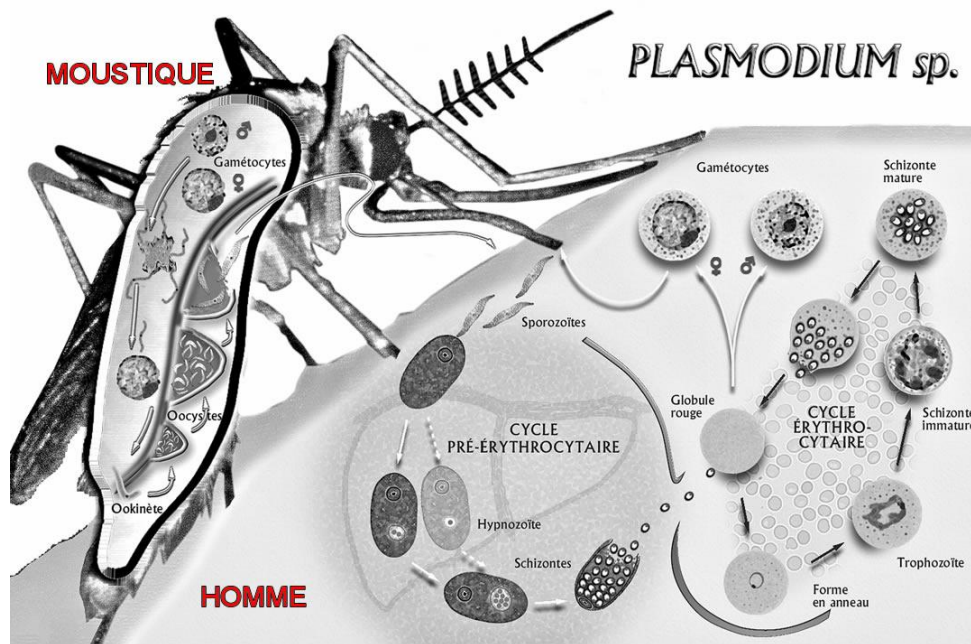


Figure 7 : Cycle biologique des *Plasmodium* spp (détails) [10]

Les hypnozoïtes

Le terme hypnozoïte vient du grec *hypnos* (sommeil), *zoon* (animal) et *eidos* (forme). Inventé par Miles B. Markus, lors de ses recherches sur *Isospora* spp. (sporozoaire de la classe des Coccidies), ce terme décrit « tout sporozoïte dormant ou inactif » [17], [18]. Il avait ensuite spéculé sur une similitude avec d'autres sporozoaires, comme les *Plasmodium* spp.. La confirmation est venue de Wojciech A. Krotoski qui a publié en 1980 les détails de ses recherches confirmant l'existence réelle des hypnozoïtes dans le cadre du paludisme [19], [20]. Cette forme peut se réactiver à tout moment entre 3 semaines et plusieurs années, laissant les personnes infectées sous la menace d'une rechute.

Selon les *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC), un seul médicament est capable d'éliminer ces hypnozoïtes, c'est la primaquine, une amino-8-quinoléine que nous reverrons en détails dans le chapitre sur l'arsenal thérapeutique. C'est un remède radical notamment contre *P. vivax* et *P. ovale*, responsables de la plupart des rechutes tardives, avec cependant deux inconvénients qui sont à signaler.

Premièrement, ce traitement n'est efficace que s'il est pris en continu pendant 14 jours, d'où un problème d'observance chez des patients n'ayant pour la plupart pas de symptôme et qui ne se considèrent donc pas comme étant malades.

Enfin, chez des patients présentant un favisme (déficit en glucose 6-phosphate 1-déshydrogénase G6PD), la primaquine peut provoquer une destruction des globules rouges donc une anémie aggravant celle déjà causée par le paludisme. Cet enzyme de la voie des pentoses catalyse l'oxydation du glucose-6-phosphate en 6-phosphogluco-lactone. Elle participe ainsi par couplage à la production de NADPH, cofacteur cellulaire. Ce déficit, dans certaines zones endémiques, touche jusqu'à 25% de la population [21]. On peut donc avoir des anémies aggravées voire fatales dans certains cas.

D. Epidémiologie

1. Historique

Tirée de l'italien « mal-aria » qui signifie « mauvais air », la maladie doit son nom à la fréquence du paludisme dans les marais ou les marécages, autour de Rome, d'où son autre appellation de fièvre romaine. C'est une maladie très ancienne dont les origines remonteraient à l'homme préhistorique.

Des références à des fièvres mortelles, sans doute causées par le paludisme, sont apparues dès les débuts de l'écriture (6000 à 5500 ans avant Jésus-Christ). Les textes védiquesⁱ en Inde datant de 1600 avant Jésus-Christ et ceux d'Hippocrate, du V^{ème} siècle avant Jésus-Christ, en font mention. Les Mayas et les Aztèques, dans leurs écrits et leurs « traités de médecine », ne font cependant pas état du paludisme. Selon le scientifique britannique Bruce Chwatt (1907-1989), la maladie est probablement originaire d'Afrique et a suivi les migrations humaines vers les côtes de la Méditerranée, jusqu'en Inde et en Asie du sud-est. Les colonisateurs européens et les esclaves auraient ainsi apporté le parasite dans le nouveau monde, où l'anophèle existait déjà [22].

Au XVII^{ème} siècle, en Amérique du sud, les indiens absorbaient des décoctions à base d'écorce de quinquina, pour faire disparaître ces fièvres. Rapportée en Europe (1630) puis en Inde (1657) par des missionnaires jésuites, l'écorce de quinquina fut utilisée pour soigner les « fièvres des marais » [23]. C'est en 1820, que le principe actif (la quinine) fut isolé par Pelletier et Caventou [24]. Et c'est seulement une soixantaine d'années plus tard, en 1880, que Charles-Louis-Alphonse Laveran, médecin de l'armée française, identifie le parasite à Constantine en examinant des échantillons de sang [25]. Sa découverte, rejetée à l'époque par une bonne partie de la classe médicale, fut acceptée par les scientifiques italiens qui étaient considérés comme les chefs de file dans le domaine. Il obtiendra le prix Nobel en 1907 « *en reconnaissance de son travail sur le rôle joué par les parasites protozoaires responsables du paludisme* ».

L'hypothèse de la transmission du paludisme par un moustique, émise vers 1882, fut confirmée par le docteur Ronald Ross qui découvrit en 1897 des oocystes dans les parois d'estomacs d'anophèles ayant piqué un malade impaludé [26], [27].

L'autrichien Julius Wagner-Jauregg a également reçu le prix Nobel de médecine en 1927 pour avoir mis au point la « malariathérapie » dans le traitement de la syphilis [28]. Cette technique, sorte d'impaludation thérapeutique, consistait à inoculer des sporozoïtes (présents dans le sang de patients paludéens). Cela avait pour but de stimuler les défenses naturelles de l'organisme mais surtout, grâce aux accès de fièvres, de détruire la bactérie responsable de la syphilis (*Treponema pallidum*) qui

ⁱ Les textes védiques ou « Védas » représentent des écrits anciens sacrés sur la « connaissance révélée ». Selon la tradition Vaishnava (en Inde), les « Védas » émanent directement de la bouche de Dieu en personne. Ils contiennent « l'essence du savoir », un savoir spirituel transmis de maître à disciple. [164]

est sensible à la température. Après trois ou quatre accès de fièvre, il administrait de la quinine au patient afin d'éliminer *Plasmodium*.

Au milieu du XIX^{ème} siècle, les hollandais avaient établi des plantations de quinquina à Java (Indonésie) et avaient le quasi-monopole de cette culture. Durant la deuxième guerre mondiale, l'île de Java tomba sous le contrôle des japonais et se procurer de la quinine devenait de plus en plus difficile voire impossible. Il fallait donc mettre au point de toute urgence un antipaludique synthétique. La chloroquine, molécule appartenant à la famille des amino-4-quinoléines, a été produite vers 1940, à la suite de divers essais et améliorations thérapeutiques sur plusieurs candidats. Nous y reviendrons en détails dans le chapitre sur l'arsenal thérapeutique.

La découverte des antimalariques de synthèse renforça les moyens de prise en charge et de traitement de la maladie. Cependant, la très large utilisation de la chloroquine a entraîné une installation progressive des résistances dès 1960. De l'Amérique du sud jusqu'à l'Asie du sud-est, en passant par l'Afrique, la chloroquinorésistance touche aujourd'hui toutes les grandes zones d'endémie.

Ces phénomènes de résistance ont accéléré les recherches de nouvelles molécules et de moyens pour lutter contre le paludisme. L'artémisinine (« *qing hao su* » en chinois) est issue d'une plante d'origine chinoise l'*Artemisia annua* L. et est employée depuis plus de 2000 ans en Chine pour traiter les fièvres associées au paludisme. Son efficacité contre des formes graves et mortelles de paludisme a été démontrée. L'OMS l'a même déclaré en 2001 comme étant « *le plus grand espoir mondial contre le paludisme* ». Sa synthèse artificielle étant pour le moment difficile (coût de production considérable qui entraînerait des coûts de traitement élevé), on emploie des dérivés semi-synthétiques comme l'artésunate, l'artéméthér et l'artéether. Ces molécules font désormais partie de l'arsenal thérapeutique mais leur utilisation en monothérapie est vivement déconseillée afin de limiter les résistances. Ils sont ainsi utilisés en association avec d'autres antipaludiques sous formes d'ACT (*Artemisinin Combined Therapy*) ou CTA en français (Combinaison Thérapeutique à base d'Artémisinine).

2. Indices épidémiologiques et classification des zones endémiques

Plusieurs indices et paramètres d'études ont été définis afin d'évaluer l'endémie palustre.

L'indice plasmodique (IP), appelé aussi indice parasitaire, permet d'évaluer la prévalence. C'est le pourcentage de sujets porteurs de *Plasmodium spp.* dans le sang périphérique, d'une région donnée, à une date ou saison donnée, dans une classe d'âge donnée. Cet indice, mesuré par exemple chez les enfants de moins de 10 ans, permet d'établir le taux d'endémicité de la région concernée.

L'indice splénique définit le pourcentage de sujets atteints de splénomégalie dans une population. Pour évaluer l'hypertrophie splénique, on utilise la classification de

Hackett (classe 1 à la classe 5 suivant la dimension de la rate par rapport au rebord caustal) (Figure 8).

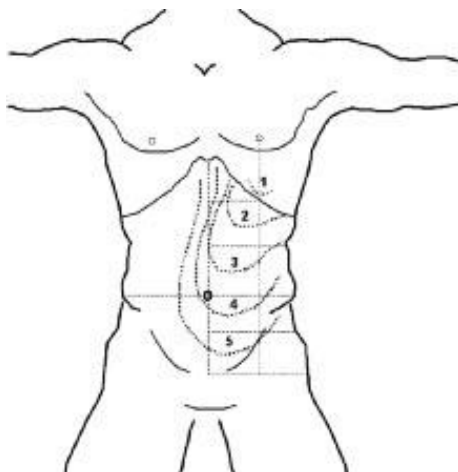


Figure 8 : La classification de la splénomégalie de Hackett [11]

L'indice splénique des enfants de 2 à 9 ans était très utilisé au départ pour établir la classification de l'endémie palustre. Cependant, l'indice plasmodique a été préféré à l'indice splénique dû d'une part à l'existence de splénomégalies non palustres (mononucléose infectieuse, syphilis secondaire, leishmaniose, maladie de Hodgkin...) et d'autre part à la difficulté d'évaluation de l'hypertrophie splénique. C'est la classification de Yaoundé (3^{ème} conférence africaine sur le paludisme à Yaoundé au Cameroun en 1962), basée sur l'indice plasmodique, qui est actuellement utilisée.

Les valeurs de l'indice plasmodique déterminent ainsi les zones d'endémicité.

Endémicité	Classification de Yaoundé, 1962 : Indice plasmodique
Hypoendémique et endémique	Habituellement < 10% chez les enfants âgés de 2 à 9 ans (peut être plus élevé une partie de l'année : saisons, épidémies)
Mésoendémique	Habituellement 11-50% chez les enfants âgés de 2 à 9 ans (peut être plus élevé une partie de l'année)
Hyperendémique	Constamment > 50% chez les enfants âgés de 2 à 9 ans
Holoendémique	Constamment > 75% chez les nourrissons âgés de moins d'1an

Tableau 4 : Classification de l'endémicité selon la monographie de l'OMS (Classification de Metselaar et Van Thiel, 1959) [11]

D'autres indices peuvent être utilisés pour comparer ou approfondir ces études épidémiologiques.

On peut retrouver ainsi l'indice d'anthrophilie qui définit le taux d'anophèles femelles contenant du sang humain. L'indice sporozoïtique correspond au pourcentage d'anophèles femelles contenant des sporozoïtes dans les glandes salivaires. L'indice gamétocytaire ou gamétocytaire est quant à lui défini par le pourcentage de porteurs de formes sexuées (gamétocytes) du parasite dans une

population, à un moment donné. Il détermine le potentiel du parasite à réinfecter la population humaine à ce moment.

La notion de stabilité ou d'instabilité est également utilisée pour définir le paludisme. On parle de paludisme stable, lorsque sa transmission est élevée sur l'année (sujet soumis à plus de 100 piqûres infectantes ou contenant des sporozoïtes par an) et identique d'une année à l'autre. Il est instable lorsque la transmission est faible (<100 piqûres infectantes/an) et varie d'une année à l'autre. Cette notion explique en partie les phénomènes de prémunition. Dans les zones stables, le nombre élevé de piqûres sur l'année favorise le développement de cette immunité alors que dans le second cas, il n'y a « pas assez de stimulation » pour maintenir cette immunité [11].

3. Répartition et impact du paludisme dans le monde

Le paludisme est la parasitose la plus répandue dans le monde, touchant pratiquement toutes les zones tropicales chaudes et humides (Figure 9). Il menace plus de la moitié de la population mondiale, soit quelques 3 milliards de personnes réparties dans plus d'une centaine de pays [3].

Les cinq espèces qui s'attaquent à l'homme (*P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. knowlesi*, *P. malariae*) ont des localisations et des incidences différentes décrites plus haut dans le chapitre Les agents du paludisme chez l'homme et dans le Tableau 1.

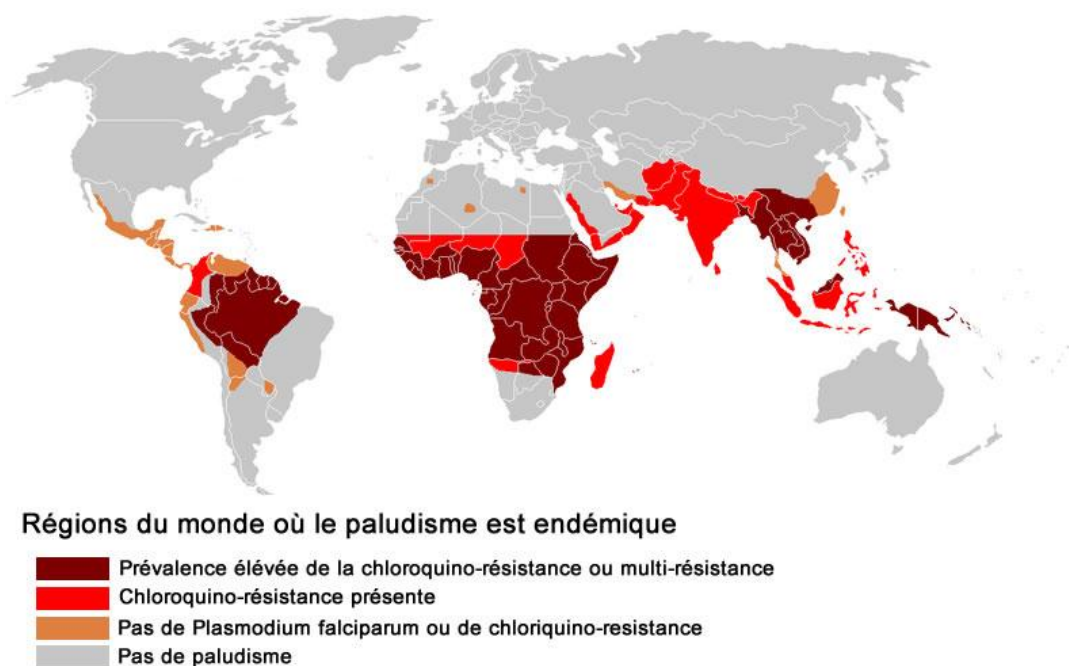


Figure 9 : Répartition du paludisme dans le monde [29]

En 2010, le paludisme a causé entre 537 000 et 907 000 décès dont plus de 81% concernaient le continent africain [3]. De plus, les enfants de moins de 5 ans constituent la population la plus touchée en représentant près de 86% des décès dus à cette maladie [2]. Nous reviendrons en détails sur les conséquences sanitaires de cette maladie dans les chapitres qui suivront.

Le paludisme cause dans la majorité des cas des incapacités momentanées à travailler et donc un fort taux d'absentéisme, pesant ainsi lourdement sur les revenus des ménages et sur la productivité des entreprises. Les zones impaludées attirent peu les investisseurs entraînant une stagnation économique et fragilisant le développement de ces zones.

Le poids économique de cette maladie, non négligeable, pèse sur les familles, les ménages et le budget national. Le paludisme pèse pour plus de 10% sur les dépenses annuelles des ménages en Afrique et environ 40% des dépenses de santé engagées en Afrique sub-saharienne [30]. Près de 15% des budgets nationaux seraient nécessaires pour lutter contre ce fléau. Il ralentit la croissance économique et compromet le développement des zones touchées, souvent les plus pauvres du globe. Il entraîne des pertes économiques importantes et peut faire baisser le produit intérieur brut (PIB) de l'ordre de 1,3% dans certains pays africains, qui sont pour la majorité des pays déjà très pauvres et en voie de développement. Le paludisme coûterait chaque année près de 12 milliards de dollars en perte de PIB [30].

Dans une autre mesure, les faibles revenus de ces populations limitent l'accès aux moyens de prévention (moustiquaires imprégnées, insecticides ...) et de traitement, augmentant ainsi les chances de contracter la maladie. Il y a donc une sorte de « cercle vicieux ». Les distributions gratuites de médicaments et de moustiquaires par l'OMS et certaines Organisations Non Gouvernementales (ONG) réduisent le risque de transmission même si l'application de ces mesures auprès des populations reste limitée par rapport au nombre important des populations à risques.

L'Année de Vie Corrigée à l'Incapacité (AVCI) ou *Disability Adjusted Life Year* (DALY) en anglais est un indice mis au point par l'OMS, permettant d'évaluer le fardeau d'une maladie pour une population donnée. On peut étudier ainsi la charge de la morbidité. Les AVCI correspondent à la somme des années de vie perdues (AVP) à cause de la maladie ou d'un décès prématuré et des années de vie vécues avec une incapacité (AVI).

Catégories	Coût par DALY évité (en dollars américains US\$)	Fardeau (en million de DALYs)
Immunisation infantile	1 - 5	Non évalué
Prévention du paludisme	2 - 34	35,4
Maladies infantiles	9 - 218	9,6 - 45,1
VIH/SIDA (Prévention)	6 - 337	56,8
VIH/SIDA (Traitement)	673 - 1494	56,8

Tableau 5 : Les actions antipaludiques en Afrique sub-saharienne et leurs taux de rentabilité [30]

Un rapport récent du programme « *Roll back malaria* » (faire reculer le paludisme) de l'OMS indique que « *la prévention et le traitement du paludisme sauvent plus de vies par dollar dépensé et ont un impact plus important sur la santé en Afrique subsaharienne que toutes les autres actions en matière de santé, à la seule exception de l'immunisation infantile* » [31], [30].

Le paludisme entraîne ainsi un fardeau de 35,4 millions d'années, inférieur au 56,8 millions pour le SIDA mais les moyens de prévention contre le paludisme ont un coût moindre, une meilleure efficacité ainsi qu'un meilleur impact.

L'accroissement des ressources et aides financières ainsi que le regain d'engagement au niveau international ont eu des impacts réels positifs sur la protection des individus et des communautés à risque. Les financements internationaux pour la prévention et le traitement du paludisme sont passés de 51 millions de US\$ en 2003 à 1,1 milliard en 2008 [30] (Figure 10) . La contribution de nombreux organismes dont l'OMS, la fondation américaine PATH et la fondation Bill et Melinda Gates ont favorisé également l'avancée des recherches sur la maladie.

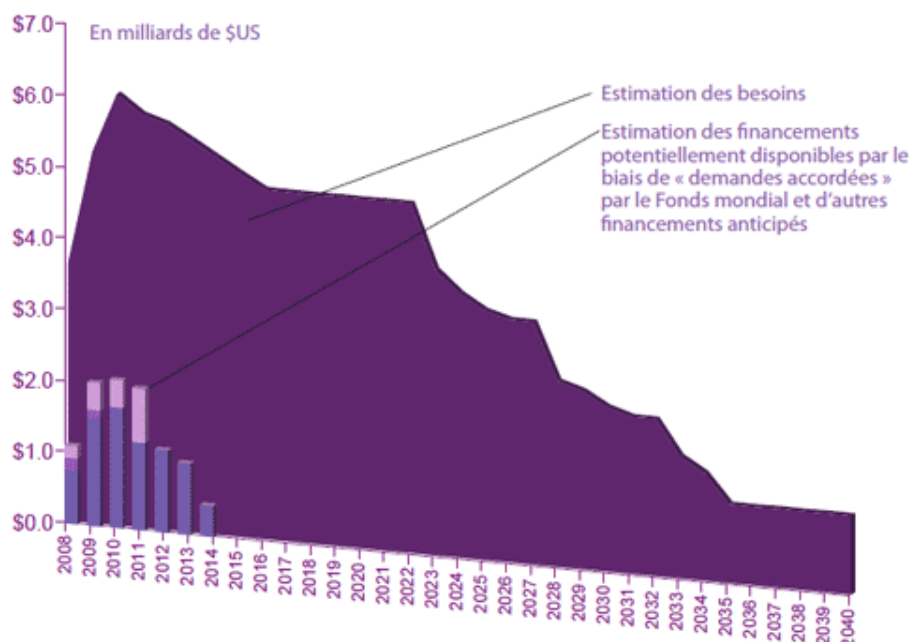


Figure 10 : Estimations des besoins de financement annuel au niveau mondial pour lutter contre le paludisme [32]

Le plan d'action mondial contre le paludisme estime que « *5 à 6,2 milliards de US\$ par an seront nécessaires entre 2010 et 2015 pour intensifier et pérenniser la lutte contre le paludisme puis tendre vers l'élimination de la maladie au niveau mondial* ». Les apports financiers actuels, malgré leurs augmentations ces dernières années, restent encore trop peu importants pour faire face à ces besoins.

Dans les régions où les stratégies préventives et thérapeutiques sont appliquées à grande échelle, la maladie a tendance à reculer. Après avoir expliqué dans un premier temps les différentes formes cliniques et les moyens de diagnostic, nous verrons quels sont les moyens de lutte et de prise en charge mis en place pour contrer la maladie ?

II. Le Paludisme chez l'homme : clinique, diagnostic et immunité

La gravité et l'évolution de la maladie sont dépendantes de l'espèce de *Plasmodium* spp. en cause, de l'âge du patient et des particularités et spécificités du sujet (femme enceinte, enfant, critères génétiques, état général de santé et immunité ...). La prise en charge doit donc être rapide et adaptée. Des cinq espèces, *P. falciparum* est la plus dangereuse mais les autres espèces ne sont pas à négliger.

A. Phase d'incubation

La période d'incubation du paludisme (intervalle de temps entre l'infection et les premiers signes cliniques) est variable selon les *Plasmodium* spp.. Elle est asymptomatique et dure de 7 à 12 jours chez *P. falciparum*, 12 à 18 jours chez *P. ovale*, 10 à 20 jours chez *P. vivax* et de 18 à 40 jours chez *P. malariae*. Quant à *P. knowlesi*, sa période d'incubation est de 12 jours.

B. La phase d'invasion

La phase d'invasion correspond au temps s'écoulant entre l'inoculation de sporozoïtes à l'homme lors de la pique du moustique et le début des fièvres périodiques (caractérisant la phase d'état). C'est la première étape commune à tous les *Plasmodium* spp.. Elle intervient généralement 2 à 3 jours avant l'accès fébrile (phase d'état). Elle est surtout marquée avec *P. falciparum*. Le tableau clinique est celui d'un embarras gastrique fébrile associé à des asthénies, des arthralgies, des céphalées et des myalgies. La splénomégalie est absente au début mais peut apparaître au cours de l'évolution de la maladie s'il n'y a pas de traitement mis en route.

C. La phase d'état

1. Accès simple

Un accès palustre simple (appelé également accès fébrile) peut survenir à la suite de la phase d'invasion. Il se caractérise par la triade frissons, chaleurs, sueurs. On retrouve ainsi :

- Une première étape marquée par des frissons intenses.
- Ensuite il y a une augmentation de la température corporelle (40-42 °C) avec une peau sèche et brûlante et la disparition des frissons.
- Des sueurs abondantes sont caractéristiques de la troisième étape et on assiste en même temps à une diminution de la température corporelle.

La physiopathologie de ces symptômes cliniques et biologiques accompagnant cette triade est expliquée à la Figure 11.

Au début de l'accès fébrile, une splénomégalie peut être mise en évidence mais celle-ci régresse dès l'augmentation de température.

Cet accès dure 8 à 12 heures et se répète suivant un intervalle de temps précis. Le malade est ensuite fatigué mais a une sensation de léger bien-être jusqu'au prochain accès.

L'intervalle entre les accès correspond à la durée du cycle érythrocytaire (qui se termine par l'éclatement des hématies et la libération des mérozoïtes) de l'espèce plasmodiale impliquée :

- Toutes les 24 heures (fièvre quotidienne) pour *P. knowlesi*
- Toutes les 72 heures (fièvre tierce) pour *P. falciparum*, *P. vivax* et *P. ovale*
- Toutes les 96 heures (fièvre quarte) pour *P. malariae*.

Des rechutes sont possibles. En effet, après l'invasion du foie, certains sporozoïtes n'évoluent pas immédiatement et restent en phase de dormance dans le foie, sous forme d'« hypnozoïtes » (voir Les hypnozoïtes). Au bout de quelques mois à plusieurs années, ces hypnozoïtes entrent en division et redémarrent de nouveaux cycles érythrocytaires qui se traduisent au plan clinique par des rechutes. Les rechutes présentent le même tableau clinique que l'accès palustre simple mais les symptômes sont généralement moins sévères.

Des rechutes sont possibles avec *P. vivax* et *P. ovale* souvent jusqu'à deux à cinq ans après l'infestation.

P. falciparum entraîne peu de rechute (reviviscence souvent limitée à 6 mois après l'infestation).

P. malariae se distingue par ses rechutes possibles à long terme (plus de 5 ans). Cependant, ces rechutes sont dues à des réactivations de formes érythrocytaires en latence et il ne s'agit pas ici d'hypnozoïtes. *P. malariae* est aussi responsable d'une complication rénale sévère mais rare que l'on rencontre parfois chez l'enfant, la « néphrite quartane ».

L'accès simple dû à *P. falciparum* peut évoluer vers la guérison ou vers l'accès pernicieux s'il y a absence ou mauvaise observance du traitement.

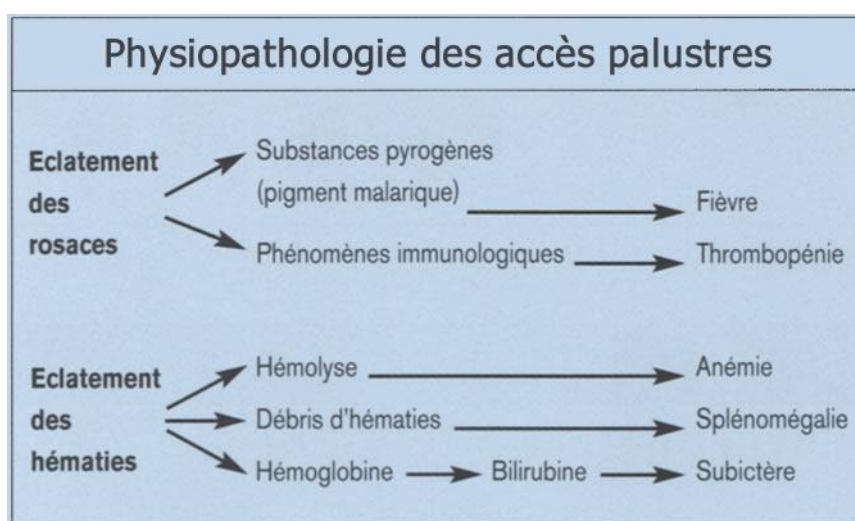


Figure 11 : Physiopathologie des accès palustres simples [5]

La multiplication asexuée des schizontes (ou rosaces) entraîne, après l'arrivée à maturité de ces derniers, la lyse mécanique des hématies qui s'accompagne de la libération d'hémozoïne ou pigment malarique. Celui-ci perturbe le fonctionnement de l'hypothalamus (production de cytokines comme le TNF α) et cause de très fortes fièvres qui peuvent aller jusqu'à l'hyperpyrexie.

L'augmentation du nombre de *Plasmodium* spp. dans l'organisme engendre donc une hémolyse accrue, d'où un accroissement du taux d'hémozoïne libérée dans le sang ce qui aggrave les fièvres.

Sans traitement, l'accès simple à *P. falciparum* peut évoluer vers un accès pernicieux ou neuro-paludisme qui peut être mortel.

2. Accès pernicieux ou neuro-paludisme

L'accès pernicieux ou neuro-paludisme ou encore paludisme cérébral est dû quasi exclusivement à *P. falciparum*. Lors d'un paludisme cérébral, la mort fait suite à différents phénomènes parmi lesquels on a :

- L'obstruction des vaisseaux sanguins du cerveau à cause des adhérences des hématies (éclatées ou non éclatées) entre elles mais aussi avec les plaquettes et/ou l'endothélium vasculaire. Ces phénomènes d'obstruction se déroulent dans les vaisseaux au niveau de différents organes, en particulier le cerveau.
- Des multiples défaillances viscérales pouvant entraîner un œdème pulmonaire, une anémie, un ictère ou un collapsus cardiovasculaire. L'œdème pulmonaire a souvent un pronostic très défavorable (80% de mortalité).

Le neuro-paludisme touche essentiellement les enfants africains très jeunes et les femmes enceintes qui représentent les populations les plus sensibles à *P. falciparum*. Cette sensibilité des jeunes enfants s'explique par un système immunitaire insuffisamment développé surtout entre 6 mois et 5 ans, des symptômes souvent plus sévères et plus fréquents que chez l'adulte (coma, convulsions et troubles du comportement, hypoglycémie, difficultés respiratoires, anémie, ...). Chez la femme enceinte, les prédispositions aux hypoglycémies et aux acidoses métaboliques seront exacerbées par le neuro-paludisme.

Les voyageurs et touristes peuvent également être touchés. Les risques, certes évitables, sont généralement liés à une absence ou une mauvaise observance de la prophylaxie ou encore des résistances. En effet, dans la majorité, ils n'ont pas d'immunité naturelle permettant de ralentir la progression de la maladie. En France par exemple, le nombre de cas de paludisme d'importation a été estimé à 3560 cas en 2011 (dont 135 formes graves), en baisse de 25% par rapport à 2010 [33]. Cette baisse peut s'expliquer par une meilleure information aujourd'hui des voyageurs sur les risques.

Quelques cas bien documentés de paludisme grave à *P. vivax*, non différenciables cliniquement d'accès graves à *P. falciparum*, ont été décrits ces dernières années, essentiellement en Indonésie [34].

L'accès pernicieux grave à *P. falciparum* est une urgence médicale, pour laquelle le diagnostic et la mise en route du traitement doivent être les plus rapides possibles. Il débute brutalement ou progressivement après un accès simple.

Les signes cliniques et biologiques évocateurs d'une manière générale sont :

- Des troubles neurologiques et des troubles de la conscience allant de la confusion au coma (un des principaux facteurs de décès)
- Une adynamie (le patient ne bouge plus) ou une prostration avec une hypotonie musculaire
- Une anémie sévère
- Une acidose (taux plasmatique de bicarbonates inférieur à 15mmol/L) accompagnée ou non d'une acidémie (pH capillaire ou artériel inférieur à 7,25). Elle est liée à une hyperlactacidémie.
- Une hyperthermie (40-41°C) et des sueurs froides
- Une tachycardie et une asthénie marquée
- Un ictère dû à l'adhérence des hématies parasitées et l'accumulation d'hémoglobine et de débris d'hématies dans les tubules rénaux
- Des troubles digestifs (nausées, vomissements, diarrhées) à l'origine d'une déshydratation entraînant souvent une oligurie voire une anurie
- Une hypoglycémie (due à l'augmentation de la consommation de glucose par le parasite et par l'hôte) ainsi qu'une cyanose (coloration des tissus, de la peau en bleu-violet traduisant la diminution de l'arrivée de l'oxygène) apparaissent également.
- Un œdème pulmonaire apparaît assez fréquemment

L'OMS définit le paludisme grave (définition de 1990 revue et corrigée en 2000) par « la présence d'une parasitémie positive (formes asexuées : trophozoïtes) à *P. falciparum* et par au moins un des critères cliniques ou biologiques définis » dans les deux tableaux ci-dessous (Tableau 6 et Tableau 7) chez l'adulte et chez l'enfant.

Ces critères, identiques chez l'enfant et l'adulte, permettent de définir la gravité de la maladie suivant leurs fréquences, leurs évaluations et leurs significations pronostics.

Paludisme grave de l'adulte : définition 2000 de l'Organisation mondiale de la santé.

Pronostic ^a	Critères de gravité	Fréquence ^b
	Manifestations cliniques	
(?)	Prostration : en règle, extrême faiblesse	+++
+	Troubles de la conscience : score de Glasgow modifié ^c < 10	++
+++	Détresse respiratoire : définition clinique seulement chez l'enfant	+
++	Convulsions répétées : au moins deux par 24 heures	+
+++	État de choc : pression artérielle systolique < 80 mmHg en présence de signes périphériques d'insuffisance circulatoire	+
+++	Cedème pulmonaire (radiologique) : anomalies précisées chez l'enfant	+
++	Saignement anormal : définition purement clinique	+
+	Ictère : clinique ou bilirubine totale supérieure à 50 µmol l ⁻¹	+++
+	Hémoglobinurie macroscopique	+
	Données biologiques	
+	Anémie profonde : hémoglobine < 5 g dl ⁻¹	+
+++	Hypoglycémie : glycémie < 2,2 mmol l ⁻¹	++
+++	Acidose : pH < 7,35 ou bicarbonates < 15 mmol l ⁻¹	++
+++	Hyperlactatémie : lactates plasmatiques > 5 mmol l ⁻¹	++
++	Hyperparasitémie : notamment parasitémie ≥ 4% chez le non immun	+
++	Insuffisance rénale : créatininémie > 265 µmol l ⁻¹	+++

^a +++ Indique un mauvais pronostic.

^b +++ Indique une fréquence élevée.

^c Le score de Glasgow modifié d'un sujet normal est de 14 car l'item « réponse motrice non orientée à la douleur » est supprimé.

Tableau 6 : Critères de gravité du paludisme chez l'adulte (OMS 2000) [35]

Paludisme grave de l'enfant : définition 2000 de l'Organisation mondiale de la santé.

Pronostic ^a	Critères de gravité	Fréquence ^b
	Manifestations cliniques	
+	Prostration : en règle extrême faiblesse	+++
+++	Troubles de la conscience : score de Blantyre ^c ≤ 2	+++
+++	Détresse respiratoire (dyspnée d'acidose) : battement continu des ailes du nez, dépression inspiratoire franche de la base du thorax, dyspnée de Kussmaul	+++
+	Convulsions répétées : au moins deux par 24 heures	+++
+++	État de choc : pression artérielle systolique < 80 mmHg en présence de signes périphériques d'insuffisance circulatoire	+
+++	Cedème pulmonaire (radiologique) : majoration des structures interstitielles, syndrome interstitiel périphilaire, images alvéolaires avec bronchogramme aérien, images en aile de papillon, lignes de Kerley B avec ou sans effusion pleurale	+/- ^b
+++	Saignement anormal : définition clinique	+/-
++	Ictère : clinique ou bilirubine totale > 50 µmol l ⁻¹	+
+	Hémoglobinurie macroscopique	+/-
	Données biologiques	
+	Anémie profonde : hémoglobine < 5 g dl ⁻¹	+++
+++	Hypoglycémie : glycémie < 2,2 mmol l ⁻¹	+++
+++	Acidose : pH < 7,35 ou bicarbonates < 15 mmol l ⁻¹	+++
+++	Hyperlactatémie : lactates plasmatiques > 5 mmol l ⁻¹	+++
+/-	Hyperparasitémie : notamment ≥ 4 % chez le sujet non immun	++
++	Insuffisance rénale : créatininémie > 265 µmol l ⁻¹	+

^a +++ Indique un mauvais pronostic.

^b Sur une échelle de + à +++, +/- signifie peu fréquent et +++ indique une fréquence élevée.

^c Le score de Blantyre est un score neurologique adapté aux enfants dérivé du score de Glasgow.

Tableau 7 : Critères de gravité du paludisme chez l'enfant (OMS 2000) [35]

Certaines critiques ont été apportées à cette définition de 2000. En effet, cette dernière est basée sur l'extrapolation d'études de cas en Afrique subsaharienne et en Asie. Son application à des cas d'importation peut apparaître lacunaire voir inexacte. En 2007, une révision de la conférence de consensus française de 1999 sur le paludisme d'importation à *P. falciparum* a permis d'établir des critères de gravité pour un paludisme grave d'importation pour les adultes, plus adaptée à la prise en charge de patients dans un contexte de soin européen (Tableau 8).

Pronostic ^a	Critères de gravité	Fréquence ^b
	Manifestations cliniques	
+++	Toute défaillance neurologique incluant : - obnubilation, confusion, somnolence, prostration	+++
+++	Toute défaillance respiratoire incluant : - si VM ou VNI : PaO ₂ /FiO ₂ < 300 mmHg - si non ventilé PaO ₂ < 60 mmHg et/ou SpO ₂ < 90 % en air ambiant et/ou FR > 32 cycles min ⁻¹ - signes radiologiques : images interstitielles et/ou alvéolaires	+
+++	Toute défaillance cardiocirculatoire incluant : - pression artérielle systolique < 80 mmHg en présence de signes périphériques d'insuffisance circulatoire - patient recevant des drogues vasoactives quel que soit le chiffre de pression artérielle - signes périphériques d'insuffisance circulatoire sans hypotension	++
++	Convulsions répétées : au moins deux par 24 heures	+
++	Hémorragie : définition purement clinique	+
+	Ictère : clinique ou bilirubine totale > 50 µmol l ⁻¹	+++
+	Hémoglobinurie macroscopique	+
	Données biologiques	
+	Anémie profonde : hémoglobine < 7 g dl ⁻¹ , hématocrite < 20 %	+
+	Hypoglycémie : glycémie < 2,2 mmol l ⁻¹	+
+++	Acidose : - bicarbonates plasmatiques < 15 mmol l ⁻¹ - ou acidémie avec pH < 7,35 (surveillance rapprochée dès que bicarbonates < 18 mmol l ⁻¹)	++
+++	Toute hyperlactatémie : - dès que la limite supérieure de la normale est dépassée - a fortiori si le lactate plasmatique > 5 mmol l ⁻¹	++
+	Hyperparasitémie : dès que parasitémie > 4%, notamment chez le non immun (selon les contextes, les seuils de gravité varient de 4 % à 20 %)	+++
++	Insuffisance rénale : - créatininémie > 265 µmol l ⁻¹ ou urée sanguine > 17 mmol l ⁻¹ - et diurèse < 400 ml/24 heures malgré réhydratation	+++

VM : ventilation mécanique ; VNI : ventilation non invasive ; FR : fréquence respiratoire ; PaO₂ : pression partielle en oxygène ; SpO₂ : saturation en oxygène ; FiO₂ : concentration de l'oxygène dans l'air inspiré.

^a +++ indique un mauvais pronostic.

^b +++ indique une fréquence élevée.

Tableau 8 : Critères de gravité du paludisme grave d'importation de l'adulte [35]

Les principales différences entre ces définitions (paludisme grave et paludisme grave d'importation) sont visibles surtout au niveau neurologique, cardio-circulatoire ainsi qu'au niveau biologique par l'hyperparasitémie. En effet, dans la définition du paludisme grave, les défaillances neurologiques (coma, confusion, prostration, ...) ont un pronostic plus défavorable et une fréquence plus élevée que dans celle de l'OMS.

Quant à l'hyperparasitémie, facteur de mauvais pronostic dans la définition de l'OMS, elle entraîne un pronostic moins défavorable dans le cadre du paludisme grave d'importation mais présente une fréquence plus élevée.

Les critères de gravité du paludisme d'importation chez les enfants restent identiques à ceux de l'OMS (Tableau 7).

Chez l'adulte et l'enfant, certains signes peuvent être plus ou moins marqués orientant ainsi le suivi, l'évolution de la pathologie et la valeur pronostique. (Voir la figure ci-après)

A - Différences entre formes graves de l'enfant et de l'adulte				
		Enfants	Adultes	
Toux		Symptôme de début fréquent	Symptôme de début peu fréquent	
Convulsions		Témoin d'une atteinte cérébrale, d'une hypoglycémie ou bien conséquence non spécifique de la fièvre	Témoin d'une atteinte cérébrale ou hypoglycémie	
Durée des symptômes avant l'apparition des signes de gravité		Habituellement 1-2 jours	Habituellement plusieurs jours	
Ictère		Rare	Fréquent	
Durée du coma à partir du début du traitement		Habituellement 1-2 jours	Habituellement 2-4 jours	
Hypoglycémie		Fréquente, précédant habituellement le traitement, insuliniémie abaissée	Assez rare, habituellement induite par la quinine (particulièrement pendant la grossesse) avec hyperinsulinisme, parfois avant tout traitement avec insuliniémie basse	
Œdème pulmonaire		Rare	Fréquent	
Susceptibilité à la toxicité des antipaludéens		Collapsus plus fréquent après administration parentérale de chloroquine	Voir ci-dessus les hypoglycémies induites par la quinine	
Insuffisance rénale		Rare	Fréquente	
Séquelles neurologiques du neuroludisme		Environ 10 % des cas	Rare	

B - Fréquence et valeur pronostique des manifestations sévères du paludisme à P. falciparum chez l'adulte et l'enfant				
Valeur pronostique		Manifestations cliniques ou biologiques	Fréquence	
Enfants	Adultes		Enfants	Adultes
+	?	Prostration	+++	+++
+++	++	Troubles de conscience	+++	++
+++	+++	Détresse respiratoire (et dyspnée de Kussmaul)	+++	+
+	++	Convulsions multiples	+++	+
+++	+++	Collapsus circulatoire	+	+
+++	+++	(Œdème pulmonaire (radiologique))	+/-	+
+++	++	Hémorragie anormale	+/-	+
++	+	Ictère	+	+++
+	+	Hémoglobinurie	+/-	+
+	+	Anémie grave	+++	+

Figure 12 : Comparaison entre adulte et enfant (formes graves, fréquence et pronostic vital) [36]

La détresse respiratoire ainsi que les convulsions sont plus marquées chez l'enfant que chez l'adulte de même que la sévérité de l'anémie (figure ci-dessus). Les troubles de consciences, la détresse respiratoire, l'œdème pulmonaire et les hémorragies sont des signes de gravité qui entraînent dans certains cas un engagement du pronostic vital.

