



HAL
open science

Le paludisme, un exemple d'adaptation parasitaire : mise au point sur la maladie

Jean-Briac Le Leyour

► **To cite this version:**

Jean-Briac Le Leyour. Le paludisme, un exemple d'adaptation parasitaire : mise au point sur la maladie. Sciences du Vivant [q-bio]. 2016. dumas-01758204

HAL Id: dumas-01758204

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01758204v1>

Submitted on 5 Jun 2018

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

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



THÈSE D'EXERCICE / UNIVERSITÉ DE RENNES 1
FACULTÉ DE PHARMACIE
sous le sceau de l'Université Européenne de Bretagne

THÈSE EN VUE DU
DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

présentée par

Jean Briac Le Leyour

né le 1 Mars 1991 à Landerneau

**Le Paludisme, un
exemple d'adaptation
parasitaire : mise au
point sur la maladie.**

**Thèse soutenue à Rennes
le 29 Janvier 2016**

devant le jury composé de :

Latifa BOUSARGHIN

MCU Microbiologie Rennes / *Présidente*

François CRABOT

Docteur en Pharmacie / *Juge*

Brigitte DEGEILH

MCU-PH Parasitologie Rennes / *Juge*

Annie GUILLET

PU UPJV / *Directeur de thèse*

« Mes gardes du corps ne sont pas vite effarouchés. Ils s'émeuvent rarement face à une foule énervée ou à une situation délicate dans un coin chaud du monde. Mais un jour de l'an dernier, en Afrique de l'Est, je me suis trouvé entouré par une nuée de moustiques. À l'expression de leurs visages, j'ai compris que ma garde rapprochée ne servirait à rien face à ces minuscules agresseurs non armés. »

Ban Ki-Moon, Secrétaire Général des Nations Unies

Liste des enseignants-chercheurs Faculté de pharmacie de Rennes 1 (Année 2015-2016)

ANNEE 2015-2016

Listes des enseignants-chercheurs de la Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques

PROFESSEURS

1	BOUSTIE	Joël
2	BURGOT	Gwenola
3	DONNIO	Pierre Yves
4	FAILI	Ahmad
5	FARDEL	Olivier
6	FELDEN	Brice
7	GAMBAROTA	Giulio
8	GOUGEON	Anne
9	LAGENTE	Vincent
10	LE CORRE	Pascal
11	LORANT (BOICHOT)	Elisabeth
12	MOREL	Isabelle
13	SERGENT	Odile
14	SPARFEL-BERLIVET	Lydie
15	TOMASI	Sophie
16	URIAC	Philippe
17	VAN DE WEGHE	Pierre
18	VERNHET	Laurent

PROFESSEURS ASSOCIES

1	BUREAU	Loïc
2	DAVOUST	Noëlle

PROFESSEURS EMERITES

1	CILLARD	Josiane
---	---------	---------

MAITRES DE CONFERENCES

1	ABASQ-PAOFAI	Marie-Laurence
---	--------------	----------------

2	ANINAT	Caroline	
3	AUGAGNEUR	Yoann	
4	BEGRICHE	Karima	
5	BOUSARGHIN	Latifa	
6	BRANDHONNEUR	Nolwenn	
7	BRUYERE	Arnaud	
8	BUNETEL	Laurence	
9	CHOLLET-KRUGLER	Marylène	
10	COLLIN	Xavier	
11	CORBEL	Jean-Charles	
12	DAVID	Michèle	
13	DELALANDE	Olivier	
14	DELMAIL	David	
15	DION	Sarah	nouvelle MCF en cours de formation (étudiante de 5ème année HU)
16	DOLLO	Gilles	
17	GILOT	David	
18	GOUAULT	Nicolas	
19	HITTI	Eric	
20	JEAN	Mickaël	
21	LEUREUR	Valérie	
22	LE FERREC	Eric	
23	LE PABIC	Hélène	
24	LEGOUIN- GARGADENNEC	Béatrice	
25	LOHEZIC-LE DEVEHAT	Françoise	
26	MARTIN-CHOULY	Corinne	
27	MINET	Jacques	
28	MOURET-PLEIBER	Liza	
29	NOURY	Fanny	
30	PINEL-MARIE	Marie-Laure	
31	PODECHARD	Normand	
32	POTIN	Sophie	
33	RENAULT	Jacques	
34	ROUILLON	Astrid	

ASSISTANT HOSPITALO-UNIVERSITAIRE (AHU)

1 GICQUEL Thomas

ATER

1 SMIDA Imen
 2 PASCREAU Gaëtan
 3 SAVARY Camille
 4

en attente de nomination

Remerciements

À Mme GUILLER,

Je vous remercie d'avoir accepté de diriger cette thèse et de m'avoir apporté votre aide.

À Mme BOUSARGHIN,

Je vous remercie de m'avoir fait l'honneur de présider cette thèse.

À Mr CRABOT et Mme DEGEILH

Je vous remercie d'avoir accepté de faire partie de ce jury.

À ma mère, pour sa rage de vivre.

À mon père, pour son soutien indéfectible.

À François et à Florence, qui ont toujours été là pour moi.

À Fanny. Merci de m'accompagner tous les jours, c'est à ton tour maintenant !

Et enfin à tous mes amis, pour ces moments passés ensemble, et pour tous ceux à venir.

Je vous souhaite à tous le meilleur.

Table des matières

Liste des enseignants-chercheurs	3
Remerciements	5
Table des matières	6
Table des schémas	9
Table des tableaux	12
Table des images	13
Glossaire.....	14
Liste des abréviations	16
Permis d'imprimer.....	135
Références Bibliographiques.....	136
Annexes.....	149
Introduction	17
I] Le Paludisme, généralité sur la maladie	19
A) Historique	19
B) Epidémiologie, démographie, répartition	20
C) Vecteur	23
C-1) Définition	24
C-2) Anatomie.....	25
C-3) Cycle de vie.....	27
C-4) Le repas sanguin	29
D) Les agents du paludisme chez l'homme	30
E) Cycle parasitaire.....	34
E-1) La reproduction asexuée	35
a) Le cycle exo-érythrocytaire	35
b) Le cycle érythrocytaire.....	37

E-2) La reproduction sexuée	38
a) La gamétocytogénèse	38
b) Développement final chez le moustique	40
F) Impact sur l'homme	42
II] Prise en charge thérapeutique	45
A) Immunité	45
B) Clinique	48
B-1) Les différentes phases	48
B-2) Les complications	51
B-3) Les formes particulières	53
C) Diagnostic	56
C-1) Tests biologiques non spécifiques	56
C-2) Tests biologiques spécifiques	57
D) Arsenal médicamenteux	59
D-1) Les sesquiterpènes	60
D-2) Les antimétabolites	61
D-3) Analogue de l'ubiquinone.....	62
D-4) Les amino-alcools	63
D-5) Les amino-8-quinoléines.....	65
D-6) Les amino-4-quinoléines.....	67
D-7) Les antibiotiques	70
E) Stratégie thérapeutique	71
E-1) Traitement prophylactique	72
E-2) Traitement curatif.....	73
F) Perspectives d'avenir	76
F-1) La vaccination	76
F-2) La recherche de nouveaux mécanismes d'actions.....	78
III] L'adaptation parasitaire	79
A) Introduction	79
B) La théorie de la reine rouge	80
C) La course aux armements	81

D) Les mutations génétique chez <i>Plasmodium</i>	82
E) Analyse et surveillance des résistances	85
E-1) Influence de la pharmacocinétique et de la demi-vie	87
E-2) Influence de l'immunité du porteur	90
E-3) Influence de l'environnement et de l'Anophèle	91
E-4) Influence de la transmission	93
E-5) Influence des résistances croisées et des multi résistances	94
E-6) Influence des mutations parasitaires	94
F) Les différentes résistances parasitaires	96
F-1) La résistance à la Quinine, à la Méfloquine et à l'Halofantrine	96
a) La Quinine	96
b) Méfloquine & Halofantrine	101
F-2) La résistance à la Chloroquine et à l'Amodiaquine	104
a) Chloroquine	104
b) Amodiaquine	110
F-3) La résistance à l'Atovaquone et à ses associations	112
F-4) La résistance aux associations à base d'Artémisinine	116
a) Les marqueurs à fort potentiel	118
b) Un cas spécifique pour la WHO	121
F-5) La résistance aux antimétabolites et à leurs associations	123
F-6) Autres résistances	127
a) Primaquine & Lumefantrine	127
b) Piperaquine	127
c) Pyronaridine	128
d) Antibiotiques	128
F-7) L'implication de la dormance	130
Conclusion	133
Références Bibliographiques	136

Table des schémas

Schéma 1 : Distribution des zones à risques du paludisme entre 1900 et 2002 [10].	21
Schéma 2 : Cas de paludisme dans chaque pays en 2013 [8].	22
Schéma 3 : Position des moustiques au repos [106].	24
Schéma 4 : Différenciation des têtes d'Anophèles selon le sexe [5].	25
Schéma 5 : Schéma anatomique d'un Anophèle adulte [107].	26
Schéma 6 : Cycle biologique des Anophèles [4].	27
Schéma 7 : A gauche une larve d'Anophèle, parallèle à la surface contrairement aux autres espèces [109].	28
Schéma 8 : Stades de digestion du sang dans l'abdomen [6].	29
Schéma 9 : Classement des parasites en fonction de sa localisation sur l'hôte [12].	32
Schéma 10 : Le cycle de vie de Plasmodium <i>Spp.</i> [13].	35
Schéma 11 : Invasion des hépatocytes par les sporozoïtes de Plasmodium [15].	36
Schéma 12 : Anatomie d'un mérozoïte [17].	37
Schéma 13 : Développement des mérozoïtes de <i>P.falciparum</i> dans une hématie [18].	37
Schéma 14 : Développement complet d'un gamétocyte de <i>P.falciparum</i> suivant les 5 stades définis par Carter et Miller [25].	39
Schéma 15 : Développement sexué chez le moustique de Plasmodium [16].	41
Schéma 16 : Répartition de la pauvreté et de la malaria dans le monde (1995) [31].	43
Schéma 17 : Fièvre en plateau (courbe thermique sur 24 heures, avec température du matin et du soir, ainsi que toutes les trois heures) [84].	49
Schéma 18 : Fièvre tierce et quarte (selon le même procédé que Figure 2) [83].	50
Schéma 19 : Structure moléculaire de l'Artémisinine [94].	60
Schéma 20 : Structure moléculaire des deux antifoliques [95].	61
Schéma 21 : Structure molécules des trois antifoliques, de gauche à droite : Pyriméthamine, Proguanil et Chlorproguanil [96] [97].	61
Schéma 22 : Structure moléculaire de l'Atovaquone [98].	62

Schéma 23 : Structure moléculaire de la quinine [99].....	63
Schéma 24 : Structure chimique quinoléique de la Méfloquine [100].	64
Schéma 25 : Structure chimique à noyau phénantrénique de l'Halofantrine [101].	64
Schéma 26 : Structure chimique de la Luméfantrine [102].	65
Schéma 27 : Structure moléculaire de la Primaquine, de la Tafénoquine et de la Pamaquine [103]. ...	66
Schéma 28 : Structure chimique de la Chloroquine [103].	67
Schéma 29 : Répartition des pays en fonction de leur degré de sensibilité aux traitements antipaludéens pour <i>P.falciparum</i> [115].	68
Schéma 30 : Structure chimique de l'Amodiaquine [103].	69
Schéma 31 : Structure chimique de la Pyronaridine [103].	69
Schéma 32 : Structure chimique de la Pipéraquline [103].	70
Schéma 33 : Structure moléculaires des différents antibiotiques utilisés contre la malaria [103].	71
Schéma 34 : Cycle des Plasmodiums humain et les cibles antigéniques potentielles [110].	77
Schéma 35 : Mécanisme d'action potentiel du Sildénafil (Viagra®) [111].	78
Schéma 36 : Introduction des antipaludiques et apparition des résistances de <i>P.falciparum</i> [34].	83
Schéma 37 : Les différentes sortes de mutations et leurs conséquences [63].	84
Schéma 38 : Les différents paramètres qui contribuent à la résistance aux antipaludiques [37].	87
Schéma 39 : Les facteurs pharmacocinétiques influençant la guérison dans un paludisme non compliqué [40].	88
Schéma 40 : Association entre dose et réponse au traitement [40].	89
Schéma 41 : Possibles devenir d'individus atteints par <i>P.falciparum</i> traités par Chloroquine [42]. La mutation PfCRT représente la résistance à la Chloroquine.	91
Schéma 42 : Pays rapportant depuis 2010 des résistances face à différents nombres d'insecticides [44].	92
Schéma 43 : Risque de transmission de la malaria dans le monde en 2005 [45].	93
Schéma 44 : Méthodologie d'identification des marqueurs moléculaires de la résistance aux antipaludéens via le WGS (Whole Genome Sequencing) [69].	96
Schéma 45 : Représentation schématique du gène <i>pfmhe-1</i> sur le chromosome 13, avec les positions de polymorphismes pour les codons et les variations de microsatellites [55].	98

Schéma 46 : Prévalence des profils ms4760 de <i>pfmhe-1</i> en fonction de la répartition géographique des isolats [55].	99
Schéma 47 : Modèle topologique de la protéine-ubiquitine ligase HECT [116]. Elle possède 4 domaines transmembranaires ainsi qu'un domaine catalytique (domaine HECT), les flèches noires correspondent à des zones analysées lors d'études, les rouges aux zones de polymorphismes conservés.	100
Schéma 48 : Classification des différentes expressions des protéines en fonction de leur processus biologique [68].	102
Schéma 49 : Emplacement du secteur d'environ 100Kb dans le 7 ^{ème} chromosome de <i>P.falciparum</i> contenant les gènes du transporteur [48].	106
Schéma 50 : Origine génétique des différentes résistances à la Chloroquine : hypothèses relatives à l'évolution des différentes trajectoires des mutations [50].	107
Schéma 51 : Distribution géographique mondiale des 5 haplotypes de résistance à la Chloroquine les plus fréquents [50].	108
Schéma 52 : La protéine Pgh1 de <i>P.falciparum</i> , avec les zones de polymorphismes lié à la résistance parasitaire [52].	109
Schéma 53 : Aires avec une susceptibilité réduite de <i>P.falciparum</i> vis-à-vis de la chloroquine et de la Sulfadoxine-Pyriméthamine, ainsi que les foyers de multi résistance [53].	110
Schéma 54 : Répartition mondiale des haplotypes majeurs de PfCRT dans les zones d'endémie du Paludisme [67].	112
Schéma 55 : Visualisation des trois sous unités redox dans le complexe mitochondrial « cytochrome bc1 » du poulet [62].	113
Schéma 56 : Une vue de près de la région encadrée en gris sur le Schéma 55 [62].	114
Schéma 57 : Représentation schématique de l'homologie entre la protéine Kelch 13 parasitaire et la protéine KEAP1 humaine [117].	119
Schéma 58 : a : Localisation des sites de mutations vis-à-vis de la totalité de la protéine Kelch 13. b : Superposition des modèles sauvages et résistants de la protéine [70].	120
Schéma 59 : Objectifs et recommandations du GPARC [113].	122
Schéma 60 : Mutations couramment associées à la résistance à la Pyriméthamine sur le gène <i>dhfr</i> [57].	125
Schéma 61 : Mutations couramment associées à la résistance à la Sulfadoxine sur le gène <i>dhps</i> [57].	126
Schéma 62 : Illustration schématique des étapes de développement de la résistance à l'Artémisinine [72].	130

Table des tableaux

Tableau 1 : Population à risque d'infection paludique globale [10].	21
Tableau 2 : Caractéristiques des différents faciès paludique.	23
Tableau 3 : Classement des différentes interactions interspécifique.....	30
Tableau 4 : Caractéristique spécifiques des cinq espèces de plasmodium.....	33
Tableau 5 : Impact du paludisme à <i>P.falciparum</i> sur la scolarité des enfants [30].....	44
Tableau 6 : Neuf TDR sur le marché avec leurs caractéristiques spécifiques [92].....	59
Tableau 7 : Dosage du Coartem®/Riamet® en comprimé en fonction du poids du malade [104].	74
Tableau 8 : Prévalence des taux de mutations selon le type d'infections (sauvage, mutant, mixte) pour les gènes <i>dhps</i> et <i>dhfr</i> chez <i>P.falciparum</i> sur des isolats indiens [61].	124

Table des images

Image 1 : Œufs d' <i>Anophele Gambiae</i> ovalaires avec coque gaufrée et flotteurs latéraux [108].	28
Image 2 : Examen optique microscopique de frottis mince d'un sang contaminé par le parasite du paludisme [93].	57
Image 3 : Test de la goutte épaisse, <i>P.falciparum</i> (trophozoïtes et rosaces, MGG) [84].	58
Image 4 : Stade anneau (« ring stage ») dans les érythrocytes de <i>Plasmodium falciparum</i> , situation de mise en dormance potentielle [73].	132

Glossaire

Cellule de Küpffer : macrophage spécifiquement trouvé dans le foie, tout particulièrement au lobule hépatique. Elles bordent les vaisseaux capillaires sinusoides qui irriguent et drainent le foie.

Cinchonisme : ensemble de nombreux signes auditifs, digestifs, visuels, neurologiques.

Facteurs biotiques : ensemble des interactions du vivant sur le vivant dans un écosystème.

Facteurs abiotiques : ensemble des facteurs physico-chimiques d'un écosystème influençant sur le vivant de ce même écosystème.

Génotypes : ensemble ou partie donnée de l'information génétique d'un individu. Le génotype conditionne les caractères observables et se transmet des parents aux descendants.

Haploïde : cellule biologique ne contenant qu'un exemplaire de ses chromosomes, contrairement à la diploïdie où les chromosomes sont présents en double exemplaires.

Kilobase : 1000 paires de bases d'ADN bicaténaire ou 1000 bases d'ARN.

Microsatellite : séquences d'ADN constituées de motifs répétés, variables selon l'espèce, l'individu et l'allèle, se transmettant à la descendance.

Nucléotide : élément de base de l'acide nucléique (ADN et ARN). Il est composé d'une base nucléique, d'un ose (formant à eux deux un nucléoside) et de groupement(s) phosphate(s). On retrouve, pour l'ADN, l'adénine (A), la cytosine (C), la thymine (T) et la guanine (G). Pour l'ARN, on retrouve les mêmes sauf que la thymine est remplacée par l'uracile (U).

Oponisation : processus biochimique par lequel une cellule cible est recouverte par l'opsonine et dont la phagocytose est ainsi favorisée.

Orthologue : lien évolutif entre deux gènes présents chez deux espèces différentes.

Phénotype : ensemble des caractères observables d'un individu à toute échelle.

Prémunition : état de protection face à la maladie, et non face au parasite.

Prévalence : mesure de l'état de santé d'une population à un instant donné.

Quantitative trait loci : ou locus de caractères quantitatifs, région chromosomique contenant un ou plusieurs gènes à l'origine d'un caractère.

Sinusoïdes hépatiques : vaisseaux constitués uniquement par des cellules endothéliales qui constituent un tapis discontinu particulièrement perméable au sang circulant pour alimenter les hépatocytes.

Syncytium : zone de cytoplasme comportant plusieurs noyaux entourés d'une membrane.

Zoonose : infection naturellement transmissible de l'homme à l'animal et inversement.

Liste des abréviations

A : Adénosine
 ADN : Acide Desoxyribo Nucléique
 AMM : Autorisation de Mise sur le Marché
 AQ : Amodiaquine
 ART : Artémisinine
 ATC : *Artemisinin-based combination therapy*
 ATQ : Atovaquone
 ATP : Adénosine-5'-triphosphate
 AZT : Azythromycine
 C : Cytosine
 CIVD : Coagulation Intra Vasculaire Disséminée
 CQ : Chloroquine
 CQR : Chloroquino-Résistante
 CQS : Chloroquino-Sensible
 EDTA : Ethylène Diamine Tétra Acétique
 ERO : Espèces Réactives de l'Oxygène
 G : Guanine
 G6PD : Glucose-6-Phosphate Déshydrogénase
 HAL : Halofantrine
 IFN : Interféron
 IL2 : InterLeukine 2
 IM : Intramusculaire
 IRA : Insuffisance Rénale Aigue
 IV : Intraveineuse
 Kb : Kilobase
 LSU : *Large SubUnit*
 LT : Lymphocyte T
 MQ : Mefloquine
 NFS : Numération de Formule Sanguine
 NHE : Na⁺/H⁺ exchanger
 OAP : Œdème Aigu du Poumon

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PCR : *Polymerase Chain Reaction*

PIB : Produit Intérieur Brut

PRG : Proguanil

PY : Pyriméthamine

QBC : *Quantitative Buffy-Coat*

QN : Quinine

SP : Sulfadoxine-Pyriméthamine

TDR : Test de Diagnostic Rapide

TNF : *Tumor Necrosis Factor*

T : Thymine

U : Uracile

WHO : *World Health Organisation*

WT : *Wild Type*

Introduction

Le Paludisme est une maladie provoquée par un parasite nommé *Plasmodium*, qui lui-même est véhiculé par un genre de moustique : l'Anophèle. Autrefois présente sur la quasi-totalité du globe, cette parasitose potentiellement mortelle est maintenant concentrée dans les pays en voie de développement où elle fait des ravages sur la population, et tout particulièrement chez les jeunes enfants. C'est l'une des maladies infectieuses les plus redoutables et les plus meurtrières jamais connue. On estime son nombre de victimes à plus de 500 000 personnes par an, dont 78% sont des enfants de moins de 5 ans. La gravité de la situation est telle que le combat contre le Paludisme est depuis longtemps considéré comme un enjeu capital de notre temps. Il s'agit même d'un objectif majeur du millénaire selon l'OMS.

Depuis presque un siècle, les différents pays du globe mettent leurs efforts en commun pour tenter d'éradiquer la maladie. Le développement des tests de diagnostic ainsi que des nouvelles thérapeutiques, dont les combinaisons à base d'Artémisinine, permet de sauver une multitude de vie. Malgré la limitation de la diffusion de la maladie, certains principes actifs autrefois très efficaces ne semblent plus l'être autant aujourd'hui, et on assiste à de nombreux échecs thérapeutiques.

La raison de l'existence de ces derniers réside principalement dans l'apparition de phénomènes de résistance. Pour comprendre leurs origines, il est nécessaire de revenir aux bases des concepts de l'évolution, et ceci dans le but de mieux appréhender la situation actuelle du parasite. De plus, l'évolution des connaissances dans la biologie de cet agent pathogène nous permet une analyse approfondie du fonctionnement des mécanismes défensifs qu'il met en place progressivement face aux traitements. Pour les endiguer et continuer à progresser face à la malaria, il est crucial d'analyser leur épidémiologie et leur fonctionnement, aussi bien au niveau génétique qu'au niveau physiologique.

C'est en faisant ces investigations que nous pourrons essayer de mieux comprendre les résistances aux différentes thérapeutiques que nous utilisons couramment contre le Paludisme, et d'éliminer les obstacles qui se dressent encore devant nous sur le chemin de l'éradication de la maladie.

I] Le Paludisme, généralité sur la maladie

A) Historique

Le parasite responsable de la maladie paludique est le *Plasmodium*. Sa découverte est en grande partie l'œuvre d'Alphonse Laveran, médecin et parasitologue français né à Paris le 18 juin 1845. Ses recherches sur la maladie paludique débutent en 1878 à Bône en Algérie. Dans son traité sur le Paludisme il dira avoir été orienté par des granulations de pigments noirs observées pendant les autopsies des malades, dont il pista l'origine dans leur corps et les retrouva dans les leucocytes [1]. A côté de ceux-ci se trouvaient des « *corps sphériques, de volume variable, pigmentés, doués de mouvements amiboïdes, et des corps en croissant pigmentés* ». L'hypothèse d'un parasite est posée. Deux ans plus tard, à Constantine, ses doutes se confirment : il distingue sur le bord des corps sphériques pigmentés « *des éléments filiformes ressemblant à des flagelles qui s'agitaient avec une grande vivacité* ». Alphonse Laveran a trouvé des exflagellations de gamétocyte de *P.falciparum*, une espèce de *Plasmodium* [2]. Ce jour-là, le 8 novembre 1880, il venait de découvrir le parasite responsable du Paludisme.

Cette découverte fut mal reçue, elle était contraire aux idées de cette période qui consistaient à expliquer l'origine de toutes les maladies par des bactéries (concept pastorien des pathologies). Suite à neuf ans de travaux, il a été considéré que « le parasite de Laveran » était bien le responsable de la maladie paludique.

Il fut le premier Français à qui fut attribué en 1907 le prix Nobel de physiologie et de médecine, non seulement pour sa découverte du parasite responsable du Paludisme, l'hématozoaire *plasmodium*, mais pour l'ensemble de ses travaux dans le domaine de la parasitologie.

Une hypothèse des plus crédibles (mais sujette à beaucoup de discussions) est que *P.falciparum* dérive d'un proche parent qu'est le parasite du Paludisme du chimpanzé *P.reichenowi*. Cette hypothèse est corroborée par le constat que ces deux espèces de parasite ont divergé il y a 5 à 7 millions d'années, ce qui coïncide avec la date relative de divergence

entre les hommes et les chimpanzés. Il est clair que l'histoire du parasite et de l'homme résulte de longues années de co-évolution. Selon les récents modèles d'évolution génétique de *P.falciparum* (une des espèces de *Plasmodium*) était soit bien présent chez nos ancêtres il y a plus de 100 000 ans avec une forte population stable, soit il y a environ 6000 ans lors d'une expansion significative de la population parasitaire [3].

Des fièvres mortelles ayant des ressemblances avec le paludisme ont été relatées notamment en Egypte ancienne et dans l'Antiquité en Inde. Le terme de Malaria (de l'Italien *mal'aria*, ou mauvais air), désigne anciennement la maladie paludique (du Latin *paludis*, c'est à dire marais). Il fut trouvé par le médecin Italien Giovanni Lancisi qui fit la corrélation entre la présence de moustiques et la prédominance de la maladie au niveau des marais.

Ronald Ross, médecin britannique, démontra en 1897 que la transmission de la maladie s'effectuait via un moustique. Il s'appuyait sur des travaux réalisés sur le Paludisme aviaire ainsi que la découverte du parasite dans les tubes digestifs de moustiques. Lui aussi fut récompensé par un prix Nobel pour ses travaux sur la maladie. Giovanni Battista Grassi, scientifique italien, prolongea ces travaux pour découvrir les quatre espèces de parasites responsables de la maladie chez l'homme et décrivit le cycle complet du parasite [4].

B) Epidémiologie, démographie, répartition

Comme nous l'avons vu au début, l'association entre l'humain et le *Plasmodium* est ancienne. En revanche, la population est passée de 1 milliard d'habitants au début du 20^{ème} siècle contre 6 milliards au début du 21^{ème}, par conséquent la population à risque n'a cessé d'augmenter. Entre 1900 et 2002, nous sommes passés de 900 000 millions à 3 milliard de personnes exposées à la maladie. Malgré tout, les progrès sont énormes : sur 77% de la population menacée par la maladie (concernant géographiquement 54% du territoire global en 1900), nous sommes passés en 2010 à 50% de population exposée (concernant cette fois ci 27% du territoire). On constate ainsi qu'en un siècle on a diminué par deux les zones infestées par le Paludisme (Schéma 1) [10].

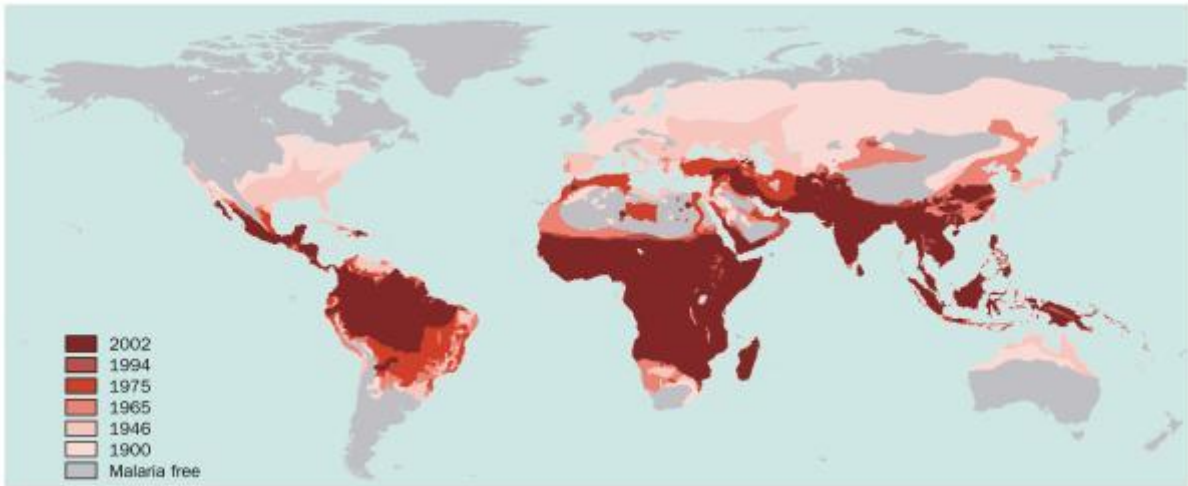


Schéma 1 : Distribution des zones à risques du Paludisme entre 1900 et 2002 [10].

On peut diviser ce 20^{ème} siècle en deux périodes : la première, de 1900 à 1994, voit une réduction de la population exposée de 31% et ceci malgré une démographie en constante hausse. Ces résultats confirment l'efficacité du combat de l'homme contre la maladie. La seconde période démarre la même année pour terminer en 2010 où l'on constate une augmentation de 14% de la population exposée, chiffre qui s'explique par une croissance de cette même population dans une ou plusieurs répartitions géographiques inchangées (Tableau 2). En effet, sur 100 ans, on a divisé par deux les zones où le risque d'infection existe, mais ce chiffre ne renseigne en rien sur l'intensité de la maladie : les zones les plus durement touchées le sont toujours et leur population s'accroît, ce qui explique cette inversion de tendance. De récentes données se veulent plus rassurantes : 3,2 milliard de personnes environ seraient, en 2013, exposées au Paludisme, contre 3.4 milliard en 2010. Les chiffres tendent donc à s'inverser, les efforts ne sont pas vains.

Time Years	Global population		Land area malarious		Countries at risk		Population exposed	
	n		km ²	%	n		n	%
1900	1 158 409 472		77 594 480	53-16	140		892 373 056	77-03
1946	2 391 400 960		58 565 752	40-12	130		1 635 815 808	68-40
1965	3 363 417 344		53 492 988	36-65	103		1 924 360 320	57-21
1975	4 085 759 488		48 075 780	32-93	91		2 121 086 592	51-91
1992	5 419 255 808		43 650 812	29-90	88		2 565 702 144	47-34
1994	5 582 432 256		39 537 020	27-08	87		2 570 555 136	46-05
2002	6 204 095 488		39 758 172	27-24	88		2 996 419 584	48-30
2010	6 807 085 056		39 758 172	27-24	88		3 410 862 080	50-11

Tableau 1 : Population à risque d'infection paludique globale [10].

Actuellement, la transmission du paludisme concerne potentiellement 3,3 milliards de personnes à travers le monde et 1,2 milliard ont un haut risque de contracter la maladie sur

une année. 198 millions de cas ont été recensés à l'échelle mondiale en 2013 et le nombre de morts dus aux complications de la maladie est estimé à 584 000 personnes. Le pays le plus durement touché par cette endémie est l'Afrique, zone particulièrement propice à la dissémination de la maladie du fait de la forte présence de l'Anophèle et d'un faible accès aux traitements préventifs et curatifs. On considère aujourd'hui que 90% des décès paludiques ont lieu en Afrique et 78% d'entre eux concerne des enfants de moins de 5 ans [8].

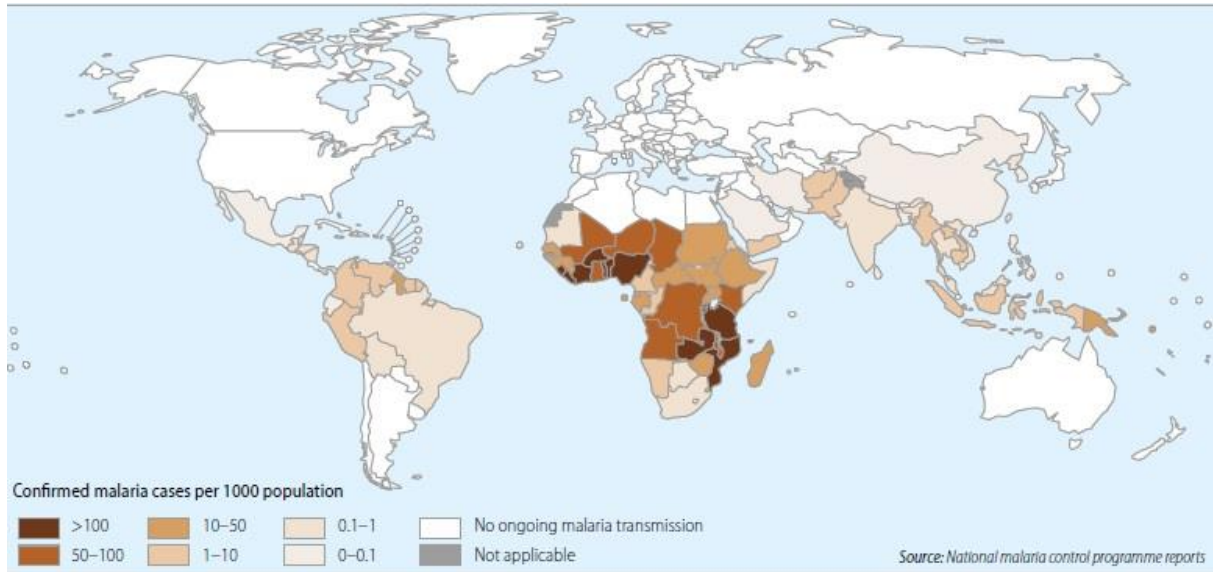


Schéma 2 : Cas de Paludisme dans chaque pays en 2013 [8].

Le parasite est prédominant dans les régions tropicales, chaudes et humides. L'Afrique est le principal pays touché après d'autres nombreux pays de l'hémisphère sud (Schéma 2) comme l'Inde, l'Amérique du Sud, la Chine, l'Arabie Saoudite, le Mexique etc.

Climat, vecteur et présence humaine sont des facteurs importants qui vont dessiner différentes formes de Paludisme : on parle de faciès épidémiologiques (Tableau 2) [9].

Faciès paludique	Equatorial	Tropical	Sahélien	Désertique	Austral et Montagnard
Transmission et stabilité	Forte densité parasitaire et forte stabilité	Permanente et recrudescence à la saison des pluies	Forte transmission à la saison des pluies	Forte transmission à la saison des pluies	Instable, transmission courte
Spécificité	Morbidité élevé, accès pernicieux peu fréquent	Prémunition précoce	Prémunition tardive, faible morbidité	Prémunition faible	Prémunition inexistante

Tableau 2 : Caractéristiques des différents faciès paludique.

Nous avons donc vu que le Paludisme était présent sur la quasi-totalité de la planète, et qu'il se limite maintenant dans les pays en voie de développement. Les causes sont nombreuses : ressources financières limitant l'accès aux soins et à la prévention, climat propice à la dissémination du parasite par son vecteur l'Anophèle, aide internationale tardive etc. Mais il est certain que les forts taux de transmission dans ces pays rendent les méthodes actuelles inopérantes.

Il est difficile d'anticiper les futures modifications de cette répartition tant les variables qui l'influencent sont nombreuses et en constante évolution (mouvement de population, accroissement démographique, changements climatiques et conséquences sur la répartition du vecteur entre autres). Mais il est certain que la résistance du parasite aux traitements actuels sera une donnée indispensable à analyser, et il est urgent de pouvoir la quantifier et l'évaluer correctement.

C) Vecteur

C-1) Définition

On appelle vecteur un être vivant capable de transmettre un agent pathogène (bactérie, parasite, virus) d'un vertébré à l'autre tout en étant lui-même infecté. En parasitologie plus spécifiquement, il désigne un hôte intermédiaire qui va transmettre à l'hôte définitif le résultat de la transformation du pathogène présent. Chez l'hôte final, le parasite accomplira la fin de son cycle de vie.

Le terme d'Anophèle vient du grec *Ophelos* qui signifie utile, et est associé au *a* privatif pour donner insecte dénué d'utilité. Ce genre de moustique est l'unique vecteur du Paludisme, il s'agit d'un Culicidae de l'ordre des Diptera (les diptères sont un des ordres dominant des insectes). Il existe environ 480 espèces d'Anophèles, seule une soixantaine serait capable de transmettre le *Plasmodium* à l'homme. Présent sur les cinq continents, exception faite des zones très froides (nord du Canada, Alaska, nord de la Sibérie, Groenland, Islande, Antarctique), de certaines îles du Pacifique (Polynésie Française, Nouvelle Calédonie) ou de l'Atlantique et de l'océan Indien (Açores, Seychelles etc.), ce genre de moustique est porteur de nombreuses autres maladies comme la filariose lymphatique ou le virus O'nyong-nyong entre autres.

On peut différencier les trois principaux genres de moustiques par leur posture au repos (Schéma 3).

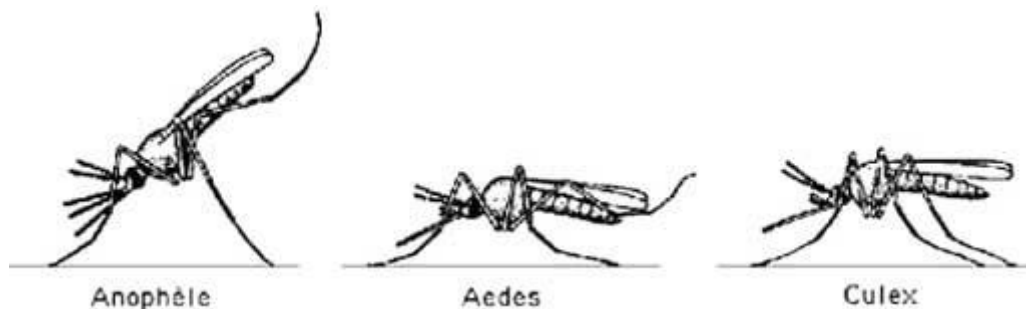


Schéma 3 : Position des moustiques au repos [106].

Les espèces d'Anophèles qui transmettent la maladie sont celles qui effectuent leurs piqûres sur l'homme (anthropophage). Seule la femelle, qui est hématophage, transmet la maladie. Elle effectue son repas sanguin dès le coucher du soleil et la probabilité de piqûre est maximale entre 23 heures et 6 heures du matin. En piquant un humain parasité par *Plasmodium*, l'Anophèle récupère le parasite qui va ensuite se développer dans son organisme

et finalement se loger dans ses glandes salivaires. Lors d'un prochain repas, le parasite passe par la trompe buccale du moustique pour contaminer de nouveau un humain.

C-2) Anatomie

Le corps de l'Anophèle se divise en trois parties : tête, thorax, abdomen. Il s'agit d'un Diptère : il ne possède que deux ailes. Initialement les insectes en ont quatre, dans le cas présent deux se sont transformés en balanciers pour équilibrer le vol. La tête de l'Anophèle (et des moustiques plus largement) porte une trompe buccale rigide (proboscis) permettant l'activité « piqueur-sueur » ainsi que des palpes sensorielles ou maxillaires (Schéma 4).

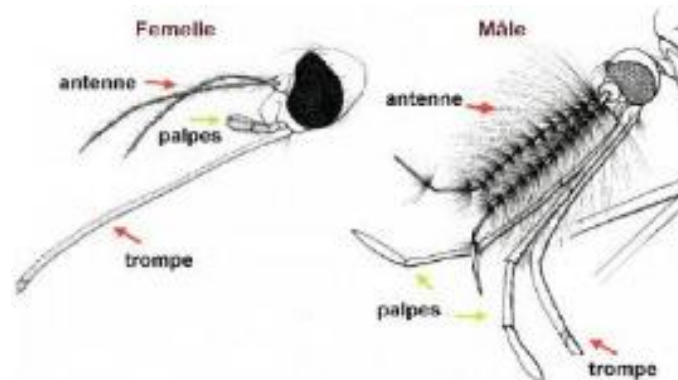


Schéma 4 : Différenciation des têtes d'Anophèles selon le sexe [5].

Des antennes permettent la prise d'information, notamment pour repérer des odeurs (ces dernières orientent ensuite le moustique vers des zones de reproduction, d'alimentation). Celles des mâles sont plus plumeuses à l'inverse de celles des femelles. Les Anophèles se caractérisent par des palpes maxillaires aussi longs que le proboscis. On différencie aussi le mâle de la femelle par ces palpes : elles sont plus longues que le proboscis chez les mâles tandis que chez les femelles elles sont plus courtes.

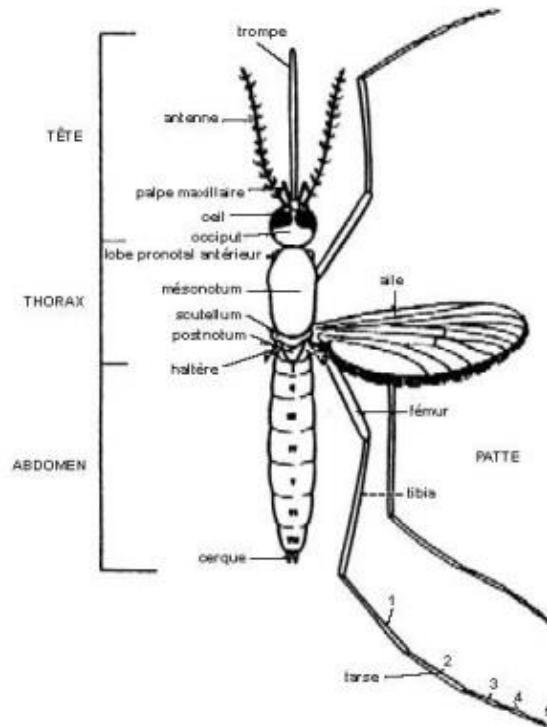


Schéma 5 : Schéma anatomique d'un Anophèle adulte [107].

Le thorax est une zone de locomotion : il contient trois paires de pattes et une paire d'ailes (elles permettent au moustique de voler en permanence pendant quatre heures jusqu'à 2km/h). Un Anophèle peut parcourir 12km en une nuit. L'abdomen est spécialisé dans la digestion du sang et le développement des œufs (Schéma 5).

La vie d'un moustique se compose de quatre étapes : au départ il y a l'œuf, puis la larve, celle-ci évoluant en nymphe puis en moustique adulte. Tous les stades s'effectuent en milieu aquatique, sauf le dernier. On distingue donc deux phases dans le cycle de vie du moustique :

- La phase aquatique, cette période ayant pour but le développement du zygote jusqu'à la nymphe (stades « préimaginaux »). La durée totale du cycle du zygote à l'adulte est fonction de la densité larvaire, de la nourriture et de la température. La présence d'eau est donc obligatoire ici, bien qu'en fonction de l'espèce étudiée les conditions aquatiques varient (ensoleillement, limpidité etc.), mais dans tous les cas il faut que cette eau soit stagnante.

- La phase aérienne : celle-ci ne concerne que le moustique adulte (stade dit imaginal, d'où le terme d'imago pour l'insecte adulte). L'aboutissement de cette phase est le repas sanguin qui permettra à la femelle d'avoir un apport de protéines suffisant pour amorcer son cycle ovulatoire (dit gonotrophique). Une fois ce repas effectué, elle ira se reposer dans un endroit sombre pour digérer jusqu'à ce qu'elle soit prête à pondre. Le cycle d'un adulte est d'environ un mois.

C-3) Cycle de vie

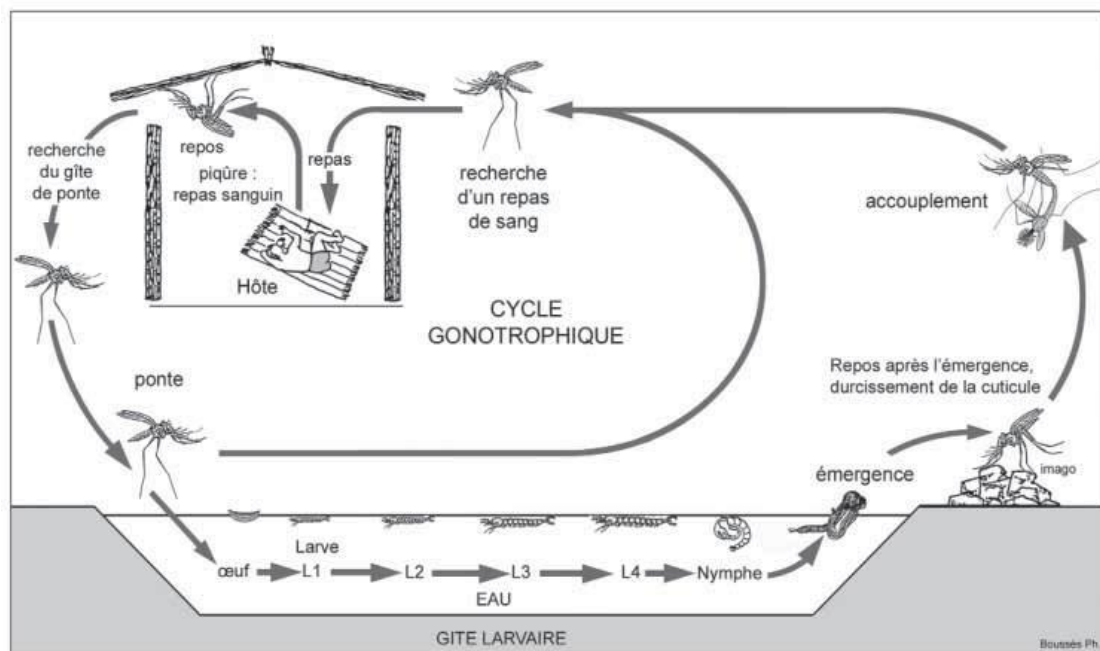


Schéma 6 : Cycle biologique des Anophèles [4].

