

REPUBLIQUE DU CAMEROUN

Paix-Travail-Patrie

\*\*\*\*\*

UNIVERSITE DE DOUALA

\*\*\*\*\*

FACULTE DE MEDECINE ET DES  
SCIENCES PHARMACEUTIQUES

\*\*\*\*\*



REPUBLIC OF CAMEROON

Peace-Work-Fatherland

\*\*\*\*\*

THE UNIVERSITY OF DOUALA

\*\*\*\*\*

FACULTY OF MEDICINE AND  
PHARMACEUTICAL SCIENCES

\*\*\*\*\*

Année/Year : 2017-2018

N° 601

**EVALUATION *IN VIVO* DE L'EFFICACITE DE LA COMBINAISON  
ARTESUNATE/AMODIAQUINE DANS LE TRAITEMENT DU  
PALUDISME NON COMPLIQUE A PLASMODIUM  
FALCIPARUM DANS LA REGION DU CENTRE AU CAMEROUN**

**THESE DE DOCTORAT EN MEDECINE  
(DIPLOME D'ETAT)**

*Présentée et soutenue publiquement*

**Le 17 juillet 2018**

**Par**

**NGANSO KEPTCHOUANG Tatiana**

Encadreurs:

Directeur: Pr Else Carole EBOUMBOU MOUKOKO

Co-Directeur: Dr Sandrine Evéline NSANGO

Jury:

Pr Albert SAME EKOBO, MD, PhD (Président)

Pr Else Carole EBOUMBOU MOUKOKO , PhD (Rapporteur)

Dr Sandrine Evéline NSANGO, PhD ( Membre)

Dr Emmanuel ESSONO MVOA, MD (Membre)

## SOMMAIRE

DEDICACE.....	iv
REMERCIEMENTS .....	v
SERMENT D'HIPPOCRATE .....	vii
LISTES DU PERSONNEL ADMINISTRATIF ET DES ENSEIGNANTS DE LA FMSP ..	viii
LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS.....	xii
LISTE DES TABLEAUX.....	xiv
LISTE DES FIGURES.....	xv
RESUME.....	1
SUMMARY .....	2
INTRODUCTION.....	3
I-QUESTION DE RECHERCHE .....	6
II- OBJECTIFS .....	8
II-1- Objectif général.....	9
II-2- Objectifs spécifiques.....	9
III-REVUE DE LA LITTERATURE .....	10
III.1. Agents pathogènes et cycle de transmission .....	11
III.1.1 Agents pathogènes, répartition géographique et symptomathologie .....	11
III.1.2 Cycle évolutif et transmission .....	13
III.2. Le vecteur et répartition géographique.....	14
III.3. Epidémiologie du paludisme .....	15
III.3.1. Répartition géographique du paludisme et faciès épidémiologique.....	15
III.3.2. Morbidité palustre .....	18
III.4. Physiopathologie du paludisme et manifestations cliniques .....	19
III.4.1. La physiopathologie du paludisme.....	19
III.4.2. Manifestations cliniques.....	20

III.5. Diagnostic du paludisme .....	22
III.5.1. Méthodes conventionnelles .....	22
III.5.2. Méthodes non conventionnelles .....	24
III.6. Traitement du paludisme .....	25
III.6.1. Traitement curatif .....	25
III.6.2. Traitement préventif .....	26
III.7. Méthodes de surveillance et d'évaluation de l'efficacité des CTA et de la résistance ...	29
III.8. Les combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine et efficacité thérapeutique .....	30
III.9. Résistances de <i>Plasmodium</i> aux antipaludiques .....	33
III.9.1. Mécanismes de la résistance et facteurs contribuant au développement de la résistance aux antipaludiques .....	33
III.9.2. Résistance moléculaires des antipaludiques dans le monde .....	34
VI-METHODOLOGIE .....	37
IV-1- Type d'étude et période de l'étude .....	39
IV-2- Lieu de l'étude .....	39
IV-3- Population d'étude et échantillonnage .....	39
IV-3-1- Population cible : .....	39
IV-3-2- Critères d'inclusion .....	39
IV-3-3- Critères de non inclusion .....	40
IV-3-4- Critères d'interruption/d'exclusion de l'étude .....	40
IV-3-5- Taille de l'échantillon et Echantillonnage .....	41
IV-4- Procédure de la recherche .....	41
IV-4-1- Procédures administratives .....	41
IV-4-2- Procédures techniques .....	41
IV-5- Analyses des données .....	46
IV-6- Considérations éthiques .....	46
V- RESULTATS .....	48

*Evaluation in vivo de l'efficacité de la combinaison artésunate/amodiaquine dans le traitement du paludisme non compliqué à Plasmodium falciparum dans la région du Centre au Cameroun*

V-1- profil de l'étude.....	49
V-2- Caractéristiques générales de la population d'étude.....	50
V-3. Antécédents de paludisme.....	51
V-4. Motifs de consultations .....	52
V-5. Caractéristiques cliniques et parasitologiques des patients.....	52
V-6. Evaluation principale de l'efficacité de ASAQ.....	53
V-7. Evaluation secondaire de l'efficacité de l'ASAQ .....	54
V-8. Facteurs interférant avec l'efficacité de ASAQ .....	55
VI- DISCUSSION.....	57
CONCLUSION .....	66
RECOMMANDATIONS.....	66
PERSPECTIVES.....	66
REFERENCES.....	67
ANNEXES .....	67

## **DEDICACE**

A mes parents Monsieur et Madame NGANSO, qui m'ont toujours soutenue et donnée le goût du travail. Merci pour l'énergie que vous m'avez donnée afin de me faire avancer.

## REMERCIEMENTS

- ❖ Au Seigneur **DIEU** Tout Puissant, pour sa miséricorde, sa grâce, ses bienfaits et pour m'avoir guidée tout au long de ma formation.
- ❖ Au **Pr Carole Else EBOUMBOU MOUKOKO**, notre directrice de thèse, enseignante chercheuse à la Faculté de Médecine et des Sciences Pharmaceutiques de l'Université de Douala (FMSP/UD). C'est un honneur pour nous, que vous ayez accepté de nous accueillir dans votre équipe de recherche au Centre Pasteur du Cameroun (CPC), de nous accompagner dans la réalisation de nos travaux de Thèse. Nous avons pu ; beaucoup apprendre de votre longue expérience rigoureuse en sciences. Merci pour votre disponibilité et aussi vos enseignements dispensés. Trouvez ici l'expression de notre sincère gratitude et profond respect.
- ❖ Au **Dr Sandrine NSANGO**, enseignante chercheuse à la FMSP/UD et au CPC, je vous remercie pour vos conseils, votre disponibilité. A chaque fois que nous avons eu besoin de vous, vous y avez répondu favorablement. Merci également pour l'honneur que vous nous faites en acceptant de codiriger cette Thèse en dépit de vos occupations multiples.
- ❖ Au **Doyen Pr Albert MOUELLE** de FMSP/UD, **les enseignants et tout le staff administratif**. Merci à vous les enseignants pour les enseignements dispensés, votre disponibilité et votre rigueur tout au long de ces années de formation. Le personnel administratif, merci pour aide et votre soutien.
- ❖ A **nos Maîtres et membres du jury**, nous vous remercions pour avoir accepté de porter un regard critique sur ce travail. Les suggestions et corrections que nous attendons avec impatience nous permettront de parfaire ce travail que nous espérons vous avoir intéressé.
- ❖ A **l'administration du CPC** d'avoir autorisé notre accueil dans cette institution connue pour ses activités de surveillance des maladies au Cameroun et dans la sous-région Afrique Centrale.
- ❖ Au **Dr Lawrence AYONG**, Chef du Service de Recherche sur le paludisme au CPC pour l'accueil, les conseils éclairés, les échanges et pour le partage de votre savoir.
- ❖ A **Mr Abas MOULIOUM**, pour votre temps et votre aide précieuse apportée dans les analyses de laboratoires. A toute votre équipe, merci pour le contrôle qualité du diagnostic parasitaire par microscopie.

- ❖ Au **Dr Serge TCHAMGOUE**, pour vos encouragements et vos conseils. Vos incitations permanentes à nous surpasser et à aller de l'avant nous ont été d'un grand soutien.
- ❖ A **Brice NGUEFACK, Christelle NGOUE, Balotin FOGANG, Gaelle BOUOPDA, Estelle ESSANGUI et Sylvie KEMLEU** pour votre disponibilité, l'assistance technique, et pour le partage de votre savoir-faire. Trouvez ici l'expression de notre profonde reconnaissance. C'était un plaisir pour nous de travailler dans une ambiance si chaleureuse.
- ❖ A mes sœurs **NGANSO Christelle, KEPTCHOUANG Sylvanie, NGANSO Séphora**, et mes frères **NGANSO Vaneck et Hugues**. Vous avez, chacun, à sa manière contribué à l'aboutissement de ce travail. Que l'amour et l'entente qui nous unissent aujourd'hui perdurent à jamais.
- ❖ Au **Dr Christian ASSOU** pour votre soutien, votre gratitude et les aides diverses que vous m'avez apportées tout au long de ce travail
- ❖ A toute ma grande famille. Merci pour votre soutien moral.
- ❖ A mes camarades de la Faculté de Médecine des Sciences Pharmaceutiques de l'Université de Douala, plus particulièrement à ceux de la sixième promotion, pour leur marque d'amitié.
- ❖ A mes camarades de thèses au service de recherche sur le paludisme du centre pasteur : **Donkeu Christiane, Biabi Marie, Keumoe Rodrigue, Mbakop Landry, Glawdys CHETEUG**, c'était un grand plaisir de travailler en communion avec vous.
- ❖ A mes chers amis de toujours : **Valdes TAKOU, Christelle FOKAM, Maurelle KAMGANG, Gérard AGRIMMEY, Brenda WANDJI Coralie MAKA, Leonel MVOGO, Aristid ASSOGMO** pour leur amour et leur encouragement.
- ❖ A mes aînés de Promotion : **Stève ONDOA, Carelle ZOBA, Léandre YVON et Glawdys ONOMO**.
- ❖ A tous ceux qui de près ou de loin ont contribué au bon déroulement de notre formation et de cette étude nous vous disons infiniment, merci.

## **SERMENT D'HIPPOCRATE**

(Déclaration de Genève)

« En qualité de membre de la profession médicale,

Je prends l'engagement solennel de consacrer ma vie au service de l'humanité ; Je considérerai la santé et le bien-être de mon patient comme ma priorité ; Je respecterai l'autonomie et la dignité de mon patient ;

Je veillerai au respect absolu de la vie humaine ; Je ne permettrai pas que des considérations d'âge, de maladie ou d'infirmité, de croyance, d'origine ethnique, de genre, de nationalité, d'affiliation politique, de race, d'orientation sexuelle, de statut social ou tout autre facteur s'interposent entre mon devoir et mon patient ;

Je respecterai les secrets qui me seront confiés, même après la mort de mon patient ; J'exercerai ma profession avec conscience et dignité, dans le respect des bonnes pratiques médicales ; Je perpétuerai l'honneur et les nobles traditions de la profession médicale ;

Je témoignerai à mes professeurs, à mes collègues et à mes étudiants le respect et la reconnaissance qui leur sont dus ; Je partagerai mes connaissances médicales au bénéfice du patient et pour les progrès des soins de santé ;

Je veillerai à ma propre santé, à mon bien-être et au maintien de ma formation afin de prodiguer des soins irréprochables ; Je n'utiliserai pas mes connaissances médicales pour enfreindre les droits humains et les libertés civiques, même sous la contrainte ; Je fais ces promesses sur mon honneur, solennellement, librement. »

**LISTES DU PERSONNEL ADMINISTRATIF ET DES ENSEIGNANTS DE  
LA FMSP**

**Année académique 2017-2018**

**PERSONNEL ADMINISTRATIF**

**1. Responsables administratifs**

Pr MOUELLE SONE Albert	Doyen
Pr NOAH NOAH Dominique	Vice Doyen chargé de la Programmation et des Affaires Académiques.
Pr EBOUMBOU MOUKOKO Carole Else	Vice Doyen chargé de la Scolarité, des Statistiques et du Suivi des Etudiants.
Pr ADIOGO Dieudonné	Vice – Doyen chargé de la Recherche et Coopération
M. MENGUE NKO'O Victor Laurenceau	Chef de la Division Administrative et Financière
M. KENENG SAMBA Bienvenu Parfait	Chef de la Cellule Informatique
Pr TAVEA Frédéric Marie	Chef de Service des Diplômes, Programmes d'enseignement et de la Recherche
Mme MOUNDJONGUE BILONG Louise	Chef de Service de la Scolarité, des Statistiques et du Suivi des Etudiants
Pr NKOYOK Jacqueline	Chef de Service de l'Administration Générale et du Personnel
Dr VANDI DELI	Chef de Service Financier
M. ATANGANA FOU DA Joseph Richard	Chef de Service du Matériel et de la Maintenance par intérim.
M. MPONDO Albert Emile	Chef de la Sous-Cellule de la Maintenance du Parc informatique
Mme NGOLLE NGANG Mathilde Mireille	Chef de la Sous-Cellule Ingénierie Logicielle et Administration des Bases de Données
Mme EKANI Agnès	Comptable Matières

**PERSONNEL ENSEIGNANT**

**2. Professeur & Maître de Conférences**

1. MOUELLE SONE Albert	Cancérologie
2. ADIOGO Dieudonné	Bactériologie/Virologie/Immunologie
3. NJOCK Louis Richard Fiacre	OrthoRhinoLaryngologie
4. DOUALLA BIJA Marie Solange	Interniste/Rhumatologue
5. EBOUMBOU MOUKOKO Else Carole	Parasitologie
6. ETANG épouse TOUKO Josiane Désirée	Parasitologie
7. MAPOURE NJANKOUO Yacouba	Neurologie
8. MBATCHOU NGAHANE Bertrand Hugo	Pneumologie
9. MOTAH Mathieu	Neurochirurgie
10. NNANGA NGA	Pharmacie
11. NOAH NOAH Dominique	Gastro-entérologie
12. TEMFEMO Abdou	Physiologie

**3. Chargés de Cours**

1. ATANGANA Paul Jean Adrien	Histologie Anatomopathologiste
2. AZOUMBOU MEFANT Thérèse	Radiologie et Imagerie Médicale
3. BITA FOUUDA André Arsène	Epidémiologie
4. BITCHONG EPOUSE EKONO Claire Françoise	Pneumo-phtisiologie
5. BONNY BONNY Aimé	Cardiologie
6. DAKAM William	Biochimie
7. DISSONGO Jean II	Santé publique
8. DONGHO TSAKEU Eveline EpouseNGOUADJEU	Hématologie clinique
9. DOUMBE Jacques Narcisse	Neurologie
10. EKONO Michel Roger Guy	Gynécologie obstétrique
11. ELOUMOU BAGNAKA Servais Albert Fiacre	Gastro-entérologie
12. ENGBANG NDAMBA Jean Paul	Chirurgie Oncologie
13. ESSAMA ENO BELINGA Lawrence Epouse BELL	Odontologie et Chirurgie maxillo-faciale
14. ESSOLA Basile	Chirurgie digestive
15. ESSOMBA Noël Emmanuel	Epidémiologie
16. ESSOMBA MANY Antoine Achille	Chirurgie Viscérale
17. ESSOME Henri	Gynécologie obstétrique

*Evaluation in vivo de l'efficacité de la combinaison artésunate/amodiaquine dans le traitement du paludisme non compliqué à Plasmodium falciparum dans la région du Centre au Cameroun*

18. ESSONO MVOA Emmanuel	Parasitologie
19. EYA'ANE MEVA François	Chimie inorganique
20. FANNANG Simone Véronique	Chimie organique
21. HALLE née MAFFOSSOG Marie Patrice	Néphrologie
22. KAMDEM Née DJIMEGNE Félicité	Cardiologie
23. KEDY MANGAMBA Christiane Epouse KOUM	Pédiatrie
24. KIDIK POUKA Marie-Catherine	Pharmacologie
25. KUETE Thomas	Parasitologie
26. LEMOGOUM Daniel	Cardiologie
27. LOE Epouse ETAME Gisèle Marie Marguerite	Pharmacie
28. MBALLA AMOUGOU Jean Claude	Radiologie et Imagerie Médicale
29. MBOSSO TEINKELA Jean Emmanuel	Chimie organique
30. MOBY MPAH Edouard Hervé	Chirurgie urologique
31. NDA MEFO'O Jean Pierre	Microbiologie
32. NDO Cyrille	Biologie animale
33. NDOUMBE Aurélien	Neurochirurgie
34. NGABA Guy Pascal	Mycologie
35. NGANWA KEMBAOU Grâce Epouse NJIAKAM	Anatomopathologie
36. NGATCHOU DJOMO William	Chirurgie cardiovasculaire
37. NGENE Jean Pierre	Pharmacologie
38. NGO SACK Epouse MAKAK Françoise	Hématologie / Biologie
39. NGOMBA Armelle Viviane	Epidémiologie
40. NGOULE Charles Christian	Pharmacie
41. NGUEFACK Epouse TCHENTE Charlotte	Gynécologie
42. NGUEMFO Edwige Laure	Physiologie animale
43. NIDA Martine Calixte	Dermatologie
44. NJALL BIKOK Née POUTH Clotilde	Anesthésie Réanimation
45. NJIFOU NJIMAH Amadou	ORL
46. NSANGO Sandrine Evelyne	Biologie moléculaire
47. OKALLA Née EBONGUE NGOLE ESSON Cécile	Bactériologie/Virologie
48. OWONA MANGA Léon Jules	Epidémiologie
49. PENDA Ida Calixte	Pédiatrie
50. TSIAGADIGUI Jean Gustave	Chirurgie orthopédie

*Evaluation in vivo de l'efficacité de la combinaison artésunate/amodiaquine dans le traitement du paludisme non compliqué à Plasmodium falciparum dans la région du Centre au Cameroun*

- |   |  |
|---|--|
| 51. VANDI Déli                            | Pharmacie                                      |
| 52. YAPNA Epouse KWAMOU Diane Béatrice    | Chimie organique                               |
| 53. YINYANG Jacques                       | Pharmacie                                      |
| <br>                                      |  |
| <b>4. Assistants</b>                      |  |
| 1. ABENG MBOZO'O Emile Ferdinand          | Radiologie et Imagerie Médicale                |
| 2. BEKOLO Winnie Tatiana                  | Gastro-entérologie                             |
| 3. EPACKA Née EWANE LOBE Marielle         | Endocrinologie/Physiologie                     |
| 4. ETOA NDZIE Martine Claude              | Endocrinologie-Diabétologie                    |
| 5. FOU DA BEKOLO Fabien                   | Chirurgie générale                             |
| 6. KOUBE Juliette                         | Biologie végétale                              |
| 7. METOGO MBENGONO Junette Arlette        | Anesthésiste-réanimatrice                      |
| 8. MBANGO NGOH Noël Désirée Epouse EKOUTA | Médecine Interne - Endocrinologie-Diabétologie |
| 9. NDJEMAI HAMADOU NKONDJIO Médard        | Biologie animale                               |

## **LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS**

<b>°C :</b>	Degré Celsius
<b>µL</b>	Microlitre
<b>ADN :</b>	Acide Désoxyribonucléique
<b>AL :</b>	Artemether-lumefantrine
<b>A :</b>	Anophèle
<b>AQ :</b>	Amodiaquine
<b>AM</b>	Arthémeter
<b>AS :</b>	Artésunate
<b>ASAQ :</b>	Artésunate/Amodiaquine
<b>ASMQ</b>	Artésunate/Méfloquine
<b>ASSP</b>	Artésunate/ Sulfadiazine+Pyriméthamine
<b>Cp :</b>	Comprimé
<b>CPC</b>	Centre Pasteur Cameroun
<b>CQ :</b>	Chloroquine
<b>CTA :</b>	Combinaison thérapeutique à base d'artémisinine
<b>DHA-PQ :</b>	<i>Dihydroartémisinine-Pipéraquline</i>
<b>ECT :</b>	Echec clinique tardif
<b>ELISA :</b>	Enzyme linked immunosorbent assay
<b>EPT :</b>	Echec parasitologique tardif
<b>ETP :</b>	Echec thérapeutique précoce
<b>ETT :</b>	Echec thérapeutique tardif
<b>FMSP/UD</b>	Faculté de Médecine et des Sciences Pharmaceutiques de l'Université de Douala
<b>GPS</b>	Global Positioning System
<b>QGIS</b>	Quantum géographique information system
<b>Hb :</b>	Hémoglobine
<b>Hg :</b>	Symbole du mercure
<b>HRP 2 :</b>	Histidin rich protein 2
<b>IC 95% :</b>	Intervalle de confiance à 95 pour cent
<b>J0 :</b>	Premier jour
<b>J1 :</b>	Deuxième jour
<b>J2 :</b>	Troisième jour
<b>J3 :</b>	Quatrième jour

<b>J7 :</b>	Huitième jour
<b>J14 :</b>	Quinzième jour
<b>J21 :</b>	Vingt deuxième jour
<b>J28 :</b>	Vingt neuvième jour
<b>J42 :</b>	Quarante troisième jour
<b>Kg :</b>	Kilogramme
<b>LDH :</b>	Lactates déshydrogénases
<b>ml :</b>	Millilitre
<b>mmol/l:</b>	Millimole par litre
<b>OMS :</b>	Organisation mondiale de la santé
<b>OR</b>	Odds ratio
<b><i>P. falciparum</i> :</b>	<i>Plasmodium falciparum</i>
<b><i>P. Knowlesi</i> :</b>	<i>Plasmodium knowlesi</i>
<b>PNC</b>	Paludisme non compliqué
<b><i>P. malariae</i> :</b>	<i>Plasmodium malariae</i>
<b><i>P. ovale</i> :</b>	<i>Plasmodium ovale</i>
<b><i>P. vivax</i> :</b>	<i>Plasmodium vivax</i>
<b>p :</b>	Probabilité
<b>PCR</b>	Polymerase Chain Reaction
<b><i>Pfprt</i> :</b>	<i>Plasmodium falciparum</i> chloroquine résistance transporter
<b><i>Pfdhfr</i> :</b>	<i>Plasmodium falciparum</i> dihydrofolate reductase
<b><i>PfHRP2</i> :</b>	<i>Plasmodium falciparum</i> histidine-rich protein 2
<b><i>Pfmdr1</i> :</b>	<i>Plasmodium falciparum</i> multidrug resistance gene 1
<b><i>pLDH</i> :</b>	<i>Plasmodium Lactate Déshydrogénase</i>
<b>PNLP :</b>	Programme Nationale de Lutte Contre le Paludisme
<b>Q</b>	Quinine
<b>RCPA :</b>	Réponse clinique et parasitologique adéquate
<b>SP :</b>	Sulfadoxine-pyriméthamine
<b>TDR :</b>	Test de diagnostic rapide
<b>WHO :</b>	World Health Organisation

## **LISTE DES TABLEAUX**

Tableau I. Répartition géographique des espèces plasmodiales humaines .....	11
Tableau II. Répartition du nombre de cas de paludisme par région en 2015 .....	18
Tableau III. Importance des décès dus au paludisme enregistré dans les formations sanitaires par groupes cibles en 2015. ....	19
Tableau IV. Critères de gravité du paludisme grave selon l'OMS.....	21
Tableau V. Classification des principaux antipaludiques.....	26
Tableau VI. Prise en charge du paludisme au Cameroun.....	28
Tableau VII: Marqueurs moléculaires de la résistance.....	30
Tableau VIII: Calendrier de suivi .....	43
Tableau IX. Classification de la réponse thérapeutique .....	45
Tableau X Caractéristiques cliniques et parasitologiques des patients à J0.....	53
Tableau XI : Réponse thérapeutique de l'ASAQ à J28 .....	53
Tableau XII : Réponse thérapeutique à l'ASAQ à J42.....	53
Tableau XIII: Facteurs associés à une RCPA à J28 .....	56
Tableau XIV. Facteurs associés à la RCPA à J42 .....	56

## LISTE DES FIGURES

Figure 1. Cycle de vie du Plasmodium chez l'homme et chez le moustique .....	13
Figure 2. Femelle du genre Anophèles se gorgeant.....	15
Figure 3. Evolution de l'endémicité palustre en fonction des pays en 2000 et 2016 .....	16
Figure 4. Variabilité de la transmission du paludisme en Afrique Subsaharienne .....	17
Figure 5. Durée de transmission du paludisme au Cameroun .....	17
Figure 6. Préparation d'une goutte épaisse et d'un frottis mince .....	23
Figure 7. Les mutations du K13 décrites au Cameroun.....	36
Figure 8: Localisation des différents aires de santé générés sous QGIS à partir des points GPS .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
Figure 9. Diagramme de flux .....	49
Figure 10. Répartition des effectifs en fonction du sexe. ....	50
Figure 11. Répartition de la population d'étude par classe d'âge.....	50
Figure 12. Répartition de la population en fonction des traitements antérieurs reçus.....	51
Figure 13. Répartition de la population d'étude par motifs de consultation .....	52
Figure 14. Proportion des patients fébriles au cours du suivi.....	54
Figure 15. Taux de portage gamétoctaire au cours du suivi .....	54
Figure 16. Effets indésirables dus à ASAQ .....	55

## RESUME

**Introduction.** En 2004 le Cameroun adoptait les combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine (CTA), cependant la surveillance de l'efficacité des CTA est rare et n'est pas effective dans l'ensemble du territoire. L'émergence de la résistance de *Plasmodium* aux CTA en Asie du Sud Est fait craindre sa propagation en Afrique comme ce fut le cas pour la chloroquine, la sulfadoxine-pyriméthamine et la méfloquine. **Objectif.** Notre étude avait pour but d'évaluer *in vivo*, l'efficacité et l'innocuité de la combinaison artésunate+amodiaquine (ASAQ) dans le traitement du paludisme non compliqué 11 ans après leur introduction au Cameroun. **Méthode.** Une étude longitudinale, prospective et analytique a été conduite dans la région du centre de novembre 2015 à février 2016. Les patients âgés de plus de six mois présentant un paludisme non compliqué à *P. falciparum* uniquement, diagnostiquée par TDR et goutte épaisse ont été régulièrement suivis toutes les six heures en hospitalisation pendant les trois jours de traitement (J0 à J2) puis à J3, J7, J14, J21, J28, J35 et J42 en consultation externe. Les paramètres parasitologiques et cliniques ont été collectés à différents « point in time ». **Résultats.** Trente-quatre (34) patients ont eu un suivi complet sur les 44 inclus. L'analyse en per protocole a montré une réponse clinique et parasitologique adéquate non corrigée par PCR à J42 de 70,5%. Quatre (11,8%) patients avaient une parasitémie persistante par microscopie à J3. Nous avons observé trois échecs thérapeutiques précoces et sept échecs parasitologiques tardifs. Nous avons noté une réduction drastique du taux de portage des gamétocytes au cours du suivi. ASAQ a été bien toléré et aucun effet indésirable noté n'a conduit à l'arrêt du traitement. L'âge, le sexe et la survenue des effets indésirables n'ont pas été associés à un échec thérapeutique. La parasitémie positive à J3 était un facteur de risque associé à l'échec thérapeutique à J28 (OR=21,8 ; IC95% :1,3-374,0 ; p=0.033). **Conclusion.** Dans cette étude, plus 10% des patients ont une parasitémie persistante par microscopie à J3, ce qui suggère une suspicion de la résistance partielle à l'artémisinine.

