

UNIVERSITE DE LIMOGES

FACULTE DE PHARMACIE



Année 2003

Thèse n° 308/1

MALARONE®
ET PERSPECTIVES D'AVENIR
DANS LA PRISE EN CHARGE DU PALUDISME

SCD UNIV.LIMOGES



D 035 111931 2

THESE

POUR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement
le 14 mars 2003

PAR

Laetitia DAVID TARDIVEL

Née le 5 décembre 1976 à Saint Léonard de Noblat (Haute-Vienne)

EXAMINATEURS DE LA THESE

Monsieur DREYFUSS, Professeur Président
Monsieur BUXERAUD, Professeur Juge
Madame LARTIGUE, Maître de Conférences Juge
Madame VALLERON, Pharmacien d'officine Juge

MAITRES DE CONFERENCES

| | |
|---------------------------------|------------------------------------|
| ALLAIS Daovy | PHARMACOGNOSIE |
| BASLY Jean-Philippe | CHIMIE ANALYTIQUE |
| BATTU Serge | CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE |
| CALLISTE Claude | BIOPHYSIQUE |
| CARDI Patrice | PHYSIOLOGIE |
| CLEDAT Dominique | CHIMIE ANALYTIQUE |
| COMBY Francis | CHIMIE THERAPEUTIQUE |
| DELEBASSEE Sylvie | BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE |
| DREYFUSS Marie-Françoise | CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE |
| EA KIM Leng | PHARMACODYNAMIE |
| FAGNERE Catherine | CHIMIE ORGANIQUE |
| FROISSARD Didier | BOTANIQUE ET CRYPTOGRAMIE |
| FOURNIER Françoise | BIOCHIMIE |
| JAMBUT Anne Catherine | CHIMIE THERAPEUTIQUE |
| LAGORCE Jean-François | CHIMIE ORGANIQUE |
| LARTIGUE Martine | PHARMACODYNAMIE |
| LIAGRE Bertrand | SCIENCES BIOLOGIQUES |
| LOTFI Hayat | TOXICOLOGIE |
| MOREAU Jeanne | IMMUNOLOGIE |
| PARTOUCHE Christian | PHYSIOLOGIE |
| ROUSSEAU Annick | BIOMATHEMATIQUE |
| SIMON Alain | CHIMIE PHYSIQUE ET CHIMIE MINERALE |
| TROUILLAS Patrick | BIOMATHEMATIQUES ET INFORMATIQUE |
| VIANA Marylène | PHARMACIE GALENIQUE |
| VIGNOLES Philippe | INFORMATIQUE |

ASSISTANT

| | |
|----------------------|---------------------|
| FAURE Monique | PHARMACIE GALENIQUE |
|----------------------|---------------------|

PROFESSEUR CERTIFIE

| | |
|-----------------------------|---------|
| MARBOUYT Jean-Michel | ANGLAIS |
|-----------------------------|---------|

ATER

| | |
|--------------------------------|---------------------------|
| POUGET Christelle | CHIMIE THERAPEUTIQUE |
| RIAHY DEHKORDI Homayoun | PHYSIOLOGIE-PARASITOLOGIE |
| TALLET Dominique | PHARMACOLOGIE |

Tout d'abord, je tiens à remercier Monsieur Dreyfuss pour son aide précieuse et efficace dans la finalisation de ce travail.

Je remercie également Monsieur Buxeraud, Madame Lartigue et Madame Valleron, membres du jury, qui ont, chacun à leur manière, participé à ma formation et à mon épanouissement dans ma profession.

Je n'oublierai pas non plus mon mari Alexandre qui m'a toujours soutenue et mes parents pour leurs encouragements constants.

Enfin, je remercie Isabelle Tété , Henriette Monbertrand, Christophe Koechlin et toute l'équipe de la documentation de GlaxoSmithKline qui m'ont aidée à la réalisation de ce travail. Je n'oublierai jamais les bons moments que nous avons partagés dans le service d'information médicale et documentation ICD.