Sans un traitement convenablement conduit (quinine par voie intraveineuse), la mort peut survenir en 2 à 3 jours (taux de mortalité de 20%). Les troubles neurologiques régressent rapidement sous traitement chez l'adulte (séquelles rares) mais avec un risque de séquelles neurologiques définitives de l'ordre de 5% à 10% chez l'enfant.

D. Formes particulières

1. Femme enceinte

Le paludisme et la grossesse sont deux situations qui vont s'aggraver mutuellement, avec des retentissements plus ou moins importants sur la mère et le fœtus. Un diagnostic rapide et une bonne prise en charge, ainsi que des traitements adéquats, sont indispensables. En effet, l'absence de prémunition chez la femme enceinte aura comme conséquence entre autre d'entraîner un paludisme plus grave et plus fréquent en réactivant par exemple une forme "latente" ou en contribuant à l'évolution vers un accès pernicieux (paludisme grave). Cela entraîne une morbidité importante ainsi que des risques de mortalité maternelle, fœtale ou périnatale.

Les conséquences sont également différentes qu'il s'agisse d'une femme immunisée (femme vivant en zone d'endémie) ou non (femme enceinte en voyage en zone endémique). Le risque de paludisme congénital est ainsi plus fréquent parmi les touristes (10% des naissances d'enfants de femmes atteintes de paludisme) que chez la femme autochtone (0,5 %) [37].

a. Femme enceinte non immunisée

La femme enceinte non immunisée (touriste ou revenant dans son pays d'origine en zone endémique) peut développer toutes les formes du paludisme, de l'accès simple à l'accès pernicieux, avec des conséquences allant de l'avortement à un accouchement prématuré avec hypotrophie du nouveau-né. Le risque pour le nouveau-né de contracter un paludisme congénital est plus grand lorsque la mère contracte la maladie en fin de grossesse (10% des naissances d'enfants de femmes non immunisées atteintes de paludisme) [37].

Les voyages en zone endémique sont déconseillés pour les femmes enceintes. En cas de voyage incontournable, il est primordial de bien respecter la chimioprophylaxie (Savarine[®], Malarone[®] ou Lariam[®] en fonction des zones, des sensibilités, des effets secondaires et des allergies) (voir chapitre sur la Chimioprophylaxie).

Des mesures de prévention anti-moustiques sont recommandées pour limiter les piqûres de moustiques et donc le risque de transmission des parasites. On y trouve par exemple l'utilisation d'essence de citronnelle (en absence d'allergie) ou d'insecticides type IR 35/35 à la concentration de 20% à 30% ainsi que d'autres mesures sur lesquelles nous reviendrons plus en détails dans le chapitre sur la prévention (Tableau 14 et Tableau 15).

b. Paludisme et grossesse

Le risque de développer un paludisme est plus important chez les femmes primipares avec des risques sérieux pour la mère (anémie sévère voire décès) et pour l'enfant (mort fœtale *in utero*, prématurité, retard de croissance intra-utérin) que chez les femmes ayant déjà eu des enfants.

Parité	Risque
1 ^{ère} grossesse	x9
2 ^{ème} grossesse	x7
3 ^{ème} grossesse	x6
4 ^{ème} grossesse	x4
5 ^{ème} grossesse	x3
6 ^{ème} grossesse	x2

Tableau 9 : Risque de développer un paludisme chez la femme enceinte selon le nombre de grossesse [5]

En effet, lors de la première grossesse, l'infection produit une stimulation antigénique suffisante pour induire une protection significative par une réponse immunitaire locale contre le paludisme, entraînant une diminution de la parasitémie lors des

grossesses suivantes. Cette immunité protectrice est liée à la production d'immunoglobulines G (IgG) spécifiques d'antigènes parasitaires qui sont les antigènes variant de surface (AVS) exprimés à la surface des hématies parasitées et qui jouent un rôle dans l'adhésion.

Des études ont montré que l'utérus et le placenta constituent des localisations privilégiées du parasite pendant la grossesse, alors même que certains prélèvements sanguins sur les mêmes patientes s'avéraient être négatifs [38], [39], [40]. En effet, les hématies parasitées adhèrent classiquement à différents récepteurs, notamment CD36 et ICAM-1 (*Inter-cellular cell adhesion molecule-1*) de l'endothélium vasculaire. Les ligands parasitaires de ces récepteurs sont exprimés par la famille des gènes var, qui code pour l'antigène PfEMP-1 (*P. falciparum Erythrocyte Membrane Protein-1*) exprimé à la surface de l'érythrocyte infecté. Or, chez la femme enceinte, ces hématies infectées ont une capacité particulière de cyto-adhérence à la couche de syncytio-trophoblastes du placenta (couche de tissu fœtal en contact avec la circulation maternelle) par le récepteur chondroïtine sulfate A ou CSA (et non aux récepteurs CD36 et ICAM-1), ce qui provoque une séquestration importante des parasites dans le placenta.

Une femme primipare qui n'est pas immunisée contre ces nouveaux variants parasitaires sera très sensible au développement d'un paludisme délétère pour la grossesse et le développement du fœtus. Par contre, les anticorps anti-chondroïtine sulfate produits lors de cette première grossesse constitueront une protection relative contre le paludisme qui se renforcera avec les grossesses ultérieures. Ainsi, les femmes multipares sont plus résistantes au paludisme grave associé à la grossesse que des femmes primipares.

En zone endémique, les conséquences du paludisme chez la femme enceinte varient ensuite selon le taux d'endémicité. Dans les régions hyper-endémiques (IP>50% chez les 2-9ans), les piqûres plus fréquentes renforcent l'immunité qui est souvent qualifiée de « solide ». Les manifestations cliniques et pathologiques sont rares dans la plupart de ces cas. A l'opposé, dans les zones hypo-endémiques (IP<10%) où l'immunité est faible due à des stimulations antigéniques moins fréquentes, le risque de développer un paludisme est relativement plus élevé (moins de piqûres mais risque plus élevé).

Quel que soit le stade de la grossesse, l'évolution vers un accès pernicieux (paludisme grave) est possible. Les accès répétés du paludisme peuvent perturber le fonctionnement hypophysaire et entraîner une stérilité chez la mère. Les risques d'avortement, d'accouchement prématuré mais également d'hypotrophie fœtale, de mort *in utero* et de paludisme congénital sont bien réels.

Le paludisme est de plus l'une des causes majeures de l'anémie chez la femme enceinte en zone endémique. Il est responsable de plus de 25% des anémies sévères chez la femme enceinte [41], [42]. Cette anémie est plus fréquente chez la femme primigeste selon l'OMS [43]. A cela s'ajoutent d'autres causes d'anémie fréquentes aussi en zone endémique tels que les déficits en fer et en acide folique

(malnutrition), d'autres parasitoses telles que les ankylostomoses par exemple, les hémoglobinopathies et le VIH, augmentant ainsi les risques pour la mère et le fœtus.

Des études conduites sur la coinfection VIH/Paludisme ont permis d'établir qu'il y a une augmentation de la parasitémie de *P. falciparum* chez la femme déjà infectée par le VIH (exemple du Malawi ci-dessous). Il n'y a cependant pas d'aggravation de l'infection par le VIH en cas de coinfection avec le paludisme [39].

	HIV+*	HIV-
Parasitémie		
Primipares	56,3%	36,5 %
Multipares	23,8 %	11 %
Compliance de la chimiothérapie	13,2 %	7,8 %
*HIV(+) : 20,8 % chez les primipares ; 27,5 % chez les multipares.		

Tableau 10 : Parasitémie lors d'un épisode paludique chez des patients VIH positifs et VIH négatifs au Malawi [37]

Il faut savoir distinguer chez la femme enceinte le paludisme de l'éclampsie qui peuvent cependant tous les deux coexister. L'éclampsie est également une complication sérieuse de la grossesse. Elle se caractérise par des convulsions pouvant mener au coma et intervient dans un contexte d'hypertension gravidique. Le tableau ci-dessous présente les éléments de diagnostic différentiel entre les deux pathologies.

	Eclampsie	Accès pernicieux palustre
Contexte	Hypertension artérielle	Paludisme
Symptômes	Prise de poids Œdème des membres inférieurs Hyperréflexivité, coma Crises convulsives itératives	Fièvre à 39°C-40°C Hépto-splénomégalie Prostration ou coma aréactif Crises convulsives rares
Biologie	Protéinurie > 3,5 g/24 h Créatininémie > 100 µmol/L	Anémie hémolytique Frottis sanguin : <i>Plasmodium</i>

Figure 13 : Différences entre l'éclampsie et l'accès pernicieux chez la femme enceinte [37]

Dans 3 à 8% des cas, on peut également assister à un paludisme congénital chez le nouveau-né. D'évolution mortelle, ce dernier cause chez le nouveau-né une fébrilité avec une hépto-splénomégalie, une pâleur et un ictère ainsi que d'autres symptômes que nous explorerons plus en détails dans la rubrique du paludisme de l'enfant.

2. Le paludisme de l'enfant

Les nouveau-nés, nourrissons et enfants font partie des populations les plus sensibles au paludisme. Ils représentent plus de la moitié des décès dus au paludisme avec des conséquences énormes au plan éducatif et social. Différents facteurs conditionnent l'apparition et le degré de gravité de la maladie : l'âge, l'immunité et certains facteurs environnementaux et génétiques. Tout comme chez la femme enceinte (ainsi que pour toute personne atteinte de paludisme), la prise en charge doit être rapide, complète et efficace chez les enfants.

La diminution, voire la disparition, de la protection antipaludique débute chez le nouveau-né vers l'âge de 6 mois. La perte des anticorps maternels et le remplacement progressif de l'hémoglobine fœtale F (HbF défavorable à la croissance de *P. falciparum* dans les hématies) par l'hémoglobine A en sont les causes. En zone endémique, ce sont donc les piqûres répétées et les rencontres fréquentes parasite<->hôte humain qui rétabliront cette « immunité » au bout de 6 à 10 ans. Le mécanisme immunitaire antipaludique, assez mal connu, serait basé sur les lymphocytes T (médiation cellulaire) et les IgG1 et IgG3 (médiation humorale).

Le paludisme simple chez l'enfant correspond à la forme commune du paludisme ou accès palustre simple décrit au début de ce chapitre dans la rubrique sur la clinique du paludisme. Chez les nourrissons et les enfants, certains symptômes sont cependant plus marqués : les diarrhées liquidiennes, l'inappétence, les nausées et les fièvres.

Le paludisme congénital est dû à des hématies parasitées ou des *Plasmodium spp.* ayant réussi à traverser la barrière placentaire durant la vie utérine. Sa prévalence faible (0,5% chez la femme en zone endémique) s'explique par une protection par les anticorps maternels (transmission placentaire) mais aussi par la présence de l'HbF, défavorable à la croissance de *P. falciparum* dans les hématies.

La présence de parasites chez le nouveau-né peut être soit asymptomatique soit associée à des signes d'infection. Dans le premier cas, on parlera de paludisme « congénital-infestation », transitoire et asymptomatique. Dans le deuxième cas, les signes apparaissent au bout de 5 à 60 jours après la naissance (temps d'incubation) et on retrouve des signes non spécifiques faisant penser à des infections materno-fœtales : fièvre constante, irritabilité, ictère, hépatosplénomégalie.

Diverses autres formes de paludisme sont retrouvées aussi bien chez l'enfant que chez l'adulte.

3. Paludisme viscéral évolutif

Dû à *P. falciparum* ou plus rarement à *P. vivax*, il est souvent considéré comme la forme chronique du paludisme. Il est défini par l'association d'une altération de l'état général avec une cassure de la courbe de croissance. En effet, les principaux symptômes sont : fièvre intermittente modérée, une anémie et une cytopénie, une splénomégalie modérée et un retard de croissance chez les enfants. L'organisme

apparaît débordé et n'arrive plus à faire réellement face à l'infection, un traitement antipaludéen (Chloroquine + Primaquine) doit être mis en place pour la guérison, afin de neutraliser les différentes formes du parasite.

Il s'observe la plupart du temps en zone endémique et les enfants de 2 à 5 ans sont les plus atteints à cause de l'absence d'immunité protectrice. Il peut toucher également les sujets mal prémunis exposés aux réinfections tels que des adultes et des enfants voyageurs en absence ou en cas de résistance à la chimioprophylaxie.

4. Paludisme post-transfusionnel

La transfusion sanguine est une voie potentielle de transmission du paludisme (paludisme post-transfusionnel ou PPT) qui a été longtemps sous-estimée. Elle peut entraîner pourtant une infection sévère voire fatale en cas de paludisme grave (accès pernicieux à *P. falciparum*). Les phénomènes de migrations et les déplacements internationaux de plus en plus importants de nos jours croisés à l'augmentation des donneurs de sang (besoins en sang toujours croissant) font craindre une augmentation du risque de PPT.

Le PPT peut toucher non seulement des patients à partir de transfusions de culots globulaires, mais serait également possible à partir des autres produits sanguins labiles (plaquettes, plasma frais, concentrés leucocytaires...). Les *Plasmodium spp.* peuvent en effet résister à des températures allant jusqu'à 4°C pendant plusieurs semaines [44]. De plus, suivant l'espèce, les formes latentes rendent l'infection possible (reviviscence) jusqu'à 5 ans. En revanche, le risque est quasi inexistant pour les produits dérivés du plasma (albumine, immunoglobulines thérapeutiques, concentrés de facteurs de la coagulation, anti-protéases, colles biologiques...) qui subissent des transformations de mise au point très complexes d'élimination et d'inactivation de pathogènes, limitant ainsi la survie d'éléments parasitaires.

Face à ce problème, diverses mesures préventives sont proposées avec des enjeux et objectifs différents pour les centres de transfusion en zone endémique et non endémique. Ces mesures sont à adapter en fonction du degré de risque transfusionnel basé sur les particularités et informations sur le donneur et le receveur.

a. En zone non endémique

En zone non endémique, l'absence de prémunition de la population face au paludisme conduit à prendre des mesures particulières en termes de transfusion sanguine. Le but est de limiter au maximum ce risque transfusionnel car le risque zéro dans notre cas est quasi impossible à affirmer. En effet, il suffirait en théorie d'une seule hématie infectée dans une poche de transfusion (500ml), soit une hématie sur $2,5 \times 10^{12}$ hématies, pour aboutir à une infection.

Chaque année en France, plus d'un million de malades sont soignés par transfusions sanguines et par des produits dérivés du sang [45]. Le risque de PPT était estimé entre 0,2-0,5 cas pour 1 million de poches transfusées en 2004 alors qu'il était de 1 cas sur un million, 20 ans auparavant [46]. Ces résultats sont le fruit d'un processus

de sélection strict, qui varie certes selon les pays, mais qui reste baser sur l'interrogatoire et la sélection clinique du donneur ainsi que l'analyse biologique du sang.

La sélection clinique du donneur, sur la base du questionnaire, permet d'établir une première classification en 2 groupes (on ne parlera que du paludisme pour notre étude) : les natifs de zone endémique qui y ont vécu pendant quelques années et les voyageurs (natif de zone non endémique mais ayant effectué un séjour récemment en zone endémique).

Pour le premier groupe, une exclusion du don de sang est prononcée et s'étend de 4 mois jusqu'à trois ans voire même définitivement selon les pays. Aux Etats-Unis d'Amérique (USA) par exemple, l'exclusion est de 3 ans [47], [48]. En France, le don de sang pour les natifs de zone endémique s'il n'est pas utilisé pour la transfusion peu quelques fois servir à des fins de recherche.

Le deuxième groupe subit également des exclusions de durée variable 3 mois à 3 ans (parfois définitivement), sous réserve que les tests sérologiques soit négatifs après ces délais. Aux USA, l'exclusion est d'une année pour les voyageurs. En France, selon la législation, l'exclusion est d'abord de 4 mois après le retour de zone endémique. Puis, l'analyse systématique du sang (recherche d'antigène par immunofluorescence indirecte) dans les 4 mois à 3 ans après le retour déterminera si le sang est accepté (sérologie négative) ou si l'exclusion définitive du donneur est prononcée (sérologie positive).

L'analyse biologique du sang est bien évidemment systématique en zone non endémique, ce qui a permis de réduire considérablement le risque de déclencher un paludisme post-transfusionnel. Cette analyse utilise les outils de diagnostic direct ou indirect de la pathologie, que nous aborderons dans le prochain chapitre.

Les méthodes directes consistent en la mise en évidence directe du parasite par microscopie sur une goutte épaisse, sur un frottis sanguin mince ou en amplifiant la séquence d'ADN d'un gène cible appartenant au parasite par la *Polymerase Chain Reaction* (PCR) ou en détectant les antigènes parasitaires par des techniques immunologiques.

Quant aux méthodes indirectes, elles sont basées sur la recherche et la quantification des anticorps anti-*Plasmodium sp.* par des réactions de type *Enzyme-Liked ImmunoSorbent Antibody* (ELISA), hémagglutination indirecte, agglutination ou immunofluorescence indirecte.

c. En zone endémique

Les règles sont beaucoup moins strictes voire quasi inexistantes dans certaines zones endémiques par manque de consensus et/ou de moyens. Dans la plupart des cas, il s'agit simplement d'un interrogatoire visant à « recalculer » un donneur qui présenterait un syndrome infectieux récent ou à la mise en place d'un traitement prophylactique pour les donneurs (sulfadoxine+pyriméthamine, quinine ou encore

amodiaquine) et/ou curatif pour le patient transfusé en cas d'apparition de symptômes palustres plus tard.

Le coût (en terme économique et en gain de temps) de ce type de prévention (prophylaxie du donneur et traitement du receveur) reste dans certains cas plus élevé qu'une recherche des parasites en pré-transfusion utilisant des méthodes automatiques. De plus, ces mesures restent inefficaces, les donneurs asymptomatiques n'étant pas éliminés.

Plusieurs auteurs proposent pourtant des méthodes ou un dépistage ciblé lorsque le sang est destiné à certains receveurs beaucoup plus sensibles à la maladie tels que les femmes enceintes et les enfants. Certains ont ainsi évalué l'intérêt de l'introduction de sulfadoxine+pyriméthamine ou de quinine dans les poches de sang dans le but de détruire les parasites. C'est le cas de Mohamed S. M. Ali du département d'hématologie de la *Faculty of Medical Laboratory Sciences* (Université Al Neelain de science et de technologie de Khartoum au Soudan), qui avec son équipe, a mené une étude entre 2002 et 2004. Celle-ci a montré qu'une dose de 179,65µg/L de l'association sulfadoxine + pyriméthamine, introduite directement dans une poche de sang, est létale pour plus de 99% des parasites [49]. De plus, cette dose n'entraîne aucune dégradation ou effet néfaste au niveau des constituants du sang et est bien supportée par l'homme.

Une seconde étude de la même équipe a conduit à confirmer des résultats semblables en utilisant la quinine [50].

Des règles bien précises devraient donc être établies, ainsi que des méthodes efficaces afin de limiter l'impact du PPT surtout auprès des populations à risque que sont les enfants et les femmes enceintes.

E. Complications

1. Anémie grave

L'anémie grave est définie pour un taux d'hémoglobine (Hb) inférieur à 5g/dl ou d'hématocrite (Ht) inférieur à 15%. Les valeurs normales de l'hémoglobine sont de 13-17g/dL chez l'homme et de 12-16g/dL chez la femme. Le taux d'hématocrite normal correspond à 42-54% chez l'homme et 37-47% chez la femme [51].

Les *Plasmodium spp.* entraînent une lyse des globules rouges (par la multiplication et la libération des mérozoïtes) conduisant à une anémie de gravité variable (Figure 11). Certaines pathologies, en coinfection du paludisme, entraînent une aggravation de cette anémie et un risque vital pour le patient. On a notamment d'autres infections parasitaires comme les ankylostomes, des carences alimentaires d'apport en fer et en acide folique, le VIH ainsi que les hémoglobinopathies parmi lesquelles la drépanocytose.

2. Acidose métabolique

Définie pour un taux de bicarbonates plasmatiques inférieur à 15 mmol/L (valeur normale chez l'adulte de 23-27 mmol/L), elle est également liée à une hyperlactacidémie (taux d'acide lactique supérieur à 5mmol/l). Elle peut être associée à une acidémie pH<7,25 (valeur normale pH 7,35 à 7,45 [51]). L'acidose métabolique fait partie des critères de définition d'un paludisme grave selon l'OMS dans sa définition de 2000 (voir Tableau 6).

L'acidose lactique, expliquée souvent par des états de chocs, peut dans le cas du paludisme, être en plus associée à divers autres événements qui, mis côte à côte, aggravent cette acidose. On observe une glycolyse anaérobie, une diminution du transport en oxygène liée à l'anémie, une dysfonction mitochondriale, un choc septique d'origine parasitaire et/ou bactérien (co ou sur-infection), une dégradation des mécanismes d'oxydoréduction et une diminution de la clairance hépatique du lactate.

Le principal système tampon de l'organisme est le couple bicarbonate-acide bicarbonique, dépendant du pH selon l'équation de Henderson-Hasselbach :

$$\text{pH}=6.1 + \log\left(\frac{\text{HCO}_3^-}{\text{H}_2\text{CO}_3} \right)$$

L'acidose métabolique peut aussi être en partie liée à l'insuffisance rénale aiguë notamment en cas d'anurie. L'acidose métabolique et le taux du lactate semblent avoir une bonne valeur pronostique tant en zone d'endémie que lors du paludisme grave d'importation (Tableau 6, Tableau 7, Tableau 8).

3. Insuffisance rénale aiguë (IRA)

C'est une complication assez fréquente chez l'adulte, qui peut conduire à poser le diagnostic d'un paludisme grave selon l'OMS (Tableau 6 et Tableau 7). Elle est définie pour une créatininémie supérieure à 265µmol/L (valeurs normales de 60 à 115µmol/L chez l'homme et de 45 à 105 µmol/L chez la femme [51]). Dans de nombreux cas, c'est un facteur de mauvais pronostic vital. La prise en charge doit être précoce et comprend la mise en route du traitement antipaludique et un remplissage vasculaire adapté à l'état du patient.

Souvent associée à la présence d'un ictère et d'une thrombopénie, il s'agit dans la plupart des cas d'une insuffisance rénale aiguë consécutive à un rein qui est dans de mauvaises conditions de fonctionnement, ici une sous-perfusion rénale due à une déshydratation intense (fièvre + vomissement + diarrhée). Mais elle peut être également due à une hémolyse aiguë, responsable de l'anurie. Chez certains patients traités par la quinine, on retrouve des IRA consécutives à la fièvre bilieuse hémoglobinurique (FBH) ou d'un syndrome hémolytique urémique (SHU). La SHU a une cause médicamenteuse dans ce cas : la quinine.

4. Néphrite quartane

Complication rare mais sévère et rencontrée surtout chez l'enfant avec *P. malariae*, elle apparaît souvent après des infections chroniques par un syndrome néphrotique par la dissolution de complexes immunitaires (associations anticorps-antigène).

C'est une glomérulite membrano-proliférative qui peut évoluer en quelques années vers une insuffisance rénale fatale et qui justifie donc dans de nombreux cas le recours à une dialyse péritonéale. A l'examen histologique, la biopsie rénale présente des dépôts d'immunoglobulines sur les glomérules et de complexes immuns. Le traitement anti-malarique est sans effet et il n'y a pas de réponse thérapeutique avec les corticoïdes ou des cytotoxiques. L'insuffisance rénale chronique est ainsi souvent inéluctable.

5. Fièvre bilieuse hémoglobininurique

La fièvre bilieuse hémoglobininurique (FBH) ou « blackwater fever » n'est pas une complication directe du paludisme en tant que telle. Elle est l'expression d'une réaction immuno-allergique rare mais grave à la prise de quinine ou d'autres amino-alcools (halofantrine et méfloquine) dans le traitement du paludisme.

Les premiers cas furent découverts en Europe, lors de l'expansion de l'utilisation de la quinine. L'utilisation progressive de la chloroquine en remplacement, a entraîné une régression du nombre de cas. Cependant, avec l'installation progressive des phénomènes de chimiorésistance, l'utilisation croissante des nouveaux composés dérivés d'amino-alcools, une recrudescence des cas est à envisager et à craindre. En effet, la FBH est certes rare mais le pronostic vital est très souvent engagé (30% de décès) et cela malgré les avancées en termes de prise en charge.

Dans la plus part des cas, le parasite à l'origine de l'initiation du traitement est *P. falciparum*. Mais quelques rares cas à *P. vivax* ont été décrits dans la littérature [52].

La FBH survient chez un sujet ayant déjà fait des accès fébriles à *P. falciparum* traités par la quinine ou d'autres amino-alcools de synthèse. Le sujet étant devenu sensibilisé au médicament, la réintroduction de ce dernier lors d'un nouvel épisode fébrile peut entraîner une réaction anaphylactique. Une hémolyse intra-vasculaire, consécutive à la prise du médicament, va entraîner une anémie. Le patient ressent en plus de la fièvre (40-41°C), une asthénie et des lombalgies marquées. Il y a un risque de coma et d'insuffisance rénale aiguë, voire de décès du sujet, sans traitement approprié (traitement surtout symptomatique visant à corriger l'anémie et l'insuffisance rénale).

F. Complications : Cas particulier de *P. knowlesi*

P. knowlesi est la cinquième espèce infectante pour l'homme. Elle a une période d'incubation de 12 jours et un cycle qui dure 24 heures. Certains patients seront relativement asymptomatiques ou présenteront des frissons, des maux de tête mineurs et de la fièvre quotidienne, tandis que d'autres présenteront des fortes fièvres, de légers troubles abdominaux, une leucopénie et une thrombo-cytopénie.

Une autopsie a été pratiquée sur un homme à Bornéo (Asie du sud-est), décédé d'un paludisme à *P. knowlesi*. Les résultats de cette autopsie, présentés dans le *Malaria Journal*, sont retranscrits ci-après [53].

Cet homme de 40 ans présentait des maux de tête et de la fièvre après avoir passé 10 jours dans la jungle au nord de Bornéo. Quatre jours après son retour, se présentant à l'hôpital, il s'est effondré et est décédé 2 heures plus tard. Il avait une hyponatrémie, un taux élevé d'urée sanguine, de potassium, de lactate déshydrogénase et d'amino-transférase. Il présentait aussi une thrombo-cytopénie et une hyper-éosinophilie.

L'examen macroscopique du cerveau et du cœur a révélé des hémorragies pétéchiiales multiples (aspect de petites étoiles rouges) ainsi qu'un élargissement du foie, de la rate et des poumons avec des caractéristiques en accord avec un syndrome de détresse respiratoire aigu. Un choc hémorragique de dengue avait été soupçonné mais les examens pour le virus de la dengue se sont révélés négatifs. Les tests sanguins ont montré une forte parasitémie à *Plasmodium sp.*. L'infection par *P. knowlesi* a été confirmée plus tard en utilisant la *nested-PCR*.

En règle générale, les symptômes observés sont des maux de tête, de la fièvre, des frissons et des sueurs froides. De plus, la présence du parasite entraîne une thrombo-cytopénie et une augmentation de la CRP (*C-Reactive Protein*).

Les méthodes actuelles de détection et de diagnostic utilisent la PCR et la caractérisation moléculaire. Ces méthodes sont lourdes, coûteuses et requièrent des équipements spécifiques en comparaison des techniques classiques et nouvelles de détection (frottis sanguin mince, goutte épaisse, tests de détection rapides TDR...) ; elles ne sont donc pas forcément utilisables en identification de routine mais elles restent les seules permettant un diagnostic sûr et spécifique. En effet, les similitudes morphologiques (Tableau 2) entre *P. knowlesi* et *P. malariae* entraînent des confusions de reconnaissance lors de l'examen par frottis sanguin mince ou par goutte épaisse. De plus, les TDR ne présentent pas encore une spécificité suffisante qui permettrait de distinguer ces 2 espèces, même si de nouvelles données pourraient rendre cela bientôt possible (Voir le chapitre sur les méthodes de diagnostic et le cas particulier de *P. knowlesi*).

La prise en charge doit être rapide, car le cycle biologique court (24H) de cette espèce va entraîner une augmentation très rapide de la charge parasitaire. On

utilisera en traitement des antimalariques connus du type méfloquine ou chloroquine (efficace également pour traiter une infection à *P. malariae*).

G. Méthodes de diagnostic du paludisme

Le diagnostic d'une infection à *Plasmodium spp.* doit être effectué en urgence et les résultats doivent être rendus très rapidement (dans un maximum 2h selon la conférence de consensus sur le paludisme d'importation 2007) [54]. L'évolution de l'état du patient vers l'aggravation voir le décès étant imprévisible, les retards et les erreurs d'interprétation peuvent avoir des conséquences graves et doivent ainsi être évités. La prise en charge sera adaptée en fonction de l'espèce en cause ainsi que du pourcentage d'hématies infectées (parasitémie).

Les nouvelles techniques immuno-chromatographiques appelées « tests de diagnostic rapide » (TDR) ont permis d'améliorer les moyens de prise en charge du patient. Associant fiabilité, performance, simplicité et utilisées conjointement avec d'autres techniques de référence, elles facilitent le diagnostic dont elles accroissent la rapidité.

Quels sont ces outils de diagnostic et de suivi du paludisme, ainsi que leurs intérêts et leurs inconvénients ?

Les techniques de diagnostic seront classées en deux grands parties : (i) les tests microscopiques dits techniques conventionnelles classiques : frottis sanguin, goutte épaisse, QBC Malaria Test ; (ii) les nouvelles techniques (TDR et PCR).

1. Le prélèvement

La prise de sang doit être effectuée immédiatement ou dans les meilleurs délais. Les prélèvements se font par ponction veineuse sur tube EDTA (Ethylène Diamine-tétracétique, qui est un anticoagulant par capture des ions Ca^{2+} , facteur important de la coagulation).

2. Les tests microscopiques

a. Le frottis sanguin mince (FM)

Le frottis est la technique la plus largement utilisée pour diagnostiquer le paludisme. Elle est bien maîtrisée par l'ensemble des biologistes et les besoins matériels permettant sa réalisation sont déjà présents dans la plupart des laboratoires : des lames et lamelles, un microscope et la coloration May-Grünwald, Giemsa (MGG, technique de coloration utilisée en routine pour la numération formule sanguine).

Un étalement d'une goutte de sang périphérique est réalisé sur une lame. Cet étalement va définir une zone claire et une ligne incurvée (Figure 14 et Figure 15). On choisira pour la lecture et l'interprétation la zone médiane du frottis, dans laquelle les hématies ne sont ni superposées (en début de frottis par exemple), ni trop éloignée ou déformées (fin de frottis). A l'examen de cette zone médiane, les parasites sont intra-érythrocytaires et les globules rouges apparaissent côte à côte.

La sensibilité (seuil de détection d'hématies parasitées par μL) de cette technique est en moyenne de 200 hématies parasitées par microlitre (μL) de sang. Cette technique a pour avantage de permettre la détermination de l'espèce incriminée et d'évaluer la parasitémie de manière précise en moins d'une heure après la coloration (avec une lecture attentive d'au moins 30 minutes).

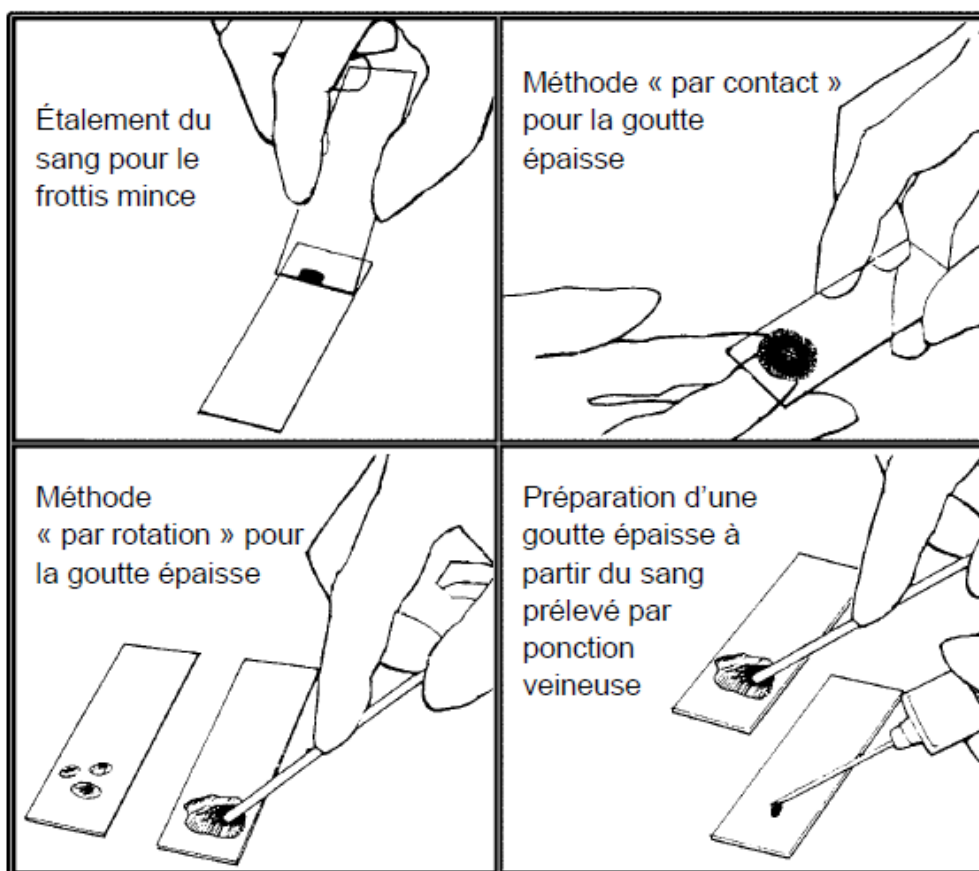


Figure 14: Préparation d'un frottis mince et d'une goutte épaisse [10]

b. La goutte épaisse

C'est une technique de concentration ayant une meilleure sensibilité que le frottis sanguin mince, de l'ordre de 10 à 20 hématies parasitées par μL . On détecte ainsi plus facilement les faibles parasitémies à partir du sang périphérique. Le matériel nécessaire est identique à celui du frottis mince.

Une goutte de sang est déposée sur une première lame et étalée avec le coin de la lamelle. Après séchage (24h à T° ambiante ou 2h à 37°C), les hématies ne sont pas fixées mais déshémoglobinisées par choc osmotique par une solution aqueuse de Giemsa (Figure 14 et Figure 15). Les parasites sont observables en dehors des hématies (dû à l'hémolyse des globules rouges) et leur morphologie est modifiée en comparaison avec l'observation sur frottis sanguin mince. La détermination de l'espèce de *Plasmodium spp.* est ainsi plus difficile.

La lecture, l'analyse, l'interprétation requièrent de l'expertise de la part du technicien. Elle se pratique de ce fait souvent dans des centres spécialisés. C'est de plus une technique longue et dans les cas d'urgence, le frottis sanguin lui est souvent préféré.

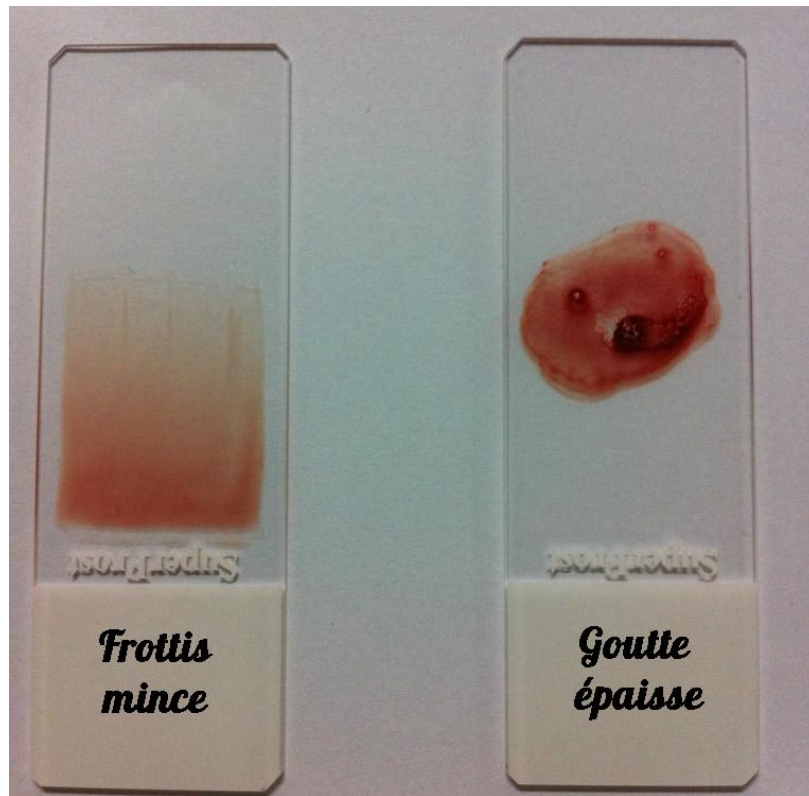


Figure 15 : Goutte épaisse et frottis sanguin sur une lame [55]

c. Le QBC[®] Malaria Test

Ce test, dont l'utilisation s'est généralisée depuis les années 1990, avait marqué une évolution dans la prise en charge du paludisme en accélérant son diagnostic. Il combine d'une part (i) l'isolement des globules rouges, en fonction de leur densité (centrifugation), par rapport aux autres éléments figurés du sang et d'autre part (ii) la mise en évidence des *Plasmodium spp.* après intercalation de l'acridine orange dans leurs acides nucléiques (ADN).

Pour la mise en évidence, un capillaire à micro-hématocrite (l'acridine orange est fixée sur sa paroi) est rempli de sang et centrifugé pendant 3 minutes. Les hématies sont ainsi isolées et les ADN parasites sont colorés par le fluorochrome. La lecture s'effectue en utilisant un microscope à fluorescence.

Cette technique a de nombreux avantages en termes de sensibilité qui est de l'ordre de 5 à 10 hématies par μL (meilleure que la goutte épaisse), de rapidité d'exécution (une dizaine de minutes) et de simplicité de lecture et d'analyse. Cependant, le diagnostic correct de l'espèce responsable de l'infection ainsi que la détermination de la parasitémie restent impossibles avec cette méthode. De plus, le coût du matériel est un facteur limitant non négligeable : plus de 13 000 dollars US (\$) pour l'ensemble centrifugeuse et système de lecture, auxquels il faut ajouter un coût par test variant de 5 à 7 \$ US.

3. Les nouvelles méthodes de diagnostic

a. Les tests de diagnostic rapide (TDR)

Mis au point ces dernières années, les TDR sont basés sur la détection d'antigènes circulants parasitaires par immunocapture, grâce à des bandelettes réactives.

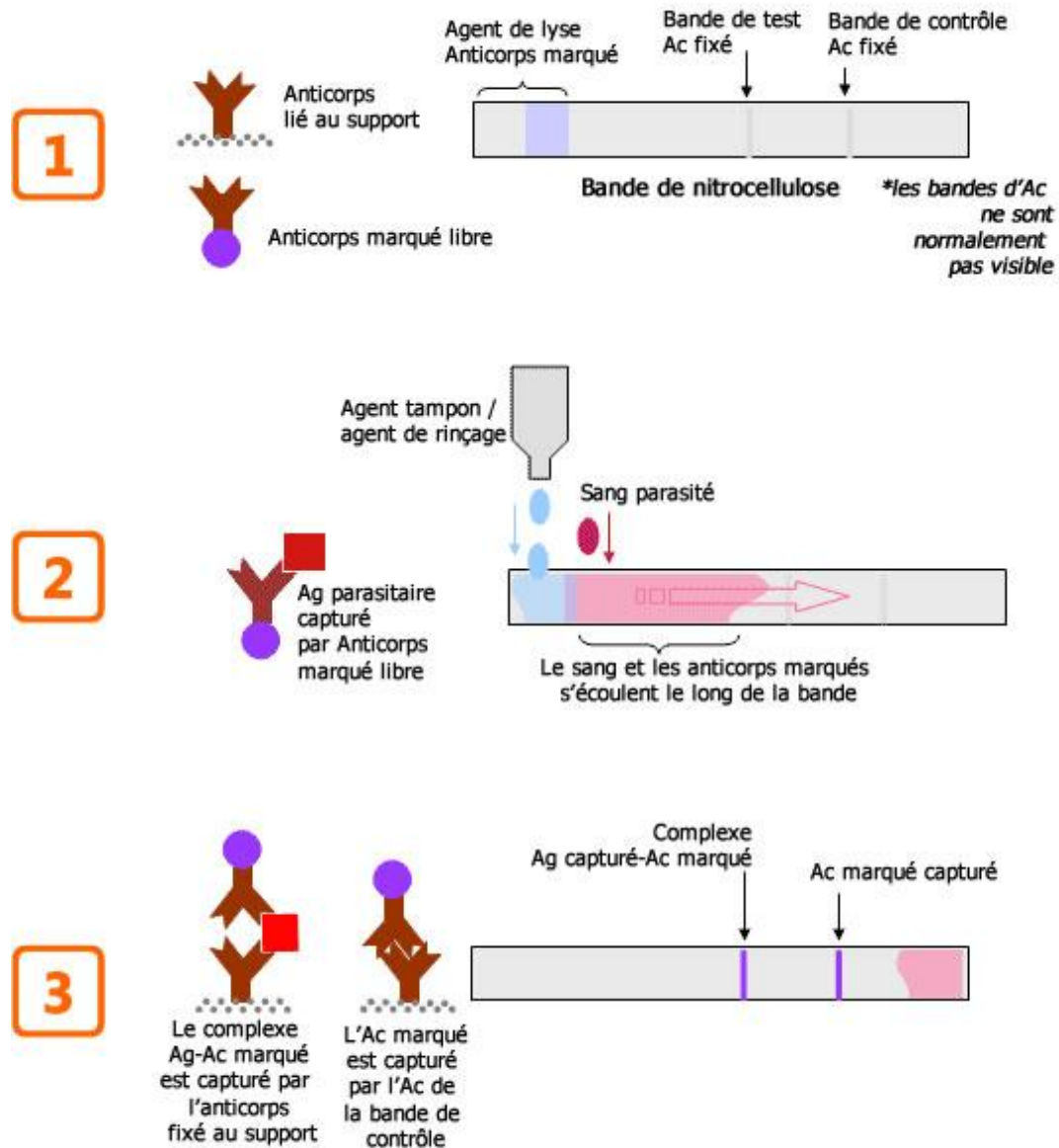


Figure 16 : Mode d'action commun des TDR du paludisme [56]

Des anticorps (Ac) sont fixés sur une bandelette de nitrocellulose. Ils sont dirigés contre les antigènes (Ag) spécifiques. Après la mise en contact avec le sang, la présence de l'Ag est visualisée par action d'un deuxième Ac révélateur (mono pour OptiMAL™ ou polyclonal pour ParaSight-F™ et ICT Malaria Pf/Pv) (Figure 16). La réponse est rapide (moins de 15 minutes), visuelle sous forme d'un trait sur la bandelette et ne nécessite donc pas de compétence particulière.