Les différents stades du cycle de vie du parasite sont décrits dans le Schéma 6.

Stade zygotique : c'est le stade de l'œuf, celui-ci est pondu après que la femelle ait achevé son repas sanguin. Le lieu de ponte est précis, c'est à dire à la surface de l'eau ou sur une terre humide submersible. De manière générale, les Anophèles apprécient une eau limpide et bien ensoleillée. Les flotteurs permettent aux œufs (Image 1) de rester en surface durant l'embryogénèse. Chaque œuf donnera ensuite naissance à une larve d'un millimètre environ.

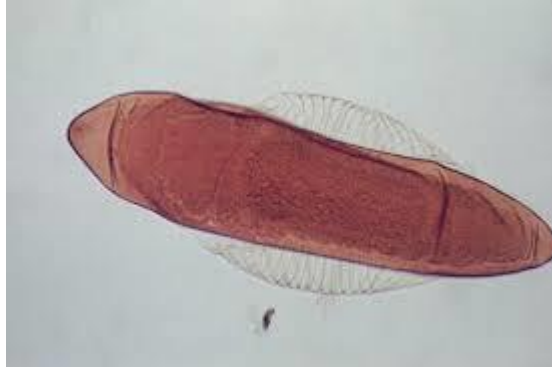


Image 1 : Œufs d'*Anophele Gambiae* ovalaires avec coque gaufrée et flotteurs latéraux [108].

Stade larvaire : La durée de vie de la larve est fonction de la saison, en été elle est inférieure à 10 jours mais en hiver elle peut dépasser plusieurs mois. Sujettes à un développement très rapide, les larves assurent leur nutrition par filtration des débris aquatiques (Schéma 7) ainsi que des micro-organismes présents localement. Chaque larve subira trois mues pour passer par quatre stades larvaires, tout en assurant leur oxygénation par des spiracles dorsaux, ce qui leur impose la position parallèle à la surface de l'eau (Schéma 7). Leur grande mobilité aquatique leur permet d'éviter les prédateurs.

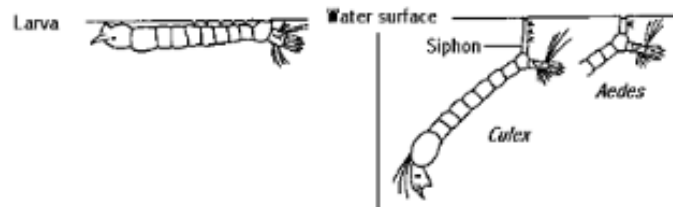


Schéma 7 : A gauche une larve d'Anophèle, parallèle à la surface contrairement aux autres espèces [109].

Stade nymphale : La dernière mue de la larve (stade L4) est la nymphose. La nymphe qui en découle est mobile dans l'eau et ne se nourrit pas. La respiration se fait toujours via deux trompes respiratoires. Il en résulte de nombreuses transformations organiques : les pièces de vies larvaires se détruisent pour laisser place aux organes imaginaux présents à l'état d'ébauche. C'est un stade de vie particulièrement sensible pour l'insecte qui est très exposé aux prédateurs et au climat, sans possibilité de réaction.

Stade imaginal : Il finit par émerger de l'exuvie (enveloppe que l'insecte quitte lors de sa mue) un moustique adulte mâle ou femelle. De petites bulles d'air ainsi qu'une substance

huileuse présente à l'extrémité des pattes permettent à l'insecte de dériver sur la surface de l'eau en attendant son envol pendant que ses ailes sèches. Durant son cycle imaginal, un moustique mâle fécondera avec ses spermatozoïdes une femelle lors du crépuscule. Cette dernière peut les conserver dans une spermathèque qui va garder leur pouvoir fécondant pendant plusieurs semaines. La fécondation a lieu au plus tard 48 heures après l'éclosion.

C-4) Le repas sanguin

Le mâle se nourrit uniquement de nectar. La femelle, elle, va être attirée par des émanations de gaz carbonique ainsi que certaines odeurs de la peau pour effectuer son repas sanguin qui permettra la bonne maturation ovarienne des œufs. Elle enfonce son proboscis jusqu'à un vaisseau sanguin dans la peau, tout en injectant de la salive pour obtenir un effet anticoagulant sur le sang et améliorer ainsi l'aspiration sanguine (qui peut aller jusqu'à deux fois le poids du moustique). Enfin, la femelle pond ses œufs (de 50 à 200 selon les espèces d'Anophèle).

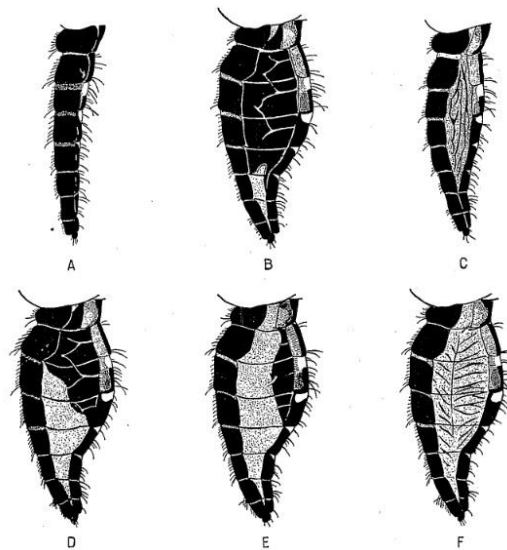


Schéma 8 : Stades de digestion du sang dans l'abdomen [6].

Comme décrit dans le Schéma 8, à jeun, l'abdomen est effilé (A). Il est gonflé et rouge en post prandial (donc gorgé, B). En semi gravide, un reliquat noirâtre est présent à la jonction thorax/abdomen (D). Avant d'être semi gravide cependant, l'abdomen est pré gravide (C). Enfin, avant d'être blanc et gonflé par les ovaires lorsque la femelle est prête à pondre (c'est-à-dire gravide, F), il est dit sub gravide (E).

D) Les agents du paludisme chez l'homme

Tous les organismes vivants hébergent des parasites, certaines estimations envisagent qu'environ 50% des espèces vivantes présentes sur la planète sont des parasites. Ainsi, la moitié des êtres vivants sur terre vit au dépend des autres. Il existe divers types d'interactions biologiques dans l'univers biotique, et qui s'établissent entre des individus d'espèces différentes : il s'agit d'interactions interspécifiques (Tableau 3).

		Espèce A		
		Interaction	Nuisible	Neutre
Espèce B	Nuisible	Compétition asymétrique	Amensalisme	Prédation / Parasitisme
	Neutre	Amensalisme	Neutralisme	Commensalisme
	Bénéfique	Prédation / Parasitisme	Commensalisme	Symbiose Mutualisme

Tableau 3 : Classement des différentes interactions interspécifique.

Une relation entre deux espèces peut donc être :

- Positive : il s'agit du commensalisme, de la symbiose et du mutualisme. Le premier terme définit une exploitation non parasitaire d'une espèce par une autre, où celle-ci donne une partie de sa nourriture au commensal, sans aucune contrepartie évidente de ce dernier (par exemple, certaines bactéries du système digestif humain). Le second terme indique lui un échange identique mais à bénéfice et/ou inconvénients réciproques dans un objectif de survie des différentes espèces dites symbiotes. Le terme de mutualisme indique une relation particulière : les deux espèces tirent un profit mutuel de leur association mais peuvent survivre l'une sans l'autre (contrairement aux symbiotes).

P.Bricage, du département de biologie de l'université de Pau, précise à propos de la symbiose que « *survivre c'est transformer les inconvénients en avantages et éviter que les avantages deviennent des inconvénients* » [11].

- Négative : nous retrouvons ici les termes d'amensalisme, de compétition, de prédation et de parasitisme. Parfois, une espèce bloque le développement d'une autre sans en tirer le moindre bénéfice ou avantage, du simple fait de sa propre évolution (comme un grand arbre peut empêcher un plus petit de bénéficier de lumière) : il s'agit de l'amensalisme. La compétition correspond à la rivalité entre espèces pour l'exploitation des ressources indispensables et insuffisantes pour toutes les espèces en jeu. Dans la prédation, un individu en tue un autre pour l'ingérer et survivre, dans le parasitisme le bénéfice est aussi unilatéral mais pas la mort du parasite (hôte) bien que cette relation puisse être tout de même destructrice.
- Neutre.

On parle d'association obligatoire quand la survie des espèces concernées dépend de la réalisation de cette interaction (parasitisme, symbiose etc.), et, à l'inverse, on dit qu'elle est non obligatoire quand elle n'en dépend pas. Nous venons de voir une approche très académique de ces interactions mais certaines font débat, comme le parasitisme. En effet, le parasite peut participer à la régulation démographique d'une population dont les individus sont trop nombreux. Peut-on alors considérer cette association comme nuisible ? La notion d'interaction durable fut mise en place pour mieux cerner cette complexité qui unit le tandem hôte/parasite : c'est la co-évolution.

Le parasite, nous l'avons vu, vit au dépend des êtres organisés, et ceci pendant une partie de son existence (temporaire) ou de manière permanente.

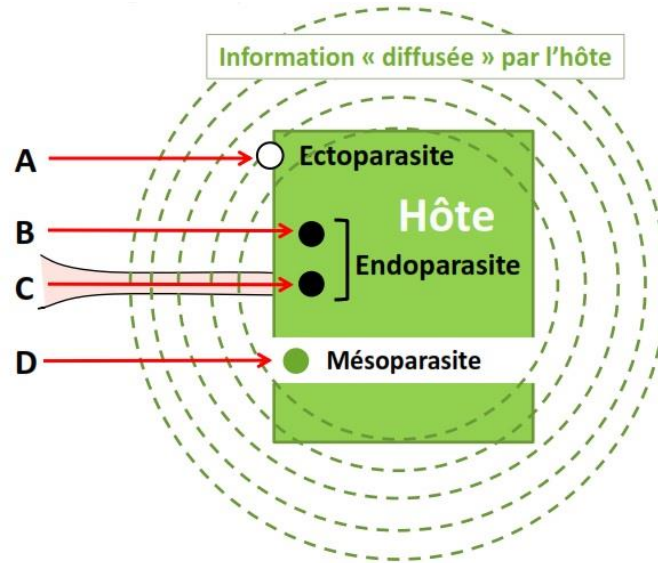


Schéma 9 : Classement des parasites en fonction de sa localisation sur l'hôte [12].

Dans le Schéma 9, on voit distinctement les différents types de parasites en fonction de leur localisation :

- Le parasite peut se fixer sur les téguments de l'hôte (A).
- Le parasite peut pénétrer à travers les téguments de l'hôte (B).
- Le parasite peut utiliser un organisme piqueur pour traverser les téguments (ce qui est le cas du *Plasmodium*) et devenir un endoparasite comme B (C).
- Le parasite peut être passif car absorbé par la nourriture, certains traversent la paroi du tube digestif et finissent endoparasites (D).

Ainsi le parasite peut être :

- Endoparasite : Il vit à l'intérieur de son hôte, séparé de l'extérieur par ses tissus.
- Ectoparasite : il est soumis au milieu extérieur en vivant à la surface corporelle de l'hôte.
- Mésoparasite : Il vit dans une cavité de l'hôte (ex : tube digestif).

Le parasite *Plasmodium* est un eucaryote (il y a présence de noyau et de mitochondries dans les cellules, à la différence des Eubacteria et Archaea). Notons que sans le parasitisme, nous ne serions pas là. En effet, les premières cellules eucaryotes sont apparues suite au parasitisme des cellules ancestrales par des bactéries (les mitochondries, entre autres). Il prend sa place dans l'arbre phylogénétique chez les Alvéolobiontes, soit le groupe des unicellulaires. Ce groupe se fonde sur l'étude de l'ARNr 18s, et regroupe les Ciliés, les Dinophytes et les

Apicomplexés (Annexe 1). Les Apicomplexés (ou Sporozoaires) sont dans leur ensemble les parasites intra et extra cellulaires des animaux et qui ont des spores dans leur cycle de vie (ce qui est pour eux leur moyen de dissémination entre hôtes). Anciennement nommé par le terme Protozoaire, cet embranchement répond maintenant au terme d'eucaryotes unicellulaires.

On retrouve les parasites chez les clades suivants : les Ciliés, les Apicomplexés, les Parabasaliens, les Métamonadines, les Mycétozoaires et les Euglénobiontes. Le *Plasmodium* est un hématozoaire (parasite du sang) Apicomplexé (présence de forme sporozoïte), c'est donc un endoparasite.

Chez *Plasmodium*, plusieurs espèces sont capables d'infecter l'homme. L'espèce *P.falciparum* est la plus répandue et la plus mortelle pour ce dernier, on retrouve aussi *P.vivax*, *P.malariae* et *P.ovale*. Une dernière, *P.knowlesi*, a été découverte en 2004, cette dernière étant une zoonose transmissible du Macaque à l'homme. Au final, il y a quatre espèces spécifiques de l'homme, transmissibles par un vecteur qui est la femelle du moustique du genre Anophèle. La présence de *Plasmodium* dans le règne animal n'est pas rare, et on considère que les hominidés sont infectés depuis 8 millions d'années. Les 5 espèces de *plasmodium* se différencient par de nombreux critères : répartition, signes cliniques, complications (Tableau 4).

Espèces	<i>P.falciparum</i>	<i>P.vivax</i>	<i>P.ovale</i>	<i>P.malariae</i>	<i>P.knowlesi</i>
Localisation	Zones tropicales	Asie du Sud Est, Amérique du sud	Afrique centrale	Zones tropicales	Asie du Sud Est
Types de fièvres	Tierce maligne	Tierce bénigne	Tierce bénigne	Quart bénigne	Fièvre quotidienne
Complications	Accès pernicieux (neuro - paludisme)	Accès pernicieux (neuro - paludisme)	Accès pernicieux (neuro - paludisme)	Néphrite quartane	Défaillances rénales et hépatiques (jaunisse)

Tableau 4 : Caractéristiques infectieuses spécifiques des cinq espèces de *Plasmodium*.

Ce sont *P.falciparum* et *P.vivax* qui posent le plus de problèmes pathologiquement parlant. Bien que *P.vivax* soit contaminant dans toute l'Afrique, son taux d'infection reste relativement faible, du fait de l'absence du gène Duffy dans le génome Africain rendant impossible l'installation du parasite chez son hôte définitif. Il est à préciser tout de même que cette espèce possède une forme dormante hépatique dite « hypnozoïte » permettant les rechutes, ce qui la rend dangereuse. Cependant, *P.vivax* se répand mieux que *P.falciparum* car plus résistant au froid et aux hautes altitudes, et les infections au Paludisme en dehors de l'Afrique sont le plus souvent de son fait. *P.falciparum* est donc le plus mortel, et *P.vivax* le plus répandu.

E) Cycle parasitaire

Le cycle de vie du *Plasmodium* est assez complexe mais peut se diviser en deux phases bien distinctes :

- La première chez l'homme qui est l'hôte intermédiaire. C'est une période de multiplication asexuée (que l'on va aussi appeler « schizogonie ») qui va permettre le bon développement du parasite. Cette étape siège chronologiquement dans deux sites séparés : les hématocytes (au foie) et les érythrocytes (dans le sang). On parlera donc de cycles exo-érythrocytaire (A sur le Schéma 10) et érythrocytaire (B sur le même schéma).
- La seconde chez le moustique où siège la reproduction sexuée du parasite, c'est donc son hôte définitif. C'est chez l'Anophèle que résidera cette phase qui aura d'abord lieu dans le gastre où les œufs se formeront puis dans les glandes salivaires pour permettre une bonne infestation ensuite chez l'homme (en C sur le schéma).

On note ici que d'un point de vue analytique scientifique pur, on devrait considérer l'homme comme le vecteur du *Plasmodium* et non l'Anophèle puisque l'hôte définitif est bien le moustique. Mais il est de bon ton de rester anthropocentrique dans notre analyse.

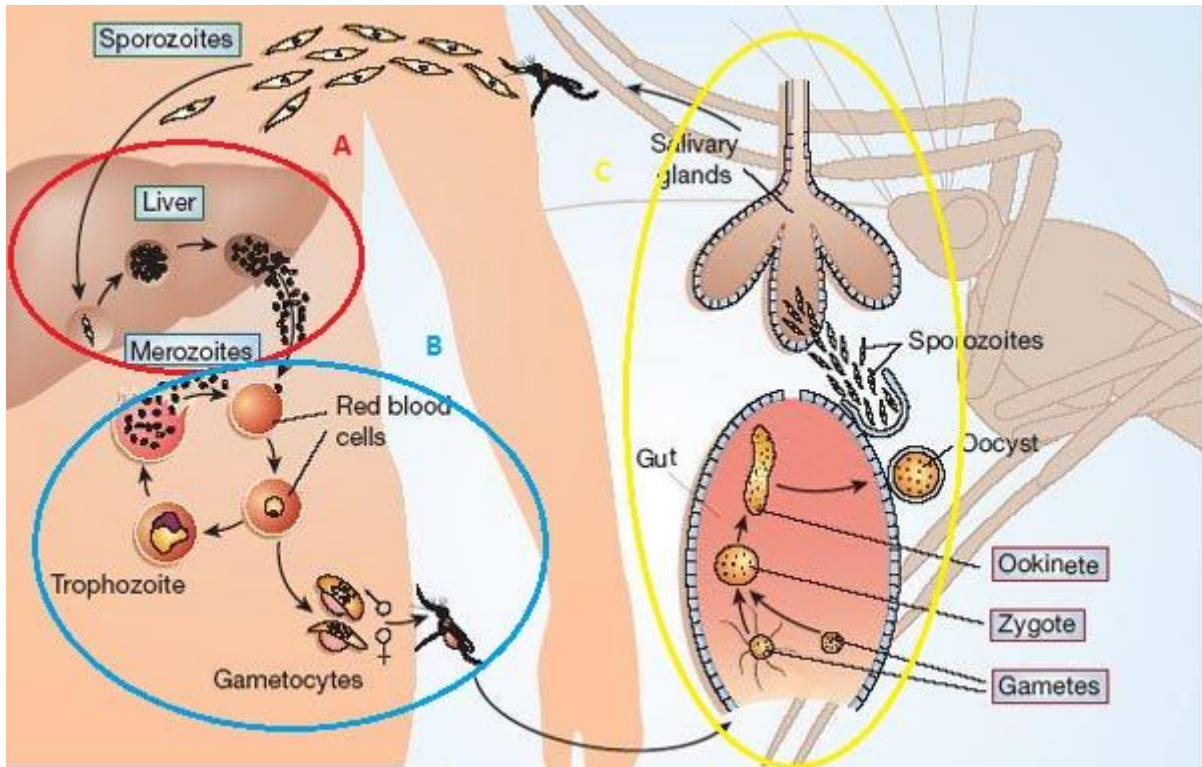


Schéma 10 : Le cycle de vie de *Plasmodium* Spp. [13].

E-1) La reproduction asexuée

a) Le cycle exo-érythrocytaire

Tout démarre (ou se termine) avec la piqûre d'un Anophèle contaminé. L'effraction cutanée et l'injection de salive parasitée permettent le passage de sporozoïtes chez l'homme lors du repas sanguin, et donc l'initiation de la phase shizogonie. Cette période d'incubation est cliniquement asymptomatique. C'est un moment délicat pour le parasite, seule une faible partie des sporozoïtes atteindra les hépatocytes, beaucoup d'entre eux seront détruits par les macrophages dans les cellules de Küpffer. Le destin des parasites dépendra de leur bonne migration dans la peau, la lymphe et le sang (pendant une trentaine de minutes) pour migrer au foie. La majorité des sporozoïtes injectés se retrouve dans la lumière du capillaire et le reste dans les zones avasculaires concomitantes au site d'injection.

La rentrée des *Plasmodium* dans la cellule hépatique se fait grâce aux protéines SPECT1 et SPECT2 / PLP1. SPECT1, ou « *sporozoite microneme protein essential for cell traversal* », qui joue un rôle important dans la formation de pores dans la cellule cible lui permettant la

bonne intégration cellulaire [14]. La PLP1, c'est-à-dire « *Perforin-Like Protein 1* », est un complexe d'attaque membranaire lié à la perforine, aussi spécialisé dans la formation de pores et la lyse membranaire. Ces deux dernières sont donc importantes pour la bonne migration du parasite dans la peau et dans sa cellule cible. Une fois arrivé aux sinusoides hépatiques, il faut maintenant infester les cellules de Küpffer pour intégrer les hépatocytes (Schéma 11).

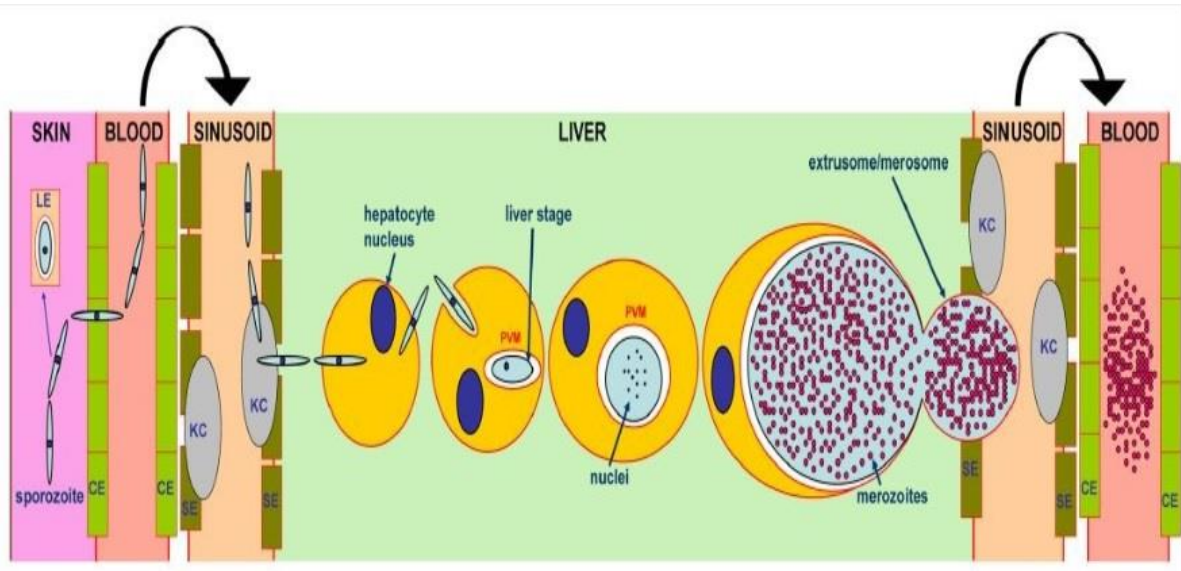


Schéma 11 : Invasion des hépatocytes par les sporozoïtes de *Plasmodium* [15].

Démontre alors la cascade de différenciation en mérozoïtes. Certaines espèces, nous l'avons dit, ont des formes dormantes « hypnozoïtes » à ce niveau, pour laquelle le passage au stade suivant (schizonte) n'est pas immédiat mais est différé dans le temps. Ceci expliquerait des rechutes de la maladie avec les formes *P.vivax* et *P.ovale*. Il est très surprenant que les cellules de Küpffer ne soient pas capables de détruire les hépatocytes infectés, et il a été découvert que le *plasmodium* inhibe l'assemblage de la NADPH oxydase (via une adénylate cyclase) qui est nécessaire pour la formation d'espèces réactives de l'oxygène jouant le rôle de mécanisme de défense des macrophages [16].

Le parasite se situant à proximité du noyau de la cellule va entamer une série de divisions cellulaires sur environ une semaine qui aboutiront à la formation d'un schizonte hépatique (plus gros que l'hépatocyte initial) permettant la libération d'un grand nombre de mérozoïtes (résultat de la reproduction asexuée) dans le sang. En effet, une fois à maturation (c'est-à-dire au bout de 8 à 10 jours), la rupture de la membrane parasitophore qui entoure les mérozoïtes dans le schizonte aboutit à leur libération dans les sinusoides hépatiques.

b) Le cycle érythrocytaire

Les mérozoïtes (Schéma 12) sont maintenant dans le sang et vont pénétrer dans les érythrocytes pour former des trophozoïtes immatures à allure caractéristique, ils développent la forme dite « anneau ».

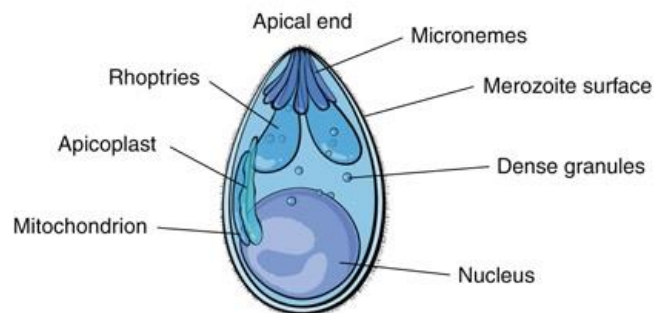


Schéma 12 : Anatomie d'un mérozoïte [17].

Le processus de pénétration dans l'érythrocyte est complexe : des protéines de surface du mérozoïte génèrent une interaction initiale de faible affinité avec la cellule hôte. Ensuite, la zone apicale est réorientée par une interaction plus forte contre l'hématie pour effectuer une fixation définitive via une jonction serrée. Rhoptries, micronèmes et granules denses vont séquentiellement libérer leur contenu du pôle apical du mérozoïte à l'hématie pour y former la membrane parasitophore. Cette invagination progressive aboutira au remodelage et au changement de composition de membrane de l'érythrocyte pour finalement obtenir le stade anneau (qui tient son nom de sa morphologie caractéristique).

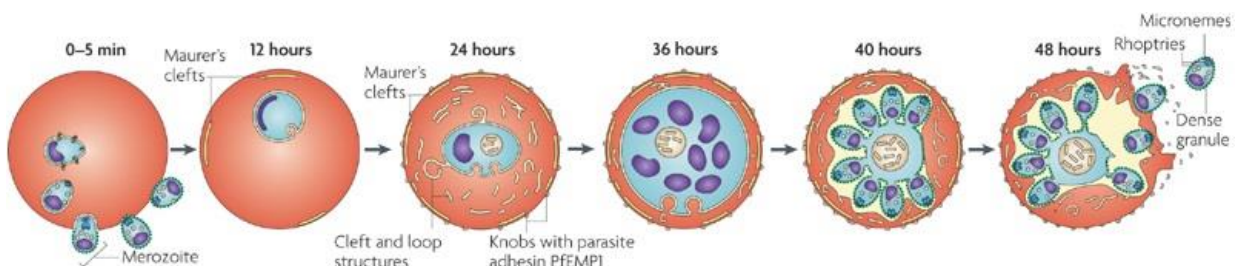


Schéma 13 : Développement des mérozoïtes de *P.falciparum* dans une hématie [18].

Le parasite se nourrit du contenu de la cellule hôte, au point d'y former des cristaux d'hémozoïne (pigment brun) qui sont la finalité de la transformation de son substrat principal qu'est l'hémoglobine. Des connexions entre la vacuole parasitophore et la membrane cellulaire apparaissent au fur et à mesure (*cleft and loop structures*, visibles sur le Schéma 13) pour permettre des connexions entre les deux. L'échange de protéines est ainsi assuré par l'organelle *Maurer's clefts* qui est une formation à la périphérie de l'hématie et jouant le rôle d'exportome ce qui assure la bonne formation des systèmes impliqués dans l'adhérence aux cellules épithéliales que l'on appelle des *knobs* (eux même composé d'une molécule adhésine PfEMP1 dans le cas de *P.falciparum*) [19]. L'étape du parasite à l'intérieur des hématies récemment envahies est donc nommée le stade anneau. Les anneaux deviennent ensuite des trophozoïtes par divisions asexuées, et des gamétocytes par reproduction sexuée.

Le trophozoïte s'obtient après environ 24 à 36 heures de croissance dans l'hématie. La vacuole s'accroît, ce dernier s'étend et on finit par obtenir à nouveau un schizonte en forme de rosace après 40 à 48 heures de développement. Ce dernier contient entre 16 et 32 mérozoïtes, la dernière étape de la schizogonie érythrocytaire est donc la séparation de ces derniers et leur libération. Cela commence par un éclatement de la vacuole digestive parasite, via un mécanisme actif incluant des protéases, ceci libérant les mérozoïtes dans l'érythrocyte. Il s'ensuit un gonflement de l'hématie et une dégradation de son cytosquelette engendrant l'éclatement de l'érythrocyte [20]. Les mérozoïtes libérés vont aller infecter d'autres hématies saines par le même processus pour recommencer le même cycle.

Les informations temporelles et quantitatives précédentes concernent *P.falciparum*, pour les autres espèces les processus sont les mêmes mais en temps et en quantité différents (on peut aller de 24 à 96 heures de délai pour l'éclatement synchrone des hématies infectées).

E-2) La reproduction sexuée

Nous avons vu en détail le cycle schizogonique du parasite, nous allons maintenant voir son cycle sporogonique.

a) La gamétocytogénèse

Cette étape est essentielle à la différenciation sexuelle du parasite, c'est la sortie du cycle érythrocytaire au stade de trophozoïte immature pour obtenir un gamétocyte, précurseur de gamète et seule forme infectieuse pour le moustique. Il s'agit donc d'une forme du parasite qui assure la dissémination dans un autre hôte. Cependant de récents travaux ont montré que des mérozoïtes peuvent entrer en phase de différenciation sexuelle sans passer par un stade de développement asexué intermédiaire [21]. Le gamétocyte qui en résulte dans l'hématie est soit mâle soit femelle. Il semblerait que le ratio du sexe penche largement en faveur des femelles (3 à 4 pour 1) car un mâle peut produire huit microgamètes et donc en fertiliser plusieurs. Tout comme le mécanisme qui amorce la gamétocytogénèse, il existe très peu d'informations concernant la détermination du sexe du gamétocyte. On sait cependant que le ratio mâle / femelle est très important pour la réussite de la transmission du parasite, et que tous les mérozoïtes venant d'un même schizonte suivent la même différenciation (sexuée ou non), on peut donc considérer que le choix de leur destinée est fait avant cette libération [22]. De plus, certains facteurs extérieurs jouent un rôle sur la stimulation de l'initiation du cycle sexué (comme les traitements antipaludiques, bien que ces derniers rendent parfois les gamétocytes ainsi formés moins infectants [23]). L'immunité a aussi son rôle à jouer puisqu'on sait qu'elle peut induire un stress, poussant le parasite à libérer ses gamétocytes matures dans la circulation sanguine pour maximiser les chances d'être ingérés par l'Anophèle [24]. Une réponse immunitaire, spécifique ou non, semble donc impliquée pour stimuler la gamétocytogénèse [26].

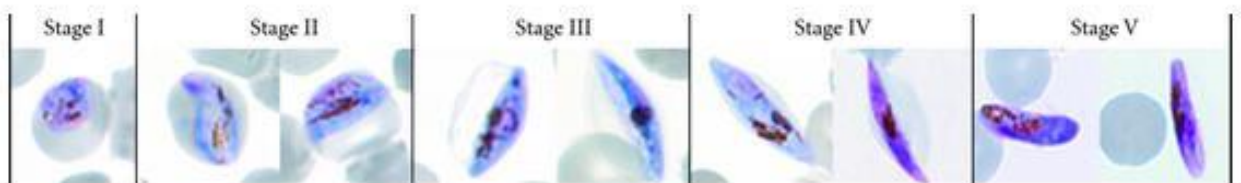


Schéma 14 : Développement complet d'un gamétocyte de *P.falciparum* suivant les 5 stades définis par Carter et Miller [25].

Les gamétocytes diffèrent sur un plan métabolique, sur l'expression des gènes et sur leur développement cellulaire par rapport à leurs homologues asexués [24]. En plus d'initier un cycle sexué, les gamétocytes doivent anticiper le changement de milieu auquel ils vont être confrontés lorsqu'ils passeront dans le système digestif du moustique (pH, température, passage au stade extracellulaire). On considère que chez *P.falciparum* la forme sexuée

s'observe environ 7 à 15 jours après l'identification de la première vague de forme asexuée, et que leur forme gamétocytaire est la seule à être ovale (Schéma 14). A contrario, les formes *P.ovale*, *P.vivax* et *P.malariae* n'ont besoin que de 1 à 3 jours pour effectuer cette phase.

Suite à cette différenciation, les gamétocytes matures sont prêts à être ingérés par un Anophèle.

b) Développement final chez le moustique

Un Anophèle femelle va absorber des érythrocytes infectés lors de son repas sanguin chez un hôte infecté. Le déroulement de cette étape se fait en trois temps : le *probing*, c'est-à-dire la pénétration des pièces buccales dans la peau, l'injection de salive et enfin le *feeding* (gorgement). Le sang sera ingéré par canulation directe ou par pompage d'une micro-hémorragie due à la pénétration des pièces buccales. On constate que chez les moustiques parasités, la durée de pénétration de ces pièces est plus longue et la fréquence des repas interrompus plus grande, ceci permettant une plus grande dissémination du parasite [27]. La salive permet d'éviter la coagulation sanguine et engendre une vasodilatation, ce qui provoquera une inflammation locale. Une fois arrivés dans les intestins, les gamétocytes vont rapidement former des gamètes mâles et femelles après avoir lysé leur cellule hôte, processus nommé gamétogénèse, stimulé par le changement de pH du milieu et la présence d'enzymes digestives du moustique (acide xanthurénique) [27].

Nous obtenons alors deux types de gamètes : les femelles (macrogamètes) et les mâles (microgamète). Les microgamètes vont subir l'exflagellation, c'est-à-dire une suite de multiplication cellulaire aboutissant à la sortie de 8 microgamètes à 8 flagelles d'un gamétocyte mâle résiduel. Les gamètes femelles sont directement fécondables, et ne subissent aucun processus de multiplication, de ce fait un gamétocyte femelle correspond à une gamète femelle. Environ une heure après le repas sanguin il y a fertilisation : les gamètes mâles circulent librement par ondulation dans le bol alimentaire du moustique et finissent par fusionner avec une gamète femelle, leur deux noyaux haploïdes formant un œuf diploïde, dit aussi « zygote ».

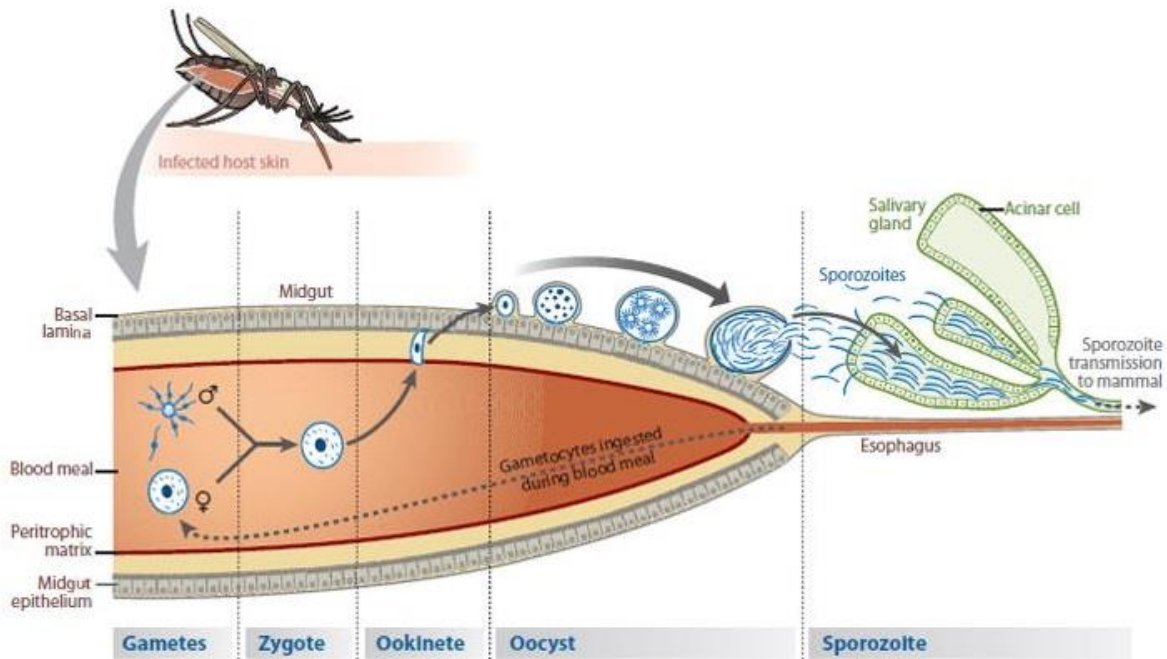


Schéma 15 : Développement sexué chez le moustique de *Plasmodium* [16].

Cette forme va ensuite devenir ookinète par un processus de méiose, puis de bourgeonnement jusqu'à ce que la totalité du contenu du zygote soit dans ce dernier. On parle de « stade retort » lorsque le zygote garde sa substance et que l'ookinète n'est pas encore totalement formé. L'ookinète va sortir du système digestif du moustique (Schéma 15) en traversant l'épithélium grâce à des substances lytiques et en reconnaissant les cellules de la paroi par les chaînes polysaccharidiques à leur surface (notamment grâce à des lectines) [27]. Sa mobilité lui permet donc de partir de cette zone qui pourrait être létale par la digestion. L'ookinète ne

pouvant pas traverser la lame basale, il va se différencier ensuite en oocyste où le matériel génétique va être répliqué de nombreuses fois pour obtenir un syncytium. Des sporoblastes vont se former et donner naissance à des sporozoïtes tout en se nourrissant de l'hémolymphe de l'Anophèle, leur libération se fera par effraction cellulaire ou par rupture de la membrane. Transportés par l'hémolymphe, ils vont migrer jusqu'aux glandes salivaires, traverser les acini et pénétrer dans le canal salivaire (mais tous n'y arriveront pas, bien qu'ils ne puissent adhérer qu'aux glandes salivaires). Une reconnaissance entre oligosaccharides tissulaires et lectines parasitaires semble encore jouer un rôle important ici. La durée de survie particulièrement longue des sporozoïtes dans cette zone permet de dire qu'un Anophèle infecté restera infectant pour toute sa vie [27]. La suite nous la connaissons maintenant, le moustique va piquer l'homme et lui transmettre les sporozoïtes infectants, le cycle est fait.

F) Impact sur l'homme

La relation entre la malaria et la pauvreté est depuis longtemps établie (Schéma 16) et la comparaison d'indicateur du PIB est révélatrice. En effet, dans les pays fortement touchés par la malaria en 1995, le PIB moyen par habitant était de 1.526US\$ contrairement au PIB des pays où la malaria sévit avec moins d'intensité (il était de 8.268US\$). De plus, ces pays ne sont pas seulement plus pauvres mais aussi moins productifs car entre 1965 et 1990, les pays ayant de grandes portions de population vivants dans des zones à risques paludique ont accumulé une élévation *per capita* du PIB de 0.4% par an, contre 2.3% dans les autres pays. Un faible PIB reflète donc bien une zone à grande endémicité [32].

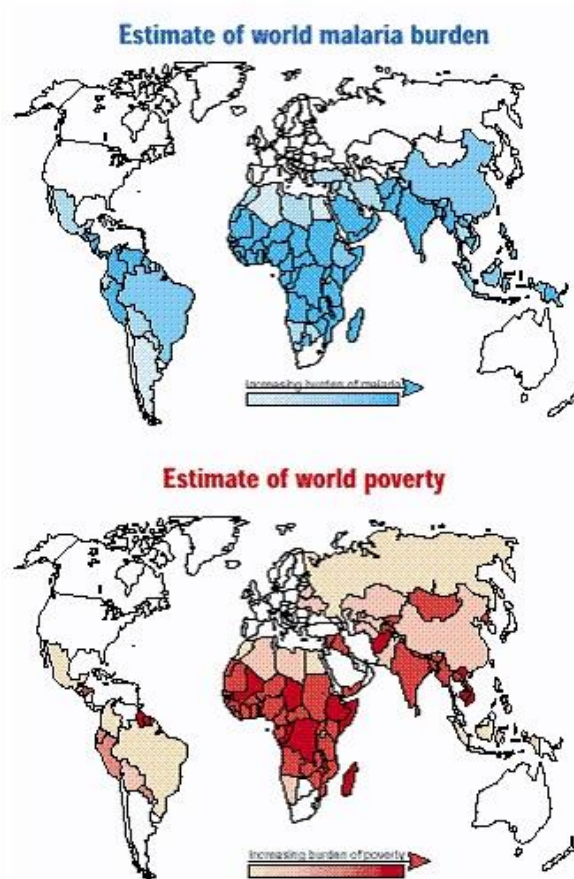


Schéma 16 : Répartition de la pauvreté et de la malaria dans le monde (1995) [31].

La pauvreté augmente les risques d'infection, l'infection provoque des coûts médicaux (transport médical, coût des médicaments, consultations) et une perte de revenus (absentéisme au travail, perte d'un membre etc.), ainsi la pauvreté s'aggrave. Non seulement le Paludisme tue, mais en plus il accroît donc la pauvreté de pays figurant déjà parmi les plus pauvres du monde. Cet impact sur l'état de santé de la population est un élément fort de déstabilisation sociale, bien que le Paludisme n'explique pas à lui seul le retard de développement des pays pauvres (mais contribue largement au ralentissement de leur croissance).

Outre son impact sur la santé, la malaria engendre une diminution de la croissance économique, notamment en Afrique où elle serait responsable d'une perte de 1.3% de cette dernière par an. Inévitablement, cela engendre un retard de développement et donc une fuite de dizaines de milliards de dollars par an (estimée à environ 12 milliards de US\$). Dans certains pays où la maladie sévit fortement, elle absorbe jusqu'à 40% du budget de la santé, ceci ayant donc des effets désastreux sur la santé publique, la protection sociale et le développement [28].

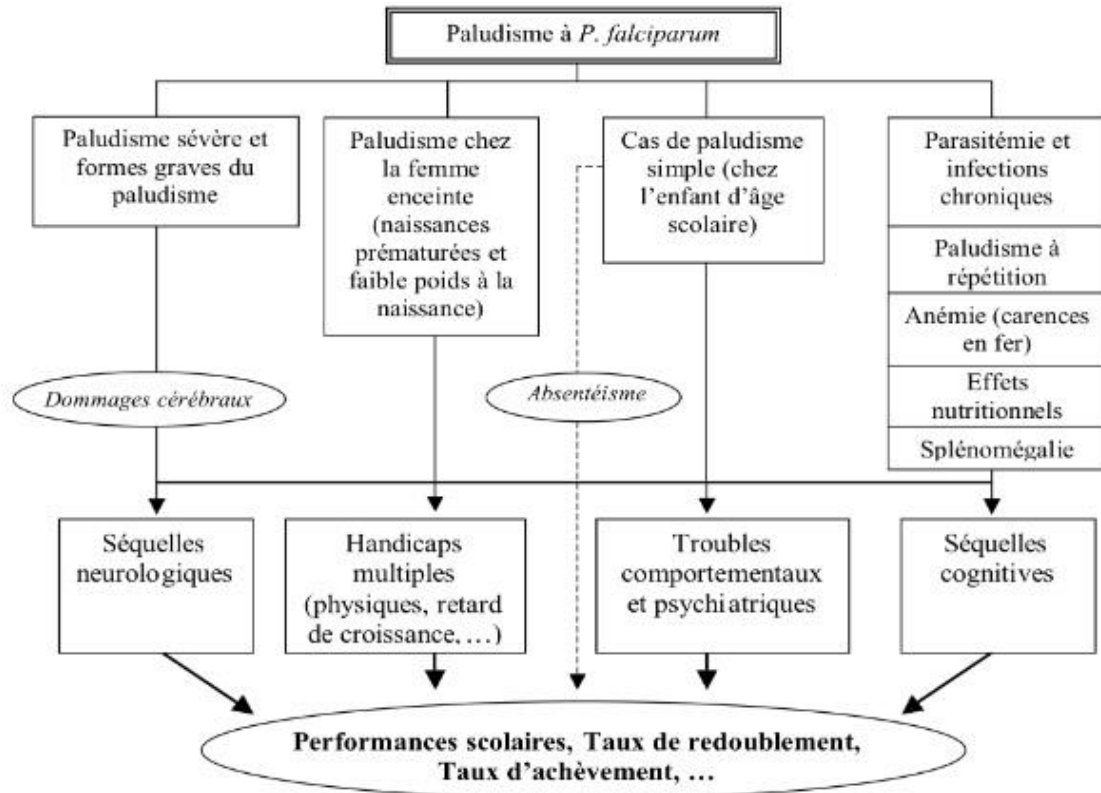


Tableau 5 : Impact du Paludisme à *P.falciparum* sur la scolarité des enfants [30].