SOMMAIRE

| | |
|---|-----|
| INTRODUCTION | 2 |
| 1 ^{ère} PARTIE : | |
| Malarone [®] : un nouveau traitement commercialisé en France dans la prévention du paludisme | 5 |
| 2 ^{ème} PARTIE : | |
| Intérêt d'un nouveau traitement préventif et perspectives d'avenir pour la prise en charge du paludisme | 59 |
| CONCLUSION | 108 |
| BIBLIOGRAPHIE | 110 |
| TABLE DES MATIERES | 120 |

INTRODUCTION

Le paludisme, également appelé malaria, est une maladie parasitaire humaine due à un protozoaire du genre *Plasmodium*. Quatre espèces de *Plasmodium* sont spécifiques de l'homme : *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae*. Le *P. falciparum* est le plus répandu ; il est responsable des manifestations les plus sévères et d'un fort taux de mortalité si un traitement efficace n'est pas instauré rapidement.

Le paludisme est transmis à l'homme par la piqûre d'un anophèle femelle. Ce moustique introduit des sporozoïtes dans les vaisseaux capillaires sous-cutanés de l'homme. Ces derniers migrent ensuite jusqu'au foie où ils se multiplient de façon asexuée, par schizogonie, dans les cellules du parenchyme hépatique de l'homme ; c'est la phase pré-érythrocytaire. Environ une semaine plus tard, les cellules hépatiques éclatent, entraînant la dissémination des mérozoïtes, formes capables d'infester les globules rouges, dans la circulation sanguine ; commence alors la phase érythrocytaire. Les mérozoïtes se transforment en trophozoïtes, pénètrent dans les hématies et s'y multiplient par schizogonie. Le schizonte ainsi formé éclate et libère d'autres mérozoïtes qui vont parasiter d'autres hématies. La lyse des hématies survient toutes les 48 à 72 heures selon l'espèce plasmodiale. Ces formes érythrocytaires représentent les formes pathogènes, responsables des accès palustres qui se manifestent par une hémolyse avec fièvre, anémie et ictère. Après plusieurs cycles, certains mérozoïtes sont susceptibles de se différencier en gamétocytes mâles et femelles dont le développement sexué est bloqué jusqu'à l'absorption par le moustique.

Un traitement contre le paludisme doit être capable de détruire les parasites contenus dans les globules rouges. L'élimination complète des parasites contenus dans les érythrocytes se traduit par une guérison pour *P. falciparum* mais pas pour *P. vivax* et *P. ovale*. En effet, ces deux espèces sont responsables de rechutes dues à des formes hépatiques quiescentes : les hypnozoïtes.

D'après les données recueillies en 1996 par le CNRMI (Centre National de Référence des Maladies d'Importations), la répartition des médicaments utilisés en France dans le traitement de l'accès palustre à *P. falciparum* de l'adulte est la suivante (1206 cas) : halofantrine, 48,6% ; quinine, 32,3% ; méfloquine, 11,8% ; quinine-doxycycline, 2,7% ; autres, 4,6% (chloroquine, amodiaquine, sulfadoxine-pyriméthamine). La répartition des médicaments utilisés en prophylaxie est : chloroquine-proguanil, 43% ; méfloquine, 39,7% ; chloroquine, 27,3%. (1) Depuis la publication de ces données, Malarone® (atovaquone-proguanil) a été commercialisé en juillet 1999 dans le traitement de l'accès palustre simple à *P. falciparum*.

Responsable chaque année d'un à trois millions de morts, le paludisme sévit à l'état endémique dans plus d'une centaine de pays tropicaux dans le monde. Les personnes vivant en zone d'endémie sont capables de développer une semi-immunité face à ce parasite ; il est donc plus particulièrement pathogène pour les enfants et les femmes enceintes qui ont un risque accru d'accès grave. La prophylaxie est alors un enjeu important pour les voyageurs non-immuns allant dans ces zones. Les mesures de prévention contre les piqûres de moustiques ne sont jamais complètement fiables ; il est donc toujours recommandé d'y associer une chimioprophylaxie. D'après les recommandations françaises mises à jour chaque année par le CSHP de France (Conseil Supérieur d'Hygiène Publique) (2), le choix de la prophylaxie est dicté en particulier par le classement de la zone visitée dans les groupes de résistance : groupes 1, 2 et 3 en fonction de la fréquence de la résistance à la chloroquine et au proguanil ; le groupe 0 correspondant à un risque nul de paludisme. Parmi les composés recommandés, on trouve : la chloroquine pour le groupe 1 ; la chloroquine associée au proguanil pour le groupe 2 (et le groupe 3 s'il existe une contre-indication ou un effet indésirable à la méfloquine) ; et la méfloquine pour le groupe 3. Malarone[®] est commercialisée depuis octobre 2001 dans la prophylaxie du paludisme à *P. falciparum* ; cette association est conseillée en alternative à l'association chloroquine-proguanil pour les séjours dans les pays de groupe 2, et en alternative à la méfloquine ou à la doxycycline pour les séjours dans les pays du groupe 3.