Les antigènes recherchés sont au nombre de trois : l'*Histidine-Rich Protein* (HRP2), la *Plasmodium Lactate Dehydrogenase* (pLDH) et l'aldolase.

L'HRP2 ou PfHRP2 est une glycoprotéine, spécifique de *P. falciparum*, retrouvée dans le cytoplasme et la membrane des stades érythrocytaires et gamétocytes immatures du parasite. Elle peut persister un à deux mois après la guérison (risque de faux positif).

L'enzyme pLDH est produite par tous les stades des parasites (formes sexuées et asexuées). Elle permet un suivi de l'efficacité thérapeutique car son activité a une bonne corrélation avec la parasitémie. Il existe des isomères de pLDH, spécifiques d'espèces, permettant une différentiation du ou des *Plasmodium spp* en cause. On retrouve ainsi dans les différents tests, la pLDH spécifique de *P. falciparum* (Pf-LDH), celle de *P. vivax* (Pv-LDH) et la Pan-pLDH (isoforme de LDH commune aux différentes espèces).

L'aldolase est une enzyme du cycle glycolytique permettant la synthèse de l'ATP, essentielle à la vie du parasite. Des études ont montré une moindre efficacité des tests utilisant la détection de cette enzyme face aux autres tests utilisant par exemple la détection de pLDH ou HRP2 [57].

De nombreux test sont disponibles sur le marché (Figure 17). La majorité de ces tests met en évidence *P. falciparum* en détectant la HRP-2 et/ou la pLDH. Ils sont commercialisés sous forme de trousse ou coffrets associant différents systèmes de détection. Plus récents, les tests Core Malaria™ et Palutop+4™ associent la détection de HRP-2, de la Pan-LDH et Pv-LDH. Ces tests, qualitatifs, permettent ainsi le diagnostic d'une infection paludique et de différencier les espèces *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*/*P. malariae* (pas de différenciation entre *P. malariae* et *P. ovale*).

Nom du test	Core Malaria	Palutop+4	Now ICT Malaria	ICT Malaria	Palutop	Kat-Quick Malaria	OptiMAL Pf®1	OptiMAL Pf®2
Fabriquant	Core diagnostics	All diag	Fumouze	Fumouze	All diag	AES	Diagnostics laboratories	Diagnostics laboratories
Antigène								
HRP-2	+	+	+	+	+	+		
Pan-LDH	+	+	+					+
Pf-LDH							+	+
Pv-LDH+	+	+						
Température de Conservation (°C)	+2 ; +30	+4 ; +30	+4 ; +28	+4	+4 ; +30	+4 ; +30	+2 ; +30	+2 ; +30
Durée de réalisation	20 min	15 min	20 min	5 min	15 min	15 min	20 min	20 min

Figure 17 : Caractéristiques des principaux tests de diagnostic rapide [58]

Leur simplicité d'utilisation et d'analyse ainsi que leur rapidité en font d'excellents outils de diagnostic. Quelle serait leur place en pratique courante et en diagnostic d'urgence du paludisme ? Peuvent-ils remplacer les méthodes « courantes » (frottis mince, goutte épaisse) ? Pour répondre à ces questions, nous verrons les caractéristiques et les spécificités de ces différents tests, leurs avantages et leurs inconvénients ?

a.1. Le test ParaSight™-F

Ce test, commercialisé par Becton-Dickinson®, est basé sur la détection de la glycoprotéine HRP2, spécifique de *P. falciparum*.

L'Ac primaire, ici un Ac monoclonal anti-HRP2 (IgG1 de souris), est dirigé contre un peptide spécifique de l'Ag HRP2. L'Ac secondaire qui permettra la visualisation de la réaction est un Ac polyclonal de lapin dirigé contre HRP2 et couplé à un colorant rouge (micelles contenant de la sulfo-rhodamine B).

La sensibilité et la spécificité de cette méthode sont proches de 90%. Les faux négatifs s'expliquent dans la plupart des cas par une expression insuffisante de HRP2 au début de l'infection. La persistance de HRP2, même après disparition des parasites et cela jusqu'à 28 jours après le début du traitement selon certains auteurs, entraîne des réactions faussement positives [59].

Différentes études ont également mis en évidence des réactions croisées entre l'Ac monoclonal (IgG1 de souris) utilisé comme Ac primaire dans ce test et le facteur rhumatoïde (FR). Les FR sont des auto-Ac généralement associés à l'arthrite rhumatoïde, mais qui sont aussi retrouvés dans divers troubles dans lesquels il y a une stimulation antigénique chronique, y compris de nombreuses infections tropicales. Ces réactions croisées avec ces facteurs peuvent entraîner jusqu'à 70% de faux positifs chez des patients porteurs de ce facteur. Dans la population saine, on estime à au moins 5%, le pourcentage de porteurs de ce facteur.

Ainsi de par sa simplicité et sa rapidité, ce test est un outil pratique de diagnostic rapide. L'absence de résultat quantitatif et ses divers inconvénients (réactions croisées avec le FR) empêchent son utilisation en tant que test de première intention.

a.2. Le test ICT® Malaria

Différentes formes du test ICT sont commercialisées : (i) ICT Malaria Pf™ pour la recherche de *P. falciparum* détectant la protéine HRP-2 ; (ii) ICT Malaria Pf/Pv™ permettant de détecter la présence de *P. falciparum* ou d'autres *Plasmodium spp* (*P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae*, *P. knowlesi*). En effet, ICT Malaria Pf/Pv détecte la présence HRP-2 ainsi que l'aldolase produite par toutes les espèces de *Plasmodium spp*. (utilisé ici comme un antigène pan-malarique).

La sensibilité de ICT® Malaria Pf™ est comprise entre 90% et 100% pour des parasitémiées supérieures à 80-100 parasites/µl. Cette sensibilité est légèrement supérieure à celle du test ParaSight™-F. La spécificité de ICT® Malaria Pf™ est de l'ordre de 84% à 97%. Quant à ICT Malaria Pf/Pv™, il a une sensibilité de 96% et une spécificité de 90% [60].

Une étude d'évaluation sur le diagnostic quantitatif de *P. falciparum* et *P. vivax* a permis de montrer que les test ICT Malaria Pf/Pv et ICT® Malaria Pf™ permettaient non seulement de détecter une infection palustre mais aussi d'estimer la densité parasitaire [61]. En effet, l'intensité de l'épaisseur de la bande visible (lorsque le test

était positif) était corrélée avec la densité parasitaire lors d'infection à *P. falciparum* et à *P. vivax*.

Il est à noter que l'utilisation d'un anticorps monoclonal de type IgM ne donne pas de réaction croisée avec le facteur rhumatoïde comme cela pouvait être possible avec le test ParaSight-F. La réalisation du test prend moins de 10 à 15 minutes.

Binax NOW[®] Malaria (ou NOW[®] Malaria) est une version plus récente du test ICT adaptée à un contexte de dépistage de paludisme d'importation. Ce test possède une meilleure sensibilité pour *P. falciparum*.

a.3 Le test OptiMAL™

Ce test est basé sur la détection de la pLDH qui est produite par toutes les formes vivantes des *Plasmodium spp.* (sexuées et asexuées). Deux versions de ce test sont commercialisées : OptiMAL™-1 et OptiMAL™-2. Le premier, OptiMAL™-1, détecte l'antigène Pf-LDH, permettant ainsi de relever une infection par *P. falciparum*. OptiMAL™-2, quant à lui, détecte la Pan-LDH en plus de Pf-LDH. Il dépiste donc une infection à *P. falciparum* ou à une autre des espèces (sans différencier les espèces *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale* entre elles).

A la différence des tests détectant HRP-2, ceux détectant la pLDH ont l'avantage de permettre la détection des différentes espèces de *Plasmodium*. De plus, le fait que la pLDH ne persiste pas dans le sang mais disparaît en même temps que les parasites, permet un meilleur suivi de l'efficacité thérapeutique et des résistances. En effet, la pLDH n'étant produite que par les formes vivantes, on a une bonne corrélation entre la présence de pLDH et les parasites encore vivants dans le sang.

La spécificité de ces tests est de l'ordre de 99% pour *P. falciparum* et quasiment 100% pour *P. vivax*. La sensibilité est meilleure pour *P. vivax* (de l'ordre de 96%) qu'avec les autres espèces (88% avec *P. falciparum* par exemple).

a.4. Le test Core™ Malaria Pan/Pv/Pf

Ce test permet la différenciation d'espèce entre *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*/*P. malariae*. Il détecte HRP-2, Pan-LDH et Pv-LDH. La Figure 18 présente les résultats de tests effectués. Les interprétations sont assez simples et rapides.

En plus de ces 5 cas d'interprétations, présentés ci-dessous, un autre cas peut être envisageable : les bandes de contrôle et de Pf-HRP2 sont positives et les bandes Pan-LDH et Pv-LDH n'apparaissent pas (résultat négatif). D'une part, l'absence de bande Pan-LDH montre qu'il n'y a plus de parasite détectable (bonne corrélation de la parasitémie avec l'activité de la pLDH). D'autre part, on sait également que la glycoprotéine HRP2 (spécifique de *P. falciparum*) peut persister jusqu'à deux mois après une infection. On est donc face à une situation où il y a un traitement en cours lors d'une infection à *P. falciparum* ou une infection traitée récemment (faux positif) à *P. falciparum*.

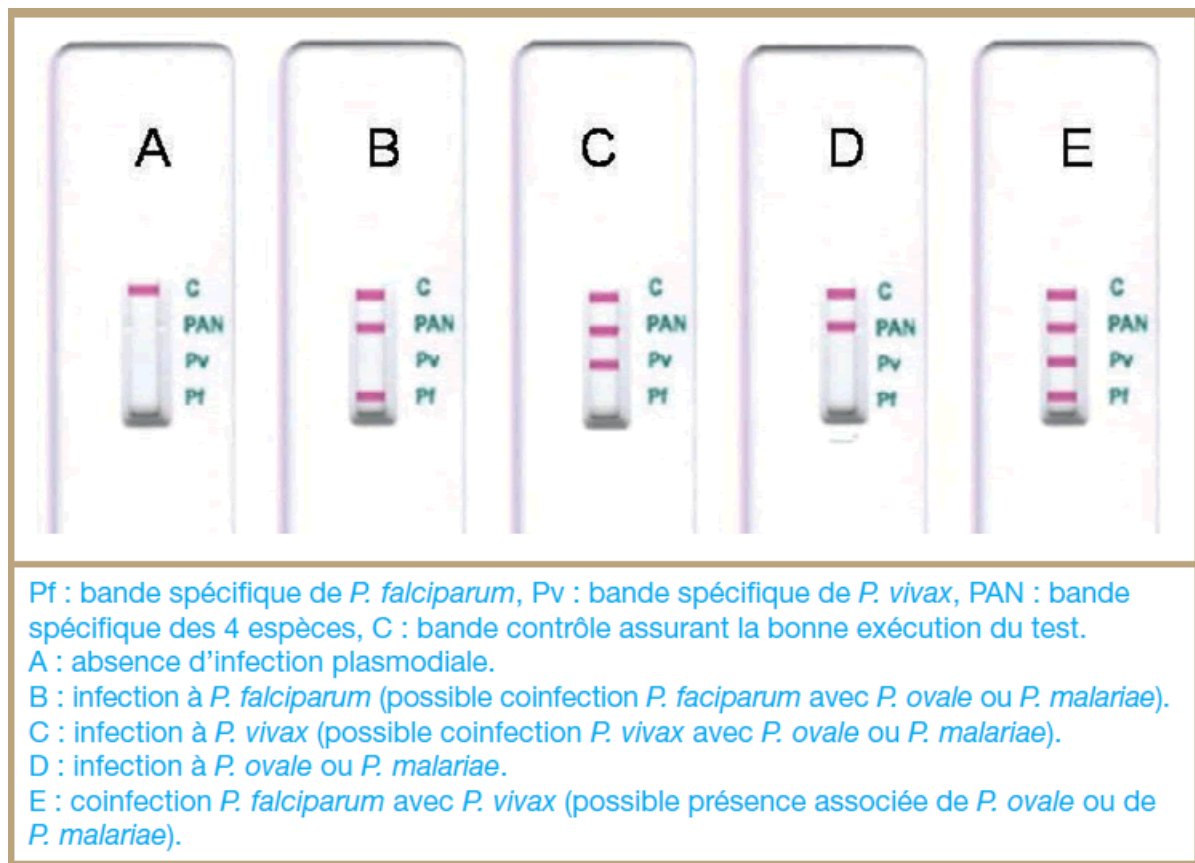


Figure 18 : Interprétations des résultats du test Core™ Malaria [62]

a.5. TDR : Cas particulier de *P. knowlesi*

Plusieurs études ont été menées sur l'évaluation du dépistage de l'infection à *P. knowlesi* par les TDR.

Une de ces études, menées par l'équipe de Thomas F. McCutchan, a testé la réactivité et la spécificité des anticorps utilisés dans les tests détectant la pLDH [63]. Parmi ces anticorps, deux anticorps (11D9 et 13H11) se lient spécifiquement à la Pv-LDH et deux autres (17E4 et 7G9) se lient seulement à la Pf-LDH. L'Ac 6C9 se lie quant à lui à toutes les isoformes de pLDH [63] et l'Ac 10D12 à *P. ovale*.

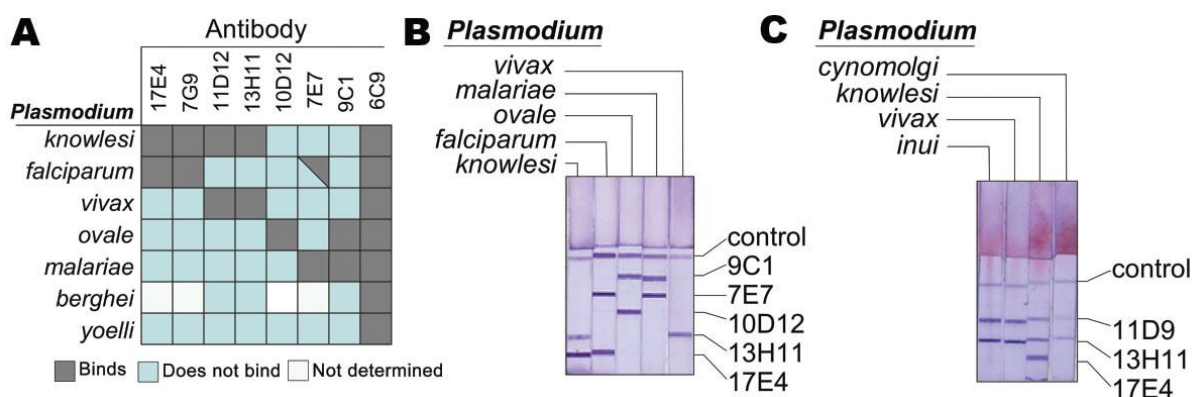


Figure 19 : Spécificités des liaisons des différents anticorps anti-pLDH [63]

En utilisant cette gamme d'anticorps, l'équipe a réussi à montrer que la distinction de *P. knowlesi* et *P. malariae* est possible en effectuant certains tests. Ces conclusions

sont basées sur la présence ou l'absence de réaction de type binding (Ac-Ag) avec *P. knowlesi*. Les résultats de ces essais sont présentés en Figure 19.

En B (Figure 19), un bande immuno-chromatographique, contenant les anticorps indiqués précédemment, a été mise en contact avec du sang lysé infecté soit par *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale*, *P. falciparum* ou *P. knowlesi*.

En C (Figure 19), la bande fut mise en contact avec du sang lysé infecté par *P. vivax*, *P. cynomolgi*, *P. inui* et *P. knowlesi*.

Les réactions observées sur la bande en contact avec le sang contaminé par *P. knowlesi* sont :

- Une réaction positive avec 17E4 et 7G9 (spécifiques de *P. falciparum*) et 11D9 et 13H11 (spécifiques de *P. vivax*).
- L'absence de réaction avec les anticorps 10D12 (spécifique de *P. ovale*), 7E7 (Ac qui réagit fortement avec *P. malariae* mais faiblement avec *P. falciparum*), 9C1 (spécifiques de *P. ovale* et *P. malariae*)

Une deuxième étape consistait à tester également la réactivité de ces mêmes anticorps avec d'autres parasites responsables de paludismes chez les singes (Figure 19 - A et C). L'étude a porté notamment sur *P. cynomolgi* et *P. inui*. Ces parasites représentent en effet une menace encore plus large que *P. knowlesi*, due au fait que ceux-ci sont transmis par les mêmes moustiques vecteurs de la malaria humaine, là où *P. knowlesi* est transmis par des anophèles à majorité zoophiles. Les résultats sont transcrits sur la Figure 19, dans la partie C. On voit ainsi que *P. cynomolgi*, *P. inui* et *P. knowlesi* ont réagi avec les anticorps 13H11 et 11D9, pourtant spécifiques de *P. vivax*. *P. cynomolgi* et *P. inui* ont ainsi le même profil épitopique que *P. vivax*.

La comparaison des isoformes de LDH de *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale*, *P. falciparum* avec celle de *P. knowlesi* a montré une très forte similitude à la différence de quelques acides aminés. (Voir figure suivante)

```

1  MAPKPKIVLVGSGMIGGVMTLIVQKNLG
30  DVVMFDVVKNMPGKALDTSHSNVMAY
57  SNCKVTGSNSYEDLEGADVIVTAGFTK
85  APGKSDKEWNRDILLPLNNKIMIEIGGHI
114 KKLCPNAFIIVVTNPVDVMVQLLFEHSGV
143 PKNKIIGLGGVLDTSRLKYYSQKLNVCV
172 RDVNALIVGAHGNKMLLKRYITVGGIPL
201 QEFINNKKITDEEVEAIFDRTVNTALEIVNL
232 LASPYVAPAAAIEMAESYLKDIKKVLVCS
262 TLLEGQYGHKNIFGGTPLVIGGTGVEQVI
291 ELQLTAEKAKFDEAVAETKRMKALI

```

Figure 20 : Séquence d'acides aminés (AA) de la LDH de *P. knowlesi*
(En bleu, les résidus d'AA spécifiques à *P. knowlesi* et *P. vivax* et en rouge, les résidus d'AA spécifiques à *P. knowlesi* et *P. falciparum*) [63]

On voit ainsi sur la figure ci-dessus, que la LDH de *P. knowlesi* (Pk-LDH) est fortement similaire aux autres LDH parasitaires citées plus haut. Cette forte similitude explique le fait que les anticorps 17E4, 7G9, 11D9 et 13H11 détectent la présence de Pk-LDH.

Ainsi, on pourrait utiliser les anticorps anti-pLDH détectant *P. falciparum* et *P. vivax* pour détecter et distinguer *P. knowlesi*. Cependant, une infection à *P. knowlesi* serait indistinguishable d'une infection mixte à *P. vivax* et *P. falciparum*. Dans ce cas, un examen microscopique voire une PCR permettrait de confirmer l'infection mixte, l'examen microscopique étant insuffisant pour distinguer *P. malariae* et *P. knowlesi*.

Une deuxième étude a été menée par Satoru Kawai du Centre pour la médecine tropicale et la parasitologie de l'Université médicale Dokkyo, à Tochigi au Japon[64]. Le but était l'évaluation de la réactivité et de la sensibilité de deux tests de diagnostic rapide sur des échantillons sanguins de singes infectés par *P. knowlesi* [64]. Ces échantillons de sang ont été testés avec les tests : OptiMAL™-1 (décrit plus haut, il détecte la Pf-LDH) et Entebe™ Malaria Cassette qui détecte HRP-2 et Pv-LDH de *P. vivax*. Tout comme dans l'étude précédente sur la réactivité des différents anticorps, des réactions positives ont été observées avec ces deux tests. Le test OptiMAL™-1 définissait l'infection comme étant due à *P. falciparum* alors que le test Entebe™ Malaria Cassette comme une infection à *P. vivax*.

Les performances de ces deux tests ont été présentées sous forme d'une figure montrant l'évolution dans le temps de l'infection (parasitémie) et la détection effective avec ces tests. On voit ainsi que la détection pour *P. knowlesi* a eu lieu à partir du 7^{ème} jour, avec une parasitémie avoisinant les 11% :

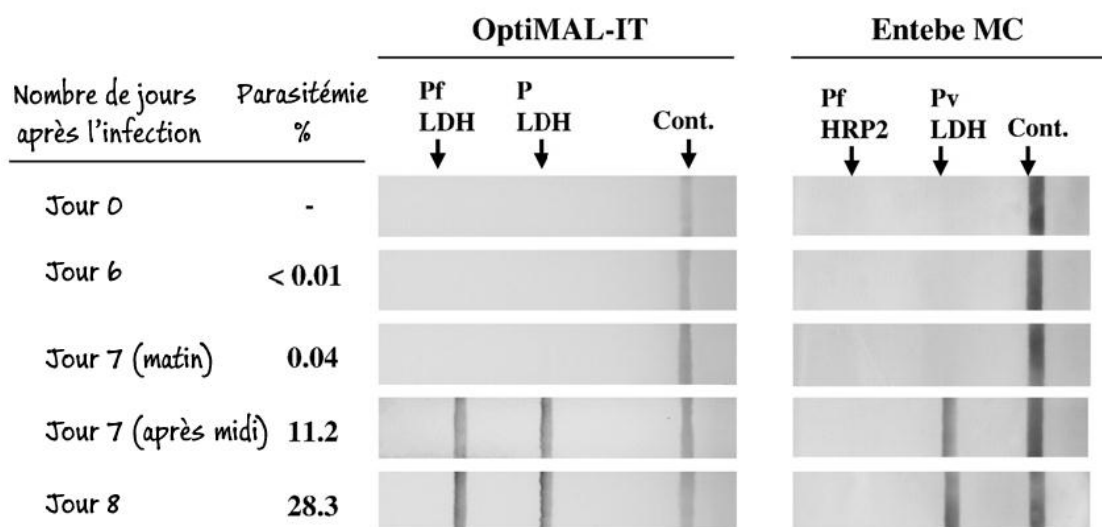


Figure 21 : Caractéristiques des performances des tests OptiMAL et Entebe MC lors de l'infection par *P. knowlesi* [64]

Les résultats de ces deux études s'expliquent d'une part par la très forte similitude entre les séquences d'acides aminés des p-LDH et d'autre part au fait que seuls quelques séquences d'acides aminés soient spécifiques des pLDH de *P. knowlesi* (Figure 20). Ainsi, les anticorps des différentes études reconnaissent en fait un

épitope conservé dans les pLDH de *P. falciparum*, *P. knowlesi* et *P. vivax*, ce qui entraînerait une réaction croisée et une détection erronée dans le cas de *P. knowlesi*. Comme expliqué plus haut, l'infection à *P. knowlesi* étant indistinguable d'une infection mixte à *P. vivax* et *P. falciparum*, un examen microscopique (pas suffisant pour distinguer *P. knowlesi* et *P. malariae*) voire une PCR permettrait de confirmer l'infection mixte.

Les TDR commerciaux actuels sont à utiliser avec précaution et ne doivent en aucun cas remplacer la microscopie conventionnelle ou la PCR, dans le cadre d'une suspicion de paludisme à *P. knowlesi*.

b. La Polymerase Chain Reaction (PCR)

La PCR est une technique d'amplification génique, réalisée dans des laboratoires spécialisés. Elle consiste, grâce à des amorces synthétiques, au repérage dans un prélèvement d'une séquence nucléotidique spécifique et à la multiplication de celle-ci par des cycles de dénaturation-polymérisation (chauffage à 90°C pour la séparation des deux brins, refroidissement à 50°C pour l'hybridation des amorces et synthèse du brin complémentaire par la Taq polymérase).

Différents systèmes existent actuellement : PCR classique, en temps réel, Nested-PCR et PCR multiplex. Les avancées technologiques ont permis de réduire le temps de diagnostic à moins d'1 heure.

Avec une sensibilité de l'ordre de 0,005 à 0,5 parasites/μL et une spécificité proche des 100%, c'est la technique la plus sensible et la plus spécifique pour détecter les parasites du paludisme et identifier les espèces.

Ses avantages restent indéniables mais l'intérêt de son usage en pratique quotidienne reste posé. De part son coût, ses besoins (équipements et personnels compétents) et ses contraintes (temps), elle ne constitue en aucun cas une réponse au diagnostic d'urgence. Elle sert pour des diagnostics de patients avec une forte suspicion de paludisme malgré la négativité du frottis (très faible parasitémie) et pour un suivi de traitement lors de multi-résistances. On l'utilise également lors de travaux de recherche épidémiologique, de recherche sur les résistances, d'identification d'espèces, de confirmation de poly-parasitisme.

c. Conclusion sur les méthodes de diagnostic

Le frottis sanguin mince et la goutte épaisse reste les techniques standards. Le diagnostic est basé dans la plupart des cas sur une technique microscopique de concentration assurant une excellente sensibilité (goutte épaisse ou QBC[®] Malaria) et sur un frottis mince permettant l'identification d'espèce.

Les TDR associent une bonne sensibilité/spécificité à la rapidité de détection, mais ils restent des tests de seconde ligne en France. Malgré leurs inconvénients, ils accélèrent la prise en charge des patients en zone endémique par leur utilisation conjointe avec les techniques microscopiques, la symptomatologie ainsi qu'avec les informations issues de l'interrogatoire du patient.

Quant aux techniques de diagnostic par PCR, elles ont une excellente sensibilité mais leur utilisation reste limitée en pratique quotidienne d'urgence.

Techniques	Avantages	Inconvénients
Frottis mince sanguin	<ul style="list-style-type: none"> . Détermination de l'espèce . Détermination de la parasitémie 	<ul style="list-style-type: none"> . Pas assez sensible pour les faibles parasitémies . Nécessite du personnel qualifié
Goutte (GE) épaisse	<ul style="list-style-type: none"> . Bonne sensibilité pour les faibles parasitémies 	<ul style="list-style-type: none"> . Espèce difficile à déterminer . Compétence pour la lecture
QBC Malaria	<ul style="list-style-type: none"> . Rapidité (10min) . Technique de concentration à lecture plus facile que la GE 	<ul style="list-style-type: none"> . Coût élevé (investissement et consommables)
Tests rapides (TDR)	<ul style="list-style-type: none"> . Sensibilité et spécificité correcte suivant l'espèce . Rapidité d'exécution . Lecture simple et facilitée des résultats 	<ul style="list-style-type: none"> . Réactions croisées possibles notamment avec le facteur rhumatoïde. . Tests détectant l'aldolase moins performant que ceux détectant pLDH
PCR	<ul style="list-style-type: none"> . Meilleure sensibilité et spécificité . Résolution de problèmes de diagnostic complexe 	<ul style="list-style-type: none"> . Non utilisable en pratique quotidienne

Tableau 11 : Avantages et inconvénients des différentes techniques de diagnostic du paludisme

Le choix des techniques de diagnostic est également fonction des zones géographiques, des aspects financiers et de l'étendue de l'infection (Tableau 12).

	Zones	Impact (cas/an)	Diagnostic	Remarques
Fortes transmission	Afrique sub-saharienne	150 à 170 millions	Clinique et TDR	L'aspect financier limite l'utilisation de certaines méthodes
Moyenne et faible transmission	Asie et Amériques	30 à 50 millions	Clinique, microscopie et TDR	Les tests rapides sont utilisés dans les zones rurales
Situations particulières	Voyageurs Militaires	10000 à 20000	Microscopie, TDR	La microscopie reste la méthode standard

Tableau 12 : Techniques de diagnostic du paludisme en fonction des zones de transmission

H. Développement de l'immunité chez l'homme

L'immunité naturelle et relative contre le paludisme est dépendante aussi bien de l'intensité de la transmission (zone de forte ou faible endémie) que de l'infection en elle-même. Cette protection incomplète a un support immunologique encore mal connu. La compréhension des mécanismes moléculaires et des facteurs qui régissent l'interaction parasite<>homme est d'autant plus importante, qu'elle est certainement la clé vers le développement de vaccins contre le paludisme.

A la naissance, l'essentielle de la protection antipaludique est assurée par les anticorps maternels mais aussi la présence d'hémoglobine fœtale qui, de part ses caractéristiques, rend la croissance des parasites défavorables. La « protection familiale constante autour du nouveau bébé » est également une explication, notamment en zone endémique.

L'immunité naturelle appelée également prémunition, en raison de son caractère incomplet, s'installe ensuite progressivement en 6 à 10 ans chez l'enfant et au prix d'une forte morbidité et mortalité. Elle a un support immunologique non encore totalement élucidé. Ce dernier ferait intervenir aussi bien des IgG (médiation humorale par IgG1 et IgG3) que des lymphocytes T (médiation cellulaire).

Des recherches ont montré que l'antigène *Plasmodium falciparum* erythrocyte membrane protein (PfEMP1) et divers autres antigènes de surface, appartenant tous aux AVS, sont les cibles impliquées dans ce phénomène de protection naturelle. Ces AVS, localisés dans des structures appelées « knob structures » à la surface des érythrocytes infectés, participent à la médiation de l'adhésion des érythrocytes infectés à des récepteurs dans le système vasculaire.

Chaque génome parasite contient plusieurs gènes codant pour des AVS. Chacun de ces gènes code pour une protéine différente ayant des propriétés antigéniques et adhésives différentes. Un globule rouge infecté ne peut cependant exprimer à un moment donné seulement qu'un seul type d'AVS. Le mécanisme expliquant l'expression de l'un ou l'autre des AVS reste encore inexpliqué. L'existence de multiples variations inter et intra-clonale rend d'autant plus difficile la réalisation d'une protection immunitaire complète et efficace.

Lors des infections, des anticorps dirigés contre les AVS exprimés à la surface des globules rouges parasités sont produits. Le changement au niveau de l'expression d'AVS apparaît ainsi, pour le parasite, comme une technique d'échappement au système immunitaire. Pour développer la maladie, le parasite exprimera ainsi des AVS qui ne seront pas reconnus par le système immunitaire.

Des études plus récentes sur le sujet ont confirmé le rôle de l'expression des AVS dans l'intensité de la pathologie et l'immunité acquise [65], [66].

Pour Lars Hviid, du Centre pour la parasitologie médicale (Université de Copenhague, Danemark), les AVS les plus fréquemment reconnus par le système immunitaire (par les anticorps anti-AVS) sont associés à un paludisme sévère (AVS for severe malaria : AVSsm) lors de l'absence d'une prémunition chez les individus

infectés par ces variants [65]. D'autre part, il existe une catégorie d'AVS considérée comme rarement reconnue par les anticorps et associée à des paludismes non compliqués (*AVS for un-complicated malaria* : AVSum). Les parasites expriment ainsi préférentiellement des AVSsm lorsque le répertoire humoral du système immunitaire contre ce variant est insuffisant (cas d'une prémunition inexistante). En présence d'anticorps contre AVSsm, ce sera les AVSum qui seront exprimés préférentiellement.

Ainsi, dans les zones de forte transmission, l'immunité face à un paludisme simple se met en place lentement et disparaît rapidement. L'immunité relative face à un paludisme sévère se développe quant à elle assez rapidement. Ainsi, seules les infections chroniques ou répétées entraînent une réponse immunitaire capable de maintenir une relative protection [65]. Cette immunité n'est cependant pas capable d'éliminer à elle seule le parasite. Elle permettra une réduction des symptômes et de la durée de la maladie ou favorisera l'élimination des parasites en association avec les traitements antipaludiques.

Un autre exemple traduit bien le rôle de ces AVS dans l'immunité. C'est le cas de la femme enceinte et du paludisme associé à la grossesse (PAG). Les analyses font suite au constat que les jeunes filles en zone de forte transmission, pourtant "immunisées" contre le paludisme, devenaient beaucoup plus sensibles aux infections palustres pendant leur grossesse [37]. Cela s'expliquerait par différents phénomènes:

- Les différences de parasites. Ceux qui entraînent un PAG expriment des AVS spécifiques (AVSpag) différents de ceux entraînant des infections chez les femmes non enceintes (Le système immunitaire ne reconnaissant pas l'agresseur)
- Les parasites ont pendant la grossesse une particularité à se fixer dans le placenta, au niveau des récepteurs à la chondroïtine sulfate A.

Les femmes primigestes sont ainsi beaucoup plus sensibles par rapport aux femmes ayant déjà eu une grossesse, la stimulation antigénique lors de la première grossesse entraînant une certaine protection. Le rapport IgG-AVSpag serait même corrélé au nombre de grossesses, d'où une réduction du risque en fonction des grossesses, expliquant les données du Tableau 9 plus haut.

III. Prise en charge thérapeutique du paludisme

La prise en charge du paludisme doit être la plus complète possible, associant au diagnostic, la détermination de la gravité de l'infection mais aussi et surtout le démarrage d'un traitement rapide et adapté et le suivi de l'état du patient.

Plusieurs critères pèsent dans le choix du traitement anti-malarique curatif et/ou prophylactique : l'évaluation du risque de résistance (plus important avec *P. falciparum* par exemple), le contexte géographique ainsi que les particularités

individuelles (allergies, enfant, femme enceinte) conditionnant l'utilisation (ou l'exclusion) d'une molécule ou d'une voie d'administration en particulier. On a également l'intensité de la transmission, la période (saison sèche/humide par exemple), la durée et l'intensité d'exposition lors d'un traitement prophylactique selon le type de voyage : treks (randonnées), excursions dans la jungle ou hôtel all-in en plein centre-ville.

A. Arsenal thérapeutique

L'arsenal thérapeutique a bénéficié de peu d'évolutions ces dernières années. Mais la situation semble d'autant plus préoccupante que l'on constate de plus en plus de résistances aux traitements conventionnels. L'association de molécules aux cibles et mode d'action différents, favorise une synergie d'action et constitue une alternative, temporaire, au développement considérable et rapide de ces résistances.

Plusieurs molécules sont actuellement disponibles, dont les plus connues sont la chloroquine et la quinine. Ces molécules sont actives sur les différents stades du développement parasitaire.

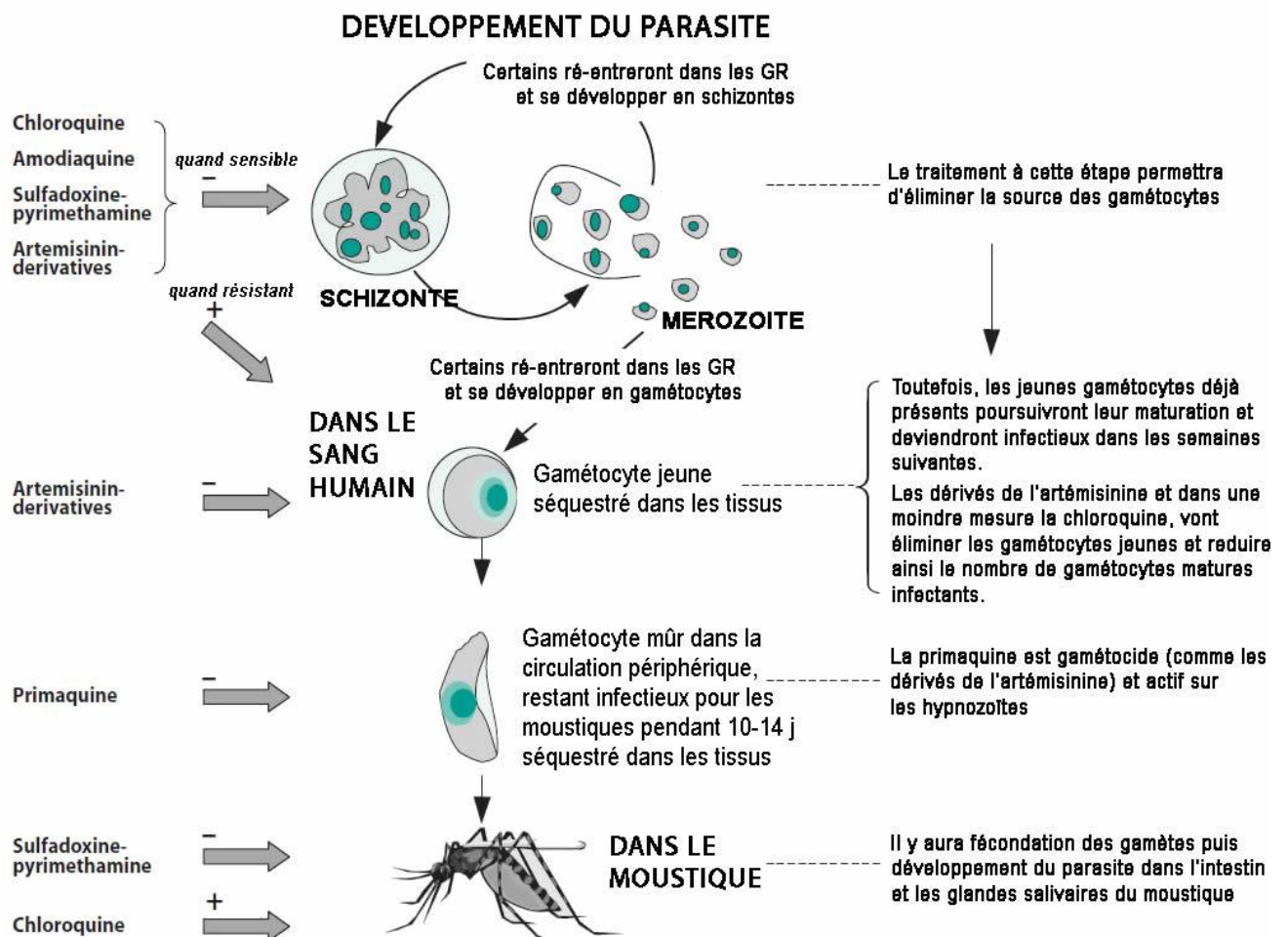


Figure 22 : Effets sur le cycle parasitaire des médicaments anti-malariques [67]

Les traitements actuels ont deux modes d'action principaux : schizonticides (intra-hépatiques et érythrocytaires) et/ou gamétocytocides (Figure 23).

Schizonticides érythrocytaires <i>Amino-4-quinoléines</i> <i>Aminoalcools</i> <i>Sesquiterpènes</i> <i>Antimétabolites</i>	chloroquine, amodiaquine, pyronaridine quinoléine-méthanol : quinine, méfloquine phénanthrène-méthanol : halofantrine luméfantrine artémisinine, artéméther, artésunate antifoliques : sulfadoxine, sulfones antifoliniques : proguanil, pyriméthamine antibiotiques : cyclines, clindamycine analogues de l'ubiquinone : atovaquone
Schizonticides intrahépatiques <i>Amino-8-quinoléines</i> <i>Antimétabolites</i>	primaquine, tafénoquine proguanil, cyclines
Gamétocytocides <i>Amino-8-quinoléines</i>	primaquine, tafénoquine

Figure 23 : Classification des médicaments anti paludiques selon le mécanisme d'action [36]

1. Les différentes molécules antipaludiques

On peut les classer selon leur classe pharmacologique :

a. Les amino-4-quinoléines

a.1. Chloroquine

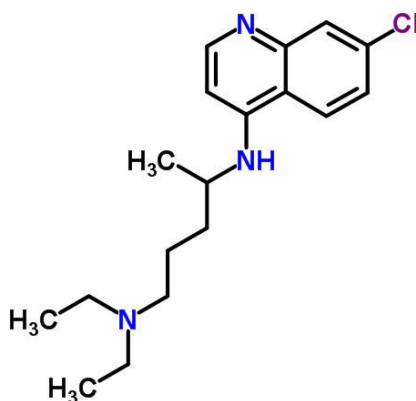


Figure 24 : Structure chimique de la chloroquine [68]

(Masse moléculaire : 319,87 g.mol⁻¹)

Durant la seconde guerre mondiale, l'approvisionnement en quinine était suspendu avec le blocage de l'île de Java (principal producteur). Il fallait donc chercher d'autres moyens de lutter contre le paludisme. Des études ont été menées par des chercheurs américains, britanniques et australiens sur différents composés, puis par des chercheurs français à Tunis sur un composé en particulier, le sontochin (dérivé moins toxique d'un autre composé la resochin) [69]. Les tests de Tunis se sont montrés concluant quant à l'efficacité du composé comme anti-malarique. Le composé fut réévalué sous le nom de Chloroquine.

En février 1946, après la seconde guerre mondiale, la chloroquine est ainsi le premier anti-malarique de synthèse. En France, elle fut commercialisée en 1949

sous la forme de sulfate de chloroquine sous le nom de Nivaquine®. Elle a une activité anti-malarique de type schizonticide intra-érythrocytaire mais aussi une activité anti-inflammatoire. Son mode d'action, partiellement déterminé, s'expliquerait par son accumulation dans la vacuole digestive des parasites intra-érythrocytaires. Cela permet le blocage de la cristallisation de l'hème en hémotoïne d'où une accumulation de l'hème libre, toxique pour le parasite. En effet, cette cristallisation est une dégradation enzymatique qui permet au parasite de se protéger de la toxicité de l'hème.