**Mots clés :** *Plasmodium falciparum*, ASAQ, efficacité *in vivo*, tolérance, Cameroun

## SUMMARY

**Background.** In 2004, Cameroon adopted artemisinin-based combination therapies (ACTs); however, surveillance of ACT efficacy is rare and not effective throughout the country. The emergence of *Plasmodium* resistance to CTAs in South East Asia raises fears of its spread in Africa as observed for chloroquine, sulfadoxine-pyrimethamine and mefloquine. **Objective.** The purpose of our study was to evaluate *in vivo* efficacy and safety of the artesunate+amodiaquine combination (ASAQ) in the treatment of uncomplicated malaria, 11 years after their introduction in Cameroon. **Method.** A longitudinal, prospective and analytical study was conducted in the department of Center from November 2015 to February 2016. Patients older than 6 months with uncomplicated *P. falciparum* malaria were followed six hours intervals in hospitalization during the three days of treatment (day 0 to day 2) and follow-up assessments outpatient were performed on days 3, 7, 14, 21, 28, 35. Parasitological and clinical parameters were collected at each point in time. **Results.** Among the 44 patients included, 34 patients had been completely followed-up. The per protocol analysis showed an adequate clinical and parasitological response with PCR-uncorrected on day 42 of 70.5%. Four (11.8%) patients had persistent parasitaemia at day 3 in microscopy. Three (3) early treatment failures and seven (7) late parasitological failures were reported. We observed a drastic reduction in the gametocyte carriage rate during follow-up. ASAQ was well tolerated and, no noted adverse effects didn't lead to treatment interruption. Age, sex and reported adverse events were not associated with treatment failure. Positive parasitaemia at day 3 was a risk factor associated with treatment failure at day 28 (OR=21,8 ; IC95% :1,3-374,0 ; p=0.033). **Conclusion.** In this study, more than 10% of patients had persistent parasitaemia by microscopy on day 3, suggesting a suspicion of partial resistance to artemisinin.

**Key words:** *Plasmodium falciparum*, ASAQ, In vivo efficacy, tolerance, Cameroon.

# **INTRODUCTION**

La planification et la mise en œuvre d'un programme de contrôle du paludisme doit reposer sur une bonne connaissance de l'épidémiologie de la maladie, mais aussi l'application d'interventions adaptées au contexte épidémiologique de chaque pays ou de chaque région au sein d'un même pays. Un état des lieux de l'efficacité des différentes mesures préventives et curatives est un pré-requis pour l'amélioration des stratégies de lutte déjà existantes ou pour la mise en œuvre des stratégies par les décideurs au niveau national.

Le paludisme est une maladie parasitaire causée par un protozoaire du genre *Plasmodium* [1]. Au moins cinq espèces de *Plasmodium* (*P.*) sont à l'origine du paludisme chez l'homme, le plus virulent étant *P. falciparum*. Les quatre autres espèces comprennent *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae* et *P. knowlesi* qui causent parfois un paludisme grave, mais à des taux de mortalité faibles.

En dépit des progrès considérables observés en matière de prévention et de traitement, l'incidence du paludisme a augmenté de façon significative entre 2014 et 2016 dans la région Amériques de l'OMS, et de manière plus marginale, dans les régions Afrique, Asie du Sud-Est et Pacifique occidental de l'OMS, faisant du paludisme un problème majeur de santé publique persistant et associé à une morbi-mortalité importante [2,3]. En 2016, on estimait à 3,3 milliards le nombre de personnes exposées au risque d'infection palustre dans le monde, avec plus de 216 millions de cas déclarés et 445 000 décès [2,3]. Au Cameroun, 1 369 512 de cas et 4 398 décès ont été notifiés en 2015 pour une population estimée à 23 millions d'habitants [4].

Les efforts mis en place dans le contrôle du paludisme sont souvent compromis par l'émergence et la propagation aussi bien des vecteurs aux molécules insecticides que des parasites aux molécules antipaludiques. Les combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine (CTA) : Artésunate-Amodiaquine (ASAQ) et Artémether-Luméfantrine (AL) ont été adoptées respectivement en 2004 et en 2006 au Cameroun dans le traitement du paludisme non compliqué (PNC) [5,6] suite aux recommandations de l'OMS compte tenu des résistances à la plupart des monothérapies habituellement utilisées [7,8].

Malgré une double protection des CTA composées d'une molécule à action rapide (le dérivé à base d'artémisinine qui assure la destruction massive et rapide des parasites) et d'une molécule à action lente (la molécule partenaire qui assure l'élimination des parasites récurrents par sa longue durée de vie) [7], qui devrait permettre de retarder l'apparition de la résistance aux CTA, *P. falciparum* semble s'être une fois de plus adapté. En effet, des cas de résistance à l'artémisinine (pièce angulaire des combinaisons thérapeutiques) ont déjà été détectées dans cinq pays de la sous-région du Grand Mékong, augmentant le risque de réduction de l'efficacité des CTA, et mettant en péril tous les efforts déployés à cet effet [9–15]. Cette résistance se

caractérise par un retard de clairance parasitaire observé *in vivo* sur les isolats de terrain et confirmé par des tests *in vitro* et moléculaires.

Au Cameroun, la surveillance de l'efficacité des CTA est rare et n'est pas effective dans l'ensemble du territoire. Depuis l'introduction des CTA en 2004, six études publiées ont été menées dans différentes zones du Cameroun. Quatre d'entre-elles comparaient les deux formulations ASAQ et AL ou AS-SP, en 2004 (étude multicentrique : Yaoundé, Bertoua, Maroua, Garoua), en 2005 (Yaoundé), en 2006 (Buea), en 2007 (Ngaoundéré) [16–19]. Deux études réalisées en 2007 (Yaoundé) et en 2015 (Yaoundé) concernaient l'évaluation de l'efficacité de la combinaison dihydroartémisinine/pipéraqune (DHA-PQ) [16,20]. Ces études ont confirmé une efficacité variant de 71,6% à 99,4% pour la bithérapie ASAQ et entre 96,4% et 98,3% pour la bithérapie AL. Ces études ont été faites dans un temps de suivi limité et variable en fonction des études (14 jours ou 28 jours) et l'administration du médicament n'était pas faite sous observation médicale au moins dans les trois premiers jours après la mise sous traitement. Ce qui ne permettait pas d'évaluer l'effet réel de l'artémisinine (dont la demi-vie est de 1 à 2h). Par ailleurs, l'efficacité de la combinaison ASAQ n'a pas été réévaluée dans le territoire depuis l'apparition des premières résistances à l'artémisinine observées en 2008 dans la région d'Asie [15].

Quand on sait que la résistance à la chloroquine (CQ) en Afrique n'était pas une émergence locale mais une propagation de celle-ci seulement dix ans après celle observée en Asie, il nous a semblé opportun d'évaluer en conditions réelles de déploiement (effectiveness), l'efficacité clinique et parasitologique de la combinaison ASAQ ; compte tenu de ces observations et en prenant en considération le besoin des données fiables sur l'efficacité et la sécurité des CTA utilisées.

# **I-QUESTION DE RECHERCHE**

*Evaluation in vivo de l'efficacité de la combinaison artésunate/amodiaquine dans le traitement du paludisme non compliqué à Plasmodium falciparum dans la région du Centre au Cameroun*

La CTA ASAQ utilisée en première ligne dans le traitement du PNC à *P. falciparum* et recommandée par le Ministère de la Santé Publique (MINSANTE) du Cameroun est-elle toujours efficace ?

## **II- OBJECTIFS**

## **II-1- Objectif général**

Evaluer *in vivo* et en conditions réelles de déploiement (effectiveness) par une étude longitudinale, l'efficacité et l'innocuité de la CTA ASAQ utilisée en première ligne dans le traitement du PNC à *P. falciparum*.

## **II-2- Objectifs spécifiques**

- Décrire les profils sociodémographiques des patients
- Répertorier les effets secondaires liés à la combinaison ASAQ
- Déterminer l'efficacité clinique et parasitologique de la combinaison ASAQ
- Déterminer les facteurs interférant avec l'efficacité de la combinaison ASAQ

### **III-REVUE DE LA LITTERATURE**

### III.1. Agents pathogènes et cycle de transmission

#### III.1.1 Agents pathogènes, répartition géographique et symptomathologie

Le parasite responsable du paludisme est un protozoaire appartenant à l'embranchement des Apicomplexa, à la classe des Sporozoaires, à l'ordre des Coccidies, au sous-ordre des *Haemosporidae*, à la famille des *Plasmodidae* et au genre *Plasmodium*. Sur les 140 espèces de *Plasmodium* décrites, seules cinq sont responsables du paludisme humain à l'instar de : *P. falciparum*, *P. malariae*, *P. vivax*, *P. ovale* et *P. knowlesi* [21] (Tableau I). Récemment, *Plasmodium cynomolgi*, parasite de singe morphologiquement proche de *P. vivax*, a été retrouvé chez l'homme au Sud-Est asiatique mais son implication clinique n'est pas encore connue [22].

**Tableau I.** Répartition géographique des espèces plasmodiales humaines

<b>Espèces plasmodiales</b>	<b>Zones concernées</b>
<i>P. falciparum</i>	Afrique subsaharienne, Asie du sud-est, Océanie, Amérique Centrale et Sud
<i>P. malariae</i>	Afrique et Asie
<i>P. vivax</i>	Asie du sud-est, Amérique Central et du sud, Afrique de l'est, Proche et Moyen-Orient, des cas rares en Afrique
<i>P. ovale</i>	Afrique intertropicale du Centre et de l'Ouest, Pacifique (Asie, Océanie-Amazonie)
<i>P. Knowlesi</i>	Asie du Sud-est
<i>P. cynomolgi</i>	Asie du Sud-est

De tous les espèces pathogènes pour l'Homme, *P. falciparum* est la plus répandue en zones chaudes intertropicales [23]. Cet espèce est par ailleurs la plus redoutable et la plus mortelle, car responsable de la majorité des cas de morbidité et de mortalité palustres en Afrique [24,25]. Il est responsable de la fièvre tierce maligne et de la quasi-totalité des décès liés au paludisme. Sa période d'incubation est de 7 à 15 jours. Elle infeste aussi bien les érythrocytes jeunes (réticulocytes) que les plus âgés. Dans les régions équatoriales, elle est transmise toute l'année avec de recrudescences en saison pluvieuses alors que dans les régions subtropicales, la transmission ne survient qu'en période chaude et humide [25].

*P. malariae* représente 10 à 14% des infections à *plasmodium* et est responsable de fièvre quarte (périodicité différente de la fièvre). Sa période d'incubation est de 15 à 21 jours et a une capacité à entraîner des reviviscences très tardives (jusqu'à 20 ans après la primo-infection due à la présence des formes pré-érythrocytaires, formes latentes ou hypnozoïtes et après un retour de la zone d'endémie). Il a surtout des affinités pour les globules rouges âgés, et l'infection est bénigne mais peut parfois entraîner des complications rénales. Il peut se développer sous les tropiques comme en zone tempérée mais aujourd'hui sa distribution est sporadique et surtout tropicale.

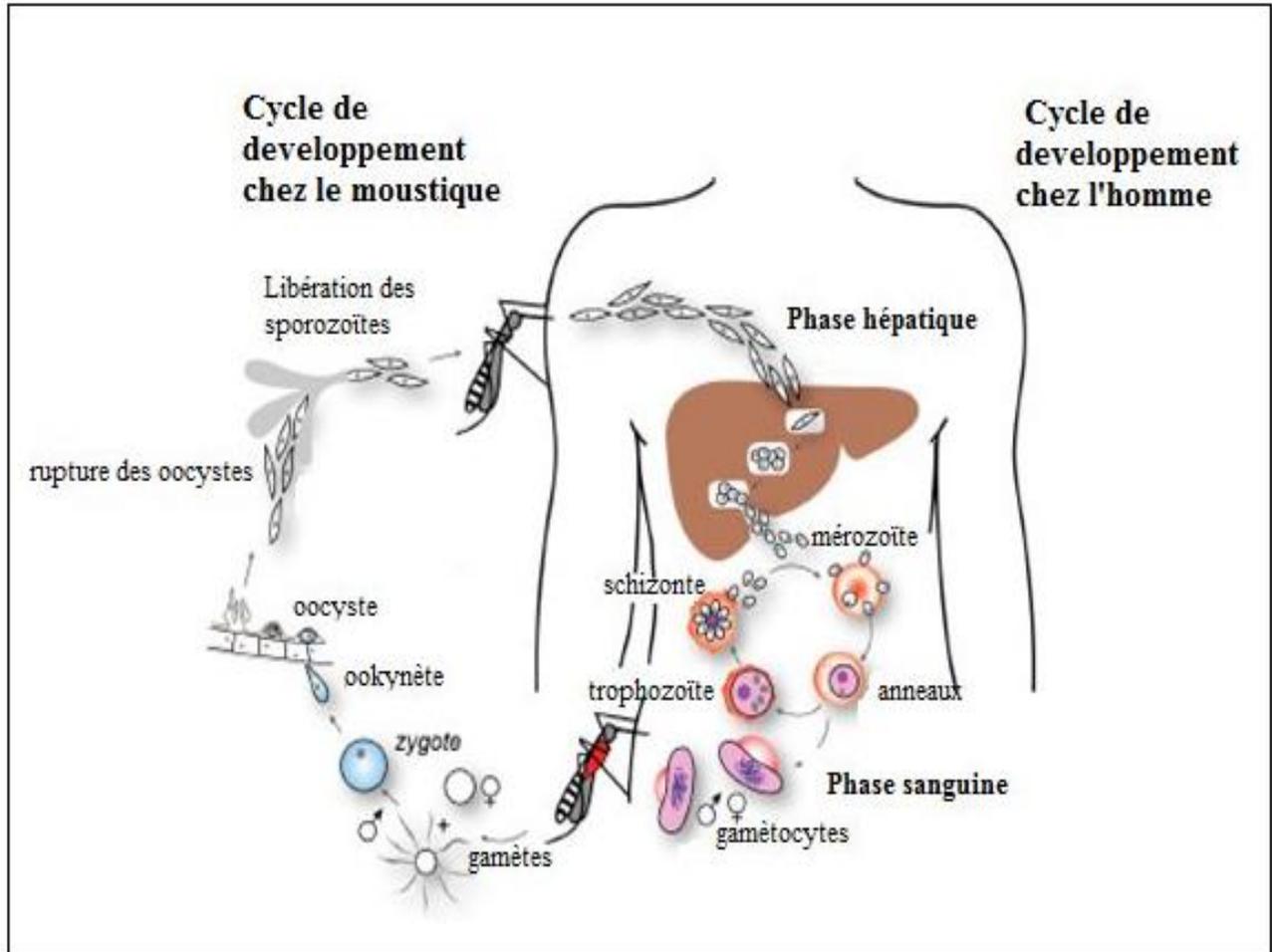
*P. vivax* a une période d'incubation de 11 à 13 jours avec des rechutes (accès de reviviscence) 3 à 4 ans après la primoinfection. Cette espèce est aussi responsable de fièvre tierce bénigne, mais des répercussions graves sur l'état de santé des populations en zone d'endémie ont été rapportées. La pénétration dans les hématies nécessite la présence de l'antigène Duffy. Ce qui explique sa répartition géographique actuelle. Toutefois, des cas d'infection chez les Duffy négatifs ont été observés dans différents pays d'Afrique [26,27].

*P. ovale* représente moins de 1% des infections à *Plasmodium*. Sa période d'incubation est longue, de 15 jours au minimum, elle peut aller jusqu'à 4 ans. Comme *P. vivax*, il est responsable de fièvre tierce bénigne, mais peut entraîner des rechutes tardives (2 à 5 ans) après l'inoculation. Il est surtout présent dans les régions où *P. vivax* est absent ou rare. Quant à *P. knowlesi*, il est morphologiquement proche de *P. malariae*. L'évolution des infestations à *P. knowlesi* est grave et elles doivent être traitées comme des cas de paludisme à *P. falciparum*. Des cas mortels ont été rapportés en Asie [28].

Au Cameroun, *P. falciparum* est l'espèce la plus fréquente, responsable à plus de 90% des cas de paludisme, suivi de *P. malariae* (5-10%) et dans une moindre mesure *P. ovale*. Des cas d'infections à *P. vivax* ont été mentionnés dans les régions de l'Ouest et du Sud Cameroun chez les individus Duffy négatifs [29–32], alors qu'il avait été longtemps admis que l'absence de ce récepteur chez les populations noires constituait une protection à la pénétration de ce parasite dans les globules rouges. La présence éventuelle de *P. knowlesi* (ou d'autres espèces de *Plasmodium*) infectant l'homme n'a pas été documentée au Cameroun.

### III.1.2 Cycle évolutif et transmission

Le cycle évolutif de *Plasmodium* est un processus complexe comportant deux phases: une phase asexuée observée chez l'hôte intermédiaire vertébré (ou schizogonie) et une phase sexuée qui se déroule chez l'hôte définitif l'insecte vecteur l'anophèle femelle (ou sporogonie) (Figure 1) [33].



**Figure 1.** Cycle de vie du Plasmodium chez l'homme et chez le moustique

La phase pré-érythrocytaire dure 7 à 21 jours en fonction de l'espèce plasmodiale est suivie du cycle schizogonique sanguin ou phase érythrocytaire qui dure 48 à 72 heures en fonction des espèces. Après plusieurs cycles érythrocytaires, certains parasites se différencient en gamétocytes, et c'est lors de son repas sanguin chez l'Homme infecté que l'Anophèle récupère ces formes gamétocytaires qui poursuivront leur développement dans le tube digestif du moustique puis dans les glandes salivaires à partir desquels se fera une nouvelle transmission à l'Homme. Chez le moustique, l'ensemble du cycle se déroule entre 10 et 40 jours selon la température extérieure et l'espèce plasmodiale. Le paludisme résulte de ce cercle vicieux entre l'homme et le moustique.

La phase sanguine du cycle rend possible d'autres modes de transmission tels que la transmission congénitale, transfusionnelle, par greffe d'organe ou transmission accidentelle chez des personnels de santé manipulant du sang contaminé.

Les facteurs environnementaux tels que la température, la pluviométrie et l'humidité relative sont des éléments déterminants dans la transmission du *Plasmodium*. Certaines conditions liées à l'hôte auront un effet favorable ou défavorable sur la transmission du *Plasmodium*. Les circonstances favorables qui entraînent une relative protection vis-à-vis du paludisme sont : (i) la présence d'hémoglobine S (entraînant la sicklémie traduite sur un frottis par des hématies falciformes), (ii) la présence d'hémoglobine F (protège le nouveau-né pendant les premières semaines de vie), (iii) la thalassémie chez l'adulte, (iv) la malnutrition protéino-calorique (v) un déficit en G6PD (risque hémolytique). Par contre, les circonstances défavorables qui entraînent un caractère aggravant du paludisme sont (i), un déficit immunitaire, (ii) la grossesse.

### **III.2. Le vecteur et répartition géographique**

La transmission du paludisme est assurée par des arthropodes appartenant à la classe des insectes, à l'ordre des diptères, à la famille des *Culicidae* (Harbach, 2004), à la sous-famille des *Anophelinae* et au genre *Anopheles* (Meigen, 1918). Parmi les 400 espèces du genre *Anopheles* identifiées ou dénombrées, environ 80 sont impliquées dans la transmission du paludisme [34,35]. La transmission est assurée par l'anophèle femelle qui du fait de son caractère hématophage et anthropophage, est capable de piquer l'Homme et de lui inoculer le parasite.

La faune anophélienne camerounaise est très diversifiée, et comprend 6 vecteurs majeurs (*An. gambiae*, *An. coluzzii* ; *An. funestus* ; *An. nili* ; *An. moucheti* et *An. arabiensis*) et 9 vecteurs secondaires d'importance locale (*An. hancocki*, *An. paludis*, *An. marshalli*, *An. coustani*, *An. wellcomei*, *An. ovengensis*, *An. ziemanni*, et *An. pharoensis*), chacune de ces espèces pouvant assurer simultanément ou en alternance la transmission [36-39].

Les anophèles femelles se reconnaissent à leur position de repos, oblique par rapport au support sur lequel elles sont posées, et à leurs appendices céphaliques (Figure2). Elle ne pique classiquement qu'entre le coucher et le lever du soleil, soit généralement entre 18 h et 6 h [40,41].