La première partie de ce travail portera sur l'étude de cette association à dose fixe d'atovaquone et de chlorhydrate de proguanil : Malarone[®]. Dans un deuxième temps, nous présenterons le contexte épidémiologique actuel et nous montrerons ce qu'apporte cette association face à un parasite capable de développer des mécanismes de résistance à la plupart des traitements disponibles ; enfin, cette deuxième partie se terminera par un inventaire des perspectives d'avenir pour la prise en charge du paludisme.

1^{ère} PARTIE :

Malarone[®] : un nouveau traitement commercialisé en France dans la prévention du paludisme

Malarone[®] est indiqué dans :

- le traitement de l'accès palustre simple (non compliqué) à *P. falciparum*
- la prophylaxie du paludisme à *P. falciparum* en particulier chez les voyageurs se rendant dans les zones d'endémie où sévissent des souches résistantes aux amino-4-quinoléines (chloroquine, amodiaquine...).

1- Composition et mode d'action

1-1- Une association de deux molécules

Malarone[®] est une association à dose fixe de deux molécules : l'atovaquone (250 mg par comprimé) et le chlorhydrate de proguanil (100 mg par comprimé).

L'atovaquone est la première hydroxynaphtoquinone à être commercialisée dans le traitement curatif et prophylactique du paludisme ; cependant, les activités antimalariques de cette classe d'agents anti-infectieux sont connues depuis les années 40. Contrairement aux premières hydroxynaphtoquinones qui présentaient une faible biodisponibilité et des problèmes de stabilité chimique (3), l'atovaquone est une molécule stable avec un fort potentiel antimalarique ainsi qu'une efficacité sur d'autres agents pathogènes (4). Il est en effet utilisé dans la prise en charge des pneumonies à *Pneumocystis carinii* et de la toxoplasmose chez les patients infectés par le VIH.

Le proguanil est un arylbiguanide utilisé comme antipaludique depuis longtemps. Il est réservé à la prévention du paludisme en association à la chloroquine. Il est commercialisé seul sous le nom de Paludrine[®] ou en association à dose fixe à la chloroquine sous le nom de Savarine[®].

1-2- Mécanisme d'action

- l'atovaquone seul

L'atovaquone bloque sélectivement le transport des électrons dans les mitochondries du parasite sans affecter les fonctions mitochondriales de l'hôte aux doses efficaces (5). Son site de fixation se situe au niveau du complexe bc1 du cytochrome de la chaîne respiratoire des mitochondries du *Plasmodium*.

De plus, l'atovaquone diminue la biosynthèse des pyrimidines car celle-ci dépend du transport d'électrons via l'ubiquinone/ubiquinol (6)

Enfin, l'atovaquone altère le potentiel de membrane au niveau des mitochondries (7).

L'atovaquone est schizonticide sur les stades érythrocytaires mais également sur les stades pré-érythrocytaires (hépatiques) du parasite, laissant entrevoir la possibilité d'une utilisation de ce produit pour une prophylaxie ciblant la première phase de développement du parasite

chez l'homme (prophylaxie "causale"). Elle joue également un rôle sur les gamétocytes en empêchant leur individualisation à partir des schizontes.

- le chlorhydrate de proguanil seul

L'activité du chlorhydrate de proguanil repose principalement sur sa transformation en son métabolite hépatique, le cycloguanil, inhibiteur sélectif de la dihydrofolate réductase (DHFR) du parasite. Le *Plasmodium* synthétise les folates *de novo* et ne peut utiliser les folates exogènes. L'inhibition de la DHFR parasitaire entraîne un déficit en tétrahydrofolates nécessaires au métabolisme cellulaire et empêche donc la croissance du parasite (8).