Les premiers cas de résistance sont apparus entre 1957 et 1960. L'utilisation inappropriée et de manière massive en est la première cause. Cette chloroquino-résistance aurait été favorisée en partie par la « méthode Pinotti » [70]. En effet, Mario Pinotti, paludologue brésilien, avait préconisé dans les années 1950 l'usage de la chloroquine combinée au sel de table, en prévention et traitement du paludisme. Cette technique fut utilisée d'abord en Amérique du sud, puis en Asie et en Afrique. Aujourd'hui, la chloroquino-résistance gagne presque toutes les zones endémiques, soit plus de la moitié voire les 2/3 du globe (Figure 9).

Le métabolisme de la chloroquine est hépatique avec une demi-vie d'élimination de 10 à 30 jours. L'excrétion, très lente, est essentiellement urinaire.

La chloroquine est bien tolérée à doses curatives. Cependant, des effets indésirables digestifs (nausées, vomissements) ou des troubles psychiatriques peuvent apparaître. L'administration après le repas réduit les effets digestifs, facilite également l'absorption et augmente la biodisponibilité de la chloroquine. Une toxicité cardio-vasculaire (hypotension, collapsus cardiovasculaire, signes ECG ou encore un arrêt respiratoire et cardiaque brutal et précoce) existe pour les formes injectables utilisées dans les pays anglo-saxons mais aussi pour les formes orales si surdosage (à partir de 2 g de chloroquine en 1 prise pour un adulte, soit plus de 20 comprimés en 1 prise et pour une dose supérieure à 25 mg/kg de chloroquine en 1 prise chez l'enfant).

a.2. Amodiaquine

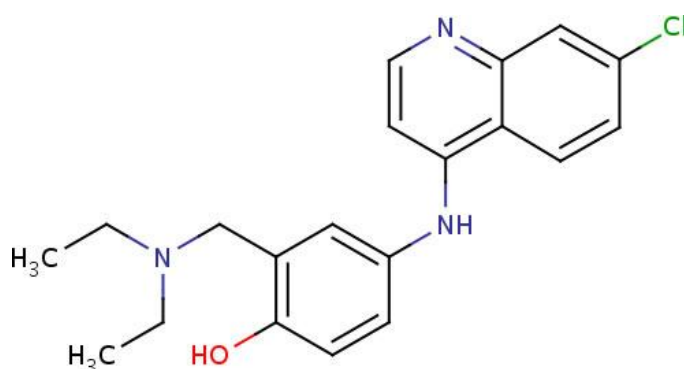


Figure 25 : Structure chimique de l'amodiaquine [71]

(Masse moléculaire 355,86 g.mol⁻¹)

L'amodiaquine est un antipaludique de synthèse, de structure chimique et de mode d'action identique à la chloroquine (action schizonticide par destruction des formes

intra-érythrocytaires). Elle a une meilleure efficacité que la chloroquine même dans les zones où la chloroquino-résistante est élevée.

Largement utilisée en Afrique, de nombreuses résistances existent et les mécanismes de ces résistances seraient identiques à ceux de la chloroquine. L'amodiaquine a connu un regain d'intérêt ces dernières années dans le traitement de l'accès palustre simple, en association avec des dérivés de l'artémisinine (Amodiaquine + Artésunate = Arsucam[®]). On a une action synergique puissante en combinant l'artésunate à action rapide et l'amodiaquine à action lente.

L'élimination de l'amodiaquine se fait quasiment par biotransformation. Sa demi-vie est de 1 à 10 jours. La toxicité de l'amodiaquine se situe principalement au niveau hépatique (cas d'hépatites parfois mortelles) et hématologique (cas de leucopénies et d'agranulocytose) au cours de traitement de longue durée [72]. Son utilisation en prophylaxie a été ainsi éliminée.

a.3. Pyronaridine ou malaridine

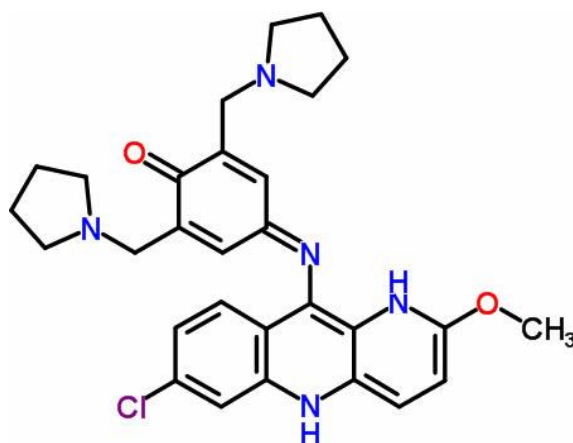


Figure 26 : Structure chimique de la Pyronaridine [73]

(Masse moléculaire 518,05 g.mol⁻¹)

Synthétisée pour la première fois fin 1970, elle était utilisée d'abord en Chine et en Indonésie avant qu'une généralisation de son emploi soit voulue par l'OMS vers 1980. Après l'apparition des premières résistances vers 1990, les associations sous forme d'ACT (pyronaridine + artésunate) ont relancé son utilisation. Des investigations ont montré que cette association est aussi efficace que l'association artéméther-luméfantrine [74]. In vitro, l'association pyronaridine et artésunate a une forte activité sur les souches résistantes à la chloroquine [75].

Les effets indésirables, digestifs, seraient mineurs. La pyronaridine est un médicament liposoluble ayant une longue demi-vie (avec une clairance plus grande chez l'enfant que chez l'adulte).

a.4. Pipéraquine

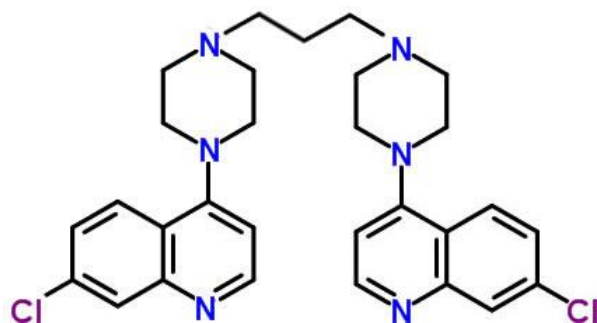


Figure 27 : structure chimique de la pipéraquine [76]

(Masse moléculaire 259,35 g.mol⁻¹)

Elle fut longtemps utilisée en prophylaxie et en traitement du paludisme. Son usage en monothérapie a connu un déclin face aux montées des résistances et à l'utilisation croissante des antimalariques dérivés de l'artémisinine.

Elle est aujourd'hui utilisée en combinaison avec la dihydroartémisinine sous le nom d'Eurartesim[®] ou Artekine[®]. Très bien toléré, cette association est administrée à raison d'une prise par jour pendant 3 jours, constituant un atout pour l'observance du patient. De plus, l'Eurartesim[®] a montré une excellente efficacité et une protection plus longue contre de nouvelles infections malariques, en comparaison des associations artésunate+méfloquine ou encore artémether+luméfantrine (Coartem[®]) [77], [78], [79].

b. Les amino-8-quinoléines

Ce sont les seuls à être en même temps gamétocytocides et surtout schizonticides intra-hépatiques. Ils sont ainsi capables d'éliminer même les formes hypnozoïtes, responsables des rechutes tardives du paludisme.

b.1. Primaquine

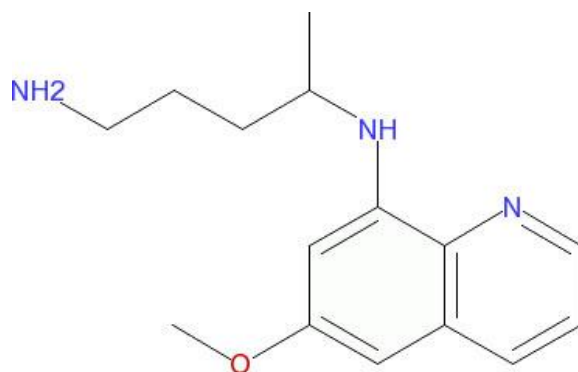


Figure 28 : Structure chimique de la Primaquine [80]

(Masse moléculaire 259,35 g.mol⁻¹)

La primaquine est utilisée en traitement radical du paludisme à *P. vivax* et *P. ovale*, en association à la chloroquine ou la quinine (traitement de 14 jours) afin d'éliminer toutes les formes du parasite. Elle est également utilisée, en association à la clindamycine, pour l'élimination de *Pneumocystis jirovecii*, agent causant une pneumonie grave chez des patients immunodéprimés.

L'une des contre-indications majeures à la prise de primaquine est un déficit en G6PD (enzyme glucose-6-phosphate-1-déshydrogénase). La primaquine peut provoquer dans ce cas une destruction des globules rouges donc une anémie hémolytique aggravant celle causée déjà par le paludisme.

La grossesse (du fait du manque de connaissance sur un éventuel déficit en G6PD) et l'utilisation chez les enfants de moins de 4 ans en sont deux autres contre-indications.

b.2. Tafénoquine

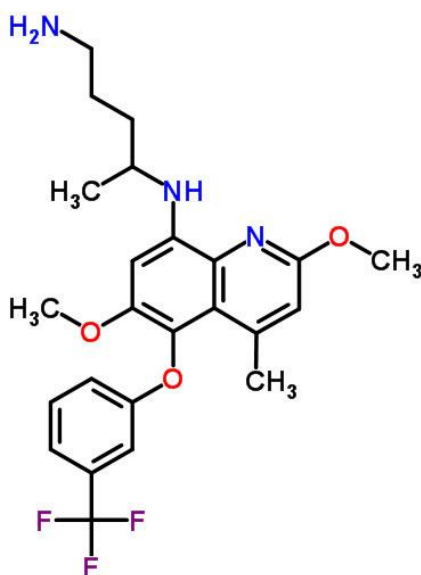


Figure 29 : Structure chimique de la tafénoquine [81]

(Masse moléculaire 463,49 g.mol⁻¹)

Bien supportée et possédant une longue demi-vie (16h), elle possède cependant les mêmes contre-indications (chez la femme enceinte, les personnes ayant un déficit en G6PD et les enfants < 4ans) que son analogue la primaquine.

Encore au stade de phase 3 de développement par GSK, la tafénoquine s'est montrée très efficace aussi bien en cure radicale contre *P. vivax* et *P. falciparum*, qu'en prophylaxie et cela avec une faible innocuité [77]. L'utilisation serait possible en monodose, permettant ainsi d'améliorer l'observance.

b.3. Pamaquine

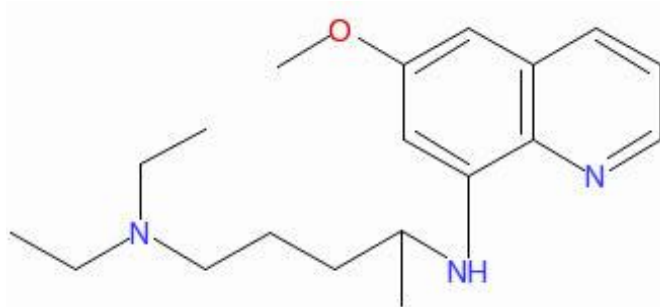


Figure 30 : Structure chimique de la Pamaquine [82]

(Masse moléculaire 315,45 g.mol⁻¹)

C'est l'un des premiers anti-malariques de synthèse. Il fut introduit dans les années 1926, sous le nom commercial de Plasmaquine[®]. Elle a les mêmes contre-indications que la primaquine (qui en est un analogue structural) et cause ainsi des anémies hémolytiques chez les patients déficitaires en G6PD. Sa toxicité et son manque d'efficacité ont très vite entraîné son remplacement par la primaquine [83].

c. Les amino-alcools

c.1. La Quinine

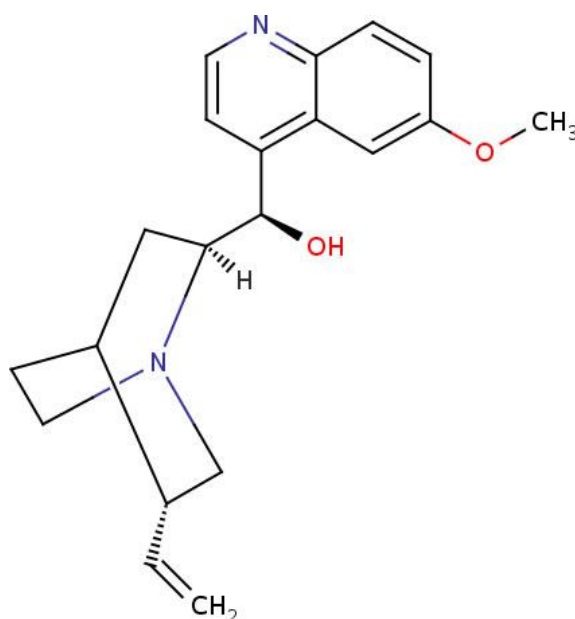


Figure 31 : Structure chimique de la Quinine [84]

(Masse moléculaire 324,41 g.mol⁻¹)

La quinine est un alcaloïde extrait de l'écorce du Quinquina (*Cinchona officinalis*). Les premières utilisations en tant qu'antipaludique datent du XVII^{ème} siècle. La quinine est également un antipyrétique et un antalgique mais aussi un relaxant musculaire utilisé dans les troubles musculaires (surtout les crampes nocturnes) par son action sur les canaux sodiques.

Comme les autres molécules de la famille des amino-alcools, la quinine a une action schizonticide sur les formes intra-érythrocytaires uniquement. Le mécanisme, identique à celui de la chloroquine, serait une accumulation de la molécule au niveau de la vacuole digestive du parasite, entraînant une inhibition de la détoxification de l'hème.

La toxicité de la quinine à dose thérapeutique est rarement sévère. On rencontre souvent des réactions allergiques et des manifestations de cinchonisme (vertiges, acouphènes, diarrhées, vomissements, gastralgies, troubles visuels, hypoacousie et hypoglycémie). Elles sont réversibles dans la majorité des cas à l'arrêt du traitement. Le risque d'hypoglycémie hyper-insulinémique existe notamment chez la femme enceinte et l'enfant. Chez l'enfant, cette hypoglycémie est souvent plutôt due au paludisme en lui-même. La toxicité cardiaque (torsade de pointe, collapsus) est dose-dépendante.

La survenue d'une hémolyse importante sous quinine doit faire évoquer une fièvre bilieuse hémoglobininurique (FBH) devant conduire à l'arrêt du traitement.

c.2. Méfloquine

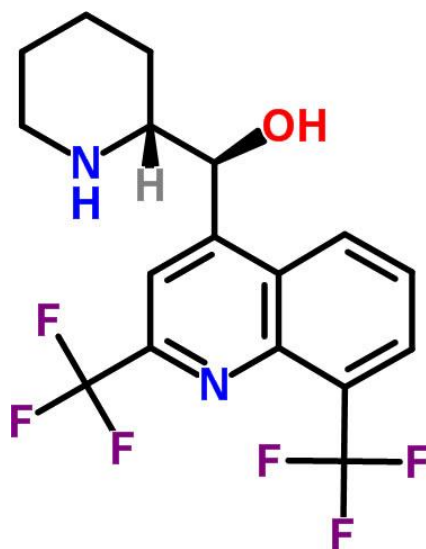


Figure 32 : Structure chimique de la Méfloquine [85]

(Masse moléculaire 378,31 g.mol⁻¹)

C'est un dérivé de la quinine, mis au point à la fin des années 1970 pour lutter contre les résistances aux antipaludiques (chloroquine et à d'autres antipaludiques).

Commercialisée en France sous le nom de Lariam[®], la méfloquine est utilisée dans le traitement et la prophylaxie du paludisme pour les formes résistantes à la chloroquine. C'est un schizonticide sur les formes intra-érythrocytaires des différents *Plasmodium spp.*

La méfloquine est associée à des effets secondaires neuropsychiques : anxiété aiguë, agitation, confusion mentale, troubles de l'humeur, épisode dépressif majeur (EDM). Bien qu'étant rares, ils peuvent présenter une certaine gravité d'où la contre-indication chez les patients présentant des troubles de l'humeur. Des troubles

neurologiques (vertiges, perte d'équilibre) peuvent survenir également d'où certaines précautions à prendre pour certaines activités telles que la plongée. La méfloquine abaisse le seuil de convulsion et sera ainsi contre-indiquée en prophylaxie pour les patients ayant des antécédents convulsifs.

Sa large utilisation notamment en Asie a entraîné quelques débuts de résistances vers 1982 (des cas décrits en Thaïlande notamment). On la retrouve ainsi en association avec d'autres molécules doxycycline ou l'artésunate, afin de limiter les risques de résistance de la monothérapie.

c.3. Halofantrine

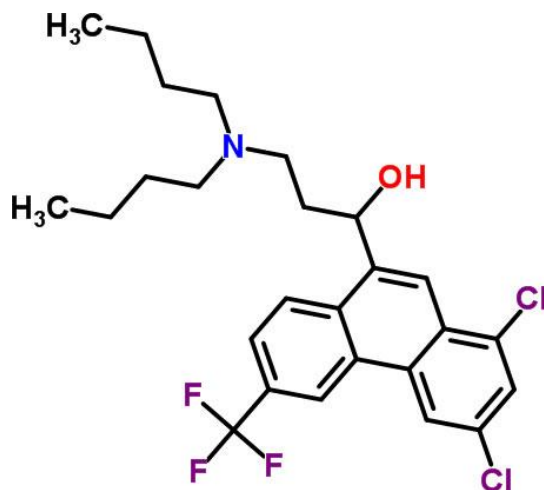


Figure 33 : Structure chimique de l'halofantrine [86]

(Masse moléculaire : 500,43 g.mol⁻¹)

C'est un antipaludique de synthèse contenant une structure de type phénanthrène méthanol. Commercialisée sous le nom d'Halfan[®], l'halofantrine est un schizonticide sur les formes intra-érythrocytaires utilisé uniquement en traitement et non en prophylaxie. Il n'a aucun effet sur les formes hépatiques et ni sur les gamétocytes.

La pharmacodynamique de l'halofantrine n'est pas totalement élucidée. Son absorption digestive et sa biodisponibilité sont variables et faibles d'une manière générale. Il est ainsi conseillé de fractionner les prises afin d'augmenter la quantité de produit passant dans la circulation générale. De même, la prise pendant les repas est déconseillée car cela entraîne une augmentation de la biodisponibilité (multiplié par 6 dans le cas par exemple d'un repas riche en graisse). La concentration sanguine maximale est atteinte en 3 à 6h avec une demi-vie d'environ 24 à 48h.

Longtemps utilisé en première intention dans le traitement de l'accès non compliqué à *P. falciparum* (surtout chez l'enfant), son utilisation a subi un frein important dû d'une part aux résistances mais aussi et surtout à ses effets indésirables cardiaques. En effet, la toxicité cardiaque (allongement de l'espace QT, troubles du rythme type torsade de pointe, arythmies ventriculaires ...) observée même à doses thérapeutiques peut dans certains cas s'avérer mortelle. Un ECG doit être réalisé avant toute prescription d'halofantrine afin d'écarter les patients à risque, mais aussi pendant et à la fin du traitement. La prise concomitante ou récente de méfloquine

avec l'halofantrine a été incriminée également dans certaines publications sans que le mode d'action (potentialisation ou autre) soit clairement déterminé.

c.4. Luméfántrine

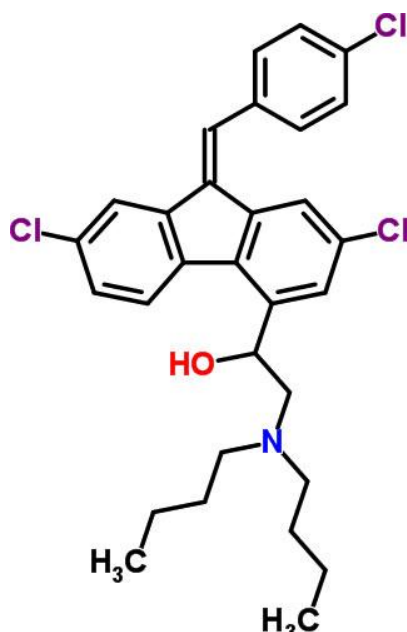


Figure 34 : structure chimique de la Luméfántrine (ou benflumetol) [87]

(Masse moléculaire : 528,939 g.mol⁻¹)

La luméfántrine est quasiment toujours associée à l'artéméther sous l'appellation « co-artemeter » et commercialisée sous le nom de Coartem® en Afrique ou Riamet® en France où il fait partie de la réserve hospitalière. Cette association fait ainsi partie des CTA, recommandés par l'OMS dans le traitement du paludisme simple à *P. falciparum*.

Cette association a fait ses preuves en matière de tolérance, de sécurité d'emploi et d'efficacité notamment dans des zones à multiples résistances [88], [89]. L'artéméther est d'action rapide (pic de concentration plasmatique atteint 2h après administration) tandis que la luméfántrine a une action plus lente (pic de concentration plasmatique atteint 6h à 8h après administration).

Il n'y a quasiment pas d'effets indésirables neurologiques ou cardiaques. On retrouve plus rarement une légère augmentation asymptomatique de l'espace QT largement moindre qu'avec l'halofantrine. Il y a un risque d'étourdissement et de fatigue, ainsi que des troubles digestifs (nausées, vomissements, diarrhées) et éventuellement quelques troubles du sommeil.

d. Les Sesquiterpènes

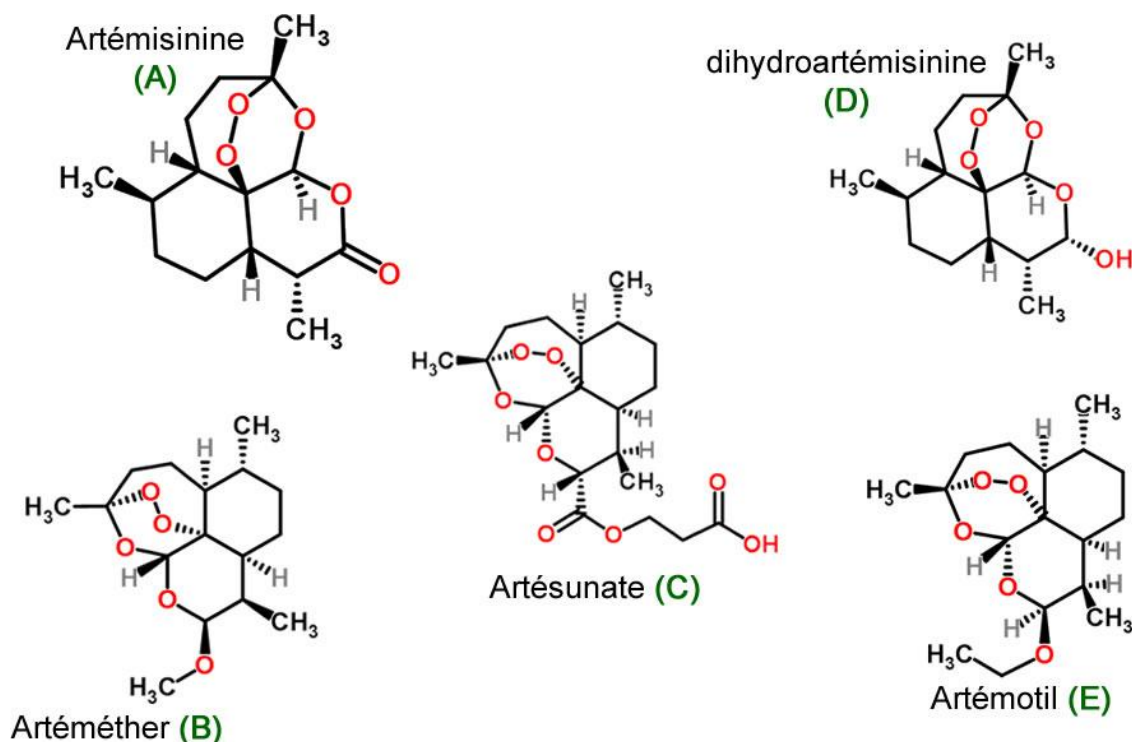


Figure 35 : Structure de l'artémisinine et de ses dérivés [90]

(Masses moléculaires : A=284,33 g.mol⁻¹ ; B=298,37 g.mol⁻¹ ; C=384,42 g.mol⁻¹ ; D=284,4 g.mol⁻¹ ; E=312,4 g.mol⁻¹)

Cette classe d'antipaludéens regroupe l'artémisinine ainsi que les dérivés semi-synthétiques (artéméther, artésunate). L'artémisinine est un alcaloïde extrait d'un arbuste chinois, le qinghaosu ou qing hao (*Artemisia annua*, famille des Astéracées), connu depuis plus de 2000 ans en Asie.



Figure 36 : le qinghaosu (*Artemisia annua*) [91]

Face aux résistances croissantes aux autres antipaludiques, l'artémisinine constitue un souffle nouveau pour l'arsenal thérapeutique. L'OMS l'a considéré en 2001 comme « le plus grand espoir mondial contre le paludisme ». Sa synthèse étant rendue difficile par sa structure et sa symétrie particulière, on utilise plutôt les dérivés semi-synthétiques, plus actifs, ayant des caractéristiques différentes : l'artéméther est lipophile et stable alors que l'artésunate est hydrosoluble et instable.

Les dérivés de l'artémisinine sont bien tolérés et entraînent rapidement une baisse de la densité parasitaire et une disparition des symptômes. Ils sont actifs sur les parasites poly-chimiorésistants, sur la transmission (par élimination des jeunes gamétocytes : Figure 22) et aussi sur les schizontes érythrocytaires (action schizonticide). L'alkylation de l'hème et de protéines parasites seraient responsables de l'activité pharmacologique de ces composés

D'abord utilisés sous des formes thérapeutiques contenant exclusivement de l'artémisinine (monothérapie), on les emploie aujourd'hui uniquement sous formes de combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine. En effet, l'OMS a demandé en janvier 2006 l'arrêt de la commercialisation des dérivés de l'artémisinine en monothérapie, celle-ci accélérant les résistances [92].

Ces CTA constituent à l'heure actuelle la première ligne thérapeutique dans le traitement du paludisme simple en zone endémique. On retrouve, à activité quasi identique, l'artésunate associé à l'amodiaquine sous le nom commercial de Arsucam[®] et également l'association de l'artésunate à la méfloquine.

D'autres associations existent avec des molécules vues précédemment; on retrouve ainsi :

- Artéméther + luméfantrine = Coartem[®] ou Riamet[®]
- Artésunate + sulfadoxine-pyriméthamine(SP) = Arsudar[®]
- Dihydroartémisinine + pipéraquine = Artekin[®] ou Eurartesim[®]

Ces associations synergiques garantissent une élimination rapide du parasite ainsi que la disparition des symptômes tout en empêchant la recrudescence due à des parasites ayant survécus dans les hématies. Il y a cependant aucune activité des CTA sur les formes hypnozoïtes. Seule la primaquine (voire la tafénoquine, actuellement en phase de développement) constitue le traitement de lutte contre ces dernières.

Il n'y a pas de résistance clinique majeure actuellement avec ces CTA, même si quelques résistances aux traitements commencent à apparaître en Asie où ils sont le plus utilisés.

e. Les antimétabolites

Ils regroupent :

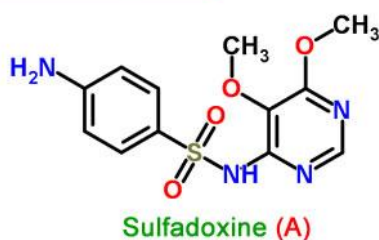
- Les sulfamides (sulfadoxine, dapsons, sulfone)
- Les biguanides (proguanil, chlorproguanil)
- Les diaminopyridines (pyriméthamine)

Les formulations thérapeutiques sont constituées par l'association d'antifoliques (sulfadoxine et dapsons) et à des antifoliniques (pyriméthamine, proguanil, chlorproguanil).

D'action faible mais rapide, les antifoliques bloquent la synthèse d'acide folique en inhibant la dihydroptéroate synthétase, enzyme nécessaire à la conversion de PABA

(*para-aminobenzoic acid*) en acide folique. Les acides foliques sont nécessaires à la synthèse, la réparation et la méthylation de l'ADN parasite des *Plasmodium spp.*. Le blocage de leur synthèse entraîne ainsi des difficultés de reproduction du parasite. L'association aux antifoliques, inhibiteur de la DHFR (Dihydrofolate réductase participant à la biosynthèse nucléotidique) d'action lente, entraîne une synergie dans l'action antiparasitaire.

ANTIFOLIQUES



ANTIFOLINIQUES

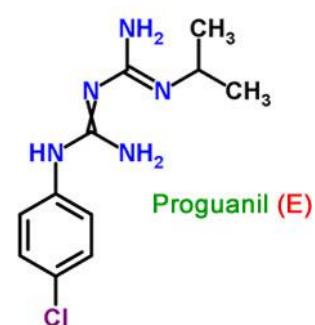
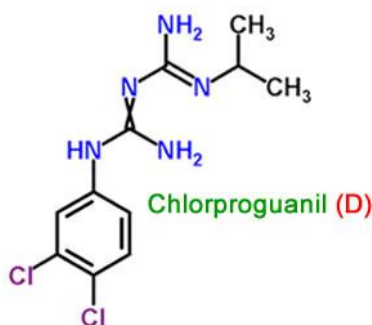
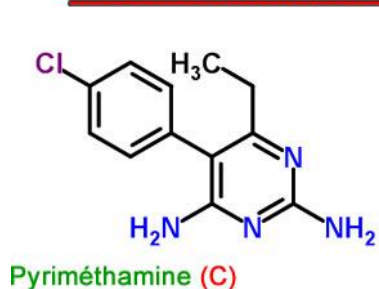


Figure 37 : Antifoliques et antifoliques [90]

(Masse moléculaire : A=310,33 g.mol⁻¹ ; B=248,30 g.mol⁻¹ ;

C=248,71 g.mol⁻¹ ; D=288,18 g.mol⁻¹ ; E=3253,73 g.mol⁻¹)

La toxicité hématologique oblige à une surveillance pendant le traitement. La survenue d'un syndrome de Lyell (toxicité cutanée), surtout due aux antifoliques, touche 13 cas sur 100 millions de traitements (dont à peu près 6 cas mortels sur les 13). Des effets secondaires digestifs (nausées, vomissements, diarrhées) et d'autres effets cutanés de type photosensibilité sont rencontrés avec cette classe.

L'association sulfadoxine-pyriméthamine (Fansidar®) est utilisée chez la femme enceinte en zone endémique, en traitement préventif intermittent contre le paludisme. La sulfadoxine étant un antagoniste de l'acide folique, il y a un risque de carence chez la femme enceinte, pouvant entraîner une anémie ou l'absence de fermeture du tube neural chez le nouveau-né. On fera ainsi systématiquement une supplémentation en acide folique.

f. Analogues de l'ubiquinone

Le cytochrome Q ou ubiquinone participe au transfert des électrons dans la chaîne respiratoire de la mitochondrie.

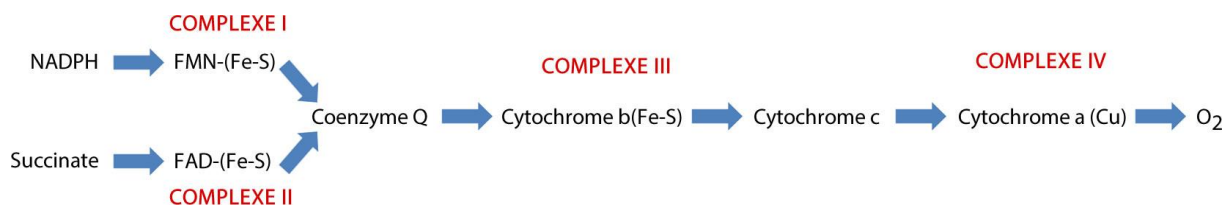


Figure 38 : chaîne respiratoire mitochondriale

Les analogues de l'ubiquinone vont ainsi bloquer la chaîne respiratoire mitochondriale du parasite et inhiber la synthèse de l'ATP (adénosine-5'-triphosphate, source d'énergie de la cellule). Les cellules parasitaires sont ainsi privées d'énergie et meurent.

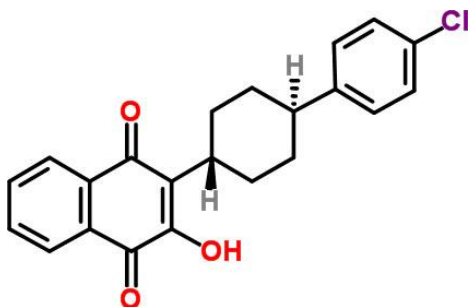


Figure 39 : Structure chimique de l'atovaquone [93]

(Masse moléculaire 366,83 g.mol⁻¹)

L'atovaquone est une hydroxy-1,4-naphthoquinone appartenant à la classe des naphthalènes. C'est un schizonticide intra-érythrocytaire, associé dans les formulations au proguanil (antifolinique vu précédemment). L'atovaquone a une faible absorption digestive qui peut être augmentée par une prise concomitante avec un bon repas ou une collation lactée. Elle inhibe également le développement pré-érythrocytaire du parasite dans le foie et celui des oocystes chez le moustique.

L'atovaquone est aussi un médicament anti-parasitaire contre la pneumocystose (due à *Pneumocystis jirovecii*), la toxoplasmose (due à *Toxoplasma gondii*), la babésiose (due à *Babesia divergens* ou *Babesia microti*).

L'association atovaquone-proguanil (Malarone[®]) est fréquemment utilisée en chimio-prophylaxie pour les zones 2 (chloroquino-résistance) et zones 3 (chloroquino-résistance élevée ou multi-résistances). (Chapitre sur la chimio-prophylaxie)

La Malarone[®] est plutôt bien supportée, mis à part de très rares troubles hématologiques (anémie, neutropénie) ainsi que quelques soucis digestifs (nausées, douleurs abdominales, diarrhées, soulagées par une prise pendant les repas).

Des interactions médicamenteuses sont à prendre en compte, notamment les contre-indications en cas d'association aux cyclines, à la rifamycine et au métoclopramide.

g. Les antibiotiques

Certains antibiotiques sont utilisables en traitement ou prophylaxie pour le paludisme. Cela s'explique par la présence d'une activité schizonticide érythrocytaire et intra-hépatique (pour les cyclines) ou uniquement érythrocytaire (clindamycine). Cette activité faible et lente explique le fait que dans certains cas, on les associe à la quinine afin de renforcer l'action de celle-ci lors des traitements de souches résistantes à la quinine. On les utilise en traitement anti-malarique ou en prophylaxie (doxycycline = Doxypalu®) pour les zones 3.

Certains de ces antibiotiques (clindamycine et azithromycine notamment) sont utilisés en traitement hors AMM (Autorisation de Mise sur le Marché). La doxycycline dispose d'une AMM en France pour la prophylaxie du paludisme mais pas pour le traitement (utilisation hors AMM).

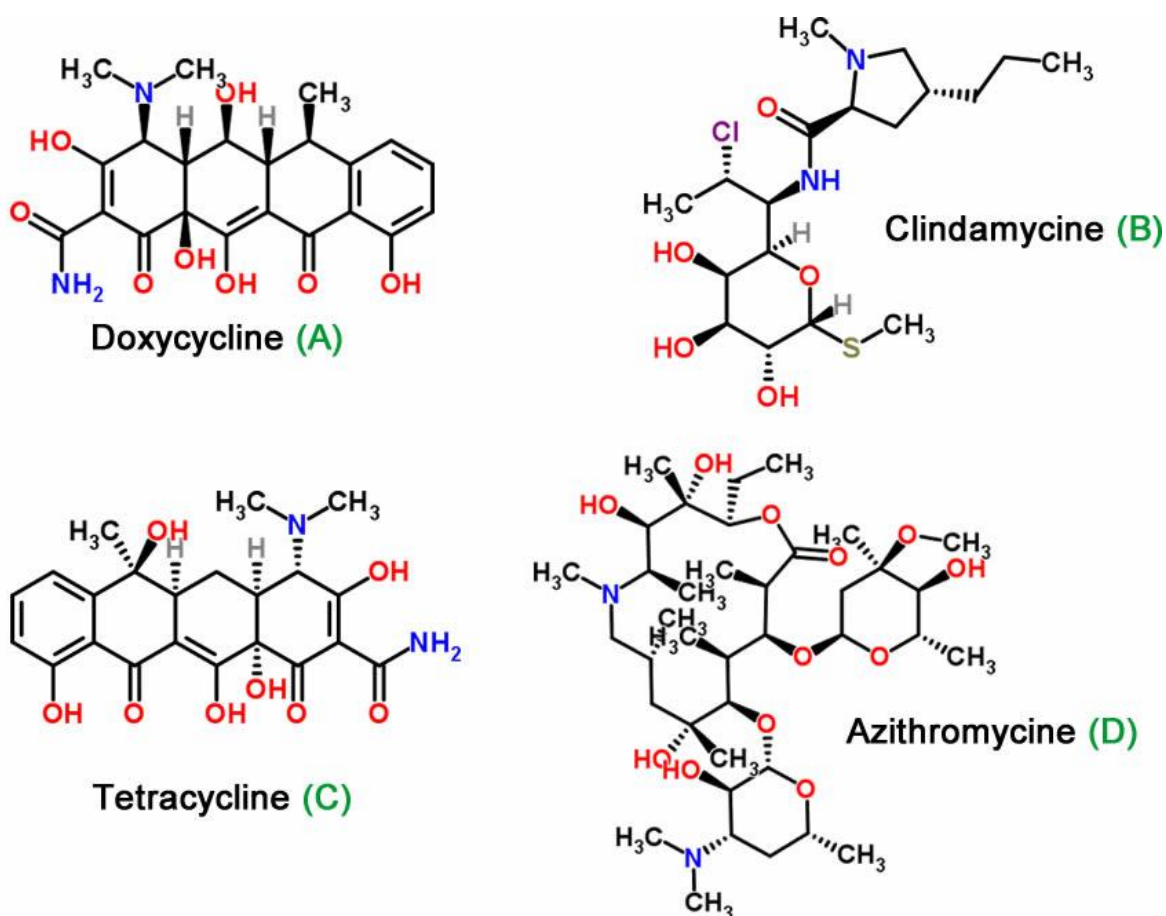


Figure 40 : Structures chimiques des antibiotiques utilisés dans le paludisme [90]

Masse moléculaire (A=444,43 g.mol⁻¹ ; B= 424,98 g.mol⁻¹ ;
C= 444,44 g.mol⁻¹ ; D= 748,98 g.mol⁻¹)

On utilise de moins en moins la tétracycline. En effet, la doxycycline, qui est son dérivé, a une durée de demi-vie (10 à 24h) plus longue que celle de la tétracycline (8h). On facilite ainsi l'observance par des doses plus réduites. Les effets indésirables de la doxycycline sont digestifs (gastralgies, œsophagites) et cutanés (photosensibilisations et allergie). Les effets indésirables digestifs peuvent être

limités par la prise des traitements pendant un repas. Son utilisation reste contre-indiquée chez l'enfant de moins de 8 ans et chez la femme enceinte à partir du 2^{ème} trimestre.

La clindamycine (Dalacine[®]) est utilisée hors AMM en traitement en cas de contre-indication à la doxycycline. Ses effets indésirables sont surtout digestifs chez 5 à 20% des patients (nausées, vomissements, douleurs abdominales). Il y a un risque de colique pseudomembraneuse. On retrouve rarement certains cas de leucopénie, d'agranulocytose et de thrombopénie.

2. Résistances aux traitements

Au cours de l'évolution, les parasites ont su déjouer les pièges et résister aussi bien à l'immunité naturelle qu'aux traitements. L'identification et la connaissance des mécanismes et des cibles de ces résistances doit permettre de stimuler la recherche dans la découverte de nouveaux moyens de lutte (nouvelles molécules, recherche de vaccins, moyens de prévention).

La définition de la résistance selon l'OMS est basée sur des critères cliniques et parasitologiques (recrudescence et survie des parasites à la concentration sanguine efficace du traitement) [94].

Les parasites notamment *P. falciparum* développent des résistances et s'adaptent en permanence à l'évolution des molécules de l'arsenal thérapeutique. Ces résistances sont dues à différents phénomènes.

La grande variabilité génétique des parasites constitue l'une des sources d'échappement au système immunitaire et aux traitements (altération de son mécanisme d'action ou la modification des cibles). Les parasites pouvant atteindre un nombre élevé, on a plus de chance de voir apparaître une mutation, qui favorisera l'émergence ou la modification de caractéristiques. La transmission à la descendance engendrera une population de parasites résistants. Contrairement à de nombreux types de cellules parasitaires (où une surexpression compense la perte d'activité), ces mutations dans la plupart des cas s'accompagnent d'une capacité de reproduction/multiplication diminuée. La « pression médicamenteuse » joue ainsi un rôle particulier dans la sélection de parasites résistants. La pression médicamenteuse peut se définir par l'usage abusif ou le mésusage de thérapeutiques, par des utilisations en monothérapie. Lorsqu'une pression médicamenteuse est introduite, les variants résistants ont un avantage réplcatif et deviennent dominants au sein de la population parasitaire. En l'absence de pression médicamenteuse, cet avantage se perd et les variants résistants sont dépassés par les parasites de type « sauvage » (plus adaptés). Par exemple, on s'est rendu compte que lorsqu'on supprimait la chloroquine des zones où les parasites étaient chloroquino-résistants, les souches sensibles à la chloroquine réapparaissaient aux dépens des souches résistantes [95].

Ensuite, la mauvaise utilisation des traitements antiparasitaires entraîne des phénomènes de sélection de souches résistantes. Cela est visible par exemple lorsqu'il y a mauvaise observance du traitement conduisant à un traitement incomplet ne permettant pas une élimination optimale des parasites.

Enfin, divers autres facteurs peuvent entrer en jeu comme un sous-dosage dû à une mauvaise posologie, une contrefaçon du médicament ou une monothérapie plus facilement contournable par le parasite.

L'utilisation prophylactique des antipaludiques participerait de manière mineure à ces phénomènes de résistance. Seule l'association sulfadoxine+pyriméthamine, utilisée en traitement préventif intermittent chez la femme enceinte dans certaines régions endémiques, explique en partie la résistance à ces molécules.