Le Paludisme est cliniquement incapacitant et pèse donc lourdement sur les revenus des ménages et par conséquent la productivité des entreprises, ainsi que des récoltes dans les zones les plus reculées. En conséquence, ces zones séduisent évidemment peu les investisseurs [29]. Les séquelles neurologiques, les handicaps, les signes cliniques sont particulièrement délétères pour les enfants sur leur scolarité (Tableau 5) et donc sur le possible essor créatif et dynamique que leur insufflerait un parcours éducatif complet, ce dont le pays manque cruellement. On a constaté au Kenya que la malaria était responsable d'un absentéisme à l'école primaire de 11% des jours par an par enfant [32]. C'est un aspect de la maladie qui agit indirectement sur le comportement de l'état et des familles, tout comme les décisions de migrations que la maladie peut engendrer. Les effets négatifs sur le tourisme et par conséquent sur les commerces sont aussi à prendre en compte, tout comme les investissements financiers conséquents de chaque pays dans la lutte anti vectorielle et les traitements.

La mort d'un enfant toutes les 40 secondes est, démographiquement et humaine, particulièrement catastrophique. Au-delà de ce taux de mortalité alarmant, on constate aussi un effet indirect, ce haut taux de mortalité infantile est corrélé à un haut taux de fécondité.

Ceci s'explique soit par la volonté pure et simple de remplacer l'enfant décédé, ou alors d'en faire plusieurs pour assurer un grand taux de survie chez ses descendants dans une famille. De ce fait, cette théorie prédit l'observation d'un taux de croissance élevé chez les populations à fort risque de transmission via un taux de fécondité anormalement élevé. Si on prend en compte le faible taux de survie de ces enfants et le fort taux de fécondité, il est possible d'anticiper une diminution de l'investissement financier dans l'éducation de la part des parents. Une autre conséquence délétère directe concerne la place de la femme car elle doit être à la disposition des enfants, et cela ne fera que limiter le temps de disponibilité à l'emploi et à l'expérience ou aux études qu'elle possède. A long terme, ces facteurs auront des conséquences néfastes sur la croissance et la productivité [32].

L'ensemble des domaines touchés par le Paludisme que nous venons de voir (école, fertilité, migrations etc.) influent directement ou indirectement de manière négative sur l'économie et la croissance des pays à fort risque taux d'infection.

II] Prise en charge thérapeutique

A) Immunité

Il existe trois types d'immunité chez l'homme.

- L'immunité innée: il s'agit de la première ligne de défense de l'organisme, elle est aussi dite « naturelle ». Cette barrière de défense contre les pathogènes et les agents infectieux se met en place immédiatement et va être fonctionnelle environ 96 heures. Elle regroupe une réponse innée constitutive et une réponse innée induite :

- La réponse constitutive représente l'ensemble peau et muqueuses. La peau constitue une barrière mécanique (perméabilité et desquamation) chimique (peptides et protéines) et biologique (flore commensale). Les muqueuses sont plus sensibles mais la synthèse de mucus permet d'avoir une action de leurre sur les bactéries et de barrière mécanique sur les éléments étrangers.

- La réponse induite se caractérise par des réponses biologiques de phagocytose et d'inflammation face à la détection d'un signal de danger induit par une interaction entre un récepteur du soi (*Pattern Recognition Factor* ou PRR) et une molécule

du non soi (*Pathogen Associated Molecular Patterns*, ou PAMP). Le système du complément stimule ces deux mécanismes, et induit aussi le complexe d'attaque membranaire.

Dans le cas du Paludisme, il y a une bonne activation du complexe majeur d'histocompatibilité mais une inhibition de la production d'IL-2 par les cellules présentatrices d'antigènes (ceci pourrait expliquer la réponse sous optimale des antigènes indépendants lors du Paludisme aigu). Les cellules dendritiques et les macrophages initient la réponse immune via leur rôle de cellule présentatrice d'antigène. La phagocytose des érythrocytes infectés par *P.falciparum* par les macrophages (impliquant le récepteur CD36) leur confère un rôle important car ils ont cette capacité de phagocytose malgré l'absence d'opsonisation ou d'anticorps spécifiques de la malaria. De nombreuses autres molécules sont impliquées dans ces différentes réactions de défenses (cellules natural killer et T...) et leur rôle précis reste encore à définir car les résultats sont parfois différents selon les études. Mais cette immunité à son importance vis à vis de la maladie et reste néanmoins toujours peu étudiée [88].

- L'immunité acquise : elle fait intervenir l'immunité à médiation humorale (par les lymphocytes B) et à médiation cellulaire (via les lymphocytes T). Aussi nommée immunité adaptative, elle se met en place plus progressivement et ses propriétés ainsi que ses fonctions sont bien distinctes de l'immunité innée. Elle va prendre forme par la synthèse d'anticorps spécifiques solubles par les lymphocytes B destinés à reconnaître un antigène et à engendrer la suppression de l'agent portant cet antigène, c'est le maintien de l'intégrité du milieu extracellulaire qui est en jeu. Les lymphocytes T, quant à eux, vont induire la mort par apoptose des cellules infectées. Lorsqu'elles reconnaissent un complexe majeur d'histocompatibilité, il y a mise en place d'une expansion clonale qui va amplifier la réponse immunitaire. Au terme de l'infection, une partie des lymphocytes T et B sera conservée, on parle alors de lymphocytes mémoire qui, lors d'une réinfection, pourront se mobiliser plus rapidement face à l'antigène en question.

Cette immunité a de nombreux rôles dans l'infection par les plasmodies. La synthèse d'anticorps, par exemple, va permettre de diminuer l'invasion des cellules hépatique par les sporozoïtes, ainsi que limiter leur développement dans ces même cellules via les LT CD8+ et l'IFN- γ . Les anticorps vont aussi bloquer l'invasion des érythrocytes par les mérozoïtes et empêcher l'adhérence aux parois vasculaires par érythrocytes infectés. Les LT CD4+ et

l'IFN- γ vont stimuler la phagocytose des mérozoïtes et des parasites intra-érythrocytaires [88].

Il faut bien comprendre que les deux immunités sont très importantes dans la réponse de l'organisme face à l'infection, et que ces deux mécanismes de défense sont liés.

- L'immunité congénitale : durant les premiers mois de la vie, l'enfant ne pourra pas se défendre avec son propre système car ses lymphocytes n'ont jamais été exposés à des antigènes étrangers. On parlera donc de système immature, sa mère lui transmet donc un système immunitaire passif via les immunoglobulines via la voie transplacentaire et grâce au colostrum. Cette protection durera environ 6 mois.

La totalité de la protection antipaludique prodiguée par la mère à la naissance provient donc des anticorps qu'elle transmet à son enfant, mais aussi grâce à l'hémoglobine fœtale spécifique que le nouveau-né possède (voir « Les formes particulières »). Certaines données cliniques indiquent que le système immunitaire fœtal réagit aux stimuli antigéniques de la malaria par la synthèse de cytokines et une prolifération cellulaire (lympho-prolifération dans le sang du cordon) lorsque la mère est infectée par la maladie lors de sa grossesse. De plus, l'exposition *in utero* du fœtus à la malaria permettrait le développement d'une tolérance à la maladie ainsi qu'une future modification de sa susceptibilité à celle-ci. En conséquence, il a été anticipé une augmentation de la mortalité mais aussi une amélioration des défenses face à de futures infections. Cependant, l'interprétation de ces données n'est pas encore claire et n'est pas non plus partagée unanimement [89].

Il a été mis en évidence que des infections répétées et chroniques permettent le développement d'une immunité relative (et donc une protection relative) mais qui se perdrait vite en l'absence de stimulation. Ceci s'explique par le mécanisme de présentation antigénique sur l'érythrocyte infecté, les *Variant Surface Antigens* ou VSA. Un seul type de ces antigènes va pouvoir être présenté, et donc reconnu par les anticorps. Or, avec le temps, d'autres gènes codant pour des VSA différents pourront s'exprimer tour à tour à la surface de l'hématie. De ce fait, la reconnaissance avec les molécules préexistantes du système immunitaire ne se fera plus. Chez *P.falciparum*, cette famille d'antigènes est mieux connue sous le nom de PfEMP1 (*P.falciparum erythrocyte membrane protein*). C'est une technique d'échappement au système immunitaire. Malgré tout, cette immunité permet juste de diminuer

la parasitémie et non d'éradiquer la maladie. De ce fait, elle limitera les symptômes et la durée de la maladie [90].

B) Clinique

La maladie du Paludisme peut avoir différentes conséquences sur le malade, tout dépend de l'espèce de *Plasmodium* responsable de l'infection, de l'état immunitaire du porteur, de son âge, etc. L'espèce *P.falciparum* est la plus redoutable des cinq connues (car ayant le taux de mortalité le plus élevé) et représente une très grande partie des infections malariques humaines. De ce fait, l'éventualité du diagnostic de la maladie Paludique est non négligeable et sa prise en charge doit être rapide.

B-1) Les différentes phases

La phase de contagé

C'est le moment de l'injection par la piqûre de l'Anophèle femelle au niveau cutané.

- L'accès palustre de primo-invasion

La phase d'incubation

Celle-ci est asymptomatique, il s'agit de la durée entre la piqûre et les premiers signes cliniques. Bien évidemment, sa durée dépend de l'espèce mise en cause :

- Pour *P.falciparum*, la durée est d'environ 7 à 12 jours mais peut aller jusqu'à 2 mois.
- De 15 jours à 10 mois pour *P.vivax*.
- Chez *P.ovale*, cela peut aller de 15 jours à plusieurs mois.
- Enfin, pour *P.malariae*, le délai varie entre 18 et 40 jours.

Cette phase est silencieuse et passera inaperçue chez le malade. Au niveau infectieux, cette phase correspond à la période exo-érythrocytaire (qui ne donne lieu à aucune pathologie) jusqu'au début du cycle érythrocytaire. Les premiers signes cliniques se feront sentir lorsque la parasitémie atteindra son seuil pathogène. On parle aussi de phase « prépatente ».

La phase d'invasion

Elle est aussi nommée phase de primo-infection si le sujet n'a jamais été en contact avec le parasite. La schizogonie érythrocytaire se met en place, et l'éclatement des érythrocytes va être responsable des différents signes cliniques :

- De la fièvre.
- Des troubles digestifs : anorexie, douleurs abdominales, nausées, vomissements.
- Des céphalées, myalgies, asthénie.
- Ils s'accompagnent d'une hépatomégalie (bien que la schizogonie hépatique ne soit pas symptomatique), et, parfois, d'une splénomégalie.

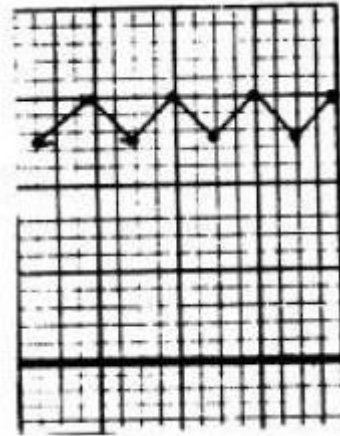


Schéma 17 : Fièvre en plateau (courbe thermique sur 24 heures, avec température du matin et du soir, ainsi que toutes les trois heures) [84].

La fièvre est constante et continue, on dit qu'elle est en plateau (Schéma 17) : le cycle érythrocytaire est mal synchronisé. L'ensemble de ces signes représente un tableau de gastro-entérite fébrile, on parle aussi d'embarras gastrique fébrile (bien que tous les symptômes ne soient pas obligatoirement présents). A ce stade, la guérison spontanée est possible mais la maladie peut aussi évoluer rapidement en accès palustre (simple ou grave). Au vu des signes qui sont décrits ici, faire le bon diagnostic n'est pas chose facile et les conséquences pour le malade peuvent être graves. De fait, le Paludisme est une urgence médicale, et « toute fièvre chez un patient en retour de zone d'endémie palustre est un Paludisme jusqu'à preuve du contraire ».

- L'accès palustre à fièvre périodique

Dans le cas d'une primo-invasion non traitée, la fièvre initiale va devenir périodique. On aura alors la triade classique de signes cliniques : frissons, chaleur et enfin sueurs. Les frissons débutent lorsque la fièvre commence à monter (39°C), puis lorsqu'elle dépasse les 40°C (elle peut atteindre 42°C), le patient ressent alors une intense chaleur (la peau est brûlante). Enfin, des sueurs intenses avec une chute de la température et une hypothermie vont succéder à la fièvre.

C'est la libération d'hémozoïne par les érythrocytes contaminés qui va engendrer la fièvre. En effet, cette molécule est pyrogène en agissant sur les centres bulbaires de la thermorégulation. De plus, les antigènes libérés lors de l'éclatement vont stimuler la production de cytokines pro-inflammatoires (TNF- α , IL-6 etc.).

La durée de cette phase est d'environ 10 heures, le cycle de schizogonie érythrocytaire est synchrone. Des signes prodromiques précèdent cette fièvre (lassitude et signes digestifs). Cette fièvre est intercurrente, c'est-à-dire qu'elle revient régulièrement à un rythme dépendant de l'espèce de *Plasmodium* concerné. On parle alors de fièvre tierce ou quarte :

- La fièvre tierce : elle peut être engendrée par les espèces *falciparum*, *vivax* et *ovale*. Chez *P.falciparum*, elle peut être maligne et irrégulière. Chez *P.vivax* et *P.ovale* elle est bénigne. Il y a alternance de pic fébrile et d'apyrexie tous les deux jours, elle est donc récurrente toutes les 24 heures chez ces trois espèces (Figure 3).
- La fièvre quarte concerne quant à elle l'espèce *P.malariae*, elle est d'ailleurs bénigne. Elle se développe toutes les 72 heures, donc avec un pic fébrile les premières 24 heures et ensuite une apyrexie pendant 48 heures (Schéma 18).

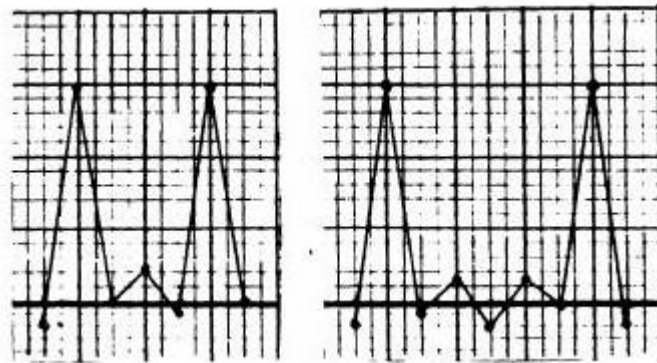


Schéma 18 : Fièvre tierce et quarte (selon le même procédé que Figure 2) [83].

- Une fièvre avec un clocher thermique toutes les 24 heures est possible dans certaines infections à *P.falciparum* et *P.knowlesi*.

La présence d'hypnozoïtes chez *P.vivax* et *P.ovale* rend la reviviscence possible de cet accès un à huit mois après ce dernier (et dans les 2 à 5 ans qui suivent l'infection). En revanche, chez *P.falciparum*, il n'y a pas de rechute possible (à condition d'avoir quitté la zone endémique). Pour *P.malaria*, les rechutes sont possibles jusqu'à 10 à 20 ans après la primo-infection (mais il n'y aurait pas d'hypnozoïtes).

B-2) Les complications

Le Paludisme grave est l'ensemble des complications que peut engendrer la maladie. La connaissance des critères de gravité pour l'infection à *P.falciparum* est indispensable pour adopter la bonne conduite d'urgence à suivre (Annexe 2). La présence d'un seul de ces critères, associé à la présence du parasite dans le sang définit cliniquement un diagnostic de Paludisme d'accès grave.

L'OMS a d'ailleurs mis en place un moyen mémo technique pour retenir les critères de gravité : CACHI-CACHO, pour coma, anémie, collapsus, hypoglycémie, IRA – CIVD, acidose, convulsions, hémoglobinurie massive, OAP. Chez le sujet sans immunité, le Paludisme à *P.falciparum* peut être mortel à la suite d'atteinte d'une ou de plusieurs grandes fonctions. Ces dysfonctionnements sont à l'origine de différentes complications.

Le neuropaludisme

Il s'agit de la complication majeure du Paludisme, ou aussi appelé accès pernicieux. Ce terme caractérise l'accès palustre à tropisme cérébral et regroupe toutes les manifestations neurologiques dont il est responsable. Les débris cellulaires des érythrocytes éclatés provoquent l'obstruction de capillaires cérébraux. L'accès pernicieux débute par une phase de fièvre soit d'installation progressive (fièvre irrégulière avec syndrome algique diffus et troubles digestifs) soit d'installation brutale (fièvre, coma et convulsions). Ensuite vient la phase d'état où la fièvre monte jusqu'à 42°C et s'accompagne de signes neurologiques (troubles de la conscience, convulsions, troubles du tonus et parfois des manifestations viscérales). L'anémie est alors constante, et sans traitements, cette complication est mortelle en quelques jours. Une prise en charge adaptée réduit les risques de mortalité de 10 à 30%.

L'acidose métabolique

L'acidose métabolique est courante et associée à une détresse respiratoire. Celle-ci est corrélée à une augmentation du risque de décès du patient, il apparaît donc logique que l'OMS l'ait classée comme critère de gravité. C'est souvent l'état de choc qui l'engendre, mais aussi d'autres phénomènes qui accompagnent la maladie (l'anémie qui diminue le transport en oxygène, la diminution de la clairance hépatique du lactate, la glycolyse anaérobie etc.). En conséquence, le système tampon respiratoire H_2CO_3 / HCO_3^- est perturbé, or ce dernier régule en partie le pH.

L'anémie grave

Le taux d'hémoglobine du malade tombe en dessous du seuil critique de 5g/dl (alors que les valeurs classiques sont 13-17g/dl pour l'homme et 12-16g/dl pour la femme). L'indice peut aussi être l'hématocrite qui sera inférieur à 15% pour des valeurs classiques entre 42 et 54% pour l'homme et 37/47% pour la femme. Le parasite lyse les érythrocytes du malade par le développement et la libération des mérozoïtes en son sein, de ce fait il y a une hémolyse régulière qui, à terme, aboutit à une anémie de gravité variable.

L'insuffisance rénale aigüe

Cette complication aussi est assez fréquente chez l'adulte, et est, elle aussi, un critère de gravité ainsi qu'un facteur d'augmentation du risque de décès. L'IRA, au cours du Paludisme, peut être d'origine fonctionnelle ou organique (via une nécrose tubulaire aigüe). C'est d'ailleurs cette dernière que l'on retrouve fréquemment dans le cas d'infection à *P.falciparum*. La déshydratation que risquent d'engendrer les signes cliniques de la maladie (vomissements, diarrhée, fièvre) peut provoquer une hypo-perfusion rénale. L'hémolyse aigüe peut aussi être responsable d'anurie, et un traitement par quinine engendrer un syndrome hémolytique urémique (SHU).

La néphrite quartane

Une infection chronique peut provoquer une atteinte des glomérules : les dépôts de complexes immuns engendrent un syndrome néphrotique. Ce type de complication se retrouve surtout avec les infections par l'espèce *P.malariae*. Les traitements anti-malariques, les corticoïdes ou les cytotoxiques sont souvent peu efficaces dans cette situation d'insuffisance chronique, et elle peut évoluer avec le temps en insuffisance rénale fatale...

La fièvre bilieuse hémoglobinurique

Cette complication très rare est un syndrome hémolytique aigu brutal en réaction à la prise de Quinine intempestive (dans un but chimio prophylactique). Les signes cliniques sont des lombalgies violentes ainsi qu'une forte fièvre, un ictère hémolytique s'accompagnant de vomissements bilieux et un état de prostration. L'ictère est responsable d'une oligo-anurie avec des urines « porto » pouvant entraîner la mort. Le déclenchement de cette complication peut être la reprise de Quinine et le froid (l'Halofantrine et la Méfloquine pourraient aussi être impliquées).

La splénomégalie palustre hyperréactive

La stimulation de la rate par des complexes immuns circulants engendre une réaction exagérée de la rate. De ce fait, une splénomégalie se met en place et va, avec le temps, devenir hypersplénique. Ceci va alors provoquer de fortes perturbations de l'hémogramme (dans les trois lignées sanguines).

B-3) Les formes particulières

Chez la femme enceinte

Cette situation est surtout remarquée en Afrique. Les complications ainsi que les symptômes liés à la maladie chez la femme enceinte varient en fonction de son immunité et de l'intensité de la transmission du parasite dans la zone concernée.

- Zones à haut taux de transmission : l'immunité acquise est bonne, de ce fait l'infection sera asymptomatique. Malgré ce constat, une anémie maternelle est possible, et peut être responsable de la naissance d'un nouveau-né de petit poids (ce qui contribue grandement au risque de mortalité). C'est pourquoi il faut éviter de se fier à la simple mesure du taux de parasite dans le sang, car une parasitémie placentaire peut aussi engendrer cette anémie en dépit d'une faible parasitémie périphérique. En revanche, l'infection chez une femme non immunisée (touriste, personne revenant dans son pays d'origine etc.) dans ces zones est redoutable.

- Zones à faible taux de transmission : l'immunité est généralement faible dans ces parties du monde. Les femmes qui contractent la maladie peuvent développer toutes les formes de Paludisme, ainsi qu'une anémie. Elles s'exposent par conséquent au risque de devoir subir un avortement. Le nouveau-né, lui, risque de naître de manière prématurée, et de contracter un Paludisme congénital. Le Paludisme fœto-maternel peut aussi engendrer une mortalité et un faible poids à la naissance. Ces risques sont d'autant plus forts que la mère est primipare avec *P.falciparum*.

Les femmes ayant déjà eu une grossesse ont synthétisé des anticorps anti-chondroïtine sulfate qui constituent une bonne protection contre le parasite. Ceci explique, pour *P.falciparum* du moins, que le risque d'être infecté soit plus fort lors de la première grossesse qu'avec les suivantes. Le Paludisme chez le nouveau-né est responsable d'une fièvre associée à une hépato-splénomégalie, une pâleur et un ictère, et peut entraîner la mort de ce dernier [86].

Chez l'enfant

Bien qu'une immunité partielle soit acquise durant l'enfance dans les zones à forte transmission de la maladie, la majorité des Paludismes infantiles chez les enfants non immunisés évoluent vers le décès. C'est bien pour cela que les enfants de moins de 5 ans sont les cibles les plus vulnérables face au Paludisme, leur immunité ne s'est pas encore développée suffisamment pour les protéger. Rappelons, s'il est encore nécessaire de le faire, que 78% des décès au monde (584 000 selon les derniers chiffres) ont lieu chez les enfants. Ce sont donc eux qu'il faut protéger en priorité. La gravité de la maladie chez eux sera conditionnée par l'âge, certains facteurs environnementaux, génétiques, et l'immunité (aussi faible soit-elle) [86]. La tranche d'âge de 6 mois à 10 ans est particulièrement importante :

- De 0 à 6 mois l'enfant possède encore les anticorps de sa mère ainsi qu'une hémoglobine fœtale F (très défavorable au développement des plasmodies), et par conséquent une forme de protection antipaludique indirecte très importante.

- De 6 mois à 10 ans, si l'enfant est exposé régulièrement à des piqûres d'Anophèle, son organisme pourra développer une immunité. Quatre ans de contacts répétés seront nécessaires à l'élaboration de celle-ci, pour ainsi permettre que l'apparition de formes graves de Paludisme soit alors exceptionnelle. Au bout de 10 ans, l'enfant contaminé peut, dans certaines situations, vivre en coexistence pacifique avec le parasite.

Les formes les plus graves sont donc constatées chez les sujets de moins de 4 ans. Dans les zones où l'exposition est moins régulière, on observe ces formes plus tardivement dans l'enfance.

Le Paludisme viscéral évolutif

Il s'agit de la forme chronique de la maladie, et nécessite des infections répétées. Cette complication se caractérise par une splénomégalie importante, une anémie (des œdèmes des membres inférieurs, asthénie, pâleur, etc.) et une altération de l'état général. Ce Paludisme peut aussi être observé lors d'une infection faisant suite à un traitement prophylactique à base de Chloroquine (et donc Chloroquino-résistante) [84].

Le Paludisme post-transfusionnel

Longtemps sous-estimé, cette voie de transmission fait aujourd'hui l'objet de nombreuses recherches (et ceci à cause de l'augmentation des phénomènes de migration et du développement des déplacements à l'international). Etant véhiculé par le sang, le parasite est donc transmissible par transfusion sanguine entre un donneur parasité et un receveur. Des tests de détection des *Plasmodium* et du VIH ont été faits de manière concomitante sur des donneurs de sang en République Centre Africaine : la prévalence du Paludisme est triple par rapport à celle du VIH (14.7% et 5.7% respectivement) [87]. De nombreuses données et publications viennent étayer le constat que nous pouvons faire grâce à ces chiffres : la prévention de la maladie ne peut pas se faire sans prévention de la contamination transfusionnelle. En Afrique, le Paludisme est l'une des plus courantes infections transmissibles par le sang. C'est l'administration de sang total ou de concentré de globules rouges qui est particulièrement risquée ici, étant donné que le parasite s'y loge. Malgré tout, la transfusion de produits sanguins labiles est à risque aussi. Les *Plasmodium* peuvent survivre à une température de 4°C pendant plusieurs semaines. La phase d'incubation, silencieuse, est la plus propice au don de sang contaminé. Il en va de même pour les porteurs asymptomatiques (dont les infections répétées ont permis à l'immunité du porteur de développer un contrôle constant de la parasitémie). Dans ces conditions, l'exclusion sur évaluation clinique du donneur est insatisfaisante pour prévenir de tout risque, seuls les tests biologiques pourront déterminer la faisabilité du don.

En France, selon l'institut national de la transfusion sanguine (INTS), la recherche de l'agent responsable du Paludisme n'est pas systématiquement effectuée lors d'un don. Ainsi, le test sera demandé seulement si le donneur signale un séjour dans un pays endémique.

En zone d'endémie, il conviendrait d'effectuer systématiquement un test de recherche du parasite, mais le manque de moyens et l'absence de consensus clair rendent inopérante cette pratique. La mise en place d'un traitement prophylactique pour le donneur et éventuellement curatif pour le receveur coûte néanmoins plus cher...

C) Diagnostic

Nous l'avons vu précédemment, établir le diagnostic uniquement grâce aux signes cliniques est délicat. Il va falloir s'appuyer sur des tests biologiques pour orienter ou non vers un Paludisme. Il est bien évidemment recommandé de diagnostiquer sans retard la maladie pour améliorer la prise en charge et sa surveillance. Le protocole général de détection est décrit dans l'Annexe 3.

C-1) Tests biologiques non spécifiques

L'hémolyse provoquée par l'éclatement des hématies contaminées va bien entendu engendrer une anémie hémolytique visible au bilan biologique. Cela va se traduire par une baisse de l'hémoglobine (normochrome ou hypochrome), de l'hématocrite et de la numération des hématies à la NFS. Ces valeurs peuvent néanmoins être faussées par une éventuelle hémococoncentration. Regarder les taux de réticulocytes peut aussi s'avérer intéressant pour détecter une anémie en cours de régénération. On constate aussi une thrombopénie (parfois majeure) ainsi qu'une perturbation de la formule leucocytaire avec une hyperleucocytose (suivie d'une leuco-neutropénie en cas d'accès répétés).

D'autres perturbations sont parfois visibles, et très souvent cités comme des critères de gravité (hypoglycémie, acidose métabolique, hyperbilirubinémie, modification de la répartition des marqueurs hépatiques et des paramètres rénaux etc.). Elles ont donc un intérêt fort pour le pronostic, à l'inverse des critères précédents qui vont orienter le diagnostic (Annexe 1).

C-2) Tests biologiques spécifiques

Toute personne supposée atteinte du Paludisme doit subir un examen microscopique ou un test de diagnostic rapide avant d'être traité, ces analyses permettant de confirmer le diagnostic avec un tableau clinique, nous l'avons dit, peu spécifique de l'infection.

- L'examen microscopique optique fait partie des moyens de diagnostic direct et se base sur l'analyse de la goutte épaisse ou du frottis mince. L'objectif est de détecter la présence visuelle de plasmodies, ceci permettant non seulement de confirmer le diagnostic, mais aussi d'apprécier sa densité sanguine (autant d'éléments qui rentreront en compte lors de la mise en place du traitement médicamenteux). On peut aussi, via ces méthodes, suivre l'évolution parasitaire avec en Image 2, par exemple, l'observation des *Plasmodium* au stade anneau dans les érythrocytes sur un frottis sanguin mince. Un frottis mince consiste à étaler une goutte de sang sur une lame et d'y injecter un colorant (May Grûnwald Giemsa) pour ensuite l'analyser au microscope (la détection se fait à partir de 200 parasites par μl de sang). Le sang prélevé est veineux ou capillaire et recueilli sur EDTA.

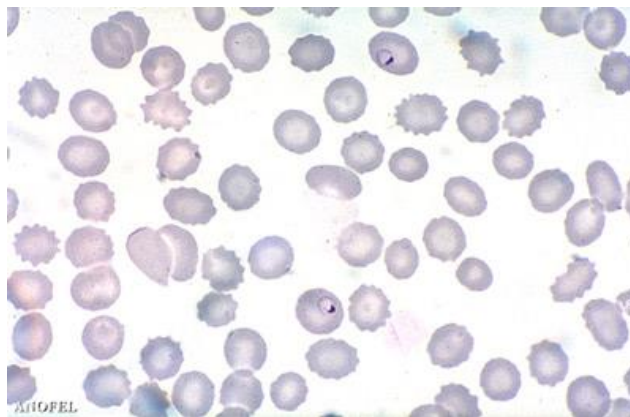


Image 2 : Examen optique microscopique de frottis mince d'un sang contaminé par le parasite du Paludisme [93].

L'examen de la goutte épaisse est celui de référence pour l'OMS et bien que celui-ci soit plus précis et plus rapide que le frottis mince (10 à 20 parasites par μl de sang), il ne permet pas l'identification de l'espèce de *Plasmodium* responsable de l'infection. L'analyse consiste en l'examen microscopique d'une goutte de sang (ponction digitale sur EDTA ou citrate) et qui a séché directement sur une lame sans étalement, l'épaisseur étant un critère de qualité dans la recherche. Il est aussi possible de placer une coloration fluorescente via l'acridine orange sur les acides nucléiques du parasite (entre autre) pour permettre une précision accrue, on parle

alors de méthode d'enrichissement du test QBC (qui est le test de la goutte épaisse). Le marquage des cellules par fluorescence est aussi possible, il faudra ensuite les trier par taille et par fluorescence pour estimer la parasitémie.

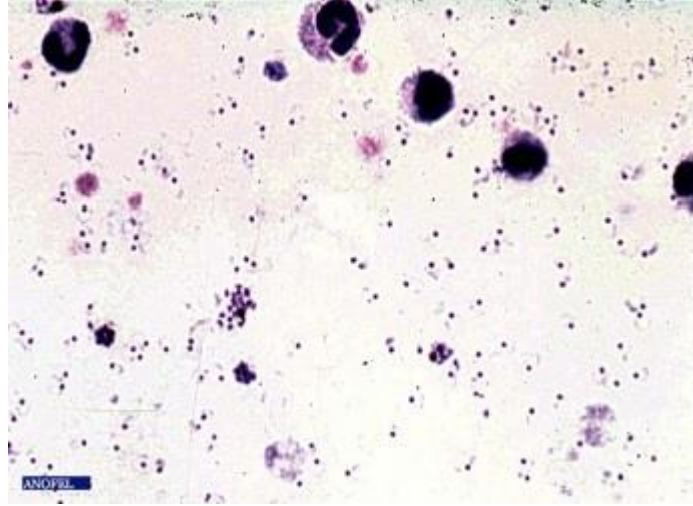


Image 3 : Test de la goutte épaisse (trophozoïtes et rosaces de *P.falciparum*, MGG) [84].

Il va sans dire que ces examens nécessitent de la rigueur et de la précision, leur qualité étant conditionnée en grande partie par le temps qui leur sera accordé par l'analyste. Or, plus on diagnostique vite, meilleur est le pronostic pour le malade. Il faut donc trouver un juste équilibre entre la rapidité de la prise en charge et l'exactitude des résultats. Ils demeurent, malgré les aléatoires qui les entourent (matériel, personnel, compétences...), des tests très efficaces.

- Les TDR sont particulièrement utiles dans les zones où l'accès aux techniques microscopiques est réduit. Il en existe plusieurs, et ils sont classés en fonction du nombre d'antigènes détectés. Leur exécution est rapide (comme l'indique leur nom) et leur interprétation facile (idéal pour un dépistage de masse). Il s'agit d'une immunochromatographie par anticorps monoclonaux sur du sang via une bandelette réactive (faite de nitrocellulose). Les protéines plasmodiales recherchées sont nombreuses, la plus fréquente reste la PfHRP2 (histidine-riche protéine 2) chez *P.falciparum* (l'Image 3 confirme bien que la quasi-totalité des tests la détecte).

	Palutop®	Kat-Quick Malaria®	ICT Malaria®	OptiMAL Pf®1	Now ICT Malaria®	OptiMAL Pf®2	Toda Malaria diag4+®	Palutop+4®	Core Malaria®
Distributeur	All Diag	AES	Fumouze	Diagnostic laboratories	Fumouze	Diagnostic laboratories	Toda Pharma	All Diag	Core diagnostics
Nombre d'antigènes détectés	1	1	1	1	4	4	4	4	4
Antigène (s) détecté (s)	HRP2 (1)	HRP2	HRP2	Pf-LDH (2)	HRP2 et Pan-LDH (3)	Pf-LDH et Pan-LDH	HRP2 et Pan-LDH	HRP2, Pv-LDH (4) et Pan-LDH	HRP2, Pv-LDH et Pan-LDH
Espèce (s) détectée (s)	<i>Pl. falciparum</i>	<i>Pl. falciparum</i>	<i>Pl. falciparum</i>	<i>Pl. falciparum</i>	<i>Pl. falciparum</i> + autres espèces (5)	<i>Pl. falciparum</i> + autres espèces (5)	<i>Pl. falciparum</i> + autres espèces (5)	<i>Pl. falciparum</i> + autres espèces (6)	<i>Pl. falciparum</i> + autres espèces (6)

Tableau 6 : Neuf TDR sur le marché avec leurs caractéristiques spécifiques [92]

Malgré leur efficacité, des faux positifs et de faux négatifs existent, et certaines souches ne sécrètent parfois pas la protéine paludique recherchée par le test. Ainsi, il conviendra de bien analyser le terrain avant de choisir un test (dont on voit quelques exemples dans le Tableau 6). La qualité entre les TDR n'est, selon l'OMS, malheureusement pas toujours comparable.

- Il est aussi possible de détecter le parasite via la mise en évidence de ses antigènes par la méthode ELISA ainsi que les techniques de biologie moléculaire soit par amplification génique avec la PCR (particulièrement sensible, même sur des parasitemies faibles) ou par utilisation d'une sonde moléculaire.

Toutes les méthodes décrites ici sont des moyens de détection directs de la parasitose, sauf le test ELISA qui peut être décliné de manière indirecte. En effet, son utilisation pour la détection d'anticorps synthétisés se fait en réponse à la présence d'antigènes paludiques chez le malade. Cette méthode a pour intérêt d'étudier l'évolution d'une fièvre inexplicée (hors zone d'endémie), le dépistage lors des dons de sang et dans les études épidémiologiques [92]. Comme indiqué dans l'Annexe 1, le diagnostic de la maladie repose sur la corrélation entre les signes cliniques et les analyses biologiques, et tout particulièrement deux méthodes d'analyses clés : l'examen microscopique et les TDR. En pratique, le frottis sanguin oriente le résultat, celui-ci est confirmé par un test de la goutte épaisse, un TDR et/ou un deuxième frottis.

D) Arsenal médicamenteux

D-1) Les sesquiterpènes

Cette classe de traitement antipaludéen regroupe l'Artémisinine ainsi que ses dérivés, l'Artésunate et l'Artéméther. Depuis 2006, l'OMS préconise l'arrêt de la production et de la commercialisation des monothérapies par voie orale à base d'Artémisinine dans les pays d'endémie palustre au vu de leur contribution à l'émergence des résistances vis-à-vis de cette molécule. De ce fait, nous n'utilisons plus aujourd'hui que ces dérivés en association avec d'autres molécules.

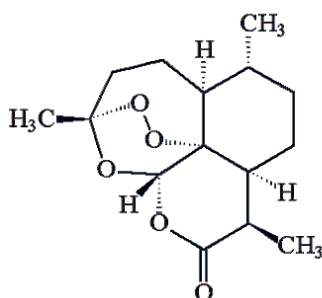


Schéma 19 : Structure moléculaire de l'Artémisinine [94].

Extrait des feuilles d'*Artemisia Annuua* (ou « Qinghaosu »), cette molécule possède un pont peroxyde dans sa structure de sesquiterpène lactone. Ce pont lui permet de réagir avec l'hème libéré lors de la digestion de l'hémoglobine par le parasite. Le métabolite secondaire de cette famille de molécules, à l'exception de l'Artémisinine, est la Dihydroartémisinine (transformé par le CYP 450). Ce principe actif possède un pont époxyde réagissant avec le fer (II) de l'hème libéré pour être réduit et ainsi former un radical alcoxyle. Une fragmentation de ce radical conduit à la formation d'un second radical de type alkyle capable d'alkyler l'hème de l'érythrocyte infecté. Ces substances sont gamétocides (sur les gamétocytes jeunes, et donc efficaces sur la transmission), mais aussi sur les schizontes (schizonticides). Les dérivés sont actifs rapidement et, contrairement à l'Artémisinine, restent globalement efficaces sur les parasites poly-résistants. Particulièrement performant sur *P.falciparum*, les dérivés sont très utilisés en Afrique et en Asie. A l'heure actuelle, il ne reste que la spécialité Riamet® en France ou Coartem® qui est composée d'Artéméther (20mg) et de Luméfantrine (120mg) en association synergique pour éviter de potentiels parasites survivants résiduels dans les érythrocytes (engendrant des rechutes fréquentes lors des monothérapies à l'Artéméther). C'est une spécialité réservée aux hôpitaux.

D-2) Les antimétabolites

Plusieurs substances sont regroupées dans cette catégorie d'antipaludéens et sont divisées en deux sous-catégories :

- Les antifoliques : il s'agit de la Sulfadoxine et de la Daspone (sulfamides).

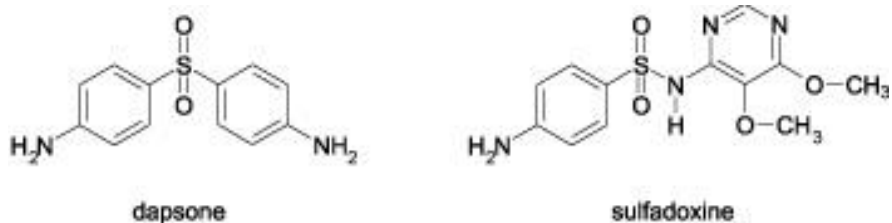


Schéma 20 : Structure moléculaire des deux antifoliques [95].

L'efficacité thérapeutique des antifoliques provient du blocage de la synthèse d'acide folique via l'inhibition de l'enzyme Dihydroptéroate réductase. En effet, cette enzyme catalyse la réaction de conversion du PABA (acide para-amino benzoïque) en acide folique, substance nécessaire aux opérations de synthèse, de réparation et de méthylation de l'ADN parasitaire.

- Les antifoliniques : on retrouve dans cette sous-catégorie le Proguanil et le Chlorproguanil (biguanides), la Pyriméthamine (diaminopyridines).

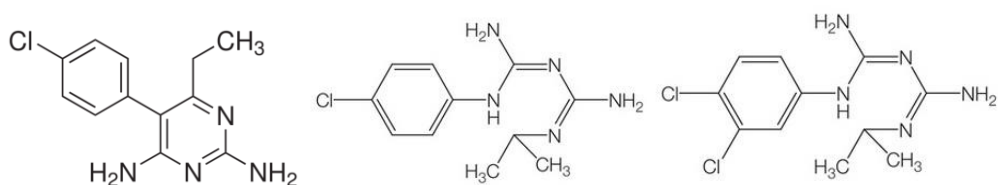


Schéma 21 : Structure molécules des trois antifoliniques, de gauche à droite : Pyriméthamine, Proguanil et Chlorproguanil [96] [97].

Associer les antifoliques aux antifoliniques peut se révéler très efficace et permet d'obtenir des associations synergiques (bien que d'action lente). Ces derniers inhibent préférentiellement la Dihydrofolate réductase dont l'activité enzymatique consiste à participer à la synthèse des nucléotides. Les spécialités existantes sont douées d'une toxicité hématologique non négligeable qu'il s'avérera important de surveiller pendant le traitement. Il

conviendra aussi d'être attentif à tout signe dermatologique évoquant un syndrome de Lyell (déjà décrit plusieurs fois lors de l'utilisation de ces molécules). Plusieurs spécialités existent : Paludrine® (Proguanil, 100mg par comprimés), Savarine® (idem avec 200mg de chloroquine en plus), Malarone® (avec respectivement 250mg d'Atovaquone et 100mg de Proguanil dans les comprimés pour adulte, et 62.5mg avec 25mg dans la formulation pour enfant) et Fansidar® (Sulfadoxine à 500mg par comprimé avec la Pyriméthamine à 25mg).

D-3) Analogue de l'ubiquinone

L'ubiquinone, ou cytochrome Q, est le résultat des opérations concomitantes des complexes I et II dans la chaîne respiratoire mitochondriale parasitaire, et permet le bon déroulement du transfert des électrons tout au long de cette chaîne. En bloquant cette étape, l'analogue de l'ubiquinone qu'est l'Atovaquone va empêcher la synthèse d'ATP chez le parasite et ainsi le priver de sa source d'énergie.

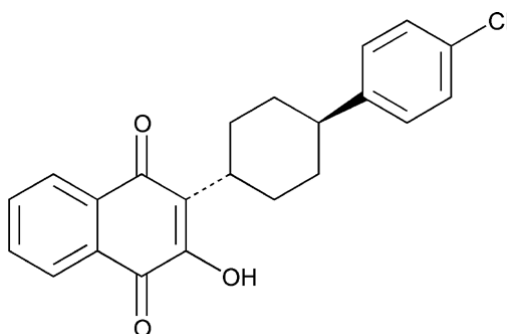


Schéma 22 : Structure moléculaire de l'Atovaquone [98].

L'Atovaquone est une naphthoquinone lipophile présente sur le marché sous le nom de Wellvone® (750mg pour 5ml de suspension). Sa faible absorption digestive peut être améliorée par une prise alimentaire riche en graisse, et son activité ne se limite pas à *Plasmodium* spp, mais aussi à d'autres protozoaires dont *Toxoplasma gondii* (toxoplasmose) et *Pneumocystis jirovecii* (pneumocytose). Cette molécule est un schizonticide intra-érythrocytaire mais inhibe également le développement pré-érythrocytaire dans le foie et celui des oocystes chez l'Anophèle. On retrouve souvent associé à ce principe actif le Proguanil, efficace aussi bien en traitement qu'en chimio-prophylaxie dans les zones Chloroquinorésistantes ou non (commercialisé seul sous le nom de Wellvone® en suspension buvable à 750mg/5ml mais avec seulement l'AMM pour le traitement de la pneumocytose, et sous le nom de Malarone® en association avec le Proguanil). De la même manière que le Riamet®,

l'intérêt de l'association réside ici dans la prévention des rechutes fréquemment vu en monothérapie. Le traitement peut être mal vécu voire arrêté dans 7 à 9% des cas à cause de troubles cutanés ainsi que digestifs.

D-4) Les amino-alcools

Les amino-alcools regroupent de nombreuses grandes molécules historiques de la lutte contre le Paludisme et sont encore beaucoup utilisées : la Quinine, la Méfloquine, l'Halofantrine et la Luméfantrine.

La Quinine

Alcaloïde extrait de l'écorce de Quinquina (*Cinchona Officinalis*) aux propriétés antipaludiques schizonticides dont les premières utilisations remontent au XVII^{ème} siècle. L'activité se limite aux formes intra-érythrocytaires du parasite (toutes espèces confondues) et son mode d'action provient de son accumulation dans la vacuole digestive parasitaire, ce qui va provoquer la perturbation du bon déroulement de la biosynthèse de l'ADN ainsi que de l'ARN, et diminuerait aussi la fixation de l'oxygène par le *Plasmodium*.

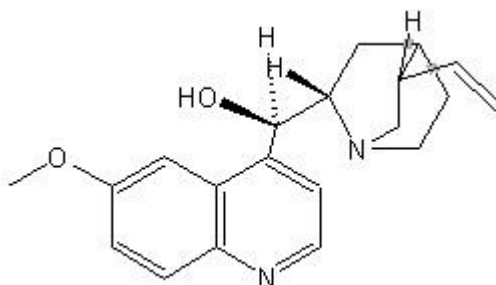


Schéma 23 : Structure moléculaire de la quinine [99].

On trouve sur le marché des formes orales : Surquina®, Quinine Lafran® et Quinimax® (en mélange avec la Quinidine, la Cinchonine et la Cinchonidine), et des formes injectables réservées aux hôpitaux (Quinine Renaudin®, Surquina® et Quinimax®). Aussi connue pour ses activités antipyrétiques et myorelaxantes, cette molécule est aujourd'hui uniquement utilisée dans le traitement curatif de l'accès palustre en présence d'une résistance aux amino-4-quinoléines (voir plus loin). La toxicité relative de cette substance peut engendrer un cinchonisme, voire une cécité définitive, une amaurose, une surdité, des troubles cardiaques et des convulsions en cas de surdosage massif.