De plus, Watkins *et al.* (9) ont montré dans une étude *in vitro* que le proguanil et son autre métabolite, le 4-chlorophénylbiguanide ont une activité antipaludique faible mais mesurable contre les stades asexués érythrocytaires de *P. falciparum*. Cependant, les concentrations plasmatiques de ces composés obtenues en clinique n'ont pas d'activité inhibitrice.

Le proguanil est efficace à la fois sur les stades érythrocytaires et pré-érythrocytaires du parasite ; il diminue le caractère infectieux des gamétocytes de *P. falciparum* et inhibe le développement des oocystes de *P. falciparum* et *P. vivax* chez le moustique (10).

- l'association des deux composés : une synergie d'action

L'atovaquone et le proguanil ont montré une activité synergique antipaludique *in vitro* (11-12). De plus, les premières études cliniques effectuées en Thaïlande ont montré l'intérêt d'associer le proguanil à l'atovaquone dans le traitement des accès palustres non compliqués à *P. falciparum*, suggérant une potentialisation des deux composés *in vivo* (13). Bien que le proguanil lui-même n'ait pas d'effet sur le transport des électrons ou sur la dépolarisation membranaire des mitochondries du parasite, il accroît significativement le potentiel de l'atovaquone à dépolariser la membrane mitochondriale.

L'activité synergique du proguanil provient des propriétés internes aux biguanides. Son métabolite, le cycloguanil, ne potentialise pas l'effet de l'atovaquone. Srivastava *et al.* (14) ont étudié une association avec un autre inhibiteur de la DHFR, la pyriméthamine, qui n'a pas non plus présenté d'effet synergique avec l'atovaquone.

2- Toxicologie

Des études pré-cliniques de toxicité concernant l'atovaquone, le chlorhydrate de proguanil et l'association des deux produits ont été réalisées.

Aucun effet toxicologique additionnel n'a été mis en évidence chez les animaux traités par l'association en comparaison aux animaux traités par les molécules seules lors des études de toxicité avec administrations répétées (12).

Ni l'atovaquone, ni le proguanil n'ont montré d'activité mutagène (12). Aucune étude spécifique n'a été réalisée avec l'association atovaquone / chlorhydrate de proguanil (15).

Les études de carcinogénèse de l'atovaquone administrée seule chez la souris ont montré une augmentation de l'incidence d'adénomes et de carcinomes hépato-cellulaires. Ceci n'a pas été observé chez le rat, les tests de mutagénicité étant négatifs. Ces observations semblent être dues à une susceptibilité particulière de la souche de souris utilisée à l'atovaquone (12). Aucune étude particulière du potentiel carcinogène du proguanil, administré seul ou en association avec l'atovaquone, n'a été réalisée.

3- Pharmacocinétique et métabolisme

Les principaux paramètres pharmacocinétiques de l'atovaquone et du chlorhydrate de proguanil sont présentés dans le tableau 1.

3-1- Pharmacocinétique de l'atovaquone

• Absorption

L'atovaquone est un produit très lipophile et peu soluble dans l'eau. La biodisponibilité orale est faible ; elle fait l'objet d'une grande variabilité inter-individuelle et varie avec le régime alimentaire (16).

Ainsi, les graisses alimentaires ingérées de manière concomitante à l'atovaquone augmentent le taux d'absorption de l'atovaquone d'un facteur 2 à 3 pour l'aire sous la courbe et d'un facteur 5 pour la C_{max} comparée à l'absorption mesurée chez un sujet à jeun (16). Il est donc recommandé de prendre Malarone® au cours d'un repas ou avec une boisson lactée.

• Distribution

L'atovaquone est fortement liée aux protéines plasmatiques (> 99%) mais n'entraîne pas *in vitro* de déplacement des autres médicaments eux-mêmes fortement liés aux protéines (quinine, phénoïne), suggérant que les interactions médicamenteuses *in vivo* par déplacement soient peu probables (15).

Le volume apparent de distribution (Vd/F) estimé de l'atovaquone est de $1,62 \pm 0,19$ L/kg.