**Figure 2.** Femelle du genre Anophèles se gorgeant

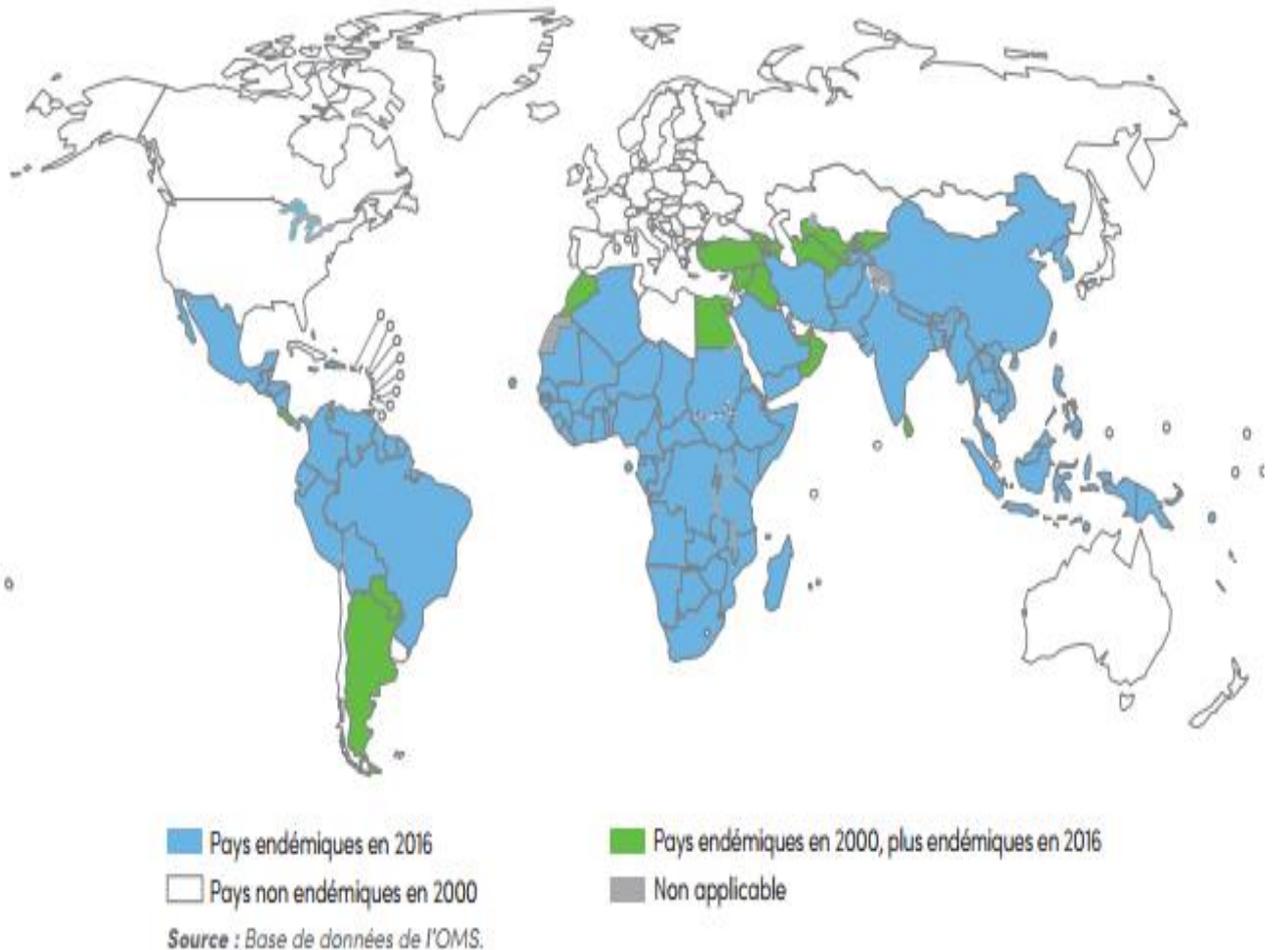
Source : <http://campus.cerimes.fr/parasitologie/enseignement/paludisme/site/html/1.html>

### **III.3. Epidémiologie du paludisme**

#### **III.3.1. Répartition géographique du paludisme et faciès épidémiologique**

Le paludisme (du latin palus), ou malaria (de l'italien mal'aria, mauvais air), est une endémie mondialement très répandue. Il a sévi dans presque toutes les régions du globe contrairement à actuellement où il n'est plus présent qu'autour de la ceinture intertropicale, essentiellement d'Asie, d'Afrique et d'Amérique. Des cas de paludisme d'importation existent dans les autres régions du globe et sont rapportés fréquemment [42-44].

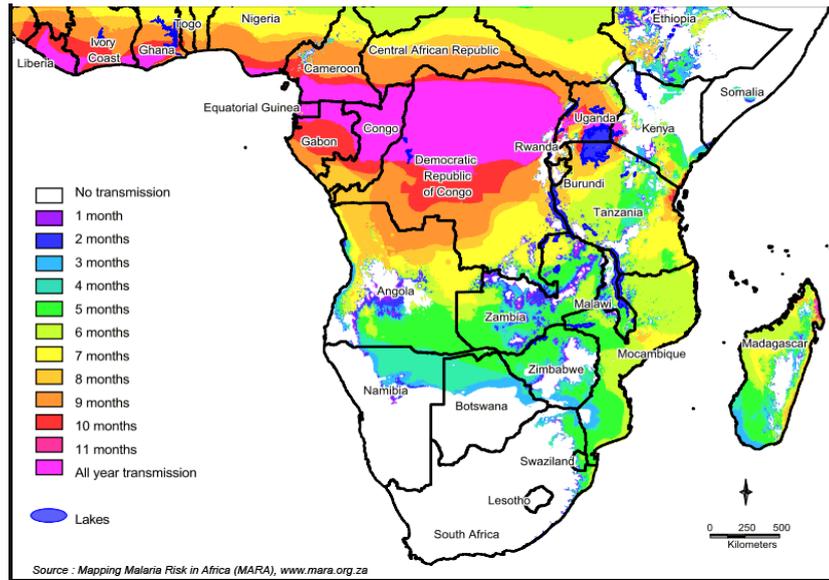
Depuis 2016, le paludisme est considéré endémique dans 91 pays et territoires, contre 108 en 2000. Ce qui montre que les méthodes de lutte développées et leur mise à échelle dans la population, auxquels s'ajoute le déploiement des CTA et leur accès dans les différents pays ont eu un impact considérable dans la baisse de la charge liée au paludisme. Sa distribution est dépendante des conditions écologiques favorables à la survie du moustique vecteur du parasite et cette distribution correspond étroitement bien malheureusement, aux régions pauvres de la planète (Figure 3) [2,3].



**Figure 3.** Evolution de l'endémicité palustre en fonction des pays en 2000 et 2016  
<http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/254913/WHO-HTM-GMP-2017.4-fre.pdf;jsessionid=F8315ECA40F480812DB0FCEE04BD2AC6?sequence=1>

En Afrique, le concept de faciès épidémiologiques avait été établi pour l'Afrique de l'Ouest, puis généralisé à toute la région Afro-tropicale. Dans cette notion de faciès sont intégrées les caractéristiques climatiques et phytogéographiques des grandes régions d'Afrique subsaharienne (forêt, savane, sahel, steppes, plateaux et zones montagneuses).

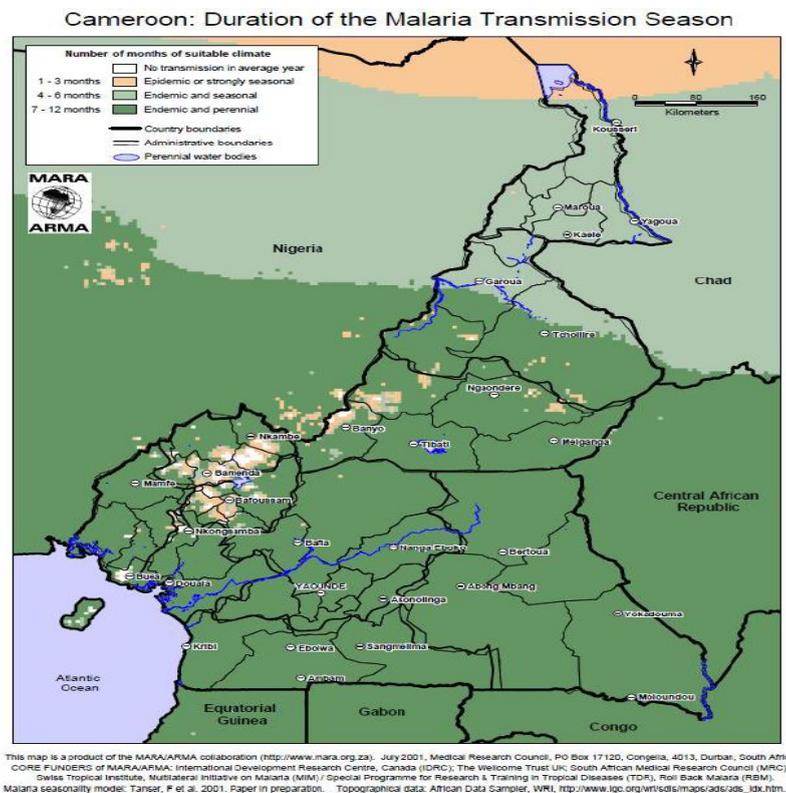
Aussi, plusieurs faciès ont été décrits : (i) le faciès équatorial ou paludisme endémique à transmission permanente, (ii) le faciès tropical ou paludisme endémique à transmission saisonnière, (iii) le faciès sahélien ou paludisme à transmission épisodique et (iv) le faciès désertique et montagnard ou paludisme à transmission sporadique (Figure 4) [34,45].



**Figure 4.** Variabilité de la transmission du paludisme en Afrique Subsaharienne

<http://geoconfluences.ens-lyon.fr/doc/transv/sante/SanteDoc.htm>

Au Cameroun, on distingue trois principaux faciès épidémiologiques : (i) le faciès équatorial au sud forestier, (ii) le faciès de savane sur le plateau intérieur et (iii) le faciès soudano sahélien au nord du pays (Figure5) [46].



**Figure 5.** Durée de transmission du paludisme au Cameroun

### **III.3.2. Morbidité palustre**

Dans le rapport annuel de l'OMS pour l'année 2016, 216 millions de cas de paludisme ont été rapportés et le nombre de décès était estimé à 445 000 [2,3]. Et malheureusement, la plus grande charge de la morbidité palustre se trouve toujours dans la région Afrique de l'OMS avec 90 % de l'ensemble des cas et 91% en ce qui concerne les décès. Avec les mesures de lutte de plus en plus déployés dans les pays endémique, l'exposition au risque d'infection a considérablement baissé, près de 18 %, elle est passé de 76 cas pour 1 000 habitants exposés au risque de paludisme en 2010 à 63 pour 1 000 en 2016. La région Asie du Sud-Est de l'OMS enregistre la baisse la plus prononcée (48 %), suivie des régions Amériques avec 22 % et l'Afrique avec 20 % [3].

Au Cameroun, le paludisme demeure l'endémie parasitaire majeure et reste endémique dans 9 des 10 régions et 90% des infections sont dues à *Plasmodium falciparum* (*P. falciparum*) [Résumé dans [47,48]. En 2015, le rapport du PNLN estimait à 1 369 512 le nombre de cas de paludisme pour une population estimée à 23 millions d'habitants, soit un taux de morbidité de 21% pour l'ensemble du pays avec un taux variable d'une région à une autre (Tableau II) [49].

#### **Tableau II.** Répartition du nombre de cas de paludisme par région en 2015

Le taux de morbidité le plus élevé a été enregistré dans la région du Centre avec 26%, suivi de la région de l'Adamaoua et de l'Extrême nord avec 24%.

Le pourcentage de décès liés au paludisme en 2015 était estimé à 19% (4398 décès) au Cameroun et plus de la majorité des décès (69,7%) survenait chez les enfants de moins de 5 ans (Tableau III) [49].

**Tableau III.** Importance des décès dus au paludisme enregistré dans les formations sanitaires par groupes cibles en 2015.

Région	Décès liés au paludisme	% Décès < 5ans	% Décès Femmes enceintes	% Décès Reste de la population
Adamaoua	432	72.7%	0.9%	26.4%
Centre	236	49.2%	3.0%	47.9%
Est	340	74.4%	0.6%	25.0%
Extrême nord	1668	72.1%	0.8%	27.01%
Littoral	175	56.6%	2.3%	41.1%
Nord	961	78.7%	0.7%	20.6%
Nord-ouest	214	41.1%	1.4%	57.5%
Ouest	142	67.6%	1.4%	31.0%
Sud	58	72.4%	0.0%	27.6%
Sud-ouest	172	58.7%	1.2%	40.1%
Cameroun	4398	69.7%	1.0%	29.2%

### III.4. Physiopathologie du paludisme et manifestations cliniques

#### III.4.1. La physiopathologie du paludisme.

La physiopathologie du paludisme est complexe et pas encore complètement élucidée. Plusieurs théories et probablement complémentaires sont actuellement retenues, notamment la séquestration d'hématies parasitées adhérant aux cellules endothéliales, et l'intervention de cytokines ou autres médiateurs [50]. Les coinfections peuvent jouer également un rôle important en modifiant la réponse immunitaire ou alors la production des cytokines et autres médiateurs.

- ❖ **La séquestration** se décompose schématiquement en 3 mécanismes, la cytoadhérence, la formation de rosettes et l'autoagglutination.
- ❖ **La cytoadhérence des globules rouges parasités (GRP)**, aux cellules endothéliales des capillaires (cerveau, avec risque de coma par neuropaludisme, mais aussi reins, foie, poumons...) et est responsable d'un ralentissement du flux sanguin dans les capillaires (phénomène mécanique) et d'une réaction inflammatoire tissulaire cytokinique (phénomène inflammatoire). Les conséquences sont variables : l'hypoxie tissulaire, responsable de l'acidose lactique et des dysfonctions organiques, la mort par apoptose des cellules endothéliales à l'origine de la perméabilisation de la paroi des micro-vaisseaux avec

apparition de microhémorragies tissulaires (visibles à l'observation du fond d'œil) cas de parasitémie élevée, stades des séquelles et de la mortalité.

- ❖ **La formation de rosettes** : la capacité des GRP à lier des hématies non parasitées conduit à la formation de rosettes (rosetting) qui sont des agrégats constitués d'un GRP à laquelle adhèrent plusieurs hématies non parasitées. Ce « rosetting » amplifie le phénomène de séquestration.
- ❖ **L'autoagglutination** correspond à l'adhérence entre plusieurs GRP, phénomène secondaire et probablement favorisé par les plaquettes.
- ❖ **La production de cytokines et autres médiateurs.** Des cytokines pro-inflammatoires (TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ , IL-1, IL-6...) sont produites en cascade au cours de l'accès grave (phénomène inflammatoire). Leur action se conjugue au phénomène de ralentissement circulatoire, conséquence de la séquestration.

#### **III.4.2. Manifestations cliniques**

Après une infestation suite à la piquûre anophélienne, les symptômes peuvent apparaître au bout 7 à 45 jours. Cette durée est variable selon les espèces plasmodiales, l'intensité et le mode d'infestation, la réceptivité génétique et l'état immunitaire du sujet infesté. La phase d'invasion qui correspond au début de la phase érythrocytaire, se manifeste le plus souvent par des signes généraux (fièvre, céphalées, courbatures, malaise général) associés à des signes digestifs (anorexie, nausées, vomissements, diarrhée). Si elle n'est pas diagnostiquée ni traitée, cet accès peut guérir spontanément et évoluer vers un accès palustre non compliqué intermittent ou grave.

- ❖ **Accès palustre simple.** Classiquement chaque accès se caractérise par la triade : « frissons, chaleur, sueurs ». Cette triade peut apparaître après la phase prodromique qui comprend les céphalées, l'anorexie, des nausées, soit elle peut apparaître brutalement. Des signes accompagnateurs comme l'anémie, l'hépatomégalie et/ou la splénomégalie et/ou le sub-ictère peuvent s'associer à cette triade. Ces accès vont se répéter tous les deux ou trois jours selon l'espèce plasmodiale pendant environ une dizaine de jours (reviviscences schizogoniques). Ils peuvent donner lieu ultérieurement à quelques rechutes similaires plus ou moins éloignées (*P. vivax*, *P. malariae* et *P. ovale*) ou évoluer à tout instant vers une forme grave (*P. falciparum*, *P. vivax*, *P. knowlesi*).

❖ **Accès palustre grave.** Le paludisme grave à *P. falciparum* est potentiellement mortel. Le décès, quand il survient, est secondaire à la défaillance aiguë d'une ou de plusieurs grandes fonctions. Le paludisme grave est défini comme la présence de forme asexuées des parasites à l'examen microscopique du sang périphérique associée à une ou plusieurs signes de gravité (Tableau IV) [51].

**Tableau IV. Critères de gravité du paludisme grave selon l'OMS**

<b>Signes cliniques</b>	<b>Critères cliniques</b>
Prostration	Extrême faiblesse
Trouble de la conscience	Score de Glasgow <11 chez l'adulte Score de Blantyre <3 chez l'enfant
Convulsions répétées	≥ 2/ 24 h
Collapsus circulatoire	Pression artérielle systolique < 80 mmHg chez l'adulte < 70 mm Hg chez l'enfant
Hémoglobinurie	Urines foncées, ou à la bandelette urinaire
Détresse respiratoire aiguë	Respiration profonde, acidosique
Saignement minime	Epistaxis, gingivorragie.
	<b>Critères biologiques</b>
Anémie sévère	Adulte : hématocrite < 20% ou hémoglobine plasmatique < 7 g/dl Enfant : hématocrite < 15% ou hémoglobine plasmatique ≤ 5 g/dl
Hyperparasitémie	> 2% chez le sujet non immun ou > 4% chez le sujet immun
Hyperlactatémie	Lactate plasmatique ≥ 5 mmol/l
Hypoglycémie	< 2,2 mmol/L ou 0 ;4g/L
Acidose métabolique	Bicarbonates plasmatiques < 15 mmol/L
Bilirubine totale	> 50µmol/l
Insuffisance rénale	Diurèse < 12mL/kg/24h ou créatininémie > 265 µmol/l après réhydratation

*Note.* Le score de Glasgow modifié est gradué de 3 à 14 chez les adultes par suppression de l'item (réponse motrice non orienté à la douleur) et le score de Blantyre est gradué de 0 à 5 adapté aux enfants.

### **III.5. Diagnostic du paludisme**

En l'absence de programme de traitement de masse ou de vaccination antipaludique approuvé dans la plupart des pays d'endémie, le diagnostic précoce reste un élément clé de la prise en charge efficace des cas de paludisme. En effet, un diagnostic rapide et précis du paludisme est essentiel pour prévenir une morbidité et une mortalité importantes dues aux parasites du paludisme, et surveiller l'impact des interventions de lutte antipaludique. Le diagnostic du paludisme implique l'utilisation d'une ou de plusieurs méthodes : cliniques, parasitologiques ou immunologiques pour identifier les personnes atteintes d'une infection active ou passée par des parasites du paludisme ou les personnes pour lesquelles les conditions médicales sont le résultat d'une exposition récente à l'infection.

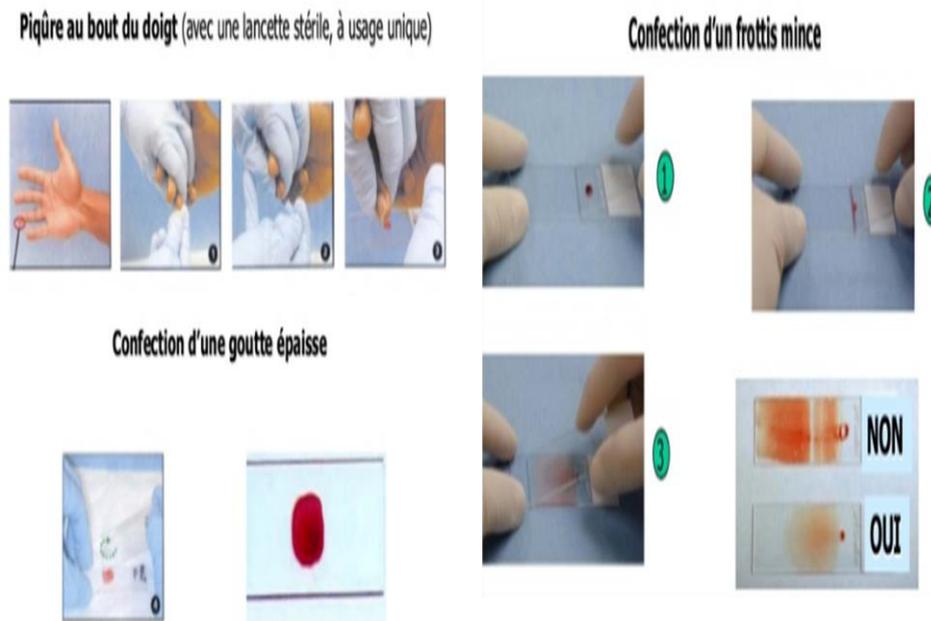
#### **III.5.1. Méthodes conventionnelles**

##### **➤ Diagnostic clinique**

Il est basé sur les signes et les symptômes des patients et est pratiqué régulièrement par un personnel de santé hautement qualifié. Ces signes et symptômes se chevauchent considérablement avec d'autres maladies communes et potentiellement mortelles, y compris diverses infections virales et bactériennes. Ainsi, le diagnostic clinique seul n'est recommandé que dans les zones à forte transmission dans les pays à ressources limitées où le diagnostic en laboratoire peut être inexistant [52]. Elle est de réalisation peu coûteuse et ne nécessite aucun équipement spécial ou de fournitures [53].

##### **➤ Diagnostic basé sur la microscopie**

Conventionnellement, le paludisme est diagnostiqué par examen microscopique sur goutte épaisse (GE) et sur frottis mince constitué à partir des échantillons sanguins préparés sur des lames de verre et colorés au Giemsa (bleu de méthylène et éosine) (Figure 6). C'est un examen direct et qui demeure la technique de référence (Gold-standard) préconisée pour le diagnostic de du paludisme [53]. La large acceptation de la technique de Giemsa pour le diagnostic du paludisme peut être attribuée à sa simplicité, à son faible coût et à sa stabilité dans des conditions de température variables. Cependant ses performances en termes de sensibilité et de fiabilité dépendent directement de l'expérience du microscopiste et du niveau de la parasitémie du sujet infecté [54].



**Figure 6. Préparation d'une goutte épaisse et d'un frottis mince**

Source : <https://fr.slideshare.net/atelier-paludisme/fac-09-rasonmarieange>

### ➤ Méthodes immunochromatographiques

Les méthodes existantes basées sur les tests immunochromatographies pour le diagnostic du paludisme sont basées sur la détection de protéines spécifiques du parasite dans le sang total infecté en utilisant à la fois des anticorps solubles et des anticorps immobilisés sur une bandelette de test chromatographique. Divers formats de bandelettes réactives, également connus sous le nom de tests de diagnostic rapide (TDR), sont disponibles dans le commerce et présentent des degrés variables de sensibilité et de spécificité en fonction de l'antigène fixé, Histidin-Rich Protein 2 (HRP-2) spécifiques à *P. falciparum*, Plasmodium Lactate Déshydrogénase (pLDH) et Aldolase présentes chez toutes les espèces. HRP-2 s'avère être un marqueur hautement sensible et spécifique pour la détection des infections à *P. falciparum*, les antigènes HRP-2 présentent de longues demi-vies et persistent dans le sang périphérique pendant plusieurs semaines après l'élimination réussie des antipaludéens parasites plasmatiques. Ainsi, leurs résultats doivent être vérifiés et complétés par l'examen microscopique, car elles se positivent aussi même pour une infection passée. Leur positivité permet une prise en charge adéquate et rapide des patients. En revanche, leur négativité ne doit pas écarter le diagnostic [55]. D'un autre côté, un résultat TDR faussement positif pourrait résulter d'une réactivité croisée d'anticorps avec des antigènes non paludéens, y compris des réactions avec des facteurs rhumatoïdes hôtes.

### **III.5.2. Méthodes non conventionnelles**

Il existe des méthodes alternatives de diagnostic du paludisme basées sur la microscopie à fluorescence, sur la détection d'antigènes ou d'anticorps (ELISA, IFA, cytométrie de flux), sur l'amplification d'acides nucléiques spécifiques au parasite (PCR, LAMP) ou sur la détection de certains métabolites.

#### ➤ **La microscopie à fluorescence**

L'une des méthodes basées sur la coloration du parasite avec des colorants fluorescents et la visualisation du signal à l'aide d'une microscopie à fluorescence est la QBC (Quantitative Buffy Coat) qui consiste à colorer des parasites dans des tubes de micro-hématocrite en utilisant comme colorants d'ADN l'acridine orange. C'est une technique facile à utiliser, rapide, sensible et spécifique, en particulier pour le diagnostic de *P. falciparum* (détecter jusqu'à 1-5 plasmodiums/ $\mu$ l de sang) [56]. Cependant, sa sensibilité et sa spécificité sont réduites dans le cas du paludisme non falciparum en raison de la prédominance des formes matures de tels parasites dans le sang périphérique qui se séparent avec les leucocytes hôtes dans la couche leucoplaquettaire. La technique de microscopie Cyscope® sur lame est une autre méthode faisant appel aux molécules fluorescentes. C'est un système mobile fonctionnant sur batterie avec des lames préparées et prêtes à l'emploi qui ont été étiquetées avec des colorants tels que le DAPI (4'-6-diamidino-2-phénylindole) qui se lie à l'acide nucléique de manière non spécifique. La présence de petits points brillants indique la présence de parasites du paludisme. La microscopie à fluorescence Cyscope® est facile à utiliser, relativement bon marché et très sensible pour le diagnostic du paludisme. Cependant, il est sujet à des artefacts DAPI qui pourraient conduire à un mauvais diagnostic de certaines personnes.