Médicament	Marqueur de résistance		Niveau de validation
	Gène ou locus	Allèle associé à la résistance ou à la diminution de sensibilité	
Chloroquine	<i>pfcr1</i>	Lys76Thr	Association <i>in vivo</i>
	<i>pfmrp</i>	His191Tyr et Ser437Ala	Association <i>in vitro</i>
Amodiaquine	<i>pfmdr1</i>	Asn86Tyr	Association <i>in vitro</i>
	<i>pfmrp</i>	His191Tyr et Ser437Ala	Association <i>in vitro</i>
Méfloquine	<i>pfmdr1</i>	Nombre de copie > 1	Association <i>in vivo</i>
Sulfadoxine-Pyriméthamine	<i>pfdhfr</i>	Ser108Asn	Association <i>in vivo</i>
	<i>pfdhfr</i>	Triple mutation : Ser108Asn + Asn51Ile + Cys59Arg	Association <i>in vivo</i>
	<i>pfdhps</i>	Ala437Gly	Association <i>in vivo</i>
	<i>pfdhps</i>	Double mutation : Ala437Gly + Lys540Glu	Association <i>in vivo</i>
	<i>pfdhfr</i> + <i>pfdhps</i>	Quintuple mutation : Ser108Asn (<i>dhfr</i>) + Asn51Ile (<i>dhfr</i>) + Cys59Arg (<i>dhfr</i>) + Ala437Gly (<i>dhps</i>) + Lys540Glu (<i>dhps</i>)	Association <i>in vivo</i>
	<i>pfmrp</i>	Lys1466Arg	Association <i>in vivo</i>
Proguanil (cycloguanil)	<i>pfdhfr</i>	Ser108Thr + Ala16Val	Association <i>in vivo</i>
	<i>pfdhfr</i>	Double/triple mutation : Ser108Asn + Asn51Ile et/ou + Cys59Arg	Association <i>in vivo</i>
Atovaquone	<i>pfcytb</i>	Tyr268Asn ou Tyr268Ser	Association <i>in vivo</i>
Luméfantine	<i>pfmdr1</i>	Asn86 & Nombre de copie > 1	Sélection d'allèle en cas d'échec thérapeutique
Quinine	<i>pfmhe-1</i> (ms4760)	Nombre de motifs : DNNND > 2 ou NHNDNHNNDDD < 3	Association <i>in vitro</i>
	<i>pfmrp</i>	His191Tyr et Ser437Ala	Association <i>in vitro</i>
Doxycycline	<i>pftetQ</i>	Nombre de motif KYNNNN < 3	Association <i>in vitro</i>
	<i>pftetQ</i>	Nombre de copie > 1	Association <i>in vitro</i>
	<i>pfmdt</i>	Nombre de copie > 1	Association <i>in vitro</i>
Artéméthér	<i>pfserca</i>	Ser769Asn	Association <i>in vitro</i> en Guyane

Figure 41 : Marqueurs moléculaires de résistance de *P. falciparum* aux antipaludiques [94]

L'essor de la biologie moléculaire (appareils plus performants, rapidité d'exécution) a permis d'accroître les moyens de diagnostic et d'étude des résistances. Différents marqueurs moléculaires ont été ainsi identifiés par génotypage de l'ADN parasitaire.

La Figure 41 présente les mutations géniques impliquées dans les résistances à la plupart des antipaludiques. Ces résistances concernent aujourd'hui la grande majorité des molécules de l'arsenal thérapeutique.

On commence aussi à trouver quelques résistances aux ACT très localisées, pour l'instant en Asie du sud-est notamment. Elles sont dues à l'utilisation souvent plus ancienne et massive de ces ACT dans ces zones.

La mise en évidence de ces résistances s'effectue par des tests *in vivo* développés et standardisés en 1965 par l'OMS et révisés plusieurs fois. Ces tests d'efficacité thérapeutique ont pour principe l'utilisation d'une dose standard d'un antipaludique sur des malades infectés par *P. falciparum* et le suivi de l'évolution (disparition des symptômes et suivi de la parasitémie) pendant 28 jours.

Les phénomènes de résistances croisées entre antipaludiques s'expliquent surtout par des similitudes au niveau des mécanismes d'action. Ces phénomènes sont pour l'instant limités et on les rencontre essentiellement avec la sulfadoxine+pyriméthamine et de manière plus rare en Asie avec l'association atovaquone+proguanil (Malarone®).

3. Traitement curatif

Le choix du traitement est dépendant de l'espèce de *Plasmodium spp.* incriminée, de la gravité des symptômes, des résistances et des particularités individuelles (allergies, femme enceinte, enfant, contre-indications ...).

La prise en charge doit permettre l'élimination des formes parasitaires mais également prendre en compte les différents troubles qui pourraient apparaître en lien direct avec l'infection ou le traitement en lui-même (effets indésirables prévisibles ou non). Les troubles hémodynamiques (hypotension ou signes de chocs) seront ainsi à surveiller et corriger (par exemple par un remplissage si état de choc et si besoin). L'anémie, rarement majeure d'emblée, peut évoluer rapidement. Les convulsions, les troubles de la conscience, les collapsus, les troubles de la glycémie et également l'acidose métabolique seront à surveiller. L'insuffisance rénale souvent aiguë sera également à prendre en charge. Dans le cas d'IRA consécutive à la fièvre bilieuse hémoglobino-urique (FBHU) ou d'un syndrome hémolytique urémique (SHU), on évitera l'utilisation de la quinine.

a. Paludisme à *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae*

La chloroquine (Nivaquine®) reste le traitement de choix efficace lors de l'accès simple dû à *P. vivax*, *P. malariae* et *P. ovale*. On l'utilise à la posologie de 25mg/kg en 3 jours chez l'enfant et l'adulte de moins de 60kg soit à J1 10mg/kg puis à h6 5mg/kg et aussi 5mg/kg à J2 et J3. Pour l'adulte de plus de 60kg, le schéma thérapeutique est le suivant : 600mg à J1 puis 300mg 6h plus tard (h6) et enfin 300mg à J2 et J3.

Chez la femme enceinte, la quinine peut augmenter les contractions d'un utérus manifestant déjà une tendance contractile prématurée.

En cas de souches chloroquino-résistantes, il est possible d'avoir recours à la méfloquine ou à l'halofantrine.

La méfloquine (Lariam® 250mg) sera utilisée à la dose de 25mg/kg sur 24h. Chez un sujet de 60kg, on aura par exemple : 2 comprimés (cp) le matin, 2 cp le midi et 2 cp le soir. Les effets indésirables neuropsychiques seront à surveiller. On peut l'utiliser chez la femme enceinte (absence d'effet abortif et tératogène).

L'halofantrine (Halfan® 250mg) sera également utilisée à 25mg/kg en trois prises espacées de 6h. Les effets cardiaques sont à prendre en compte (ECG à effectuer avant, pendant et à la fin du traitement). L'halofantrine sera plutôt utilisée en cas de contre-indication aux autres anti-malariques.

b. Paludisme à *P. knowlesi*

P. knowlesi a un cycle de 24h, court comparé aux autres *Plasmodium spp.*. La densité parasitaire augmente ainsi très rapidement. Le paludisme causé par *P. knowlesi* est traitable par les anti-malariques tels que la chloroquine ou la méfloquine (25mg/kg sur 24h), en privilégiant l'usage de la chloroquine (schéma posologique identique à celui pour un paludisme à *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae*) pour les souches non compliquées.

c. Paludisme à *P. falciparum*

Des algorithmes de prise en charge des accès palustres à *P. falciparum* ont été définis dans la plupart des services d'urgence, afin de prendre en charge rapidement le patient en fonction de son état clinique et de la symptomatologie.

Pour les formes simples du paludisme à *P. falciparum*, du fait de la chloroquino-résistance de ce dernier, on utilise en traitement la quinine, l'halofantrine, la méfloquine, l'atovaquone associée au proguanil, l'association de l'artéméthér et de luméfántrine ou d'amodiaquine ou encore l'association de sulfadoxine et de pyriméthamine (Tableau 13). Le choix s'effectue en fonction des particularités du sujet (type de sujet, contre-indications, allergie et intolérance) et de l'état du patient.

Pour les formes graves du paludisme à *P. falciparum* (accès pernicieux), il s'agit d'une urgence pour laquelle le diagnostic doit être posé rapidement. Un traitement urgent par la quinine par voie intraveineuse (IV) doit être ainsi mis en place. On l'emploie à la dose maximale de 25mg/kg sur 3 à 5 jours dans un sérum glucosé (perfusion de glucose à 10%). On commence ce traitement par une dose de charge de 17mg/kg en 4h puis une dose d'entretien de 8mg/kg (en 8h) à renouveler toutes les 8h (soit au total 24mg/kg/24h). Un relais per os est possible en fonction de l'évolution de l'état du patient à partir de J3 ou J4 par la quinine par voie orale, pour une durée totale de 7jours. La quininémie (concentration efficace en quinine) doit être comprise entre 10 et 13mg/L. Ce dosage permet d'éviter un surdosage qui pourrait être fatal (troubles cardiaques, atteintes hépatique et rénale). Un premier

dosage est effectué après la dose de charge puis à la 37^{ième} heure et de manière hebdomadaire par la suite.

On vérifiera toujours qu'il n'y a pas eu d'utilisation antérieure de méfloquine ou d'halofantrine pour ne pas majorer la cardio-toxicité. On laisse ainsi un intervalle de 6h avec la dernière prise de méfloquine ou 12h avec la dernière prise d'halofantrine.

En cas de suspicion de souche multi-résistante ou de sensibilité diminuée à la quinine (fréquente dans de nombreux pays d'Asie du sud-est), on ajoutera au traitement (i) soit de la doxycycline (100mg/j si l'enfant a entre 8 à 12 ans et 100mg 2fois par jour si >12ans) pendant 7 jours (ii) soit de la clindamycine au dosage de 100mg/kg toutes les 8 à 12h.

Le traitement complémentaire comme indiqué au début de ce chapitre, sera la mise en route de traitements symptomatiques en fonction de l'état du patient : réanimation et rééquilibrage hydro-électrolytique, oxygène, antibiotiques si coinfection bactérienne, intubation, ventilation assistée, transfusion si anémie, benzodiazépines si convulsions.

Produits	Posologies	
	Adultes	Enfants
Quinine <i>Quinimax</i> [®]	8mg/kg en 3 prises par jour pendant 7j (max 25mg/kg/j)	8mg/kg en 3 prises par jour pendant 7j (max 25mg/kg/j)
Halofantrine <i>Halfan</i> [®]	3 prises de 2cp de 250mg, espacées de 6h (ECG à faire) 2 ^{ème} cure à j7 avec une ½ dose	3 prises de 8mg/kg, espacées de 6h (ECG à faire) 2 ^{ème} cure à j7 avec une ½ dose
Méfloquine <i>Lariam</i> [®]	25mg/kg/jour en 2 ou 3 prises, espacées de 6 à 12h	25mg/kg/jour en 2 ou 3 prises, espacées de 6 à 12h
Atovaquone+proguanil <i>Malarone</i> [®]	4cp adulte en 1 prise /j pendant 3 jours	5-9kg : 2cp péd. /j pendant 3j 9-11kg : 3cp péd. /j pendant 3j 11-20kg : 1cp adulte/j pendant 3j 21-30kg : 2cp adulte/j pendant 3j 31-40kg : 3cp adulte/j pendant 3j >40kg : 4cp adulte /jour pendant 3j
Artéméter+luméfantrine <i>Coartem</i> [®] ou <i>Riamet</i> [®]	Première prise de 4cp 5 prises de 4cp 8h, 24h, 36h, 48h et 60h après la première prise	5-15kg : une prise de 1cp puis 1cp à 8h, 24h, 36h, 48h ; 60h 15-25kg : une prise de 2cp puis 2cp à 8h, 24h, 36h, 48h ; 60h 25-35kg : une prise de 3cp puis 3cp à 8h, 24h, 36h, 48h ; 60h
Sulfadoxine+Pyriméthamine <i>Fansidar</i> [®]	2 à 3 cp en 1 prise ou 2 à 3 ampoules en 1 seule injection IM	Environ ½ cp pour 10kg de poids <12kg : ½ cp ou ½ ampoule IM 12-20kg : 1cp ou ½ à 1 ampoule IM 20-30kg : 1 à 1,5cp ou 1 à 1,5 ampoules IM 30-50kg : 1,5 à 2kg ou 1,5 à 2 ampoules IM
Dosages des différentes formes Quinine : cp dosés à 125mg ou 500mg ou solution injectable 125mg/ml, 250mg/2ml et 500mg/4ml Halofantrine : cp dosés à 250 mg ou solution buvable de 100mg/5ml Atovaquone+proguanil : cp adulte : 250mg/100mg ; cp pédiatrique 62,5mg/25mg Artéméter+luméfantrine : cp 20mg/120mg Sulfadoxine+pyriméthamine : cp 500mg/25mg et ampoule IM dosée à 500mg/25mg		

Tableau 13 : Différents traitements curatifs du paludisme à *P. falciparum*

d. Fièvre bilieuse hémoglobinurique

Etant une réaction anaphylactique à l'usage de quinine, on devra la quinine proscrire des thérapeutiques utilisées. Une épuration extra-rénale sera mise en place dans la plupart des cas afin de corriger les défaillances cardiovasculaires et rénales.

e. Paludisme congénital

Le traitement de l'enfant sera débuté, en fonction de son état, soit par (i) chloroquine per os (en sirop) : 100 mg/j pendant 2 jours, puis 50 mg/j pendant 3 jours, puis 1 cuillère-mesure (soit 25 mg) 1 jour sur 2 pendant 2 mois, soit par la (ii) chloroquine IV ou IM (25 mg/kg/j) pendant 3 jours.

4. Mesures de prévention

Ces mesures sont applicables à l'ensemble des populations exposées au risque de paludisme. Certaines d'entre elles cependant ne sont pas réalisables, par exemple la chimioprophylaxie pour les personnes vivants en zone endémique (sauf le Fansidar® pour le traitement préventif intermittent chez la femme enceinte). Chez le voyageur ou le touriste qui arrive en zone endémique, de nombreux obstacles existent :

- Absence ou manque d'informations sur le sujet, notamment auprès des agences de voyages et des compagnies aériennes
- Problèmes d'observance de traitement
- Refus du traitement par certains patients ou un coût de traitement élevé

Il est ainsi primordial de bien expliquer et de participer à l'éducation thérapeutique du patient sur ce sujet en faisant comprendre qu'on « quitte son environnement pour un autre ». Le paludisme reste et demeure une maladie potentiellement mortelle pour laquelle des traitements prophylactiques pratiques et efficaces existent.

La prophylaxie est basée sur la protection contre les piqûres et/ou la prise d'un traitement de chimioprophylaxie. Pour les touristes ou voyageurs, l'association de ces deux mesures est indispensable pour garantir une excellente protection.

a. Mesures de protection

Les moustiques piquent essentiellement entre 22 h et 3 h du matin mais aussi en début de soirée (18h-20h). Il est très important de se protéger de leurs piqûres. Différents moyens de prévention ont été évalués afin de déterminer leur efficacité relative. Ces données sont présentes dans le Tableau 14. L'évaluation de ces différentes mesures montre que les moustiquaires imprégnées d'insecticides et les répulsifs cutanés restent les mesures les plus efficaces.

En plus de ces mesures, on peut également rajouter la pulvérisation dans la maison d'insecticides, le port de vêtements longs (chemises à manches longues, pantalons) et l'élimination des réservoirs d'eaux stagnantes autour de l'habitation.

Moyens	Maladies	Paludisme, Filariose, West Nile...
Moustiquaire imprégnée d'insecticide		++++
Moustiquaire imprégnée ou non, de berceau, de poussette... pour un enfant avant l'âge de la marche		++++
Pulvérisation intra-domiciliaire d'insecticides rémanents (méthode réservée aux professionnels de la lutte anti-vectorielle, indépendante et non disponible pour les voyageurs)		+++
Pulvérisation intra-domiciliaire de « bombes » insecticides (disponibles dans le commerce)		++
Diffuseur électrique d'insecticide (à l'intérieur)		++
Grillage anti-moustiques aux fenêtres et portes		++
Climatisation		+
Ventilation		+
Répulsifs cutanés		+++
Vêtements imprégnés d'insecticide		++
Serpentin fumigène (extérieur)		+
Sources : IRD, InVS		++++ : les plus efficaces ; + : les moins efficaces

Tableau 14 : Efficacité relative des moyens de prévention disponibles contre les piqûres de moustiques [33]

L'Institut de Veille Sanitaire (InVS) a dressé une liste des composants actifs utilisés comme répulsifs par catégorie d'âge et de population ainsi que leurs concentrations efficaces (Tableau ci-dessous) [33].

Catégorie d'âge et de population	Nombre maximum d'applications par jour	Substance active	Concentrations
De 6 mois à l'âge de la marche	1	DEET ¹	10 à 30%
	1	PMDBO ²	20 à 30%
	1	IR3535 ³	20%
De l'âge de la marche à 24 mois	2	DEET ¹	10 à 30%
	2	PMDBO ²	20 à 30%
	2	IR3535 ³	20%
De 24 mois à 12 ans	2	DEET ¹	20 à 30%
	2	Picaridine	20 à 30%
	2	PMDBO ²	20 à 30%
	2	IR3535 ³	20 à 35%
Plus de 12 ans	3	DEET ¹	20 à 50%
	3	Picaridine	20 à 30%
	3	PMDBO ²	20 à 30%
	3	IR3535 ³	20 à 35%
Femmes enceintes	3	DEET ¹	30%
	3	Picaridine	20%
	3	PMDBO ²	20%
	3	IR3535 ³	20%

* Disponible sur <http://www.medicine-voyages.fr/publications/ppavtextecourt.pdf>

** En cas d'exposition aux anophèles vecteurs des *Plasmodium*, agents du paludisme, la concentration minimale efficace de DEET est de 30%.

¹ Le DEET (N,N-diéthyl-m-toluamide) a fait l'objet d'une évaluation au niveau européen dans le cadre de la Directive Biocides 98/8/CE ; une restriction d'usage est émise chez l'enfant âgé de moins de 2 ans. Cependant, en cas de risque élevé de transmission d'une maladie vectorielle, il est utilisable sur une période courte en respectant scrupuleusement le nombre d'applications maximum admis et les conditions pratiques d'usage chez l'enfant.

² PMDBO, Para-Menthane-3,8, diol Rich Botanical Oil, mélange de *cis*- et *trans*-p-menthane-3,8 diol.

³ L'IR3535, la picaridine et le PMDBO sont en cours d'évaluation au niveau européen.

Tableau 15 : Concentrations des substances actives entrant dans la composition de répulsifs corporels jugés efficaces en fonction des tranches d'âge et de population [33]

Toutes les mesures de prévention, citées plus haut, doivent s'associer aux autres moyens de prévention face aux autres risques sanitaires encourus par le voyageur (hépatites, fièvre jaune, rage, fièvre typhoïde, diarrhée du voyageur ...).

b. Chimioprophylaxie

La chimioprophylaxie dépend du pays visité, classé dans une zone en fonction de la chloroquino-résistance. Les traitements prescrits doivent tenir compte des recommandations actualisées de l'OMS sur le pays visité, de la personne (âge, sexe, antécédents pathologiques et thérapeutiques, des intolérances ou contre indications et des particularités du sujet : grossesse, enfant). L'OMS répartit les pays en 4 zones majeures selon la résistance du paludisme la chloroquine :

- Zone 0 : Pas de paludisme – Pas de chimioprophylaxie
- Zone 1 : Pas de chloroquino-résistance
- Zone 2 : Chloroquino-résistance présente
- Zone 3 : Chloroquino-résistance élevée ou multi-résistance

Produits et zones	Posologies		
	Adultes	Enfants	Durée
Nivaquine® 100mg (chloroquine) ZONE 1	1 cp / j	1,5 mg/kg/jour	Jour du départ, pendant le séjour et durant les 4 semaines qui suivent le retour.
Savarine® 200mg/100mg (proguanil+ chloroquine) ZONE 2	- 1cp/j de savarine® ou - 1cp de Nivaquine et 2cp de Paludrine	1,5 mg/kg par jour de Chloroquine associé à 3 mg/kg/j de Proguanil	
Malarone® (atovaquone+proguanil) ZONE 2 et 3	<i>Cp adulte dosé à 250 mg/100mg</i> 1cp par jour	<i>Cp pédiatrique dosé à 62,5 mg/25mg</i> 5-7kg : 1/2cp/j 7-11Kg : 3/4cp/j 10-20kg : 1cp/j 21-30kg : 2cp/j 31-40kg : 3cp/j	A commencer la veille ou le jour du départ, pendant le séjour et durant 1 semaine après le retour.
Lariam® 250 mg (méfloquine) ZONE 3	1cp / semaine	5mg/kg/semaine 15-19kg : 50mg/sem 20-30kg : 100mg/sem 31-45kg : 200mg/sem	A prendre 10j avant le départ, puis 3j avant le départ et 1cp par semaine pendant le séjour et jusqu'à 3 sem après le retour.
Doxypalu®, DoxyGé® (doxycycline) Cp dosés à 50mg ou 100mg ZONE 3	1cp/j	<i>Enfant > 8ans</i> <40kg : 50mg/j >40kg : 100mg/jour	Début la veille du départ et jusqu'à 4sem au retour. A prendre avec un repas le soir, au moins 1h avant le coucher

Tableau 16 : Chimioprophylaxie antipaludique chez l'adulte et l'enfant selon les zones de chimiorésistances

Chez la femme enceinte, en plus des mesures de protection citées plus haut, la prophylaxie est primordiale face aux risques encourus, expliqués dans le chapitre sur la clinique du paludisme. Ni abortives ni tératogènes, les molécules utilisables en chimioprophylaxie chez la femme enceinte sont présentées dans le Tableau 17.

Zones	Traitements prophylactiques chez la femme enceinte
ZONE 1	Nivaquine® 100mg (chloroquine) 1 cp par jour A commencer le jour du départ, pendant le séjour et durant les 4 semaines qui suivent le retour.
ZONE 2	Savarine® 200mg/100mg (proguanil + chloroquine) 1cp de Savarine® ou 1cp de Nivaquine® associé à 2cp de Paludrine® par jour A commencer le jour du départ, pendant le séjour et durant les 4 semaines qui suivent le retour.
ZONE 3	Malarone® 250mg/100mg (atovaquone+proguanil) 1 cp par jour A commencer la veille ou le jour du départ, pendant le séjour et durant 1 semaine après le retour. Lariam® 250 mg (méfloquine) 1cp par semaine A prendre 10j avant le départ, puis 3j avant le départ et 1cp par semaine pendant le séjour et jusqu'à 3 sem après le retour. Le Lariam® est souvent préféré par sa prise hebdomadaire, mais il ya ne faut pas oublier les effets indésirables comme le prurit ou les troubles digestifs ou les risques suicidaires (chez les personnes avec un antécédent)

Tableau 17 : Chimioprophylaxie antipaludique chez la femme enceinte

Chez la femme enceinte en zone endémique , l'OMS recommande un traitement préventif intermittent (TPI) par sulfadoxine+pyriméthamine (Fansidar® 500mg/25mg) pendant la grossesse [96], [97], [37]. On fera également une supplémentation en acide folique car la sulfadoxine est un antagoniste de l'acide folique.

La résistance du parasite aux antipaludiques et celle des moustiques aux insecticides compromettent gravement les efforts déployés dans le monde pour vaincre la maladie. La lutte contre le paludisme demeure un combat de longue haleine. Face à l'expansion des résistances et l'absence de découverte de nouvelles molécules, la recherche vaccinale apparait comme un moyen de contrer et de prévenir une des maladies les plus meurtrières au monde.

IV. La vaccination antipaludique : Perspectives et réalités

A. Intérêts et avantages de la vaccination en zone endémique

Avec un enfant tué toutes les 30 secondes et plus de deux milliards d'individus exposés selon l'OMS, le bilan du paludisme est accablant [1], [2], [3].

La disponibilité d'un vaccin contribuerait grandement aux efforts mondiaux visant à contrôler cette menace majeure pour la santé humaine. C'est un besoin médical urgent qui constituerait un espoir immense. Un vaccin antipaludique compléterait les moyens de lutte, de protection et de contrôle de la maladie.

En zone endémique, on protégerait efficacement les femmes enceintes, les nouveau-nés et les enfants qui sont les populations les plus atteintes par la maladie ainsi que les adultes. En plus du nombre de vies sauvées, la vaccination améliorerait grandement les conditions de vie (réduction des incapacités dues à la maladie). On aurait ainsi une réduction de la mortalité, de la morbidité, des dépenses (consultation, médicaments, frais d'hospitalisation) et les pertes économiques pourraient être grandement réduites.

B. Difficultés de conception

Une des difficultés majeures dans la mise au point d'un vaccin antipaludique est qu'au cours de sa vie le parasite passe successivement par plusieurs stades avec des phases d'intense multiplications sexuée et asexuée chez l'homme et chez l'insecte (Voir le chapitre sur Le cycle biologique des *Plasmodium* spp.).

A chaque phase du cycle, des formes parasitaires porteuses d'antigènes différents induisent ainsi des réponses immunitaires différentes, ce qui complique d'autant plus la recherche d'un vaccin.

Cette complexité s'illustre également à l'échelle du génome des *Plasmodium* spp.. Par exemple, le génome de *P. falciparum*, l'espèce la plus dangereuse, séquencé en 2002, est constitué de 23 mégabases. Il est composé de 14 chromosomes, codant pour plus de 5000 gènes soit plus de 3 à 4 fois ceux d'*Escherichia coli* [98]. Contrairement aux eucaryotes libres, le génome parasite est simplifié et code pour moins d'enzymes et de transporteurs mais une grande proportion de gènes sont consacrés à échapper au système immunitaire et à élaborer des interactions avec l'hôte.

C. Antigènes ciblés et les différents candidats vaccins

1. Candidats vaccins et antigènes

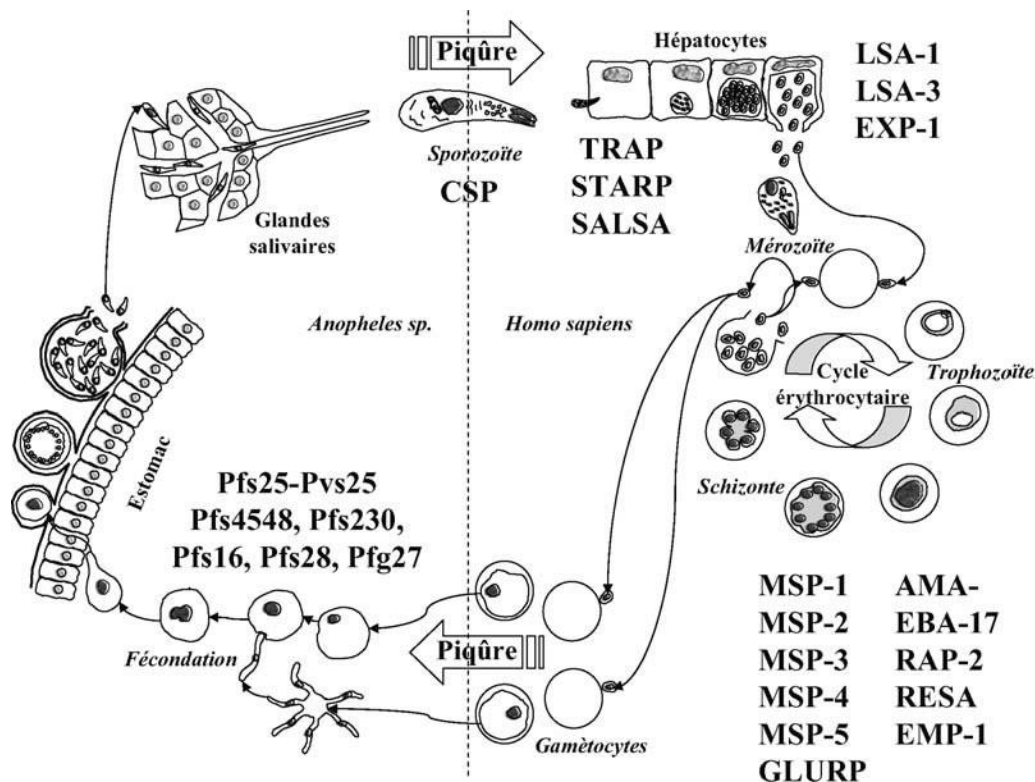


Figure 42 : Cycle des *Plasmodium* spp. humains et antigènes visés [99]

Les recherches vaccinales contre le paludisme ont commencé avec l'émergence des premières résistances aux traitements antipaludiques [100]. Ces travaux étaient basés plutôt sur des modèles animaux que sur des essais cliniques. Dans les premières expériences, des rats, qui avaient reçu des parasites de rongeur (*Plasmodium berghei*) exposés à 20000 rads de rayons X, étaient partiellement protégés contre des parasites non irradiés [101], [102].

L'évolution de la science, des méthodes d'études et plus particulièrement les avancées sur la compréhension des mécanismes de la "prémunition" (pas totalement élucidés encore) dans le cadre du paludisme ont confirmé et renforcé les projets de conception de vaccins antipaludiques.

Une vingtaine d'antigènes a été identifiée comme cibles potentielles pour la conception d'un vaccin antipaludique (Figure 42). La majorité des candidats vaccins a jusqu'à présent eu un développement peu avancé.

Ces stratégies vaccinales visent le blocage d'une ou plusieurs des différentes phases d'évolution du parasite aussi bien chez l'homme (stade pré-érythrocytaire ou érythrocytaire) que chez le moustique (fécondation, fixation à la paroi de l'estomac, multiplication dans les glandes salivaires).

a. Stade pré-érythrocytaire

L'idée serait d'empêcher la libération de mérozoïtes dans le sang. On ciblera donc l'approche vaccinale sur les stades pré-érythrocytaires c'est-à-dire les sporozoïtes ou les schizontes hépatiques afin de stimuler une réponse immunitaire dirigée contre les antigènes qu'ils portent. On espère ainsi, en empêchant leur production ou leur développement dans l'organisme humain, interrompre le cycle parasitaire.

Le vaccin antipaludique RTS,S, actuellement en phase 3, est dirigé contre l'antigène CSP (*Circumsporozoite Protein*) présent à la surface des sporozoïtes et des schizontes hépatiques. Cette protéine présente des régions bien conservées, retrouvées chez la plupart des *Plasmodium spp.*. C'est sur ce vaccin que portera principalement notre étude. D'autres vaccins, ayant également pour cible la CSP mais ne présentant pas d'avancée remarquable, ne seront pas abordés ici.

De nombreux antigènes pré-érythrocytaires autres que CSP font aussi l'objet de recherches. On retrouve ainsi ceux du stade hépatique (*Liver Stage Antigen* : LSA-1 et LSA-3), la protéine adhésive apparentée à la thrombospondine (*Thrombospondin-related adhesive protein*), la protéine de sporozoïte riche en thréonine et en asparagine (*Sporozoite threonine and asparagine rich protein*) et aussi l'antigène des sporozoïtes et du stade hépatique (*Sporozoite And Liver Stage Antigen* : SALSA).

Une protection complète se basant sur le stade pré-érythrocytaire nécessiterait une efficacité de 100%, qui est encore loin d'être atteinte avec les candidats vaccinaux actuels. On se rapproche donc plutôt de modèles vaccinaux qui permettraient une réduction des incidences (symptômes, incapacité) ou de la fréquence des accès simples et graves du paludisme, ce qui serait déjà un très grand pas.

b. Stade érythrocytaire asexué

L'objectif des vaccins à ce niveau serait d'empêcher l'invasion des globules rouges par les mérozoïtes. En effet, ces derniers, en pénétrant dans les hématies, forment une vacuole parasitophore qui leur permet d'échapper au système immunitaire.

Les processus d'adhésion à l'hématie et de synthèse de la vacuole parasitophore font intervenir une multitude d'antigènes dont les protéines de surface des mérozoïtes (*Merozoite Surface Protein* : MSP), l'antigène de la membrane apicale (*Apical Membrane Antigen* : AMA-1), les protéines riches en glutamate (*Glutamate Rich Protein* : GLURP) ou en sérine (*Serine Repeated Antigen* : SERA), l'antigène de surface des érythrocytes infectés (*Ring Infected Erythrocyte Surface Antigen* : RESA).

Plusieurs tests sont en cours actuellement sur ces antigènes pour des candidats vaccins notamment sur l'antigène MSP-3 [103], [104]. Après des essais de phase I, le développement de ce vaccin par l'institut Pasteur est actuellement au stade des essais de phase 2. Les résultats bien que préliminaires sur un petit effectif se sont montrés prometteurs (64 à 77% de protection chez 45 enfants âgés de 12 à 24 mois). On attendra les résultats d'études à grande ampleur qui devrait se terminer en 2012 ou 2013 au Mali.

c. Action sur le stade sexué ou la transmission

Ce modèle vaccinal, dit « altruiste », induit une immunité ne protégeant pas directement le vacciné mais plutôt la communauté en réduisant la multiplication des parasites et donc la transmission de la maladie.

Les gamétocytes (précurseurs des gamètes) n'évoluent pas chez l'homme et assurent simplement la transmission au moustique et ainsi l'accomplissement du cycle parasitaire. L'induction d'anticorps dirigés contre les antigènes des gamètes pourrait ainsi prévenir et empêcher la fécondation des gamètes mâles et femelle chez le moustique. Les recherches ont permis de cibler différents antigènes parasitaires en pré et post fécondation (fusion des gamètes).

Les antigènes Pfs230, Pfs48/45 chez *P. falciparum* et Pvs230 chez *P. vivax* ont été identifiés comme des possibles cibles vaccinales en pré-fécondation [105]. Ce sont des protéines situées en régions périphériques des gamétocytes mais aussi à la surface des gamètes. Les anticorps dirigés contre ces antigènes entraînent une lyse des gamètes et/ou gamétocytes, bloquant ainsi l'activité de transmission [106], [107]. Cette action est dépendante du complément pour Pfs230 et Pvs230 alors qu'à l'opposé, il n'y a pas besoin de l'intervention d'un complément pour Pfs48/45 [108].

Deux protéines apparentées, Pfs25 et Pfs28, ont été retrouvées à la surface des zygotes et ookinètes de *P. falciparum*. Ils contiennent chacun un tandem de 4 domaines EGF-like (*Epidermal Growth Factor*). Les anticorps contre Pfs25 empêchent la transformation du zygote à l'ookinète alors que ceux dirigés contre Pfs28 empêchent la traversée de l'épithélium de l'estomac de l'anophèle. Ces protéines sont à l'étude pour une utilisation en tant que composants de vaccins bloquant la transmission (post-fécondation) [109], [110], [111]. Ces vaccins sont actuellement en phase 1 du développement clinique. D'autres homologues de ces protéines sont également retrouvés chez d'autres espèces, notamment Pvs25 et Pvs28 pour *P. vivax* ou encore Pbs25 et Pbs28 pour *P. berghei* [112].

Des études récentes chez *Anopheles gambiae* (vecteur majeur de *P. falciparum* en Afrique) ont montré que l'expression de certains gènes est modifiée en présence de *P. falciparum* [113]. C'est le cas notamment des gènes cpbAg1 et cpbAg2. Ces gènes codent pour des carboxypeptidases B (CPB) de l'intestin du moustique et sont surexprimés en présence de *P. falciparum* dans le repas sanguin de l'insecte. Lors des essais, des anticorps anti-cpAg1 ont permis d'inhiber l'activité de CPB et de bloquer le développement du parasite dans l'intestin du moustique. On a donc une reproduction réduite des parasites chez le moustique. Des essais de vaccination de souris avec la protéine CPBAg1 ont montré que cette protéine pourrait constituer une nouvelle cible vaccinale pour le développer un vaccin anti-transmission basé sur un antigène caractérisé de moustique [113], [114].

L'inconvénient majeur de ces candidats vaccins, c'est qu'en zone endémique, il faudrait une couverture vaccinale quasi-totale pour avoir une efficacité réelle. En effet, un petit nombre d'individus infectés suffirait à retransmettre la maladie.

L'application reste donc limitée aux zones les moins impaludées en complément d'autres mesures anti-malariques.

2. Les différentes phases de développement d'un vaccin antipaludique

Plus d'une trentaine de candidats vaccins sont actuellement en phases d'essais précliniques et cliniques [115]. Le candidat RTS,S/AS01, en phase 3, est le plus avancé actuellement.

Ces essais constituent une étape critique du développement d'un vaccin. Ils permettent d'évaluer son innocuité, son immunogénicité (capacité à induire une réaction immunitaire suffisante et efficace) et surtout son efficacité sur les hommes, le tout en analysant également les éventuels effets indésirables.

L'efficacité peut se définir par deux notions : l'efficacité sérologique et clinique. L'efficacité sérologique se caractérise par l'immunogénicité, qui définit elle-même la capacité du vaccin à induire, chez le vacciné, la production et la persistance d'anticorps spécifiques neutralisants au-delà d'un seuil considéré comme protecteur. La seconde notion, l'efficacité clinique, se caractérise par l'efficacité vaccinale (EV) qui est le taux de réduction de la fréquence de la maladie (ici le paludisme) attribuable à la vaccination (gravité, symptômes).

La stratégie de mise au point d'un vaccin antipaludique est basée sur trois différentes grandes étapes.

Une première étape biologique qui consiste à identifier, caractériser et produire les antigènes capables de stimuler les réponses immunitaires protectrices.

Une seconde étape préclinique chez les animaux, au cours de laquelle des études toxicologique et d'immunogénicité (extrapolation) seront réalisées.

La dernière grande étape d'étude clinique chez l'homme est généralement divisée en 4 phases résumées ci-dessous :

- La phase 1 est conçue pour évaluer différents critères : l'innocuité, la tolérance, l'immunogénicité et également l'effet attendu. Elle implique entre 20 à 80 sujets adultes sains non-immuns sur une période allant jusqu'à un an.
- Les essais de phase 2 visent à évaluer l'efficacité, la tolérance, l'innocuité et l'immunogénicité sur une centaine de volontaires. Ils se déroulent pendant 2 ans voire plus et mettent en évidence l'immunité protectrice en condition d'exposition expérimentale (phase 2a) ou naturelle (phase 2b).
- La phase 3 est effectuée dans les populations cibles exposées au paludisme. On teste l'efficacité potentielle et l'immunogénicité mais aussi la tolérance et l'innocuité à grande échelle cette fois (des centaines voire des milliers de sujets). Si les résultats sont concluants, le fabricant pourra déposer une Autorisation de Mise sur le Marché (AMM) auprès des autorités compétentes.
- Les essais de phase 4 sont qualifiés également d'études de surveillance ou d'études d'observation après la mise sur le marché. Ils permettent le recueil

de données concernant les effets indésirables secondaires et/ou graves non détectés aux cours des précédentes phases d'essais cliniques. On étudie également l'efficacité réelle et la durée de protection des personnes vaccinées (effet direct) ou non vaccinées (effet indirect) et celle de la communauté (immunité de groupe). Ils établissent également l'impact sur la situation épidémiologiques afin d'optimiser les stratégies de distribution. Ces essais durent de 4 à 6 ans.

D. Le candidat-vaccin antipaludique RTS,S

1. Introduction

Le candidat-vaccin RTS,S est le fruit d'une très longue recherche dont la conception et les prémices de développement ont démarré dans les années 1980. C'est un candidat-vaccin pré-érythrocytaire qui cible la protéine de surface du sporozoïte (*Circumsporozoite Protein* : CSP). Les essais de phase 2 effectués chez des nourrissons, des enfants et des adultes en zones endémiques ont été concluants en démontrant la réduction de la morbidité due au paludisme. Depuis mars 2009, ce candidat-vaccin est entré en phase 3 des essais cliniques. Cette phase 3 est réalisée actuellement dans 11 centres basés dans 7 pays en Afrique sub-saharienne : Burkina Faso, Gabon, Ghana, Kenya, Malawi, Mozambique, Tanzanie.

2. Le vaccin RTS,S

a. Introduction

Le vaccin RTS,S représente plus d'une vingtaine d'années de recherche et de développement. C'est le fruit de la collaboration entre les laboratoires GlaxoSmithKline (GSK) Biologicals et divers partenaires dont le *Walter Reed Army Institute of Research* (WRAIR), le programme PATH Malaria Vaccine Initiative (MVI) et la fondation Bill et Melinda Gates.

Les laboratoires britanniques GlaxoSmithKline (GSK), 6^{ème} mondial en termes de chiffre d'affaires 2010, sont présents dans de nombreux domaines thérapeutiques et tiennent une place importante dans la vaccinologie [116]. En 1984, en collaboration avec le WRAIR, GSK développait l'utilisation de l'antigène de l'hépatite B (Ag Hbs) comme matrice de support pour la région centrale répétée de CSP de *P. falciparum* [117]. C'est de ces données que l'on a permis la conception du vaccin RTS,S.

Le WRAIR, administré par le ministère américain de la défense, est l'un des plus grand centre de recherche biomédicale. Basé à Silver Spring dans le Maryland, il est dédié au développement de médicaments, de dispositifs de diagnostic et de vaccins pour protéger le personnel militaire, en particulier contre les maladies tropicales comme le paludisme. Ces recherches ont notamment conduit aux essais et à l'élaboration de différentes molécules antipaludiques dont la méfloquine, la primaquine, la tafénoquine, l'association atovaquone-proguanil, l'halofantrine [118].

Les premiers candidats vaccins, basés sur les régions répétées de CSP, ont été testés sur des sujets non immuns dans les années 1980 à l'Université du Maryland

et au WRAIR [119], [120], [121]. Ils étaient formulés avec des adjuvants à base d'aluminium. Le candidat RTS,S/AS, dirigé également contre CSP, a été formulé avec différents systèmes d'adjuvants (AS). Ces derniers sont la propriété de GSK. Les premiers essais cliniques de RTS,S/AS sur des volontaires sains non-immuns se sont déroulés au WRAIR (Figure 46) [122], [123], [124].

Le développement de RTS,S a été accéléré grâce au PATH MVI, qui avait financé des essais qui se sont révélés prometteurs sur des enfants de 1 à 4 ans au Mozambique (Figure 47) [125], [126]. Le PATH Malaria Vaccine Initiative (MVI) est un programme mondial de l'organisme international à but non lucratif PATH (*Program for Appropriate Technology in Health*). MVI a été créé en 1999 grâce à une subvention de près de 107,6 millions de \$ US de la fondation Bill et Melinda Gates [127]. Son but est d'accélérer le développement de vaccins contre le paludisme et d'assurer leur disponibilité et l'accessibilité pour les pays en voie de développement.