La Méfloquine

Il s'agit d'un dérivé de la Quinine élaboré en 1970, d'activité schizonticide intra-érythrocytaire majeure. La spécialité sur le marché se nomme Lariam® (250mg par comprimé) et est efficace sur les quatre souches de *Plasmodium*.

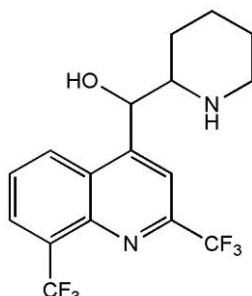


Schéma 24 : Structure chimique quinoléique de la Méfloquine [100].

Son mode d'action est identique à celui de la Quinine, et est utilisable aussi bien en prophylaxie qu'en traitement curatif (et ceci en fonction du poids). L'utilisation de cette molécule pour une chimio prophylaxie doit rester réservée aux séjours dans les pays du groupe III. La Méfloquine peut engendrer des effets indésirables de type neurologiques ainsi qu'un abaissement du seuil de convulsion.

L'Halofantrine

Antipaludique de synthèse, son action est schizonticide au niveau intra-érythrocytaire uniquement. Cette molécule n'est utilisée qu'en traitement curatif (dans les pays de Chloroquino-résistance), et ceci quelle que soit l'espèce de *Plasmodium* concernée. Elle existe sous le nom de spécialité Halfan® (250mg en comprimés ou 20mg par ml en suspension buvable).

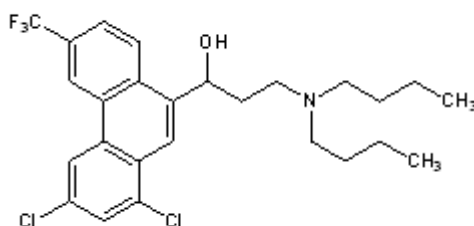


Schéma 25 : Structure chimique à noyau phénantrénique de l'Halofantrine [101].

La cardio-toxicité importante de cette molécule rend son usage délicat et uniquement guidé par une extrême prudence (risque d'allongement de l'espace QT, de torsades de pointe). De ce fait, la réalisation d'un électrocardiogramme est impérative avant tout traitement. La prise d'Halfan® doit se faire en dehors des repas car son absorption est quintuplée par les aliments riches en lipides (risque de surdosage). Le mécanisme d'action de l'Halofantrine n'est pas encore élucidé.

La Luméfantrine

Son utilisation se fait systématiquement en association fixe avec l'Artéméther (Riamet®), la monothérapie n'étant approuvée nulle part dans le monde. Ce principe actif est un schizonticide plus rapide que la Méfloquine ou la Quinine, et agit sur *P.falciparum* et intervient sur la polymérisation de l'hémoglobine en hémozoïne chez le parasite.

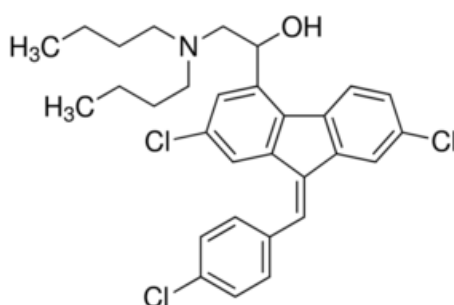


Schéma 26 : Structure chimique de la Luméfantrine [102].

L'Artéméther est d'action rapide par rapport à la Luméfantrine (pic de concentration 2h après la prise contre 6 à 8h) et est augmentée avec une prise alimentaire concomitante. Il existe un risque potentiel d'augmentation de l'espace QT quant à son utilisation, mais elle reste cependant relativement bien tolérée. Il existe cependant de nombreuses interactions médicamenteuses qu'il conviendra de vérifier avant toute administration (médicaments torsadogènes, métabolisés par le CYP 2D6 etc.).

D-5) Les amino-8-quinoléines

Cette classe thérapeutique regroupe trois molécules : la Primaquine, la Tafénoquine et la Pamaquine. Elles ont pour particularité d'être à la fois gamétocides mais aussi schizonticides

(intra-hépatiques) sur les quatre formes de *Plasmodium*. De plus, elles sont hypnozoïtociques et permettent donc d'éviter les phénomènes de rechutes tardives avec *P.vivax* et *P.ovale*.

La Primaquine a été introduite dans les années 1950 en France, cette molécule n'est plus disponible aujourd'hui. Aussi utilisé dans le traitement de la pneumocytose, ce principe actif très efficace provoque des accidents hémolytiques en cas de déficit en glucose-6-phosphate déshydrogénase (et aggrave donc l'anémie déjà présente avec la maladie).

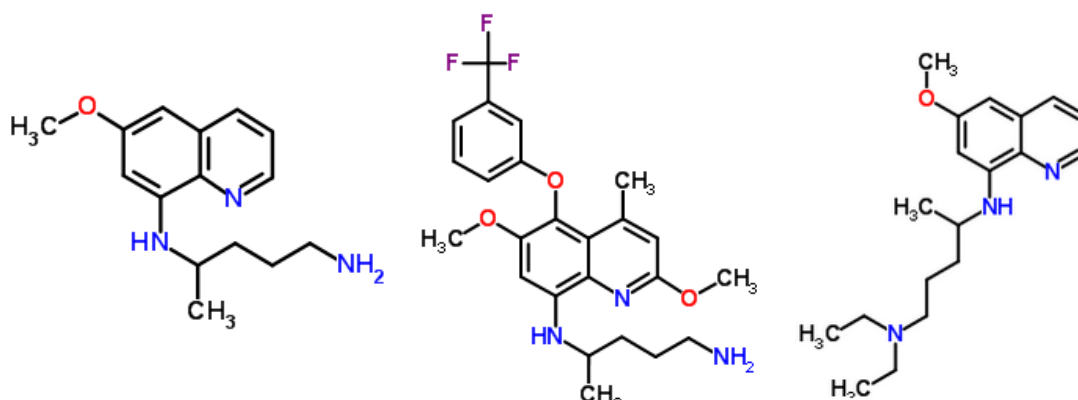


Schéma 27 : Structure moléculaire de la Primaquine, de la Tafénoquine et de la Pamaquine [103].

Cette substance peut être utilisée en dernier lieu en chimio prophylaxie, et sert usuellement en prise unique pour éviter la transmission du parasite en détruisant les gamétocytes de *P.falciparum* les plus mûrs. La Primaquine est aussi utilisée pour le traitement radical de *P.vivax* et *P.ovale* en association avec la Chloroquine ou la Quinine (contre indiqué chez la femme enceinte et l'enfant de moins de 4 ans).

Dérivé synthétique de la Primaquine, la Tafénoquine possède les mêmes contre-indications que cette dernière mais sa demi vie est bien plus élevée (14 jours au lieu de 6 heures), et permet donc de diminuer le nombre de prise. Bien tolérée chez les patients, la molécule permet un traitement efficace du Paludisme à *P.vivax* et *P.ovale*.

La Pamaquine, ou Plasmoquine, est l'un des premiers antipaludéens de synthèse (il date de 1926). Les recherches basées sur cette substance ont permis de trouver son analogue structural : la Primaquine. Tout comme celle-ci, la Pamaquine peut engendrer une anémie hémolytique en cas de déficience en G6PD, mais elle est cependant globalement moins

efficace et plus toxique que son analogue, c'est pour ces raisons qu'elle n'est aujourd'hui plus utilisée.

D-6) Les amino-4-quinoléines

Chloroquine

La Chloroquine est le traitement qui a été, avec la Quinine, le plus utilisé aussi bien au niveau prophylactique que curatif. Elle a été découverte suite à la pénurie de Quinine pendant la seconde guerre mondiale (l'île de Java était le principal producteur). De longues recherches ont permis de trouver d'abord la Résochine puis la Sontochine (moins toxique) et enfin la Chloroquine. Commercialisée en France sous le nom de Nivaquine® pour la première fois en 1949, cette spécialité perdure sur le marché depuis (comprimés dosés à 100mg et sirop à 5mg/ml) et possède une action schizonticide rapide et prolongée. Son utilisation se limite géographiquement au fur et à mesure du fait des nombreuses résistances, mais reste efficace en utilisation curative dans les zones de non Chloroquino-résistance. Une association au Proguanil existe aussi, la Savarine® (voir plus haut).

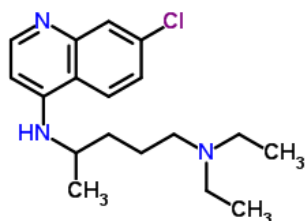


Schéma 28 : Structure chimique de la Chloroquine [103].

Cette substance est aussi utilisée en rhumatologie, et son absorption est favorisée par une prise alimentaire (et diminue les effets indésirables digestifs). Bien tolérée à doses curatives, ce principe actif reste néanmoins toxique en cas de surdosage (plus de 25mg par kg *per os*) avec apparition de signes digestifs et visuels forts (pouvant entraîner une rétinopathie non régressive à l'arrêt) ainsi que des troubles cardio respiratoires pouvant nécessiter une réanimation en urgence. Un contrôle ophtalmologique annuel sera indispensable en cas d'utilisation prophylactique prolongée. Il existe des formes injectables dans les pays anglo-saxons. Bien qu'encore mal compris, son mécanisme d'action résiderait dans la formation

d'un complexe toxique pour le parasite à la suite d'une liaison avec la ferriprotoporphyrine IX, mais est inactive sur les formes intrahépatiques de *Plasmodium*.

Evaluer la résistance à la Chloroquine en fonction de la parasitémie nous a aujourd'hui permis de définir trois stades de résistances à la chloroquine :

- stade RI : disparition des parasites au 7^{ème} jour, suivie d'une réapparition.
- stade RII : diminution de la parasitémie.
- stade RIII : pas de diminution de la parasitémie.

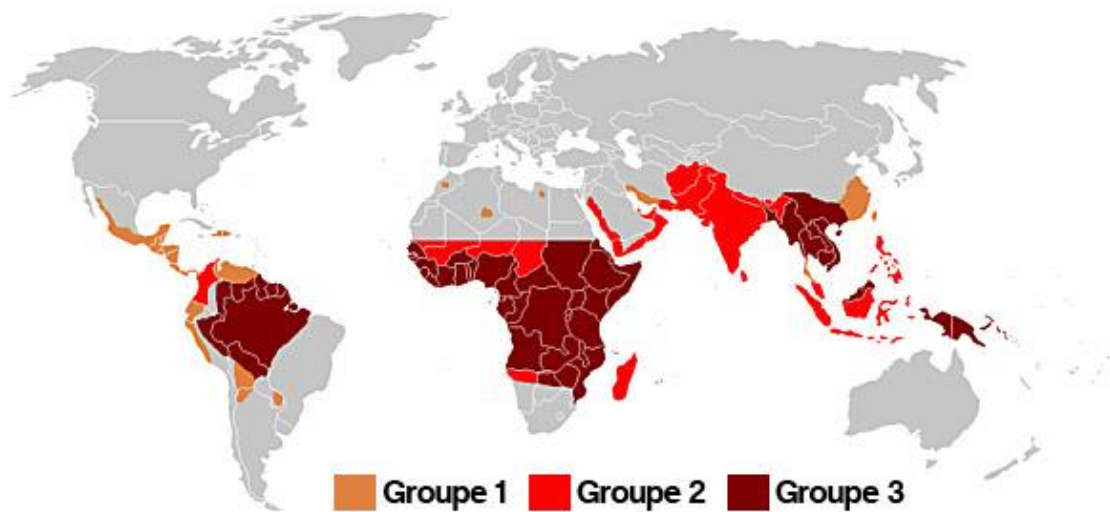


Schéma 29 : Répartition des pays en fonction de leur degré de sensibilité aux traitements antipaludéens pour *P.falciparum* [115].

De ce fait, les pays touchés par le Paludisme sont regroupés en trois groupes vis-à-vis de la Chloroquine visible sur le Schéma 29 : pays du groupe I (aucune résistance), pays du groupe II (zone de Chloroquino-résistance), pays du groupe III (prévalence élevée et multi résistance).

Amodiaquine

Apparenté à la Chloroquine mais avec une demi vie plus longue, cette molécule bien tolérée a cependant une efficacité plus grande vis-à-vis de *P.falciparum* (et ceci même dans les zones de résistance à la Chloroquine). Son mécanisme d'action réside dans le blocage de l'histamine N-méthyltransférase parasitaire qui permet la polymérisation de l'hémoglobine en hémozoïne par le parasite, son action est donc schizonticide par action intra-érythrocytaire.

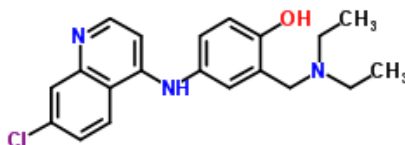


Schéma 30 : Structure chimique de l'Amodiaquine [103].

Activée par le métabolisme du cytochrome P450 2C9 au niveau hépatique, cette molécule peut se révéler, chez les détenteurs d'allèles différents de l'allèle naturel, plus toxique et thérapeutiquement peu efficace. Chez ces sujets, la métabolisation est défectueuse, et le risque d'hépatite et de toxicité hématologique (agranulocytose, leucopénies) est plus grand. Le risque d'effets indésirables étant augmenté lors d'un traitement au long court, son utilisation en traitement prophylactique est peu recommandée. Très largement utilisée en Afrique, et notamment en association (Arsucam® : Artésunate/Amodiaquine), cette substance n'est pas commercialisée en France.

Pyronaridine

Synthétisée pour la première fois en 1970, elle fut d'abord utilisée en Chine et en Indonésie. Cette molécule est particulièrement effective sur les formes de *P.falciparum* multi résistantes et se présente sous forme injectable ou orale. Les effets indésirables les plus relatés sont des troubles digestifs, vertiges et céphalées, des troubles de l'électrocardiogramme transitoires.



Schéma 31 : Structure chimique de la Pyronaridine [103].

La mise en place d'association avec des dérivés de l'Artémisinine coïncide avec l'apparition des premières résistances (dont le Pyramax® ; Pyronaridine/Artésunate). La Pyronaridine n'est cependant pas commercialisée en France.

Pipéraquine

Cette molécule n'est utilisée qu'en association avec l'Artémimol (ou dihydroartémisinine, soit DHA) sous le nom de spécialité d'Eurartésim® et d'Artekin®. Cette association permet l'interaction avec la liaison endopéroxyde du DHA qui permet la formation de radicaux libres engendrant une altération des membranes du parasite au niveau intra-érythrocytaire. Le mécanisme d'action de la Pipéraquine n'est, lui, pas encore élucidé, mais semble être identique à celui de la Chloroquine.

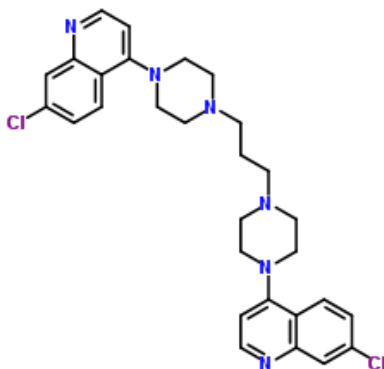


Schéma 32 : Structure chimique de la Pipéraquine [103].

Sa bonne activité parasitaire, notamment sur les souches de *Plasmodium* résistantes à la Chloroquine, serait liée en partie à sa structure bisquinoléine. Longtemps utilisée en traitement prophylactique et curatif, son utilisation en monothérapie n'est aujourd'hui plus d'actualité (à cause, entre autres, de l'émergence de résistances et des nouveaux dérivés de l'Artémisinine).

D-7) Les antibiotiques

Quatre antibiotiques sont actuellement utilisés pour traiter ou prévenir du Paludisme : l'Azithromycine (macrolide), la Clindamycine (lincosamide), la Doxycycline et la Tétracycline (cyclines).

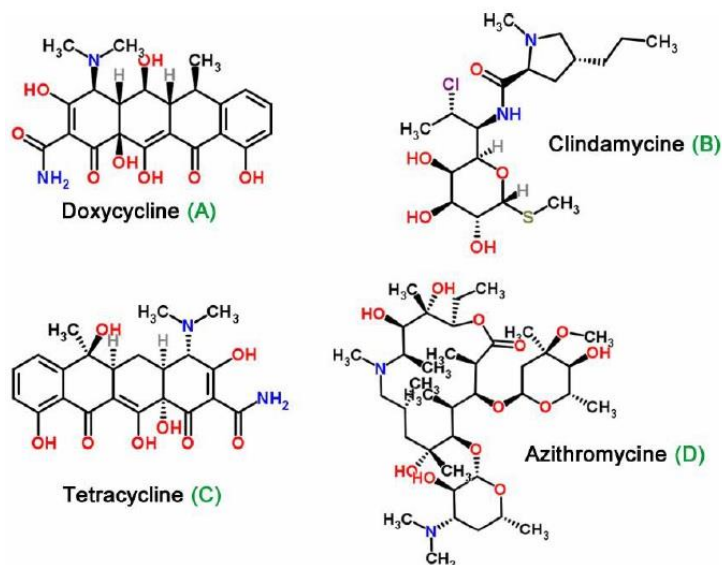


Schéma 33 : Structure moléculaires des différents antibiotiques utilisés contre la malaria [103].

La Doxycycline possède une AMM en France dans le traitement préventif et curatif du Paludisme (en association avec la Quinine), dont la spécialité Doxypalu® est particulièrement utilisée pour la chimio prophylaxie de la maladie dans les zones de catégorie III. Elle est aujourd'hui bien plus utilisée que la Tétracycline a pu l'être, car elle possède une demi vie plus longue (l'observance est donc bien facilitée). Les cyclines ont une activité intra-érythrocytaire et hépatique, malgré tout il conviendra de tenir compte de ses effets indésirables, notamment la photosensibilité (qui peut se révéler particulièrement gênante en voyage) et les troubles digestifs (limités par une prise alimentaire concomitante).

La Clindamycine (Dalacine®) possède désormais une AMM pour le traitement du Paludisme en association à la Quinine, elle a une activité érythrocytaire mais elle engendre aussi des troubles digestifs (voire une colite pseudomembraneuse) ainsi que de rares signes hépatiques et hématologiques. L'Azithromycine®, en revanche, ne détient pas d'AMM mais pourrait présenter certaines caractéristiques de sécurité vis-à-vis d'autres traitements, bien que la molécule ne soit pas d'une efficacité optimale. Des recherches sont encore nécessaires pour connaître la place possible de cette substance parmi les antipaludiques déjà existant.

E) Stratégie thérapeutique

Comme nous avons pu voir précédemment, il existe de nombreuses substances actives permettant de traiter la maladie ou de la prévenir, ou même parfois les deux pour un même principe actif. La prise en charge de la maladie doit être la plus précise possible, que ce soit dans la détermination de la gravité, le choix du médicament utilisé ou l'état du patient. Toutes les données de traitement qui suivent concernent *P.falciparum*, sauf précisions ou mentions contraires.

E-1) Traitement prophylactique

De nos jours, la chimioprophylaxie n'est plus recommandée qu'aux personnes séjournant en zone d'endémie palustre ainsi que pour les policiers, militaires et les personnes travaillant dans une zone de forte endémie. La prophylaxie à long terme n'est plus recommandée aux enfants en bas âges ou aux femmes enceintes (l'utilisation de traitement préventif intermittent, ou TPI, étant préférable). Il n'y a pas de schéma parfait protégeant totalement du Paludisme, il est donc indispensable qu'une bonne observance soit mise en place. Les schémas vont varier en fonction des zones d'endémie concernées, et de la présence ou non de résistance à la Chloroquine. La molécule conseillée pourra être la Chloroquine seule ou associée au Proguanil, la Méfloquine ou la Doxycycline.

- Concernant la Chloroquine seule, elle ne pourra pas être utilisée dans les zones où il existe un doute sur la sensibilité des *P.falciparum* et *P.vivax* vis-à-vis de cette molécule. La prophylaxie à base de Nivaquine® consiste en une prise quotidienne en post prandiale de 1,5 mg/kg/j pour un poids inférieur à 50kg, et de 100mg/jour pour un poids au-dessus de 50kg, à commencer le jour du départ et à terminer quatre semaines après le retour.
- Dans les zones où la résistance commence à apparaître, on peut proposer l'association de Chloroquine au Proguanil, la Savarine®, à raison d'une prise quotidienne post prandiale à dose calculée en fonction du poids (inférieur ou supérieur à 50kg). On peut aussi utiliser l'association Atovaquone/Proguanil à la place, avec un comprimé adulte par jour (pour un poids supérieur à 40kg ou un âge supérieur à 12ans), ou bien un ou plusieurs comprimés enfant par jour en fonction du poids (≥ 11 kg 1 comprimé, ≥ 21 kg deux comprimés et ≥ 31 kg trois comprimés). La prise se fera toujours avec des aliments et le protocole doit démarrer la veille du départ et être poursuivi 7 jours après le retour.

- Dans les zones à forte endémie paludique ainsi que dans les zones à faible/moyenne endémies mais conjuguées à une forte pharmacorésistance il va être obligatoire d'utiliser la Malarone® selon le même protocole que celui décrit précédemment, ou bien la Doxycycline ou la Mefloquine. Le Lariam® devra être pris à une dose journalière unique, et ceci en fonction du poids : au-delà de 45kg un comprimé de 250mg, entre 45kg et 31kg trois quart de comprimés, entre 30kg et 20kg un demi comprimé et enfin entre 19kg et 15kg un quart de comprimé (à commencer 10 jours avant le départ pour apprécier la tolérance du patient à la substance et à poursuivre pendant 3 semaines après le retour). Le protocole du Doxypalu® est d'une prise journalière de 100mg pour un adulte et les enfants de plus de 8 ans faisant plus de 40kg (pour ceux en dessous de 40kg, une prise de 50mg/j suffit), à commencer la veille du départ et à prolonger 4 semaines après le retour.

Il conviendra évidemment d'analyser les contre-indications, précautions d'emploi et effets indésirables spécifiques de chaque molécule (les réactions indésirables étant fréquentes mais peu nuisibles). En fonction du niveau d'endémie de la zone ainsi que du niveau de pharmacorésistance qui y réside, ces schémas pourront être modifiés. En l'absence de risque palustre, il convient de ne rien prescrire [105].

E-2) Traitement curatif

Le traitement, en France, va dépendre de l'état évolutif du Paludisme contracté ainsi que de l'état immunitaire du malade (simple, grave, femme enceinte, enfant etc.). Le traitement curatif doit être dans tous les cas mis en place le plus rapidement possible et doit être adapté aux risques de résistances. L'objectif va être d'éliminer de l'organisme du malade les parasites et de réduire le risque de transmission à autrui.

• Prise en charge du Paludisme simple

Les combinaisons sont plus efficaces que les monothérapies, surtout celle à base de dérivés de l'Artémisinine. En général le traitement préconisé de première intention est à base de l'association Artémether (20mg) / Luméfántrine (120mg), à raison de 2 prises par jours pendant 3 jours avec des doses calculées en fonction du poids (Tableau 7).

Poids en Kg	Age en année	Nombre de comprimés à administrer					
		J1		J2		J3	
		0h	8h	matin	soir	matin	Soir
5 - 14	Moins de 3 ans	1	1	1	1	1	1
15 - 24	3 - 9 ans	2	2	2	2	2	2
25 - 34	10 - 14 ans	3	3	3	3	3	3
Plus de 35	Plus de 15 ans	4	4	4	4	4	4

Tableau 7 : Dosage du Coartem®/Riamet® en comprimé en fonction du poids du malade [104].

La Primaquine peut aussi être recommandée en 1^{ère} intention, à raison de 0,75mg/kg en une prise pendant le repas pour éliminer les gamétocytes matures. Les autres associations à base de dérivés de l'Artémisinine sont aussi utiles dans les pays où elles sont commercialisées.

En deuxième intention, on fait intervenir l'association Atovaquone (250mg) / Proguanil (100mg) à raison de 4 comprimés par jours pendant trois jours chez le patient de plus de 40kg. Concernant le traitement de troisième intention, il fait appel à la Quinine pendant 7 jours (10mg/kg trois fois par jour toutes les huit heures en surveillant les concentrations sanguine) associée à la Doxycycline (3,5mg/kg/j pendant 7 jours) ou à la Clindamycine (10mg/kg deux fois par jours pendant 7 jours).

La prise en charge de la fièvre via des antipyrétiques sera indispensable. Les possibles convulsions seront traités par anticonvulsivants et les vomissements par des antiémétiques.

- Prise en charge du Paludisme grave

Les médicaments antipaludiques seront ici administrés par voie injectable (si possible) et sous étroite supervision. Le traitement se fera, idéalement, à l'hôpital. Il faudra aussi absolument contrôler la glycémie et la corriger, ainsi que traiter les convulsions. L'utilisation d'Artésunate à 2,4mg/kg en IV ou IM correspond à la recommandation officielle première de l'OMS, et ceci à H0, H+12 et H+24 à l'admission, puis une fois par jours jusqu'à reprise de la voie orale. En deuxième intention, l'Artéméter ou la Quinine sont des choix acceptables. Le premier médicament sera administré à raison de 3,2 mg/kg de poids corporel en intramusculaire dès l'admission, puis 1,6mg/kg par jour. Concernant la Quinine, 20mg/kg (sel) de dose charge pendant 4 heures de perfusion seront nécessaires à l'admission, puis

10mg/kg toutes les 8 heures qui suivent en perfusion lente (maximum 5mg de sel par kg et par heure). Ces protocoles seront suivis tant que le malade est inconscient ou incapable d'utiliser la voie orale

A la reprise de la voie orale, le traitement se fera pendant 7 jours avec le même protocole de traitement que nous avons vu précédemment (avec une dose de Primaquine obligatoirement prescrite).

- Cas particuliers

Chez la femme enceinte, il conviendra de choisir le traitement en fonction du trimestre de grossesse. En cas de Paludisme simple :

- 1^{er} trimestre : il y a trois possibilités, l'association Quinine (10mg/kg trois fois par jours) / Clindamycine (10mg/kg deux fois par jours) pendant 7 jours, l'association Atovaquone / Proguanil (traitement de 2^{ème} intention du Paludisme simple), ou en cas d'échec des traitements précédents l'utilisation du Riamet® bien que son innocuité ne soit pas établie (fonction de la balance bénéfices / risques).
- 2^{ème} et 3^{ème} trimestres : encore trois possibilités ici, l'utilisation de Riamet® (protocole sur la Figure 1), l'Artésunate en injectable (même protocole qu'avec un Paludisme grave) avec de la Clindamycine par voie orale (10mg/kg deux fois par jours) pendant 7 jours, et enfin l'utilisation de Quinine (10mg/kg trois fois par jours) avec de la Clindamycine (10mg/kg deux fois par jours) pendant 7 jours.

En cas de Paludisme grave, il conviendra d'administrer par voie parentérale une dose thérapeutique complète d'antipaludique (l'Artésunate étant à préférer à la Quinine quel que soit le stade de la grossesse). La priorité est de sauver la vie de la mère, malgré les risques que comportent les dérivés de l'Artéminisine sur la grossesse. En relai, il conviendra d'utiliser l'association Quinine / Clindamycine ou le Riamet® au 2^{ème} ou 3^{ème} trimestre de grossesse.

Chez l'enfant, en cas de Paludisme grave le traitement indiqué est le suivant : Artésunate injectable (même protocole qu'en cas de Paludisme grave en première intention) avec un relai par Riamet®, et en cas d'indisponibilité de l'Artésunate de la Quinine injectable (traitement de deuxième intention en cas de Paludisme grave). Si la voie injectable n'est pas disponible, il sera nécessaire de broyer les comprimés de Riamet® et l'administrer par sonde gastrique. Le

traitement de relai sera à base de Riamet® (Figure 1) ou de Quinine (10mg/kg trois fois par jours) avec de la Clindamycine (10mg/kg deux fois par jours) pendant 7 jours.

S'il y a des vomissements chez le patient, le recours aux voies IV ou IM peut s'avérer nécessaire. Le traitement du Paludisme à *P.vivax* et *P.ovale* sera identique bien qu'un traitement dit « radical » peut être intéressant (administration de Chloroquine pendant 3 jours à doses poids précises et de Primaquine à 0,25mg/kg pendant une fois par jour pendant 14 jours). En cas de Chloroquino résistance, il faudra remplacer la Chloroquine par le Riamet®/ Pour le Paludisme à *P.malariae*, le traitement de référence est à base de Chloroquine (dosage en fonction du poids sans dépasser 600mg/j) [104].

F) Perspectives d'avenir

F-1) La vaccination

L'élaboration et l'utilisation massive d'un vaccin antipaludique serait un pas de géant dans la lutte contre la maladie. Outre le fait qu'il sauverait de nombreuses vies, il diminuerait le coût des traitements et le risque d'émergence de résistances. La mise en place d'une stratégie de vaccination dans toutes les zones étant bien plus simple que la mise à disposition de médicaments efficaces, le vaccin serait un moyen de lutte bénéficiant, de plus, de l'aide de tous les pays impliqués dans la lutte anti malarique (distribution, coût etc.). Après plusieurs décennies d'échec dans l'élaboration d'un vaccin, ainsi qu'un nombre de victimes grandissant sans cesse, la recherche s'accélère ces dernières années et les perspectives d'avenir s'améliorent.

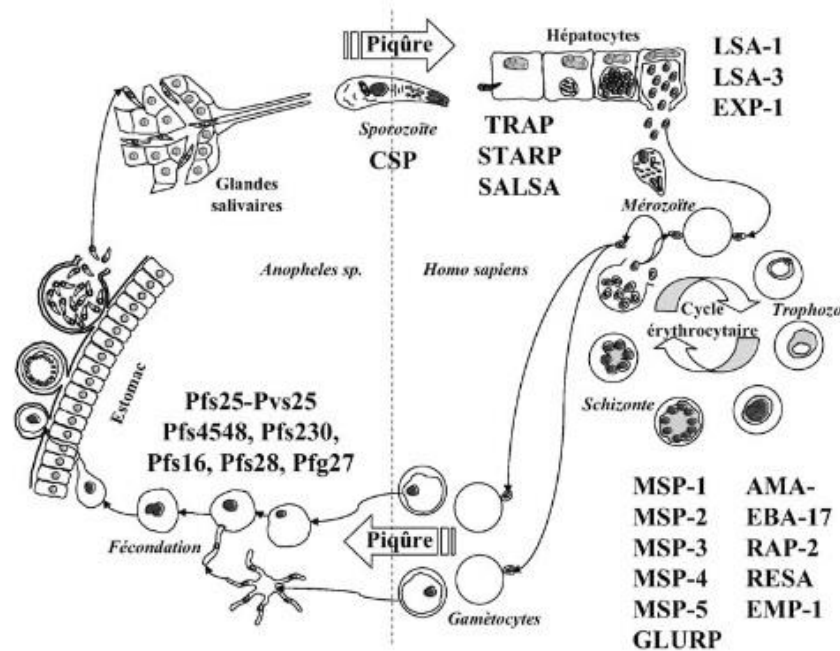


Schéma 34 : Cycle des *Plasmodium* humain et les cibles antigéniques potentielles [110].

L'existence d'une immunité naturelle pouvant s'acquérir avec le temps, tout comme une immunité humorale acquise existe et permet le blocage de la transmission de la maladie, ces signes tendent à faire croire aux chercheurs que la possibilité de réussir à trouver un vaccin existe. Plus la tâche est grande, plus sa réalisation est particulièrement délicate. Cela n'est pas moins vrai ici car les plasmodies présentent de nombreux antigènes (on en dénombre pas moins de 5300 chez *P.falciparum*) et leur présence varie selon le stade parasitaire, sans compter sur le polymorphisme intense dont elles bénéficient parfois entre deux clones parasites. Leur découverte a permis d'orienter les premières cibles d'un possible vaccin. Actuellement, plusieurs antigènes ont été identifiés (une vingtaine) comme étant des candidats potentiels pour la réalisation d'un vaccin (Schéma 34). Pour illustrer ce fait, le vaccin Mosquirix® (ou aussi appelé RTS, S en référence aux substances qu'il contient) vient d'obtenir l'avis favorable de l'Agence européenne des médicaments (EMA) pour son utilisation contre le Paludisme (et l'hépatite B). Ce dernier contient une protéine de surface du sporozoïte de *P.falciparum* appelée circumsporozoïte, soit CSP sur la Figure 1. Il peut désormais être réalisé chez les enfants âgés de 6 semaines à 17 mois vivant en zone d'endémie. Malgré son efficacité limitée (pas de protection complète, perte de la protection partielle avec le temps), les bénéfices l'emportent néanmoins sur les risques. Il est cependant nécessaire de conserver toutes les mesures de protection déjà mises en place. Il reste encore

du chemin pour que Mosquirix® jouisse d'une politique vaccinale préconisée par l'OMS, dont la publication de ses recommandations vis-à-vis de ce dernier va arriver sous peu. Néanmoins, la commercialisation en Afrique du vaccin pourra s'établir en 2017 selon l'Organisation Mondiale de la Santé. Il s'agit du vaccin le plus évolué pour le moment, d'autres suivent et nous assistons peut-être à la première génération de vaccin contre le Paludisme.

F-2) La recherche de nouveaux mécanismes d'actions

Une piste très récente fait l'objet d'une attention particulière, celle-ci est en lien avec la faculté des érythrocytes parasités à se déformer pour passer au travers d'une barrière de défense de l'organisme : la séquestration par la rate (Schéma 35).

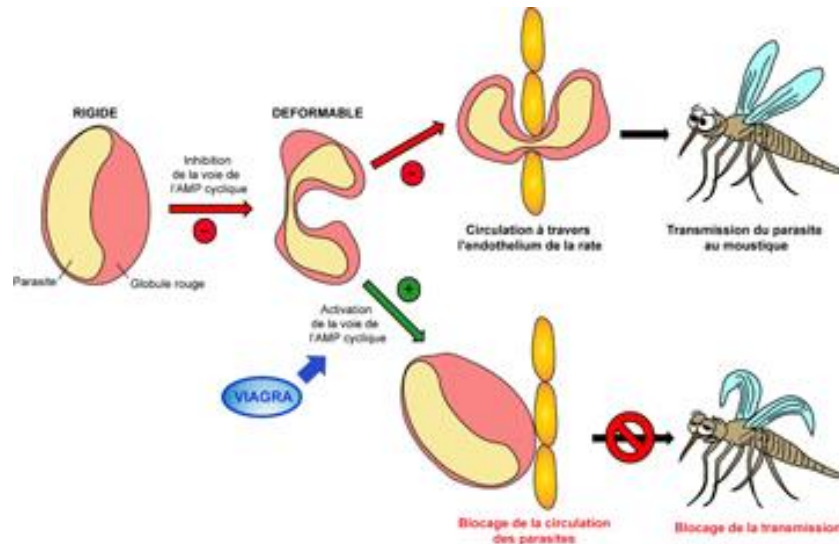


Schéma 35 : Mécanisme d'action potentiel du Sildénafil (Viagra®) [111].

En effet, l'inhibition de la formation d'AMPc abouti à l'altération du bon déroulement de cette voie de signalisation et engendre une déformabilité de l'érythrocyte parasité. Le Sildénafil permet la stimulation de cette voie et par conséquent la rigidification des globules rouges : elles ne s'échappent plus par l'endothélium de la rate et sont séquestrées par cette dernière pour être finalement éliminées. De ce fait, les inhibiteurs de la Phosphodiesterase 5 deviennent une piste potentiellement intéressante dans la lutte contre la transmission du Paludisme. La modulation de la rigidité de la paroi cellulaire semble donc être un nouvel axe de recherche.

Un principe actif découvert il y a peu de temps, dénommé DDD107498, montre de très bonnes propriétés pharmacocinétiques ainsi qu'une toxicité acceptable. Il s'agit d'un inhibiteur de l'eEF2 parasitaire (*translation elongation factor 2*) qui permet initialement la bonne synthèse protéique grâce à son rôle dans la bonne translocation des protéines en phase de synthèse dans le ribosome lors de leur formation. D'autres substances sont en cours d'essais cliniques en phase IIb, et ciblent différentes étapes du cycle de vie du parasite. La molécule DSM265 par exemple est, elle, un inhibiteur de l'enzyme biosynthétique dihydroorotate dehydrogenase qui permet la bonne synthèse des bases pyrimidines. L'Artefenomel (un antipaludéen de synthèse à structure peroxyde) et la Ferroquine (à action identique à la Chloroquine) sont aussi sur le banc d'essai et montrent de fort potentiel. Deux nouveaux composés ont récemment rejoint les essais IIa : KAE609 et KAF156 (représentant une nouvelle classe d'antipaludéens). Le premier peut réguler les concentrations de sodium chez le parasite par l'inhibition de l'ATPase4 (un transporteur de cation de type P), tandis que le second semble cibler l'amine cyclique d'un locus de résistance protéique (PfCarl) chez *P.falciparum* [112]. Il s'agit de quelques molécules parmi d'autres porteuses d'espoir dans le domaine de l'innovation thérapeutique antipaludique.

III] L'adaptation parasitaire

A) Introduction

Le parasite, c'est celui qui vit avec, il habite, il exploite. L'hôte, c'est l'habité, l'exploité. Cette association est l'archétype de l'interaction entre le nuisible et le bénéfique que nous avons décrite précédemment.

La co-évolution n'existera qu'au prix d'une interaction durable entre les deux antagonistes, c'est-à-dire une rencontre et une bonne compatibilité. Avec le temps, la résistance face à l'infestation permettra à l'hôte de favoriser l'information génétique pour éviter et tuer le parasite. Le maintien de ce dernier face à l'attaque de l'hôte se traduira avec le temps par une sélection de gènes pour la rencontre et la survie.

Qu'est-ce qu'une résistance ? L'OMS l'a décrite de cette manière : c'est la capacité d'un parasite à survivre et/ou à se multiplier en dépit de l'administration et de l'absorption d'un

médicament donné à doses égales ou supérieures à celles habituellement recommandées mais dans les limites de la tolérance du malade. Avec le temps, dans le cas du Paludisme, on a précisé que « la forme active du médicament devait atteindre le parasite ou accéder à l'intérieur de l'érythrocyte infecté pendant la durée nécessaire à son action normale » [34].

Il existe deux mécanismes qui interviennent dans la survie face aux réactions de défenses de l'hôte. Le premier d'entre eux est la facilitation parasitaire, c'est-à-dire la modification des traits de vie (fécondité élevée, longévité des œufs améliorée etc.) pour s'adapter. Le second est l'échappement, soit les manœuvres d'évitement des défenses aspécifiques (inflammation) et spécifiques (médiation humorale et médiation cellulaire) de manière intra ou extracellulaire. Il en découlera des adaptations physiologiques sur le système immunitaire.

Un exemple d'adaptation parasitaire face au comportement de l'hôte est la modulation de la pathogénicité : par exemple, l'augmentation de la virulence du parasite. Mais cela n'est pas sans conséquence. Le parasite tue son hôte plus vite, et sa prévalence faiblit. De ce fait, la pression de sélection exercée s'amointrit. Apprendre à s'adapter prend du temps.

B) La théorie de la reine rouge

Courir plutôt que mourir. En 1973, le biologiste évolutionniste Leigh Van Valen met au point une théorie expliquant le mécanisme de la course à la complexité. En étudiant la survie des espèces au cours des temps géologiques, ce professeur d'université en fit un parallèle avec deux contes bien connus de notre enfance : « Alice au pays des merveilles » et « De l'autre côté du miroir » de Lewis Carroll (souvent tous les deux confondus pour une même histoire). Aussi appelée *A new evolutionary law*, cet article se verra devenir l'un des plus importants du siècle dans le domaine de la science de l'évolution.

Alice, après son passage au travers du miroir, se découvre pion blanc sur un jeu d'échec. La reine rouge et Alice se lancent alors dans une course effrénée, mais Alice s'interroge soudain : « Mais, Reine Rouge, c'est étrange, nous courons vite et le paysage autour de nous ne change pas ? » Tout en lui précisant que si nous courions de la même manière dans notre pays, nous finirions par arriver quelque part, la Reine Rouge proclame : « Un pays bien lent », et ajoute

alors : « Ici, il faut courir de toute vitesse de ses jambes pour simplement rester sur place là où l'on est. »

Le constat est le suivant : toutes les espèces courent pour rester à leur place, celles qui ne vont pas suffisamment vite s'éteignent. Cette métaphore symbolise le fait qu'une espèce doit avoir une évolution permanente pour maintenir son aptitude suite aux évolutions des autres espèces avec lesquelles elle cohabite. C'est une théorie qui privilégie les facteurs biotiques et abiotiques comme facteurs sélectifs, tout en se basant sur l'étude des courbes de survie d'unités systématiques (taxons) au cours du temps [33]. En effet, le taux d'extinction est constant dans le temps, il n'existe pas de stabilité dans un environnement qui est lui-même vivant. C'est-à-dire que les espèces passent leur temps à dépenser de l'énergie pour évoluer, non pas pour augmenter ni diminuer leurs chances d'extinction mais simplement pour survivre. Les acteurs de cette course folle sont des espèces en compétition, il existe deux situations :

- Soit pour une même ressource.
- Soit entre un hôte et un parasite ou une proie et un prédateur.

Le deuxième cas est celui qui nous intéresse, et tout particulièrement le système hôte et parasite. De chaque côté, on fera de son mieux pour résister aux actions de l'autre (c'est-à-dire les pressions qu'ils effectuent mutuellement l'un sur l'autre) tout en subissant les pressions de l'environnement. Dans le cas du système proie/prédateur, une fois la proie capturée, l'information génétique disparaît, alors que dans le système hôte/parasite celle-ci perdure durablement. L'interaction ne change pas, la course est immobile pour Alice et la Reine. L'équilibre entre les pressions et les adaptations définit la coévolution.

C) La course aux armements

Si nous attribuons respectivement le rôle de parasite et d'hôte à Alice et la Reine Rouge, nous obtenons la scène de Lewis Carrol qui illustre parfaitement la théorie de la Reine Rouge. Comment acquérir ces adaptations indispensables à la survie ? Par le biais du matériel génétique et de sa diversité. En effet, les mutations et les recombinaisons vont permettre aux différentes espèces de développer des « armes » de survie, d'où le concept de course aux armements.

Darwin nous a appris que les espèces sont égoïstes, ce qui explique qu'elles n'arrêtent pas de se concurrencer dans l'objectif de « finir la course ensemble ». L'idée, pour chaque espèce, va être de mettre en place des stratégies évolutives répondant à celles de l'autre, et inversement. Les deux acteurs du système évoluent de façon opposée, parce que l'objectif final va être de transmettre ses gènes, au mépris de celui de toute concurrence.

De manière générale, les parasites ont une population plus grande et un temps de réplication plus court que leurs hôtes, ainsi qu'un taux de mutations élevé, cela leur confère un avantage génétique initial plus fort. On constate cependant que les parasites ne sont pas toujours l'organisme le plus adaptés des deux dans le système. Les mutations confèrent de nouveaux génotypes dans les nouvelles générations, puis des nouveaux phénotypes.

Un parasite pourra avoir trois réactions pour s'adapter au système immunitaire de l'hôte : se camoufler (passer inaperçu), exprimer des molécules immunodépressives / suppressives, changer régulièrement d'antigènes.

Dans le cas du Paludisme, nous avons constaté avec le temps que les parasites se sont adaptés aux armes que nous, hôtes, avons mis en place contre eux, c'est à dire les médicaments. L'explosion des connaissances en génétique ainsi qu'en techniques d'analyses nous permet aujourd'hui d'y voir plus clair dans les mécanismes adaptatifs choisis et mis en place par les *Plasmodium*. Il est donc indispensable de comprendre ces mécanismes car nous avons là l'opportunité de trouver de nouvelles perspectives pour traiter la maladie, et de peut-être distancer un jour le parasite dans sa course.

D) Les mutations génétique chez *Plasmodium*

Notre capacité à découvrir et à comprendre les mécanismes de résistance parasitaires va s'avérer indispensable si nous voulons réussir à développer des principes actifs pour les diminuer. De la même manière, ces recherches nous permettront probablement de trouver de nouvelles cibles aux futurs antipaludiques, et l'identification de marqueurs moléculaire de ces résistances nous permettront de surveiller leur évolution et leur dissémination.

Chez le *Plasmodium*, ces résistances ont généralement deux origines. Elles proviennent d'altérations :

- D'enzymes clés qui sont la cible des traitements,
- De la bonne accumulation de l'antipaludique via une diminution de l'entrée ou de la sortie, voire des deux.