#### ➤ **Tests Antigènes/Anticorps**

Parmi les méthodes immunologiques non conventionnelles qui ont été testées pour le diagnostic du paludisme, le test immunofluorescent indirect (IFA-indirect immunofluorescence assay) et le test immuno-enzymatique (ELISA- enzyme-linked immunosorbent assay). Pour les méthodes basées sur l'IFA, les érythrocytes parasités sont utilisés comme antigènes de capture, permettant la détection de réactions anticorps-antigène spécifiques par cytométrie de flux ou par microscopie à fluorescence. Les tests ELISA reposent sur l'utilisation d'extraits de parasites bruts, d'antigènes simples ou d'antigènes peptidiques exprimés de manière hétérologue pour la détection d'anticorps ou sur l'utilisation d'anticorps spécifiques (anticorps monoclonaux ou polyclonaux) pour détecter les antigènes circulants dans le sang du patient.

➤ **Les techniques de biologie moléculaire**

Les techniques d'amplification d'acide nucléique représentent la méthode la plus précise et la plus sensible pour détecter les parasites du paludisme. Ces techniques moléculaires comprennent des méthodes basées sur la réaction de polymérisation en chaîne (PCR-polymerase-chain reaction) telles que les PCR nichée, en temps réel, multiplexes et la reverse transcription, et les approches isothermes telles que l'amplification basée sur les séquences d'acides nucléiques (NASBA- nucleic acid sequence-based amplification) et l'amplification d'acides nucléiques à médiation par boucle (LAMP- loop-mediated nucleic acid amplification). La PCR est basée sur l'utilisation d'une ADN polymérase telle que la Taq polymérase, ainsi que d'une paire d'amorces spécifiques à la séquence pour amplifier la séquence d'ADN caractéristique de l'ADN du parasite extrait. Il s'agit d'une méthode très sensible, mais très coûteuse, limitant son utilisation dans le diagnostic de routine du paludisme. Elle est surtout utilisée pour des besoins de recherche biomoléculaire et dans la surveillance épidémiologique de la pharmacorésistance de *Plasmodium*. Les techniques d'amplification NASBA et LAMP sont très prometteuses comme approches de diagnostic du paludisme au centre de prise en charge, car elles éliminent le besoin de thermocycleurs coûteux et gourmands en énergie. Par ailleurs, elles sont rapides (~ 1 heure pour NASBA et <30 min pour LAMP), et capable de détecter des infections <1 parasites/microL de sang total.

### **III.6. Traitement du paludisme**

#### **III.6.1. Traitement curatif**

Le but dans le traitement du paludisme est d'assurer une réponse clinique et parasitologique adéquate par un diagnostic précoce et une prise en charge adaptée. Le traitement du paludisme fait appel à différents antipaludiques classés en fonction de leur origine, selon leur action sur diverses formes évolutives du parasite chez l'homme (Tableau V).

**Tableau V.** Classification des principaux antipaludiques

<b>Origines</b>	<b>Dérivés</b>	<b>Molécules</b>	<b>Action</b>	<b>Sites d'action</b>
Antipaludiques Naturels	Alcaloïdes	Quinine quinidine cinchonine	Schizonticides	Vacuole digestive
	Quinghaosu	Artémisinine Artémether Artésunate	Schizonticides	Vacuole digestive
Antipaludiques de synthèse	Amino-4-Quinoléines	Chloroquine Amodiaquine	Schizonticides	Vacuole digestive
	Aryl-Amino Alcools	Méfloquine Halofantrine	Schizonticides	Vacuole digestive
	Antifoliques et Antifoliniques	Sulfadoxine Pyriméthamine	Schizonticides	Cytoplasme
	Naphtoquinones	Atovaquone	Schizonticides	Mitochondrie
	Antibiotiques	Cyclines Macrolides	Schizonticides	Ribosome
	Amino-8-quinoléines	Primaquine Tafénoquines Quinocides Bulaquines Pamaquines Plasmocides	Gamétocytocides	Mitochondrie

### **III.6.2. Traitement préventif**

Il a pour but de protéger les individus en rompant la chaîne de la transmission et plusieurs méthodes de prévention sont disponibles et utilisées.

#### ➤ **La lutte anti-vectorielle**

Elle comporte plusieurs méthodes : les pulvérisations intra-domiciliaires d'insecticides (PID) à effet rémanent, les moustiquaires imprégnées d'insecticides à longue durée d'action (MILDA) la lutte anti-larvaire (LAL). Elles ont fait la preuve de leur efficacité mais la résistance des vecteurs en particulier aux pyréthrinoides utilisés pour l'imprégnation des moustiquaires, est préoccupante. Il est donc nécessaire d'imprégner régulièrement les moustiquaires tous les 3-5 ans pour maintenir leur efficacité. Les répulsifs (insecticides) quant à eux, ont une durée d'action

limitée (3 heures à 6 heures). L'aménagement de l'environnement est destiné à diminuer le nombre de gîtes anophéliens.

➤ **La chimioprophylaxie**

Elle n'est pas efficace à 100%. La SP est recommandée pour le traitement préventif intermittent (TPI) chez les femmes enceintes. L'OMS recommande l'utilisation de l'AQ-SP pour la chimioprévention du paludisme saisonnier chez les enfants de 0 à 59 mois vivant en zone de forte transmission saisonnière[57].

➤ **Les candidats vaccins contre le paludisme**

A ce jour aucun vaccin contre le paludisme n'a été mis sur le marché. Néanmoins plusieurs vaccins-candidats sont à des essais cliniques de stade I ou II voire III.

L'essentiel sur la prise en charge des cas de paludisme au Cameroun est résumé dans le tableau VI [5].

**Tableau VI. Prise en charge du paludisme au Cameroun**

<b>Diagnostic du paludisme</b>
Confirmation systématique de tout cas suspect par un TDR ou par une microscopie de qualité Les TDR sont gratuits pour les enfants de moins de cinq ans et subventionnés pour le reste de la population
<b>Traitement du paludisme simple</b>
1ère ligne : ASAQ 2ème ligne : AL Seul les formes solides ou dispersibles sont recommandées. ASAQ est subventionné et gratuits pour les enfants de moins de cinq ans Un traitement antipyrétique est conseillé chez les enfants de moins de 5 ans
<b>Traitement des échecs cliniques</b>
En cas d'échec clinique refaire la microscopie ou TDR (pLDH) Si positif : Avec une mauvaise prise de l'ACT la même ACT est recommandée En cas d'une bonne prise administrer la deuxième ACT recommandée Si négatif : Rechercher une autre cause et traiter.
<b>Traitement du paludisme grave : traitement pré-référence.</b>
Première intention : Première dose de l'artésunate injectable de préférence par voie intraveineuse Deuxième intention : la quinine ou l'artémether par voie intramusculaire
<b>Traitement du paludisme grave</b>
Débuté par voie parentérale au moins pendant 24 heures suivi d'un relais par voie orale quand le malade est capable de boire. Trois types de traitement sont possibles : <ul style="list-style-type: none"><li>• Première intention : Artésunate injectable ou à défaut ;</li><li>• Deuxième intention : la quinine injectable ou l'artémether injectable</li></ul> Quel que soit l'option choisie le relais est pris par voie orale quand le malade peut avaler pendant sept jours avec la quinine en cas d'un traitement à la quinine ou par une CTA (ASAQ ou AL) pendant 3 jours
<b>Traitement du paludisme chez la femme enceinte</b>
Tout cas de paludisme chez la femme enceinte est considéré comme paludisme grave est pris en charge comme tel. <b>Au premier trimestre :</b> La quinine en perfusion pendant au moins 24 heures suivi d'un relais oral avec la quinine jusqu'à 7 jours. <b>A partir deuxième trimestre :</b> Se référer au traitement du paludisme grave ci-dessus. Chez les femmes enceintes présentant les contractions utérines sous traitement à la quinine il est recommandé d'associer une tocolyse au salbutamol
<b>Traitement Préventif Intermittent chez la femme enceinte</b>
La femme enceinte doit prendre quatre doses de SP à partir du deuxième trimestre de la grossesse. L'intervalle entre deux doses doit être au moins d'un mois. La dernière dose de traitement préventif intermittent peut être administrée au moment même de l'accouchement sans risque

### **III.7. Méthodes de surveillance et d'évaluation de l'efficacité des CTA et de la résistance**

Plusieurs tests sont utilisés pour la surveillance de l'efficacité thérapeutique des antipaludiques: les tests *in vivo* (évaluation de la clairance parasitaire), les tests *in vitro* (mesure de la concentration Inhibitrice entraînant la réduction de la charge parasitaire de 50% des parasites CI50) et la caractérisation des marqueurs moléculaires de la résistance [58,59].

➤ **Les premiers tests *in vivo*** pour l'évaluation de l'efficacité thérapeutique des antipaludiques ont été mis au point en 1965, suite à l'apparition des premières émergences de la résistance de *P. falciparum* à la CQ. La propagation de la résistance aux CTA aurait des conséquences dramatiques car les thérapies de remplacement sont limitées. Ces procédures ont été progressivement révisées jusqu'à ce jour. La réalisation de ces tests doit respecter les critères d'administration du médicament approprié selon une posologie standardisée et s'accompagner d'un examen parasitologique et clinique pendant une durée précise. L'évaluation clinique et parasitologique individuelle est effectuée par des tests d'efficacité chez le malade. Ces tests conformément aux recommandations de l'OMS permettent de définir 3 réponses : (i) une réponse clinique et parasitologique adéquate au traitement (RCPA), (ii) un échec thérapeutique précoce (ETP) et (iii) un échec thérapeutique tardif (ETT) qui regroupe l'échec clinique tardif (ECT) et l'échec parasitologique tardif (EPT). Ces tests impliquent le suivi prolongé d'individus ( $\geq 28$  jours) et donc une logistique importante et des ressources humaines qualifiées pour ce type d'étude clinique. Ils ne permettent de tester qu'un seul médicament par individu et qu'un petit nombre de médicaments par étude.

➤ **Les tests *in vitro*** permettent par contre d'étudier simultanément la sensibilité de *P. falciparum* à plusieurs antipaludiques en faisant abstraction des facteurs liés au patient. Ils sont cependant chers et complexes à mettre en œuvre. Par ailleurs, leurs résultats n'ont pas toujours été corrélés aux résultats des tests *in vivo* et ne sont pas toujours reproductibles d'une équipe à l'autre en raison de différences entre les techniques et les protocoles utilisés. Pour ces raisons, les tests *in vitro* sont utilisés pour la surveillance de la chimio sensibilité mais n'ont pas d'utilité en clinique.

➤ **Le génotypage moléculaire** permet de rechercher les modifications des gènes du parasite impliqués dans sa résistance aux antipaludiques observée *in vivo* ou *in vitro*. Mais l'usage des marqueurs moléculaires n'est possible que quand ces derniers ont été validés c'est-à-dire lorsque la preuve scientifique d'une corrélation entre modification génomique et un échec thérapeutique

existe. L'évaluation de la résistance par les marqueurs moléculaires offre certains avantages car elle permet entre autres choses, d'analyser un grand nombre d'échantillons collectés dans divers endroits et de tester leurs sensibilités simultanément à plusieurs antipaludiques. Le génotypage est également indiqué pour faire la différence entre une recrudescence (infection avec la souche initiale) et une réinfection (infection avec une nouvelle souche), dans le cas où un individu redevienne positif à la microscopie et/ou en PCR après avoir été négatif. Ces différents marqueurs moléculaires de résistance sont présentés dans le tableau VII.

**Tableau VII:** Marqueurs moléculaires de la résistance

Médicaments	Marqueurs de résistance		Niveau de validation
	Gènes	Allèle associé à la résistance ou à la diminution de sensibilité	
Chloroquine	<i>Pfcr</i>	Lys 76 Thr	Association <i>in vivo</i>
Amodiaquine	<i>Pfmdr1</i>	Asn86Tyr	Association <i>in vitro</i>
Méfloquine	<i>Pfmdr1</i>	Nombre de copie > 1	Association <i>in vivo</i>
Sulfadoxine	<i>Pfdhfr</i>	Ser108Asn	Association <i>in vivo</i>
Pyriméthamine	<i>Pfdhfr</i>	Ser108Asn + Asn51Ile + Cys59Arg	Association <i>in vivo</i>
Luméfantrine	<i>Pfmdr1</i>	Asn86 & Nombre de copie > 1	Sélection des allèles en cas d'échec thérapeutique
Artémisinine	<i>Klech13(K13)</i> <i>propeller pfATPase6</i>	Met476Ile, Cys580Tyr, Arg539Thr, Tyr493His	Association <i>in vitro</i>

### **III.8. Les combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine et efficacité thérapeutique**

Le concept de combinaison thérapeutique est basé sur l'action potentielle, qui peut être synergique ou additive de deux médicaments ou plus afin d'améliorer l'efficacité et de retarder l'apparition de la résistance aux composants individuels de l'association. Actuellement, il existe deux types de combinaisons de médicaments antipaludiques : (i) les combinaisons sans Artémisinine et ii) les combinaisons à base d'Artémisinine (combinaisons thérapeutiques avec Artémisinine-CTA).

Les CTA résultent de l'association d'une molécule dérivée d'artémisinine à action rapide et d'une molécule dite partenaire à action lente. En raison de leur demi-vie très courte (1heure à 2heure), l'artémisinine et ses dérivés imposent en monothérapie un traitement de longue durée. Leur association avec un antipaludique à demi-vie plus longue permet de réduire la durée du traitement tout en augmentant leur efficacité et en réduisant la probabilité d'apparition d'une résistance à l'autre constituant de l'association. L'antipaludique à associer aux dérivés de l'artémisinine doit avoir une efficacité thérapeutique en monothérapie supérieure à 80% dans la zone cible. Les options thérapeutiques actuellement recommandées par l'OMS sont les suivantes : ASAQ, AL, ASSP, DHA-PQ et l'artésunate/méfloquine (ASMQ) [8].

Au Sénégal, une étude d'évaluation de l'efficacité des combinaisons ASAQ, AL et DHA-PQ dans le traitement du paludisme simple chez les patients  $\geq 6$  mois été conduite en 2010 [60]. Le traitement était administré sous supervision médicale. Le groupe ASAQ comprenait 130 patients et l'analyse en per-protocole avait trouvé une réponse clinique et parasitologique adéquate (RCPA) à J42 avant et après correction par PCR respectivement de 94% et 91 %. Seuls 62 % des patients du bras ASAQ étaient fébriles à J2. Une clairance parasitaire totale a été obtenue avant le troisième jour chez tous les patients. Aucun évènement indésirable grave n'avait été noté.

Une autre étude conduite au Burkina Faso sur l'efficacité de l'ASAQ et de l'AL entre 2008 et 2010 sur 340 enfants âgés de 6 mois à 5 ans en conditions réelles (c'est-à-dire que le traitement n'est pas administré sous observation médicale) a montré une RCPA avant correction par PCR de 61% dans le bras ASAQ et de 55% dans le bras AL après 42 jours [61]. Il était noté une amélioration de la RCPA après correction par PCR : 83,6% et 87,9% respectivement dans le bras ASAQ et AL sans différence significative ( $p = 0,27$ ).

Une étude comparant l'efficacité des CTA ASAQ, AL et AS/SP a été menée au Congo en 2004 chez les enfants âgés de 6 à 59 mois, et a montré une récurrence de la parasitémie de 32% (31/97) dans le groupe ASAQ 13% (13/100) dans le groupe AL et 21/85 (25%) dans le groupe AS-SP après 28 jours de suivi [62]. Dans cette étude, le taux de guérison corrigé par PCR à J28 était de 90,1% pour AS-SP 98,5% pour ASAQ et 100% pour AL révélant ainsi une réponse plus faible pour ASSP comparé à AL ( $p = 0,003$ ) et à ASAQ ( $p = 0,006$ ). Aucun effet indésirable grave n'avait été rapporté.

*Evaluation in vivo de l'efficacité de la combinaison artésunate/amodiaquine dans le traitement du paludisme non compliqué à Plasmodium falciparum dans la région du Centre au Cameroun*

La seule étude publiée à notre connaissance sur l'efficacité thérapeutique de l'ASAQ avec un suivi en hospitalisation pendant les trois jours de traitement a été conduite chez 103 patients avec un âge  $\geq$  6mois en Erythrée entre 2014 et 2015 [63]. Après les 28 jours de suivi, la clairance parasitaire était de 97,05% à J3 et la RCPA à J28 non corrigée par la PCR était 96% en analyse en per protocole. Dans cette étude, 3 échecs cliniques tardifs (ECT) et 1 échec parasitologique tardif (EPT) ont été rapportés. Les effets secondaires du médicament n'ont pas été évalués. Malgré la non correction de la RCPA par la PCR, cette étude montre un taux élevé de guérison.

Au Cameroun, entre 2005 et 2007 une étude multicentrique menée dans 4 centres urbains situés dans différentes zones géographiques (Centre, Est, Extrême-Nord, Nord) a évalué l'efficacité thérapeutique de différents CTA dont l'ASAQ, l'AL, la DHA-PQ, l'AS-SP et ASMQ dans le traitement du paludisme simple à *P. falciparum*. A J3 de suivi, le pourcentage de clairance parasitaire était 98,4% dans le groupe ASAQ et après 28 jours de suivi, les taux de guérison étaient de 71,6% (52/62) et de 88,3% avant et après correction par PCR respectivement dans le groupe ASAQ [16]. Pour l'ASSP, le taux de guérison était de 82% et 88,5% avant et après correction par PCR respectivement et pour l'AL, le taux de guérison était de 98,3% après correction par PCR. Le taux de guérison pour le bras DHAPQ, le taux de guérison était de 92,3% et 92,7% avant et après correction par PCR respectivement. Au cours de l'année 2006, un essai clinique ouvert randomisé portant sur l'évaluation (suivi de 28 jours) de l'efficacité des CTA ASSP et ASAQ a été effectuée à Buea chez les enfants âgés de 6 mois à 10 ans [17]. Dans cette étude, le taux de guérison non corrigé par PCR par analyse en per protocole était 90,2% pour l'ASAQ. Huit échecs de traitement ont été observés : 1 (12%) ETP, 6 (7%) ECT et 1 (12%) EPT. La combinaison a été bien tolérée sans événements indésirables graves. En 2007, une étude ouverte randomisée de l'efficacité et la tolérance de l'ASAQ et l'AL a été menée chez les enfants de 6 mois à 14 ans à l'hôpital protestant de Ngaoundéré [18]. Elle a montré chez 150 patients suivis sur 28 jours, un taux de RCPA avant correction par PCR de 88,5% (54/61) pour ASAQ et 96,9% (62/64) pour AL. Après correction par PCR et l'exclusion des cas de réinfections, 3,6% (2/56) d'échecs pour l'ASAQ et pas de véritable échec avec l'AL ont été rapportés. L'adhésion au traitement était généralement bonne et l'ASAQ a été bien tolérée.

### **III.9. Résistances de *Plasmodium* aux antipaludiques**

#### **III.9.1. Mécanismes de la résistance et facteurs contribuant au développement de la résistance aux antipaludiques**

La résistance aux antipaludiques est l'aptitude du parasite à survivre et à se multiplier malgré l'administration de médicaments utilisés aux doses habituellement recommandées mais restant dans les limites de tolérance de l'individu. La notion de dose est importante et doit être considérée avant de déclarer la résistance [59,64].

L'émergence et la rapide diffusion de la résistance de *Plasmodium* aux médicaments antipaludiques les plus couramment utilisés constitue un sérieux obstacle à l'efficacité du diagnostic précoce comme stratégie prioritaire dans le contrôle du paludisme. Le traitement efficace comme intervention dépend en tout premier lieu de la disponibilité des médicaments antipaludiques sûrs, efficaces, accessibles financièrement et acceptables par les populations à risque.

Plusieurs facteurs en rapport avec les interactions entre médicament parasite et homme contribuent au développement et à la diffusion de la pharmacorésistance. Les mécanismes moléculaires du mode d'action déterminent dans une large mesure la rapidité avec laquelle la résistance apparaît. Les médicaments à longue demi-vie plasmatique accroissent la sélection de parasites résistants surtout dans les endroits d'intense transmission. De plus une pression médicamenteuse accrue contribue au développement de la pharmacorésistance. Le développement de la résistance peut également s'expliquer par la grande diversité génétique de *Plasmodium* due à un taux élevé de mutations dans son génome et aussi par les masses très importantes de parasites portées par les individus infectés. Lorsque des clones parasitaires ne sont ni létales pour le parasite ni silencieuses, elles peuvent dans certains cas avantager sa survie en lui permettant par exemple d'échapper au système immunitaire de son hôte et de supporter la présence de molécules toxiques dans son environnement ou de se multiplier plus rapidement que d'autres clones. Certains parasites mutants qui survivent en présence d'un antipaludique deviennent ainsi résistants et transmettent par la suite la mutation à leurs descendants générant ainsi une population capable de résister à cette molécule.

La fréquence des mutations et la vitesse à laquelle les résistances se développent dépendent des caractéristiques de la molécule utilisée du contexte épidémiologique et de la façon dont les médicaments sont utilisés.

La propagation subséquente des parasites mutants est facilitée par l'administration des médicaments à longue durée d'action. L'activité antipaludique résiduelle présente après traitement sert de « filtre sélectif » prévenant seulement l'infection des parasites sensibles.

### **III.9.2. Résistance moléculaires des CTA dans le monde**

En rappel sur la résistance globalement, celle de *P. falciparum* à la CQ, l'ancien traitement recommandé, est apparue pour la première fois à la fin des années 1950 en Asie du Sud-Est et s'est ensuite propagée, ou a émergé, dans d'autres pays d'Asie, puis en Afrique au cours des trente années suivantes avec des conséquences catastrophiques. D'après des différentes données issues de la recherche, la résistance à la SP a pris naissance dans la même région d'Asie du Sud-Est et s'est propagé encore plus rapidement à l'Afrique subsaharienne. Quant à la résistance à la MQ, elle est apparue en Thaïlande, au Cambodge et au Vietnam - pays où ce médicament a été largement utilisé - cinq ans après son introduction dans les années 1990.

Au cours des dernières années, le nombre de personnes infectées par le paludisme, ou qui en sont mortes, a diminué de manière significative. Ce succès est attribué, notamment à l'utilisation des thérapies combinées à base d'artémisinine qui se sont avérées très efficaces. Malheureusement des résistances ont apparues 10 ans après leur déploiement.