Tous ces acteurs ainsi que l'OMS et l'ensemble des intervenants et des chercheurs ont permis de rendre le projet d'un vaccin antipaludique réalisable. Dans les lignes qui suivront, nous détaillerons les différentes étapes de développement.

b. La protéine de surface du sporozoïte (CSP)

Dans les années 1960, la faisabilité d'un vaccin contre le paludisme fut démontrée par Ruth Nussenzweig de l'Université de New York. En effet, elle a prouvé que l'immunisation d'animaux contre la malaria était possible par des piqûres de moustiques infectés, faiblement irradiés [102], [128]. En 1973, des études similaires ont montré une immunisation chez un homme soumis à des piqûres (entre 1000 et 2000 piqûres) de moustiques irradiés et que cette protection empêchait la ré-infestation par les sporozoïtes, pendant près de 10 mois [129], [130]. Plus récemment, l'immunisation a également été prouvée avec des sporozoïtes génétiquement modifiés ou atténués [131]. Mais ces démonstrations ont évidemment peu de chances d'être des moyens pratiques de vaccination de masse. Elles ont confirmé la faisabilité du développement d'un vaccin pré-érythrocytaire. Cela a conduit également à la découverte et à l'identification de la protéine de surface du sporozoïte (CSP).

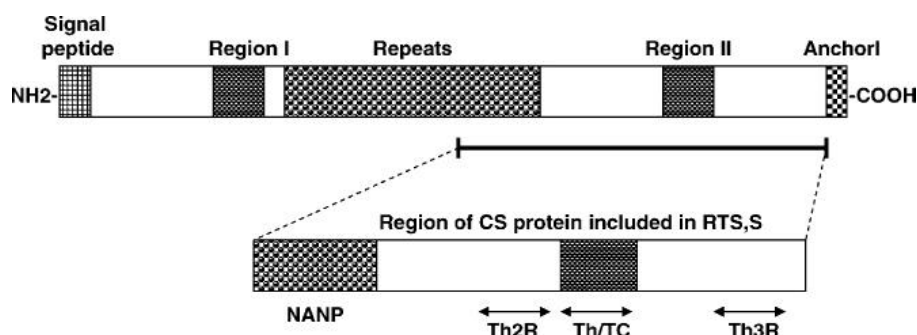


Figure 43 : Représentation schématique de la CSP [126]

C'est une protéine de 58kD contenant 412 acides aminés. Abondamment exprimée à la surface des sporozoïtes, elle est également présente sur les schizontes hépatiques du parasite. Elle est caractérisée par une région centrale bien conservée

dans le genre *Plasmodium* d'approximativement 41 séquences répétées NANP (N : Asparagine ; A : Alanine ; P : Proline), précédée d'une région mineure centrale de séquence alternant NVDP (V : Valine ; D : Acide aspartique) et NANP.

La région N-terminale serait impliquée dans l'invasion des glandes salivaires de l'anophèle et dans la liaison aux hépatocytes. La région centrale et la région C-terminale participent également à ces phénomènes et sont en plus impliquées dans la mobilité des sporozoïtes.

La protéine CSP est immunogène : la région centrale est constituée par des épitopes reconnus par les anticorps produits par les lymphocytes B et la région C-terminale comporte à la fois des épitopes de cellules B mais aussi de cellules T (lymphocytes T) avec Th2R et Th3R (Figure 43).

c. Les adjuvants : AS (Adjuvant Systems)

Un adjuvant ou immuno-modulateur se définit comme étant une substance, qui n'a pas d'action antigénique, mais qui est administrée en même temps qu'un antigène et qui va permettre de stimuler, d'activer, de prolonger, de renforcer ou de moduler le système immunitaire.

Les adjuvants sont souvent constitués de sels d'aluminium ou d'émulsion (eau dans huile ou huile dans eau ou eau dans huile dans eau) qui stabiliseront l'antigène. Afin d'améliorer la réponse immunitaire, les adjuvants sont souvent accompagnés de stimulants bactériens qui peuvent agir comme des ligands TLRs (Toll-like-receptors).

La stratégie est ainsi de trouver le meilleur adjuvant qui permettra d'amplifier de façon bénéfique la réaction immunitaire. Dans cet objectif, plus d'une dizaine d'adjuvants différents a été testée avec le RTS dans des études précliniques *in vitro* puis sur des modèles animaux pour vérifier l'innocuité et évaluer l'immunogénicité. Parmi ces candidats, plusieurs se sont relevés prometteurs et ont été testés chez l'homme. Ce sont AS04, AS03, AS02, AS01.

L'adjuvant AS04 est constitué d'aluminium et de MPL (Monophosphoril Lipid A). Le MPL est un dérivé de LipoPolySaccharides (LPS) présent dans la membrane de certaines bactéries gram négatifs. Le LPS va ainsi agir comme un signal de danger et stimuler les macrophages et les cellules dendritiques. Sa liaison avec le récepteur LBP (*Lipid Binding Protein*) et les TLR-4 (*Toll-like-receptor-4*) va entraîner une cascade de réactions participant à la libération de cytokines pro-inflammatoires (IL-1, IL-12, IL-23).

L'adjuvant AS03 est une émulsion huile-dans-eau. D'aspect blanc laiteux, cette émulsion est ainsi constituée de squalène (lipide hydrocarboné). L'AS03, breveté par GSK, a également été utilisé pour les vaccins grippaux Pandemrix® et Arepanrix® lors de la pandémie grippale de 2009.

AS02 et AS01 contiennent tous les deux les immunostimulants MPL et QS21. Le QS-21 est une saponine extraite de la plante sud-américaine *Quillaja saponaria* dont

la fonction serait d'interagir avec les composants du vaccin afin de diminuer les risques de rejet par le système immunitaire.

L'AS02 est constituée d'une émulsion huile-dans-eau contenant MPL et QS21. L'adjuvant AS02A est issu du remplacement du thiomersal (composé organo-mercuriel utilisé comme agent conservateur) par du lactose dans la formule originale d'AS02. Ce changement est dû à des suspicions de neurotoxicité du composé thiomersal. AS02A correspond à 50µg de MPL et 50µL de QS21. L'AS02D est une autre formulation qui a été utilisée chez les nourrissons. Elle correspond à la moitié de la composition d'AS02A, soit 25µg de MPL et 25µg de QS21 (Tableau 18).

Quant à l'AS01, dans ce dernier, l'émulsion huile-dans-eau d'AS02A est remplacée par des liposomes^j. L'encapsulation de RTS,S dans des liposomes améliore la présentation antigénique aux cellules T. On favorise ainsi la production d'anticorps et une meilleure réponse des cellules T cytotoxiques contre l'antigène RTS,S [132]. L'adjuvant AS01B est utilisé dans la formulation adulte de RTS,S (RTS,S/AS01B). Il est composé de 50µg de MPL et de 50µg de QS21. Le candidat RTS,S/AS01E est la formulation sélectionnée pour le développement clinique de phase 3. L'adjuvant AS01E correspond à une demi-dose d'AS01B, soit 25µg de MPL et 25µg de QS21.

Ces différents adjuvants ont été évalué avec les formulations de RTS,S/AS au cours d'essais que nous détaillerons plus tard.

d. Formulation

Le candidat vaccin RTS,S/AS est une structure hybride composée d'un antigène recombinant dérivé de la CSP de *P. falciparum* avec l'antigène de surface de l'hépatite B (Ag HbS ou S) et un système d'adjuvant (AS), propriété de GSK (Figure 43 et Figure 44).

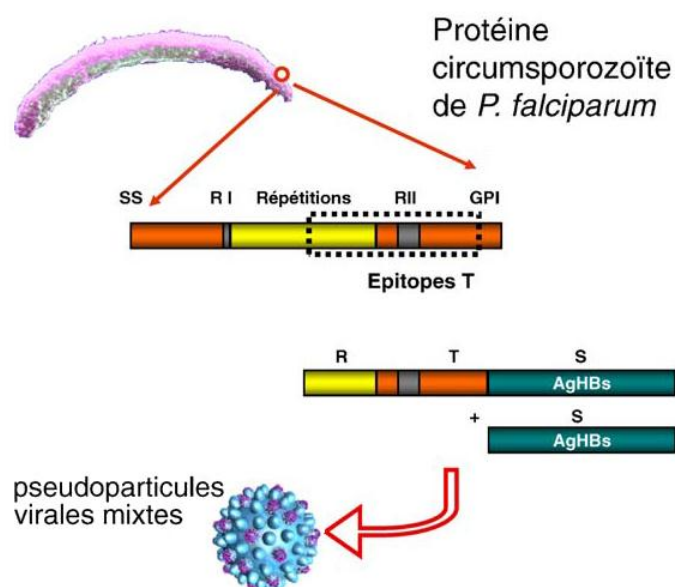


Figure 44 : L'antigène vaccinal RTS,S [133]

^j Un liposome est une vésicule artificielle formée par des bicouches lipidiques concentriques, emprisonnant entre elles des compartiments aqueux [165].

La protéine de fusion RTS,S est ainsi formulée par l'association de la région centrale répétée (R) et la région C-terminale de la CSP de *P. falciparum*, contenant les épitopes T (T), le tout fusionnant avec l'Ag HbS (S). D'où son nom RTS,S.

L'antigène RTS,S, sous forme de particules pseudo-virales, est associé à des adjuvants (AS). Le Tableau 18 présente les différentes associations qui ont été testées.

L'utilisation de particules du virus de l'hépatite B provient de données de recherches sur le virus de l'hépatite B. Ces données expliquent qu'une concentration suffisante de l'antigène virale (Ag HbS) permet un assemblage sous forme de pseudo-particules virales favorisant la présentation antigénique aux cellules T [134].

Formulations	Fraction lyophilisée	Fraction liquide				Etapas clés
	RTS,S (µg)		MPL (µg)	QS21 (µg)	Volume de la dose (mL)	
RTS,S/AS02A (dose 0,5mL)	50	Emulsion huile-dans-eau	50	50	0,5	Efficacité chez l'adulte dans le modèle d'épreuve [123] et en pays endémiques [135]
RTS,S/AS02A (dose 0,25mL)	25	Emulsion huile-dans-eau	25	25	0,25	Efficacité contre l'accès palustre chez l'enfant au Mozambique [136], [137], [138]
RTS,S/AS02D	25	Emulsion huile-dans-eau	25	25	0,5	Efficacité chez le nourrisson. Formulation pédiatrique [139], [140], [141]
RTS,S/AS01B	50	Liposomes	50	50	0,5	Efficacité chez l'adulte dans le modèle d'épreuve [142] et en pays endémiques [143]
RTS,S/AS01E	25	Liposomes	25	25	0,5	Formulation pédiatrique. Efficacité contre l'accès palustre chez l'enfant au Kenya et en Tanzanie [144]
RTS,S/AS01E : Formulation sélectionnée pour le développement clinique de phase III						

Tableau 18 : composition de différentes formulations de RTS,S/AS [133]

3. Mécanisme de l'immunogénicité de RTS,S

Comme décrit plus haut, la reconnaissance par le système immunitaire s'effectue par la région centrale qui comprend des épitopes de lymphocytes B et la région C-terminale qui comporte à la fois des épitopes de cellules B mais aussi de cellules T. Il y aurait ainsi deux types de réaction immunitaire : une réponse humorale et une réponse cellulaire.

a. Réponse humorale : les anticorps anti-CSP

Le vaccin RTS,S/AS entraîne une réponse humorale forte avec les anticorps anti-CSP, par la présence des épitopes de cellules B dans la région répétée centrale. Ces conclusions sont issues des résultats des premières expériences chez des adultes naïfs vis-à-vis du paludisme et en zone endémique.

De plus, les résultats de ces essais ainsi que les données sur les mesures des titres d'anticorps ont montré que l'immunogénicité de RTS,S n'était pas affectée ou influencée négativement par l'immaturité du système immunitaire chez l'enfant. RTS,S/AS a été plus immunogène chez l'enfant que chez l'adulte lors des différentes études. Des investigations supplémentaires sont ainsi en cours, notamment pour vérifier l'existence d'une interférence négative avec l'immunité naturelle chez l'adulte.

La corrélation entre le titre d'anticorps et la protection contre l'infection a été prouvée lors d'études au WAIR ainsi qu'en zones endémiques (Tanzanie, Kenya et au Mozambique) (Figure 45). Les volontaires protégés contre l'infection avaient des titres d'anticorps anti-CSP supérieurs à ceux des personnes non-protégées [126].

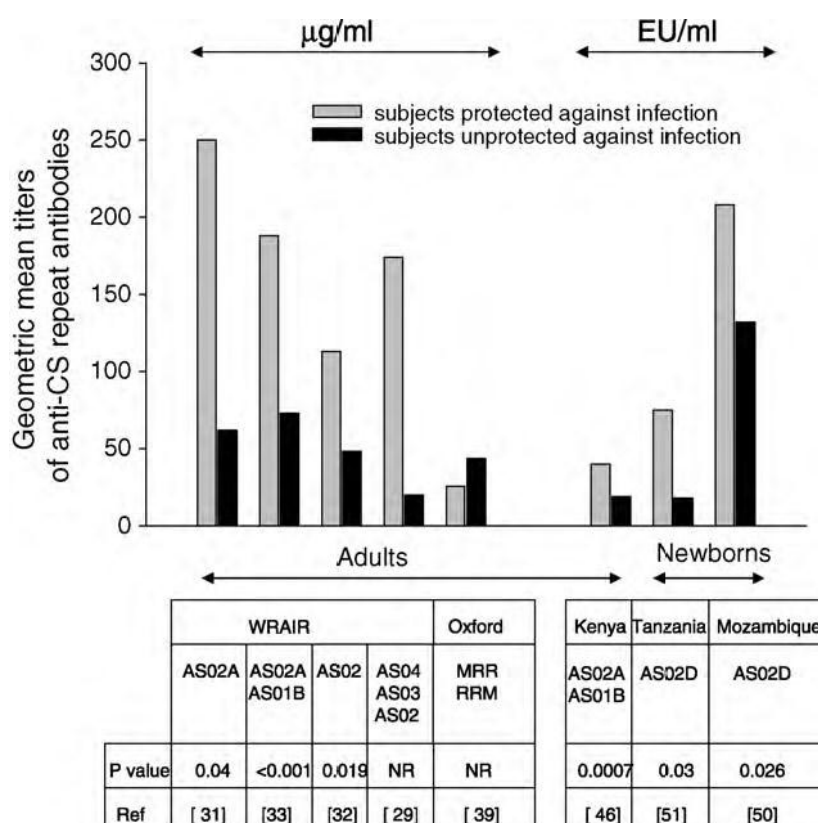


Figure 45 : Corrélation entre les titres d'anticorps anti-CSP et la protection contre l'infection [126]

Seule l'étude d'Oxford présente des résultats différents [145]. Les sujets non protégés présentaient en effet un titre d'anticorps supérieur aux sujets protégés. Cette étude déterminait la sécurité et l'immunogénicité d'un candidat vaccin ChAd63-CS administré seul ou avec MVA-CS (vaccin booster). ChAd63-CS est basé sur un virus affectant les chimpanzés (Chimpanzee Adenovirus 63, ChAd63), modifié génétiquement pour l'inactiver chez l'homme et en y ajoutant en plus le gène codant

pour CSP. MVA-CS est basé sur des virus génétiquement modifiés appelés MVA (*modified vaccinia virus Ankara*) et a servi de vaccin booster. L'explication pourrait être l'existence d'interférence entre RTS,S et MVA-CS sur l'amorçage, la différenciation, la survie des cellules B spécifiques des zones répétées de CSP.

Le rôle des anticorps anti-CSP est de participer à l'élimination des sporozoïtes des hépatocytes infectés par différents mécanismes [146]. On retrouve :

- Une action cytotoxique par activation du système du complément
- Un processus de lyse cellulaire dépendant des anticorps ADCC (*Antibody dependent cell cytotoxicity*) par les cellules NK (*Natural Killer*) grâce aux récepteurs Fc, qui sont situés à la surface de ces cellules et qui participent aux fonctions de protection.
- La neutralisation directe des sporozoïtes par inhibition de leur motilité par glissement à travers les cellules (*gliding motility*).

a. Réponse cellulaire

Les résultats des différents essais de RTS,S (au WAIR et au Mozambique) ont montré qu'il y avait aussi une corrélation entre la réponse T cellulaire et la protection contre l'infection. Les analyses par ELISpot^k et ICS (IntraCellular Staining : coloration intracellulaire) ont permis d'associer cette protection aux cellules T CD4 (production d'interleukine-2 : IL-2, d'interféron-gamma : INF γ et de Tumor necrosis Factor-alpha : TNF α) et/ou aux cellules T CD8 (produisant des INF γ).

Les tests immunologiques par ELISpot ont également montré que les lymphocytes T CD4 (cellules majeures produisant l'INF γ) étaient directement dirigés contre la région C terminale qui contient les épitopes TH2R, T* et CS.T3 (voir Figure 43).

4. Evaluation des candidats vaccins RTS,S/AS

Les premiers essais, menés chez les volontaires sains naïfs vis-à-vis du paludisme et infectés expérimentalement par des sporozoïtes, ont été menés par le WRAIR.

Ces tests ont véritablement montré l'importance du choix des adjuvants dans la conception et la formulation. Chaque adjuvant entraînant une stimulation différente du système immunitaire, la protection qui en résulte est ainsi variable.

Les différents adjuvants ont été ainsi testés dans les différents essais d'évaluation du candidat vaccin RTS,S/AS.

^k ELISPOT (*enzyme-linked immunosorbent spot*) est un test immunologique basé sur la technique ELISA. Son principe consiste à capturer la sécrétion de molécules par des cellules (anticorps ou cytokines) sur un support solide sensibilisé. Après élimination des cellules, l'immunocomplexe est révélé par une méthode ELISA utilisant un substrat chromogène insoluble, dont la précipitation localisée génère des taches colorées ou immunospots

Center, period	Age of subjects in years	RTS,S in adjuvant	Dose of RTS,S in volume of adjuvant	Time of immunization/challenge	Challenge by mosquito bite		Re-challenge by mosquito bite	
					Protection % (protected/total subjects)	Pre-patent period for unprotected vaccinated vs. unvaccinated (days)	Protection % (protected/total subjects)	Pre-patent period for unprotected vaccinated vs. unvaccinated (days)
1. WRAIR (NR)	19-28	AS04	50 µg* in 1 ml	0.2, 6/6.5 months	0 (0/6)	11.2 vs. 10.5 (NS)	ND	
2. WRAIR (NR)	18-45	AS03			25% (2/8)	11 vs. 11.5 (NS)		
		AS04	50 µg* in 1 ml	0.1, 7/1 months	12.5% (1/8)	12.6 vs. 12 (NS)	100% (1/1)	13.2 vs. 10.8 (p<0.01)
		AS03	1st 50 µg* in 0.5 ml		28.5% (2/7)	15.2 vs. 12 (p<0.01)	0% (0/1)	
			2nd 50 µg* in 0.5 ml					
3. WRAIR (NR)	18-45	AS02	3rd 10 µg* in 0.1 ml					
			1st 50 µg* in 0.5 ml		85.7% (6/7)	NS	20% (1/5)	
			2nd 50 µg* in 0.5 ml					
			3rd 10 µg* in 0.1 ml					
4. WRAIR 2000-2001	18-45	AS02	50 µg* in 0.5ml	0/1 month	30% (3/10)	14 vs. 12 (p<0.005)	ND	
			50 µg* in 0.5ml	0.1/2 months	50% (7/14)			
			50 µg* in 0.5ml	0.1, 9/10 months	50% (3/6)			
			25 µg* in 0.25 ml	0.1, 9/10 months	57.1% (4/7)			
			10 µg* in 0.1 ml	0.1, 9/10 months	25% (1/4)			
5. WRAIR 1995-1998	18-45	AS02A	50 µg in 0.5ml	0.1, 3/3.75 months	45% (9/20)	14 vs. 11 (p<0.001)	ND	
			50 µg in 0.5 ml	0.7, 28 days/7 weeks	39% (7/18)	13 vs. 11 (p<0.001)		
			50 µg in 0.5 ml	0.1, 1.5 months	42% (8/19)	14.5 vs. 12.3 (p<0.001)	ND	
			50 µg in 0.5 ml	0.1, 2/3 months	33.3% (2/6)	13.2 vs. 11 (p=0.13)	50% (1/2)	
			50 µg in 0.5 ml					
6. Oxford 2002-2003	21-42	AS02A	1st RTS,S/AS02A					
			2nd RTS,S/AS02A					
			3rd MVA-CS					
			1st MVA-CS					
			1 × 10 ⁸ pfu					
7. WRAIR 2003-2006	18-45	AS02A	50 µg in 0.5 ml		33.3% (2/6)	14.5 vs. 11 (p=0.01)	0 (0/2)	
			50 µg in 0.5 ml					
			50 µg in 0.5 ml					
			50 µg in 0.5 ml					
			50 µg in 0.5 ml					
7. WRAIR 2003-2006	18-45	AS01B	50 µg in 0.5ml	0.1, 2/2.5 months	32% (14/44)	13.6 vs. 10.8 (p<0.001)	44.4% (4/9)	13.6 vs. 11.8
			50 µg in 0.5ml		50% (18/36)	14.4 vs. 10.8 (p<0.001)	44.4% (4/9)	14 vs. 11.8
			50 µg in 0.5ml					
			50 µg in 0.5ml					
			50 µg in 0.5ml					

NS: not significant; ND: not done; NR, not reported. (*) RTS,S in liquid formulation.

Figure 46 : Efficacité de RTS,S chez des volontaires non immuns contre la malaria [126]

Center period	Age	RTS,S in adjuvant	Immunization time (dose of RTS,S/volume of adjuvant)	Surveillance period post-immunization	Adjusted vaccine efficacy (%) according-to-protocol analysis (white boxes) or unadjusted vaccine efficacy (%) in intention-to-treat analysis (yellow boxes) vaccinated vs. non-vaccinated			
					Infection (subjects/total subjects)	First or only clinical episode (subjects/total subjects)	All clinical episodes (episodes/total subjects)	Severe malaria (subjects/total subjects)
Gambia (anti-malarial)	18-45 years	AS02	0/1/5 months (50 µg/0.5 ml)	0-15 weeks	34% (81/131 vs. 80/119)	NR	31% (44/131 vs. 50/119)	NR
				0-9 weeks/ 9-15 weeks	71%/0%		NR	
			Booster dose at 19 months	0-9 weeks	47% (19/73 vs. 29/86)		59% (7/73 vs. 22/86)	
Kenya	18-35 years	AS02A	0/1/2 months (50 µg/0.5 ml)	0-14 weeks	35% (28/79 vs. 37/75)	NR	NR	NR
Mozambique (Manhiça) Cohort 1	1-4 years	AS01B AS02A	0/1/2 months (25 µg/0.25 ml)	0-14 weeks 0-6 months	11% (28/74 vs. 37/75) NR Prevalence parasitemia: 11.9% vs. 18.9%	29.9% (123/745 vs. 159/745)	27.4% (153/745 vs. 190/745)	57.7% (11/745 vs. 26/745)
				6-18.5 months	NR	28.9% (110/723 vs. 140/719)	30.2% 28.8% (157/723 vs. 193/719)	38.8% (8/723 vs. 13/719)
				0-18.5 months	NR (77/666 vs. 106/653)	35.3% (186/745 vs. 251/745)	29.8% (310/745 vs. 384/745)	48.6% (19/745 vs. 37/745)
				0-21 months	NR	32.8% (224/803 vs. 308/802)	32.4% (391/803 vs. 527/802)	44.3% (24/803 vs. 43/802)
				0-43 months	NR (66/541 vs. 101/547)	30.5% (307/745 vs. 370/745)	25.6% (658/745 vs. 774/745)	38.3% (29/745 vs. 47/745)
Mozambique (Ilha Josina) Cohort 2	1-4 years			0-4 months	51.1% (111/189 vs. 147/178)	61% (21/189 vs. 40/178)	NR	NR
				0-6 months 8.5-18.5 months	45% (157/189 vs. 166/178) NR	35.4% (46/189 vs. 56/178) 9% (50/181 vs. 59/171)	30% (52/189 vs. 68/178)	
Mozambique (Ilha Josina & Tanninga)	8-10 weeks	AS02D	10/14/18 weeks of age (25 µg/0.5 ml)	0-21 months 0-3 months	NR 65.9% (22/93 vs. 46/92)	NR 9.3% (72/209 vs. 76/208) 65.8% (9/93 vs. 22/92)	NR	NS (6/209 vs. 6/208)
Tanzania			8/12/16 weeks of age 25 µg/0.5 ml	0-6 months 0-6 months 0-10 months	NS 65.2% (8/146 vs. 20/151)	35.5% 43.2% (7/146 vs. 11/151) 41.8%		
Kenya & Tanzania	5-17 months	AS01E	0/1/2 months (50 µg/0.5 ml)	0-8 months	Prevalence parasitemia 2% vs. 3%	53% (32/402 vs. 66/407) 49% (42/447 vs. 78/447)	56% (38/402 vs. 86/407) 54% (49/447 vs. 109/447)	NR

Figure 47 : Résultats de l'efficacité de RTS,S/AS dans les différentes zones tests [126]

a. Evaluation du candidat RTS,S/AS chez l'adulte

a.1. Avec l'adjuvant AS02

Lors des études d'essais de phase 1 et 2a, le vaccin RTS,S/AS02 a montré un profil d'innocuité acceptable et une immunogénicité suffisante pouvant fournir une protection complète ou partielle contre l'infection chez des adultes sains, naïfs du paludisme [123], [147]. Testé en zone endémique (Kenya et Gambie), il a également confirmé ces données en conférant une protection partielle contre l'infection ou les signes cliniques chez l'adulte mais aussi chez les enfants et nourrissons [148], [149].

Les premières études de l'efficacité du vaccin dans des conditions d'exposition naturelle ont débuté en 1998 en Gambie (zone de transmission saisonnière). Les sujets, âgés de 18 à 45 ans, ont reçu trois doses de 50µg de RTS,S dans 0,5ml d'adjuvant AS02 (Figure 48). Ces doses ont été administrées à 0, 1 et 5 mois. La surveillance a été effectuée pendant 15 semaines. L'efficacité était de 34% avec un intervalle de confiance à 95% : 8-53 ; $p=0,0014$. De plus, cette protection est indépendante de la souche. En effet, les travaux sur la réponse immunitaire induite par la vaccination par RTS,S/AS02 suggèrent que la protection est due au moins en partie à des anticorps dirigés contre la région répétée NANP(n) de CSP, qui est très bien conservée entre les différentes souches de *P. falciparum* [150].

Lorsqu'une nouvelle dose était administrée (dose de rappel) avant la saison de transmission du paludisme l'année suivante, l'efficacité du vaccin était portée à 47% (IC à 95% : 4-71 ; $p=0,037$), offrant une protection pendant plus de 9 semaines.

Parallèlement à ces recherches, d'autres études ont été menées sur une autre formulation utilisant un système d'adjuvant différent.

a.2. Avec l'adjuvant AS01

Utilisé chez l'adulte, RTS,S/AS01B est constitué d'une fraction lyophilisée de 50µg de RTS,S dans une fraction liquide de 0,5mL d'AS01B (liposomes composés de 50µg de MPL et de 50µg de QS21) (Tableau 18).

Les premières essais avec cet adjuvant dans la formulation RTS,S/AS01 ont d'abord été mené chez des souris et des primates, puis au WRAIR entre 2003 et 2006 [151], [142]. Les études de phase 2a ont montré une protection de l'ordre de 50% chez des sujets non immuns face au paludisme, montrant ainsi une augmentation de la protection vaccinale par rapport à AS02 (Figure 46 et Figure 47).

Une étude comparative, évaluant les candidats vaccins RTS,S/AS02A (qui procurait, jusque-là, la meilleure protection) et RTS,S/AS01B chez l'adulte en zone de forte transmission malarique, a montré une immunogénicité supérieure avec la formulation vaccinale associant RTS,S à l'adjuvant AS01B [143]. En plus, RTS,S/AS01B a été très bien toléré chez l'adulte sur la période d'évaluation (12 mois).

b. Evaluation de RTS,S/AS chez les nourrissons et enfants

b.1. Avec l'adjuvant AS02A

L'immunogénicité, l'innocuité du vaccin RTS,S/AS02 avaient été prouvées premièrement lors d'essais de phase I en Gambie et au Mozambique sur des enfants âgés de 1 à 11 ans, pour une dose de 0,25ml de RTS,S/AS02A (Tableau 18).

Pays Références	Adjuvant dans la formulation RTS,S/AS testée	Age des sujets	n	Critères	Durée du suivi post- vaccinal (mois)	Efficacité du vaccin (en %)	IC 95%	Valeur p
Mozambique [136], [137]	AS02A	1-4 ans	2022	Maladie clinique	6,5 18,5	29,9 35,3	11,0-44,8 21,6-46,6	0,004 <0,001
				Tous les épisodes	6 18	27,4 29,8	6,2-43,8 13,8-42,8	0,014 0,001
				Paludisme grave	6 18	57,7 48,6	16,2-80,6 12,3-71,0	0,019 0,020
				Hospitalisation due au paludisme	6 18	32,3 30,5	1,3-53,9 4,1-49,9	0,053 0,032
				Infection	6	45,0	31,4-55,9	<0,001
Tanzanie Kenya [144]	AS01E	5-17 mois	894	Maladie chronique	8 en moyenne	52,9	28,1-69,1	<0,001
Mozambique [140]	AS02D	10-18 sem.	214	Infection	3	65,9	42,6-79,8	<0,001
Tanzanie [141]	AS02D	6-10 sem	340	Infection	6	65,2	20,7-84,7	0,012
n = nombre de sujets enrôlés dans l'étude et ayant reçu au moins une dose de RTS,S ou du vaccin témoin								

Tableau 19 : Résultats des études de phase II sur l'efficacité de RTS,S/AS chez les enfants et les nourrissons [133]

Le premier essai de phase II (Tableau 19), mené au Mozambique sur 2022 enfants de 1 à 4 ans, a montré une protection du vaccin RTS,S/AS02A de 48,6% (IC à 95% : 12,3-71,0 ; $p=0,020$) contre les épisodes de paludisme grave et de 29,8% (IC 95% : 13,8-42,8 ; $p=0,001$) sur 18 mois contre tous les épisodes malariques. Trois doses de 25µg de RTS,S dans 0,25mL d'adjuvant AS02A (25µg de MPL et 25µg de QS21) avaient ainsi été administrées à 0, 1 et 2 mois avec une surveillance post-immunisation entre 6 à 18 mois.

b.2. Avec l'adjuvant AS02D

Les résultats favorables chez l'adulte avec l'adjuvant AS02 ont motivé d'autres tests chez des populations différentes. Une autre formulation, RTS,S/AS02D a ainsi été testée chez des nourrissons de 10 à 18 semaines au Mozambique et chez des nourrissons de 6 à 10 semaines en Tanzanie (Tableau 18 et Tableau 19). L'adjuvant AS02D est une émulsion huile-dans-eau composée de 25µg de MPL et de 25µg de

QS21. La formulation vaccinale RTS,S/AS02D représente ainsi une dose de 25µg de RTS,S dans 0,5mL d'AS02D.

Évalué d'abord au Mozambique puis en Tanzanie sur des nourrissons du programme élargi de vaccination PEV (DTC-Hib : diphtérie, tétanos, coqueluche, haemophilus influenzae type b), ces études de phase 1/2b (randomisées en double aveugle) ont permis de montrer l'innocuité, l'efficacité et l'immunogénicité du RTS,S/AS02D. Deux approches ont été prises en compte lors de ces essais : la première au Mozambique concerne l'administration du vaccin RTS,S/AS02D à 2 semaines d'intervalles avec les vaccins du PEV et la deuxième en Tanzanie concerne la co-administration des vaccins avec RTS,S/AS02D.

Dans l'étude qui s'est déroulée au Mozambique (au Centre d'Investigation Saude de Manhica), l'immunogénicité du vaccin RTS,S/AS02D administré seul était similaire à celle du vaccin contre l'hépatite B et du vaccin tétravalent DTC-Hib. 3 doses avaient été administrées à 10, 14 et 18 semaines. Le vaccin a conféré une protection contre l'infection de 65,9% (IC à 95% : 42,6-79,8 ; $p<0,001$) sur de 3 mois mais celle-ci a complètement décliné à la fin des 6 mois de suivi. En revanche, chez des nourrissons en Tanzanie, on a noté une protection contre les infections de 65,2% (IC à 95% : 20,7-84,7 ; $p=0,012$) et jusqu'à 6 mois après la co-administration de 3 doses (8, 12 et 16 semaines) avec les vaccins du PEV. RTS,S/AS02D induisait moins de fièvre que le vaccin de l'hépatite B (29,6% contre 13,6% respectivement).

Dans ces deux essais, l'efficacité de RTS,S/AS02D contre les épisodes cliniques (premier ou seul épisode clinique) était de 35,5% (Tanzanie) et de 41,8% (Mozambique) et a été bien conservée sur une période de 6 à 10 mois (Figure 47). De plus, 98,6% des enfants vaccinés par RTS,S/AS02 présentait un titre positif d'anticorps anti-CSP et la réponse immunitaire était sensiblement plus faible que dans les études précédentes.

La vaccination RTS,S contre le paludisme a eu également un impact positif sur d'autres pathologies (réduction des pneumonies dans le groupe vacciné RTS,S/AS02 comparé au groupe contrôle) [144]. La protection contre le paludisme a ainsi réduit la sensibilité des patients à d'autres maladies en coinfection avec le paludisme.

Tout comme chez les adultes, des études parallèles ont été menées sur un autre système d'adjuvant AS01 (AS01E pour la population pédiatrique).

b.3. Avec l'adjuvant AS01E

La tolérance, l'immunogénicité et l'innocuité du candidat RTS,S/AS01E avaient auparavant été mis à l'épreuve lors d'essais de phase I, sur 1100 enfants ayant reçu 3 doses du vaccin. Aucun événement non prévu et aucun effet indésirable majeur n'est apparu lors de ces études. Ces bons résultats ont été confirmés lors d'études de phase II [152].

De nouvelles études ont montré que le candidat RTS,S/AS01E a une efficacité supérieure aux autres formulations testées jusqu'à présent (confirmant ainsi les

résultats obtenus chez les adultes) [144]. Menées également au Kenya (à Kilifi) et en Tanzanie (à Korogwe) en double aveugle sur des enfants âgés de 5 à 17 mois, elles ont montré l'efficacité du vaccin RTS,S/AS01E vis-à-vis d'un vaccin contrôle (vaccin antirabique de Sanofi-Pasteur). 894 enfants ont reçu aléatoirement 3 doses (une dose par mois) de l'un ou l'autre des vaccins. L'efficacité de RTS,S/AS01E contre tous les épisodes paludiques fut de 56% sur une période de 8 mois avec RTS,S/AS01E et de 54% sur une période de 10,5 mois.

Ainsi, la protection conférée contre les épisodes paludiques de 56% (premier épisode ou tous les épisodes sur 8 mois) par RTS,S/AS01E a été supérieure à celle de RTS,S/AS02D (35,5% en Tanzanie et 41,8% Kenya) et a même persisté jusqu'à 10,5 mois (Figure 47).

Ces données encourageantes et favorables, issues d'études de phase 2 en population pédiatrique, ont amené le passage de RTS,S/AS01E en phase 3 du développement clinique chez les enfants et nourrissons (populations cibles).

5. Vaccin RTS,S/AS01E : premiers résultats de la phase 3

Le vaccin a été développé pour l'immunisation de routine des nourrissons et des enfants vivant dans des régions où la malaria est endémique, dans le cadre du programme élargi de vaccination des enfants de l'OMS.

Débutée en Mars 2009, ces études de phase 3 se déroulent actuellement dans 11 centres de recherches, répartis dans 7 pays en zone endémique : Burkina Faso, Gabon, Ghana, Kenya, Malawi, Mozambique, Tanzanie et devrait se terminer en décembre 2013. Elles englobent 15460 enfants de deux tranches d'âge: 6537 enfants de 6 à 12 semaines et 8923 enfants de 5 à 17 mois. Ils seront suivis pendant 32 mois [153]. Se voulant la plus représentative que possible, cette étude inclut des enfants de faible poids, malnutris ou encore ayant le SIDA.



Figure 48 :Liste des centres d'études pour la phase III de RTS,S/AS01 [154]

Cette étude évalue à grande échelle comme critères principaux : l'efficacité contre les accès palustres, l'immunogénicité, l'innocuité et la réactogénicité¹.

D'autres objectifs seront pris en compte, notamment : l'efficacité contre les épisodes de paludisme grave, l'anémie sévère, les hospitalisations liées au paludisme et la réduction de la morbidité non liée directement au paludisme comme c'était le cas lors des essais de phase II [141], [144]. De plus, durant cette étude, sera également étudié l'impact de la vaccination RTS,S/AS01E en co-administration avec les vaccins du PEV TritanrixHepB/Hib™ (Diphtérie, Tétanos, Coqueluche, Haemophilus influenzae type b, Hépatite B) ainsi que le vaccin anti-poliomyélite.

L'étude est randomisée, contrôlée et en double-aveugle. Elle comprenait 3 groupes d'études (séparation aléatoire) pour chaque tranche d'âge : R3R, R3C et C3C.

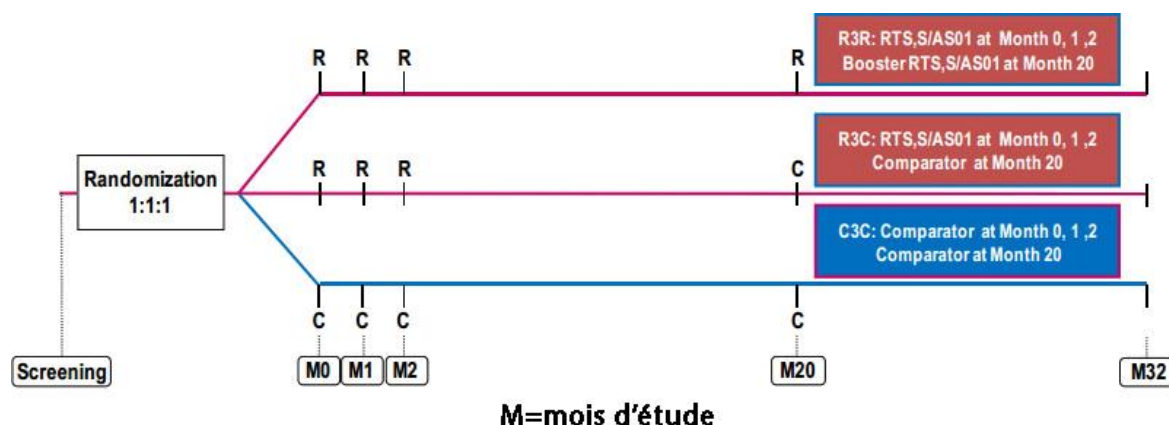


Figure 49 : Méthode d'évaluation de RTS,S/AS01 lors de la phase 3 [155]

Le premier groupe R3R a reçu 3 doses du vaccin RTS,S/AS01 à un mois d'intervalle (M0, M1, M2) et une dose de rappel de RTS,S/AS01 à M20. Le deuxième groupe a reçu pareillement 3 doses de RTS,S/AS01 mais avec une dose de rappel à M20 d'un vaccin comparateur (vaccin conjugué anti-méningocoque C Novartis® pour les enfants de 6 à 12 semaines et le vaccin antirabique Sanofi-Pasteur® pour les enfants de 5 à 17 mois). Le dernier groupe C3C a reçu un vaccin de contrôle non-antipaludique avec le même schéma vaccinal (3 doses à M0, M1 et M2) et un rappel à 20 mois.

Afin d'évaluer l'impact des vaccins PEV, on retrouvera dans les groupes R3R et C3C des sous-groupes ayant reçu en plus du vaccin expérimental RTS,S/AS01, des doses des vaccins du PEV et du vaccin contre la poliomyélite [153].

a. Efficacité

Les premiers résultats de ces essais présentent l'efficacité vaccinale contre les accès palustres et les formes sévères de paludisme, 12 mois après la dernière dose de RTS,S/AS01. Les résultats du groupe obtenu par la combinaison des groupes enfants de 6 à 12 semaines et de 5 à 17 mois sont comparés au groupe contrôle. Un autre point d'analyse a été fait sur les 6000 premiers enfants du groupe 5 à 17 mois.

¹ La réactogénicité se définit par l'ensemble des effets indésirables locaux et généraux mentionnés sur demande et signalés dans les 7 jours suivant la vaccination.

Cohorte de l'analyse	Nombre d'enfants par tranche d'âge	Durée du suivi après la 3 ^{ème} dose	Efficacité rapportée après la 3 ^{ème} dose
6000	6000 chez les 5-17 mois	12 mois après la 3 ^{ème} dose (ou mort ou retrait du patient)	12 mois par patient
15460	- 8923 chez les 5-17 mois - 6537 chez les 6-12 sem	Tous les sujets ont été suivis jusqu'au 31 mai 2011 (ou rappel à 18 mois ou décès ou retrait du patient)	- Au total : 11 mois en moyenne - Chez les 5-17 mois : 16 mois en moyenne - Chez les 6-12 sem : 7 mois en moyenne

Tableau 20 : Composition de la cohorte de l'analyse des résultats partiels de l'étude de phase III [155]

Deux populations ont été distinguées dans les résultats présentés dans les tableaux ci-après (Figure 50 et Figure 51) [155]:

- La « per-protocol population » (PP) qui inclut tous les participants qui ont reçu 3 doses du vaccin expérimental. Elle permet la surveillance de l'efficacité vaccinale.
- La « intention-to-treat population » (ITT) qui inclut tous les participants qui ont reçu au moins 1 dose du vaccin expérimental.

Clinical Malaria	RTS,S/AS01 Vaccine			Control Vaccine			Protective Efficacy		Protective Efficacy Adjusted for Covariates*	
	No. of Events	Person-Yr	Event Rate	No. of Events	Person-Yr	Event Rate	% (CI)†	P Value	% (95% CI)	P Value
Per-protocol population (12 mo after third dose of vaccine)										
First or only episode										
>5000 parasites/mm ³ and temperature ≥37.5°C (coprimary end point)	932	2144	0.435	752	903	0.833	55.8 (50.6–60.4)	<0.001	55.8 (51.3–59.8)	<0.001
>0 parasites/mm ³ and measured or reported fever	1210	1963	0.616	883	798	1.107	54.2 (50.0–58.0)	<0.001	54.1 (49.9–57.9)	<0.001
>500 parasites/mm ³ and temperature ≥37.5°C	1030	2088	0.493	789	874	0.903	53.9 (49.4–58.0)	<0.001	53.9 (49.3–58.0)	<0.001
>20,000 parasites/mm ³ and temperature ≥37.5°C	838	2196	0.382	686	947	0.724	55.1 (50.3–59.5)	<0.001	55.0 (50.2–59.4)	<0.001
All episodes										
>5000 parasites/mm ³ and temperature ≥37.5°C	1834	2495	0.735	1854	1263	1.468	55.1 (50.5–59.3)	<0.001	55.1 (50.5–59.2)	<0.001
Intention-to-treat population (14 mo after first dose of vaccine)										
First or only episode										
>5000 parasites/mm ³ and temperature ≥37.5°C	1155	3633	0.318	879	1588	0.554	50.4 (45.8–54.6)	<0.001		
All episodes										
>5000 parasites/mm ³ and temperature ≥37.5°C	2343	4243	0.552	2289	2110	1.085	53.9 (49.6–57.8)	<0.001		

* In the adjusted analyses, data were stratified according to study site with adjustment for age at the time of administration of the first dose of vaccine and the distance to the nearest outpatient health facility.