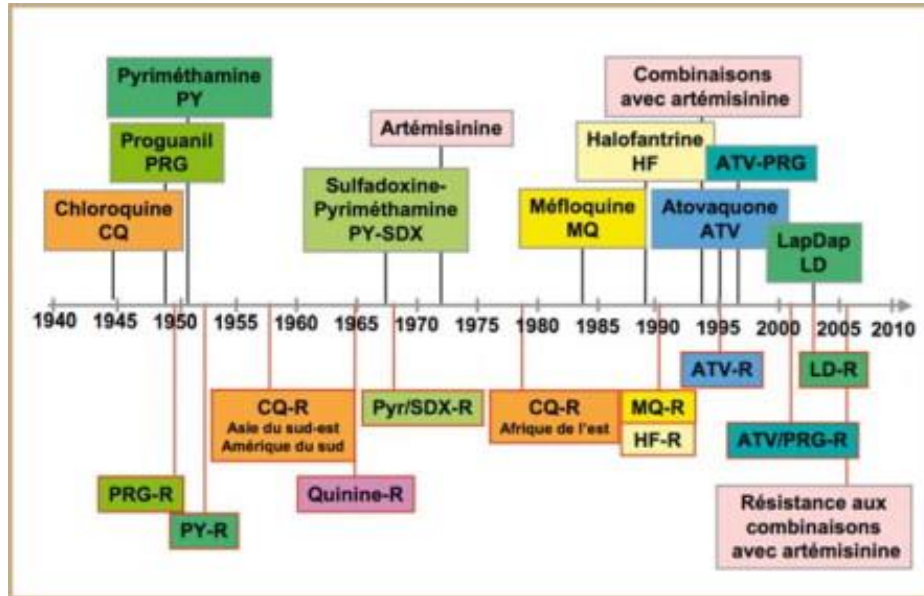


Schéma 36 : Introduction des antipaludiques et apparition des résistances de *P.falciparum* [34].

La première résistance à la Chloroquine (largement utilisée initialement car efficace, peu coûteuse et sans danger) fut observée en Thaïlande en 1957 et ensuite à la bordure de la Colombie et du Venezuela en 1959 (Schéma 36). Après les années 70, la résistance se dissémina en Afrique de l'est, et au milieu des années 80 sur toutes les zones du continent. En conséquence, les combinaisons à l'Artémisinine passèrent en traitement de première ligne, entraînant aussi l'apparition récente de résistance, en Tanzanie et en Asie notamment (Ariey et al., 2014). Les associations à la Pyriméthamine ont été également nombreuses pour contrer la résistance à la Chloroquine, mais les taux d'échec au traitement restent forts en Afrique (52.8%) [37].

Dans le cas de *P.falciparum*, il y a une adaptation constante aux associations à base d'Artémisinine. L'émergence d'une nouvelle mutation permettant la résistance à un médicament est très rare. Mais l'ADN de *P.falciparum* se multiplie cinq fois en 48 heures et il existe une probabilité de mutation par nucléotide par réplication de 10^{-8} : avec des réplifications asexuées rapides, des systèmes de réparation de l'ADN imparfaits ainsi qu'un effectif

suffisamment élevé de parasites et d'humains infectés on peut assister à l'émergence d'une sélection d'individus avantagés face à cette pression médicamenteuse.

Un matériel génétique important et de nombreuses réplifications finissent par engendrer des erreurs de réplifications de l'ADN, conséquentes ou non au traitement. Les systèmes de réparations sont censés les réparer, mais eux aussi font parfois des erreurs, surtout lorsqu'ils sont eux-mêmes endommagés. Si une mutation n'est ni létale ni silencieuse pour le parasite, elle peut être effective et potentiellement utile dans sa survie au traitement (échappement au système immunitaire, augmentation de la multiplication, adaptation aux molécules toxiques etc.).

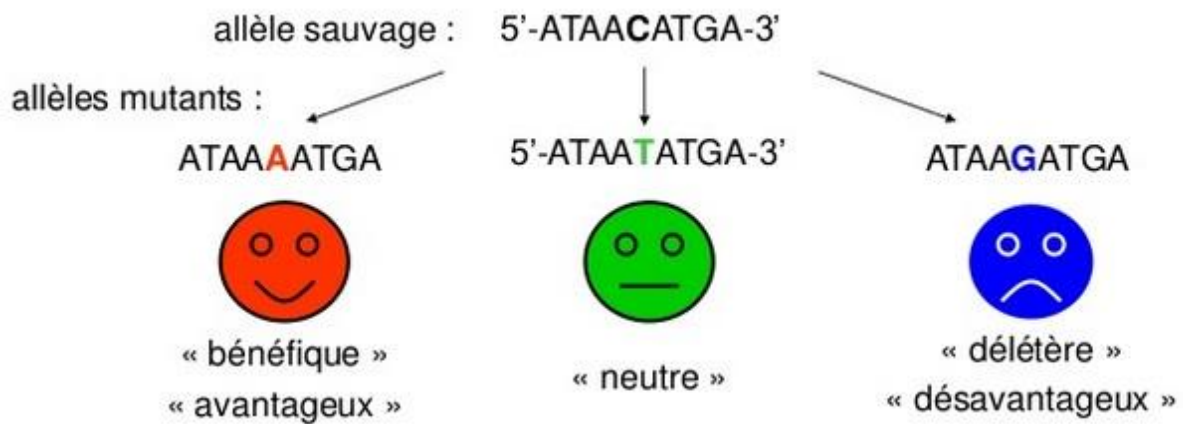


Schéma 37 : Les différentes sortes de mutations et leurs conséquences [63].

Ces mutations peuvent être lieu « neutres » car ayant lieu dans des zones non-codantes, répétées (microsatellites) ou non, ou bien dans les régions codantes de l'ADN (Schéma 37). C'est dans ces dernières qu'elles auront une influence sur le comportement et la vie du parasite. La majorité des mutations conférant une résistance apparaissent indépendamment du principe actif (mutations spontanées), bien que certains événements liés aux traitements jouent aussi un rôle dans leur apparition [37].

Dans un deuxième temps, ce nouveau parasite résistant est sélectionné et va se multiplier. Il y a alors transfert à la descendance de manière à obtenir une lignée résistante. Les conséquences sur la maladie vont être fonction du taux d'exposition parasitaire à la molécule concernée et de ses caractéristiques, donc de l'utilisation que nous en faisons, mais aussi du contexte épidémiologique [34].

Cette mutation, bien que nécessaire, a néanmoins un coût pour le parasite. En l'absence de pression médicamenteuse, les performances biologiques caractéristiques du phénotype de résistance sont parfois trop demandeuses en énergie. Ainsi, un remplacement temporaire des souches résistantes à la Chloroquine par des souches sensibles est constaté en cas d'éviction à la molécule [35]. Cependant, les souches résistantes réapparaissent lorsque la molécule est réintégrée [36].

L'émergence de résistance peut donc être stimulée par :

- Une mauvaise utilisation des traitements par les malades (engendrant des traitements incomplets), (i)
- Une indisponibilité de traitement efficace, (ii)
- Le déploiement inadéquat de monothérapie, une consommation sous dosée de traitement (survie du parasite à des doses sub-optimales d'antipaludéen) (iii).

Dans le cas du *Plasmodium*, les antipaludéens qui lui sont destinés se répartissent en deux groupes : les lysomotropes, c'est à dire les molécules qui s'accumulent dans la vacuole digestive, et les anti-métabolites, qui inhibent de façon compétitive la formation d'un métabolite essentiel. Les mécanismes résistants qui vont en découler seront dépendants du type de fonctionnement du médicament.

E) Analyse et surveillance des résistances

Les études ont montré que le parasite résiste aux traitements grâce à différents mécanismes :

- Altérations de la cible du médicament : élimination de la cible via la stimulation d'une voie alternative, modification de l'affinité à la cible grâce à des mutations géniques, ou surexpression de la cible par cette même voie génique.
- La cible reste inchangée : modification des taux médicamenteux intracellulaires par modulation des transporteurs qui régissent l'absorption ou l'exportation du principe actif.
- Modulation du mécanisme de dormance.
- Surexpression de mécanismes biologiques : surexpression de gènes impliqués dans le mécanisme de réparation de l'ADN ou dans la réponse au stress oxydatif.

Savoir si le médicament est efficace ou non sur le malade est donc indispensable, trois méthodes différentes fondées sur les approches *in vivo*, *in vitro* et moléculaire permettent de surveiller la possible émergence de résistance.

Le test *in vivo* a été mis au point par l’OMS en 1965 (et révisé régulièrement, la dernière fois en 2001). Il est devenu une méthode de référence dans le diagnostic et la surveillance des résistances aux médicaments antipaludéens. Ce test doit montrer :

- Une augmentation significative de la population parasitaire malgré un traitement récent à doses efficaces.
- Le maintien d’une concentration sanguine efficace du médicament ou de ses métabolites actifs pendant au moins quatre cycles parasitaires.

On sait que l’apparition des résistances peut varier en fonction de différences interindividuelles et pharmacocinétiques [34]. Ce test reste limité car il est notamment dépendant de l’observance thérapeutique, de l’immunité naturelle, de l’état nutritionnel du patient, de rechutes éventuelles etc.

L’analyse *in vitro* nous permet de nous affranchir des limites imposées par le patient que nous venons de citer (partiellement), mais cette technique reste délicate puisqu’elle nécessite en outre du personnel qualifié, des investissements financiers importants, des infrastructures complexes. De plus, les résultats ne sont pas toujours reproductibles (différences techniques, protocolaires). Il peut s’agir par exemple du suivi de l’inhibition de la croissance des parasites par des concentrations d’antipaludéens déterminées [34]. Son intérêt porte surtout sur le suivi de la chimio-sensibilité.

Enfin, les tests moléculaires sont effectués à partir de l’ADN du parasite. Fort de nos nouvelles connaissances en biologie moléculaire, nous pouvons maintenant connaître et analyser le génome de *P.falciparum* depuis 2002. Ceci a permis l’avènement de l’ère « post-génomique », véritable bond en avant dans la lutte contre la maladie. L’objectif aujourd’hui est d’identifier des zones de mutations sur le génome du parasite et de les catégoriser en fonction des résistances qu’elles engendrent. Ces mutations sont d’elles-mêmes des marqueurs moléculaires plus ou moins fiables qui nous permettent d’avoir une sorte de base de référence dans la résistance du parasite vis-à-vis de ses traitements, c’est une nouvelle forme lutte contre le Paludisme.

Un certain nombre de facteurs participent à l'élaboration des résistances aux antipaludiques (Schéma 38).

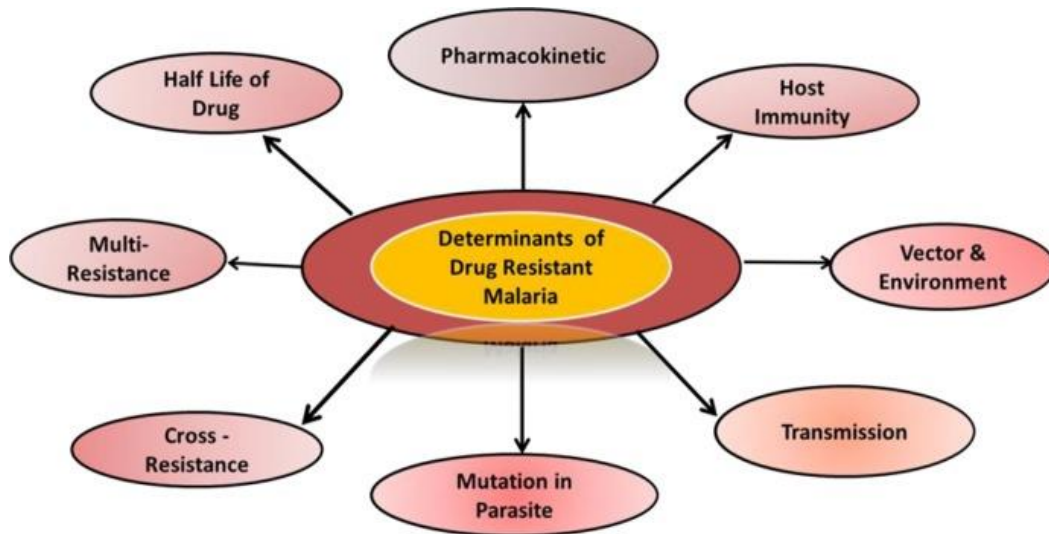


Schéma 38 : Les différents paramètres qui contribuent à la résistance aux antipaludiques [37].

E-1) Influence de la pharmacocinétique et de la demi-vie

Nous savons maintenant que les taux plasmatiques d'antipaludéens ont leur importance, de faibles concentrations étant liées à une diffusion impressionnante de parasites résistants. Les observations de Karbwang et al. (1991) avaient déjà permis de faire cette conclusion. Ils ont analysé des concentrations maximales (C_{max}) et des concentrations plasmatiques de Méfloquine à J1 et J2 chez des patients atteints de rechutes. Les résultats ont révélé que la recrudescence de leur maladie était liée à un faible C_{max} et des faibles taux plasmatiques à J1 et J2 de Méfloquine, en comparaison avec des patients chez qui le traitement était un succès total [38].

En Thaïlande, l'utilisation préventive de l'association de Sulfadoxine et de Pyriméthamine à des concentrations sub-optimales a entraîné la sélection de parasites résistants [39]. Le niveau d'efficacité thérapeutique atteint par de telles concentrations ne serait pas suffisant pour tous les détruire. Les lignées résistantes sont donc sélectionnées et non purgées [37].

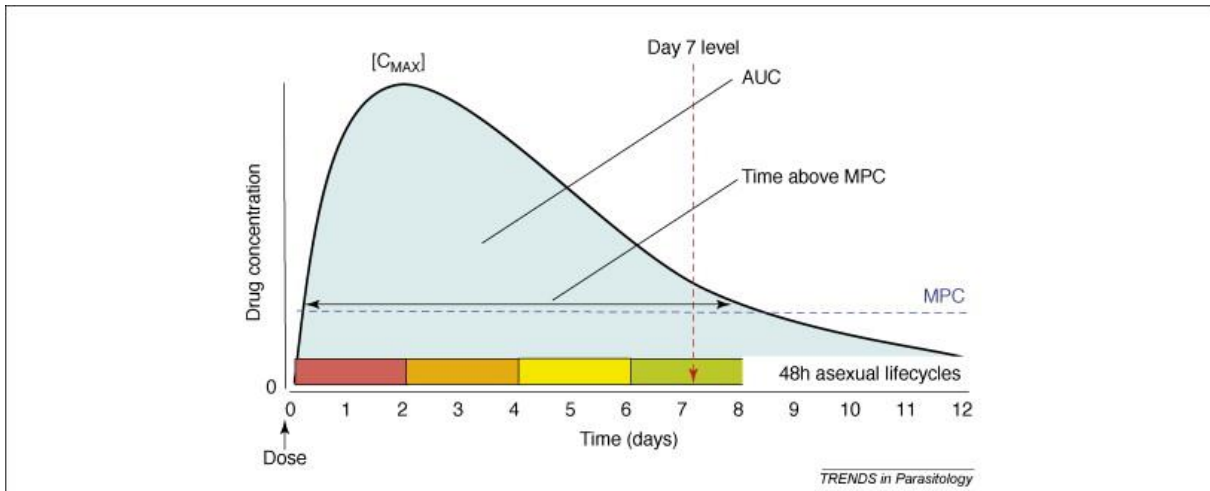
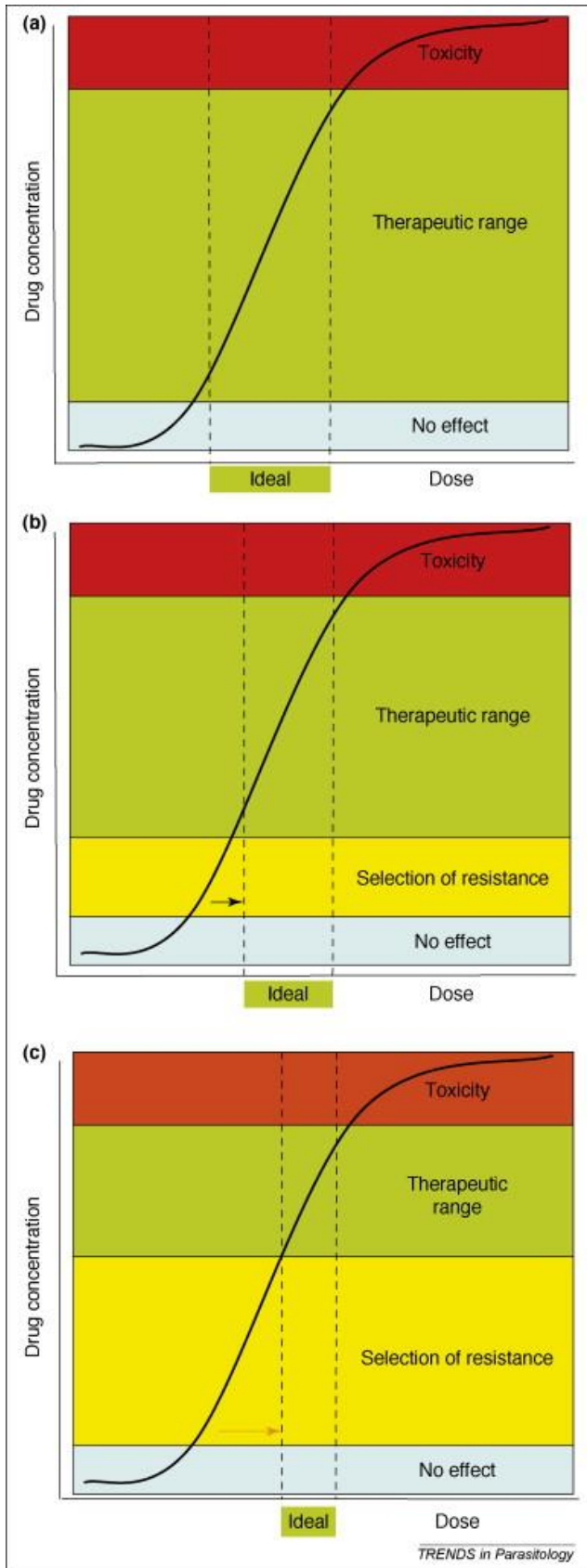


Schéma 39 : Les facteurs pharmacocinétiques influençant la guérison dans un Paludisme non compliqué [40].

À l'inverse, des hautes doses d'antipaludéens sont toxiques, l'objectif est alors l'estimation de concentrations suffisamment efficaces, dites « *minimum parasitidal concentrations* » ou « MPCs » pour s'assurer de la mort de tous les parasites (ce qui prend environ 48 heures de cycle asexué chez *P.falciparum*). L'aire sous la courbe (Schéma 39), ou AUC, va prédire la réponse thérapeutique, le C_{max} sera un facteur moins important que le MPCs dans le traitement d'une malaria non compliquée. Au jour 7, on pourra estimer l'AUC du traitement, ce qui nous permettra de réaliser une bonne estimation de son efficacité.



Selon la sensibilité du parasite au médicament, on constate une évolution dans la réponse au traitement (Schéma 40) :

- Lorsque celui-ci est totalement sensible au principe actif (a), la zone d'efficacité idéale est simple à atteindre car la dose à administrer pour l'obtenir est relativement large.

- Lorsque le parasite est plus ou moins résistant au traitement, selon son niveau de résistance (b ou c), la dose à administrer pour être efficace et ne pas favoriser de mutants résistants (dose sub optimale) est délicate à anticiper.

En effet, plus le parasite est résistant, plus le risque de favoriser cette résistance en maîtrisant mal les doses est grand (c) [40].

Schéma 40 : Association entre dose et réponse au traitement [40].

Des principes actifs à longue demi-vie d'action, comme la Chloroquine, la Méfloquine et la Piperaquine, vont jouer un rôle de filtre sélectif pour les parasites résistants. Il y a en effet un impact fort de cette donnée pharmacocinétique sur l'émergence de lignées résistantes. Ainsi une molécule avec une demi-vie longue aura un temps de présence à une concentration sub-optimale important en post traitement. Le processus est alors le même que précédemment. Une lignée résistante à la molécule se multiplie au détriment de la lignée sensible, jusqu'à la disparition du principe actif. Cette lignée sub-optimale parasitaire résistante résiduelle peut alors déclencher une recrudescence de la maladie chez son porteur, et disséminer des gamétocytes résistants [41].

L'immense travail de collecte effectué le WARN (*Worldwide Antimalarial Resistance Network*) a permis de fonder une imposante base de données pharmacologique concernant les traitements antipaludéens dans le monde. Le constat est clair, le combat contre la résistance parasitaire passe inévitablement par une juste utilisation des dosages et des combinaisons de principes actifs, tout en évitant à tout prix les doses sub-optimales, qu'elles soient préventives ou résiduelles [40].

E-2) Influence de l'immunité du porteur

Une population dite « naïve » à la maladie ne possède pas de réponse immunitaire spécifique face à celle-ci. En effet le système immunitaire ne peut que se contenter de réagir de manière innée vis-à-vis de l'infection. Il n'y a donc pas de réactions humorales et cellulaires qui nécessitent obligatoirement une exposition antérieure à l'agent pathogène. Les populations qui possèdent une réaction acquise au Paludisme sont plus aptes à lui survivre, elles résistent mieux.

En temps normal, une population non immunisée serait apte à se débarrasser d'un *Plasmodium* sans ou ayant peu de phénotype(s) de résistance. Mais que se passe-t-il si l'on introduit un parasite résistant dans une population n'ayant jamais été en contact avec la maladie (réfugiés, migrants etc.) ? Cette dernière ne peut gérer convenablement la parasitose et les chances pour que les résistances se manifestent et se propagent augmentent [39]. C'est ainsi qu'on a pu expliquer que des sujets immunitairement naïfs exposés à des formes de

P.falciparum résistantes à la Chloroquine se révélèrent incapables de se débarrasser du parasite

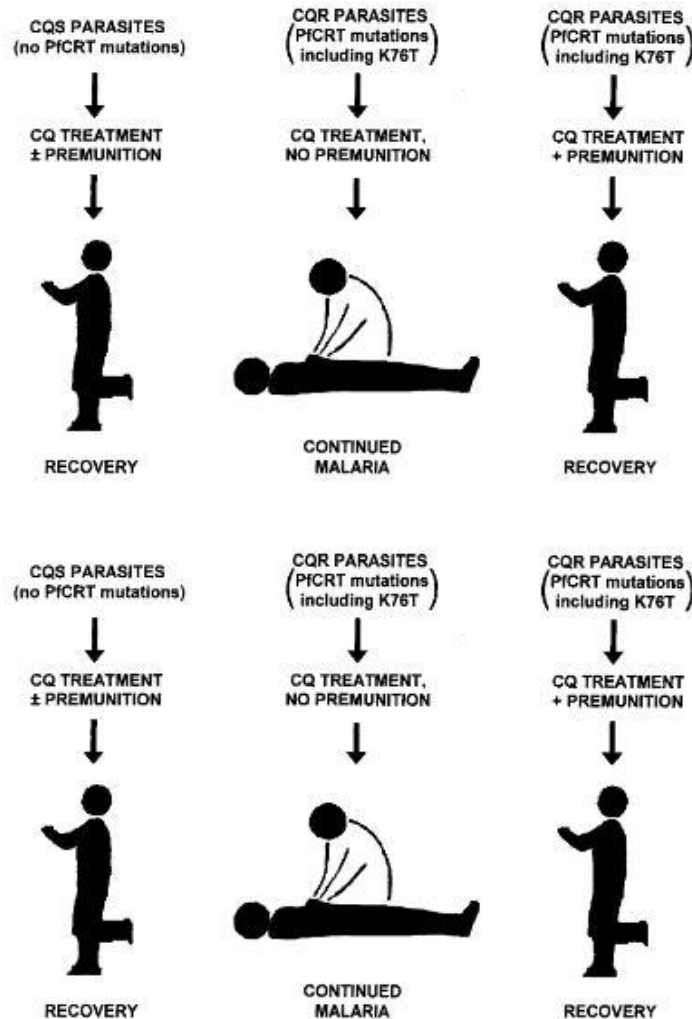


Schéma 41 : Possibles devenirs d'individus atteints par *P.falciparum* traités par Chloroquine [42]. La mutation PfCRT représente la résistance à la Chloroquine.

C'est cette conclusion qui nous permet de comprendre, par exemple, les résultats d'une étude concernant des enfants Maliens régulièrement infectés par différentes lignées de *P.falciparum*. Ces derniers ont pu guérir d'infection par des *plasmodium* Chloroquino-résistants après des traitements à base de Chloroquine. Chez les enfants de moins de 10 ans, 32% des infections avec ces parasites furent traitées avec succès avec de la Chloroquine, tandis que chez des enfants plus vieux, voir adultes, le taux de guérison avec le même protocole fut de 66% [42].

E-3) Influence de l'environnement et de l'Anophèle

On sait maintenant que l'acquisition par *Plasmodium* de résistance vis-à-vis de certains principes actifs nuit à leur reproduction. En effet, lorsque la pression de sélection exercée par le médicament est diminuée, les lignées résistantes sont moins aptes à survivre que les phénotypes sauvages [37]. L'acquisition d'une résistance est donc une réponse adaptative très coûteuse sur le plan métabolique. Ainsi, il va sans dire que plus le moustique sera résistant aux traitements qui lui sont destinés (dans l'objectif de réduire sa population et sa transmission), plus sa dissémination est élevée. Il convient donc d'être tout autant précautionneux avec l'éradication du vecteur que du parasite, car celui-ci aussi s'adapte aux insecticides (Schéma 42).

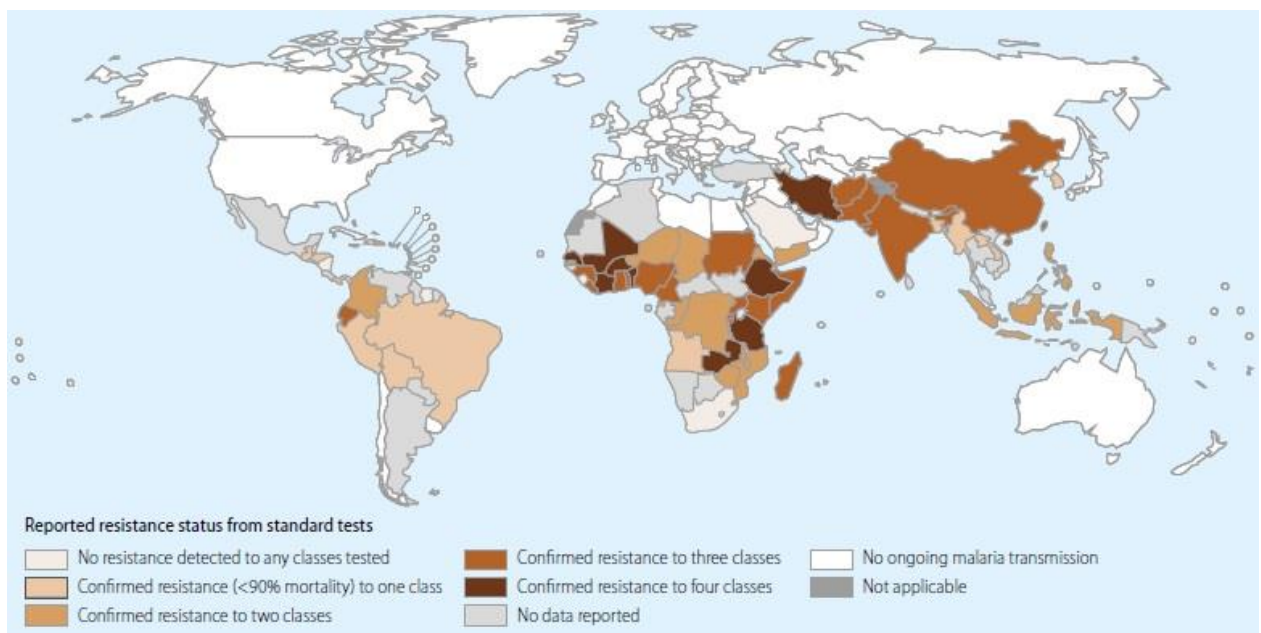


Schéma 42 : Pays rapportant depuis 2010 des résistances face à différents nombres d'insecticides [44].

D'une autre manière, l'augmentation de l'infectiosité et de la production des parasites résistants à la Chloroquine a permis, via l'Anophèle, une dissémination de cette résistance dans l'Asie du sud et l'ouest de l'Océanie [39]. Dans certaines situations, les variations environnementales ont aussi leur importance. Une étude a révélé que chez *A.stephensi* (Louis Lambrechts and al. 2006) des variations de la qualité de l'environnement peuvent influencer l'expression de gènes impliqués dans la régulation de la charge parasitaire nécessaire à

l'infection. En fonction des taux d'humidité, de température et de luminosité dans différentes zones, la transmission de la maladie pourra se faire plus ou moins facilement en fonction des conséquences que ces données ont sur la régulation de certains gènes chez le vecteur [43].

E-4) Influence de la transmission

Les taux de transmission de la maladie influencent le taux de développement et la dissémination de résistance, bien que ce paramètre soit complexe et multifactoriel. D'une manière générale, les zones ayant un faible taux de transmission de la maladie sont plus sujettes au développement d'une résistance aux traitements que les zones à haute transmission. Ceci s'attribue au fait que la quasi-totalité des Paludismes sont symptomatiques dans les zones à faible transmission, et par conséquent beaucoup de malades reçoivent un traitement. Il y a alors une pression de sélection médicamenteuse.

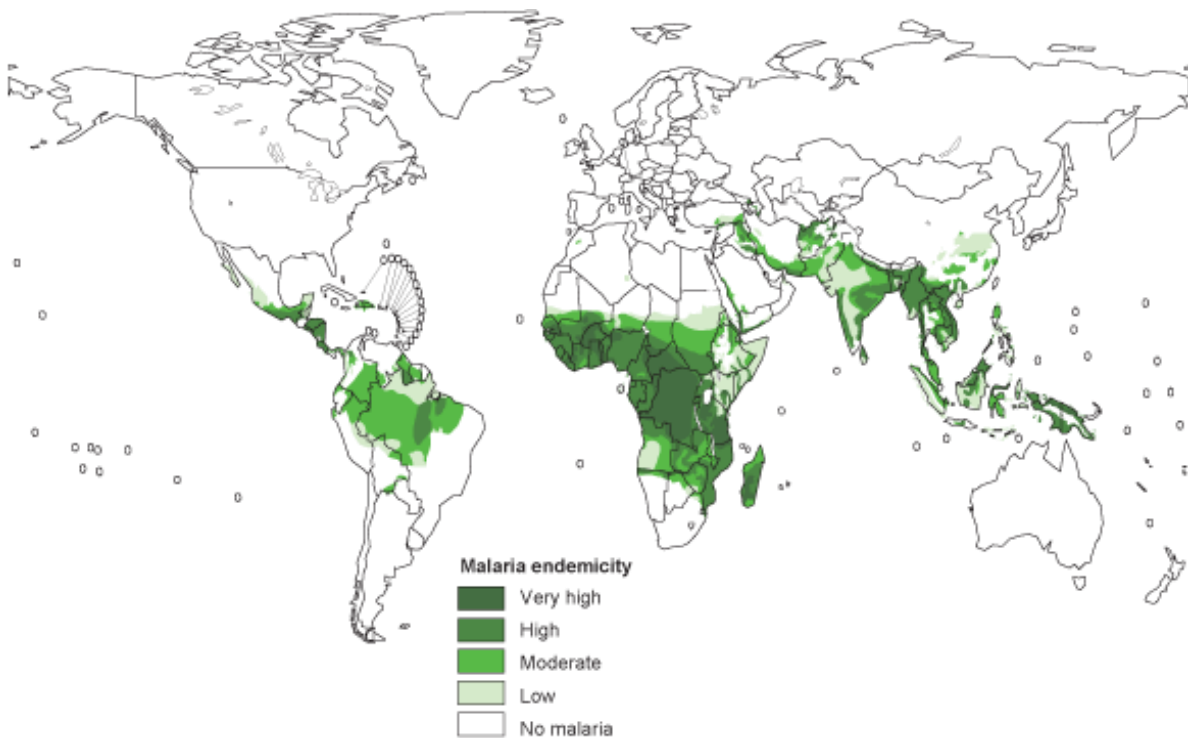


Schéma 43 : Risque de transmission de la malaria dans le monde en 2005 [45].

A l'inverse, dans les zones à fort taux de transmission (Schéma 43), la malaria est bien plus asymptomatique et les récives plus nombreuses. L'immunité se développe (prémunition), l'infection est contrôlée trop rapidement pour que les symptômes apparaissent, les médicaments sont moins utilisés [37].

E-5) Influence des résistances croisées et des multi résistances

Les résistances sont d'autant plus difficiles à appréhender qu'elles peuvent être (i) croisées (*cross-resistance*, résistance à une même famille de principe actif via un mécanisme identique) ou (ii) multiples (multi résistance, résistance à plusieurs familles de principes actifs).

L'analyse de clones de *P.falciparum* soumis à une pression médicamenteuse (Méfloquine) a révélé une amplification de la production d'une protéine (Pgh1) qui a modifiée les résistances préexistantes :

- Diminution de la résistance à la Chloroquine.
- Augmentation de la résistance à la Quinine et à l'Halofantrine.

Cette analyse nous permet de constater que non seulement la protéine Pgh1 a un rôle majeur dans les mécanismes de résistance à ces différents principes actifs, mais qu'en plus les résistances croisées et multiples interfèrent entre elles [46]. De la même manière, on a pu constater que l'utilisation de la combinaison Sulfadoxine-Pyriméthamine a engendré une augmentation des résistances aux traitements basés sur la combinaison d'antifolates. Cette réaction compromet d'avance l'utilisation de nouvelle combinaison avant même leur arrivée sur le terrain (Chlorproguanil/Dapsone par exemple) [47]. Ces études ne sont que des exemples parmi beaucoup d'autres qui constatent l'émergence de *cross resistance*. De plus, lorsque le parasite est résistant à plus de deux antipaludéens actifs, ou de mécanismes différents, il est plus susceptible de développer des résistances multiples [37].

E-6) Influence des mutations parasitaires

De nombreuses population de *P.falciparum* sont aujourd'hui résistantes à la Chloroquine et à la Quinine, à la Méfloquine, aux associations à base d'Artémisinine, et ceci dans différentes parties du monde à différents degrés. Chez *P.vivax*, on constate aussi des résistances à la Chloroquine.

Les mutations géniques qui opèrent au sein du parasite sont la base de ces résistances. Comme nous l'avons analysé au début de ce chapitre, les mutations spontanées sont sélectionnées sous l'influence de pressions médicamenteuses. Elles permettent de générer et de moduler ces

dernières, et ceci en jouant souvent sur des changements d'action des molécules (mécanismes d'efflux, modifications d'accumulation etc.). La recherche sur la résistance aux antipaludéens s'est fortement axée ces derniers temps sur les marqueurs moléculaires qui en sont à l'origine pour les comprendre.

Nous nous appuyerons très souvent sur des études pour analyser les différentes résistances aux antipaludiques. Les séquençages génétiques venant corroborer les résultats se basent sur des souches de *Plasmodium* retravaillées selon un protocole précis qui est le suivant. Le Schéma 44 présente la méthodologie de l'expérimentation :

- Si l'étude est *in vivo* on administre à des souris infectées (A) un antipaludéen à concentrations croissantes pour créer une pression médicamenteuse dans le temps.
- Si l'étude se passe *in vitro*, les doses de médicaments s'appliquent directement sur les *Plasmodium* en culture (B) dans le même protocole de concentrations.

Une ou plusieurs lignées résistantes finissent par être identifiées et cultivées, pour que l'on puisse ensuite analyser leurs génomes et les comparer aux lignées sensibles dont elles dérivent. On peut ainsi identifier des marqueurs moléculaires, qui seront validés en tant qu'indicateurs du phénotype de résistance une fois constatés après d'autres expérimentations.

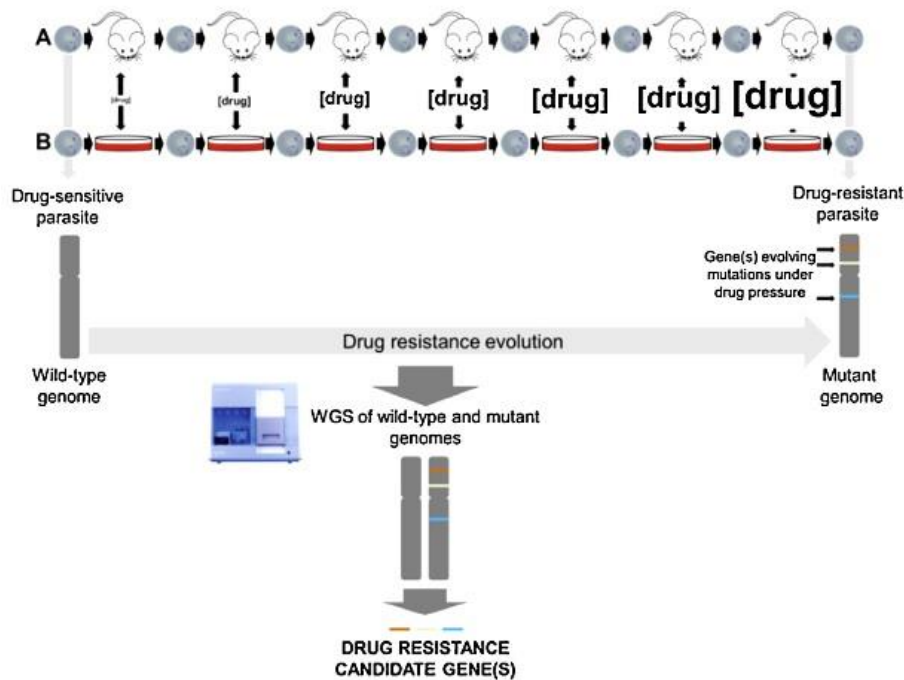


Schéma 44 : Méthodologie d'identification des marqueurs moléculaires de la résistance aux antipaludéens via le WGS (*Whole Genome Sequencing*) [69].

F) Les différentes résistances parasitaires

F-1) La résistance à la Quinine, à la Méfloquine et à l'Halofantrine

a) La Quinine

Malgré la dissémination des résistances à la Chloroquine et à la Méfloquine, le traitement à base de Quinine reste celui de référence pour le Paludisme grave et est efficace dans ces situations de résistances diverses. C'est dans les années 1960 que les premiers cas de résistance à cette molécule furent déclarés, au Brésil et en Asie du sud-est. Inévitablement, la résistance s'est propagée et dans les années 1980 on la retrouva en Asie, en Amérique du sud et en Afrique [34]. Le déterminisme des gènes contribuant aux variations de réponse à la molécule a été identifié via des croisements génétiques sur *P.falciparum*. Ces expériences en milieu contrôlé ont permis de montrer que cette résistance était régie par trois QTL (*quantitative trait loci*) à effet additif situés sur les chromosomes 13, 7 et 5 [54]. Les segments de résistance situés sur le chromosome 5 et 7 sont respectivement les gènes *pfmdr1* et *pfcr1*. Dans le cas de la résistance à la Chloroquine et la Quinine, les sensibilités aux principes actifs

sont affectées par les gènes *pfCRT* et *pfmdr1*. Etant donné que la Quinine reste efficace dans les situations de résistance à la CQ et à la MQ, on envisage donc que la réponse à la Quinine est affectée par d'autres gènes que ces deux derniers. Outre donc les deux mécanismes que nous allons détailler par la suite (*pfCRT* et *pfmdr1*, dans la partie résistance à la Chloroquine) et qui sont applicables ici pour la résistance à la QN, le gène *pfNHE-1* (identifié sur le chromosome 13, en interaction avec un autre locus sur le chromosome 9) répond parfaitement à cette problématique [34].

Ce gène code pour un échangeur Na^+/H^+ dans la membrane plasmique du parasite (à la différence des autres transporteurs influençant le mécanisme des quinoléines, eux situés dans la membrane vacuolaire). Le complexe transmembranaire nommé PfNHE (*Plasmodium falciparum* Na^+/H^+ exchanger) a pour rôle de réguler le pH cytosolique. Une élévation significative de son activité a été constatée dans des lignées fortement résistantes à la QN.

L'échangeur régule donc l'homéostasie du pH via une sortie d'ion sodium contre un ion H^+ , ceci permettant d'augmenter le pH cytosolique et de compenser l'acidose métabolique due à la glycolyse anaérobie. Or l'accumulation de Quinine n'est possible que lorsque le pH est bas. Une augmentation de l'activité de cet échangeur stimule la sortie de H^+ et donc l'augmentation de pH, la Quinine ne peut alors plus s'accumuler. Ceci est l'une des explications probables à cette résistance (mais le mécanisme reste encore mal connu).

L'analyse du gène *pfNHE-1* (situé dans le chromosome 13, comme on peut le voir dans le schéma 45) à partir d'échantillons de *P.falciparum* provenant de différentes régions du globe a permis d'identifier 4 codons sujets aux mutations (790 gtc/ttc, 894 aat/aaa, 950 ggg/gtg et 1437 tat/ttt) et des zones de variation de locus microsatellite (msR1, ms3580, ms4760).

Un lien entre la Quinino-résistance *in vitro* et les mutations du locus microsatellite ms4760 a été fait. Les mutations sur des gènes codant pour les protéines PfCRT et Pgh1, et probablement d'autres protéines encore non identifiées, agissent de concert avec les mutations sur le gène codant pour la protéine PfNHE [55]. Il a été identifié 101 allèles distincts de microsatellite 4760 dans cette zone grâce à l'analyse de la répétition des motifs DNNND et DDNHNDNHN dans les blocs II et V.

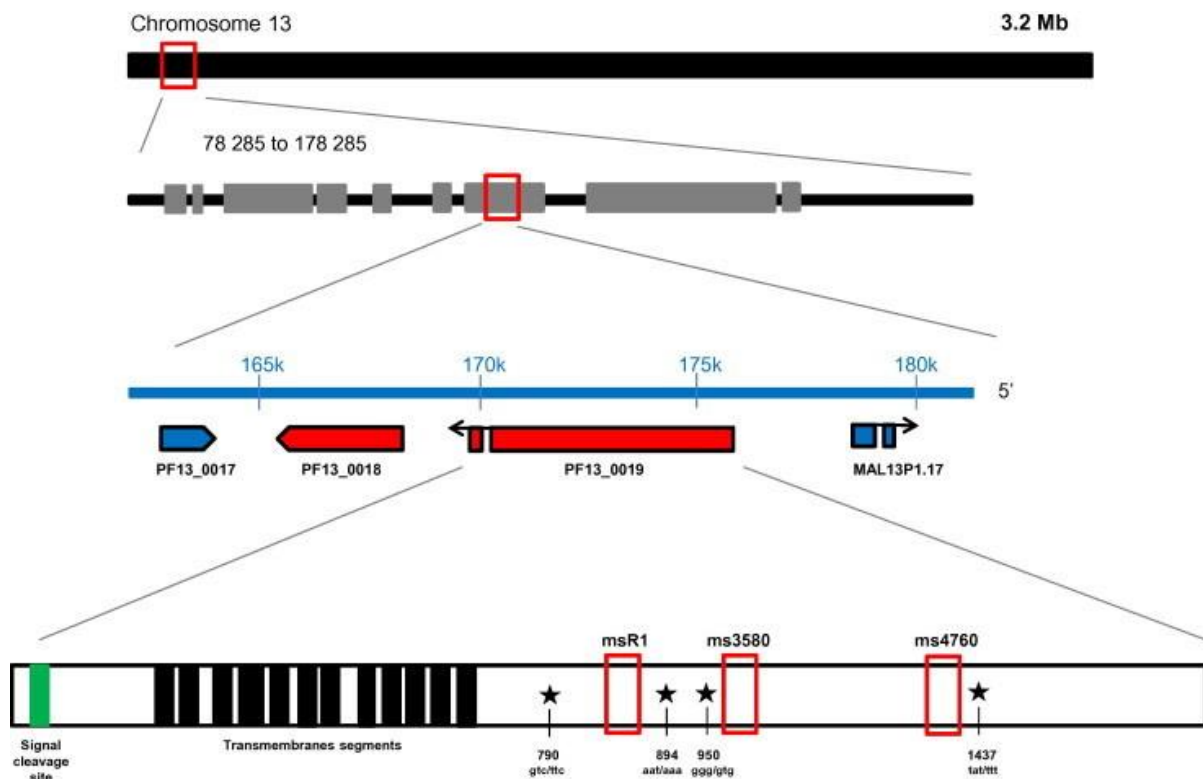


Schéma 45 : Représentation schématique du gène *pfnhe-1* sur le chromosome 13, avec les positions de polymorphismes pour les codons et les variations de microsatellites [55].

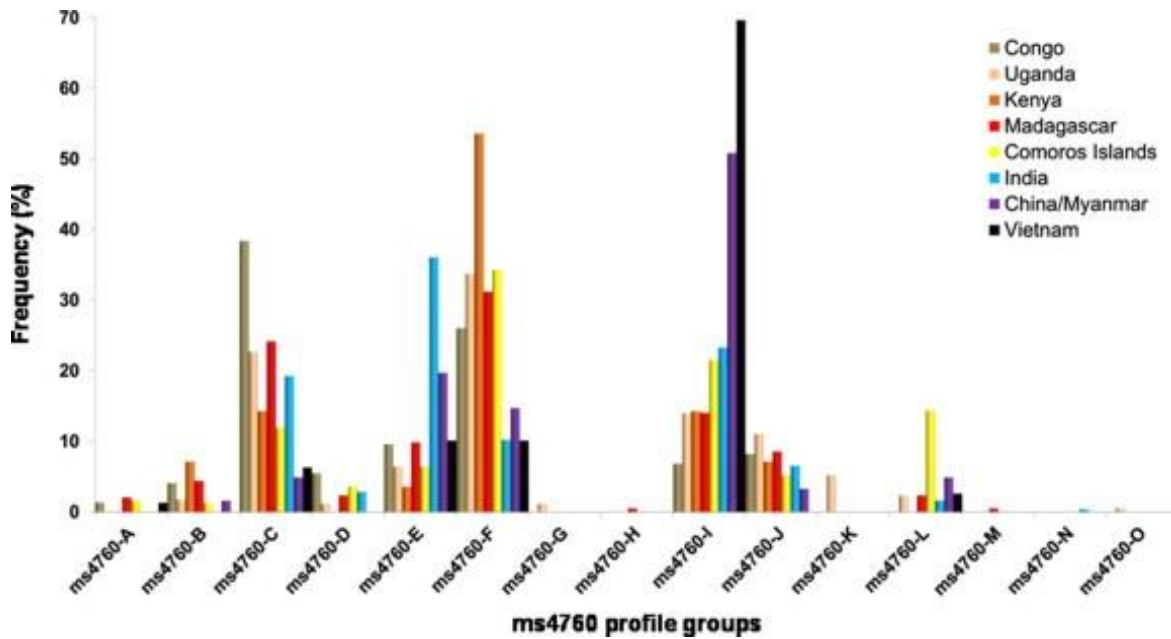


Schéma 46 : Prévalence des profils ms4760 de *pfmhe-1* en fonction de la répartition géographique des isolats [55].