Plusieurs études ont révélé des mutations sur le gène *Klech13(K13)* propeller *pfATPase6* :

- Sous-région orientale du Grand Mékong : C580Y, R539T, Y493H, I543T les plus fréquents
- Sous-région occidentale du Grand Mékong y compris Chine, Myanmar et Thaïlande : F446I, N458Y, P574L and R561H fréquents
- Afrique, mutations non synonymes rares mais très diverses : Cameroun, RCA, Tchad, Comoros, RDC Gabon, Gambie, Kenya, Madagascar, Malawi, Mali, Rwanda, Togo, Uganda and Zambie. A578S le plus fréquent des allèles

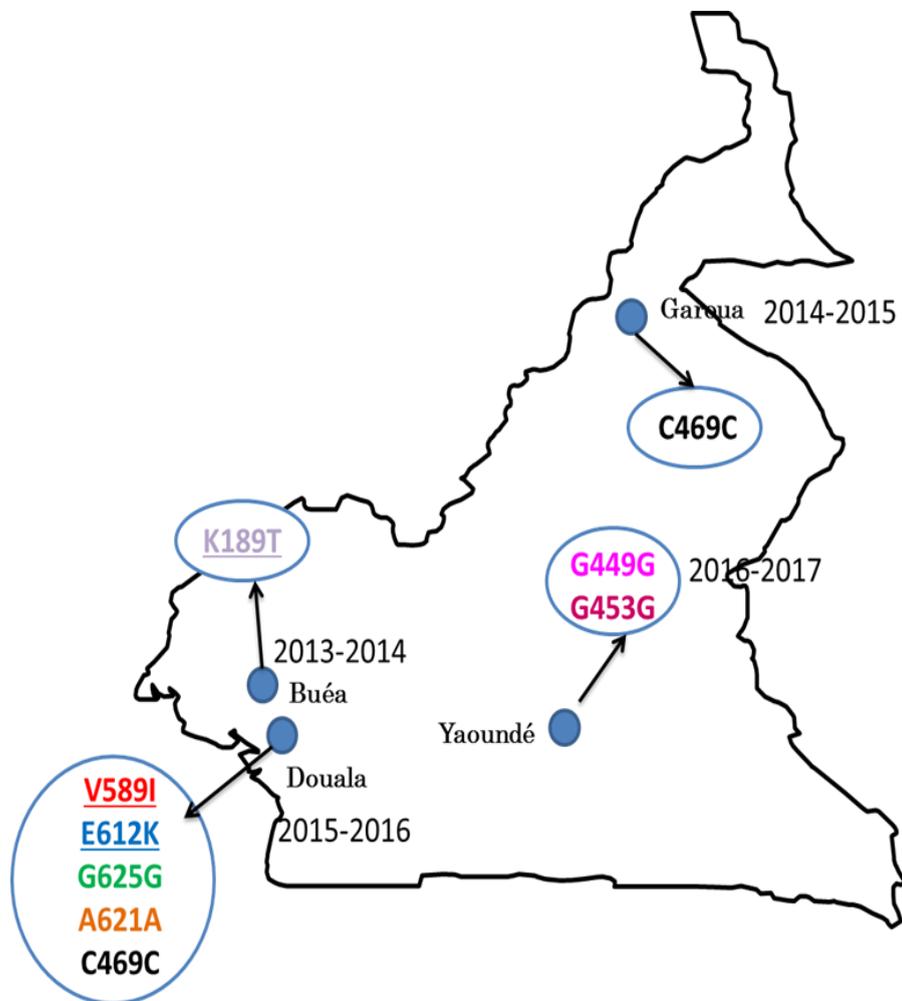
Les premières études qui ont identifié le premier marqueur de résistance moléculaire aux CTA étaient au Cambodge entre 2001 et 2010. En 2010, une étude menée en Thaïland montrait une émergence de la résistance à l'artémisinine génétiquement déterminée chez *P. falciparum* et associée au retard de clairance parasitaire (demi-vie  $\geq 6,2$  h) [10]. Cette étude montrait qu'au fil du temps que la proportion du retard de clairance parasitaire était passée de 6% en 2001 à 20% en 2010 suggérant qu'avec ce taux d'augmentation, la résistance atteindra les taux signalés auparavant dans l'Ouest du Cambodge soit 42% en 2-6 ans. En 2014, les équipes de l'Institut Pasteur à Paris (IPP) et du Cambodge (IPC) identifiait un locus génétique sur le chromosome

Klech13(K13) propeller pfATPase6 associée à la fois au phénotype *in vitro* de résistance et une clairance retardée [65-67]. D'autres variants moins fréquents ont été associés à des tests *in vivo* ou *in vitro*, ou les deux : M476I; C469Y; A481V; S522C; N537I; N537D; G538V; M579I; D584V; H719N.

Dès lors, de nombreuses études sur le génotype d'une partie de ce gène se sont succédé à travers les pays endémiques pour le paludisme. Récemment, une équipe du Réseau des Instituts Pasteur faisait une cartographie de la résistance moléculaire de *P. falciparum* vis-à-vis des CTA [68]. Sur les 14037 échantillons (84,5% obtenus des patients qui ont été traités sur des sites sentinelles utilisés pour la surveillance nationale de la résistance antipaludéenne) prélevés dans 59 pays endémique dont le Cameroun, 108 mutations K13 non-synonymes ont été détectées avec des disparités dans leur fréquence et leur distribution. En Asie 36,5% des mutations K13 étaient répartis dans deux zones, Cambodge/Vietnam et Laos/Thaïlande/Myanmar/Chine et sans chevauchement. En Afrique, on notait également un large éventail de rares mutations non synonymes qui n'ont pas été associées à des retards de la clairance parasitaire. La mutation A578S qui représente l'allèle africain le plus fréquemment observé s'est avéré être sensible à l'artémisinine dans les tests *in vitro*. Une autre étude conduite entre 2011 et 2013 sur 15 sites dans 10 pays (7 en Asie et 3 en Afrique montrait également un retard de clairance parasitaire et associé à la résistance moléculaire dans les 7 sites d'Asie [12]. Les retards de clairance ( $\geq 5h$ ) étaient fortement associés aux mutations ponctuelles sur le gène de propeller K13 après la position 440 détectées dans toute la partie continentale de l'Asie du Sud-Est le Vietnam et au centre du Myanmar.

Entre 2011 à 2013 une étude prospective multicentrique a été menée sur l'efficacité clinique de la DHA-PQ dans le PNC en Afrique centrale, Afrique de l'Est et, l'Ouest et l'Est du Cambodge pendant 42 jours [11]. Au total 425 patients ont été recrutés et la proportion de patients ayant des infections recrudescents variait de 25% à 154% en fonction des régions. Le facteur de risque le plus important associé à l'échec du traitement par DHA-PP était la présence des parasites portant l'allèle mutant sur le gène K13 (C580Y R539T Y493H).

Au Cameroun, les 4 études épidémiolo-moléculaires montrent aussi une hétérogénéité des mutations dans la population parasitaire 10 ans après l'implémentation des CTAs (Figure 7) [13,68]. Il en ressortait que moins de 3% de tous les échantillons présentait une mutation dans le gène K13 et aucune ne faisait partie de celles associées à un retard de clairance de l'artémisinine en Asie du Sud-Est.



**Figure 7.** Les mutations du K13 décrites au Cameroun

Photos : Pr EBOUMBOU Carole, FMSP/UD

## **VI-METHODOLOGIE**

#### **IV-1- Type d'étude et période de l'étude**

Il s'agissait d'une étude longitudinale prospective et analytique. La phase de recrutement a été faite de Novembre 2015 à Février 2016, soit une période de quatre mois. Les analyses de laboratoires ont été faites de janvier 2018 à Mai 2018.

#### **IV-2- Lieu de l'étude**

Notre étude s'est déroulée dans le département de la région du Centre au Cameroun, qui héberge les services du pouvoir exécutif du pays, ce département est situé dans la région du Centre au Cameroun. Le climat de la zone est équatorial de type Guinéen, avec deux petites saisons (une sèche et une pluvieuse) et deux grandes saisons (une sèche et une pluvieuse), propice aux développements de certaines maladies telle que le paludisme. La population présente est hétérogène.

#### **IV-3- Population d'étude et échantillonnage**

##### **IV-3-1- Population cible :**

Tous les patients vus en consultation externe au niveau des formations sanitaires et présentant les signes cliniques évocateurs du paludisme simple ont constitués notre population d'étude.

##### **IV-3-2- Critères d'inclusion**

Les patients répondant aux critères suivants étaient éligibles :

- Etre de sexe masculin ou féminin et résidant habituellement dans la zone d'étude (> 50 % du temps) depuis plus de six mois
- Etre âgés de six mois et plus
- Avoir une fièvre (température axillaire  $\geq 37,5^{\circ}\text{C}$ ) ou une histoire de fièvre les dernières 24h précédant la consultation
- Avoir un poids corporel  $\geq 5$  kg
- Avoir une mono infection à *Plasmodium falciparum* confirmé par microscopie
- Avoir donné un consentement éclairé signé pour soi même ou pour le mineur (parents/tuteurs légaux)
- Etre Capable de prendre les médicaments par voie orale
- Ne présentant aucune maladie concomitante associée au paludisme
- Avoir donné son engagement (parents ou tuteurs) à respecter le protocole de l'étude pendant sa durée

#### **IV-3-3- Critères de non inclusion**

Les patients qui présentaient les critères suivant n'étaient pas inclus dans l'étude :

- Paludisme grave
- Hypersensibilité connue ou Antécédents d'allergie aux médicaments utilisés dans l'étude
- Prise d'un médicament à effet antipaludique durant le mois précédent :
  - Chloroquine ou Amodiaquine
  - Quinine ou Quinidine
  - Méfloquine, Halofantrine ou Luméfantrine
  - Artémisinine ou ses dérivés (Artemether, Arteether, Artesunate, Dihydroartémisinine)
  - Proguanil, Chlorproguanil ou Pyriméthamine
  - Sulfadoxine, Sulfalène ou Dapsone
  - Primaquine
  - Atovaquone
  - Antibiotiques : tétracycline (sauf en collyre), doxycycline, érythromycine, azythromycine, clindamycine, rifampicine, sulfaméthoxazole, triméthoprim, pentamidine
- Prise d'un médicament pouvant interférer avec la pharmacocinétique du médicament à l'étude (CTA)
- Participation à une autre étude clinique en cours
- Un test de grossesse positif ou femme qui allaite

#### **IV-3-4- Critères d'interruption/d'exclusion de l'étude**

Tout patient présentant au moins un des critères suivant étaient exclus de l'étude :

- Retrait volontaire du patient
- Violation du protocole :
- Administration d'un traitement antipaludique autre que celui prescrit dans le cadre de l'étude
- Détection d'une infection par une autre espèce plasmodiale durant le suivi
- Absence à  $\geq 1$  visite de suivi des jours J0-J3
- Patient perdu de vue
- Apparition d'un évènement indésirable grave :
  - Décès ou évènement mettant en danger la survie du patient

- Evènement nécessitant l'hospitalisation du patient ou la prolongation de celle-ci
- Evènement entraînant une incapacité ou un handicap significatif ou durable

L'interruption de l'étude n'implique cependant pas l'arrêt du suivi. Dans la mesure du possible et en respectant le souhait de retrait du patient ; le cas échéant, ces patients seront suivis jusqu'au terme de la période définie (42 jours).

#### **IV-3-5- Taille de l'échantillon et Echantillonnage**

L'échantillonnage était consécutif. En considérant que le taux d'échec de traitement par CTA attendu est inférieur à 15%, un minimum de 50 patients est requis pour évaluer l'efficacité thérapeutique d'un antipaludique dans le cadre de la surveillance de routine avec une précision de 5%, un intervalle de confiance à 95%, une représentativité suffisante et en anticipant un taux d'interruption de 20%.

#### **IV-4- Procédure de la recherche**

##### **IV-4-1- Procédures administratives**

Ce travail entre dans le cadre d'un projet de recherche (PALEVALUT : [www.palevalut.org](http://www.palevalut.org)) impliquant notre Directeur de Thèse, son équipe au CPC et des partenaires externes (Madagascar, Bénin, Côte d'Ivoire, Niger). Le projet avait pour but de mettre au point une «boîte à outils multidisciplinaire» pour l'évaluation opérationnelle des stratégies de la lutte intégrée contre le paludisme dans les pays endémiques. Les éléments de cette «boîte à outils» pourraient être utilisés ensemble ou séparément, à l'échelle d'un pays ou d'une région. Ils ont été présentés dans un guide rassemblant les procédures et modes opératoires les plus adaptés qui ont été mis au point par des experts et validés dans des pays différents par leurs contextes épidémiologiques, entomologiques, sanitaires, économiques et socio-culturels. L'une des procédures opérationnelles standardisées (POS) était l'évaluation de l'efficacité thérapeutique des antipaludiques après leur introduction dans la politique nationale de traitement antipaludique comme outil de lutte. C'est dans ce contexte que l'évaluation de la CTA ASAQ a été faite et sur lequel portait notre sujet de thèse.

##### **IV-4-2-Procédures techniques**

###### **IV-4-2-1- Collecte des données et suivi des patients**

*Evaluation in vivo de l'efficacité de la combinaison artésunate/amodiaquine dans le traitement du paludisme non compliqué à Plasmodium falciparum dans la région du Centre au Cameroun*

Les patients répondant aux critères d'inclusion recevaient la combinaison thérapeutique Artésunate/Amodiaquine administrée selon les recommandations du PNLP/MINSANTE. Après l'administration du médicament par un personnel de santé, le patient était mis sous observation médicale pendant au moins 30 minutes pour veiller à ce qu'il ne vomisse pas. Tout patient présentant des vomissements durant cette période de surveillance a reçu de nouveau la même dose de médicament et est resté en observation pendant 30 minutes supplémentaires. Si les vomissements recommençaient, le patient était retiré de l'étude et un traitement de secours lui était proposé. Selon l'intensité des signes cliniques, un antipyrétique et/ou un antiémétique était associé à l'antipaludique. La dose, la voie d'administration et la durée de ces traitements étaient notifiées.

Le suivi a consisté à mesurer des paramètres cliniques (température, symptômes) et à effectuer des prélèvements de sang au bout du doigt. Le prélèvement sanguin était ensuite réparti d'une part, sur une lame pour le diagnostic biologique (GE et FS) et, d'autre part sur du papier buvard (Whatmann FTA Elute) pour le diagnostic moléculaire d'espèces et le génotypage.

Les patients ont été hospitalisés pendant la durée de traitement de J0-J2 puis suivis pendant 42 jours. Les principales activités relatives au suivi des patients inclus sont présentées dans le tableau ci-dessous.

**Tableau VIII:** Calendrier de suivi

Activités	Enrôlement	Jour de traitement			Jour de suivi post-traitement							
	J0	J0	J1	J2	J3	J7 ± 1	J14 ± 1	J21 ± 1	J28 ± 1	J35 ± 1	J42 ± 1	Ji (autre)
Examens cliniques	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Température axillaire	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Examens parasitologiques												
TDR	X											
Gouttes épaisses	X	4X	4X	2X	X	X	X	X	X	X	X	X
Frottis minces	X	4X	4X	2X	X	X	X	X	X	X	X	X
Collecte de sang sur papier buvard	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Consentement éclairé écrit (malade éligible)	X											
Antécédents	X											
Examen physique	X		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Evaluation des signes vitaux	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Hématologie (si applicable)	X			X		X			X		X	X
Biochimie (si applicable)	X			X					X		X	X
Test urinaire de grossesse	X								X		X	X
Révision des Critères d'inclusion et d'exclusion	X											
Inclusion	X											
Admission à l'hôpital/centre de santé	X											
Administration du médicament		X	X	X								
Surveillance des événements indésirables	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Enregistrement des traitements concomitants	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Sortie d'hôpital/centre de santé				X								

L'équipe de recherche sensibilisait les malades à revenir à n'importe quel moment pendant la période de suivi si des symptômes réapparaissaient. Aussi, une fois les modalités de recrutement et de traitement achevées, un calendrier de visites systématiques pendant la période de 42 jours de suivi incluant la période d'observation des trois premiers jours (J0 à J2) dans le centre de santé a été donné aux patients/tuteurs. Afin de réduire au minimum le nombre de malades perdus de vue au cours du recrutement, des indications précises (numéro de téléphone, lieu de résidence ...) permettant de contacter le malade étaient obtenues. Toutes les données cliniques et biologiques recueillies ont été enregistrées dans le dossier individuel des patients.

#### **IV-4-2-2-Diagnostic de l'infection à Plasmodium**

Le test diagnostic initial utilisé était le TDR (SD Bioline Malaria Ag P.F/PAN) pour la détection qualitative à partir du sang total et la prise en charge précoce du patient en cas de positivité. La microscopie a été effectuée par la suite au Laboratoire du SRP pour estimer la densité parasitaire sur les différents prélèvements avec l'assistance d'un technicien expérimenté. Le contrôle qualité de la lecture des lames s'est faite sur 10% des lames collectées. Les densités parasitaires exprimées en nombre de parasites par microlitre ( $\mu\text{L}$ ) de sang ont été calculées à partir de la lecture des gouttes épaisses selon la méthode suivante :

$$DP = (N * 8.000) / 500$$

où N est le nombre de parasites comptés, 500 étant le nombre de leucocytes comptés

Pour chaque patient, des prélèvements ont été réalisés toutes les six heures de J0 à J2 (H0 à H48) et une seule fois lors des visites de contrôle à J3, J7, J14, J21, J28, J35 et J42 ou n'importe quel jour si le malade revenait spontanément, mais dans la limite d'1 jour avant ou après la date de rendez-vous.

#### **IV-4-2-3- Critère du jugement et évaluation de l'efficacité thérapeutique de ASAQ**

##### **➤ Critères principaux de jugement**

Ces critères sont définis sur la base de la classification de la réponse thérapeutique OMS 2003 en prenant compte de la PCR (réponse corrigée par PCR).

Cette classification regroupe les réponses thérapeutiques en ETP ETT et RCPA résumé dans le tableau suivant :

**Tableau IX.** Classification de la réponse thérapeutique

<p><b>Echec Thérapeutique Précoce(ETP)</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Apparition de signes de danger ou de paludisme grave à J1 J2 ou J3 en présence d'une parasitémie</li><li>• Parasitémie au J2 supérieure à celle du J0 quelle que soit la température axillaire</li><li>• Parasitémie au J3 et température axillaire <math>\geq 375^{\circ}\text{C}</math></li><li>• Parasitémie au J3 <math>\geq 25\%</math> par rapport à celle du J0</li></ul>
<p><b>Echec Thérapeutique Tardif (ETT)</b></p> <p><i>Echec Clinique Tardif (ECT)</i></p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Apparition de signe de danger ou de paludisme grave après le J3 en présence d'une parasitémie en l'absence préalable de tout critère d'Echec thérapeutique précoce</li><li>• Présence d'une parasitémie et de température axillaire <math>\geq 375^{\circ}\text{C}</math> (ou antécédent de fièvre) n'importe quand entre J4 et J42 en l'absence préalable de tout critère d'Echec thérapeutique précoce</li></ul> <p><i>Echec Parasitologique Tardif (EPT)</i></p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Présence d'une parasitémie n'importe quand entre J7 et J42 et température axillaire <math>&lt; 375^{\circ}\text{C}</math> en l'absence préalable de tout critère d'Echec Thérapeutique précoce ou d'Echec clinique tardif</li></ul>
<p><b>Réponse Clinique et Parasitologique Adéquate (RCPA)</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Absence de parasitémie à J42 corrigée par PCR quelle que soit la température axillaire en l'absence de tout critère d'Echec thérapeutique précoce d'Echec clinique tardif ou d'Echec parasitologique tardif</li></ul>

➤ **Critères secondaires de jugement de l'efficacité**

En outre les critères d'efficacité secondaires suivants ont été évalués :

- La réponse clinique et parasitologique adéquate brute ou non-corrigée par la PCR au Jour 28 et 42 (RCPA non-corrigée par la PCR)
- La clairance thermique (décroissance de la fièvre)
- La proportion de porteurs de gamétocyte à J7 J14 J28 et J42 a été évaluée.

➤ **Critères pour l'évaluation de la tolérance clinique**

La tolérance clinique a été évaluée en enregistrant la nature et l'incidence des manifestations indésirables mineurs et des manifestations indésirables graves. Une manifestation indésirable est définie comme tout signe, symptôme, syndrome ou maladie imprévue défavorable qui apparaît ou s'aggrave avec l'utilisation d'un médicament qu'il soit ou non lié à ce médicament.

Par manifestation indésirable grave, on entend tout événement médical indésirable qui, quelle que soit la dose, entraîne la mort ou engage le pronostic vital et nécessite une hospitalisation ou une prolongation de celle-ci ; entraîne une incapacité importante ou persistante ; ou qui constitue une anomalie congénitale.

Pour l'évaluation de ces manifestations indésirables des questions ont été directement posées aux patients. Toutes les manifestations indésirables ont été consignées dans le dossier individuel du patient.

#### **IV-5- Analyses des données**

Les données recueillies ont été consignées sous forme de tableaux et figures en utilisant le logiciel Excel. L'analyse statistique a été effectuée avec le logiciel GraphPad Prism 5 et Stata (version 11 SE). Les paramètres de description étaient pour les variables quantitatives la moyenne et l'écart type ou la médiane et leur interquartile (25%-75%). Les variables qualitatives étaient exprimées en nombre et pourcentage. Le test exact de Fisher a été utilisé pour l'analyse des variables qualitatives et celui de Wilcoxon pour les variables quantitatives. Toute analyse pour laquelle  $p < 5\%$  a été considérée comme significative.

L'analyse de l'efficacité qui a été réalisée en Per Protocole ne tient compte que des patients qui ont été suivis complètement jusqu'à J42. La proportion des patients avec une RCPA à J42 sans correction par PCR a été estimée en utilisant un intervalle de confiance de 95%. Le taux d'échec à J42 a été calculé en utilisant la méthode d'analyse en per protocole à partir de l'outil d'analyse Excel proposé par l'OMS téléchargeable sur le lien suivant : <http://www.who.int/malaria/publications/atoz/9789241597531/en/>

#### **IV-6- Considérations éthiques**

Ce travail a eu la clairance éthique du Comité National d'éthique pour la Recherche en Santé humaine (CNERSH) (Annexe 1) et une autorisation administrative du Ministère de la Santé publique (MINSANTE).

*Evaluation in vivo de l'efficacité de la combinaison artésunate/amodiaquine dans le traitement du paludisme non compliqué à Plasmodium falciparum dans la région du Centre au Cameroun*

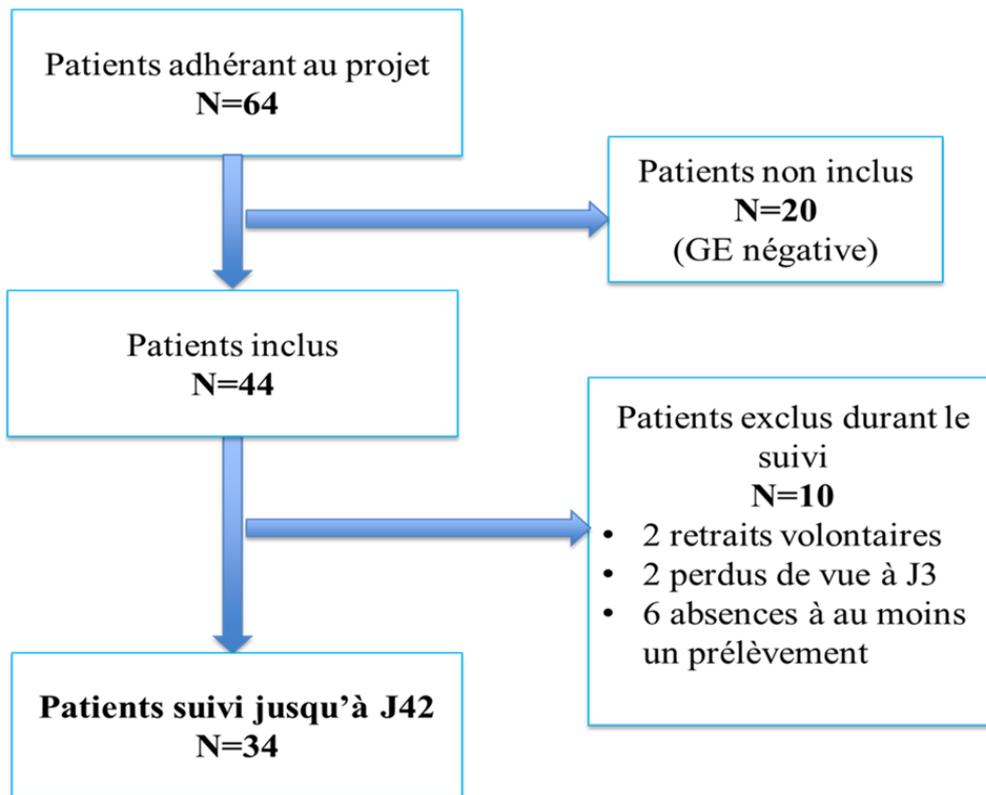
Les patients étaient totalement informés sur les différents aspects de l'étude. La signature du consentement éclairé était faite après leur accord. Toutes Les informations obtenues du participant sont restées strictement confidentielles. Cette étude a été faite dans un but strictement scientifique.

Le dépistage parasitologique, les médicaments et les frais d'hospitalisation, ainsi que les repas et les frais de transport pour les visites pour chaque patient et de son accompagnant, le cas échéant, ont été pris en charge par l'étude. La CTA ASAQ évaluée est celle recommandée par le PNLP/MINSANTE au Cameroun.

## **V- RESULTATS**

### V-1- Diagramme de flux

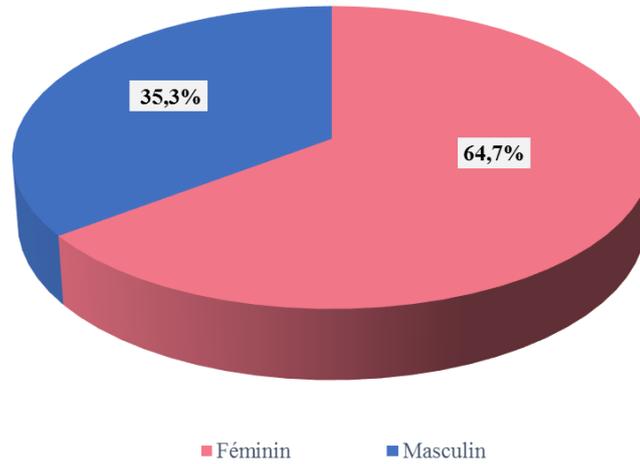
Au total, 64 patients ont adhéré à l'étude, soit un taux d'acceptabilité de 94,11%. Parmi eux, 20 avaient une GE négative et non pas été inclus. Dix patients ont été exclus de l'étude pour avoir été perdu de vue, soit pour retrait volontaire, soit pour avoir été absent à au moins un prélèvement (Figure 9). En définitive 34 patients ont été suivis jusqu'à J42.