† All end points are presented with 95% confidence intervals except for the primary efficacy end point, which is presented with 97.5% confidence intervals. The primary efficacy end point is defined as vaccine efficacy against a first or only episode of clinical malaria, according to the primary case definition: an illness in a child brought to a study facility with a temperature of 37.5°C or more and *Plasmodium falciparum* asexual parasitemia (>5000 parasites per cubic millimeter) or a case of malaria meeting the primary case definition of severe malaria.

Figure 50 : Efficacité de RTS,S/AS01 contre les épisodes cliniques de paludisme chez 6000 enfants de 5 à 17 mois de l'étude [155]

Ainsi, 14 mois après la première dose, l'efficacité contre les premiers épisodes cliniques de paludisme parmi les 6000 premiers enfants de 5 à 17 mois, fut de 50,4% (IC 95% :45,8-54,6 ; p<0,001 dans la population ITT et de 55,8% (IC 95% :22,4-64,2 ; p<0,001) dans la population PP (voir Figure 50). L'efficacité contre le

paludisme grave est quant à elle respectivement de 45,1% (IC 95% :23,8-60,5 ; p<0,001) et de 47,3% (IC 95% :22,4-64,2 ; p<0,001) dans ces mêmes populations (ITT et PP) (voir Figure 51).

L'efficacité du vaccin contre un paludisme grave dans les classes d'âge combinées était de 31,3% (IC 95% : 14,2-44,8 ; p<0,001) en ITT et 34,8% (IC 95% : 16,2-49,2 ; p<0,001) en PP (voir Figure 51)

Severe Malaria	RTS,S/AS01 Vaccine			Control Vaccine			Protective Efficacy	
	No. of Children	No. Affected	Affected Rate %	No. of Children	No. Affected	Affected Rate %	% (95% CI)	P-value
Older age category (5-17 mo)								
Per-protocol analysis (12 mo after third dose of vaccine)								
Primary case definition	2830	57	2.0	1466	56	3.8	47.3 (22.4-64.2)	<0.001
Secondary case definition	2830	74	2.6	1466	72	4.9	46.8 (25.3-62.0)	<0.001
Intention-to-treat analysis (14 mo after first dose of vaccine)								
Primary case definition	3997	81	2.0	2003	74	3.7	45.1 (23.8-60.5)	<0.001
Secondary case definition	3997	102	2.6	2003	92	4.6	44.4 (25.5-58.5)	<0.001
Pooled age categories (6 wks-17 mo)								
Per-protocol analysis (mean of 11 mo after third dose of vaccine, up to 22 mo)								
Primary case definition	8597	149	1.7	4364	116	2.7	34.8 (16.2-49.2)	<0.001
Secondary case definition	8597	177	2.1	4364	140	3.2	35.8 (19.3-48.9)	<0.001
Intention-to-treat analysis (mean of 14 mo after first dose of vaccine, up to 24 mo)								
Primary case definition	10,307	198	1.9	5153	144	2.8	31.3 (14.2-44.8)	<0.001
Secondary case definition	10,307	233	2.3	5153	173	3.4	32.7 (17.5-44.9)	<0.001

* The primary case definition of severe malaria is *Plasmodium falciparum* asexual parasitemia (> 5000 parasites per cubic millimeter) with one or more markers of disease severity and without a diagnosis of a coexisting illness. The secondary case definition of severe malaria is *P. falciparum* asexual parasitemia with one or more markers of disease severity, including cases in which a coexisting illness was present or could not be ruled out. Markers of severe disease were prostration, respiratory distress, a Blantyre coma score of 2 or less (on a scale of 0 to 5, with higher scores indicating a higher level of consciousness), two or more observed or reported seizures, hypoglycemia, acidosis, elevated lactate level, or hemoglobin level of less than 5 g per deciliter. Coexisting illnesses were defined as radiographically proven pneumonia, meningitis on analysis of cerebrospinal fluid, bacteraemia, or gastroenteritis with severe dehydration.

Figure 51 : efficacité de RTS,S/AS01 contre un paludisme grave chez des enfants de 5 à 17 mois et chez le groupe commun (6 à 12 semaines et 5 à 17 mois) [155]

Il n'y a pas eu de réduction significative de la mortalité constatée avec ces premiers résultats dans les deux groupes d'enfants. Le taux de décès dans ces deux groupes était comparable à celui des deux groupes témoins (ayant reçus respectivement le vaccin anti-méningocoque et le vaccin contre la rage) [155]. Les premières explications seraient une surveillance et une prise en charge optimales des patients

à la faveur de ces études. Des données supplémentaires devraient être recueillies avant la fin de l'étude afin d'éclaircir ce point.

b. Immunogénicité et innocuité

Plus d'un mois après la dernière dose de RTS,S/AS01, 99,9% des enfants vaccinés avaient encore un titre d'anticorps anti-CSP positif et donc avait une protection contre l'infection (Voir le chapitre sur le Mécanisme de l'immunogénicité de RTS,S).

Les effets secondaires ont été classés en fonction de leur intensité (du grade 0 au grade 3, le grade 3 définissant une plus grande sévérité). Un risque plus élevé de fièvre, de douleurs et de convulsions a été relevé. Cela s'expliquerait par la forte immunogénicité du vaccin RTS,S. Chez les 5 à 17 mois, l'incidence des crises convulsives 7 jours après la vaccination était de 1,04 pour 1000 doses de RTS,S/AS01 contre 0,57 pour 1000 doses dans le groupe contrôle. Chez les 6 à 12 semaines, l'incidence était respectivement de 0,16/1000 contre 0,47/1000.

Des effets indésirables « sérieux » ont été signalés chez 17,6% des enfants plus âgés vaccinés avec le candidat vaccin contre 21,6% dans le groupe contrôle. Dans ce premier groupe, 56 enfants sont décédés (0,9%) contre 28 dans le groupe contrôle (0,9%). Chez les plus jeunes, ces effets secondaires ont représenté 13,1% chez ceux ayant été vacciné avec RTS,S/AS01E contre 13,4% pour le groupe contrôle (Figure 54). 49 enfants ayant reçu le vaccin test sont décédés (1,1%) contre 18 dans le groupe contrôle. Le candidat vaccin, dans ces résultats préliminaires, n'a pas montré d'efficacité sur la réduction de la mortalité infantile.

Un taux plus élevé de méningites dans le groupe RTS chez les 5-17mois (5,5% de risque soit 11 cas sur 5949 enfants contre 1 cas sur 2974 dans le groupe de contrôle) et chez les 6-12 semaines (4,0% soit 8 cas sur 4358 enfants contre 1 cas sur 2179 dans le groupe contrôle).

Dans l'ensemble, comme l'explique l'étude, le vaccin RTS,S/AS01 a été certes plus réactogène que les vaccins témoins mais il a été globalement bien toléré en comparaison des vaccins tests et l'intensité des effets indésirables a rarement atteint le grade 3 (Figure 52). Ces résultats sont présentés sur la Figure 52 et la Figure 53. Chez les 5 à 17 mois, on a observé ainsi au moins un effet indésirable chez 86,1% dans le groupe RTS,S/AS01E contre 86,8% dans le groupe contrôle (recevant la vaccin contre la rage).

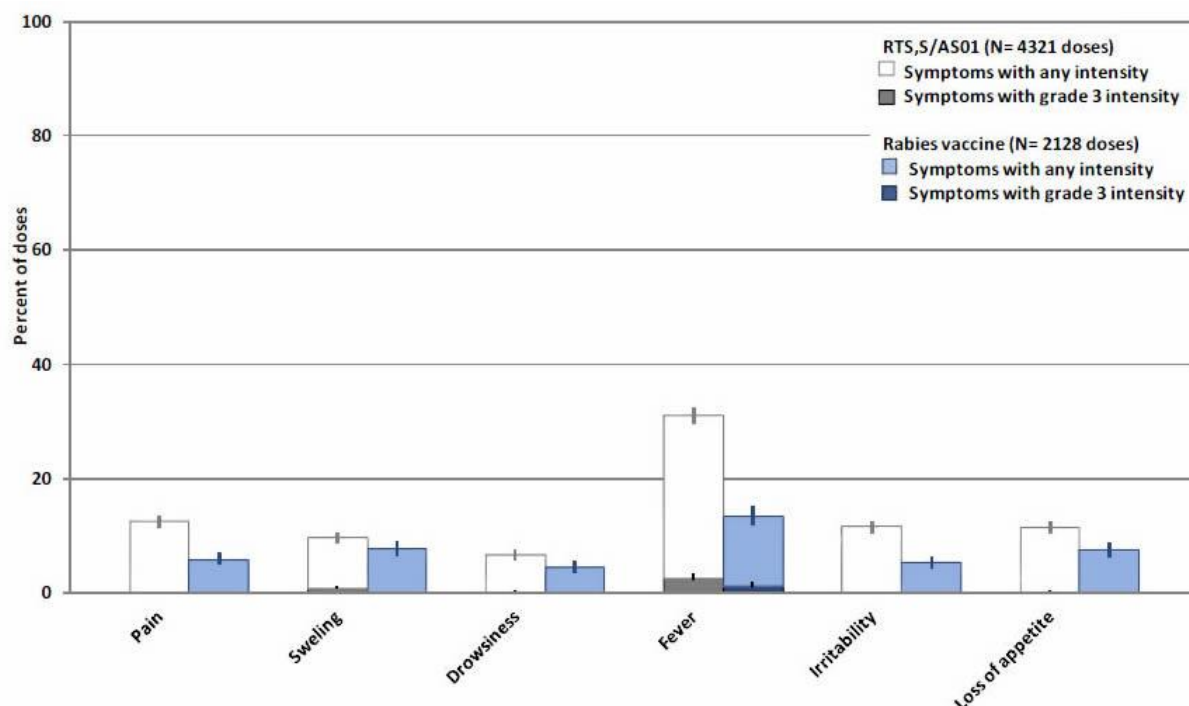


Figure 52 : Incidence des événements indésirables locaux et généraux rapportés au cours de la période 7 jours post-vaccination (après chaque dose), chez les enfants de 5-17 mois au moment du recrutement (population ITT) [156]

	RTS,S/AS01 N = 1479				Rabies vaccine N = 721			
			95% CI				95% CI	
Overview	n	%	LL	UL	n	%	LL	UL
At least one AE	1273	86.1	84.2	87.8	626	86.8	84.1	89.2
At least one symptom excluding Malaria	1251	84.6	82.6	86.4	612	84.9	82.1	87.4
AEs with an incidence ≥ 5% by Preferred Term								
Conjunctivitis	111	7.5	6.2	9.0	64	8.9	6.9	11.2
Diarrhea	188	12.7	11.1	14.5	88	12.2	9.9	14.8
Enteritis	124	8.4	7.0	9.9	62	8.6	6.7	10.9
Pyrexia	200	13.5	11.8	15.4	67	9.3	7.3	11.7
Bronchitis	79	5.3	4.3	6.6	32	4.4	3.1	6.2
Gastroenteritis	372	25.2	23.0	27.4	170	23.6	20.5	26.9
Malaria	265	17.9	16.0	20.0	173	24.0	20.9	27.3
Nasopharyngitis	115	7.8	6.5	9.3	58	8.0	6.2	10.3
Pneumonia	166	11.2	9.7	12.9	71	9.8	7.8	12.3
Rhinitis	95	6.4	5.2	7.8	34	4.7	3.3	6.5
Upper respiratory tract infection	638	43.1	40.6	45.7	326	45.2	41.5	48.9
Cough	107	7.2	6.0	8.7	41	5.7	4.1	7.6

At least one AE = at least one AE experienced, regardless of the MedDRA Preferred Term

At least one symptom excluding Malaria= at least one symptom experienced (regardless of the MedDRA Preferred Term), excluding Malaria, *P. falciparum* infection and Cerebral malaria.

N = number of subjects with at least one administered dose. AEs during the first 30 days post-vaccination were recorded and analyzed only in the first 200 subjects enrolled at each site.

n/% = number/percentage of subjects reporting the symptom at least once

95% CI= exact 95% confidence interval; LL = Lower Limit, UL = Upper Limit

Figure 53 : Déclaration des effets indésirables chez les enfants de 5-17 mois, 30 jours après la vaccination [156]

Serious Adverse Event	5–17 Mo				6–12 Wk			
	RTS,S/AS01 Vaccine (N=5949)		Rabies Vaccine (N=2974)		RTS,S/AS01 Vaccine (N=4358)		Meningococcal Vaccine (N=2179)	
	no. of children	% (95% CI)	no. of children	% (95% CI)	no. of children	% (95% CI)	no. of children	% (95% CI)
All children								
At least one serious adverse event	1048	17.6 (16.7–18.6)	642	21.6 (20.1–23.1)	569	13.1 (12.1–14.1)	293	13.4 (12.0–15.0)
At least one serious adverse event excluding malaria	990	16.6 (15.7–17.6)	600	20.2 (18.7–21.7)	554	12.7 (11.7–13.7)	286	13.1 (11.7–14.6)
At least one fatal serious adverse event†	56	0.9 (0.7–1.2)	28	0.9 (0.6–1.4)	49	1.1 (0.8–1.5)	18	0.8 (0.5–1.3)
At least one serious adverse event related to vaccine	10	0.2 (0.1–0.3)	1	0.0 (0.0–0.2)	3	0.1 (0.0–0.2)	3	0.1 (0.0–0.4)
At least one serious adverse event within 30 days after vaccination	310	5.2 (4.7–5.8)	181	6.1 (5.3–7.0)	191	4.4 (3.8–5.0)	96	4.4 (3.6–5.4)
Incidence in ≥0.5% of children‡								
Anemia	182	3.1 (2.6–3.5)	149	5.0 (4.3–5.9)	58	1.3 (1.0–1.7)	39	1.8 (1.3–2.4)
Bronchiolitis	35	0.6 (0.4–0.8)	18	0.6 (0.4–1.0)	26	0.6 (0.4–0.9)	17	0.8 (0.5–1.2)
Bronchitis	24	0.4 (0.3–0.6)	17	0.6 (0.3–0.9)	NA	NA	NA	NA
Bronchopneumonia	54	0.9 (0.7–1.2)	37	1.2 (0.9–1.7)	28	0.6 (0.4–0.9)	16	0.7 (0.4–1.2)
Gastroenteritis	263	4.4 (3.9–5.0)	160	5.4 (4.6–6.3)	194	4.5 (3.9–5.1)	93	4.3 (3.5–5.2)
HIV infection	37	0.6 (0.4–0.9)	19	0.6 (0.4–1.0)	23	0.5 (0.3–0.8)	6	0.3 (0.1–0.6)
Malaria	383	6.4 (5.8–7.1)	297	10.0 (8.9–11.1)	116	2.7 (2.2–3.2)	74	3.4 (2.7–4.2)
Otitis media	25	0.4 (0.3–0.6)	17	0.6 (0.3–0.9)	NA	NA	NA	NA
Pneumonia	337	5.7 (5.1–6.3)	176	5.9 (5.1–6.8)	224	5.1 (4.5–5.8)	102	4.7 (3.8–5.7)
Salmonella sepsis	41	0.7 (0.5–0.9)	23	0.8 (0.5–1.2)	16	0.4 (0.2–0.6)	10	0.5 (0.2–0.8)
Sepsis	48	0.8 (0.6–1.1)	35	1.2 (0.8–1.6)	23	0.5 (0.3–0.8)	8	0.4 (0.2–0.7)
Upper respiratory tract infection	55	0.9 (0.7–1.2)	37	1.2 (0.9–1.7)	21	0.5 (0.3–0.7)	11	0.5 (0.3–0.9)
Urinary tract infection	36	0.6 (0.4–0.8)	21	0.7 (0.4–1.1)	NA	NA	NA	NA
Hypoglycemia	12	0.2 (0.1–0.4)	18	0.6 (0.4–1.0)	NA	NA	NA	NA
Kwashiorkor	12	0.2 (0.1–0.4)	16	0.5 (0.3–0.9)	NA	NA	NA	NA
Malnutrition	49	0.8 (0.6–1.1)	19	0.6 (0.4–1.0)	NA	NA	NA	NA
Convulsion	55	0.9 (0.7–1.2)	37	1.2 (0.9–1.7)	24	0.6 (0.4–0.8)	15	0.7 (0.4–1.1)
Febrile convulsion	211	3.5 (3.1–4.0)	106	3.6 (2.9–4.3)	48	1.1 (0.8–1.5)	25	1.1 (0.7–1.7)

Figure 54 : Effets secondaires apparus après la première dose du vaccin RTS,S dans la « intention-to-treat population », en fonction des tranches d'âge [155]

b. Discussions

Parmi les différents vaccins à l'étude contre le paludisme, le vaccin RTS,S/AS est le plus abouti et le plus efficace à ce jour. Néanmoins, il faut souligner quelques points.

L'une des premières critiques émises a concerné la conception du vaccin en elle-même [157]. Le vaccin RTS,S/AS est formulé avec l'antigène Hbs utilisé pour le vaccin contre l'hépatite B, vaccin qui a été accusé de pouvoir entraîner l'apparition ou l'aggravation de scléroses en plaques (SEP). Entre 1989 et 1995, il y a eu un peu plus d'une centaine de cas d'atteintes démyélinisantes en France sur les 17,5 millions de vaccinés contre l'hépatite B. Ces critiques émettaient ainsi des réserves sur la survenue de SEP avec le vaccin RTS,S. Deux récentes études, publiées dans

le *New England Journal of Medicine*, semblent aujourd'hui totalement disculper le vaccin contre l'hépatite B dans la survenue de ces SEP [158], [159].

Lors de ces études préliminaires, l'efficacité contre des épisodes de paludisme a été de l'ordre 50% sur 1 an. De plus, il n'y a pas eu d'effet sur réduction de la mortalité constatée. Cette mortalité, déjà faible dans cette étude, pourrait s'expliquer par les conditions de prise en charge dans cette étude (biais lié à l'étude). De plus, ce vaccin n'est pas encore commercialisé que l'on parle déjà de la conception de vaccins de 2^{ème} génération, plus efficace. Certains auteurs critiquent également la « précipitation » face à la concurrence, vu qu'il « n'est pas d'usage de présenter la moitié des résultats d'un essai » [160]. Les résultats définitifs, prévus pour 2014, sont ainsi attendus avec grande impatience. Ils permettront de répondre à nombreuses questions, notamment l'importance réelle du vaccin sur le terrain au vu de son efficacité sur la protection et la réduction de la mortalité ou encore sur la décroissance de la protection après la première année. Une autre question importante serait de savoir si l'efficacité varie en fonction de l'intensité de la transmission dans les zones concernées.

En termes de tolérance, la fièvre et les convulsions plus fréquentes sont probablement à imputer à l'immunogénicité du vaccin RTS. Par ailleurs, il n'y a pas d'explication claire à la fréquence un peu plus élevée de méningites dans le groupe RTS. Ces points sont donc sous surveillance et devront être analysés plus finement à la fin de l'essai.

Un autre aspect, économique celui-là et non négligeable, concerne le coût du vaccin. Quel serait le coût d'un vaccin contre une maladie touchant essentiellement les enfants et les zones pauvres ? Des responsables de GSK disaient, dans le journal belge le Soir du 19 octobre 2011, qu' « il n'y a pas de prix actuellement fixé pour ce vaccin (...) mais il n'est pas question de faire du profit avec ce vaccin. (...) Nous avons donc pris l'engagement de produire des vaccins à prix coûtant, majoré de 5% qui seront directement réinvestis dans la recherche pour les vaccins de la génération suivante. (...) Quel que soit le prix, il faudra se tourner vers des donateurs comme la fondation Gates mais aussi la Malaria Vaccine Initiative, associant secteurs privé et public ». Le coût de ce vaccin pourrait donc être supporté par l'OMS, certaines fondations et programmes ou encore certains états.

Un aspect, pas toujours très bien expliqué dans les différentes communications et rapports sur ce vaccin, est également à noter. Il s'agit de la place de ce vaccin dans la stratégie de lutte contre le paludisme. En effet, pour l'instant il n'y a pas encore de vaccin qui « réglerait » définitivement le problème du paludisme, comme ce fut le cas pour d'autres maladies éradiquées comme la variole par exemple. Il s'agit aujourd'hui plutôt d'un produit doué d'une efficacité partielle qui serait une composante de plus parmi les mesures de lutte (moustiquaires imprégnées, traitements curatifs et de chimioprophylaxie, insecticides ...). Il ne faudrait ainsi donc pas présenter ce vaccin comme la solution miracle afin de ne pas réduire les efforts qui ont déjà été entrepris et qui ont permis de réduire l'impact du paludisme ces dernières années.

c. Conclusions préliminaires

Dans cette première étude à mi-essai, le candidat vaccin RTS,S/AS01 a réduit de plus de moitié les risques de développer un paludisme simple et/ou compliqué chez les enfants de 5 à 17 mois sur une période de 12 mois. De plus, les premières données du groupe des nourrissons de 6 à 12 semaines, sont en faveur d'une bonne efficacité chez ces derniers. Ces premiers résultats tendent à confirmer ainsi les observations des essais de phase 2 sur l'efficacité, l'innocuité et l'immunogénicité de ce candidat vaccin.

Les résultats définitifs des études de phase 3, attendus pour 2014, devront déterminer l'effet du vaccin sur le contrôle de la maladie mais également répondre à quelques questions en suspens notamment sur la réduction de l'immunité après 10 à 12 mois, l'effet sur le taux de mortalité et sur l'efficacité plus faible chez les plus jeunes. Ces différents éléments permettront de combler les lacunes de ces premières formulations et ainsi d'obtenir une meilleure protection vaccinale pour les vaccins futurs de « deuxième génération ».

Si les résultats définitifs s'avèrent concluants, ils devraient permettre à ce vaccin d'obtenir son autorisation de mise sur le marché (AMM).

Conclusion

Le paludisme est l'une des maladies les plus mortelles et un important facteur de pauvreté dans le monde. Il touche particulièrement les jeunes enfants en Afrique. Plus de la moitié de la population mondiale est menacée par ce fléau. La prise en charge de la maladie doit être efficace, rapide et complète (traitement symptomatique et d'élimination des parasites). L'accroissement des résistances du parasite aux antipaludiques et celle des moustiques aux insecticides ainsi que l'émergence de *P. knowlesi* (5^{ème} espèce infectante pour l'homme pour l'instant limitée à l'Asie du Sud-est), compromettent les efforts déployés pour lutter contre cette maladie.

Plus que jamais, il faut faire reculer le paludisme. Dans cette lutte classée prioritaire, l'OMS s'est fixé pour objectif de réduire de 75% le nombre de cas de paludisme et de se rapprocher de la mortalité zéro entre 2015 et 2020 [161]. Les nombreuses actions au niveau international (accroissement des ressources, financement, plan de lutte, actions de prévention ...) ont contribué à réduire l'impact de cette maladie ces dernières années et à rendre l'objectif de plus en plus réalisable. Ces résultats encourageants doivent motiver et accroître l'engagement face au paludisme.

Les moyens de lutte repose aussi bien sur la prévention (moustiquaires imprégnées, insecticides, assèchement des eaux stagnantes, chimio-prophylaxie ...) et sur l'arsenal thérapeutique. Les moyens de prévention, de plus en plus utilisés, contribuent à la réduction des infections palustres. L'essor des combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine a permis de faire face aux nombreuses résistances du parasite.

Après 70 ans de recherche, d'échecs, de frustrations face à un parasite aussi redoutable que difficile à cerner, les recherches vaccinales se sont accélérées et ont permis de cibler plusieurs antigènes pour l'élaboration de vaccins L'OMS et la fondation américaine PATH à travers son programme Malaria Vaccine Initiative participent à l'élaboration d'un vaccin contre le paludisme en encourageant la recherche. Avec plus de 100 millions de dollars réservés à cette recherche vaccinale, la fondation Bill et Melinda Gates s'investit pleinement dans cette lutte [162].

Le vaccin RTS,S/AS01, en phase 3 chez les nourrissons, est actuellement le plus avancé. Les premiers résultats de ce vaccin pré-érythrocytaire laissent penser que nous sommes sur la bonne voie. Ces derniers ont montré une réduction des accès palustres et des crises graves de l'ordre de 50% et confirmé ainsi les données des phases 1 et 2. Attendus pour 2014, les résultats définitifs, s'ils confirment cette tendance, devraient permettre une mise sur le marché très prochaine du vaccin. Le vaccin RTS,S/AS constituerait ainsi une avancée majeure dans la lutte pour l'éradication de la maladie. Mais il ne doit en aucun cas induire un relâchement de la pression sur ce fléau en conjuguant l'ensemble des méthodes de lutte disponibles. Ses atouts et inconvénients devraient permettre d'accélérer les recherches, d'améliorer l'approche vaccinale (formulation, cibles, effets indésirables ...) et de

conduire à l'élaboration de « vaccins de 2nd génération », mieux tolérés et plus efficaces.

Les autres candidats, qui ciblent différents stades du développement parasitaire, devraient également profiter des résultats des essais sur RTS,S notamment sur les mécanismes immunitaires médiant la protection contre les parasites. Le vaccin MSP-3, développé par l'institut Pasteur semble également être bien avancé. Il est actuellement en phase 2 de développement clinique. La question de co-administration de vaccins antipaludiques ou de l'élaboration de vaccins multi-cibles peut se poser dans la mesure où l'efficacité pourrait en être meilleure en ciblant les différentes phases du développement. De telles formulations permettraient-elles d'avoir une protection totale avec une bonne tolérance tout en limitant les effets indésirables ?

Bibliographies

- [1] OMS, "OMS | Dix principaux points sur le paludisme," 2009, 2009. [En ligne]: http://www.who.int/features/factfiles/malaria/malaria_facts/fr/index2.html. [Consulté le : 15-Juin-2012].
- [2] OMS, "OMS | Rapport 2011 sur le paludisme dans le monde," 2011. [En ligne]: http://www.who.int/malaria/world_malaria_report_2011/fr/index.html. [Consulté le : 15-Juin-2012].
- [3] OMS, "Paludisme," 2012. [En ligne]: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs094/fr/index.html>. [Consulté le : 06-Juin-2012].
- [4] L. S. Garcia, "Malaria Update for the Clinical Microbiology Laboratory: a New Species, *Plasmodium knowlesi*, and New Diagnostic Tests," *Clinical Microbiology Newsletter*, vol. 32, no. 17, pp. 127–133, Sep. 2010.
- [5] P. Bouree, "Aspects actuels du paludisme," *Revue francophones des laboratoires*, no. 385, pp. 25–38, 2006.
- [6] K. Mendis, B. J. Sina, P. Marchesini, and R. Carter, "The neglected burden of *Plasmodium vivax* malaria.," *The American journal of tropical medicine and hygiene*, vol. 64, no. 1–2 Suppl, pp. 97–106, 2001.
- [7] H. Singh, A. Parakh, S. Basu, and B. Rath, "*Plasmodium vivax* malaria: is it actually benign?," *Journal of infection and public health*, vol. 4, no. 2, pp. 91–95, 2011.
- [8] S. Sabbatani, S. Fiorino, and R. Manfredi, "*Plasmodium knowlesi*: from Malaysia, a novel health care threat.," *Le infezioni in medicina : rivista periodica di eziologia, epidemiologia, diagnostica, clinica e terapia delle patologie infettive*, vol. 20, no. 1, pp. 5–11, Mar. 2012.
- [9] S. Sabbatani, S. Fiorino, and R. Manfredi, "The emerging of the fifth malaria parasite (*Plasmodium knowlesi*): a public health concern?," *The Brazilian journal of infectious diseases : an official publication of the Brazilian Society of Infectious Diseases*, vol. 14, no. 3, pp. 299–309, 2010.
- [10] Institut national de santé publique du Quebec, "Identification morphologique des parasites de la malaria," *Cahier de stage*, pp. 1–34, 2005.
- [11] J. Mouchet, P. Carnevale, M. Coosemans, J. Julvez, S. Manguin, D. Richard-Lenoble, and J. Sircoulon, *Biodiversité du paludisme dans le monde*, John Libbe. 2004, pp. 1–427.
- [12] "le moustique." [En ligne]: <http://www.geocities.ws/chantignole401/moust2.html>. [Consulté le : 06-Juin-2012].
- [13] Académie de la réunion, "Classification des moustiques." [En ligne]: http://ac-reunion.fr/fileadmin/rep_services/rep_caps/risques/risques-biologiques/chikungunya/bio-mous.pdf. [Consulté le : 06-Juin-2012].

- [14] CDC - Centers for Disease Control and Prevention, "Anopheles Freeborni Mosquito Pumping Blood," 2010. [En ligne]: http://www.cdc.gov/malaria/about/biology/mosquitoes/freeborni_large.html. [Consulté le : 28-Juin-2012].
- [15] P. Carnevale and V. Robert, *Les anophèles - Biologie, transmission du Plasmodium et lutte antivectorielle*, IRD. Diffusion IRD, pp. 1–391.
- [16] CDC - Centers for Disease Control and Prevention, "Cycle parasitaire des plasmodium spp.," 2010. [En ligne]: http://www.dpd.cdc.gov/DPDx/images/ParasiteImages/M-R/Malaria/malaria_LifeCycle.gif. [Consulté le : 03-Décembre-2012].
- [17] M. B. Markus, "The hypnozoite concept, with particular reference to malaria.," *Parasitology Research*, vol. 108, no. 1, pp. 247–252, 2011.
- [18] M. B. Markus, "Malaria: Origin of the Term 'Hypnozoite'," *Journal of the History of Biology*, vol. 44, no. 4, pp. 781–786, 2010.
- [19] W. A. Krotoski, "The hypnozoite and malarial relapse.," *Progress in Clinical Parasitology*, vol. 1, pp. 1–19, 1989.
- [20] W. A. Krotoski, "Discovery of the hypnozoite and a new theory of malarial relapse.," *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, vol. 79, no. 1, pp. 1–11, 1985.
- [21] E. T. Nkhoma, C. Poole, V. Vannappagari, S. A. Hall, and E. Beutler, "The global prevalence of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency: a systematic review and meta-analysis.," *Blood cells molecules diseases*, vol. 42, no. 3, pp. 267–278, 2009.
- [22] L. J. Bruce-Chwatt, "PALEOGENESIS AND PALEO-EPIDEMIOLOGY OF PRIMATE MALARIA.," *Bulletin of the World Health Organization*, vol. 32, no. 3, pp. 363–387, 1965.
- [23] R. Desowitz, *The Malaria Capers: More Tales of Parasites and People, Research, and Reality*, W. W. Nort. New York: , 1991, p. 111.
- [24] J. Fournier, "[Alcaloids discovery, markers for the history of organic chemistry].," *Revue d'histoire de la pharmacie*, vol. 49, no. 331, pp. 315–32, Jan. 2001.
- [25] F. E. Cox, "History of the discovery of the malaria parasites and their vectors.," *Parasites & vectors*, vol. 3, no. 1, p. 5, Jan. 2010.
- [26] L. J. Bruce-Chwatt, "Transmission of malaria. 75th anniversary of Ronald Ross's great discovery.," *British medical journal*, vol. 3, no. 5824, pp. 464–466, 1972.
- [27] E. R. Nye, "Ronald Ross: discoverer of the role of the mosquito in the transmission of malaria.," *The New Zealand medical journal*, vol. 104, no. 919, pp. 386–387, 1991.

- [28] K. Sulek, "Nobel prize for Julius Wagner-Jauregg in 1927 for discovery of the therapeutic importance of malaria inoculation for treatment of progressive paralysis," *Wiadomosci lekarskie Warsaw Poland* 1960, vol. 20, no. 24, p. 2232, 1967.
- [29] CHU de Rouen, "Paludisme Wikipédia," 8 octobre 2006. [En ligne]: <http://fr.wikipedia.org/wiki/Fichier:Paludisme.png>. [Consulté le : 28-Jun-2012].
- [30] Roll Back Malaria, "Faire reculer le paludisme (RBM) - Données clés sur paludisme," 2011. [En ligne]: <http://www.rbm.who.int/fr/keyfacts.php>. [Consulté le : 06-Juin-2012].
- [31] Roll Back Malaria and WHO, "Plan d'action mondial contre le paludisme," 2008. [En ligne]: http://www.rbm.who.int/toolbox/fr/tool_GMAP.html. [Consulté le : 04-Avril-2012].
- [32] Roll Back Malaria and WHO, "Lutte contre le paludisme : financement et utilisation des ressources - Les dix premières années du Partenariat RBM." [En ligne]: <http://www.rbm.who.int/ProgressImpactSeries/report1-fr.html>. [Consulté le : 04-Février-2012].
- [33] Institut de veille sanitaire, "Recommandations sanitaires pour les voyageurs," *Bulletin épidémiologique hebdomadaire*, vol. n°20–21, pp. 223–254, 2012.
- [34] M. J. Barcus, H. Basri, H. Picarima, C. Manyakori, Sekartuti, I. Elyazar, M. J. Bangs, J. D. Maguire, and J. K. Baird, "Demographic risk factors for severe and fatal vivax and falciparum malaria among hospital admissions in northeastern Indonesian Papua.," *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, vol. 77, no. 5, pp. 984–991, 2007.
- [35] F. Bruneel, "Paludisme grave d'importation," *Journal des Anti-infectieux*, vol. 13, no. 1, pp. 39–48, Mar. 2011.
- [36] P. Imbert and A. Banerjee, "Paludisme de l'enfant," *Encyclopédie médico-chirurgicale*, vol. 2, no. 4–320-A-20, pp. 1–24, 2012.
- [37] P. Bouree, F. Bisaro, and C. Couzigou, "Paludisme et grossesse," *Revue Francophone Des Laboratoires*, vol. 2008, no. 402, pp. 63–70, 2008.
- [38] F. P. Mockenhaupt, G. Bedu-Addo, C. Von Gaertner, R. Boyé, K. Fricke, I. Hannibal, F. Karakaya, M. Schaller, U. Ulmen, P. A. Acquah, E. Dietz, T. A. Eggelte, and U. Bienzle, "Detection and clinical manifestation of placental malaria in southern Ghana," *Malaria Journal*, vol. 5, no. 119, p. 119, 2006.
- [39] M. Cot and P. Deloron, "Paludisme associé à la grossesse : conséquences et perspectives d'intervention," *Med Trop*, no. 63, pp. 369–380, 2003.
- [40] P. E. Duffy and M. Fried, "Malaria in the pregnant woman.," *Current Topics in Microbiology and Immunology*, vol. 295, no. Journal Article, pp. 169–200, 2005.
- [41] R. W. Steketee, B. L. Nahlen, M. E. Parise, and C. Menendez, "The burden of malaria in pregnancy in malaria-endemic areas," *American Journal Of Tropical Medicine And Hygiene*, vol. 64, no. 1–2 Suppl, pp. 28–35., 2001.

- [42] H. L. Guyatt and R. W. Snow, "The epidemiology and burden of Plasmodium falciparum-related anemia among pregnant women in sub-Saharan Africa.," *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, vol. 64, no. 1–2 Suppl, pp. 36–44, 2001.
- [43] F. H. Verhoeff, B. J. Brabin, L. Chimsuku, P. Kazembe, and R. L. Broadhead, "Malaria in pregnancy and its consequences for the infant in rural Malawi," *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, vol. 93, no. SUPPL. 1, pp. S25–S33, 1999.
- [44] S. Diop, M. Ndiaye, M. Seck, B. Chevalier, R. Jambou, A. Sarr, T. N. Dieye, A. O. Toure, D. Thiam, and L. Diakhate, "Prévention du paludisme post-transfusionnel en zone d'endémie Prevention of transfusion transmitted malaria in endemic area," *Transfusion Clinique et Biologique*, vol. 16, no. 5–6, pp. 454–459, 2009.
- [45] Etablissement Français du Sang, "Rapport d'activité 2010." pp. 1–76, 2010.
- [46] P. R. Garraud O Relace J Flori P, "Le risque de paludisme transfusionnel confronté à celui de la mutité biologique : deux données irréconciliables ?," *Trans Clin Biol*, vol. 11, pp. 87–94, 2004.
- [47] B. L. Nahlen, H. O. Lobel, S. E. Cannon, and C. C. Campbell, "Reassessment of blood donor selection criteria for United States travelers to malarious areas.," *Transfusion*, vol. 31, no. 9, pp. 798–804, 1991.
- [48] M. Mungai, G. Tegtmeier, M. Chamberland, and M. Parise, "Transfusion-transmitted malaria in the United States from 1963 through 1999.," *The New England Journal of Medicine*, vol. 344, no. 26, pp. 1973–1978, 2001.
- [49] M. S. M. Ali and A. G. M. Y. Kadaru, "In vitro processing of donor blood with sulfadoxine-pyrimethamine for eradication of transfusion-induced malaria.," *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, vol. 73, no. 6, pp. 1119–1123, 2005.
- [50] M. S. Ali and A. M. Kadaru, "In vitro processing of donors' blood with quinine for elimination of malaria parasites.," *Saudi Medical Journal*, vol. 27, no. 7, pp. 986–991, 2006.
- [51] Conseil Scientifique des Concours de l'Internat en Pharmacie, "Valeurs biologiques usuelles - Novembre 2009," *Concours de l'internat en pharmacie*, 2009. [En ligne]: http://www.cnci.univ-paris5.fr/pharmacie/Constantes_biologiques_adultes_2009.pdf. [Consulté le : 12-Août-2012].
- [52] E. Katongole-Mbidde, C. Banura, and A. Kizito, "Blackwater fever caused by Plasmodium vivax infection in the acquired immune deficiency syndrome.," *British medical journal Clinical research ed*, vol. 296, no. 6625, p. 827, 1988.
- [53] J. Cox-Singh, J. Hiu, S. B. Lucas, P. C. Divis, M. Zulkarnaen, P. Chandran, K. T. Wong, P. Adem, S. R. Zaki, B. Singh, and S. Krishna, "Severe malaria - a case of fatal Plasmodium knowlesi infection with post-mortem findings: a case report," *Malaria Journal*, vol. 9, no. 1, p. 10, 2010.

- [54] T. Debord, "Recommandations pour la pratique clinique 2007 Prise en charge et prévention du paludisme d'importation à *Plasmodium falciparum* (Révision 2007 de," *Reanimation*, 2008.
- [55] R. Paraye, "Frottis mince et goutte épaisse." Amiens, 2012.
- [56] World Health Organization Regional Office for the Western Pacific, "Malaria RDTs - Mechanism of action," 2005. [En ligne]: <http://www2.wpro.who.int/sites/rdt/whatis/mechanism.htm>. [Consulté le : 06-Juin-2012].
- [57] J. J. De Pina, E. Garnotel, P. Hance, S. Vedy, C. Rogier, and M. Morillon, "Diagnosis of imported malaria in France," *Medecine et Maladies Infectieuses*, vol. 37, no. 11, pp. 710–715, 2007.
- [58] J. Maslin, T. Coton, C. Martinaud, D. Lignac, L. Journaux, F. Grassin, and B. Chagneau, "Test rapide de diagnostic du paludisme : une curieuse discordance .," vol. 1, no. 38, pp. 137–141, 2010.
- [59] R. E. Hayward, D. J. Sullivan, and K. P. Day, "Plasmodium falciparum: histidine-rich protein II is expressed during gametocyte development.," *Experimental Parasitology*, vol. 96, no. 3, pp. 139–146, 2000.
- [60] R. E. Coleman, N. Maneechai, N. Rachapaew, C. Kumpitak, V. Soyseng, R. S. Miller, K. Thimasarn, and J. Sattabongkot, "Field evaluation of the ICT Malaria Pf/Pv immunochromatographic test for the detection of asymptomatic malaria in a Plasmodium falciparum/vivax endemic area in Thailand.," *The American journal of tropical medicine and hygiene*, vol. 66, no. 4, pp. 379–83, Apr. 2002.
- [61] Y. Katakai, K. Komaki-Yasuda, N. Tangpukdee, P. Wilairatana, S. Krudsood, and S. Kano, "Evaluation of the NOW Malaria Immunochromatographic Test for Quantitative Diagnosis of Falciparum and Vivax Malaria Parasite Density.," *Tropical medicine and health*, vol. 39, no. 4, pp. 105–8, Dec. 2011.
- [62] A. Berry, X. Iriart, and J.-F. Magnaval, "Nouvelles méthodes de diagnostic du paludisme," *Revue Francophone des Laboratoires*, vol. 2009, no. 416, pp. 65–70, 2009.
- [63] T. F. McCutchan, R. C. Piper, and M. T. Makler, "Use of Malaria Rapid Diagnostic Test to Identify Plasmodium knowlesi Infection," *Emerging Infectious Diseases*, vol. 14, no. 11, pp. 1750–1752, 2008.
- [64] S. Kawai, M. Hirai, K. Haruki, K. Tanabe, and Y. Chigusa, "Cross-reactivity in rapid diagnostic tests between human malaria and zoonotic simian malaria parasite Plasmodium knowlesi infections.," *Parasitology International*, vol. 58, no. 3, pp. 300–302, 2009.
- [65] L. Hviid, "Naturally acquired immunity to Plasmodium falciparum malaria in Africa.," *Acta Tropica*, vol. 95, no. 3, pp. 270–275, 2005.