C'est en Afrique que la richesse allélique pour ces gènes est la plus forte, puis en Asie et en Amérique du sud (Schéma 46). La distribution géographique des profils ms4760 diffère selon les continents (certains sont exclusivement présents sur une zone tandis que d'autres sont partagés dans différents endroits).

En fonction du nombre de répétitions des motifs microsatellites, la sensibilité à la Quinine varie. Cette variation de nombre n'est cependant pas suffisamment fiable pour permettre au marqueur d'être reconnu comme étant un marqueur moléculaire de résistance de référence. Les données ne sont pas suffisantes pour associer *in vivo* les profils microsatellites avec l'émergence de phénotypes de résistance dans les différentes zones géographiques (DNNND en Afrique, DDNHNDNHN en Asie). Les premières données cliniques supposant un lien entre le nombre de répétitions de motifs et les échecs aux traitements par la Quinine commencent à être observées [55]. Ainsi, la résistance à la Quinine ne serait pas contrôlée par un seul gène mais par plusieurs gènes en interaction mettant en jeu différents acteurs protéiques, et ceci en fonction de l'origine géographique des souches parasitaires impliquées.

Le rôle de la Quinine est d'exploiter la protéine transmembranaire Pgh1 du parasite et de modifier la régulation du pH cytosolique. Or, une bonne homéostasie est indispensable à l'efficacité de la Chloroquine (comme nous allons le voir). Ceci explique l'influence de la pression médicamenteuse exercée par la Quinine sur la résistance à la Chloroquine. Un nouveau gène est désormais la cible d'études sur la résistance à la Quinine. Ce dernier, nommé MAL7P1.19, ou *pfut*, est situé sur le chromosome 7 et code pour une protéine-ubiquitine ligase HECT dont la structure est analysée dans le Schéma 47. Des mutations sur ces gènes modifient la sensibilité à la Quinine et à la Quinidine. Néanmoins, *pfut* n'aura d'influence que si ses modifications sont jumelées avec celles d'autres gènes, et particulièrement *pfcr*. L'hypothèse du mécanisme d'action qui en découle est le suivant : des modifications conformationnelles ou une surexpression de PfUT affecteraient, de par son activité de ligase, la longévité, la conformation finale ou l'activité de PfCRT [116].

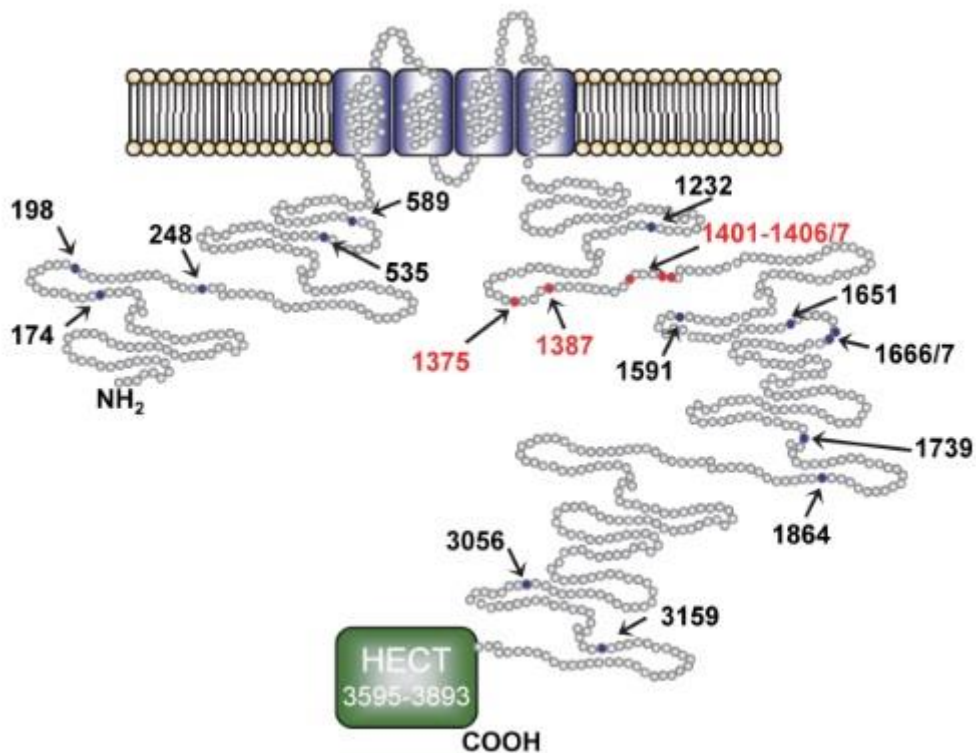


Schéma 47 : Modèle topologique de la protéine-ubiquitine ligase HECT [116]. Elle possède 4 domaines transmembranaires ainsi qu'un domaine catalytique (domaine HECT), les flèches noires correspondent à des zones analysées lors d'études, les rouges aux zones de polymorphismes conservés.

Les polymorphismes des gènes *pfcr1* et *pfcr2* semblent être co-sélectionnés. De plus, cette sélection concomitante est favorisée par la présence de ces polymorphismes conservés. 19 zones de mutations probables ont été identifiées (Schéma 47). L'activité de cette enzyme est de permettre la fixation d'une ubiquitine (par recrutement de l'enzyme ou directement par catalysation) sur sa protéine substrat (PfCRT ici), ce qui modifie son activité ou sa spécificité. Connaissant le rôle majeur de la protéine PfCRT dans la résistance à la Quinine, il est donc facilement compréhensible que les deux gènes soient intimement liés dans les résistances du *Plasmodium*.

b) Méfloquine & Halofantrine

Des isolats clonés de *P.falciparum* soumis à une forte présence de Méfloquine (donc, à une forte pression médicamenteuse) ont révélé une augmentation de l'expression de *pfmdr1* et donc de la protéine Pgh1. Ceci s'est traduit par une diminution de la résistance à la Chloroquine ainsi qu'une augmentation de la résistance à la Méfloquine, l'Halofantrine et la Quinine. Nous avons donc là un dénominateur commun en matière de résistance parasitaire vis-à-vis de nos trois molécules.

Le gène *pfmdr1* serait donc un gène de *multi drug resistance* car manifestement impliqué dans le mécanisme de résistance à ces trois molécules. Les interférences entre ces principes actifs sont d'autant plus flagrantes que des pluri résistances sont apparues alors qu'une seule molécule avait été employée pour traiter les malades au préalable. Au Cameroun, où une double résistance à la Méfloquine et à la Quinine a été constatée, alors que seule la Quinine avait été employée auparavant. Une augmentation du nombre de copies du gène *pfmdr1* ainsi que de l'expression de son ARNm ont ainsi été associées avec l'acquisition *in vitro* d'une résistance à la MQ et à l'HAL. Il convient donc d'appliquer le même mécanisme d'efflux explicatif de la résistance à ces deux molécules par la P-glycoprotéine (que nous détaillons par la suite) [46].

Les scientifiques ont initialement observé un foyer de résistance à la Méfloquine en Asie, ainsi qu'une diminution de son efficacité en Thaïlande et au Cambodge à partir de 1989 [34]. Par ailleurs, une chute de l'efficacité de l'Halofantrine a été constatée lorsqu'elle a été utilisée

en second traitement après un échec via la MQ. Une résistance croisée, en partie liée à la similitude de structure de leurs principes actifs, caractériserait ces deux molécules [56].

En revanche, des études ont révélé que ce constat n'était pas valable pour la Chloroquine. Au contraire, une relation inverse existerait entre l'augmentation de la résistance à la MQ et la résistance à la CQ. La protéine Pgh1 semble y jouer un rôle. Comme décrit par la suite, l'augmentation de son expression est liée à une Chloroquino-résistance. Si, en revanche, dans ces mêmes conditions elle augmente la sensibilité à la MQ, c'est probablement parce qu'il s'agit d'un transporteur de ce même principe actif (c'est, du moins, une des théories avancées aujourd'hui).

Une étude intéressante menée par Reamtong et coll. (2015) décrit un procédé d'analyse comparatif de profils protéiques entre souches sensibles et souches résistantes de *P.falciparum* (Thaïlandaises) à la MQ. Ils ont constaté *in vitro* 69 protéines dont le niveau de régulation est différent selon le type de souche (résistantes ou sensibles au principe actif).

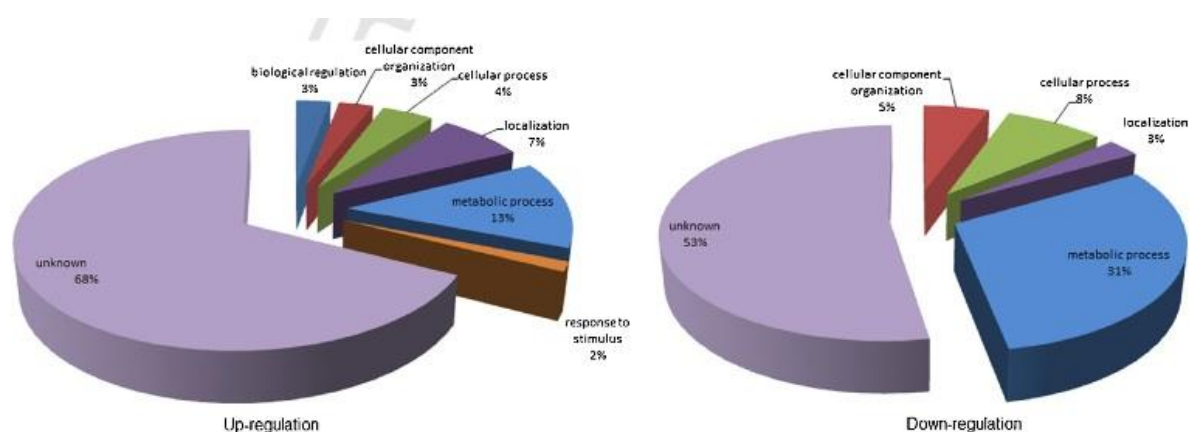


Schéma 48 : Classification des différentes expressions des protéines en fonction de leur processus biologique [68].

Le Schéma 48 représente l'expression des protéines chez des souches résistantes à la MQ, et ceci sur 36 protéines surexprimées (camembert de gauche) et 33 protéines dont l'expression est diminuée (camembert de droite) comparativement à des souches sensibles. Des gènes protéiques surexprimés engendrent un développement de ces mêmes protéines, et ceci dans de nombreuses activités cellulaires (régulations biologiques, processus métaboliques etc.).

L'inverse se produit en cas de sous expression génique, mais ici dans une variété de domaines moindre. Suite à une pression médicamenteuse, les domaines génétiques stimulés en conséquence sont ceux impliqués dans la production de protéines liées aux réponses aux stimuli ainsi que les régulations biologiques, dont Pgh1. En contrepartie, les gènes sous exprimés sont ceux impliqués dans les processus métaboliques et cellulaires. Cette stratégie représente parfaitement le comportement métabolique d'un être vivant face à une pression de sélection : il met « de côté » ses systèmes de base au profit de systèmes adaptatifs pour survivre. Cette stratégie confirme également que la survie du parasite peut être impactée par ce genre de stratégie (notamment lors de sa phase de développement dans le sang) lorsque les parasites sont résistants, car, comme dit précédemment, l'adaptation à un coût biologique (on le voit ici en terme de priorité des processus biologiques). Les protéines sur exprimées sont potentiellement de bons marqueurs de résistance à la Méfloquine [67] :

- L'HAP, protéase à activité endo-peptidase pour l'acide aspartique dans la vacuole digestive du parasite. Avec trois autres enzymes (les plasmepsines I, II et IV) elle est impliquée dans la dégradation de l'hémoglobine. Bien que son développement chez les souches résistantes ne soit pas encore bien élucidé, sa localisation identique au site d'action de la molécule suggère que cette protéine joue un rôle majeur dans la survie du parasite.
- L'Exportine I, un *nuclease transporter* » ayant un rôle important dans la médiation des protéines nucléaires, de l'ARNm et l'export de principes actifs. Cette protéine régulerait le phénotype de résistance par les cycles de régulation et de transcription de la cellule.
- L'eIF-3 (pour *eukaryotic translation initiation factor 3*), qui joue un rôle dans la synthèse des protéines. Elle est exprimée dans de nombreuses situations de résistance (les cellules lymphoblastiques humaines dans la leucémie par exemple, où il y a une résistance croisée entre Prédnisolone, Vincristine, Daunorubicine et Asparaginase). *P.falciparum* serait sujet à des modifications de régulation dans la synthèse protéique grâce à cette protéine en présence de MQ.

- La Peptidyl-prolyl cis-trans isomérase, qui accélère la formation de la configuration des protéines, est, elle aussi, impliquée dans de nombreuses autres résistances.
- La SERP, qui contient un motif type de cystéine peptidase, et qui est codée par le gène MLF3, semble avoir une fonction moléculaire importante dans la résistance.
- Exp-1, qui est une protéine transmembranaire et un antigène de *P.falciparum*. Elle permet le transport des nutriments depuis les globules rouges infectés vers le parasite. Cette protéine pourrait être impliquée dans le transport du principe actif via une médiation de la perméabilité membranaire des globules rouges.
- La chaîne bêta de l'ATP synthétase, précurseur mitochondrial identifié dans la vacuole digestive du parasite. Elle fait aussi partie des protéines ABC et permettrait l'efflux de la MQ.
- La *Phospholipid scramblase 1* et l'énolase (une enzyme glycolique) sont aussi toutes deux souvent retrouvées surexprimées dans des résistances diverses (réponse à l'arsenic, résistance de cellules lymphoïdes etc.).

Au-delà d'être un exemple concret de réponses adaptatives, l'étude que nous venons de citer (Sa and Twu, 2010) nous montre que la mutation en *pfmdr1* joue, certes, un rôle dans l'apparition de résistance à la Méfloquine, mais qu'elle n'est pas l'unique explication du mécanisme mis en place. En effet, de nombreuses autres protéines semblent jouer un rôle crucial et doivent, de fait, faire l'objet d'analyses poussées, pour à la fois comprendre les mécanismes dans lesquels elles sont impliquées mais aussi pour trouver de nouvelles cibles médicamenteuses.

F-2) La résistance à la Chloroquine et à l'Amodiaquine

a) Chloroquine

Constatée pour la première fois en 1950 en Asie du sud-est (frontière entre la Thaïlande et le Cambodge), puis en 1957 en Amérique du sud (Colombie), la Chloroquino-résistance s'est rapidement propagée dans d'autres pays d'Asie, puis en Afrique où elle touche aujourd'hui la totalité des zones d'endémie palustre [53]. Sa facilité d'accès de par son faible coût et sa bonne efficacité (et ceci pendant plus de 30 ans dans tous les pays du monde) expliqueraient l'apparition et la diffusion rapide de cette résistance. Il s'ensuivit une hausse logique de la mortalité du au Paludisme [34]. Les origines et la dissémination de cette résistance ont grandement entravé les plans de contrôle de la malaria déjà mis en place.

On sait maintenant que deux mécanismes confèrent, entre autres, la capacité du parasite à survivre à la Chloroquine.

- Le premier est une augmentation de l'expulsion du principe actif en dehors de la vacuole digestive du parasite, empêchant ainsi l'accumulation du produit permettant la formation d'hématine. On a donc une résistance par mécanisme d'efflux. Il semblerait même que ce mécanisme soit 40 à 50 fois plus puissant chez le phénotype mutant que chez le phénotype sauvage [47].

Concernant la formation de ce mécanisme, une grande partie des études l'attribue à des modifications dans le codage génétique des protéines de transport. Le recueil de plus de 4500 sérums humains collectés dans 19 populations du Pacifique entre 1959 et 1979 (période d'apparition d'échec des traitements à la Chloroquine dans le Pacifique) a permis de mettre en évidence les gènes impliqués dans ce mécanisme de résistance [49]. Une amplification par PCR puis un séquençage d'une portion de l'exon *Pfcr2* de 771 individus infectés par le Paludisme à *P.falciparum* a montré que le gène *Pfcr2* (*Plasmodium falciparum chloroquine resistance transporter*) était l'un des meilleurs candidats à la Chloroquino-résistance : ce gène, positionné sur le chromosome 7 parasitaire, code la protéine de transport PfCRT [49].

Des substitutions d'acides aminés ont été constatées chez les formes résistantes dans les portions géniques codant pour le transporteur membranaire de la vacuole digestive (permettant ainsi un efflux du principe actif). En effet, le codon en position 76 (K76T) révèle une substitution d'une lysine (K) en thréonine (T) chez PfCRT. Il s'agit de la substitution la plus suspectée d'avoir un grand rôle dans le mécanisme de résistance, bien qu'elle fasse partie

des dix substitutions observées entre la forme CQR et la CQS sur cette portion génique. Les substitutions en positions 72, 73, 74, 75 et 76 forment ainsi différents haplotypes de la zone *Pfcr* exon 2, responsables de la forme CQR [49].

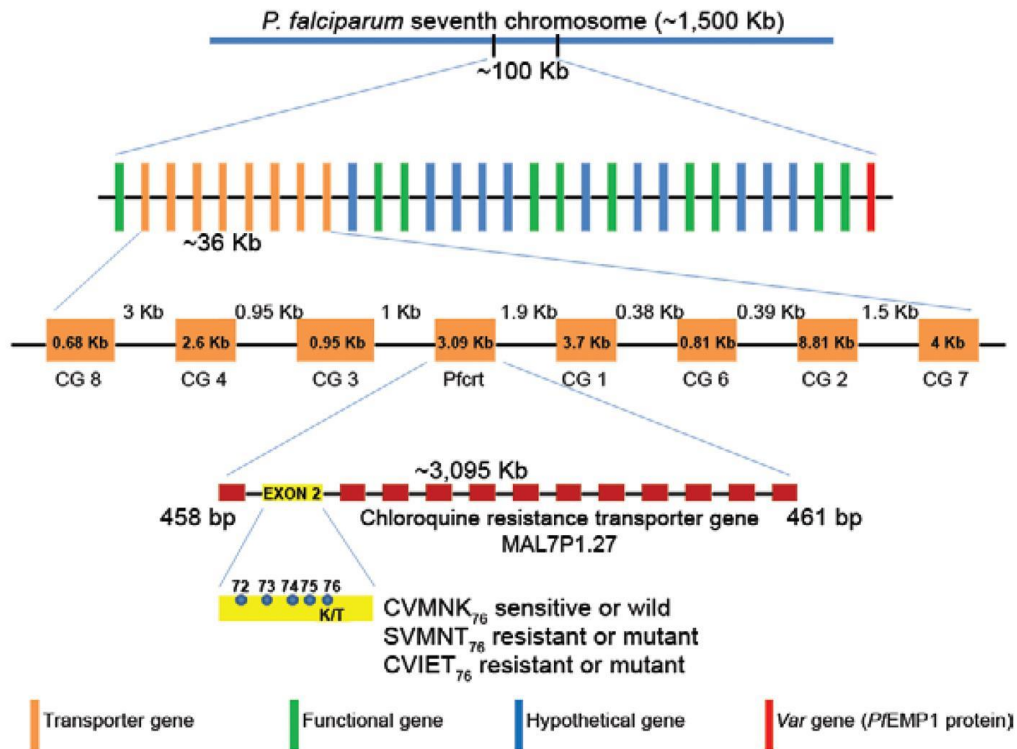


Schéma 49 : Emplacement du secteur d'environ 100Kb dans le 7^{ème} chromosome de *P.falciparum* contenant les gènes du transporteur [48].

Cinq haplotypes majeurs seraient responsables de la résistance dans la zone *Pfcr*, dont CVIET, SVMNT (Schéma 49). CVMNK est connu pour être l'haplotype sensible ancestral aux gènes de *P.falciparum*, et se décrit de la manière suivante : C₇₂V₇₃M₇₄N₇₅K₇₆. Les lettres correspondent à un acide aminé précis (Annexe 4) positionné à telle paire de base (correspondant au numéro), le phénotype sauvage sensible se définit donc avec les positions suivantes : en 72 une cystéine, en 73 une valine, en 74 une méthionine, en 75 une asparagine et en 76 une lysine [50].

Les haplotypes CVIET et SVMNT sont dérivés de CVMNK et sont largement distribués dans les zones de résistances du globe. Trois autres variants, en l'occurrence SVIET, CVMNT et CVTNT, présentent également une fréquence relativement élevée.

L'apparition de nouvelles résistances liées à la formation d'haplotypes dérivés repose sur une mutation unique qui peut se combiner à de nouvelles mutations (double, triple, quadruple) (Schéma 50) [50].

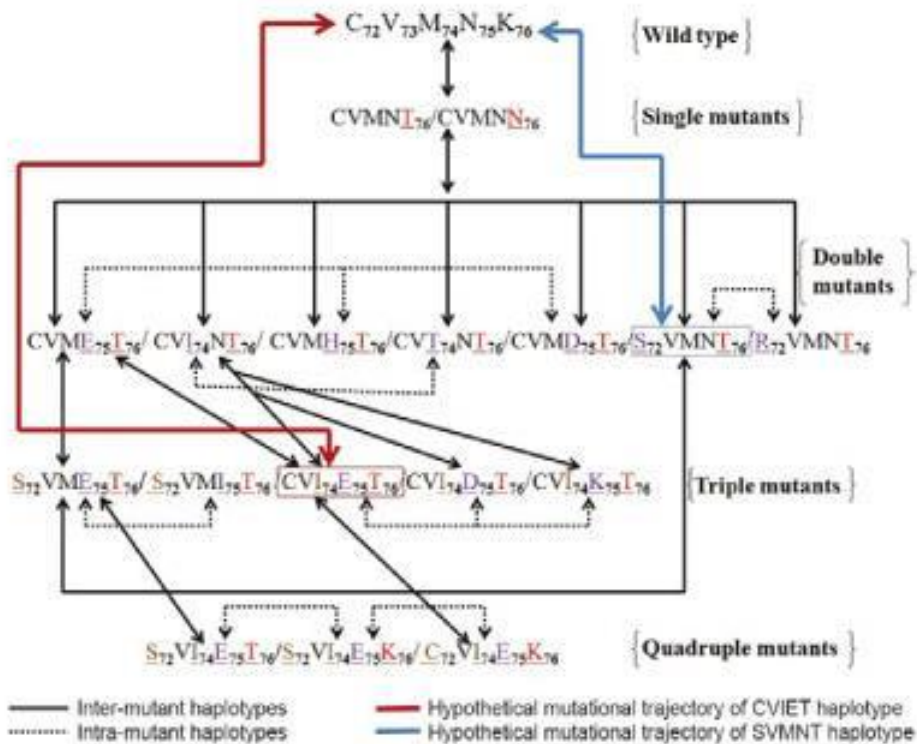


Schéma 50 : Origine génétique des différentes résistances à la Chloroquine : hypothèses relatives à l'évolution des différentes trajectoires des mutations [50].

Ces études sur le déterminisme rendent compte de la complexité et de la diversité des mécanismes impliqués. Comme nous l'avons vu précédemment, les premiers échecs au traitement n'étaient pas localisés dans la zone géographique décrite dans l'étude menée dans le Pacifique mais sont le résultat d'une dissémination intense dans les zones d'endémie (Schéma 51) [34].

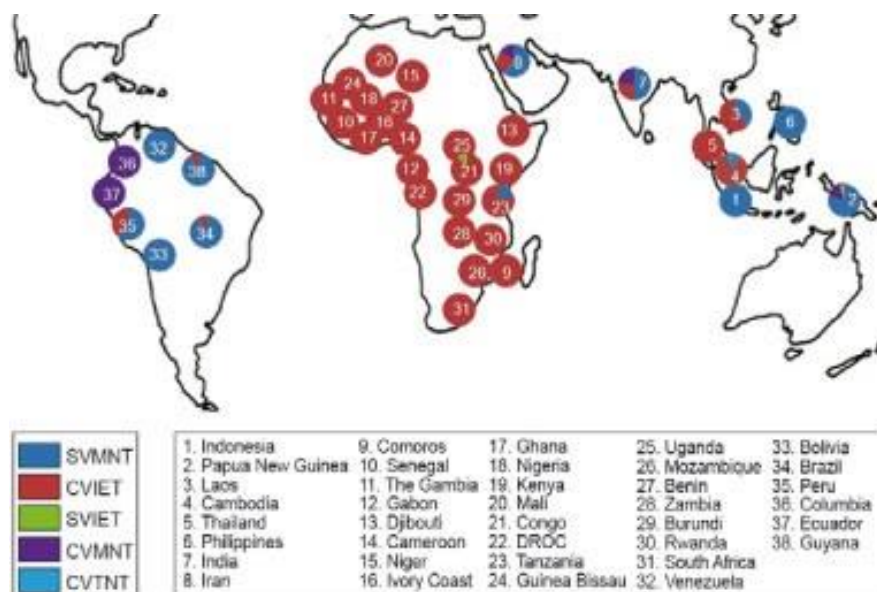


Schéma 51 : Distribution géographique mondiale des 5 haplotypes de résistance à la Chloroquine les plus fréquents [50].

• L'autre mécanisme responsable de la résistance à la Chloroquine s'explique par les mutations du gène *Pfmdr1*. Même si le rôle du polymorphisme des nucléotides de ce gène est encore débattu, il jouerait très certainement un rôle dans la susceptibilité à la Mefloquine, ainsi qu'aux ATC. Positionné sur le chromosome 5 parasite, ce gène code pour la P-glycoprotéine homologue (Pgh1), une protéine de la superfamille des ABC transporteurs ou transporteurs à *ATP Binding Cassette* (structure sur le Schéma 52). Il s'agit d'un ensemble de protéines transmembranaires qui permet le passage unidirectionnel de substances via l'ATP au travers de la membrane cytoplasmique. L'utilisation de NP 30 (Nonylphénol éthoxylate), qui est un substrat de cette protéine de transport ainsi qu'un inhibiteur d'efflux de la Mefloquine, a permis de sensibiliser plus de 80% des souches résistantes à cette molécule testée [68]. Ce mécanisme améliore donc l'efflux de la Mefloquine, mais il agit aussi sur la Chloroquine, la Quinine, l'Amodiaquine, la Luméfantine et l'Artémisinine [51]. Le gène *Pfmdr1* est un marqueur moléculaire de multi-résistance plus que d'une résistance unique, bien qu'une augmentation de la sensibilité du parasite à l'Artémisinine et à la Mefloquine soit possible lors de mutation du gène *Pfmdr1*.

Cinq zones de mutations liées à la résistance ont été identifiées, au niveau des codons N86Y, Y184F, S1034C, N1042D et D1246Y. Une association de mutations sur les deux gènes, dont nous venons de parler, multiplie considérablement les risques de résistance *in vivo* vis-à-vis de la Chloroquine.

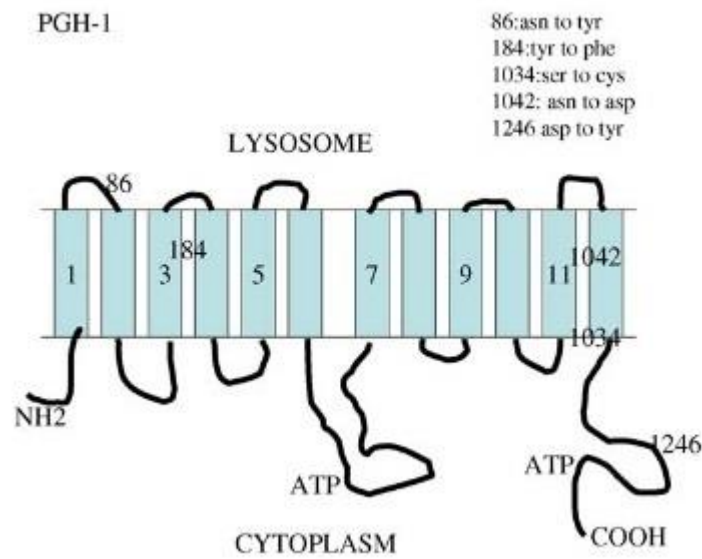


Schéma 52 : La protéine Pgh1 de *P.falciparum*, avec les zones de polymorphismes lié à la résistance parasitaire [52].

Contrairement aux mutations sur le gène *Pfcr1* qui engendrent des résistances, celles sur le gène *Pfmdr1* semblent moduler le niveau de ces résistances et non les créer [34]. En effet, des mutations sur *Pfmdr1* engendrent des déséquilibres de liaisons sur les allèles de *Pfcr1*, celles-ci provenant d'une pression de sélection de la Chloroquine. L'association de polymorphismes marqués pour chacun de ces deux gènes résulte d'une intense Chloroquino-résistance [52].

Quoiqu'il en soit, l'analyse de possibles mutations sur la zone 86 permet d'anticiper la sensibilité à la Chloroquine du parasite, et le gène *Pfmdr1* joue un rôle important dans l'obtention de facteur impliqué dans le processus complexe d'acquisition de la résistance à la Chloroquine.

Les mutations du gène *Pfmdr1* sont localisées en Amérique du sud, en Indonésie, en Asie et particulièrement en Afrique (Schéma 53). On considère que la résistance à la Chloroquine et le polymorphisme qu'elle implique engendrent aujourd'hui des altérations de la sensibilité du parasite à la Méfloquine, l'Halofantrine, la Quinine et l'Artémisinine. Si nous avons encore un doute à propos de l'utilité de suivre l'évolution des différentes résistances, nous avons une raison de plus de s'y intéresser davantage.

Une conséquence logique liée à la perte d'efficacité de la Chloroquine est l'utilisation intensive de Sulfadoxine-Pyriméthamine, qui aujourd'hui engendre des pertes de sensibilité vis-à-vis de cette association. Quelques-uns des foyers de possibles émergences de multi-résistances ont d'ores et déjà été localisés dans certaines zones endémiques du globe (Schéma 53). Parmi ces derniers, les bordures Ouest et Est de la Thaïlande ainsi que le bassin Amazonien figurent comme les plus « multi résistants ». Ces zones sont particulièrement importantes à surveiller car sujettes à un fort taux de transmission du parasite et caractérisées par une densité élevée de ces derniers [53].

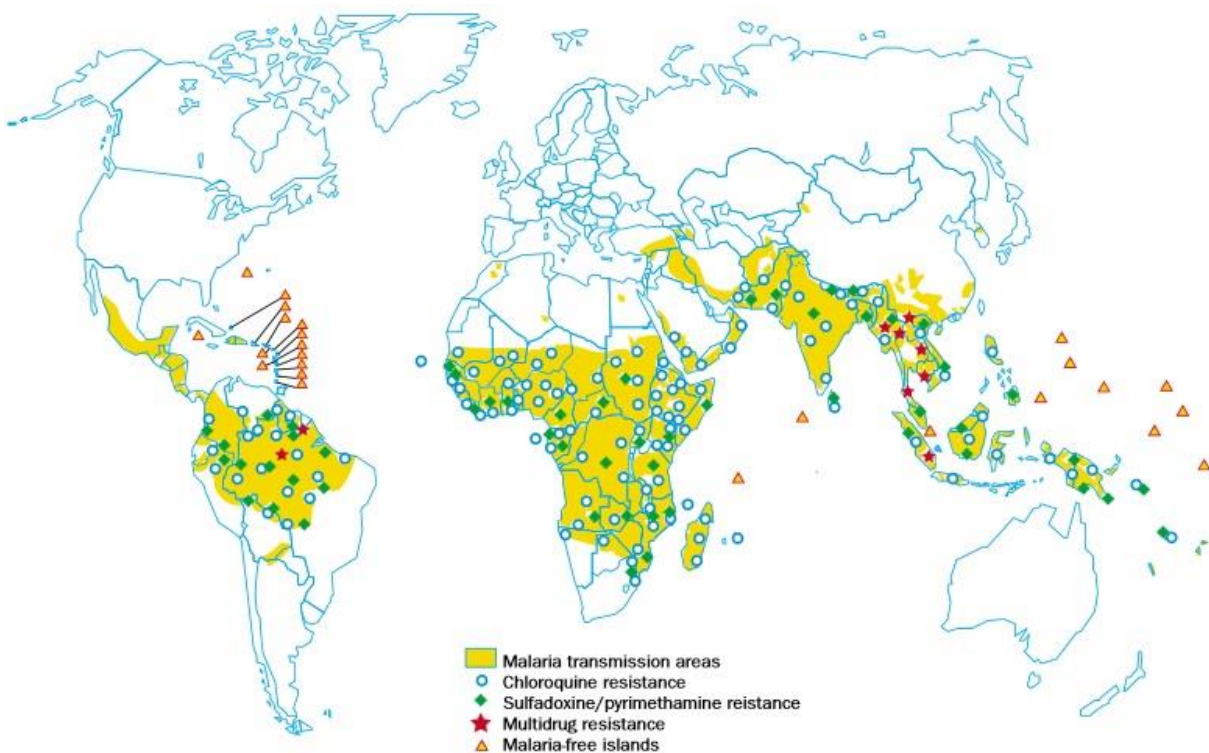


Schéma 53 : Aires avec une susceptibilité réduite de *P.falciparum* vis-à-vis de la chloroquine et de la Sulfadoxine-Pyriméthamine, ainsi que les foyers de multi résistance [53].

b) Amodiaquine

Les baisses d'efficacité constatées dans les traitements à base de Chloroquine et de Sulfadoxine-Pyriméthamine (imputables à l'émergence des résistances à ces principes actifs) ont engendré un regain d'intérêt pour l'Amodiaquine ainsi que son association avec les dérivés de l'Artémisinine, et notamment avec l'Artésunate. Nous constatons néanmoins

aujourd'hui des résistances à cette molécule et à ses associations, conséquence inévitable de cette utilisation compensatoire importante. Des résistances croisées ont été constatées *in vitro* et *in vivo* entre la Chloroquine et l'Amodiaquine. Face à ce constat, et partant du principe que les structures des deux molécules sont particulièrement proches ainsi que leur mode d'action analogue, des recherches sur les marqueurs de résistance à la CQ sont développées pour comprendre la résistance émergente à l'AQ.

Les mécanismes de résistance mis en jeu s'orientent vers la molécule de base (AQ) ou son métabolite actif (le N-deséthyl-amodiaquine). Des mutations dans les gènes *Pfcr1* et *Pfmdr1* ont été associées à des échecs thérapeutiques à base d'AQ. De ce fait, les mécanismes modifiés ici sont les mêmes que ceux de la CQ. Les études actuelles portent sur le polymorphisme allélique de ces deux gènes et ont pour objectif d'élucider l'origine et les mécanismes de cette résistance. La mutation 76T sur *Pfcr1* joue le rôle de médiateur principal de la résistance, et toutes les autres mutations sur ce gène semblent permettre d'accroître la survie du parasite avec cette mutation. Le second marqueur principal de la résistance est la mutation 86Y sur le gène *Pfmdr1* qui joue un rôle ici bien plus important que dans la résistance à la CQ. En effet, comme mentionné précédemment, *Pfmdr1* code pour la *P-glycoprotein homologue* (Pgh1), et comme l'AQ s'accumule plus que la CQ dans la vacuole alimentaire parasitaire, la mutation de Pgh1 peut ainsi accélérer l'efflux d'AQ (mais pas de la CQ à des niveaux cliniquement pertinents) [66].

Pour certaines études, seul le polymorphisme du codon *Pfmdr1* 86Y est analysé car son rôle majeur dans la résistance à l'AQ n'est aujourd'hui plus à démontrer. Le facteur limitant les études sur ces marqueurs de résistance, dont celles portant sur l'Amodiaquine, est qu'il est particulièrement compliqué d'extraire des données prouvant la concordance entre le génotypage et les résistances.

La confrontation et la compilation des rapports issus de différents pays concernant l'AQ a permis de mettre en lumière le rôle important de l'haplotype SVMNT du gène *Pfcr1* correspondant aux positions 72 à 76 (de la même manière que la Chloroquine) dans l'émergence de la résistance.

Ce constat provient de la convergence des analyses des zones Africaines caractérisées à la fois par la présence de l'haplotype SVMNT et par l'utilisation intensive d'AQ qui a engendré la sélection des souches résistantes (zones en rouge dans le Schéma 54). De la même manière, on a constaté en Tanzanie une augmentation de 0 à 19% de prévalence de l'haplotype entre 2003 et 2004, et ceci juste après une utilisation massive d'AQ.

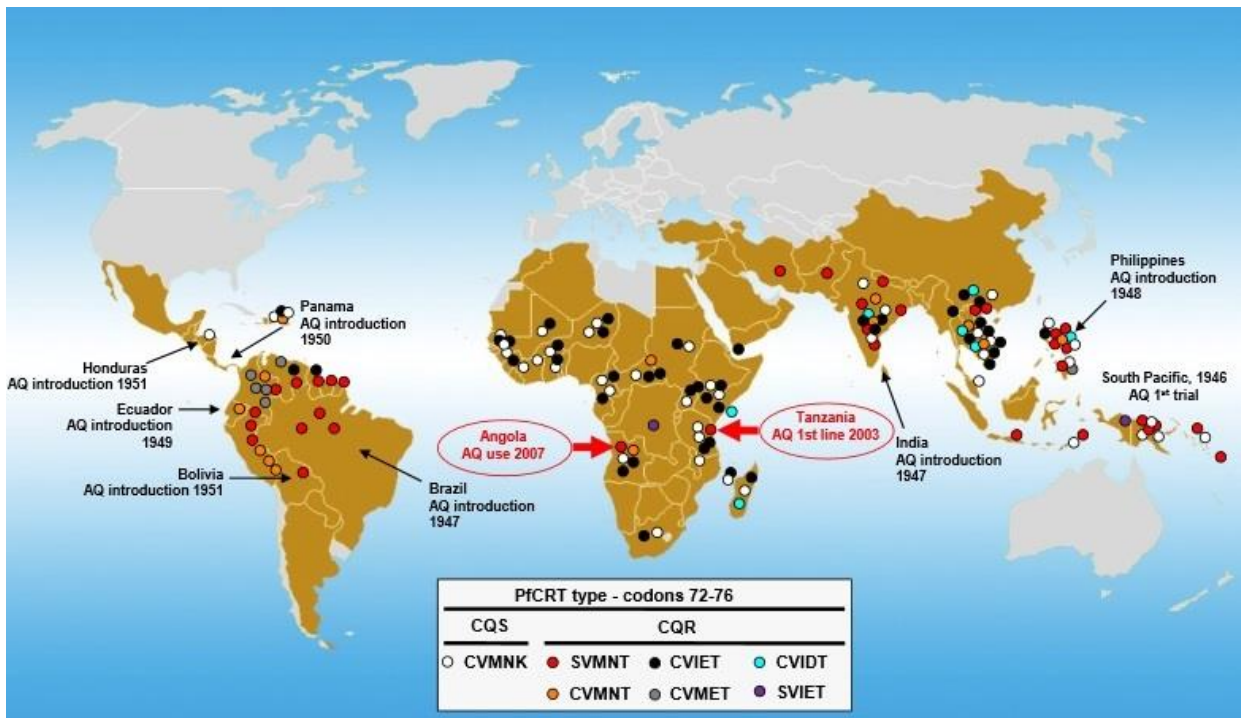


Schéma 54 : Répartition mondiale des haplotypes majeurs de PfCRT dans les zones d'endémie du Paludisme [67].

Les parasites possédant cet haplotype sont grandement résistants à la molécule, et modérément à la CQ (c'est l'inverse pour CVIET). La répartition géographique de cet haplotype étant très globale, il est crucial de la suivre via ce marqueur moléculaire car il identifie la résistance à l'Amodiaquine [67].

L'intérêt d'isoler au maximum un petit groupe d'allèles est de pouvoir un jour les détecter dans le cadre de tests moléculaires simples et fiables, et pouvoir ainsi conclure sur une possible résistance au médicament.

F-3) La résistance à l'Atovaquone et à ses associations

C'est, semblerait-il, en 2002 que la première résistance à cette association fut constatée chez un européen non immunisé revenant d'Afrique. De par son effet sur le cytochrome,

l'Atovaquone libère des espèces réactives de l'oxygène chez le parasite. L'une des hypothèses aujourd'hui les plus crédibles quant à l'apparition des mutations conférant au parasite une résistance au traitement réside dans l'interaction de ces ERO sur le génome parasitaire. En effet, on peut trouver chez ces ERO des nucléotides 8-oxo-guanine ayant la particularité de s'assembler en paire de bases avec l'adénine lorsqu'il est incorporé à l'ADN. En conséquence, on assiste un remplacement de la paire de base A : T par G : C. Ce remplacement est commun lors de la mutagenèse par des radicaux libres et aura son importance dans le processus de résistance. Il reste néanmoins important de faire attention aux contextes d'administration du médicament. En effet, la prise concomitante de nourriture riche en graisses augmente particulièrement l'activité de la Malarone® (qui est très lipophile). Il s'agira donc de bien différencier un échec de traitement dû à une faible bio activité et à une résistance parasitaire avérée. De plus, de nombreux mécanismes restent encore à élucider, ceci n'est pour le moment qu'une hypothèse.

Le mécanisme réside donc ici dans des mutations géniques ayant engendré un polymorphisme allélique conférant au cytochrome parasitaire des modifications de volume et d'interactions hydrophobiques sur les chaînes d'acides aminés qui fondent l'affinité de liaison avec l'ATQ (et donc engendre sa toxicité chez le parasite).

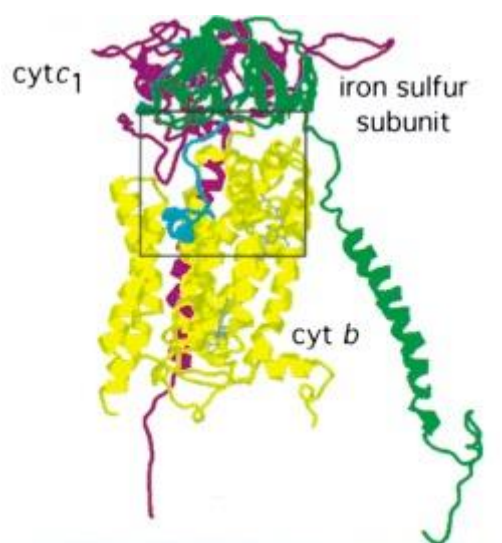


Schéma 55 : Visualisation des trois sous unités redox dans le complexe mitochondrial « cytochrome bc1 » du poulet [62].

Nous avons ici (Schéma 55) le complexe cytochrome bc1 où agit le principe actif. Il s'agit d'une structure cristalline réalisée à partir du complexe bc1 du poulet qui sert aux modélisations moléculaires prédictives chez le parasite (des modèles bovins s'utilisent parfois aussi). Cette structure permet de visualiser en magenta le cytochrome c1, le cytochrome b en jaune et la sous unité fer/soufre en vert. Le cadre gris représente la zone probable de liaison de la molécule, ce sont les deux hèmes du complexe.

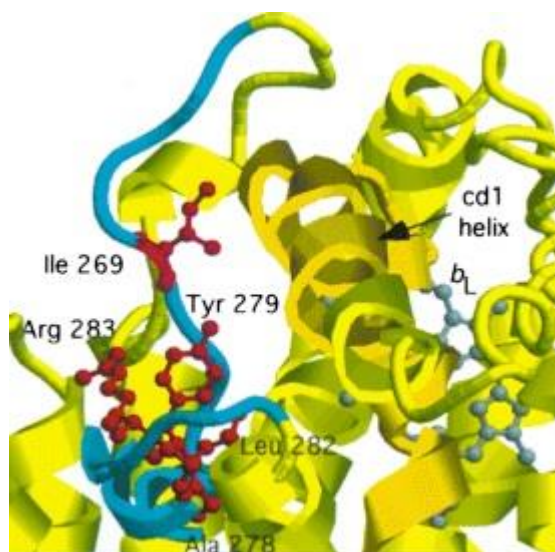


Schéma 56 : Une vue de près de la région encadrée en gris sur le Schéma 55 [62].

Les acides aminés modifiés chez le parasite résistant à l'ATQ sont ici colorés en rouge dans la zone « critique » cyan. De ce fait, la liaison au médicament est altérée, il n'exerce alors plus son effet toxique et le parasite est résistant [62].

Les positions 264-288 dans la zone cyan (Schéma 55) sont donc cruciales pour la résistance, car la majorité des mutations observées sur le gène du cytochrome b s'y trouvent. Différentes études ont déjà identifié de nombreux marqueurs moléculaires intéressants : [64]

- Chez des souches de *P.falciparum* résistantes on a trouvé *in vivo* une substitution au codon 268 d'une tyrosine par une cystéine (en Thaïlande) ou une asparagine (au Nigéria). Ce remplacement par des acides aminés moins volumineux dans le site d'oxydation de l'ubiquinol semble affecter la liaison à l'ATQ.
- Mutation retrouvée chez *P.yoelii* lors d'une étude sur des souris infectées et traitées à des doses sub-thérapeutiques.