**Figure 8.** Diagramme de flux

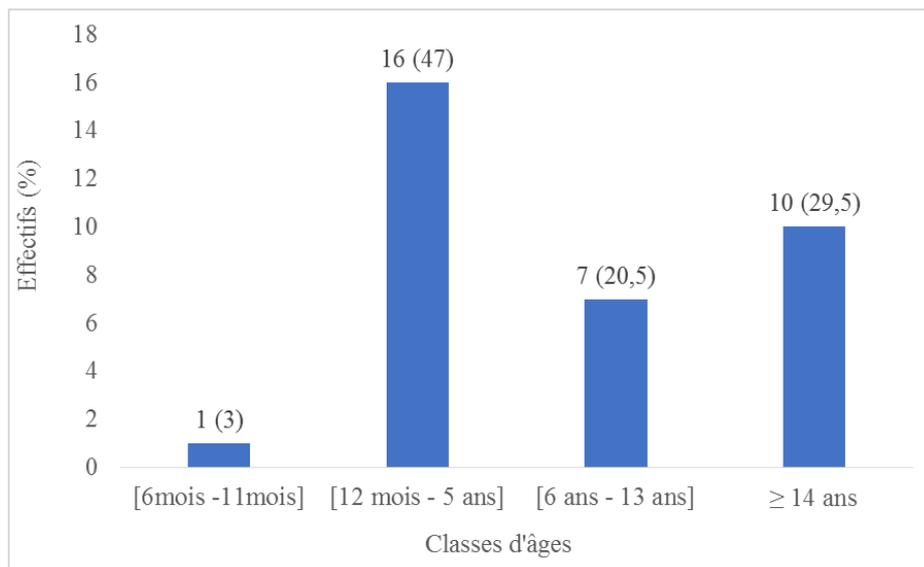
## V-2- Caractéristiques générales de la population d'étude

L'échantillon comprenait 22 patients de sexe féminin et 12 de sexe masculin, soit un sexe ratio (femme/homme) de 1,8.



**Figure 9.** Répartition des effectifs en fonction du sexe.

La répartition de la population par tranche d'âge a été faite en fonction des groupes de traitement ASAQ administré (Figure 11).



**Figure 10.** Répartition de la population d'étude par classe d'âge

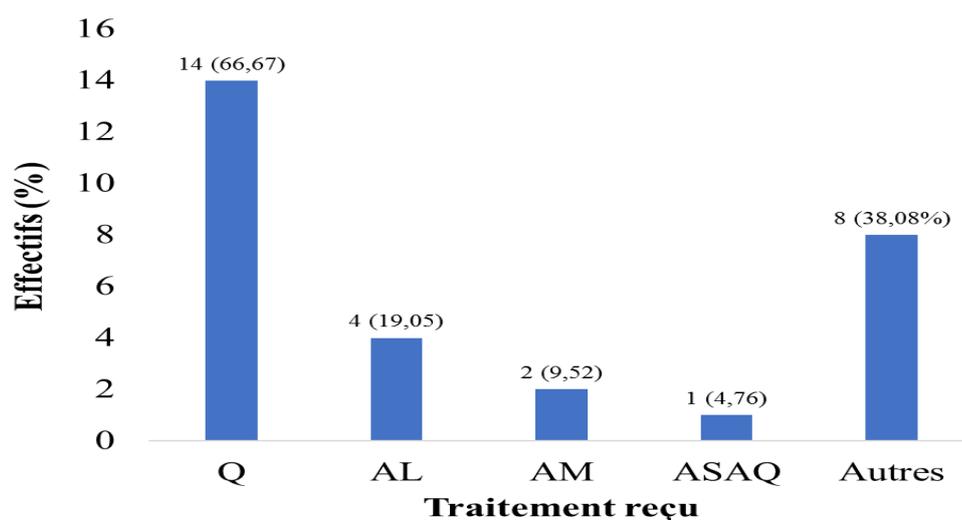
La moyenne d'âge des patients était de 12 ans avec des extrêmes allant de 9 mois à 55 ans et une médiane d'âge de 5,5 ans. Chez les patients « enfants » de moins de 15 ans, la moyenne d'âge était de 4 (IQ25-75 : 2,8-6,5) ans et chez les adultes de 30 (IQ25-75 : 26,2-32). Cette moyenne d'âge ne différait pas significativement entre le genre masculin et féminin ( $p=0,312$ ). La classe d'âge la plus représentée était celle comprise entre 12 mois et 5 ans

### V-3. Antécédents de paludisme

La majorité des patients de l'étude (85,2%) avait un antécédent de paludisme parmi lesquels 56,6% ; 13,3% et 13,3% avait été confirmé respectivement par TDR, GE et TDR+GE. La confirmation microscopique ni par TDR n'avait pas été faite chez 16,8% des patients.

Le nombre de mois moyen séparant deux épisodes de paludisme dans la population était de 4,62 mois (IQ25-75 : 2-5). Il était de 2,9 à 7,6 mois respectivement chez le genre féminin et chez le genre masculin, et la différence était significative ( $p=0,022$ ).

La majorité (72,41%) des cas « antécédents paludisme » avait été traités par un antipaludique. Seize patients avaient pris des adjuvants, huit concomitamment avec un antipaludique. 66,67% des patients qui ont pris un antipaludique avaient utilisé la quinine (Q), dont trois (21,43%) avaient pris la forme injectable. L'ASAQ, l'AL et l'arthémeter injectable (AM inj) représentaient respectivement 4,76% ; 19,05% et 9,52% des traitements administrés chez ces patients (Figure 12).



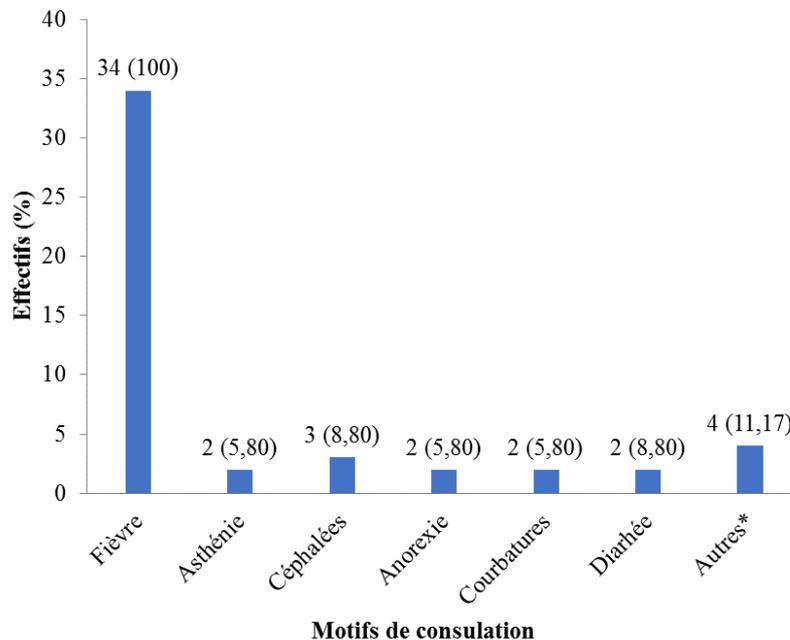
**Figure 11.** Répartition de la population en fonction des traitements antérieurs reçus

**Notes.** Q, quinine ; AL, arthéméter/luméfántrine ; AM ; arthéméter ; ASAQ, artésunate/amodiaquine, Autres, plantes naturelles, antiparistaires différent d'un antipludique, antibiotiques

#### **V-4. Motifs de consultations**

Le critère d'inclusion était la fièvre ou histoire de fièvre dans les 24h avant le jour de l'inclusion. Parmi les patients fébriles à J0, 56% étaient venus plus de deux jours (min : 0 – max : 10) après le début de la fièvre. Très peu sont venus au moment où la fièvre a débuté (5%).

Les céphalées représentaient les symptômes les plus importants suivis de l'anorexie, l'asthénie, les courbatures et la diarrhée (Figure 13).



**Notes.** *Autres : douleurs abdominales, épistaxis, frisson, vertiges*

**Figure 12.** Répartition de la population d'étude par motifs de consultation

#### **V-5. Caractéristiques cliniques et parasitologiques des patients**

Le tableau X résume les caractéristiques cliniques et parasitologiques des patients à J0. A l'inclusion, le poids des patients variait entre 8 Kg et 92Kg avec une moyenne de 32,5 Kg et 70,6% (24/34) patients étaient fébriles.

La densité parasitaire variait de 80 à 30868 formes asexuées de *P. falciparum*/µl avec une moyenne de 3928. Près d'un patient sur huit (4 sur 34) était porteur de gamétocytes *P. falciparum*.

**Tableau X** Caractéristiques cliniques et parasitologiques des patients à J0

Caractéristiques à J0	Effectifs (51)
Poids moyen (IQ25-75), Kg	32,56 (13-59)
Température moyenne (IQ25-75), °C	37,90 (37,5-38,3)
Parasitémie moyenne, Parasitémie (IQ25-75), trophozoïte/ $\mu$ l	3928 (334,8-5342)
Porteurs de gamétocytes (%)	4 (11,7)

#### V-6. Evaluation principale de l'efficacité de ASAQ

Les réponses aux traitements de la population analysée en per protocole à J28 et J42 sont résumées dans le tableau XI et XII.

**Tableau XI** : Réponse thérapeutique de l'ASAQ à J28

Réponse thérapeutique	Effectifs	Pourcentage (%)
ETP	3	8,9
ECT	0	0
EPT	4	11,7
RCPA non corrigée par PCR	27	79,4
<b>Total</b>	<b>34</b>	<b>100</b>

**Tableau XII** : Réponse thérapeutique à l'ASAQ à J42

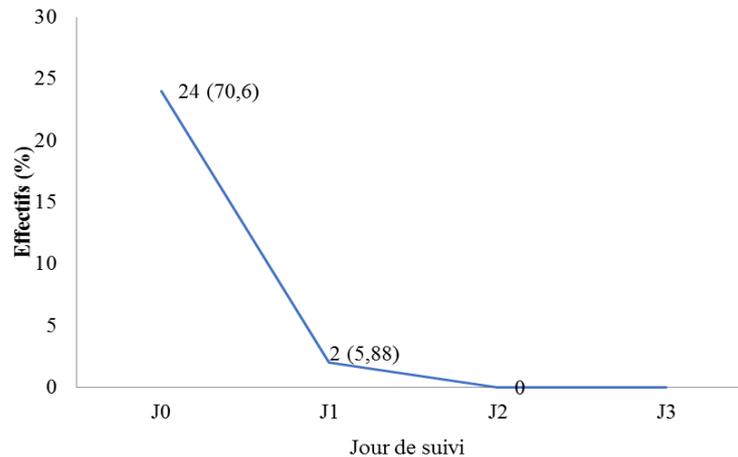
Réponse thérapeutique	Effectifs	Pourcentage (%)
ETP	3	8,9
ECT	0	0
EPT	7	20,6
RCPA non corrigée par PCR	24	70,5
<b>Total</b>	<b>34</b>	<b>100</b>

La RCPA non corrigée par PCR à J28 et J42 était de 79,4% et 70,5% respectivement. A J28, trois (8,9%) ETP et quatre EPT (11,7) ont été retrouvés. A J42, trois (8,9%) ETP et sept (20,6%) EPT ont été observés, soit un taux d'échec de 29,5% (10/34) à J42.

### V-7. Evaluation secondaire de l'efficacité de l'ASAQ

#### ❖ Clairance thermique

Parmi les patients fébriles à l'inclusion (24 patients), 22 ont eu une clairance thermique à J1 et à J2 la clairance était de 100% (Figure14). A J2, la température moyenne était de 36,8°C.

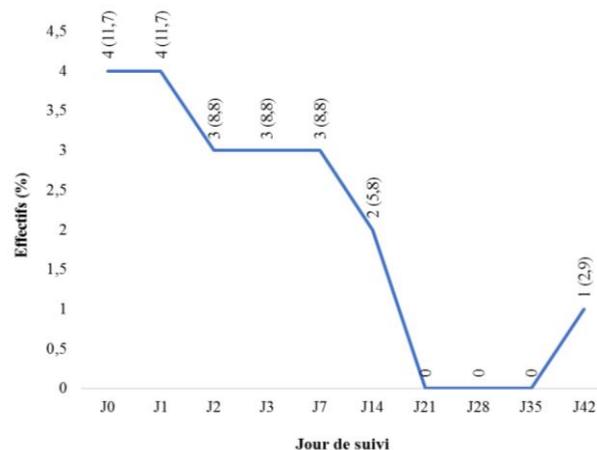


**Figure 13.** Proportion des patients fébriles au cours du suivi

#### ❖ Clairance parasitaire et Portage gamétocytaire

A J3 la clairance parasitaire était de 88,2% et quatre (11,8%) patients avaient une parasitémie persistante par microscopie à J3. Le temps moyen de clairance était de 61,8 heures soit 2,57 jours.

A J0, 4 patients (11.7%) étaient porteurs de gamétocytes. Les gamétocytes étaient retrouvés à J1, J2, J3, J7, J14 et J42 (Figure 15).

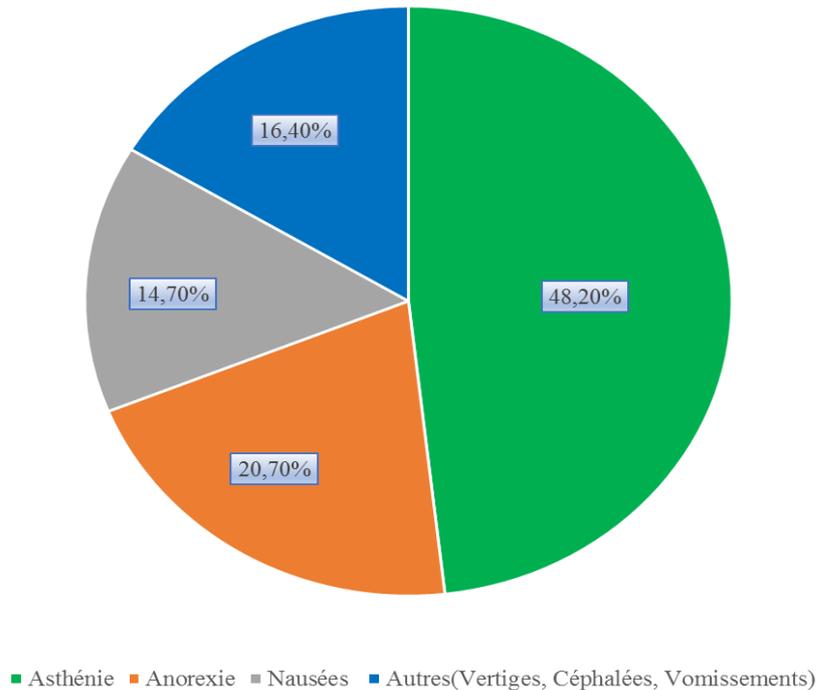


**Figure 14.** Taux de portage gamétocytaire au cours du suivi

❖ **Tolérance de l'ASAQ**

Aucun effet indésirable noté n'a conduit à l'arrêt du traitement et 70,6% avait bien toléré la combinaison ASAQ.

Parmi les effets indésirables, les patients présentaient en majorité une asthénie (48,20%) et un patient sur deux, une perte d'appétit (Figure 16). Les nausées, les vertiges, les céphalées et les vomissements représentaient 31% des effets indésirables.



**Figure 15.** Effets indésirables dus à ASAQ

**V-8. Facteurs interférant avec l'efficacité de ASAQ**

Les potentiels facteurs de risque associés à l'échec thérapeutique de l'ASAQ à J28 et à J42 ont été analysés et présentés dans le Tableau XIII et XIV. Que ce soit à J28 ou à J42, la parasitémie à J3 est un facteur de risque qui peut conduire à un échec thérapeutique indépendamment de l'âge, du genre et de la survenue d'effets indésirables.

**Tableau XIII:** Facteurs associés à une RCPA à J28

<b>Variabes</b>	<b>Effectifs</b>	<b>RCPA N(%)</b>	<b>Echec N (%)</b>	<b>OR</b>	<b>IC95%</b>	<b>p</b>
<b>Age</b>						
[0 - 14 ans]	24	20(83,3)	4(16,7)	1,69	0,22-12,91	0,612
≥15ans	10	7 (70,0)	3 (30,0)			
<b>Genre</b>						
Féminin	22	18(81,9)	4(18,1)	1,35	0,16-11,39	0,782
Masculin	12	9(75)	3(25)			
<b>Parasitémie à J3</b>	4	1 (25,0)	3 (75,0)	21,83	1,27-374,54	<b>0,033</b>
<b>Survenue d'effets indésirables</b>	10	7(70)	3(30)	0,62	0,04-8,54	0,726

**Tableau XIV.** Facteurs associés à la RCPA à J42

<b>Variabes</b>	<b>Effectifs</b>	<b>RCPA N(%)</b>	<b>Echec N (%)</b>	<b>OR</b>	<b>IC95%</b>	<b>p</b>
<b>Age</b>						
[0 - 14 ans]	24	17 (70,8)	7 (29,2)			
≥15ans	10	7 (70,0)	3 (30,0)	0,72	0,11-4,58	0,731
<b>Genre</b>						
Féminin	22	16 (72,7)	6 (27,3)			
Masculin	12	8 (80,0)	4 (20,0)	1,11	0,19-6,32	0,905
<b>Parasitémie à J3</b>	4	1 (25,0)	3 (75,0)	10,03	0,72-139,90	<b>0,086</b>
<b>Survenue d'effets indésirables</b>	10	6 (60,0)	4 (40,0)	1,11	0,16-7,75	0,916

## **VI- DISCUSSION**

*Evaluation in vivo de l'efficacité de la combinaison artésunate/amodiaquine dans le traitement du paludisme non compliqué à Plasmodium falciparum dans la région du Centre au Cameroun*

Nous avons mené une étude longitudinale prospective dont le but était d'évaluer *in vivo* et en condition réelle de déploiement, l'efficacité et l'innocuité de la combinaison ASAQ, une des CTA de première ligne recommandée par le MIINSANTE dans le traitement du PNC à *P. falciparum* au Cameroun.

Trente-quatre patients avec un sexe ratio de 1,8 en faveur des femmes ont été suivis sur une période de 42 jours. La classe d'âge la plus représentée dans notre population était celle de 12 mois et 5 ans avec 47%. Quel que soit les rapports des programmes nationaux de lutte contre le paludisme, cette tranche demeure la plus à risque et la plus infectée dans la plus part des pays [49,69]. Ceci est dû à une faible immunité retrouvée chez ces enfants, incapable d'assurer leur protection contre l'infection [70].

Dans notre population d'étude 85,2% avait un antécédent de paludisme et 33,3% d'entre eux avaient été traités par un dérivé de l'artémisinine (arthémether, artésunate), dont un patient (4,76%) avec l'ASAQ. La majorité, 66,7% avait pris de la Q. Ces observations dénotent une mauvaise utilisation des antipaludiques et un non-respect des recommandations du PNLP. Le MINSANTE/PNLP recommande l'usage des dérivés d'artémisinine en 1<sup>ère</sup> ligne dans le traitement du PNC (CTA), et grave (monothérapie injectable) [5]. Ces résultats sont différents de ceux retrouvés par Eboumbou et coll en 2017 qui avaient trouvé un fort taux d'utilisation des CTA d'environ 70% dans l'arrondissement de Douala 5 [71], mais proche de celle conduite dans la région du Sud-Ouest où seuls 42,6% étaient prise en charge de manière adéquate selon les directives nationales [72]. L'étude conduite à Douala 5 est dans une zone urbaine alors que les deux autres ont été conduites dans des zones rurales. Récemment, notre équipe de recherche a montré que la consommation des CTA ne représentaient que 51,85% des antipaludiques et 92,86% étaient l'AL [73]. Des résultats similaires ont été retrouvés dans d'autres pays comme le Ghana où seulement 43% des patients étaient traités sous AL alors que les recommandations étaient en faveur de l'ASAQ [74].

Le principal motif de consultation des patients était la fièvre. 70,26% avait une température axillaire  $\geq 37,5$  à J0. Ces résultats sont différents de ceux trouvés par Same- Ekobo et coll en 2015 à Yaoundé [20], Nji et coll en 2007 à Mutenguene et à Garoua [75], chez qui 100% des patients dans leur population avaient une fièvre à J0. Contrairement à ceux-ci qui n'incluaient que les patients fébriles à J0, dans notre étude, une histoire de fièvre 24h avant J0 faisait partie

de nos critères d'inclusion. Malgré ces différences observées, ces résultats montrent tout de même que la fièvre est un indicateur d'une infection palustre.

La tolérance est un facteur clé pour l'adhérence à un traitement. ASAQ a montré une bonne tolérance dans notre étude. Aucun effet indésirable trouvé n'a conduit à l'arrêt du traitement. Parmi les effets indésirables rencontrés, l'asthénie était le plus fréquent (48,2%) suivi de l'anorexie. (20%). Ces résultats corroborent avec ceux trouvés par Ndiayé et coll en 2008 où l'asthénie était l'effet indésirable le plus fréquent [19]. Dans l'étude de Apinjoh et coll en 2006 dans le Sud-Ouest et celle de Nji et coll en 2013 au Nord, l'effet indésirable le plus fréquent était respectivement la toux et les douleurs abdominales [17,75]. Ces différents effets indésirables rapportés expliqueraient le fait que la combinaison ASAQ soit moins utilisées en pratique. En effet dans cette étude, juste 4,8% des patients avait déjà été traité par ASAQ, pourtant les recommandations sont en faveur de ASAQ.

L'efficacité du traitement a été évaluée en per protocole. En effet, tous les patients qui n'ont pas pu être évalués (retrait, perdue de vue, exclusion) ont été retirés du dénominateur dans les analyses. Les résultats de cette étude confirment la bonne efficacité d'ASAQ. A J28 de suivi, le taux de guérison non corrigé par PCR était de 79,4%. Ce taux de guérison est élevé à celui retrouvé dans de nombreuses études en Afrique et au Cameroun. Dans une étude multicentrique conduite dans quatre régions du Cameroun (Centre, Nord, Extrême-Nord, Est) en 2005, un taux de guérison un peu plus bas de 71,6% à J28 sans correction par PCR a été rapporté [16]. Des taux de guérison plus bas ont été également rapportés au Congo et au Burkina Faso en 2009 et 2010, entre 58,4% et 68,5% [61,62,76]. La non supervision par un personnel médical comme ce fut le cas dans notre étude, pourrait expliquer ce bas taux de guérison dans ces études. Par contre, deux études conduites d'une part à Ngaoundéré au Cameroun en 2007 et d'autre part en Angola ont montré des taux de guérison non corrigés par PCR à J28 de 88,5% et 82,5% respectivement [18,77]. Cette différence pourrait s'expliquer par la fréquence de transmission faible dans ces zones par rapport à la nôtre où elle est intense [46]. Deux études conduites au Cameroun en 2005 par Ndiayé et coll en 2006, par Apinjoh et coll en 2006 trouvaient également un taux de guérison non corrigé par PCR supérieur au nôtre, respectivement de 99,4% ,90,2% [17,19].

A J42, le taux de guérison sans correction par PCR était de 70,5%. Ces résultats sont inférieurs à ceux de Mohammed et coll en 2014 trouvés en Erythrée et de Nji et coll en 2013 trouvés à Mutenguene et à Garoua avec respectivement un taux de 96% et 89% [63,75]. Tinto et coll en

2010 au Burkina trouvaient un taux de guérison nettement inférieur au notre, 37% sans PCR corrigé [61]. Cette différence pourrait s'expliquer par le caractère ambulatoire des traitements dans les différentes études et les différents clones circulants.

Globalement, notre taux de guérison semble bas. Il pourrait s'expliquer par le fait que nous n'avons pas pu distinguer une recrudescence d'une nouvelle infection chez six des dix patients en échec. Dans notre étude, tous ces cas ont été considérés comme des échecs thérapeutiques (ETP, ECT, EPT,) selon le protocole de l'OMS [58]. La majorité des cas d'échec survenait trois semaines après l'arrêt du traitement, probablement à cause de la baisse de la concentration du déséthylamodiaquine, un métabolite de l'AQ dont la demie vie est de 6 à 18 jours [78]. De nombreuses études montraient effectivement une amélioration du taux de guérison après correction par la PCR [61,63,75].