- [66] P. C. Bull, B. S. Lowe, M. Kortok, and K. Marsh, "Antibody recognition of *Plasmodium falciparum* erythrocyte surface antigens in Kenya: evidence for rare and prevalent variants.," *Infection and Immunity*, vol. 67, no. 2, pp. 733–739, 1999.
- [67] World Health Organization, "Guidelines for the treatment of malaria, 2nd edition," WHO. World Health Organization, p. 197p, 2010.
- [68] ChemSpider.com, "Chloroquine - ChemSpider." [En ligne]: <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.2618.html?rid=4f88021b-03ca-4948-bdd6-03f150c60c08>. [Consulté le : 07-Jun-2012].
- [69] D. Greenwood, "Conflicts of interest: the genesis of synthetic antimalarial agents in peace and war.," *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, vol. 36, no. 5, pp. 857–872, 1995.
- [70] R. D. Silva and G. Hochman, "A method called Pinotti: medicated salt, malaria, and international health (1952-1960)," *Historia ciencias saudeManguinhos*, vol. 18, no. 2, pp. 519–544, 2011.
- [71] DrugBank, "DrugBank: Amodiaquine (DB00613)." [En ligne]: <http://www.drugbank.ca/drugs/DB00613>. [Consulté le : 16-May-2012].
- [72] K. A. Neftel, W. Woodtly, M. Schmid, P. G. Frick, and J. Fehr, "Amodiaquine induced agranulocytosis and liver damage.," *British medical journal (Clinical research ed.)*, vol. 292, no. 6522, pp. 721–3, Mar. 1986.
- [73] Chemspider.com, "Pyronaridine ou Malaridine - ChemSpider." [En ligne]: <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.4588649.html?rid=4249334d-9f45-4ad2-8a79-e552500c26d6>. [Consulté le : 02-Avril-2012].
- [74] A. K. Tshefu, O. Gaye, K. Kayentao, R. Thompson, K. M. Bhatt, S. S. S. Sesay, D. G. Bustos, E. Tjitra, G. Bedu-Addo, I. Borghini-Fuhrer, S. Duparc, C. S. Shin, and L. Fleckenstein, "Efficacy and safety of a fixed-dose oral combination of pyronaridine-artesunate compared with artemether-lumefantrine in children and adults with uncomplicated *Plasmodium falciparum* malaria: a randomised non-inferiority trial.," *The lancet*, vol. 375, no. 9724, pp. 1457–1467, 2010.
- [75] F. Kurth, P. Pongratz, S. Bélard, B. Mordmüller, P. G. Kremsner, and M. Ramharther, "In vitro activity of pyronaridine against *Plasmodium falciparum* and comparative evaluation of anti-malarial drug susceptibility assays," *Malaria Journal*, vol. 8, p. 79, 2009.
- [76] chemspider.com, "Piperaquine - 4,4'-(propane-1,3-diyl)dipiperazine-4,1-diyl)bis(7-chloroquinoline)." [En ligne]: <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.109031.html?rid=f62a64dc-a455-4d11-a215-5d10568f5128>. [Consulté le : 11-Juin-2012].
- [77] MMV (Medecines for Malaria Venture), "Phase IV | Medecines for Malaria Venture," 2012. [En ligne]: <http://www.mmv.org/research-development/project-portfolio/interactive-portfolio/phase-iv>. [Consulté le : 11-Mai-2012].

- [78] N. Valecha, A. P. Phyto, M. Mayxay, P. N. Newton, S. Krudsood, S. Keomany, M. Khanthavong, T. Pongvongsa, R. Ruangveerayuth, C. Uthaisil, D. Ubben, S. Duparc, A. Bacchieri, M. Corsi, B. H. K. Rao, P. C. Bhattacharya, N. Dubhashi, S. K. Ghosh, V. Dev, A. Kumar, and S. Pukrittayakamee, "An open-label, randomised study of dihydroartemisinin-piperaquine versus artesunate-mefloquine for falciparum malaria in Asia," *PLoS ONE Electronic Resource*, vol. 5, no. 7, p. e11880, 2010.
- [79] Q. Bassat, M. Mulenga, H. Tinto, P. Piola, S. Borrmann, C. Menéndez, M. Nambozi, I. Valéa, C. Nabasumba, P. Sasi, A. Bacchieri, M. Corsi, D. Ubben, A. Talisuna, and U. D'Alessandro, "Dihydroartemisinin-Piperaquine and Artemether-Lumefantrine for Treating Uncomplicated Malaria in African Children: A Randomised, Non-Inferiority Trial," *PLoS ONE*, vol. 4, no. 11, p. 10, 2009.
- [80] emolecules.com, "CAS Number 63-45-6 | Sigma Aldrich 160393," 2012. [En ligne]: <http://www.emolecules.com/cgi-bin/more?vid=484213>. [Consulté le : 11-Mai-2012].
- [81] chemspider.com, "Chemspider - Tafenoquine," 2012. [En ligne]: <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.103196.html>. [Consulté le : 25-Mai-2012].
- [82] chemspider.com, "Chemspider - Pamaquine," 2012. [En ligne]: <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.9868.html>. [Consulté le : 19-Juin-2012].
- [83] A. W. Sweeney, C. R. B. Blackburn, and K. H. Rieckmann, "Short report: the activity of pamaquine, an 8-aminoquinoline drug, against sporozoite-induced infections of *Plasmodium vivax* (New Guinea strains).," *The American journal of tropical medicine and hygiene*, vol. 71, no. 2, pp. 187–9, Aug. 2004.
- [84] Drugbank.ca, "DrugBank: Quinine (DB00468)," 2012. [En ligne]: <http://www.drugbank.ca/drugs/DB00468>. [Consulté le : 15-Juin-2012].
- [85] Chemspider.com, "Mefloquine - Chemspider." [En ligne]: <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.37171.html?rid=c0d3bcc1-c364-4b2b-8b27-6e0e521c6db6>. [Consulté le : 03-Avril-2012].
- [86] Chemspider.com, "Halofantrine - Chemspider." [En ligne]: <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.34303.html?rid=3b79b89b-7e19-43b9-ba75-c747f989d80c>. [Consulté le : 07-Juin-2012].
- [87] Chemspider.com, "Lumefantrine - Chemspider." [En ligne]: <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.4941944.html?rid=9e3ef172-bc20-4dca-8457-51eb2171bb40>. [Consulté le : 07-Janvier-2012].
- [88] M. Makanga, Q. Bassat, C. O. Falade, Z. G. Premji, S. Krudsood, P. Hunt, V. Walter, H.-P. Beck, A.-C. Marrast, M. Cousin, and P. J. Rosenthal, "Efficacy and safety of artemether-lumefantrine in the treatment of acute, uncomplicated *Plasmodium falciparum* malaria: a pooled analysis.,," *The American journal of tropical medicine and hygiene*, vol. 85, no. 5, pp. 793–804, Nov. 2011.

- [89] K. R. Stover, S. T. King, and J. Robinson, "Artemether-lumefantrine: an option for malaria.," *The Annals of pharmacotherapy*, vol. 46, no. 4, pp. 567–77, Apr. 2012.
- [90] chemspider.com, "The free chemical database," 2012. [En ligne]: <http://www.chemspider.com/>. [Consulté le : 09-Juin-2012].
- [91] World Health Organization, "Faire reculer le paludisme (RBM) - Artemisia." [Online]. Available: <http://www.rbm.who.int/fr/psm/artemisia.php>. [Consulté le : 29-Juin-2012].
- [92] World Health Organization, "OMS | L'OMS demande l'arrêt immédiat de la commercialisation des comprimés antipaludiques comportant uniquement de l'artémisinine," World Health Organization, 2006.
- [93] chemspider.com, "Chemspider - Atovaquone," 2012. [En ligne]: <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.10482034.html>. [Consulté le : 29-Juin-2012].
- [94] B. Pradines, J. Dormoi, S. Briolant, H. Bogreau, and C. Rogier, "La résistance aux antipaludiques," *Revue Francophone Des Laboratoires*, vol. 2010, no. 422, pp. 51–62, 2010.
- [95] R. Hayward, K. J. Saliba, and K. Kirk, "pfmdr1 mutations associated with chloroquine resistance incur a fitness cost in *Plasmodium falciparum*," *Molecular Microbiology*, vol. 55, no. 4, pp. 1285–1295, 2005.
- [96] A. K. Mbonye, I. C. Bygbjerg, and P. Magnussen, "A community-based delivery system of intermittent preventive treatment of malaria in pregnancy and its effect on use of essential maternity care at health units in Uganda.," *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, vol. 101, no. 1, pp. 22–29, 2007.
- [97] H. Tagbor, J. Bruce, R. Ord, A. Randall, E. Browne, B. Greenwood, and D. Chandramohan, "Comparison of the therapeutic efficacy of chloroquine and sulphadoxine-pyremethamine in children and pregnant women.," *Tropical medicine international health TM IH*, vol. 12, no. 11, pp. 1288–1297, 2007.
- [98] M. J. Gardner, N. Hall, E. Fung, O. White, M. Berriman, R. W. Hyman, J. M. Carlton, A. Pain, K. E. Nelson, S. Bowman, I. T. Paulsen, K. James, J. A. Eisen, K. Rutherford, S. L. Salzberg, A. Craig, S. Kyes, M.-S. Chan, V. Nene, S. J. Shallom, B. Suh, J. Peterson, S. Angiuoli, M. Pertea, J. Allen, J. Selengut, D. Haft, M. W. Mather, A. B. Vaidya, D. M. A. Martin, A. H. Fairlamb, M. J. Fraunholz, D. S. Roos, S. A. Ralph, G. I. McFadden, L. M. Cummings, G. M. Subramanian, C. Mungall, J. C. Venter, D. J. Carucci, S. L. Hoffman, C. Newbold, R. W. Davis, C. M. Fraser, and B. Barrell, "Genome sequence of the human malaria parasite *Plasmodium falciparum*," *Nature*, vol. 419, no. 6906, pp. 498–511, 2002.
- [99] C. Rogier, E. Orlandi-Pradines, T. Fusaï, B. Pradines, S. Briolant, and L. Almeras, "Malaria vaccines: prospects and reality," *Medecine et Maladies Infectieuses*, vol. 36, no. 8, pp. 414–422, 2006.

- [100] World Health Organization, "Note sur la préparation d'un serum anti-plasmodium berghei berghei avec la souris et le lapin." pp. 1–5, 1973.
- [101] The lancet, "Malaria vaccine : Promise or phantom," *The lancet*, vol. 303, no. 7866, pp. 1089–1090, 1974.
- [102] R. S. Nussenzweig, J. Vanderberg, H. Most, and C. Orton, "Protective immunity produced by the injection of x-irradiated sporozoites of Plasmodium berghei," *Nature*, vol. 216, no. 111. pp. 160–162, 1967.
- [103] C. L. Diggs, W. R. Ballou, and L. H. Miller, "The major merozoite surface protein as a malaria vaccine target.," *Parasitology today Personal ed*, vol. 9, no. 8, pp. 300–302, 1993.
- [104] B. S. Crabb and J. G. Beeson, "Promising Functional Readouts of Immunity in a Blood-Stage Malaria Vaccine Trial," *PLoS Medicine*, vol. 2, no. 11, p. e380, 2005.
- [105] World Health Organization, "Malaria transmission blocking vaccines: an ideal public good," 2000. [En ligne]: http://www.who.int/vaccine_research/feuille_1_4-1.pdf. [Consulté le : 17-Août-2012].
- [106] D. Read, A. H. Lensen, S. Begarnie, S. Haley, A. Raza, and R. Carter, "Transmission-blocking antibodies against multiple, non-variant target epitopes of the Plasmodium falciparum gamete surface antigen Pfs230 are all complement-fixing.," *Parasite immunology*, vol. 16, no. 10, pp. 511–9, Oct. 1994.
- [107] M. Tachibana, C. Sato, H. Otsuki, J. Sattabongkot, O. Kaneko, M. Torii, and T. Tsuboi, "Plasmodium vivax gametocyte protein Pvs230 is a transmission-blocking vaccine candidate.," *Vaccine*, vol. 30, no. 10, pp. 1807–12, Feb. 2012.
- [108] A. L. Ouédraogo, W. Roeffen, A. J. F. Luty, S. J. de Vlas, I. Nebie, E. Ilboudo-Sanogo, N. Cuzin-Ouattara, K. Teleen, A. B. Tiono, S. B. Sirima, J.-P. Verhave, T. Bousema, and R. Sauerwein, "Naturally acquired immune responses to Plasmodium falciparum sexual stage antigens Pfs48/45 and Pfs230 in an area of seasonal transmission.," *Infection and immunity*, vol. 79, no. 12, pp. 4957–64, Dec. 2011.
- [109] Y. Wu, R. D. Ellis, D. Shaffer, E. Fontes, E. M. Malkin, S. Mahanty, M. P. Fay, D. Narum, K. Rausch, A. P. Miles, J. Aebig, A. Orcutt, O. Muratova, G. Song, L. Lambert, D. Zhu, K. Miura, C. Long, A. Saul, L. H. Miller, and A. P. Durbin, "Phase 1 Trial of Malaria Transmission Blocking Vaccine Candidates Pfs25 and Pvs25 Formulated with Montanide ISA 51," *PLoS ONE*, vol. 3, no. 7, p. 9, 2008.
- [110] H. Hisaeda, A. W. Stowers, T. Tsuboi, W. E. Collins, J. S. Sattabongkot, N. Suwanabun, M. Torii, and D. C. Kaslow, "Antibodies to malaria vaccine candidates Pvs25 and Pvs28 completely block the ability of Plasmodium vivax to infect mosquitoes.," *Infection and Immunity*, vol. 68, no. 12, pp. 6618–6623, 2000.

- [111] L. Zou, A. P. Miles, J. Wang, and A. W. Stowers, "Expression of malaria transmission-blocking vaccine antigen Pfs25 in *Pichia pastoris* for use in human clinical trials.," *Vaccine*, vol. 21, no. 15, pp. 1650–1657, 2003.
- [112] D. Taylor, N. Cloonan, V. Mann, Q. Cheng, and A. Saul, "Sequence diversity in rodent malaria of the Pfs28 ookinete surface antigen homologs.," *Molecular and biochemical parasitology*, vol. 110, no. 2, pp. 429–34, Oct. 2000.
- [113] C. Lavazec, C. Boudin, R. Lacroix, S. Bonnet, A. Diop, S. Thiberge, B. Boisson, R. Tahar, and C. Bourgouin, "Carboxypeptidases B of *Anopheles gambiae* as targets for a *Plasmodium falciparum* transmission-blocking vaccine.," *Infection and immunity*, vol. 75, no. 4, pp. 1635–42, Apr. 2007.
- [114] C. Lavazec, S. Bonnet, I. Thiery, B. Boisson, and C. Bourgouin, "cpbAg1 encodes an active carboxypeptidase B expressed in the midgut of *Anopheles gambiae*.," *Insect molecular biology*, vol. 14, no. 2, pp. 163–74, Apr. 2005.
- [115] World Health Organization, "Tables of Malaria Vaccine Projects Globally : Rainbow Table Reference List," 2011. [En ligne]: http://www.who.int/vaccine_research/links/Rainbow_Table_Reference_List.pdf. [Consulté le : 17-Août-2012].
- [116] IMS Health, "IMS Health (Top 20 Global Corporations, 2010) ," 2010. [En ligne]: http://www.imshealth.com/deployedfiles/imshealth/Global/Content/StaticFile/Top_Line_Data/Top_20_Global_Companies.pdf. [Consulté le : 17- Août-2012].
- [117] T. Rutgers, D. Gordon, A. M. Gathoye, M. Hollingdale, W. Hockmeyer, M. Rosenberg, and M. D. Wilde, "Hepatitis B Surface Antigen as Carrier Matrix for the Repetitive Epitope of the Circumsporozoite Protein of *Plasmodium Falciparum*.," *Bio/Technology*, vol. 6, no. 9, pp. 1065–1070, Sep. 1988.
- [118] Institute of medicine of the national academies, *Saving Lives, Buying Time: Economics of Malaria Drugs in an Age of Resistance*, National a. 2004.
- [119] J. F. Young, W. T. Hockmeyer, M. Gross, W. R. Ballou, R. A. Wirtz, J. H. Trospen, R. L. Beaudoin, M. R. Hollingdale, L. H. Miller, and C. L. Diggs, "Expression of *Plasmodium falciparum* circumsporozoite proteins in *Escherichia coli* for potential use in a human malaria vaccine.," *Science (New York, N.Y.)*, vol. 228, no. 4702, pp. 958–62, May 1985.
- [120] D. A. Herrington, D. F. Clyde, G. Losonsky, M. Cortesia, J. R. Murphy, J. Davis, S. Baqar, A. M. Felix, E. P. Heimer, and D. Gillessen, "Safety and immunogenicity in man of a synthetic peptide malaria vaccine against *Plasmodium falciparum* sporozoites.," *Nature*, vol. 328, no. 6127, pp. 257–259, 1987.
- [121] W. R. Ballou, S. L. Hoffman, J. A. Sherwood, M. R. Hollingdale, F. A. Neva, W. T. Hockmeyer, D. M. Gordon, I. Schneider, R. A. Wirtz, and J. F. Young, "Safety and efficacy of a recombinant DNA *Plasmodium falciparum* sporozoite vaccine.," 1987.

- [122] D. M. Gordon, T. W. McGovern, U. Krzych, J. C. Cohen, I. Schneider, R. LaChance, D. G. Heppner, G. Yuan, M. Hollingdale, and M. Slaoui, "Safety, immunogenicity, and efficacy of a recombinantly produced *Plasmodium falciparum* circumsporozoite protein-hepatitis B surface antigen subunit vaccine.," 1995.
- [123] J. A. Stoute, M. Slaoui, D. G. Heppner, P. Momin, K. E. Kester, P. Desmons, B. T. Welde, N. Garçon, U. Krzych, and M. Marchand, "A preliminary evaluation of a recombinant circumsporozoite protein vaccine against *Plasmodium falciparum* malaria. RTS,S Malaria Vaccine Evaluation Group.," *The New England Journal of Medicine*, vol. 336, no. 2, pp. 86–91, 1997.
- [124] K. E. Kester, D. A. McKinney, N. Tornieporth, C. F. Ockenhouse, D. G. Heppner, T. Hall, U. Krzych, M. Delchambre, G. Voss, M. G. Dowler, J. Palensky, J. Wittes, J. Cohen, and W. R. Ballou, "Efficacy of recombinant circumsporozoite protein vaccine regimens against experimental *Plasmodium falciparum* malaria.," 2001.
- [125] V. S. Moorthy, M. F. Good, and A. V. S. Hill, "Malaria vaccine developments.," *Lancet*, vol. 363, no. 9403, pp. 150–156, 2004.
- [126] S. Casares, T.-D. Brumeanu, and T. L. Richie, "The RTS,S malaria vaccine.," *Vaccine*, vol. 28, no. 31, pp. 4880–4894, 2010.
- [127] E. Malkin, F. Dubovsky, and M. Moree, "Progress towards the development of malaria vaccines.," *Trends in Parasitology*, vol. 22, no. 7, pp. 292–295, 2006.
- [128] R. S. Nussenzweig, "Breakthroughs towards a malaria vaccine.," *Historia ciencias saudeManguinhos*, vol. 18, no. 2, pp. 559–564, 2011.
- [129] D. F. Clyde, "Immunity to *falciparum* and *vivax* malaria induced by irradiated sporozoites: a review of the University of Maryland studies, 1971-75.," *Bulletin of the World Health Organization*, vol. 68, no. Suppl, pp. 9–12, 1990.
- [130] D. F. Clyde, V. C. McCarthy, R. M. Miller, and R. B. Hornick, "Specificity of protection of man immunized against sporozoite-induced *falciparum* malaria.," *The American journal of the medical sciences*, vol. 266, no. 6, pp. 398–403, 1973.
- [131] M. R. Van Dijk, B. Douradinha, B. Franke-Fayard, V. Heussler, M. W. Van Dooren, B. Van Schaijk, G.-J. Van Gemert, R. W. Sauerwein, M. M. Mota, A. P. Waters, and C. J. Janse, "Genetically attenuated, P36p-deficient malarial sporozoites induce protective immunity and apoptosis of infected liver cells.," *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 102, no. 34, pp. 12194–12199, 2005.
- [132] R. L. Richards, M. Rao, N. M. Wassef, G. M. Glenn, S. W. Rothwell, and C. R. Alving, "Liposomes Containing Lipid A Serve as an Adjuvant for Induction of Antibody and Cytotoxic T-Cell Responses against RTS,S Malaria Antigen," *Infection and Immunity*, vol. 66, no. 6, pp. 2859–2865, 1998.

- [133] J. Cohen, S. Benns, J. Vekemans, and A. Leach, "Le candidat vaccin antipaludique RTS , S / AS est entré en essais cliniques de phase III & The malaria vaccine candidate RTS , S / AS is in phase III clinical trials," *Annales Pharmaceutiques Francaises*, vol. 68, no. 6, pp. 370–379, 2010.
- [134] S. C. Gilbert and A. V. Hill, "Protein particle vaccines against malaria.," *Parasitology today Personal ed*, vol. 13, no. 8, pp. 302–306, 1997.
- [135] K. A. Bojang, P. J. Milligan, M. Pinder, L. Vigneron, A. Alloueche, K. E. Kester, W. R. Ballou, D. J. Conway, W. H. Reece, P. Gothard, L. Yamuah, M. Delchambre, G. Voss, B. M. Greenwood, A. Hill, K. P. McAdam, N. Tornieporth, J. D. Cohen, and T. Doherty, "Efficacy of RTS,S/AS02 malaria vaccine against *Plasmodium falciparum* infection in semi-immune adult men in The Gambia: a randomised trial.," Elsevier, 2001.
- [136] P. L. Alonso, J. Sacarlal, J. J. Aponte, A. Leach, E. Macete, J. Milman, I. Mandomando, B. Spiessens, C. Guinovart, M. Espasa, Q. Bassat, P. Aide, O. Ofori-Anyinam, M. M. Navia, S. Corachan, M. Ceuppens, M.-C. Dubois, M.-A. Demoitié, F. Dubovsky, C. Menéndez, N. Tornieporth, W. R. Ballou, R. Thompson, and J. Cohen, "Efficacy of the RTS,S/AS02A vaccine against *Plasmodium falciparum* infection and disease in young African children: randomised controlled trial.," *Lancet*, vol. 364, no. 9443, pp. 1411–20, 2004.
- [137] P. L. Alonso, J. Sacarlal, J. J. Aponte, A. Leach, E. Macete, P. Aide, B. Sigauque, J. Milman, I. Mandomando, Q. Bassat, C. Guinovart, M. Espasa, S. Corachan, M. Lievens, M. M. Navia, M.-C. Dubois, C. Menendez, F. Dubovsky, J. Cohen, R. Thompson, and W. R. Ballou, "Duration of protection with RTS,S/AS02A malaria vaccine in prevention of *Plasmodium falciparum* disease in Mozambican children: single-blind extended follow-up of a randomised controlled trial.," *Lancet*, vol. 366, no. 9502, pp. 2012–2018, 2005.
- [138] J. Sacarlal, P. Aide, J. J. Aponte, M. Renom, A. Leach, I. Mandomando, M. Lievens, Q. Bassat, S. Lafuente, E. Macete, J. Vekemans, C. Guinovart, B. Sigauque, M. Sillman, J. Milman, M.-C. Dubois, M.-A. Demoitié, J. Thonnard, C. Menéndez, W. R. Ballou, J. Cohen, and P. L. Alonso, "Long-term safety and efficacy of the RTS,S/AS02A malaria vaccine in Mozambican children.," University of Chicago Press (1427 E. 60th Street, Chicago IL 60637-2954, United States), 2009.
- [139] E. V. Macete, J. Sacarlal, J. J. Aponte, A. Leach, M. M. Navia, J. Milman, C. Guinovart, I. Mandomando, Y. López-Púa, M. Lievens, A. Owusu-Ofori, M.-C. Dubois, C. P. Cahill, M. Koutsoukos, M. Sillman, R. Thompson, F. Dubovsky, W. R. Ballou, J. Cohen, and P. L. Alonso, "Evaluation of two formulations of adjuvanted RTS, S malaria vaccine in children aged 3 to 5 years living in a malaria-endemic region of Mozambique: a Phase I/IIb randomized double-blind bridging trial.," *Trials*, vol. 8, p. 11, Jan. 2007.

- [140] J. J. Aponte, P. Aide, M. Renom, I. Mandomando, Q. Bassat, J. Sacarlal, M. N. Manaca, S. Lafuente, A. Barbosa, A. Leach, M. Lievens, J. Vekemans, B. Sigauque, M. C. Dubois, M. A. Demoitie, M. Sillman, B. Savarese, J. G. McNeil, E. Macete, W. R. Ballou, J. Cohen, and P. L. Alonso, "Safety of the RTS,S/AS02D candidate malaria vaccine in infants living in a highly endemic area of Mozambique: a double blind randomised controlled phase I/IIb trial," *Lancet*, vol. 370, no. 9598, pp. 1543–1551, 2007.
- [141] S. Abdulla, R. Oberholzer, O. Juma, S. Kubhoja, F. Machera, C. Membi, S. Omari, A. Urassa, H. Mshinda, A. Jumanne, N. Salim, M. Shomari, T. Aebi, D. M. Schellenberg, T. Carter, T. Villafana, M.-A. Demoitié, M.-C. Dubois, A. Leach, M. Lievens, J. Vekemans, J. Cohen, W. R. Ballou, and M. Tanner, "Safety and immunogenicity of RTS,S/AS02D malaria vaccine in infants.," *The New England Journal of Medicine*, vol. 359, no. 24, pp. 2533–2544, 2008.
- [142] K. E. Kester, J. F. Cummings, O. Ofori-Anyinam, C. F. Ockenhouse, U. Krzych, P. Moris, R. Schwenk, R. A. Nielsen, Z. Debebe, E. Pinelis, L. Juompan, J. Williams, M. Dowler, V. A. Stewart, R. A. Wirtz, M.-C. Dubois, M. Lievens, J. Cohen, W. R. Ballou, and D. G. Heppner, "Randomized, double-blind, phase 2a trial of falciparum malaria vaccines RTS,S/AS01B and RTS,S/AS02A in malaria-naïve adults: safety, efficacy, and immunologic associates of protection.," 2009.
- [143] M. E. Polhemus, S. A. Remich, B. R. Ogutu, J. N. Waitumbi, L. Otieno, S. Apollo, J. F. Cummings, K. E. Kester, C. F. Ockenhouse, A. Stewart, O. Ofori-Anyinam, I. Ramboer, C. P. Cahill, M. Lievens, M.-C. Dubois, M.-A. Demoitie, A. Leach, J. Cohen, W. R. Ballou, and D. G. Heppner, "Evaluation of RTS,S/AS02A and RTS,S/AS01B in Adults in a High Malaria Transmission Area," *PLoS ONE*, vol. 4, no. 7, p. 12, 2009.
- [144] P. Bejon, J. Lusingu, A. Olotu, A. Leach, M. Lievens, J. Vekemans, S. Mshamu, T. Lang, J. Gould, M.-C. Dubois, M.-A. Demoitié, J.-F. Stallaert, P. Vansadia, T. Carter, P. Njuguna, K. O. Awuondo, A. Malabeja, O. Abdul, S. Gesase, N. Mturi, C. J. Drakeley, B. Savarese, T. Villafana, W. R. Ballou, J. Cohen, E. M. Riley, M. M. Lemnge, K. Marsh, and L. Von Seidlein, "Efficacy of RTS,S/AS01E vaccine against malaria in children 5 to 17 months of age.," *The New England Journal of Medicine*, vol. 359, no. 24, pp. 2521–2532, 2008.
- [145] University of Oxford, "Volunteer information sheet : VAC038 - A study to assess new malaria vaccines; ChAd63 CS & MVA CS," 2011. [En ligne]: http://www.rcsi.ie/files/newsevents/20120313104559_VAC038_VIS_Eire_v3.0_11th_Sept.pdf. [Consulté le : 25-Mai-2012].
- [146] R. Schwenk, L. V. Asher, I. Chalom, D. Lanar, P. Sun, K. White, D. Keil, K. E. Kester, J. Stoute, D. G. Heppner, and U. Krzych, "Opsonization by antigen-specific antibodies as a mechanism of protective immunity induced by *Plasmodium falciparum* circumsporozoite protein-based vaccine.," *Parasite Immunology*, vol. 25, no. 1, pp. 17–25, 2003.

- [147] K. E. Kester, J. F. Cummings, C. F. Ockenhouse, R. Nielsen, B. T. Hall, D. M. Gordon, R. J. Schwenk, U. Krzych, C. A. Holland, G. Richmond, M. G. Dowler, J. Williams, R. A. Wirtz, N. Tornieporth, L. Vigneron, M. Delchambre, M. A. Demoitie, W. R. Ballou, J. Cohen, D. G. Heppner, and S. M. V. E. G. Rts, "Phase 2a trial of 0, 1, and 3 month and 0, 7, and 28 day immunization schedules of malaria vaccine RTS,S/AS02 in malaria-naïve adults at the Walter Reed Army Institute of Research," *Vaccine*, vol. 26, pp. 2191–2202, 2008.
- [148] J. F. Doherty, M. Pinder, N. Tornieporth, C. Carton, L. Vigneron, P. Milligan, W. R. Ballou, C. A. Holland, K. E. Kester, G. Voss, P. Momin, B. M. Greenwood, K. P. McAdam, and J. Cohen, "A phase I safety and immunogenicity trial with the candidate malaria vaccine RTS,S/SBAS2 in semi-immune adults in The Gambia.," *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, vol. 61, no. 6, pp. 865–868, 1999.
- [149] J. A. Stoute, D. G. Heppner, C. J. Mason, J. Siangla, M. O. Opollo, K. E. Kester, L. Vigneron, G. Voss, M. J. Walter, N. Tornieporth, J. D. Cohen, and W. R. Ballou, "Phase 1 safety and immunogenicity trial of malaria vaccine RTS,S/AS02A in adults in a hyperendemic region of western Kenya.," *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, vol. 75, no. 1, pp. 166–170, 2006.
- [150] A. Allouche, P. Milligan, D. J. Conway, M. Pinder, K. Bojang, T. Doherty, N. Tornieporth, J. Cohen, and B. M. Greenwood, "Protective efficacy of the RTS,S/AS02 Plasmodium falciparum malaria vaccine is not strain specific.," *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, vol. 68, no. 1, pp. 97–101, 2003.
- [151] K. P. Asante, S. Abdulla, S. Agnandji, J. Lyimo, J. Vekemans, S. Soulanoudjingar, R. Owusu, M. Shomari, A. Leach, E. Jongert, N. Salim, J. F. Fernandes, D. Dosoo, M. Chikawe, S. Issifou, K. Osei-Kwakye, M. Lievens, M. Paricek, T. Moller, S. Apanga, G. Mwangoka, M. C. Dubois, T. Madi, E. Kwara, R. Minja, A. B. Hounkpatin, O. Boahen, K. Kayan, G. Adjei, D. Chandramohan, T. Carter, P. Vansadia, M. Sillman, B. Savarese, C. Loucq, D. Lapierre, B. Greenwood, J. Cohen, P. Kremsner, S. Owusu-Agyei, M. Tanner, and B. Lell, "Safety and efficacy of the RTS,S/AS01E candidate malaria vaccine given with expanded-programme-on-immunisation vaccines: 19 month follow-up of a randomised, open-label, phase 2 trial," *Lancet Infectious Disease*, vol. 11, no. 10, pp. 741–749, 2011.
- [152] K. P. Asante, S. Abdulla, S. Agnandji, J. Lyimo, J. Vekemans, S. Soulanoudjingar, R. Owusu, M. Shomari, A. Leach, E. Jongert, N. Salim, J. F. Fernandes, D. Dosoo, M. Chikawe, S. Issifou, K. Osei-Kwakye, M. Lievens, M. Paricek, T. Möller, S. Apanga, G. Mwangoka, M.-C. Dubois, T. Madi, E. Kwara, R. Minja, A. B. Hounkpatin, O. Boahen, K. Kayan, G. Adjei, D. Chandramohan, T. Carter, P. Vansadia, M. Sillman, B. Savarese, C. Loucq, D. Lapierre, B. Greenwood, J. Cohen, P. Kremsner, S. Owusu-Agyei, M. Tanner, and B. Lell, "Safety and efficacy of the RTS,S/AS01E candidate malaria vaccine given with expanded-programme-on-immunisation vaccines: 19 month follow-up of a randomised, open-label, phase 2 trial.," *The Lancet infectious diseases*, vol. 11, no. 10, pp. 741–9, Oct. 2011.

- [153] ClinicalTrials.gov, "Efficacy of GSK Biologicals' Candidate Malaria Vaccine 257049 Against Malaria Disease in Infants and Children in Africa - Full Text View - ClinicalTrials.gov," 2012, 2012. [En ligne]: <http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00866619?term=malaria+efficacy&rank=2>. [Consulté le : 29-Juin-2012].
- [154] PATH, "PATH Malaria Vaccine Initiative: Trial sites," *October 18, 2011*, 2011. [En ligne]: <http://www.malariavaccine.org/rd-trial-sites.php>. [Consulté le : 01-Juillet-2012].
- [155] S. T. Agnandji, B. Lell, S. S. Soulanoudjingar, J. F. Fernandes, B. P. Abossolo, C. Conzelmann, B. G. N. O. Methogo, Y. Doucka, A. Flamen, B. Mordmüller, S. Issifou, P. G. Kremsner, J. Sacarlal, P. Aide, M. Lanaspa, J. J. Aponte, A. Nhamuave, D. Quelhas, Q. Bassat, S. Mandjate, E. Macete, P. Alonso, S. Abdulla, N. Salim, O. Juma, M. Shomari, K. Shubis, F. Machera, A. S. Hamad, R. Minja, A. Mtoro, A. Sykes, S. Ahmed, A. M. Urassa, A. M. Ali, G. Mwangoka, M. Tanner, H. Tinto, U. D'Alessandro, H. Sorgho, I. Valea, M. C. Tahita, W. Kaboré, S. Ouédraogo, Y. Sandrine, R. T. Guiguemdé, J. B. Ouédraogo, M. J. Hamel, S. Kariuki, C. Odero, M. Oneko, K. Otieno, N. Awino, J. Omoto, J. Williamson, V. Muturi-Kioi, K. F. Laserson, L. Slutsker, W. Otieno, L. Otieno, O. Nekoye, S. Gondi, A. Otieno, B. Ogutu, R. Wasuna, V. Owira, D. Jones, A. A. Onyango, P. Njuguna, R. Chilengi, P. Akoo, C. Kerubo, J. Gitaka, C. Maingi, T. Lang, A. Olotu, B. Tsofa, P. Bejon, N. Peshu, K. Marsh, S. Owusu-Agyei, K. P. Asante, K. Osei-Kwakye, O. Boahen, S. Ayamba, K. Kayan, R. Owusu-Ofori, D. Dosoo, I. Asante, G. Adjei, D. Chandramohan, B. Greenwood, J. Lusingu, S. Gesase, A. Malabeja, O. Abdul, H. Kilavo, C. Mahende, E. Liheluka, M. Lemnge, T. Theander, C. Drakeley, D. Ansong, T. Agbenyega, S. Adjei, H. O. Boateng, T. Rettig, J. Bawa, J. Sylverken, D. Sambian, A. Agyekum, L. Owusu, F. Martinson, I. Hoffman, T. Mvalo, P. Kamthunzi, R. Nkomo, A. Msika, A. Jumbe, N. Chome, D. Nyakuipa, J. Chintedza, W. R. Ballou, M. Bruls, J. Cohen, Y. Guerra, E. Jongert, D. Lapierre, A. Leach, M. Lievens, O. Ofori-Anyinam, J. Vekemans, T. Carter, D. Leboulleux, C. Loucq, A. Radford, B. Savarese, D. Schellenberg, M. Sillman, and P. Vansadia, "First Results of Phase 3 Trial of RTS,S/AS01 Malaria Vaccine in African Children," *The New England Journal of Medicine*, vol. 365, no. 20, pp. 1863–75, 2011.

- [156] S. T. Agnandji, B. Lell, S. S. Soulanoudjingar, J. F. Fernandes, B. P. Abossolo, C. Conzelmann, B. G. N. O. Methogo, Y. Doucka, A. Flamen, B. Mordmüller, S. Issifou, P. G. Kremsner, J. Sacarlal, P. Aide, M. Lanaspa, J. J. Aponte, A. Nhamuave, D. Quelhas, Q. Bassat, S. Mandjate, E. Macete, P. Alonso, S. Abdulla, N. Salim, O. Juma, M. Shomari, K. Shubis, F. Machera, A. S. Hamad, R. Minja, A. Mtoro, A. Sykes, S. Ahmed, A. M. Urassa, A. M. Ali, G. Mwangoka, M. Tanner, H. Tinto, U. D'Alessandro, H. Sorgho, I. Valea, M. C. Tahita, W. Kaboré, S. Ouédraogo, Y. Sandrine, R. T. Guiguemdé, J. B. Ouédraogo, M. J. Hamel, S. Kariuki, C. Odero, M. Oneko, K. Otieno, N. Awino, J. Omoto, J. Williamson, V. Muturi-Kioi, K. F. Laserson, L. Slutsker, W. Otieno, L. Otieno, O. Nekoye, S. Gondi, A. Otieno, B. Ogutu, R. Wasuna, V. Owira, D. Jones, A. A. Onyango, P. Njuguna, R. Chilengi, P. Akoo, C. Kerubo, J. Gitaka, C. Maingi, T. Lang, A. Olotu, B. Tsofa, P. Bejon, N. Peshu, K. Marsh, S. Owusu-Agyei, K. P. Asante, K. Osei-Kwakye, O. Boahen, S. Ayamba, K. Kayan, R. Owusu-Ofori, D. Dosoo, I. Asante, G. Adjei, D. Chandramohan, B. Greenwood, J. Lusingu, S. Gesase, A. Malabeja, O. Abdul, H. Kilavo, C. Mahende, E. Liheluka, M. Lemnge, T. Theander, C. Drakeley, D. Ansong, T. Agbenyega, S. Adjei, H. O. Boateng, T. Rettig, J. Bawa, J. Sylverken, D. Sambian, A. Agyekum, L. Owusu, F. Martinson, I. Hoffman, T. Mvalo, P. Kamthunzi, R. Nkomo, A. Msika, A. Jumbe, N. Chome, D. Nyakuipa, J. Chintedza, W. R. Ballou, M. Bruls, J. Cohen, Y. Guerra, E. Jongert, D. Lapierre, A. Leach, M. Lievens, O. Ofori-Anyinam, J. Vekemans, T. Carter, D. Leboulleux, C. Loucq, A. Radford, B. Savarese, D. Schellenberg, M. Sillman, and P. Vansadia, "Supplementary Appendix : First results of phase 3 trial of RTS,S/AS01 malaria vaccine in African children," *The New England Journal of Medicine*, 2011. [En ligne]: http://www.nejm.org/doc-distant.univ-lille2.fr/doi/suppl/10.1056/NEJMoa1102287/suppl_file/nejmoa1102287_appendix.pdf. [Consulté le : 04-Juin-2012].
- [157] Initiative Citoyenne Belgique, "Vaccin contre la malaria: vers une grande expérimentation en Afrique, contraire au Code de Nuremberg - Le blog de Initiative Citoyenne," 2011. [En ligne]: <http://www.initiativecitoyenne.be/article-vaccin-contre-la-malaria-vers-une-grande-experimentation-en-afrique-contre-au-code-de-nuremberg-86842948.html>. [Consulté le : 20-Août-2012].
- [158] C. Confavreux, S. Suissa, P. Saddier, V. Bourdès, and S. Vukusic, "Vaccinations and the risk of relapse in multiple sclerosis. Vaccines in Multiple Sclerosis Study Group.," *The New England Journal of Medicine*, vol. 344, no. 5, pp. 319–326, 2001.
- [159] A. Ascherio, S. M. Zhang, M. A. Hernán, M. J. Olek, P. M. Coplan, K. Brodovicz, and A. M. Walker, "HEPATITIS B VACCINATION AND THE RISK OF MULTIPLE SCLEROSIS HEPATITIS B VACCINATION AND THE RISK OF MULTIPLE SCLEROSIS," *English Journal*, vol. 344, no. 5, pp. 327–332, 2001.
- [160] F. BRUNEEL, "Un vaccin contre le paludisme: la lutte continue !," *La Lettre de l'infectiologue*, vol. 27, no. 2, pp. 60–61, 2012.
- [161] World Health Organization, "WHO | World Malaria Report 2011," 2011. [En ligne]: http://www.who.int/malaria/world_malaria_report_2011/en/. [Consulté le : 20- Août-2012].

- [162] Panapress, "La Fondation Gates appuie la campagne contre le paludisme," *Septembre 2003*, 2003. [En ligne]: <http://www.panapress.com/La-Fondation-Gates-appuie-la-campagne-contre-le-paludisme--13-700873-18-lang4-index.html>. [Consulté le : 02-Juillet-2012].
- [163] Wikipédia, "Kairomone - Wikipédia," 2012. [En ligne]: <http://fr.wikipedia.org/wiki/Kairomone>. [Consulté le : 06-Juin-2012].
- [164] Indana, "INDANA: Les Textes Sacrés," 2005. [En ligne]: <http://indana.org/en/page.php?6>. [Consulté le : 03-Juillet-2012].
- [165] Wikipédia, "Liposome - Wikipédia," 2012. [En ligne]: <http://fr.wikipedia.org/wiki/Liposome>. [Consulté le : 31-Juillet-2012].

Université de Lille 2
FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES DE LILLE
DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE
Année Universitaire 2011/2012

Nom : ABINAN

Prénom : Kouacou Yannick Olivier Armand

Titre de la thèse : Le paludisme aujourd'hui : thérapeutiques et perspectives vaccinales

Mots-clés : Paludisme, Vaccins contre le paludisme, Malaria, RTS,S, Vaccin RTS,S, Candidat vaccin contre le paludisme, vaccin contre la malaria

Résumé :

Le paludisme est l'une des maladies les plus meurtrières au monde. Menaçant plus de 3 milliards d'individu sur le globe, il cause entre 537 000 et 907 000 décès par an, dont une majorité de jeunes enfants. La lutte antipaludique apparaît ainsi comme un enjeu capital. Face à l'extension des résistances du parasite aux antipaludiques et des moustiques aux insecticides, les recherches vaccinales se sont accélérées. Le candidat vaccin, RTS,S/AS01E, actuellement en phase 3 chez les nourrissons, est le plus avancé. Les résultats préliminaires, prometteurs, de ces essais de phase 3, laisseraient entrevoir une Autorisation de Mise sur le Marché prochaine.

Membres du jury :

Président : Pr DINE Thierry,
Professeur de pharmacie clinique
Faculté des sciences pharmaceutiques et biologiques de Lille

Assesseur(s) :

- Mme ALIOUAT Marie-Cécile
Maitre de Conférences des Universités
Faculté des sciences pharmaceutiques et biologiques de Lille
- Mr HERMANN Emmanuel
Maitre de Conférences des Universités
Faculté des sciences pharmaceutiques et biologiques de Lille

Membre(s) extérieur(s) : Dr SKRZYPEK Alexis,
Pharmacien titulaire - Pharmacie du parc à Louvres