- Dans cette même étude, des souches de *P.berghei* résistantes ont révélé une mutation au codon 284 d'une valine en lysine avec une élévation de cette résistance favorisée par des mutations aux positions 133 et 144.
- Sur des souches mutées *in vitro* de *P.falciparum* (de la même manière que *P.yoelii*) on a constaté qu'une mutation initiale en position 133 semble conférer une faible résistance mais qui peut être potentialisée par des mutations dans le domaine 272-280. Dans une autre analyse, un changement d'une leucine en phénylalanine en 271 (L271F) est aussi corrélé à la résistance, et l'association au Cycloguanil a montré une mutation au codon 133 de méthionine en isoleucine (M133I) rendant la synergie inefficace de par une altération stérique du site de fixation. Malgré tout, *in vivo* cette mutation a été associée à une résistance uniquement en compagnie d'une substitution d'une glycine en acide aspartique au codon 280, ce qui permet de supposer que cette mutation n'influence pas le développement d'une résistance seule.

Ce que l'on constate, c'est que la résistance à l'Atovaquone (ainsi qu'à son association au Cycloguanil) s'identifie à des mutations sur le gène codant pour le cytochrome bc1 parasite, et tout particulièrement dans le domaine 264-288 du fait de sa possible implication dans l'interaction avec le principe actif. Ce qui est original, c'est de constater que nous avons attendu d'avoir des échecs thérapeutiques pour nous intéresser au site de fixation de certains principes actifs que nous utilisons contre le Paludisme, comme si cette information était superflue dans l'utilisation que nous faisons de la molécule (bien que nous n'ayons pas toujours eu les moyens technologiques d'effectuer ces analyses).

Pour confirmer ces constats, l'équipe de Michael Korsinczky and al. a mené l'enquête. Revenons tout d'abord à notre complexe bc1 de poulet (Schéma 55). Les protéines descendent d'un ancêtre commun, et conservent parfois des caractéristiques structurales, fonctionnelles ou séquentielles entre elles. Parfois, des formations protéiques sont structurellement superposables (si c'est cette caractéristique qui s'est conservée) et ceci malgré la grande divergence que l'on constate entre leurs séquences codantes (ce sont des homologies de structure). On parle de SCR, ou *Structurally Conserved Region*. A l'inverse, il existe des SVR, c'est-à-dire des *Structurally Variable Region*. Les SCRs présentes sur le cytochrome bc1 entre le poulet, les bovins et *P.falciparum* sont comparables entre elles (avec quelques écarts de prédictions mineurs).

L'équipe de cette étude a dressé un tableau comparatif (Annexe 5) des alignements séquentiels d'acides aminés (formant le complexe bc1 respectif à chaque espèce), tout en se focalisant sur les SCR : c'est-à-dire les seules régions comparables entre elles. Les résidus impliqués dans la liaison à l'Atovaquone sont en gras. Les résidus associés à la résistance à l'Atovaquone sont marqués de la manière suivante : *P.falciparum* (●), *P.berghei* (■), *P.carinii* (○) et *P.yoelii* (□). Le site putatif de liaison est marqué par Q_o [65].

Les mutations sont exclusivement localisées dans deux zones séquentielles : entre 119 et 147 et entre 243 et 289. Ce que l'on observe, c'est que la quasi-totalité de ces mutations engendrant des résistances est localisée sur des résidus impliqués dans la liaison au principe actif dans la séquence codant pour le cytochrome bc1. Ces intervalles correspondent exactement à l'encadrement des positions des mutations que nous avons précédemment observées : la région clé est bien la zone codante pour Q_o. L'équipe a, par la suite, identifié des troubles d'interactions hydrophobiques du cytochrome avec le site de liaison de la molécule comme souvent responsables de la résistance à l'ATQ (Y268S, V284K entre autres). De plus, des altérations stériques à ce même site (venant de la mutation M133I) associés à la mutation K272R, P275T, ou G280D sont aussi responsables de la résistance [65]. Pour l'instant, ce sont les deux systèmes défailants où résident les mutations responsables de la résistance à l'ATQ ainsi qu'à son association au Proguanil.

F-4) La résistance aux associations à base d'Artémisinine

Le déclin de l'efficacité de la Chloroquine dans les années 1990, puis de la Méfloquine un peu plus tard a entraîné l'utilisation de l'Artémisinine à une échelle mondiale. Son utilisation systématique en traitement de première ligne se fait depuis 2001 dans plus de 60 pays. Cette substance, initialement utilisée de manière localisée en Chine et en Birmanie, a rapidement dû être associée à d'autres principes actifs antiparasitaires pour garantir une efficacité totale dans le traitement du Paludisme. En effet, elle nécessite d'être utilisée en association pour assurer la destruction complète des parasites dans l'organisme. Cependant, malgré tous les espoirs initialement portés sur cette molécule, des résistances sont rapidement apparues en Asie du Sud-Est. Ces phénotypes de pharmacorésistance se sont disséminés avec le temps vis-à-vis des différentes associations à cette substance [34]. Il va de soit de dire qu'une telle situation est inquiétante, au vu du nombre réduit d'alternatives thérapeutiques qu'il nous reste qui n'ont

pas perdu d'efficacité sur le parasite. La dissémination de cette résistance au Mékong serait dramatique, car c'est par cette voie que les résistances à la Sulfadoxine–Pyriméthamine et à la Chloroquine se sont disséminées en Afrique. En 2013, la résistance à l'Artémisinine (ART) était décrite non seulement à la frontière entre le Cambodge et la Thaïlande, mais aussi au Vietnam, au Laos et la Birmanie. Les analyses sont concentrées sur la résistance à l'ART étant donné que cette molécule est toujours présente dans les ACTs, ou parfois sur l'analyse de ses dérivés (Artéméther, Artésunate) [71].

Concernant cette molécule de base, plusieurs marqueurs potentiels ont été identifiés : [69]

- Tout d'abord sur le chromosome 13
 - Une zone de 35 kB où des mutations sont associées à des modifications de temps de clairance parasitaire.
 - La zone *kelch 13*.
 - Sur le codage de la *fd* (ferredoxine).
 - Le système de réparation d'ADN nommé RAD5 (*rad5*).
- Ensuite sur le chromosome 14 :
 - Le gène codant pour « apicoplast ribosomal protein S10 » (*arps 10*).
 - Le gène multi drug resistance 2 (*mdr 2*).
- Enfin sur d'autres gènes (non regroupés au même endroit)
 - Le « chloroquine résistant transporteur » (*crt*) au chromosome 7.
 - La protéine cystéine falciparine 2a, au chromosome 11 (*fp2a*).
 - Le gène *Pfubp1* sur le chromosome 1.
 - Le gène *Pfap2-mu* sur le chromosome 12.
 - Le SERCA (pour sarco/endoplasmic reticulum calcium ATPase), ou aussi appelé PfATP6 (codée par le gène *pfatp6*).

Les pistes sont donc nombreuses et nécessiteront encore énormément d'analyses et d'évaluations génétiques pour pouvoir être confirmées. Par conséquent, ces informations restent à considérer avec précautions. Selon la WHO, les marqueurs les plus disposés à être impliqués dans la résistance à l'ART sont la protéine PfATP6, le gène *Pfmdr1*, la protéine PfUBP1, et le SERCA. L'implication de la protéine Kelch 13 est aussi maintenant certaine dans la résistance.

a) Les marqueurs à fort potentiel

• La protéine Kelch 13

Les mutations sur le gène *Kelch 13* (chromosome 13) sont corrélées à une résistance *in vitro* à l'Artémisinine et à des diminutions de clairance parasitaire *in vivo*. L'hélice k13 est formée par trois domaines de 225 acides aminés :

- un domaine N-terminal spécifique du *Plasmodium*.
- un domaine BTB/ POZ.
- un domaine de type hélice C-terminal à six pales qui forme les motifs de la protéine.

Ces motifs dits canoniques, c'est-à-dire conventionnels, ont été conservés pendant l'évolution à travers différentes espèces et sont groupés dans la catégorie des protéines de type KLHL. La protéine la plus proche de celle du *Plasmodium* (Kelch 13) est la protéine KLHL 19 humaine (voir Schéma 57), ou KEAP 1, qui est un régulateur négatif du Nrf2 (*nuclear erythroid 2-related factor 2*) qui lui-même est un facteur de transcription inductible permettant l'activité de détoxification dans le processus du stress oxydatif via des ARE (*antioxidant response element*). KLHL 19 va ubiquitiner et provoquer la dégradation de Nrf2 grâce à son complexe culline ligase 3. Bien qu'aucun orthologue de Nrf2 n'ait été identifié chez *Plasmodium*, on suppose que Kelch 13 a un rôle important dans la détoxification du parasite lors de la présence d'une molécule active. Une étude a analysé des échantillons de *Plasmodium falciparum* exposés à l'Artémisinine et dont la clairance parasitaire chez les patients a été modifiée. Plus précisément, c'est la séquence codant pour Kelch 13 qui a été étudiée et 17 mutations dans ce gène ont été trouvées et par conséquent reliées à la modification de la clairance parasitaire, donc potentiellement des marqueurs de la résistance.

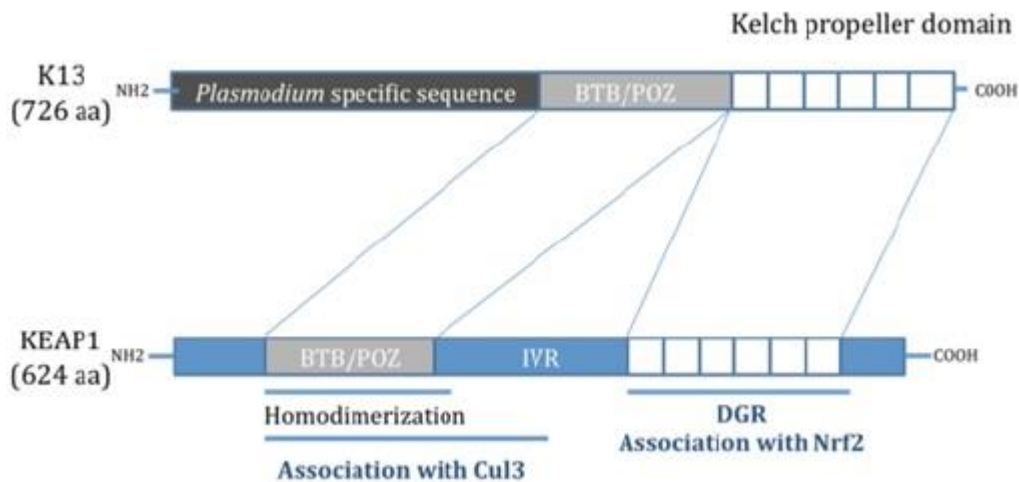


Schéma 57 : Représentation schématique de l'homologie entre la protéine Kelch 13 parasitaire et la protéine KEAP1 humaine [117].

Le polymorphisme de *pfk13* a donc un rôle majeur dans la résistance. Parmi les mutations que l'on y retrouve, une a été mise en évidence comme étant capable de perturber la fonction de la protéine : A578S (alanine en sérine), et ceci grâce à la modification de l'interaction avec les autres protéines via l'altération des charges de surface. La superposition des modèles sauvages et résistants (Schéma 57 b) montre combien les mutations en 578 sont susceptibles de modifier structurellement la protéine (phénomène observé aussi avec la mutation C580Y, par le remplacement d'une cystéine en tyrosine). Ceci est en accord avec une autre étude affirmant que toute mutation sur cette séquence génique après la position 440 engendre des modifications structurelles graves pour la fonction de la protéine. La mutation M476I (méthionine en isoleucine) est, elle aussi, liée (pour les mêmes raisons) à une résistance *in vitro* à l'ART, ainsi que les mutations Y493H, I543T, R539T [70] [72]. On sait maintenant avec certitude que les mutations se produisent à des positions du gène *kelch 13* strictement conservées entre espèces de *Plasmodium*. Ceci suggère donc de fortes contraintes fonctionnelles et structurelles sur la protéine qui déstabilisent alors la structure et donc la fonction même du domaine [117].

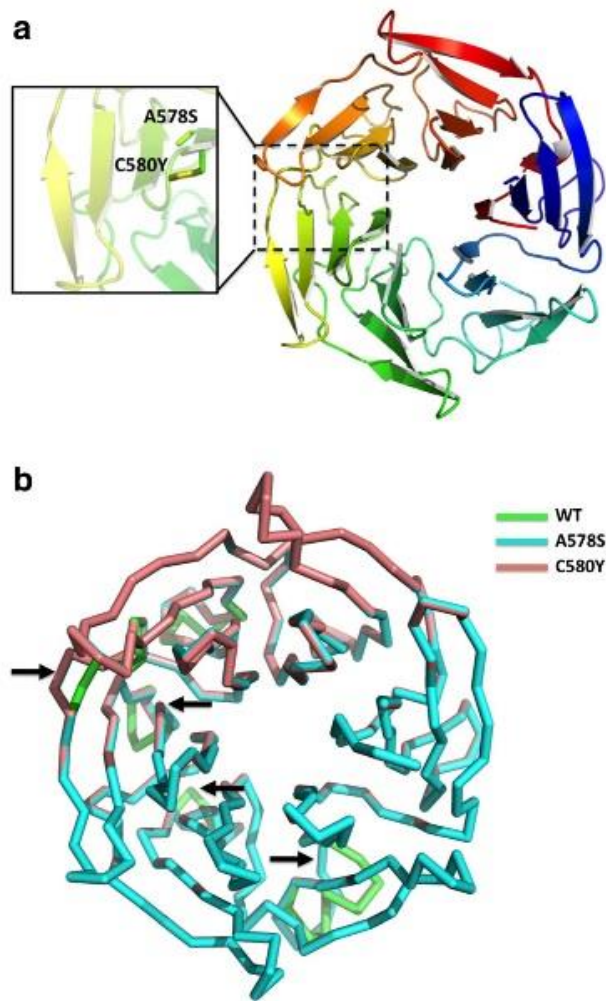


Schéma 58 : a : Localisation des sites de mutations vis-à-vis de la totalité de la protéine Kelch 13. b : Superposition des modèles sauvages et résistants de la protéine [70].

Sur le Schéma 57 a, on peut voir la modélisation de la protéine est faite via le modèle BTB-Kelch protein Krp1. En b, chaque couleur correspond à une zone de mutation, les flèches indiquent où les mutations influencent la pliure de la protéine [70].

- Le gène *Pfmdr1* et le SERCA

Pfmdr1 semble avoir lui aussi une importance dans la résistance à l'ART avec des réductions d'efficacité de la molécule constatées *in vitro* lors de l'augmentation de son nombre de copies. Ceci expliquerait d'ailleurs la résistance croisée avec les traitements type amino-alcools (Quinine, Méfloquine etc). Malgré tout, la relation entre le phénotype observé et l'augmentation du nombre de copies du gène n'est pas encore faite *in vivo* [72].

Les mutations vis-à-vis de l'enzyme PfATPase6 sont aussi des pistes très intéressantes pour la résistance, étant donné qu'il s'agit d'une cible spécifique possible du parasite. Une simple mutation d'acide aminé sur le gène codant pour cette enzyme suffit à moduler l'affinité de l'ART pour sa cible chez des oocytes de *Xenopus laevis* [72]. Une mutation d'une sérine en asparagine en position 769, ainsi que d'une leucine en acide glutamique en position 268 ont montré des diminutions intenses d'efficacité de l'ART, mais cela se limite à des résultats *in vitro*. La modification de la cible de la molécule, c'est-à-dire la sarco-endoplasmic reticulum calcium-ATPase, est donc ici impliquée [71]. Des modifications de l'inhibition de la chaîne respiratoire par l'ART au niveau mitochondriale ont aussi été constatées, et reliées à des mutations du gène codant pour PfATPase6. Les modifications du SERCA expliqueraient donc certains dysfonctionnements du système mitochondriale. Bien que constatée sur le terrain (en Guinée Française notamment), son implication dans ce mécanisme reste à vérifier [72].

Pour ces deux marqueurs, leurs implications dans les mécanismes de résistance se limitent à des preuves *in vitro*. Il faut donc encore confirmer ces résultats *in vivo*.

- Les pistes Pfap2-mu, Pfubp-1 et 26S-protSU

Les gènes *Pfap2-mu* et *Pfubp1* ainsi que *26S-protSU* montrent de nombreuses mutations chez des lignées de *P.Chabaudi* résistantes aux ACTs. On retrouve des polymorphismes de sensibilité aux ACTs homologues chez *P.falciparum*, et qui ont été identifiés en Afrique de l'Est et de l'Ouest (notamment au Kenya), et dans le Sud-Est Asiatique (Cambodge). *Pfubp1* régule une « *de-ubiquitinating enzyme* » (ou, aussi appelée précédemment, l'ubiquitine carboxyl-terminale hydrolase, UBP1). Le *Pfap2-mu*, lui, code pour la chaîne μ (mu) du complexe adaptateur protéique 2 (AP2). Enfin, le *26S-protSU* code pour une sous-unité régulatrice du protéasome 26S (26SPS). Ces trois gènes possèdent des polymorphismes qui ont été identifiés *in vitro* et *in vivo* mais ils sont encore trop méconnus pour être explorés et nécessitent encore des analyses poussées. Cependant, il semble très probable que des mutations sur ces zones géniques soient impliquées dans des mécanismes de résistance [78].

b) Un cas spécifique pour la WHO

L'importance accordée à ce risque d'émergence et de dissémination de ce type de résistance est telle que la World Health Organisation, en collaboration avec Roll Back Malaria, a mis en place un plan nommé *Global Plan for Artemisinin Resistance Containment* (ou GPARC) pour l'endiguer. Ce plan, fondé en 2011, propose différents objectifs à réaliser par les services de santé et les gouvernements des pays touchés par cette résistance dont : [71]

- Définir des priorités de confinement et de prévention de la résistance.
- Motiver l'action, décrire les responsabilités de chaque circonscription.
- Accroître la collaboration et la coordination pour le confinement de la résistance et la prévention entre les acteurs concernés.
- Mettre en place des mécanismes de gouvernance et de surveillance des progrès réalisés par le GPARC.

Le plan a pour objectif final de permettre l'élimination de la résistance à l'Artémisinine, sinon de la contenir et de prévenir sa dissémination, en se fondant sur les cinq activités décrites ci-dessous (chacune d'elle est indispensable). Pour ce faire, il est nécessaire de mobiliser des ressources financières et de motiver un maximum de ressources humaines (Schéma 58).

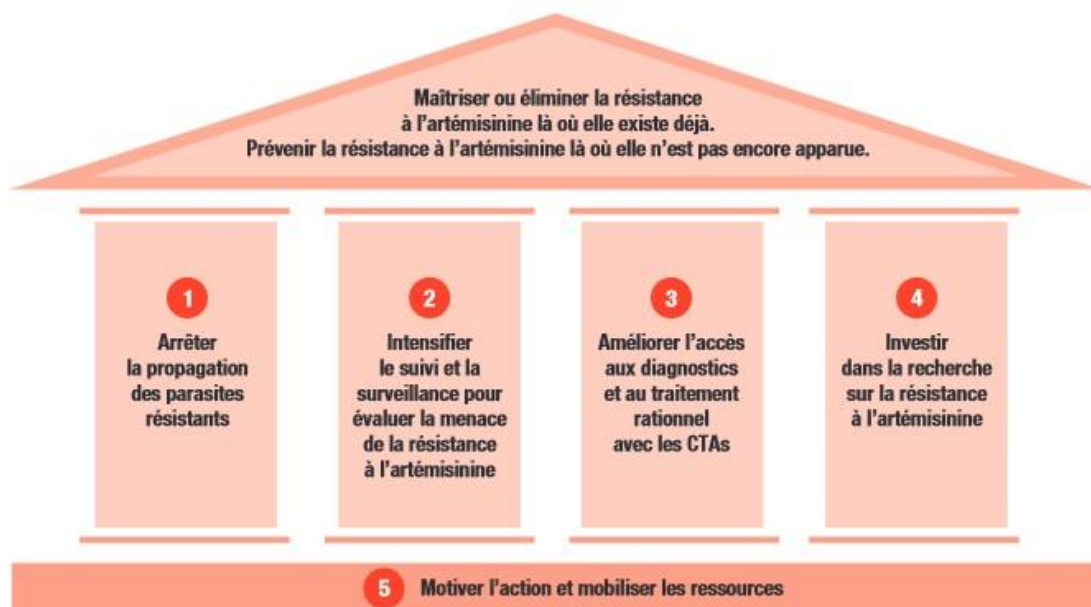


Schéma 59 : Objectifs et recommandations du GPARC [113].

Ce plan représente un ensemble d'actions supplémentaires nécessaires pour prévenir de la résistance à l'ART, tout en se fondant sur les politiques et les lignes directrices de l'OMS. Chaque pays va alors évaluer son niveau de risque pour établir, sur la base des recommandations GPARC, un programme de maîtrise ou de prévention.

F-5) La résistance aux antimétabolites et à leurs associations

Initialement utilisés en monothérapie, le Proguanil et la Pyriméthamine furent deux succès de la lutte contre le Paludisme. Leur utilisation massive a bien évidemment conduit avec le temps à une diminution de leur efficacité via une résistance parasitaire vis-à-vis de cette famille de molécules. La Sulfadoxine et la Dapsone, des antifoliques, sont aussi analysés vis à vis de leur résistance dans cette partie.

Par la suite, pour contrer les mécanismes de résistances, on a dû associer ces molécules pour maximiser leur efficacité à d'autres principes actifs comme la Chloroquine ou l'Atovaquone pour le Proguanil, et la Sulfadoxine (antifolique) pour la Pyriméthamine. De la même manière, des phénomènes de résistances sont maintenant rencontrés chez ces différentes associations. Des polymorphismes d'expression de plusieurs protéines du parasite en sont responsables, et ceci grâce à des mutations dans leurs gènes d'origine. L'association Sulfadoxine-Pyriméthamine semble être particulièrement touchée par cette vague de résistance, car longtemps utilisée comme traitement préventif et donc exerçant une forte pression de sélection sur le parasite. Nous allons traiter de la résistance à l'association antifolinique / antifolique. Pour le moment, les gènes identifiés comme responsables de cette résistance sont *dhfr* et *dhps*, codant respectivement pour la dihydrofolate réductase et la dihydroptéroate synthétase.

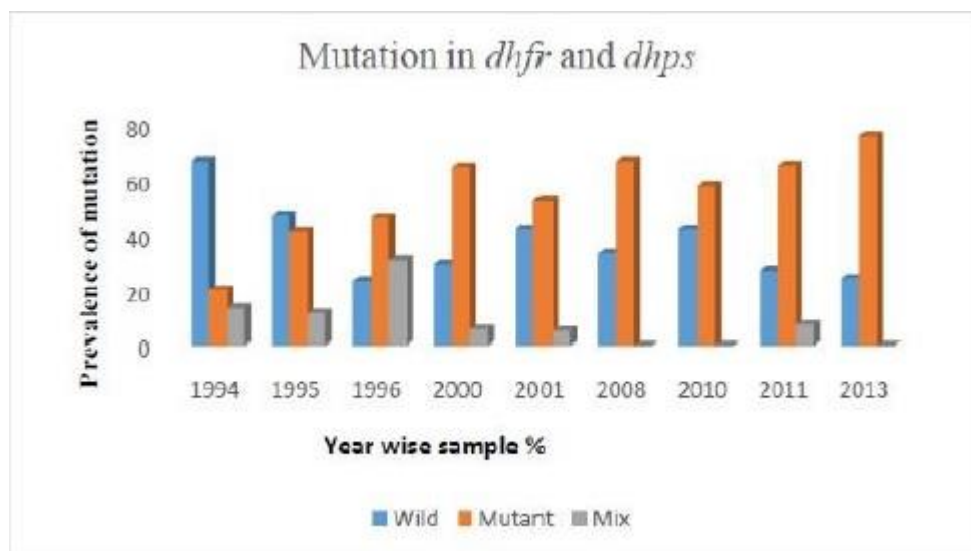


Tableau 8 : Prévalence des taux de mutations selon le type d'infections (sauvage, mutant, mixte) pour les gènes *dhps* et *dhfr* chez *P.falciparum* sur des isolats indiens [61].

La rapide apparition de cette résistance semble être le fait de deux raisons : des mutations de résistance à la PY étaient déjà présentes à un faible taux, et l'utilisation de l'association antibiotique Sulfométhoxazole-Triméthoprime avait déjà engendré des mutations sur le gène *dhfr* [60]. Face à ce constat, les scientifiques se sont penchés, à partir des années 1980, sur le background génétique permettant la résistance aux deux composants de cette association. Une étude a constaté que les taux de mutations sur les phénotypes mutants se sont accélérés à partir des années 1994 et ces mutations ne cessent de s'accumuler. Il y a donc bien une augmentation progressive des allèles mutants avec le temps, engendrant toujours plus de variabilité génétique qu'il deviendra difficile de contrôler sur un plan médicamenteux (Tableau 8). Ce constat se doit de nous interpeller car, bien que l'association thérapeutique SP soit encore efficace comme traitement, il est cependant prescrit en seconde ligne en cas de résistance à la Chloroquine. De ce fait, il est indispensable de ne pas perdre de son efficacité. Pire encore, la sélection des mutants résistants à l'association SP s'est faite à un rythme plus rapide que pour celle des mutants résistants à la CQ [59]. Notons cependant que la faible quantité d'échantillons dans cette étude se révèle être un facteur limitant qu'il convient de prendre en compte dans ces résultats [61].

La résistance à la Pyriméthamine est spécialement imputable aux modifications observées sur *dhfr*, notamment par la présence de mutation ponctuelle sur la zone S108N (sérine en thréonine) que l'on considère comme la mutation « clé » dans cette résistance.

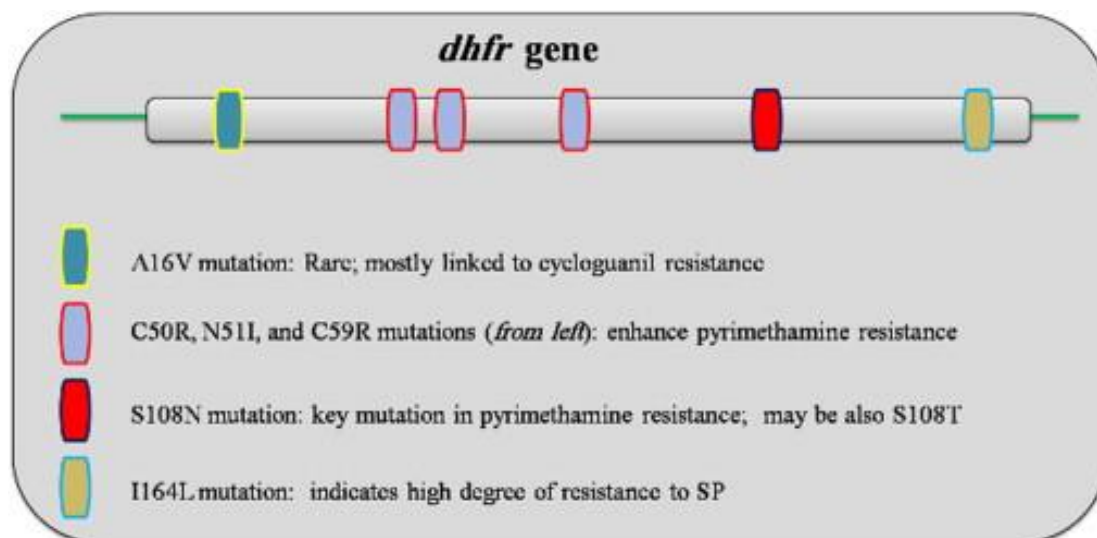


Schéma 60 : Mutations couramment associées à la résistance à la Pyriméthamine sur le gène *dhfr* [57].

À la suite de cet évènement majeur, il y a eu une sélection progressive de mutations supplémentaires aux codons 51 (aspartate en isoleucine, soit N51L), 59 (cystéine en arginine, soit C59R) et 50 (cystéine en arginine, soit C50R). Il faut noter que la présence de mutations dans le codon 51 reste tout de même assez faible, ce qui explique que certaines études ne le mentionnent pas toujours comme une zone clé dans les mécanismes de résistance. On a, par la suite, trouvé d'autres codons sujets aux mutations, comme l'alanine en valine en position 16 (soit A16V) qui engendre une résistance au métabolite actif du Proguanil (le Cycloguanil), et la mutation en position 164 (isoleucine en leucine soit I164L) qui caractérise un degré élevé de résistance à la PYR (on les retrouve dans le Schéma 59). La présence d'un tel quadruple mutant chez une lignée parasitaire (N51I/C59R/ C50R/I164L) assure un haut niveau de résistance à PYR et promet un échec thérapeutique quasiment certain avec SP [58]. Une mutation d'une valine en leucine en position 140 a récemment été identifiée au Vietnam [59].

Tout comme la Pyriméthamine, la résistance à la Sulfadoxine tient ses fondements dans les mutations basées sur le gène *dhps* (ceci allant dans la logique du mode d'action de chacune de ces molécules). Suite à un certain nombre d'études, des zones sujettes aux mutations sur ce gène ont été identifiées : le remplacement d'une sérine en alanine au codon 436, d'une alanine en glycine au codon 437, d'une lysine en acide glutamique au codon 540, d'une alanine en glycine au codon 581 et d'une alanine en sérine/thréonine au codon 613 (Schéma 60).

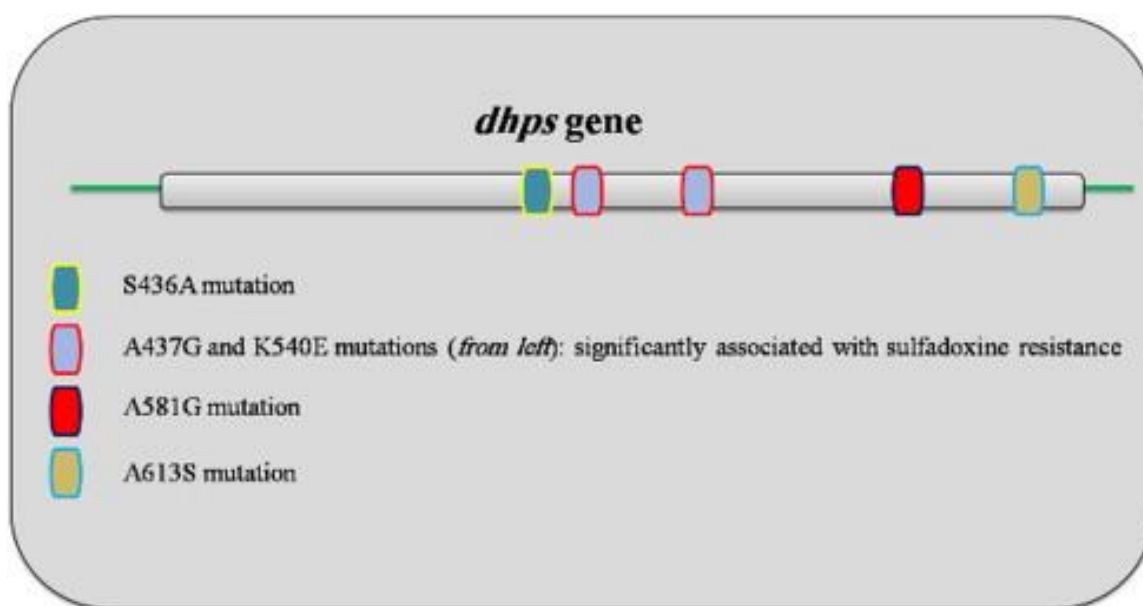


Schéma 61 : Mutations couramment associées à la résistance à la Sulfadoxine sur le gène *dhps* [57].

Comme dans toute association synergique, il faut que les deux composants de cette dernière soient tous les deux efficaces. Ainsi, une bonne sensibilité à la Pyriméthamine est indispensable à la bonne synergie entre les deux molécules dans l'association SP [59]. Ceci explique que les taux de prévalence des mutations du gène *dhfr* soient élevés dans les zones de résistance à l'association SP, tandis que les mutations du gène *dhps* ne sont pas encore clairement corrélées à cette résistance. De plus, beaucoup de ces mutations sont liées à des résistances *in vitro* mais pas encore associées à celles *in vivo*, il y a encore des recherches à faire sur ce point d'analyse. Néanmoins, la mutation sur l'alanine en 436 semble fournir un avantage en cas de faible pression médicamenteuse mais exclut apparemment l'addition progressive d'autres mutations associées à la résistance à la SP, et perd son avantage sélectif en cas de forte pression médicamenteuse. L'accumulation de mutations semble primordiale à l'acquisition d'un haut niveau de résistance pour le parasite, et se réalise initialement sur le gène *dhfr*. Une fois que suffisamment de mutations sont accumulées sur cette zone génique (au moins un double ou triple allèle mutant), des mutations en *dhps* sont ensuite sélectionnées [59] [57].

Les résistances aux antimétabolites proviennent donc d'altérations des cibles des principes actifs (*dhfr*, *dhps*). De plus, les mutations sur les deux gènes qui codent pour ces protéines

engendrent de nombreuses variations *in vivo* dans des paramètres essentiels au bon fonctionnement des antimétabolites, comme la bonne absorption des principes actifs et leur métabolisme, la modulation du taux de folates et modification de la capacité d'utilisation des folates exogènes [118] etc. Dans le cas de l'association Atovaquone-Proguanil, c'est aussi un ensemble de mutations qui affectent l'efficacité des deux molécules. L'association Chlorpoguanil-Dapsone (un autre antifolique) ne semble pas être affectée jusqu'à un certain niveau de mutations sur *dhps* et *dhfr*, ce qui en fait un traitement alternatif possible en cas de résistance ou pour limiter leur développement sur l'association SP. Malgré tout, des *P.falciparum* quadruples mutants sur *dhfr* (donc particulièrement résistants à la SP) sont aussi résistants à cette association. Il faut donc l'utiliser avec précautions [39].

F-6) Autres résistances

a) Primaquine & Lumefantrine

La résistance à la Primaquine seule est rarement reportée et son mécanisme encore non élucidé.

Concernant la Luméfántrine, son utilisation systématique avec l'Artéméthér rend l'évaluation d'une probable résistance à cette molécule difficile à faire. Cependant, comme elle n'a jamais été utilisée en monothérapie avant son association, on peut considérer que le risque de développement d'une résistance est quasiment nul. Il semble malgré tout qu'une augmentation des copies du gène *Pfmdr1* soit à l'origine d'une diminution de sensibilité aux partenaires des dérivés de l'Artémisinine (ACTs), ceci incluant la Méfloquine, la Luméfántrine, la Quinine, et l'Halofantrine [82].

b) Piperaquine

Largement utilisée en Chine durant la fin des années 70, cette molécule a logiquement perdu de son efficacité avec le temps. Aujourd'hui, on peut constater des hauts taux de résistance à la Piperaquine (PIP) dans cette partie du globe [79]. Bien qu'il y ait une similitude avec la Chloroquine, il ne semble pas exister de résistance croisée entre ces deux substances. Mieux encore, la PIP ne serait pas affectée par des mutations sur le gène *Pfcrt*. Il a même été constaté que le traitement par PIP est efficace sur des *Plasmodium* résistant à la CQ, le postulat que la

similitude de structure engendre un mécanisme d'action est donc sûrement faux, les deux principes actifs n'ont probablement pas le même mécanisme d'action [80].

c) Pyronaridine

De la même manière qu'avec la Primaquine, l'existence d'un mécanisme de résistance est probable mais reste totalement inconnu. En effet, une altération de l'efficacité de la molécule a été mise en évidence par une baisse de la sensibilité *in vitro* à cette molécule en Chine entre 1988 et 1995. Il semblerait que la résistance à la Chloroquine ait un lien avec celle-ci, mais, selon les publications, les conclusions sont parfois contradictoires entre elles. Certaines rapportent une résistance croisée entre les deux principes actifs, là ou d'autres rapports décrivent le succès de traitements par la Pyronaridine (PYRO) sur des parasites Chloroquino-résistants. Heureusement, PYRO est encore largement efficace en association sur les parasites ayant une perte de sensibilité à cette substance [114]. Cette résistance est accompagnée de mutations sur un gène positionné sur le chromosome 5, et les investigations sur les autres gènes que nous connaissons déjà bien (*pfmrp*, *pfnhel* etc.) ainsi que sur *pfmdr1* (qui est situé sur ce chromosome) n'ont pas révélé de changement *in vitro* pouvant faire suspecter que l'un d'entre eux serait impliqué dans la résistance. En revanche, concernant *pfert*, il est possible que des mutations y soient nécessaires (mais pas suffisantes) pour aboutir à la formation d'un mécanisme de résistance. Quoi qu'il en soit, la surexpression d'un des gènes (dans le segment génique allant du nucléotide 825600 au 888300) sur le chromosome 5 est impliquée dans sa formation, et reste encore à être identifiée [81].

d) Antibiotiques

Différents phénotypes de sensibilité ont été observés pour les cyclines. Ces premières observations ont été faites sur les troupes françaises envoyées en Côte d'Ivoire en 2002. Tous les soldats se prémunirent du Paludisme par une prise prophylactique de Doxycycline (DOX) à raison de 100 mg/j. Malgré tout, de nombreux cas de Paludisme ont été déclarés, et du fait de la prise prophylactique, beaucoup d'entre eux semblent provenir d'une mauvaise observance au traitement. La justification de ces infections par des paramètres pharmacocinétiques (tels qu'une faible compliance ou bien des doses inadéquates) est tout à

fait crédible. Cependant, la possibilité que ces cas proviennent d'une résistance au traitement n'est pas totalement improbable.

Des analyses génétiques de certains de ces patients ont révélé que les gènes *Pfmdt* et *PfetQ* étaient amplifiés (en nombre de copies). Le premier gène code pour un transporteur du principe actif ou de son métabolite, et partage de nombreuses séquences identiques à celles codant pour des pompes d'efflux. Le second est un gène de la famille tetQ GTPase qui est analogue à celui codant pour des protéines de protection ribosomale chez des bactéries résistantes aux cyclines. Il s'agirait ici de deux marqueurs moléculaires de résistance *in vitro* aux cyclines. Une étude analysa génétiquement des *P.falciparum* de certains patients dont le profil infectieux repose sur l'utilisation prophylactique de DOX. C'est alors que des phénotypes de sensibilité furent identifiés, chacun en fonction d'une moyenne des valeurs de CI 50 observées, et nommé de la manière suivante :

A : IC 50 faible

B : IC 50 moyenne

C : IC 50 élevé

La valeur d'IC50 est la plus grande dans le groupe contenant un nombre de copies des gènes *pfetQ* (codant pour une tetQ GTPase) et *pfmdt* supérieur à la normale. Cela signifie que leur implication dans le phénomène de résistance est très probable. L'étude conclut sur le fort potentiel prédictif de ces deux marqueurs moléculaires de diminution de l'efficacité *in vitro* de la DOX sur *P.falciparum* en Afrique. Le gène *pfmdt* (*P.falciparum multidrug transporter gene*) coderait, quant à lui, une protéine de transport membranaire qui agirait comme une pompe d'efflux pour l'antibiotique [34].

Concernant la tétracycline et l'azythromycine (AZT), certains cas de résistance de *P.falciparum* ont été identifiés en 2010 et sont associés à des mutations ponctuelles engendrant des modifications du codage de l'apicoplaste (un reliquat possible d'un chloroplaste). Pour la tétracycline, ces mutations ont été observées sur l'ARN ribosomal 23s. Pour l'AZT, elles ont eu lieu sur le gène *Pfrpl4* (codant pour les protéines de synthèse de l'apicoplaste) et sur l'ARNr de la grande sous unité ribosomale (*LSU rRNA genes*). Des modifications de la cible de ces médicaments semblent donc impliquées ici. De la même manière, des cas isolés de résistance ont été constatés pour la clindamycine, et présentaient eux aussi des mutations sur le gène codant pour la synthèse de l'apicoplaste [76] [75] [77].

F-7) L'implication de la dormance

Une hypothèse a été développée concernant ce mécanisme de résistance, en partant du constat qui est le suivant : certaines recrudescences du Paludisme répondent favorablement à un traitement par Artémisinine, elle-même correctement utilisée au préalable. Il n'y a donc pas forcément de mécanisme de résistance, mais plutôt d'évitement *stricto sensu*. Le fait que le parasite se mette en cycle dormant lorsqu'il est exposé à l'ART serait donc une explication plausible. En se basant sur des expériences *in vitro* et des observations *in vivo*, une étude (Eckstein-Ludwig and al, 2003) propose un processus en deux étapes liées au phénomène de dormance schématisé ci-dessous [72]. Pour résumer, plus le parasite est exposé au médicament, moins celui-ci initie son mécanisme de dormance, qui est initialement son mécanisme d'évitement de la molécule.

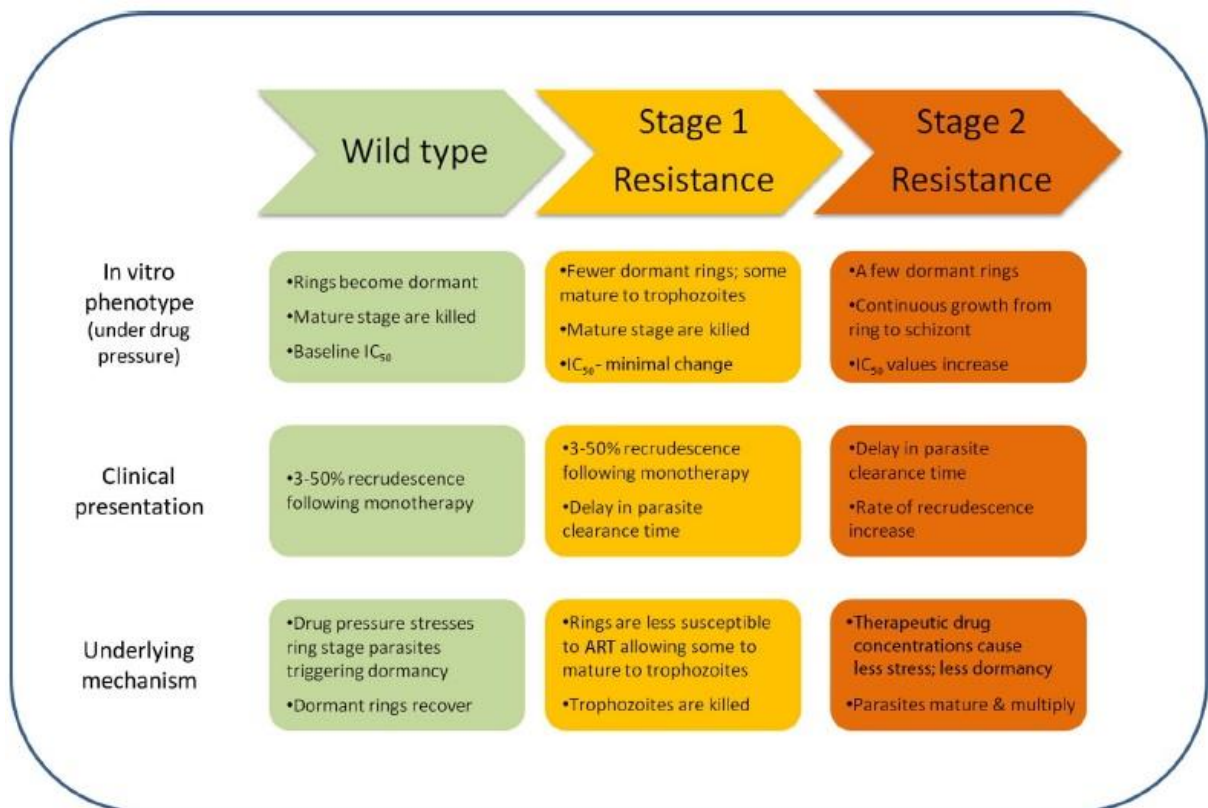


Schéma 62 : Illustration schématique des étapes de développement de la résistance à l'Artémisinine vis à vis de la dormance [72].

Rappelons que les trois étapes qui vont être détaillées ci-dessous (Schéma 62) ont été vérifiées uniquement *in vitro*, et que le stade 2 n'a (heureusement) pas été constaté *in vivo* :

- « Wild type » : En présence du phénotype sauvage, le parasite est sensible à la molécule et lorsqu'il y est exposé, une « réponse stress » se met en place : la totalité des trophozoïtes se mettent en dormance, les parasites matures sont détruits. L'intérêt des ACTs réside dans le fait que la molécule synergique à l'ART va détruire ces formes dormantes ainsi que les parasites qui sortent de ce stade pour récupérer.

- « Stage 1 » : Au début du développement de la résistance le profil de dormance change. Le parasite s'habitue à être exposé à l'ART et diminue sa réponse au stress, il y a alors moins de parasite à se mettre en dormance et la maturation en trophozoïte peut se faire (mais à vitesse réduite). Ceci illustre parfaitement l'augmentation du temps de clairance parasitaire (étant donné que le parasite tend à devenir mature il continue à être sensible à l'action des ACTs).