Toutes ces études suggèrent néanmoins une diminution de l'efficacité de l'ASAQ au fil du temps, ce qui pourrait laisser penser que la présence de clones résistants à l'AQ aurait un effet sur l'efficacité de l'ASAQ.

En effet des études ont montré une sélection de génotypes parasitaires tels que 86Y du gène *Pfmdr1* en particulier sous la pression de sélection de la combinaison AL dans diverses études de surveillance épidémiologique [79-81]. Une étude récente conduite par notre équipe a trouvé que plus de la moitié des personnes incluses à Youpwe et Manoka, 69,19% des échantillons présentaient l'allèle muté 86Y du gène *Pfmdr-1* [73].

A J2, la clairance thermique était de 100%. Ceci montrait une amélioration rapide des symptômes comme reportées dans des études antérieures [19,20,60,76]. Une diminution du taux de portage gamétoctaire a été également observée dans notre étude. Il est passé de 11,7% à J0 2,9% à J42. Ceci s'explique par l'activité anti-gamétoctaire connue des CTA, ce qui permet de rompre la chaîne de transmission du plasmodium [7,8].

A J3, la clairance parasitaire était de 88,2%. Néanmoins, 11,8% patients avaient une parasitémie persistante par microscopie à J3 ce qui suggère une suspicion de la résistance partielle à l'artémisinine. La suspicion de la résistance partielle à l'Artémisinine est définie comme suit : (i)  $\geq 5\%$  des patients porteurs de mutations associées à la résistance K13 ou (ii)  $\geq 10\%$  des patients avec une parasitémie persistante par microscopie à J3, ou (iii)  $\geq 10\%$  des patients avec une demie vie de clairance parasitaire  $\geq 5$  heures. La confirmation de la résistance partielle à l'Artémisinine

quant à elle est définie comme  $\geq 5\%$  des patients trouvés comme porteurs de mutations associées à la résistance K13 et qui ont tous soit une parasitémie persistante par microscopie au J3, soit une demi-vie de clairance parasitaire  $\geq 5$  heures [82].

Dans une analyse, multivariée tenant compte des facteurs confondants, la persistance d'une infection à J3 augmenterait le risque d'un échec thérapeutique observé à J28 et non à J42. Le risque serait de 21 fois plus important que celui du patient avec une clairance parasitaire avant J3. Leang et coll en 2012 au Cambodge ne trouvent pas non plus la parasitémie persistante à J3 comme facteur de risque de l'échec évalué à J42 [11]. Dans notre série, l'âge, le sexe ou la survenue des effets indésirables n'ont aucun impact sur la survenue de l'échec thérapeutique. Ces résultats sont semblables à ceux retrouvés par Leang et coll au Cambodge [11]. De nombreux facteurs peuvent influencer l'efficacité d'un médicament, que ce soit les facteurs de l'hôte (système immunitaire, le background génétique qui joue un rôle important dans le métabolisme d'un médicament), ou les facteurs parasitaires (clones résistants).

### **Limites et problèmes rencontrés**

Compte tenu des perdus de vue enregistrés, ceux qui ont été absents à au moins un prélèvement et les retraits volontaires, nous n'avons pas pu atteindre la taille minimale de 50 patients recommandés pour ce type d'étude. Compte tenu du temps, il nous a pas été possible de terminer les analyses des marqueurs moléculaires de résistance à l'artésunate et à l'amodiaquine qui nous permettrait de confirmer ou pas nos observations selon laquelle, une suspicion de la résistance partielle à l'artésunate existe dans notre population d'étude.

# **CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS**

## **CONCLUSION**

L'étude avait pour but d'évaluer *in vivo* l'efficacité clinique et parasitologique de l'ASAQ. Nos résultats ont confirmé une efficacité satisfaisante de l'ASAQ et une bonne innocuité. Un taux d'échec non corrigé par PCR d'environ 30% a été observé. Notre étude suggère également une suspicion de la résistance à l'artémisinine.

## **RECOMMANDATIONS**

Compte tenu des résultats obtenus dans notre étude, nous recommandons

### ➤ **Au Ministère de la Santé Publique**

D'insérer dans le système de santé un « reporting » des cas suspects d'échec thérapeutiques.

### ➤ **Aux chercheurs**

D'initier davantage et régulièrement les études d'évaluation des CTA vu le contexte de traitements limités et d'apparition des résistances à ces molécules dans la région d'Asie du Sud-Est

### ➤ **Aux praticiens**

De contrôler et notifier tout cas d'échec clinique observé, de les signaler aux autorités compétentes, de garder les échantillons et de les transmettre aux chercheurs.

### ➤ **A la population**

De respecter les prescriptions médicales, de se conformer aux recommandations du MINSANTE qui veut que les CTA soient utilisées en première intention dans le traitement du PNC.

## **PERSPECTIVES**

### **1- Evaluation de la RCPA par PCR**

Des études de génotypes par analyse de microsatellites permettraient de faire distinguer une recrudescence d'une nouvelle infection et de mieux définir les échecs thérapeutiques.

### **2- Caractérisation des marqueurs moléculaires de la résistance à l'artémisinine et à l'AQ.**

Des études d'identification des marqueurs moléculaires de résistance ou de clairance retardée, devraient être réalisées si après correction par PCR, les échecs observés le sont bien.

### **3- Fonctionnalité des mutations identifiés au niveau des isolats.**

Des études *in vitro* de fonctionnalité des mutations identifiées sur les isolats de terrain venant de patients en échec thérapeutique ou avec une clairance retardée seraient indispensables pour confirmer que cette mutation peut servir de marqueurs moléculaires pour une surveillance accrue de la résistance dans notre contexte.

## **REFERENCES**

- 1- Camus D, Slomianny C, Savel J. Biologie de Plasmodium. Encycl Méd Chir Elsevier, Paris, Maladies infectieuses. 1997;8-507-A-10:7.
- 2- World Health Organization (WHO). World malaria report 2016. World health organization; 2017. 24p <http://www.who.int/malaria/publications/world-malaria-report-2016/report/fr/>
- 3- World health organization (WHO). World malaria report 2017 : World health organization; 2018. <http://www.who.int/malaria/publications/world-malaria-report-2017/report/fr/>
- 4- Programme National de lutte Contre le Paludisme-Cameroun (PNLP-C). Rapport d'activités du programme national de lutte contre le paludisme en 2015. PNLP, 2016. 47p.
- 5- Ministère de la santé publique (MINSANTE). Guide de prise en charge du paludisme au Cameroun. 2013. MINSANTE 50p.
- 6- Programme national de lutte contre le paludisme (PNLP). Plan Stratégique National de Lutte contre le Paludisme au Cameroun 2007-2010 [Internet]. 2010 [cité 15 janv 2018] 136p. Disponible sur: [http://www.africanchildforum.org/clr/policy%20per%20country/cameroun/cameroon\\_malaria\\_2001-2006\\_fr.pdf](http://www.africanchildforum.org/clr/policy%20per%20country/cameroun/cameroon_malaria_2001-2006_fr.pdf).
- 7- World Health Organization (WHO). The use of antimalarial drugs. Report of a WHO Informal Consultation 13-17 November 2000. Geneva ; World Health Organization. 2001. 141p. [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/66961/1/WHO\\_CDS\\_RBM\\_2001.33.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/66961/1/WHO_CDS_RBM_2001.33.pdf).
- 8- World Health Organization (WHO). Antimalarial drug combination therapy: Report of a WHO Technical Consultation. Geneva. World Health Organization. 2001. 38p.
- 9- Antony H, Parija S. Antimalarial drug resistance: An overview. Trop Parasitol. 2016;30:41.
- 10- Phyo A, Nkhoma S, Stepniewska K, Ashley E, Nair S, McGready R, et al. Emergence of artemisinin-resistant malaria on the western border of Thailand: a longitudinal study. The Lancet. 2012;379(9830):1960–1966.
- 11- Leang R, Taylor W, Bouth D, Song L, Tarning J, Char M, et al. Evidence of Plasmodium falciparum Malaria Multidrug Resistance to Artemisinin and Piperaquine in Western Cambodia: Dihydroartemisinin-Piperaquine Open-Label Multicenter Clinical Assessment. Antimicrob Agents Chemother. 2015;59(8):4719–26.
- 12- Ashley E, Dhorda M, Fairhurst R, Amaratunga C, Lim P, Suon S, et al. Spread of Artemisinin Resistance in Plasmodium falciparum Malaria. N Engl J Med. 31 juill 2014;371(5):411–23.

- 13-** Apinjoh T, Mugri R, Miotto O, Chi H, Tata R, Anchang-Kimbi J, et al. Molecular markers for artemisinin and partner drug resistance in natural Plasmodium falciparum populations following increased insecticide treated net coverage along the slope of mount Cameroon: cross-sectional study. Infect Dis Poverty [Internet]. 2017 [cité 19 avr 2018];6(1). Disponible sur: <http://idpjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40249-017-0350-y>
- 14-** World Health Organization (WHO). Status report on artemisinin and ACT resistance. World Health Organization. 2016. 8p.
- 15-** Noedl H, Se Y, Schaefer K, Smith B. L., Socheat D, Fukuda M. Evidence of artemisinin-resistant malaria in western Cambodia. N Engl J Med 2008 359(24): 2619- 2620.
- 16-** Whegang SY, Tahar R, Foumane VN, Soula G, Gwét H, Thalabard J-C, et al. Efficacy of non-artemisinin-and artemisinin-based combination therapies for uncomplicated falciparum malaria in Cameroon. Malar J. 2010;9(1):56.
- 17-** Apinjoh T, Anchang-Kimbi J, Ajonina M, Njonguo E, Njua-Yafi C, Ngwai A, et al. In Vivo Efficacy of Artesunate/Sulphadoxine-Pyrimethamine versus Artesunate/Amodiaquine in the Treatment of Uncomplicated P. falciparum Malaria in Children around the Slope of Mount Cameroon: A Randomized Controlled Trial. Biomedicines.2016;4(1):5.
- 18-** Ali I, Netongo P, Atogho-Tiedeu B, Ngongang E-O, Ajua A, Achidi E, et al. Amodiaquine-Artesunate versus Artemether-Lumefantrine against Uncomplicated Malaria in Children Less Than 14 Years in Ngaoundere, North Cameroon: Efficacy, Safety, and Baseline Drug Resistant Mutations in pfcrt , pfmdr1 , and pfdhfr Genes. Malar Res Treat. 2013;2013:1 10.
- 19-** Ndiaye J, Faye B, Diouf A, Kuété T, Cisse M, Seck P, et al. Randomized, comparative study of the efficacy and safety of artesunate plus amodiaquine, administered as a single daily intake versus two daily intakes in the treatment of uncomplicated falciparum malaria. Malar J. 2008;7(1):16.
- 20-** Same-Ekobo A, Kuete T, Nkoa, T. Abondo R, Koki P. Efficacité et tolérance de Malacur®(dihydroartémisinine-piperaquine) dans le traitement du paludisme simple à Plasmodium falciparum chez les sujets âgés de plus de 14 ans au Cameroun. Médecine D'Afrique Noire. 2017;64(4):198.
- 21-** Gilles H, Warrell A, Leonard J , Bruce-Chwatt. Bruce-Chwatt's. Essential Malariology.1993. London: E. Arnold..
- 22-** Ta T, Hisam S, Lanza M, Jiram AI, Ismail N, Rubio JM. First case of a naturally acquired human infection with Plasmodium cynomolgi. Malar J. 2014;13(1):68.
- 23-** Hay S, Guerra C, Gething P, Patil A, Tatem A, Noor A, et al. A world malaria map: Plasmodium falciparum endemicity in 2007. PLoS Med. 2009;6(3):e1000048.

- 24-** Organization mondiale de la santé (OMS), UNICEF. Le rapport sur le paludisme en Afrique 2003. 2003; Organization mondiale de la santé.120p.
- 25-** Guerra C, Gikandi P, Tatem A, Noor A, Smith D, Hay S,et ,al. The limits and intensity of Plasmodium falciparum transmission: implications for malaria control and elimination worldwide. PLoS Med. 2008;5(2):e38.
- 26-** Ngassa Mbenda HG, Das A. Molecular Evidence of Plasmodium vivax Mono and Mixed Malaria Parasite Infections in Duffy-Negative Native Cameroonians. Snounou G, éditeur. PLoS ONE. 1 août 2014; 9(8):e103262.
- 27-** Fru-Cho, J., Bumah, V., Safeukui, I., Nkuo-Akenji, et al.Molecular typing reveals substantial Plasmodium vivax infection in asymptomatic adults in a rural area of Cameroon. Malaria J.2014; 13: 170.
- 28-** Singh B, Kim Sung L, Matusop A, Radhakrishnan A, Shamsul S, Cox-Singh J et al. A large focus of naturally acquired Plasmodium knowlesi infections in human beings. Lancet. 2004;27;363(9414):1017-24.
- 29-** Fru-Cho J, Bumah V, Safeukui I, Nkuo-Akenji T, Titanji V, Haldar K. Molecular typing reveals substantial Plasmodium vivax infection in asymptomatic adults in a rural area of Cameroon. Malar J. 2014;13(1):170.
- 30-** Ngassa Mbenda H, Das A. Molecular Evidence of Plasmodium vivax Mono and Mixed Malaria Parasite Infections in Duffy-Negative Native Cameroonians. Snounou G, éditeur. PLoS ONE. 1 août 2014;9(8):e103262.
- 31-** Ngassa Mbenda H, Das A. Molecular Evidence of Plasmodium vivax Mono and Mixed Malaria Parasite Infections in Duffy-Negative Native Cameroonians. Snounou G, éditeur. PLoS ONE. 1 août 2014;9(8):e103262.
- 32-** Roman D, Rosalie N, Kumar A, Luther K, Singh V, Albert M. Asymptomatic Plasmodium malariae infections in children from suburban areas of Yaoundé, Cameroon. Parasitol Int. févr 2018;67(1):29 33.
- 33-** Cowman AF, Berry D, Baum J. The cellular and molecular basis for malaria parasite invasion of the human red blood cell. J Cell Biol. 17 sept 2012;198(6):961 71.
- 34-** Mouchet J, Carnevale P, Coosemans M, Fontenille D, Richard A, Robert V et al.Typologie du paludisme en Afrique. Cahiers Santé. 1993 ; 3 : 220-38.
- 35-** Duriez.T, Dujarden.L, Aféhaïn.D. Le paludisme ; Laboratoire de parasitologie de la faculté de pharmacie de Lille. Juillet 2009.

- 36-** Antonio-Nkondjio C, Hinzoumbe C, Simard F, Awono-Ambene P, Chouaibou M, Tchuinkam T, et al. Complexity of the Malaria Vectorial System in Cameroon: Contribution of Secondary Vectors to Malaria Transmission. *J Med Entomol* 2006; 43: 1215-21.
- 37-** Awono-Ambene H, Kengne P, Simard F, Antonio-Nkondjio C, Fontenille D. Description and bionomics of *Anopheles (Cellia) ovengensis* (Diptera: Culicidae) a new malaria vector species of the *Anopheles nili* group from south Cameroon. *J Med Entomol* 2004; 41: 561–568.
- 38-** Fontenille D, Simard F. Unravelling complexities in human malaria transmission dynamics in Africa through a comprehensive knowledge of vector populations. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* sept 2004;27(5):357-75.
- 39-** Coetzee, Maureen H, Hunt R, Wilkerson R, Della Torre A, Mamadou B. C, Besansky, N. *Anopheles Coluzzii* & *Anopheles Amharicus*, New Members of the *Anopheles gambiae* Complex. *Zootaxa.* 2013; 3619, no. 3.
- 40-** Hamon J. Les moustiques anthropophiles de la région de Bobo-Dioulasso (République de Haute-Volta); cycles d'agressivité et variations saisonnières.1963. *Ann. Soc. Ent. France,* 132 : 85-144.
- 41-** Trung H, Bortel W, Sochantha T, Keokenchanh K, Briet O, Coosemans M. Behavioural heterogeneity for *Anopheles* species in ecologically different localities in Southeast Asia : a challenge for vector control.2005. *Trop. Med. Int. Hlth.,* 10 : 251-261.
- 42-** Rainova I, Harizanov R, Kaftandjiev I, Mikov O, Tsvetkova N. Imported malaria in Bulgaria, status and prognosis after eradication in 1965. *J Infect Public Health.* 2017; S1876-0341(17)30285-X. doi: 10.1016/j.jiph.2017.10.010.
- 43-** Choe Y, Choe S, Cho S. Importation of travel-related infectious diseases is increasing in South Korea: An analysis of salmonellosis, shigellosis, malaria, and dengue surveillance data. *Travel Med Infect Dis.* 2017 Sep;19:22-27.
- 44-** D'Ortenzio E, Sissoko D, Dehecq J, Renault P, Filleul L. Malaria imported into Réunion Island: is there a risk of re-emergence of the disease? *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2010 ;104(4):251-4.
- 45-** Carnevale P, Robert V, Molez J, Baudon D. Faciès épidémiologiques des paludismes en Afrique Sub-saharienne. *Etudes médicales.* 1984;3:123 33.
- 46-** Ministère de la santé(Minsanté), Programme national de lutte contre le paludisme.Plan stratégique 2014-2018. 2014. 106p.
- 47-** Institut National de la Statistique( INS). Enquête démographique et de santé et à indicateurs multiples (EDS-MICS). 2011. 37p.

- 48-** Institut National de la Statistique. Troisième enquête camerounaise auprès des ménages (ECAM III) [Internet]. 2007 [cité 2 janv 2018] p. 16. Disponible sur: [www.statistics-cameroon.org](http://www.statistics-cameroon.org)
- 49-** Programme National de lutte Contre le Paludisme-Cameroun (PNLP-C). Rapport d'activités du programme national de lutte contre le paludisme en 2015 [Internet]. 2016 [cité 2 janv 2018] p. 47proprog. Disponible sur: <https://www.measureevaluation.org/countries/democratic-republic-of-congo/rapport-annuel-de-activites-de-lutte-contre-le-paludisme-2016>
- 50-** Association Française des enseignants de parasitologie et de mycologie (ANOFEL). Le paludisme. Univ Medicale Virtuelle Francoph. 2014;27p. <http://campus.cerimes.fr/parasitologie/enseignement/paludisme/site/html/cours.pdf>
- 51-** World Health Organization. Severe falciparum malaria. World Health Organization, Communicable Diseases Cluster. *Trans R Soc Trop Med Hyg*; 2000a; 94(11):1-90.
- 52-** World health organization (WHO). The African Summit on Roll Back Malaria. Geneva, World Health Organisation. 2000b. Xxp.
- 53-** Tangpukdee N, Duangdee C, Wilairatana P. and Krudsood S. (2009). « Malaria diagnosis: a brief review. » *Korean J Parasitol* 47(2): 93-102.
- 54-** Makler M, Palmer C. J. and Ager A. A review of practical techniques for the diagnosis of malaria. 1998. *Ann Trop Med Parasitol* 92: 419-433.
- 55-** Hance P, Garnotel E, De Pina J, Vedy S, Ragot C, Chadli M. et al. Rapid immunochromatographic tests for detection of malaria: principles and strategies for use. 2005. *Med Trop (Mars)* 65(4): 389-393.
- 56-** De Pina J, Garnotel E, Hance P, Vedy S, Rogier C, et al. Diagnostic du paludisme d'importation en France.(Diagnosis of imported malaria in France). *Science Direct*.2007; 37, 710-715.
- 57-** World health organization (WHO). Seasonal malaria chemoprevention with sulfadoxine-pyrimethamine plus amodiaquine in children: a field guide. 2013. 56.
- 58-** World Health Organization (WHO). Methods for surveillance of antimalarial drug efficacy. Geneva : World Health Organization, 2009 [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44048/1/9789241597531\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44048/1/9789241597531_eng.pdf).
- 59-** Ringwald P, Basco LK. Susceptibility of plasmodium falciparum to antimalarial drugs: report on global monitoring : 1996-2004. 2005.
- 60-** Sow D, Ndiaye J-L, Sylla K, Ba MS, Tine RCK, Faye B, et al. Évaluation de l'efficacité et de la tolérance des combinaisons artésunate-amodiaquine, dihydroartémisinine-pipéraquine et

artéméther-luméfántrine pour le traitement du paludisme à *Plasmodium falciparum* non compliqué au Sénégal. *Médecine Santé Trop.* 2016;26(1):45–50.

**61-** Tinto H, Diallo S, Zongo I, Guiraud I, Valea I, Kazienga A, et al. Effectiveness of artesunate-amodiaquine vs . artemether-lumefantrine for the treatment of uncomplicated falciparum malaria in Nanoro, Burkina Faso: a non-inferiority randomised trial. *Trop Med Int Health.* avr 2014;19(4):469 75.

**62-** Van den Broek I, Kitz C, Al Attas S, Libama F, Balasegaram M, Guthmann JP. Efficacy of three combinations therapies for the treatment of uncomplicated *Plasmodium falciparum* malaria in the Republic of Congo. *Malaria Journal.* 2006 24; 5:113.

**63-** Mohammed AO, Tewolde S, Estifanos D, Tekeste Y, Osman M. Therapeutic efficacy of artesunate - amiodaquine for treating uncomplicated falciparum malaria at Ghindae Zonal Referral Hospital, Eritrea. *Acta Trop.* janv 2018;177:94 6.

**64-** Organisation mondiale de la santé (OMS). Chimiothérapie du paludisme et résistance aux antipaludiques. Rapport d'un groupe scientifique de l'OMS. Genève, Organisation Mondiale de la Santé ,1973 (OMS, Série de Rapports techniques, No 529).

**65-** Takala-Harrison S., Clark T, Jacob C. , Cummings M, Miottod O, Dondorpe A ,et al. Genetic loci associated with delayed clearance of *Plasmodium falciparum* following artemisinin treatment in Southeast Asia. *Proc.NatAca Sci.* 2013. 240–245.

**66-** Miott,O, Almagro-Garcia,J, Mansk,M, MacInnis B, Campino S, Rockett A.. et al. Multiple populations of artemisinin-resistant *Plasmodium falciparum* in Cambodia. *Nat Genet.* 2013. 45(6).

**67-** Witkowski B, Amaratunga C, Khim N, Sreng S, Chim P, Kim S, et al. Novel phenotypic assays for the detection of artemisinin-resistant *Plasmodium falciparum* malaria in Cambodia: in-vitro and ex-vivo drug-response studies. *Lancet Infect Dis.*2013a13(12):1043-9.

**68-** Ménard D, Khim N, Beghain J, Adegnika AA, Shafiul-Alam M, Amodu O, et al. A Worldwide Map of *Plasmodium falciparum* K13-Propeller Polymorphisms. *N Engl J Med.* 23 juin 2016;374(25):2453 64.

**69-** Achonduh-Atijegbe O, Mfuh K, Mbange A, Chedjou J, Taylor D, Nerurkar V et al. Prevalence of malaria, typhoid, toxoplasmosis and rubella among febrile children in Cameroon. *BMC Infect Dis,* 2016. 16(1) :xxxxx

**70-** Mukomena S, Philippe C, Désiré M, Pascal L, Ali M, Oscar L. Parasitémie asymptomatique chez les enfants de moins de 5 ans, enfants en âge scolaire et prise en charge des épisodes fébriles dans les ménages de Lubumbashi, République Démocratique du Congo. *Pan Afr Med J,* 2016. <http://www.panafrican-med-journal.com/content/article/24/94/full/>

- 71-** Eboumbou C, Etang J, Tafock C, Ayina A, Same Ekobo A. Rationalization of artemisinin-based combination therapy for the management of uncomplicated malaria in an urban area of Douala, Cameroun 2017. Submitted.
- 72-** Nnoko SA. Evaluation of simple malaria management respecting who guides in Buea health district. Doctorta Thesis, Faculty of Medeine and Pharmaceutical Sciences, University of Douala. 2017. 95p.
- 73-** Amona I. Prévalence des mutations mdr-1 dans deux zones d'endemicite differente du cameroun : l'île de manoka et son site de raccordement continental youpwe. 2017. Ecole Doctorale Régionale, infectiologie de terrain. 40p.
- 74-** Doodoo, A., Fogg, C., Asiiimwe, A., Nartey, E., Kodua, A., Tenkorang, O., (2009). Pattern of drug utilization for treatment of uncomplicated malaria in urban Ghana following national treatment policy change to artemisinin-combination therapy. *Malar J.* 8:2.
- 75-** Nji A, Ali I, Moyeh M, Ngongang E-O, Ekollo A, Chedjou J-P, et al. Randomized non-inferiority and safety trial of dihydroartemisin-piperaquine and artesunate-amodiaquine versus artemether-lumefantrine in the treatment of uncomplicated Plasmodium falciparum malaria in Cameroonian children. *Malar J.* 2015. 14(1):27.
- 76-** Siribié M, Diarra A, Tiono AB, Soulama I, Sirima SB. Efficacité de l'artémether-luméfántrine dans le traitement du paludisme simple de l'enfant en milieu rural au Burkina Faso en 2009. *Bull Société Pathol Exot.* août 2012. 105(3):202-7.
- 77-** Davlantes E, Dimbu P, Ferreira C, Florinda Joao M, Pode D, Félix J, et al. Efficacy and safety of artemether–lumefantrine, artesunate–amodiaquine, and dihydroartemisinin–piperaquine for the treatment of uncomplicated Plasmodium falciparum malaria in three provinces in Angola, 2017. *Malar J* 2018. 17(1):2290-9:
- 78-** Orrell C, Little F, Smith P, Folb P, Taylor W, Olliaro P, et al. Pharmacokinetics and tolerability of artesunate and amodiaquine alone and in combination in healthy volunteers. *Eur J Clin Pharmacol.* 2008. 64(7):683-90.
- 79-** Duraisingh M.T, Jones P, Sambou I, Von Seidlein L, Pinder M, Warhurst, D.C.. The tyrosine-86 allele of the Pfmdr1 gene of Plasmodium falciparum is associated with increased sensitivity to the anti-malarials mefloquine and artemisinin. *Mol Biochem Parasitol.*2000a.108:13-23.
- 80-** Sisowath C, Stromberg J, Martensson A, Msellem M, Obondo C, Bjorkman, A. In vivo selection of Plasmodium falciparum Pfmdr1 86N coding alleles by artemether-lumefantrine (coartem). *J Infect Dis.* 2005. 191(6): 1014-7.

- 81-** Dahlstrom S, Ferreira P, Veiga M.I., Sedighi N, Wiklund L, Martensson A. Plasmodium falciparum multidrug resistance protein 1 and artemisinin-based combination therapy in Africa. J Infect Dis.2009 :1456-1464)
- 82-** Palevalut Network. Evaluation de l'efficacité thérapeutique des antipaludiques dans le traitement du paludisme non compliqué. 2015. 51p.  
[http://palevalut.org/attachments/029\\_12.%20POS%20SENS-VIVO%20-%20vdef.pdf](http://palevalut.org/attachments/029_12.%20POS%20SENS-VIVO%20-%20vdef.pdf)
- 83-** Flegg J, Guerin P, White N, Stepniewska K. Standardizing the measurement of parasite clearance in falciparum malaria: the parasite clearance estimator. Malar J. 2011;10:339

# **ANNEXES**

## **Annexe 1 : Clairance éthique**

### **COMITE NATIONAL D'ETHIQUE DE LA RECHERCHE POUR LA SANTE HUMAINE**

Arrêté N° 0977/A/MINSANTE/SESP/SG/DROS/ du 18 avril 2012 portant création, organisation et fonctionnement des comités d'éthique de la recherche pour la santé humaine au sein des structures relevant du Ministère en charge de la santé publique

N° 2015/04/574/CE/CNERSH/SP

Yaoundé, le 20 avril 2015

[Cnethique\\_minsante@yahoo.fr](mailto:Cnethique_minsante@yahoo.fr)

### **CLAIRANCE ETHIQUE**

Le Comité National d'Ethique de la Recherche pour la Santé Humaine (CNERSH), en sa session extraordinaire du 1<sup>er</sup> avril 2015, a examiné le projet de recherche intitulé : «**Evaluation opérationnelle de la lutte intégrée contre le paludisme au Cameroun**», soumis par le **Docteur Gaëtan TEXIER**, Investigateur Principal, Centre Pasteur du Cameroun (CPC).

Le projet est d'un grand intérêt scientifique et social. L'objectif de l'étude est d'améliorer la lutte antipaludique au Cameroun par l'évaluation de l'impact des moyens de lutte contre le paludisme. La procédure de l'étude est bien documentée et claire. Les risques liés au prélèvement sanguin sont précisés ainsi que les mesures pour les éviter et les minimiser. La notice d'information et le formulaire de consentement éclairé, en français et en anglais, sont bien élaborés et simples à comprendre. Les mesures prises pour garantir la confidentialité des données collectées sont présentes dans le document. Les CVs des Investigateurs les décrivent comme des personnes compétentes, capables de mener à bien cette étude. Pour toutes ces raisons, le Comité National d'Ethique approuve pour une durée d'un an, la mise en œuvre de la présente version du protocole.

Les Investigateurs sont responsables du respect scrupuleux du protocole approuvé et ne devraient y apporter aucun amendement aussi mineur soit-il, sans avis favorable du CNERSH. Les investigateurs sont appelés à collaborer pour toute descente du CNERSH pour le suivi de la mise en œuvre du protocole approuvé. Le rapport final du projet devra être soumis au CNERSH et aux autorités sanitaires du Cameroun.

La présente clairance peut être retirée en cas de non respect de la réglementation en vigueur et des recommandations susmentionnées.

En foi de quoi, la présente clairance éthique est délivrée pour servir et valoir ce que de droit.

#### Ampliations

- MINSANTE



**N.B :** cette clairance éthique ne vous dispense pas de l'autorisation administrative de recherche (AAR), exigée pour mener cette étude sur le territoire camerounais. Cette dernière vous sera délivrée par le Ministère de la Santé Publique.

**Annexe 2 : Autorisation de recherche du MINSANTE**

REPUBLICQUE DU CAMEROUN Paix – Travail – Patrie	REPUBLIC OF CAMEROON Peace – Work – Fatherland
MINISTERE DE LA SANTE PUBLIQUE	MINISTRY OF PUBLIC HEALTH
SECRETARIAT GENERAL	SECRETARIAT GENERAL
DIVISION DE LA RECHERCHE OPERATIONNELLE EN SANTE	DIVISION OF HEALTH OPERATIONS RESEARCH
N° <u>D30-413</u> AAR/MINSANTE/SIG/DCOS/CRSPE	18 JUN 2015
Yaoundé, le _____	
<b>Le MINISTRE</b> Au Dr Texier Gaetan, PhD Centre Pasteur du Cameroun Email: <a href="mailto:cpc@pasteur_yeounde.org">cpc@pasteur_yeounde.org</a> Tel. (237) 222 23 18 03	
<p><b>Objet :</b> Autorisation Administrative de Recherche: N° <u>631-18-15</u></p>	
<p>Monsieur, Après examen du projet de recherche intitulé «Evaluation Opérationnelle de la lutte intégrée contre le paludisme au Cameroun», introduit par Monsieur le DG du CPC en votre nom en qualité d'investigateur principal pour le Cameroun et y faisant suite.</p> <p>J'ai l'honneur de vous signifier la présente Autorisation Administrative de Recherche qui vous permettra de démarrer vos travaux. Vous voudrez bien noter que la Division de la Recherche Opérationnelle en Santé est chargée du suivi de la conformité aux principes de bioéthique de ce projet et devra être tenue informée de vos activités, ainsi que des conclusions de cette recherche. Le Ministère de la Santé publique se réserve par ailleurs le droit d'affectuer des missions de suivi et de la mise en œuvre de la dite recherche et d'arrêter celle-ci en cas de non respect du protocole approuvé et pour lequel cette Autorisation vous est accordée.</p> <p>Toute nouvelle découverte au cours de vos travaux devra être signalée à la Division sus mentionnée avant publication et les deux parties à savoir, l'investigateur Principal et le Ministère de la Santé Publique détiendront les droits de propriété intellectuelle.</p> <p>Toute modification du présent protocole devra être signalée à l'Administration après une nouvelle approbation par le Comité d'Ethique. Le numéro de votre Autorisation Administrative sus référencée en dessous de l'objet, devra être cité dans vos courriers ultérieurs.</p>	
<p><b>Copies:</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>- MINSANTE</li><li>- SOMINSANTE</li><li>- DCOS</li><li>- DLMEP</li><li>- PNLF</li><li>- Archives / Drono</li></ul>	
<small>Site web: <a href="http://www.minsante.cm">www.minsante.cm</a>   <a href="http://www.minsante.gov.cm">www.minsante.gov.cm</a>   Tel: +237 222 23 45 18   Email: <a href="mailto:minsantedcm@yahoo.com">minsantedcm@yahoo.com</a></small>	

Annexe 3 : Autorisation de recherche au CPC

REPUBLICQUE DU CAMEROUN  
Paix - Travail - Patrie

ORIGINAL

REPUBLIC OF CAMEROON  
Peace - Work - Fatherland

MINISTRE  
Ministère de la Santé Publique

« L'Excellence en Santé accessible à tous »

**CONVENTION DE STAGE**

N° 00533 /18/CPC/DG/DAP/DS/ST

Entre les soussignés :

- Le Centre Pasteur du Cameroun, BP 1274 – Yaoundé, représenté par Pr Elisabeth CARNIEL, Directeur Général, d'une part,
- Madame NGANSO KEPTCHOUANG Tatiana, née(e) le 03 janvier 1995 à Yaoundé, Etudiante en 7<sup>ème</sup> année de médecine, domiciliée à Yaoundé, ci-après désigné « L'Intéressé(e) » d'autre part.

Il a été convenu et arrêté ce qui suit :

**Article 1 : Objet, durée et lieu d'exécution**  
Le Centre Pasteur du Cameroun accepte d'accueillir Madame NGANSO KEPTCHOUANG Tatiana, en stage pour une durée de trois (03) mois allant du 02 avril au 31 août 2018, au Service Paludologie.

**Article 2 : Respect des Statuts et règlement**  
Durant le stage, l'intéressé(e) devra se conformer aux usages et règlements en vigueur au sein du Centre Pasteur du Cameroun. Si elle/il est amené(e) à exploiter des informations recueillies lors du stage, elle ne pourra le faire qu'avec l'accord de son encadreur de stage. L'intéressé(e) est tenu(e) au secret professionnel.

**Article 3 : Résiliation**  
En cas de transgression par l'intéressé(e) des usages et règlements, ou en cas d'indiscipline caractérisé(e), il pourra être mis fin à la présente convention sans préavis.

**Article 4 : Gratification**  
Durant son stage, l'intéressé(e) ne percevra aucune indemnité. Elle/il s'engage à ne pas se prévaloir, en aucune façon, de la qualité de Salariée du Centre Pasteur du Cameroun.

**Article 5 : Rapport de Stage**  
Au terme du stage, l'intéressée devra rédiger un rapport qu'elle remettra au Centre Pasteur du Cameroun.

Lu et approuvé

Signature intéressé(e)  
(Précédée de la mention « lu et approuvé »)

Fait à Yaoundé, le 02/04/2018

Pr Elisabeth CARNIEL  
Directeur Général  
Centre Pasteur du Cameroun

CENTRE PASTEUR DU CAMEROUN - Laboratoire National de Référence et de Santé Publique  
Membre du Réseau International des Instituts Pasteur  
BP 1274 YAOUNDE, 451, Rue 2005, Yaoundé 2 - CAMEROUN - site internet: www.pasteur-yaounde.org  
Tel : (237) 222 23 10 15 / 333 23 18 03 - Télécopie : (237) 22 23 15 04 - email : cpc@pasteur-yaounde.org

#### **Annexe 4 : Notice informative**

*Autorisation du Comité d'éthique/Délégation de la santé de la région du Littoral* \_\_\_\_\_

**Principal Investigateur:** NGANSO Tatiana, Etudiante en 7<sup>ème</sup> année de médecine à la Faculté de Médecine et des Sciences Pharmaceutiques de l'Université de Douala.  
Tél :(+327) 695 638 075/654 458 493

**Directeur de Thèse:** Pr EBOUMBOU MOUKOKO Else Carole  
**Co-Directors:** Dr PENDA Ida Calixte, Dr NSANGO Sandrine

**Titre du Projet:** Evaluation de l'efficacité des combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine dans le traitement du paludisme simple à *Plasmodium falciparum* à l'hôpital Laquintinie de Douala

**PRESENTATION DE L'ETUDE:** Tous les efforts mis en place dans le contrôle de l'infection et la prise en charge (PEC) des cas de paludisme donnent des résultats encourageants mais toujours fragiles au Cameroun. Cette fragilité est en partie liée à la présence de souches de *P. falciparum* résistantes à certains antipaludiques. La résistance aux antipaludiques est l'aptitude d'une souche de Plasmodium à survivre et/ou à se multiplier malgré l'administration et l'absorption d'un antipaludique employé à des doses égales ou supérieures aux doses ordinairement recommandées mais comprises dans les limites de tolérance du sujet. Compte tenu des résistances aux antipaludiques employés seuls, le Cameroun a adopté l'utilisation des combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine (CTA) comme traitement de première ligne pour le paludisme à *P. falciparum* non compliqué en 2004 comme le recommandait l'OMS. L'émergence des parasites résistants aux médicaments antipaludiques ralentira les efforts de lutte contre l'antipaludique. Ainsi, une surveillance systématique de l'efficacité des CTAs actuellement utilisées aidera à concevoir une politique pharmaceutique efficace dans toutes les régions endémiques du paludisme et les pays affectés comme le Cameroun. En outre, cette surveillance permettra d'assurer la détection précoce et la riposte à la résistance pour éviter leur diffusion dans le temps et contrôler cette endémie parasitaire. L'objectif de l'étude sera d'évaluer l'efficacité des CTA (ASAQ et AL) utilisés dans le traitement du paludisme simple à *Plasmodium falciparum* à Douala.

**PROCEDURE:** Si vous présentez ou votre enfant présentait les critères de sélection pour cette étude et que vous acceptez d'y participer ou que vous donniez l'assentiment pour que votre enfant y participe, un test de diagnostic rapide (TDR) pour le paludisme sera effectué. Une fois le test confirmé, un CTA recommandé par le MINSANTE vous sera administré ou à votre enfant. Vous ou votre enfant sera hospitalisé les trois premiers jours (J0 à J2) de traitement et des données cliniques (examens cliniques et prise de température) et biologiques (à partir de sang prélevé) seront répertoriées toutes les 6 heures. Des visites seront également effectuées entre J3 et J42 à intervalle de 7 jours. Un calendrier de visite vous sera attribué. Vous ne devrez prendre aucun autre médicament, pendant toute la durée de l'étude, sans en avoir discuté auparavant avec votre médecin, faute de quoi vous serez exclu de l'étude. Les examens de laboratoire seront confirmés par la suite au Centre Pasteur du Cameroun.

**BENEICES.** Le diagnostic du paludisme ainsi que la CTA vous seront fournis gratuitement. Aucune Participation financière ne vous sera demandée pour vos déplacements lors des visites.

**CONFIDENTIALITE.** Toutes les informations sur les patients resteront confidentielles et ne seront connues que de l'équipe de recherche. Un numéro individuel d'identification sera utilisé pour la saisie informatique des données et pour les prélèvements de sang.

**INCONFORTS ET PREJUDICES EVENTUELS.** La participation à cette étude vous obligera à consacrer du temps à la réalisation des entretiens et au prélèvement sanguin des enfants. Nous sommes conscients de tous ces dérangements, inconforts et éventuels préjudices. Nous mettrons tout en œuvre pour les minimiser. La prise de sang est un risque calculé, qui peut parfois se compliquer d'hématome autour de la zone de piqûre et qui se résorbera en quelques jours.

**Name of Researcher:** Nganso Keptchouang Tatiana

**Date de signature:** /\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_/\_\_\_\_/

**Signature:** \_\_\_\_\_

#### **Annexe 5 Formulaire de consentement éclairé**

*Autorisation du Comité d'éthique/Délégation de la santé de la région du Littoral* \_\_\_\_\_

**Titre du projet:** Evaluation de l'efficacité des combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine dans le traitement du paludisme simple à *Plasmodium falciparum* à l'Hôpital Laquintinie de Douala

*Evaluation in vivo de l'efficacité de la combinaison artésunate/amodiaquine dans le traitement du paludisme non compliqué à Plasmodium falciparum dans la région du Centre au Cameroun*

Je soussigné(e) M.....

Certifie avoir parfaitement compris le contenu du présent formulaire et de la note d'information qui m'ont été présentés, lus en détail et commentés.

J'en ai discuté avec Mlle Tatiana, impliqué dans l'étude sur la « Evaluation de l'efficacité des combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine dans le traitement du paludisme simple à *Plasmodium falciparum* à l'Hôpital Laquintinie de Douala».

Elle m'a expliqué la nature, les objectifs, les contraintes, les risques et les bénéfices éventuels liés à ma participation à cette étude. J'atteste avoir eu la possibilité de poser toutes les questions que je souhaitais et avoir obtenu des réponses satisfaisantes pour chacune d'entre elles.

Je comprends les conditions de ma participation, en particulier que j'ai la possibilité de ne pas participer à ce programme et que malgré mon accord à participer, j'ai le droit de refuser de répondre à certaines des questions qui me seront posées lors des entretiens sans avoir à fournir de justification. Je connais la possibilité qui m'est réservée d'interrompre à tout moment ma participation à ce programme sans avoir à justifier ma décision, ni à en subir un quelconque préjudice.

J'atteste avoir été informé des faits suivants :

- ✓ Que les personnes qui réalisent cette recherche sont tenues au respect du secret professionnel et que mon identité fera l'objet d'une codification avant enregistrement et traitement informatique et ne sera jamais mentionnée dans les publications qui en découleront,
- ✓ Que l'étude ne comprend aucun essai clinique, aucun don ni aucune rémunération
- ✓ Qu'environ 1mL de sang seront prélevés en intra veineuse
- ✓ Que mon sang sera conservé pour des analyses biologiques et l'identification des souches de parasites résistant aux antipaludiques utilisés actuellement au Cameroun et que des études complémentaires sur des nouveaux marqueurs de résistance ou sur l'immunologie peuvent avoir lieu.
- ✓ Que certaines analyses pourront être réalisées en dehors du Cameroun et dans d'autres laboratoires dans le cas où l'équipe serait impliquée dans l'identification de nouveaux marqueurs de résistance.
- ✓ Que les membres de l'équipe de recherche seront néanmoins en mesure de m'informer sur les lieux de prises en charge disponibles les plus adaptés à ma situation, notamment en cas de maladie.
- ✓ Que je pourrai avoir accès à mes données à tout moment, en m'adressant aux investigateurs coordonnateurs et exercer mon droit de rectification et d'opposition auprès de ces derniers.

J'accepte:

- ✓ Que les données anonymes enregistrées à l'occasion de cette étude, puissent faire l'objet d'un traitement informatisé.
- ✓ Que tous médecins et/ou scientifiques ainsi que les autorités de santé impliquée dans le déroulement de cette recherche, aient accès à l'information dans le respect le plus strict de la confidentialité.
- ✓ Librement de participer à cette étude dans les conditions précisées dans la notice d'information et dans le présent document

**Nom du Patient :** .....

**Nom du parent/tuteur si le patient est mineur** .....

**Date of signature:** /\_\_\_/\_\_\_/\_\_\_/ **Signature:** /\_\_\_\_\_/

**Principal Investigator's Name:** .....

**Date of signature:** /\_\_\_/\_\_\_/\_\_\_/ **Signature:** /\_\_\_\_\_/

**Annexe 6 : Fiche d'inclusion et de suivi des patients**  
**FICHE DE CONSULTATION (A utiliser pour tous les patients en consultations)**

NOM DU SITE: \_\_\_\_\_ NUMERO D'ETUDE: \_\_\_\_\_  
 Investigateur : \_\_\_\_\_

Contact Tél/ Adresse : \_\_\_\_\_

<b>1. Noms:</b>	<b>2. Date: (dd/mm/yy)</b>	<b>3. Numéro d'ordre:</b>
<b>4. Age: _____ Mois _____ An</b>	<b>5. Sexe: M _____ F _____</b>	
<b>6. Poids:       .       (kg)</b>	<b>7. Température axillaire: :       .     (°C)</b>	

**Motif (s) de consultation**  
 Fièvre (ou allégation de fièvre)  Début de la fièvre : ce jour  Hier  ≥ 2 jours   
 IRA   
 Diarrhée   
 Autres : \_\_\_\_\_  
 Date du début de la maladie (JJ/MM/AAAA) : | | | | | | | |

**Antécédents médicaux**  
 Antécédents de syndrome palustre : Oui  Non   
 Paludisme confirmé : Oui  Non   
 Si oui, par quel méthode : TDR  Microscopie   
 Quelle date? (dernière épisode, JJ/MM/AAAA) : | | | | | | | |  
 Quels médicaments avez-vous pris : \_\_\_\_\_  
 Qui est le prescripteur  
 Automédication   
 Personnel de santé   
 Pharmacien   
 Entourage   
 Antécédents d'Ictère : Oui  Non  Ne sait pas   
 Etiez-vous ou êtes-vous asthmatique : Oui  Non  Ne sait pas   
 Avez-vous déjà fait une crise d'allergie : Oui  Non  Ne sait pas   
 Si oui, à quoi : Crustacés  Médicaments  Autres  \_\_\_\_\_

**Résultats des TDR**  
 CareStart™ lot : \_\_\_\_\_  
 Négatif   
 Positif  Bande C  Bande 2  Bande 1   
 Données complémentaires :  
 Hémoglobininémie : .....g/dl  
 Si sexe Féminin (≥15 ans), test de grossesse Positif  Négatif  Pas réalisé

**FICHE DE SCREENING** (pour les patients à RDT positif)

*Si l'une quelconque des réponses se retrouve dans la partie grisée, Ne pas inclure le patient dans l'étude*

CRITERES DE SELECTION DES PATIENTS		
CRITERES D'INCLUSION	OUI	NON
8. Fièvre (≥ 37.5°C)	☺	☹
9. Possibilité de participer au suivi de 28 jours.	☺	☹
10. Consentement éclairé obtenu		
11. Mono infestation a <i>P. Falciparum</i>		
12. Résultat GE/FS = _____ / μl (DP Comprise entre 1000 et 100 000 : zone de faible transmission ou 2000 et 200 000 : zone de forte transmission)		
13. Hémoglobine _____ ou hématocrite _____		

*Evaluation in vivo de l'efficacité de la combinaison artésunate/amodiaquine dans le traitement du paludisme non compliqué à Plasmodium falciparum dans la région du Centre au Cameroun*

Hémoglobine > 5 g/dl ou Hématocrite > 15 %		
Consentement du sujet pour la participation à l'étude		
<b>CRITERES D'EXCLUSION</b>	<b>OUI</b>	<b>NON</b>
14. Pathologies fébriles évidentes <i>Si OUI, indiquer laquelle. Si NON, Ne pas remplir.</i> ☐ Pneumonie/IRA      ☐ Rougeole ☐ Otites Moyenne      ☐ Infections urinaires ☐ Gastroenterites      ☐ Autre: _____		
15. Malnutrition severe		
16. Allergie ou histoire d'allergie à l'un des médicaments testés. Si oui, indiqué le médicament / <i>effet secondaire</i> : ☐ _____ ☐ _____ ☐ _____		
17. Incapacité de boire ou téter		
18. Vomissement persistant		
19. Histoire de convulsions		
20. Léthargie ou inconscience		
21. Incapacité de s'asseoir		
22. Signe de Paludisme sévère / Signes de danger <i>Si " OUI" indiquer le signe. Si "NON", Ne pas remplir.</i> • Conscience altérée (changement de comportement, confusion mentale, délire, coma) ; • Convulsions répétées ; • Incapacité de s'alimenter oralement ; • Anémie Sévère (Hb <5gm/dl ou Ht < 15%) ; • Difficultés respiratoires (œdème pulmonaire, Syndrome de Détresse Respiratoire); • Etat de choc (pouls faible et filant, froideur des extrémités) • Hypoglycémie (<40 mg%); • Hémoglobinurie (Urines Coca-Cola) ; • Insuffisance rénale (peu ou absence d'urines chez un patient bien hydraté) ; • Ictère (coloration jaune des yeux). • Hyperparasitémie (plus de 4% des GR parasités ou plus de 200 000 parasites/ $\mu$ l) ; • Hémorragies spontanées (Coagulation Intra Vasculaire Disséminée).		
23. Test urinaire de grossesse positif		
Consentement recueilli par : _____	Date et heure : _____	
Signature du patient ou du tuteur :		