- « Stage 2 » : A force d'exposition à l'ART, les deux stades parasitaires (anneau, que l'on voit sur l'Image 4, et mature) sont de moins en moins sensibles à la molécule. La pression médicamenteuse n'est plus suffisante pour engendrer une réponse stress, l'échec au traitement par monothérapie est prévisible, et pour les ACTs ce sera en fonction de l'efficacité de la molécule synergique associée.

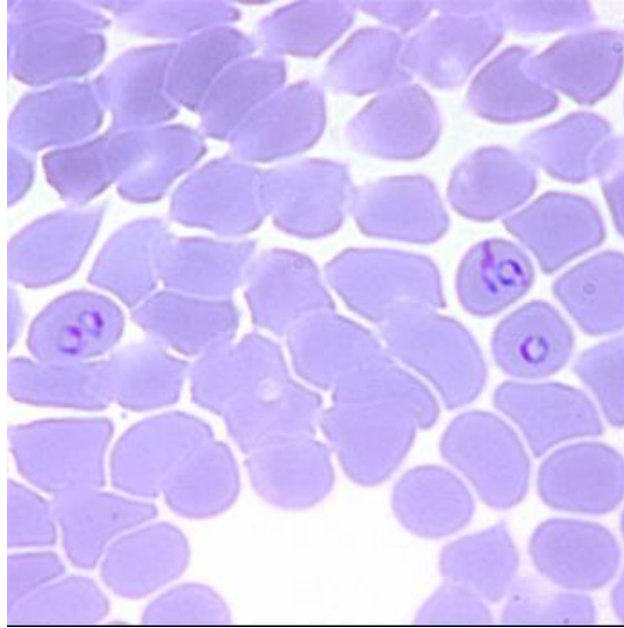


Image 4 : Stade anneau (« ring stage ») dans les érythrocytes de *Plasmodium falciparum*, situation de mise en dormance potentielle [73].

Le mécanisme moléculaire de mise en place de la dormance n'étant pas bien connu, on ne peut pour le moment pas décrire réellement ses modifications dans une telle situation, mais on peut les supposer. Ainsi, on a proposé que la diminution de la tolérance à l'ART au stade 1 soit due à des modifications de transporteurs et/ou de cibles de la molécule (*Pfmdr1*, modification du SERCA, *PfUB1*, etc.). Le stade 2 ne serait que l'amplification de cette situation. Ainsi, la dormance facilite la persistance de cellules contaminées et permet une plus longue exposition des parasites aux différentes pressions de sélection (médicament, immunité), et par conséquent favorise l'apparition de mutations génétiques (pouvant favoriser l'émergence de mécanisme de résistance).

De cette manière, il y a une diminution du nombre de parasites rentrant en dormance et un certain nombre survit en présence du/des principe(s) actif(s), il s'agirait du processus de genèse de mécanismes de résistance. Notons que nous avons seulement connaissance de ce mécanisme chez *P.falciparum*, et il faut admettre que pour le moment, le marqueur le plus fiable de la diminution de l'efficacité de l'ART est la clairance parasitaire. Il va être indispensable de faire au plus vite le lien entre la dormance et l'émergence de résistances aux ACTs, tout en confirmant son existence *in vivo* de manière certaine avec un ou plusieurs marqueurs moléculaires pour l'identifier [72].

Conclusion

Le monde continue à faire d'impressionnants progrès dans la réduction des décès liés au Paludisme, ainsi que dans la limitation de la transmission de la maladie. Ceci est notamment rendu possible par l'amélioration constante des stratégies thérapeutiques et de l'arsenal médicamenteux, l'émergence des nouvelles thérapies antipaludiques ayant marqué un tournant significatif en termes d'espoirs et de résultats. Cependant, bien que géographiquement la maladie semble être contenue, il reste encore beaucoup d'efforts à faire avant de pouvoir considérer la malaria comme éradiquée. En effet, toute espèce possède un potentiel d'adaptation et d'évolution, et ceci pour survivre parmi les autres espèces avec lesquelles elle co-évolue. Nous assistons aujourd'hui, avec le genre *Plasmodium* (et tout particulièrement l'espèce *falciparum*), à l'application concrète de cette loi, et ceci en réponse aux principes actifs antipaludéens que nous utilisons contre ce parasite.

En effet, la majeure partie des résistances parasitaires aux traitements contre la malaria est imputable à la surexposition ou à la sous exposition antérieure du parasite aux substances actives, ceci engendrant une pression de sélection médicamenteuse. Il en résulte des mutations dans le matériel génétique du parasite. Elles peuvent parfois aboutir à un mécanisme de résistance vis-à-vis d'un principe actif (efflux, modification de la cible) ou favoriser un mécanisme pré existant (dormance). Le nouveau parasite mutant est alors sélectionné et se voit conféré la capacité de survivre. De nombreux gènes impliqués dans ces systèmes de défenses ont été mis en évidence (Annexe 6), dont certains semblent doués d'une certaine redondance (*pfmr1*, *pfcr1*), alors qu'une grande quantité d'entre eux reste encore à être confirmé ou identifié. Les anciennes molécules (Chloroquine, Méfloquine) ont tout particulièrement été impactées par l'émergence de spécimens résistants, et les nouvelles thérapies ne sont pas épargnées par ce phénomène.

Ainsi, on constate que la course aux armements s'accélère entre nos deux espèces. Il est donc primordial d'avoir des marqueurs moléculaires de résistances fiables pour pouvoir suivre l'émergence et de la propagation des différentes résistances aux traitements, et de surveiller constamment l'efficacité des traitements. Il est indispensable de mettre à profit la compréhension des mécanismes de résistance dans la mise au point de nouvelles cibles thérapeutiques. Il convient de remettre en cause certaines de nos stratégies thérapeutiques et il

serait intéressant de les adapter en fonction de chaque sensibilité parasitaire vis-à-vis des différentes molécules, et alors d'individualiser au mieux la prise médicamenteuse. Enfin, il est essentiel de limiter la sur consommation d'antipaludéens et d'en favoriser l'observance. La perte d'efficacité thérapeutique des traitements actuels contre le Paludisme serait catastrophique sur un plan humain. L'évolution du parasite auquel nous assistons ne doit donc pas simplement être anecdotique mais se révéler être un véritable signal d'alarme pour tous les acteurs en charge de la lutte contre le Paludisme.

FACULTÉ DE PHARMACIE



n° 4

NOM et Prénom : LE LEYONR JEAN BRIME

TITRE DE LA THESE

LE PALUDISME, UN EXEMPLE D'ADAPTATION PARASITAIRE
: MISE AU POINT SUR LA MALADIE

21 DEC. 2015

Rennes, le 07/12/15

Le Président de thèse :

Le Directeur de thèse
A. Guiller

VU et Permis d'imprimer

Le Président de l'Université de Rennes1.

G. CATHELINÉAU

Références Bibliographiques

- [1] LAVERAN, Alphonse. *Traité de paludisme*. Masson, 1907.
- [2] PETITHORY, Jean-Claude. A propos de la découverte de l'hématozoaire du paludisme par A. Laveran Bône 1878-Constantine 1880. *Histoire des sciences médicales–tome*, 1995, vol. 29, p. 1.
- [3] HUME, Jennifer CC, LYONS, Emily J., et DAY, Karen P. Human migration, mosquitoes and the evolution of Plasmodium falciparum. *Trends in parasitology*, 2003, vol. 19, no 3, p. 144-149.
- [4] FANTINI, Bernardino. The concept of specificity and the Italian contribution to the discovery of the malaria transmission cycle. *Parassitologia*, 1999, vol. 41, no 1-3, p. 39-47.
- [5] Image en ligne <http://www.futura-sciences.com/magazines/environnement/infos/dossiers/d/developpement-durable-eau-elle-encore-bleue-618/page/8/>
- [6] PAJOT, François-Xavier. CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA BIOLOGIE D'ANOPHELES CARONI ADAM, 1961. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, 1964, vol. 57, no 6, p. 1290-1306.
- [7] LECOINTRE, Guillaume et LE GUYADER, Hervé. *Classification phylogénétique du vivant*. Belin, 2003.
- [8] World Malaria Report 2014
- [9] BOURÉE, Patrice. Aspects actuels du paludisme. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2006, vol. 2006, no 385, p. 25-38.

[10] HAY, Simon I., GUERRA, Carlos A., TATEM, Andrew J., *et al.* The global distribution and population at risk of malaria: past, present, and future. *The Lancet infectious diseases*, 2004, vol. 4, no 6, p. 327-336.

[11] BRICAGE, P. Héritage génétique, héritage épigénétique et héritage environnemental: de la bactérie à l'homme, le transformisme, une systémique du vivant. *Évolution du vivant et du social: Analogies et différences*, 2002.

[12] GUILLER, Annie. Généralités sur le Parasitisme, Parasitologie Médicale.

[13] Image en ligne <http://www.futura-sciences.com/magazines/sante/infos/dico/d/biologie-oocyste-12600/>

[14] HAMAOKA, Brent Y. et GHOSH, Partho. Structure of the Essential Plasmodium Host Cell Traversal Protein SPECT1. *PloS one*, 2014, vol. 9, no 12, p. e114685.

[15] Rôle des Natural Killer T (NKT) dans le stade précoce de la Malaria stade. Article en ligne http://biologie.univ-mrs.fr/upload/p87/NKT_Malaria.pdf

[16] ALY, Ahmed SI, VAUGHAN, Ashley M., et KAPPE, Stefan HI. Malaria parasite development in the mosquito and infection of the mammalian host. *Annual review of microbiology*, 2009, vol. 63, p. 195.

[17] RICHARDS, Jack S. et BEESON, James G. The future for blood-stage vaccines against malaria. *Immunology and cell biology*, 2009, vol. 87, no 5, p. 377-390.

[18] MAIER, Alexander G., COOKE, Brian M., COWMAN, Alan F., *et al.* Malaria parasite proteins that remodel the host erythrocyte. *Nature Reviews Microbiology*, 2009, vol. 7, no 5, p. 341-354.

[19] MUNDWILER-PACHLATKO, Esther et BECK, Hans-Peter. Maurer's clefts, the enigma of Plasmodium falciparum. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2013, vol. 110, no 50, p. 19987-19994.

- [20] COWMAN, Alan F. et CRABB, Brendan S. Invasion of red blood cells by malaria parasites. *Cell*, 2006, vol. 124, no 4, p. 755-766.
- [21] BOUSEMA, Teun et DRAKELEY, Chris. Epidemiology and infectivity of Plasmodium falciparum and Plasmodium vivax gametocytes in relation to malaria control and elimination. *Clinical microbiology reviews*, 2011, vol. 24, no 2, p. 377-410.
- [22] SILVESTRINI, F., ALANO, P., et WILLIAMS, J. L. Commitment to the production of male and female gametocytes in the human malaria parasite Plasmodium falciparum. *Parasitology*, 2000, vol. 121, no 05, p. 465-471.
- [23] MUSTFA, Kamla, LANDAU, Irène, CHABAUD, Alain-Gabriel, et al. Effects of the antimalarial drugs ferroquine and artesunate on Plasmodium yoelii yoelii gametocytogenesis and vectorial transmission. *Cahiers d'études et de recherches francophones/Santé*, 2012, vol. 21, no 3, p. 133-142.
- [24] BAKER, David A. Malaria gametocytogenesis. *Molecular and biochemical parasitology*, 2010, vol. 172, no 2, p. 57-65.
- [25] RONCALÉS, María, VIDAL-MAS, Jaume, LEROY, Didier, et al. Comparison and optimization of different methods for the in vitro production of Plasmodium falciparum gametocytes. *Journal of parasitology research*, 2012, vol. 2012.
- [26] DYER, M. et DAY, K. P. Commitment to gametocytogenesis in Plasmodium falciparum. *Parasitology today*, 2000, vol. 16, no 3, p. 102-107.
- [27] ROBERT, V. et BOUDIN, C. Parasitologie. *Bull Soc Pathol Exot*, 2003, vol. 96, no 1, p. 6-20.
- [28] Face au paludisme, plus de demi-mesures. *Le Renouveau du Burundi*, Ban Ki-moon. 25 Avril 2015. Article en ligne <http://www.un.org/fr/sg/articles/pressarticle042508.shtml>

[29] Impact économique et social du paludisme. Article en ligne http://www.coalitionpaludisme.org/pages/impact_economique_et_social_du_paludisme.html#

[30] THUILLIEZ, Josselin. L'impact du paludisme sur l'éducation primaire: une analyse en coupe transversale des taux de redoublement et d'achèvement. *Revue d'économie du développement*, 2009, vol. 17, no 1, p. 167-201.

[31] PATTANAYAK, Subhrendu, DICKINSON, Katherine, COREY, Catherine, *et al.* Deforestation, malaria, and poverty: a call for transdisciplinary research to support the design of cross-sectoral policies. *Sustainability: Science Practice and Policy*, 2006, vol. 2, no 2, p. 45-56.

[32] SACHS, Jeffrey and MALANEY, Pia. The economic and social burden of malaria. *Nature*, 2002, vol. 415, no 6872, p. 680-685.

[33] GUILLER, Annie. La biodiversité façonnée par l'environnement : facteurs biotiques, théorie de la reine rouge.

[34] PRADINES, Bruno, DORMOI, Jérôme, BRIOLANT, Sébastien, *et al.* La résistance aux antipaludiques. *Revue francophone des laboratoires*, 2010, vol. 2010, no 422, p. 51-62.

[35] HAYWARD, Rhys, SALIBA, Kevin J., et KIRK, Kieran. *pfmdr1* mutations associated with chloroquine resistance incur a fitness cost in *Plasmodium falciparum*. *Molecular microbiology*, 2005, vol. 55, no 4, p. 1285-1295.

[36] NORANATE, Nitchakarn, DURAND, Rémy, TALL, Adama, *et al.* Rapid dissemination of *Plasmodium falciparum* drug resistance despite strictly controlled antimalarial use. *PLoS One*, 2007, vol. 2, no 1, p. e139.

[37] SINHA, Shweta, MEDHI, Bikash, et SEHGAL, Rakesh. Challenges of drug-resistant malaria. *Parasite*, 2014, vol. 21.

[38] KARBWANG, Juntra, NA-BANGCHANG, K., THANAVIBUL, AURATHAI, *et al.* Pharmacokinetics of mefloquine in treatment failure. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, 1991, vol. 22, no 4, p. 523-526.

[39] WERNSDORFER, Walther H. Epidemiology of drug resistance in malaria. *Acta tropica*, 1994, vol. 56, no 2, p. 143-156.

[40] BARNES, Karen I., WATKINS, William M., et WHITE, Nicholas J. Antimalarial dosing regimens and drug resistance. *Trends in parasitology*, 2008, vol. 24, no 3, p. 127-134.

[41] STEPNIIEWSKA, K. et WHITE, N. J. Pharmacokinetic determinants of the window of selection for antimalarial drug resistance. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 2008, vol. 52, no 5, p. 1589-1596.

[42] WELLEMS, Thomas E. et PLOWE, Christopher V. Chloroquine-resistant malaria. *Journal of Infectious Diseases*, 2001, vol. 184, no 6, p. 770-776.

[43] LAMBRECHTS, Louis, CHAVATTE, Jean-Marc, SNOUNOU, Georges, *et al.* Environmental influence on the genetic basis of mosquito resistance to malaria parasites. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 2006, vol. 273, no 1593, p. 1501-1506.

[44] World Malaria Report 2014

[45] World Malaria Report 2005

[46] COWMAN, Alan F., GALATIS, Denise, et THOMPSON, Jennifer K. Selection for mefloquine resistance in *Plasmodium falciparum* is linked to amplification of the *pfmdr1* gene and cross-resistance to halofantrine and quinine. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1994, vol. 91, no 3, p. 1143-1147.

- [47] BLOLAND, Peter B., *et al.* *Drug resistance in malaria*. Geneva : World Health Organization, 2001.
- [48] AWASTHI, Gauri et DAS, Aparup. Genetics of chloroquine-resistant malaria: a haplotypic view. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 2013, vol. 108, no 8, p. 947-961.
- [49] CHAN, Chim W., SPATHIS, Rita, REIFF, Dana M., *et al.* Diversity of Plasmodium falciparum chloroquine resistance transporter (pfcr) exon 2 haplotypes in the Pacific from 1959 to 1979. *PloS one*, 2012, vol. 7, no 1, p. e30213.
- [50] AWASTHI, Gauri, SATYA, Godavarthi Bhogendra Krishna, et DAS, Aparup. Pfcrt haplotypes and the evolutionary history of chloroquine-resistant Plasmodium falciparum. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 2012, vol. 107, no 1, p. 129-134.
- [51] GUPTA, Purva, SINGH, Ruchi, KHAN, Haris, *et al.* Genetic Profiling of the Plasmodium falciparum Population Using Antigenic Molecular Markers. *The Scientific World Journal*, 2014, vol. 2014.
- [52] DURAISINGH, Manoj T. et COWMAN, Alan F. Contribution of the pfmdr1 gene to antimalarial drug-resistance. *Acta tropica*, 2005, vol. 94, no 3, p. 181-190.
- [53] WONGSRICHANALAI, Chansuda, PICKARD, Amy L., WERNSDORFER, Walther H., *et al.* Epidemiology of drug-resistant malaria. *The Lancet infectious diseases*, 2002, vol. 2, no 4, p. 209-218.
- [54] FERDIG, Michael T., COOPER, Roland A., MU, Jianbing, *et al.* Dissecting the loci of low-level quinine resistance in malaria parasites. *Molecular microbiology*, 2004, vol. 52, no 4, p. 985-997.
- [55] MÉNARD, Didier, ANDRIANTSOANIRINA, Valérie, KHIM, Nimol, *et al.* Global analysis of Plasmodium falciparum Na⁺/H⁺ exchanger (pfnhe-1) allele polymorphism and its usefulness as a marker of in vitro resistance to quinine. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*, 2013, vol. 3, p. 8-19.

[56] TER KUILE, F. O., NOSTEN, F., CHONGSUPHAJAISIDDHI, T., *et al.* Halofantrine versus mefloquine in treatment of multidrug-resistant falciparum malaria. *The Lancet*, 1993, vol. 341, no 8852, p. 1044-1049.

[57] ABDUL-GHANI, Rashad, FARAG, Hoda F., *et* ALLAM, Amal F. Sulfadoxine-pyrimethamine resistance in Plasmodium falciparum: a zoomed image at the molecular level within a geographic context. *Acta tropica*, 2013, vol. 125, no 2, p. 163-190.

[58] ANDRIANTSOANIRINA, Valérie, DURAND, Rémy, PRADINES, Bruno, *et al.* In vitro susceptibility to pyrimethamine of DHFR I164L single mutant Plasmodium falciparum. *Malar J*, 2011, vol. 10, p. 283.

[59] PLOWE, Christopher V., CORTESE, Joseph F., DJIMDE, Abdoulaye, *et al.* Mutations in Plasmodium falciparum dihydrofolate reductase and dihydropteroate synthase and epidemiologic patterns of pyrimethamine-sulfadoxine use and resistance. *Journal of Infectious Diseases*, 1997, vol. 176, no 6, p. 1590-1596.

[60] SIBLEY, Carol Hopkins, HYDE, John E., SIMS, Paul FG, *et al.* Pyrimethamine-sulfadoxine resistance in Plasmodium falciparum: what next?. *Trends in parasitology*, 2001, vol. 17, no 12, p. 570-571.

[61] KUMAR, Amit, MOIRANGTHEM, Romilla, GAHLAWAT, Suresh Kumar, *et al.* Emergence of sulfadoxine-pyrimethamine resistance in Indian isolates of Plasmodium falciparum in the last two decades. *Infection, Genetics and Evolution*, 2015, vol. 36, p. 190-198.

[62] SRIVASTAVA, Indresh K., MORRISEY, Joanne M., DARROUZET, Elisabeth, *et al.* Resistance mutations reveal the atovaquone-binding domain of cytochrome b in malaria parasites. *Molecular microbiology*, 1999, vol. 33, no 4, p. 704-711.

- [63] Evolution de la résistance de *Plasmodium falciparum* aux médicaments antipaludiques. 29 Mars 2011. Article en ligne <http://fr.slideshare.net/atelier-paludisme/fac-2011-clainipm29avril2011>
- [64] SCHWÖBEL, Babett, ALIFRANGIS, Michael, SALANTI, Ali, *et al.* Different mutation patterns of atovaquone resistance to *Plasmodium falciparum* in vitro and in vivo: rapid detection of codon 268 polymorphisms in the cytochrome b as potential in vivo resistance marker. *Malaria journal*, 2003, vol. 2, no 1, p. 5.
- [65] KORSINCZKY, Michael, CHEN, Nanhua, KOTECKA, Barbara, *et al.* Mutations in *Plasmodium falciparum* Cytochrome b That Are Associated with Atovaquone Resistance Are Located at a Putative Drug-Binding Site. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 2000, vol. 44, no 8, p. 2100-2108.
- [66] DOKOMAJILAR, Christian, LANKOANDE, Zambende Moise, DORSEY, Grant, *et al.* Roles of specific *Plasmodium falciparum* mutations in resistance to amodiaquine and sulfadoxine-pyrimethamine in Burkina Faso. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 2006, vol. 75, no 1, p. 162-165.
- [67] SA, Juliana M. et TWU, Olivia. Protecting the malaria drug arsenal: halting the rise and spread of amodiaquine resistance by monitoring the PfCRT SVMNT type. *Malar J*, 2010, vol. 9, no 374, p. 736-742.
- [68] REAMTONG, Onrapak, SRIMUANG, Krongkan, SARALAMBA, Naowarat, *et al.* Protein profiling of mefloquine resistant *Plasmodium falciparum* using mass spectrometry-based proteomics. *International Journal of Mass Spectrometry*, 2015.
- [69] CRAVO, Pedro, NAPOLITANO, Hamilton, et CULLETON, Richard. How genomics is contributing to the fight against artemisinin-resistant malaria parasites. *Acta tropica*, 2015, vol. 148, p. 1-7

[70] MOHON, Abu Naser, ALAM, Mohammad Shafiul, BAYIH, Abebe Genetu, *et al.* Mutations in Plasmodium falciparum K13 propeller gene from Bangladesh (2009–2013). *Malar J*, 2014, vol. 13, p. 431.

[71] CHENG, Qin, KYLE, Dennis E., et GATTON, Michelle L. Artemisinin resistance in Plasmodium falciparum: A process linked to dormancy?. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*, 2012, vol. 2, p. 249-255.

[72] ECKSTEIN-LUDWIG, U., WEBB, R. J., VAN GOETHEM, I. D. A., *et al.* Artemisinins target the SERCA of Plasmodium falciparum. *Nature*, 2003, vol. 424, no 6951, p. 957-961.

[73] Comment le parasite responsable des formes graves de paludisme résiste à un antipaludique majeur, communiqué de presse du CNRS. Article en ligne <http://www2.cnrs.fr/presse/communique/1870.htm>

[74] GAILLARD, Tiphaine, BRIOLANT, Sébastien, HOUZÉ, Sandrine, *et al.* PftetQ and pfmdt copy numbers as predictive molecular markers of decreased ex vivo doxycycline susceptibility in imported Plasmodium falciparum malaria. *Malar J*, 2013, vol. 12, p. 414.

[75] SIDHU, Amar Bir Singh, SUN, Qingan, NKRUMAH, Louis J., *et al.* In vitro efficacy, resistance selection, and structural modeling studies implicate the malarial parasite apicoplast as the target of azithromycin. *Journal of Biological Chemistry*, 2007, vol. 282, no 4, p. 2494-2504.

[76] GAILLARD, Tiphaine, BRIOLANT, Sébastien, HOUZÉ, Sandrine, *et al.* PftetQ and pfmdt copy numbers as predictive molecular markers of decreased ex vivo doxycycline susceptibility in imported Plasmodium falciparum malaria. *Malar J*, 2013, vol. 12, p. 414.

[77] STAINES, Henry M. et KRISHNA, Sanjeev. *Treatment and prevention of malaria: antimalarial drug chemistry, action and use*. Springer Science & Business Media, 2012.

[78] HENRIQUES, Gisela, HALLETT, Rachel L., BESHIR, Khalid B., *et al.* Directional selection at the pfmdr1, pfprt, pfubp1, and pfap2mu loci of Plasmodium falciparum in Kenyan

children treated with ACT. *Journal of Infectious Diseases*, 2014, vol. 210, no 12, p. 2001-2008.

[79] HIEN, Tran Tinh, DOLECEK, Christiane, MAI, Pham Phuong, *et al.* Dihydroartemisinin-piperaquine against multidrug-resistant *Plasmodium falciparum* malaria in Vietnam: randomised clinical trial. *The Lancet*, 2004, vol. 363, no 9402, p. 18-22.

[80] TRAVERS, Dominique, CREN, Julien, TAUDON, Nicolas, *et al.* In vitro piperaquine susceptibility is not associated with the *Plasmodium falciparum* chloroquine resistance transporter gene. 2013.

[81] EASTMAN, Richard T., DHARIA, Neekesh V., WINZELER, Elizabeth A., *et al.* Piperaquine resistance is associated with a copy number variation on chromosome 5 in drug-pressured *Plasmodium falciparum* parasites. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 2011, vol. 55, no 8, p. 3908-3916.

[82] SIDHU, Amar Bir Singh, UHLEMANN, Anne-Catrin, VALDERRAMOS, Stephanie G., *et al.* Decreasing *pfmdr1* copy number in *Plasmodium falciparum* malaria heightens susceptibility to mefloquine, lumefantrine, halofantrine, quinine, and artemisinin. *Journal of Infectious Diseases*, 2006, vol. 194, no 4, p. 528-535.

[83] Etude sémiologique de la fièvre. Août 31, 2007

Article en ligne <https://semiologie.wordpress.com/2007/08/31/etude-semiologique-de-la-fievre/>

[84] Paludisme - Association Française des Enseignants de Parasitologie et Mycologie (ANOFEL), 2014. Article en ligne <http://campus.cerimes.fr/parasitologie/enseignement/paludisme/site/html/cours.pdf>

[85] YAMEOGO, T.Marceline, TAPSOBA, S., Pascal, SOMBIE, I., *et al.* Évaluation de l'application des directives nationales de prise en charge des cas de paludisme au CHU de Bobo-Dioulasso. *Santé Publique* 2015/2 (Vol. 27) n° 2, Pages 146.

[86] En ligne http://www.who.int/malaria/areas/high_risk_groups/pregnancy/fr/

[87] TAGNY, C. Tayou, MBANYA, D., GARRAUD, O., *et al.* Sécurité transfusionnelle: paludisme et don de sang en Afrique. *Transfusion clinique et biologique*, 2007, vol. 14, no 5, p. 481-486.

[88] STEVENSON, Mary M. et RILEY, Eleanor M. Innate immunity to malaria. *Nature Reviews Immunology*, 2004, vol. 4, no 3, p. 169-180.

[89] FIEVET, Nadine, RINGWALD, Pascal, BICKII, Jean, *et al.* Malaria cellular immune responses in neonates from Cameroon. *Parasite immunology*, 1996, vol. 18, no 10, p. 483-490.

[90] HVIID, Lars. Naturally acquired immunity to Plasmodium falciparum malaria in Africa. *Acta tropica*, 2005, vol. 95, no 3, p. 270-275.

[91] En ligne http://www.memobio.fr/html/para/pa_pa_di.html

[92] Paludisme - Actualités 2014. Professeur Pierre Aubry Docteur Bernard Alex Gaüzère. Mise à jour le 03/10/2015 . Médecine tropicale.

[93] En ligne <http://www-sante.ujf-grenoble.fr/SANTE/corpus/disciplines/parasitomyco/parasito/99/lecon99.htm#>

[94] Image en ligne <http://www.chm.bris.ac.uk/motm/artemisinin/artemisininh.htm>

[95] Image en ligne http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-50532002000600003&script=sci_arttext

[96] Image en ligne <http://www.mpbio.com/product.php?pid=02194180>

- [97] Image en ligne http://www.lookfordiagnosis.com/mesh_info.php?term=Proguanil&lang=4
- [98] Image en ligne http://www.pharmacopeia.cn/v29240/usp29nf24s0_m6342.html
- [99] Image en ligne <http://www.marichesse.com/article-la-quinine-un-antipaludeen-114447122.html>
- [100] Image en ligne http://quod.lib.umich.edu/m/medchem1ic/x-288/mefloquine__tif
- [101] Image en ligne <http://www.drugfuture.com/chemdata/halofantrine.html>
- [102] Image en ligne <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/15420?lang=fr®ion=FR>
- [103] Images en ligne <http://www.chemspider.com/>
- [104] Protocole national de la prise en charge thérapeutique du Paludisme. 2014, Réseau médicament et développement <http://www.remed.org/>
- [105] Prise en charge du paludisme, guide du participant. Module de formation à la lutte contre le Paludisme, Organisation Mondiale de la Santé. Bibliothèque de l'OMS, 2014.
- [106] Image en ligne <http://www.memoireonline.com/01/14/8667/Tests-d-efficacite-d-extraits-d-huiles-vegetales-sur-Anopheles-gambiae-Giles-et-Culex-quinquefasc.html>
- [107] Image en ligne <http://www.geocities.ws/chantignole401/moust2.html>
- [108] Image en ligne <http://www.pasteur.fr/fr/recherche/plateformes-technologiques/centre-production-et-d-infection-anopheles/les-activites/production-intensive-continue-d-anopheles>
- [109] Image en ligne <http://www.memoireonline.com/04/12/5696/Activites-larvicides-des-extraits-de-plantes-sur-les-larves-de-moustiques-vecteurs-de-maladies-para.html>

[110] ROGIER, C., ORLANDI-PRADINES, E., FUSAI, T., *et al.* Vaccins contre le paludisme: perspectives et réalité. *Médecine et maladies infectieuses*, 2006, vol. 36, no 8, p. 414-422.

[111] Image en ligne <http://www2.cnrs.fr/presse/communiqu/4023.htm>

[112] CHEW, Helen. Will the novel antimalarial agent DDD107498 that selectively targets translation elongation factor 2 show good efficacy and safety in future clinical trials?. *American Journal of Pharmacology and Therapeutics*, 2015, vol. 1, p. 5-11.

[113] Organisation mondiale de la santé. Plan mondial de maîtrise de la résistance à l'artémisinine (GPARC). *Résumé d'orientation*, Janvier 2011.

[114] VIVAS, Livia, RATTRAY, Lauren, STEWART, Lindsay, *et al.* Anti-malarial efficacy of pyronaridine and artesunate in combination in vitro and in vivo. *Acta tropica*, 2008, vol. 105, no 3, p. 222-228.

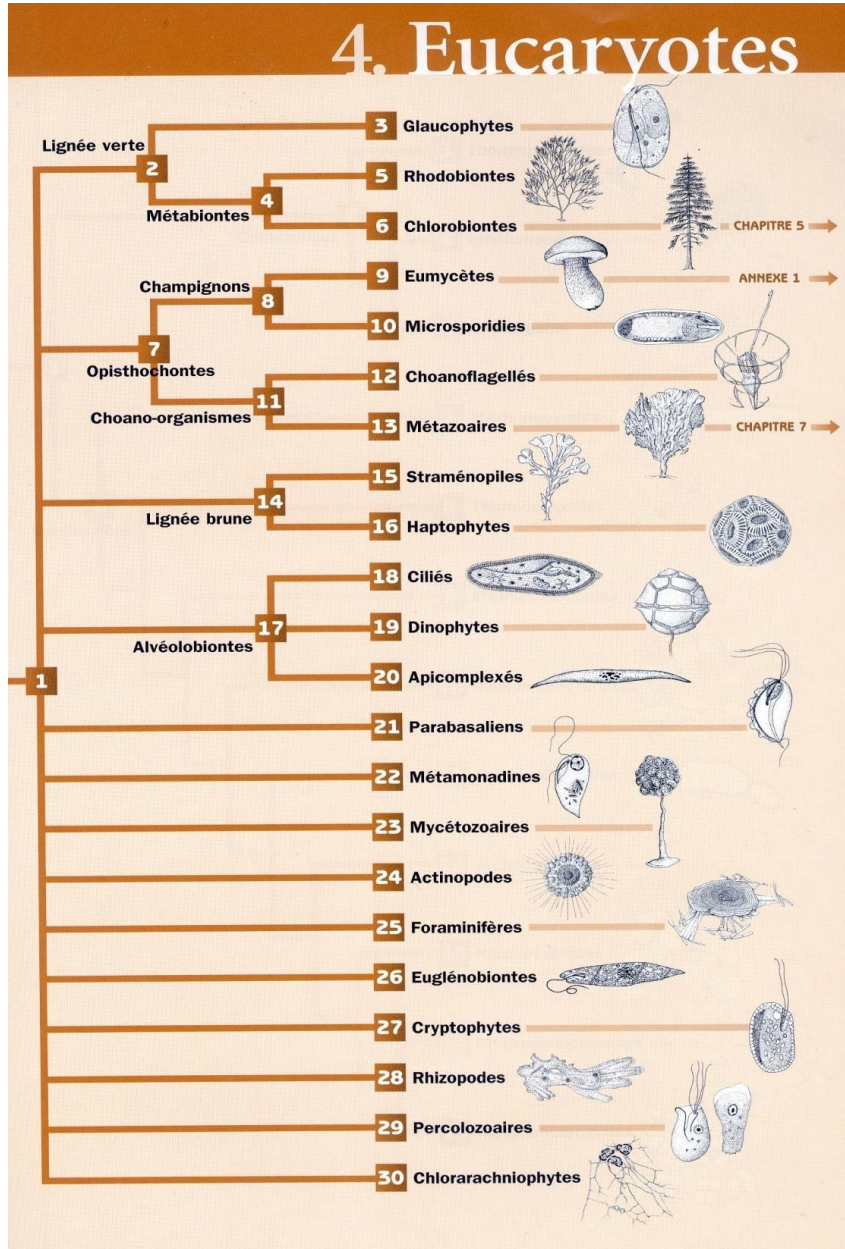
[115] Image en ligne <http://smartfiches.fr/infectiologie/item-166-paludisme/prophylaxie-paludisme>

[116] SANCHEZ, Cecilia P., LIU, Chia-Hao, MAYER, Sybille, *et al.* A HECT ubiquitin-protein ligase as a novel candidate gene for altered quinine and quinidine responses in *Plasmodium falciparum*. 2014.

[117] ARIEY, Frédéric, WITKOWSKI, Benoit, AMARATUNGA, Chanaki, *et al.* A molecular marker of artemisinin-resistant *Plasmodium falciparum* malaria. *Nature*, 2014, vol. 505, no 7481, p. 50-55.

[118] NZILA, A. M., MBERU, E. K., SULO, J., *et al.* Towards an understanding of the mechanism of pyrimethamine-sulfadoxine resistance in *Plasmodium falciparum*: genotyping of dihydrofolate reductase and dihydropteroate synthase of Kenyan parasites. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2000, vol. 44, no 4, p. 991-996.

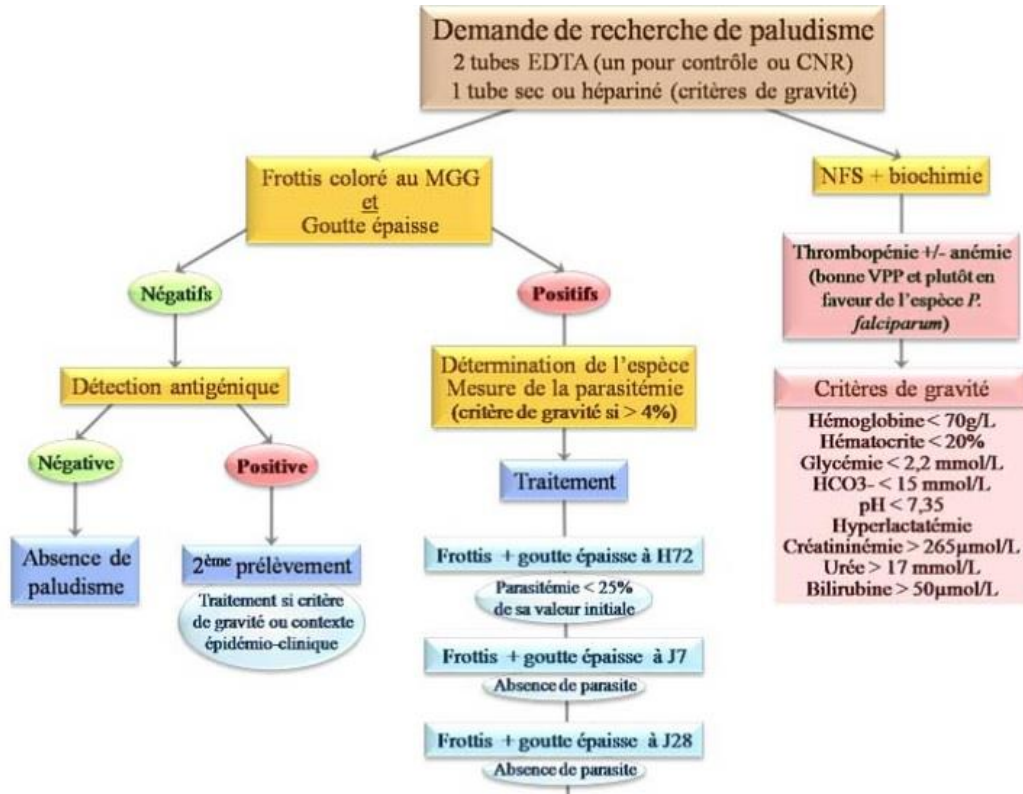
Annexes



Annexe 1: Classification phylogénétique du vivant [7].

Items	Éléments de gravité
Neuropaludisme	Score de Glasgow < 9 Score de Blantyre < 2 chez l'enfant de moins de 5 ans
Troubles de la conscience	9 < Score de Glasgow < 15 2 < Score de Blantyre < 4 chez l'enfant de moins de 5 ans
Convulsions répétées	≥ 2 / 24 heures (malgré la correction de l'hyperthermie)
Prostration	Extrême faiblesse Chez l'enfant : impossibilité, de se tenir assis pour un enfant en âge de le faire, ou de boire pour un enfant trop jeune pour tenir assis
Syndrome de détresse respiratoire	Définition clinique
Ictère	Clinique ou biologique (bilirubine > 50 µmol/L)
Hémoglobinurie macroscopique	Urines rouges foncées ou noires Hémoglobinurie ou myoglobinurie à la bandelette Absence d'hématurie microscopique
Collapsus circulatoire	TAS < 50 mm Hg avant 5 ans et TAS < 80 mm Hg chez l'adulte
Œdème pulmonaire	Définition radiologique
Saignement anormal	
Anémie grave	Adulte : taux d'Hémoglobine < 7 g/dL ou hématocrite < 20 % Enfant : taux d'Hémoglobine < 5 g/dL ou hématocrite < 15 %
Hypoglycémie	Glycémie < 2,2 mmol/L
Acidose métabolique	pH < 7,35 ou bicarbonates < 15 mmol/L
Hyperlactatémie	Lactates plasmatiques > 5 mmol/L
Hyperparasitémie	> 4 %/sujet non immun
Insuffisance rénale	Créatininémie > 265 µmol/L après réhydratation ; ou diurèse < 400 mL/24h chez l'adulte ; diurèse < 12mL/kg/24h chez l'enfant

Annexe 2 : Signes de gravité du Paludisme [85].



Annexe 3 : Protocole de diagnostic parasitologique du Paludisme, provenant d'une synthèse du consensus de 2007 sur la prise en charge du Paludisme [91].

Amino Acid	3-Letter Code	1-Letter Code
Alanine	Ala	A
Cysteine	Cys	C
Aspartic acid or aspartate	Asp	D
Glutamic acid or glutamate	Glu	E
Phenylalanine	Phe	F
Glycine	Gly	G
Histidine	His	H
Isoleucine	Ile	I
Lysine	Lys	K
Leucine	Leu	L
Methionine	Met	M
Asparagine	Asn	N
Proline	Pro	P
Glutamine	Gln	Q
Arginine	Arg	R
Serine	Ser	S
Threonine	Thr	T
Valine	Val	V
Tryptophan	Trp	W
Tyrosine	Tyr	Y

Annexe 4 : Abécédaire des acides aminés.

Principe Actif	Mutations Gène / Complexe	Localisation	Molécules impactées	Mécanisme de résistance
Quinine	<i>pfmdr1</i> , <i>pfprt</i> et <i>pfut</i> , <i>pfhe-1</i>	Chromosome 5, 7, 13	<i>Pgh1</i> , <i>PfCRT</i> et <i>PfUT</i> , <i>PfNHE</i>	Elevation conséquente de l'activité du complexe transmembranaire (échangeur Na ⁺ /H ⁺) <i>PfNHE</i> , modification de l'activité ligase de <i>PfUT</i> et donc de <i>PfCRT</i> , augmentation de l'activité transporteurs ATP Binding Cassette (<i>Pgh1</i>) et <i>PfCRT1</i> améliorant donc l'efflux
Méfloquine & Halofantrine	<i>pfmdr1</i>	Chromosome 5	<i>Pgh1</i>	Augmentation de l'activité transporteurs ATP Binding Cassette (<i>Pgh1</i>) et <i>PfCRT1</i> améliorant donc l'efflux. Autres marqueurs potentiels (<i>eIF-3</i> , <i>SERP</i> , <i>Exp-1</i> etc.)
Chloroquine	<i>pfmdr1</i> , <i>pfprt</i>	Chromosome 5, 7	<i>Pgh1</i> , <i>PfCRT</i>	Augmentation de l'activité transporteurs ATP Binding Cassette (<i>Pgh1</i>) et <i>PfCRT1</i> améliorant donc l'efflux.
Amodiaquine	<i>pfmdr1</i> , <i>pfprt</i>	Chromosome 5, 7	<i>Pgh1</i> , <i>PfCRT</i>	Augmentation de l'activité transporteurs ATP Binding Cassette (<i>Pgh1</i>) et <i>PfCRT1</i> améliorant donc l'efflux.
Artémisinine & associations	<i>kelch 13</i>	Chromosome 13	Kelch 13	Stimulation de la détoxification de la cellule (<i>kelch 13</i>), Autres marqueurs potentiels (<i>SERCA</i> , <i>pfmdr1</i> , <i>AP2</i> , <i>UBP1</i> , <i>26SPS</i>)
Atovaquone	Gène du cytochrome <i>bc1</i>	SVRs et SCRs (entre les acides aminés 119 et 147, 243 et 289)	Cytochrome <i>bc1</i>	Troubles d'interactions hydrophobiques du cytochrome <i>bc1</i> parasitaire avec le site de liaison de la molécule
Antimétabolites	<i>dhfr</i> , <i>dhps</i>	Chromosome 4, 8	Dihydrofolate réductase, Dihydroptéroate synthétase	Modification de la cible des principes actifs (<i>dhfr</i> , <i>dhps</i>)
Antibiotiques	<i>pfetQ</i> , <i>pfmdt</i> , <i>Pfpp14</i>	Chromosome 12, 5	Protéines de protection ribosomale, protéines de synthèse de l'apicoplaste, protéine de transport membranaire	Altération de la cible (<i>pfetQ</i> , <i>pfpp14</i>), efflux du principe actif (pompe d'efflux, <i>pfmdt</i>)

Annexe 6 : Tableau récapitulatif des mutations et des marqueurs de résistances vérifiés vis-à-vis des différents médicaments antipaludéens.

LE LEYOUR, Jean Briac - Le Paludisme, un exemple d'adaptation parasitaire : mise au point sur la maladie.

152 feuilles, 62 Schémas, 4 images, 8 tableaux, 6 Annexes Thèse : Pharmacie ; Rennes 1; 2015 ; N° .

Résumé français

Le Paludisme est une maladie d'origine parasitaire (*plasmodium*) potentiellement mortelle et véhiculé par un moustique du genre Anophèle. Malgré de grandes avancées thérapeutiques dans le domaine des antipaludéens, un retard subsiste dans l'élimination du parasite au niveau mondial. Ceci est dû, en partie, au fait que le parasite diminue de plus en plus sa susceptibilité aux différents traitements. Pour comprendre un tel phénomène, il est nécessaire de revenir sur les bases de l'évolution (théorie de la reine rouge, course aux armements) et de les adapter au parasite pour comprendre qu'il a évolué face aux défenses de son hôte pour survivre. Des mutations génétiques provoquées par différents événements ont engendrées chez des parasites ainsi sélectionnés des aptitudes à résister aux traitements par le biais de mécanisme génétique, moléculaires et protéiques bien précis.

Résumé anglais

Malaria is a potentially fatal parasitic disease and is carried by mosquitoes. Despite major therapeutic advances in the antimalarial drugs, delays remain in parasite elimination globally. This is due in part to the fact that the parasite diminishes its susceptibility to different treatments. To understand this phenomenon, it is necessary to return to the basics of evolution (theory of the Red Queen, arms race) and adapt these to the parasite. Thus, we will be able to understand how the parasite has evolved to defeat defences of its host to survive. Genetic mutations caused by various events generate capacity to parasites to resist through genetic, molecular and protein mechanisms.

Rubrique de classement : PARASITOLOGIE

Mots-clés : Paludisme,
résistance, évolution, mutation
génétique, parasite

Mots-clés anglais MeSH :
Malaria, resistance, mutation,
evolution, genetic

Président : Madame Bousarghin Latifa

JURY : Assesseeurs : Madame Guillet Annie [directeur de thèse]
Madame Degeilh Brigitte
Monsieur Crabot Francois

M Degeilh Brigitte