Le rapport des concentrations plasma/sang total est de 1,9 L chez l'homme, indiquant qu'une faible quantité d'atovaquone pénètre dans les érythrocytes non infectés. Les données d'efficacité clinique supportent l'idée selon laquelle l'atovaquone se distribue essentiellement dans les érythrocytes infectés par les parasites (dossier AMM, Malarone® 1997).

• Métabolisme

La métabolisation de l'atovaquone est négligeable chez l'homme, d'après les résultats d'études *in vitro* obtenues après administration de ¹⁴C-atovaquone (dossier AMM, Malarone® 1997) et sur des cellules humaines hépatiques (dossier AMM, Malarone® 1997).

• Elimination

Les voies d'élimination de l'atovaquone chez l'homme sont principalement hépatique et biliaire. Seul le produit non métabolisé est retrouvé dans les selles ; une quantité négligeable (<1%) est éliminée dans les urines (dossier AMM, Malarone® 1997).

La demi-vie d'élimination de l'atovaquone est indépendante de la posologie, de la fréquence d'administration, de l'état nutritionnel et de la co-administration de chlorhydrate de proguanil (dossier AMM, Malarone® 1997). La demi-vie est d'environ 2 à 3 jours chez l'adulte (15).

3-2- Pharmacocinétique du proguanil et du cycloguanil (métabolite actif du proguanil)

Les données présentées dans ce paragraphe sont tirées des travaux de Lebrun-Vignes B. (1), du résumé des caractéristiques produit de Malarone® 2001 (15).

• Absorption

Le proguanil est rapidement absorbé, avec un pic de concentration plasmatique survenant entre 3 et 4 heures. La biodisponibilité réelle n'est pas connue ; elle est approximativement estimée à 60% (dossier d'AMM, Malarone® 1997). L'absorption n'est pas influencée par la prise d'aliments (15). Les études sur des populations de patients au cours d'accès palustre ne révèlent aucune variation de la biodisponibilité du proguanil, dans l'intervalle des doses compris entre 100 et 400 mg (dossier d'AMM, Malarone® 1997).

• Distribution

Le proguanil s'accumule dans les érythrocytes, avec des concentrations intra-érythrocytaires environ 5 fois supérieures aux concentrations plasmatiques. A l'inverse, les concentrations du cycloguanil dans le sang total et dans le plasma sont équivalentes. Le volume apparent de distribution (Vd/F) est de l'ordre de 25 L/kg.

Le proguanil se lie à 75% aux protéines ; *in vitro*, la liaison n'est pas affectée par des concentrations thérapeutiques d'atovaquone (dossier d'AMM Malarone® 1997). Aucune donnée concernant la liaison du cycloguanil aux protéines n'est disponible. Le proguanil n'est pas déplacé par l'atovaquone, d'après les données pharmacocinétiques du proguanil et du cycloguanil chez l'homme, en présence et en absence d'atovaquone (dossier d'AMM Malarone® 1997).

• Métabolisme

Le proguanil inactif est métabolisé en cycloguanil actif et en 4-chlorophénylbiguanide. La transformation en cycloguanil intervient dans le foie, sous l'action des cytochromes P450A et 2C19, enzyme soumise à un polymorphisme génétique responsable de l'aspect bimodal de la distribution des concentrations de proguanil et de cycloguanil. Il existe une variabilité interindividuelle du métabolisme du proguanil lié au phénotype du cytochrome CYP2C19 : on distingue des "métaboliseurs lents" chez lesquels la biotransformation du proguanil en cycloguanil est réduite par rapport aux "métaboliseurs rapides" (dossier d'AMM Malarone® 1997). Ils obtiennent donc des concentrations plasmatiques plus basses de cycloguanil et plus haute de proguanil. Ils sont plus fréquents dans les populations orientales et dans les populations asiatiques et africaines (20-25%) que dans les populations caucasiennes (3%).

L'échec de la chimioprophylaxie est possible chez les sujets métaboliseurs lents, bien que cela n'ait jamais été mis en évidence cliniquement. Néanmoins une étude *in vitro* a montré que le polymorphisme de la métabolisation du proguanil n'affectait pas l'activité antipaludique du proguanil combiné à l'atovaquone (17).

• Elimination

Moins de 40% de proguanil sont éliminés sous forme inchangée dans les urines. Le reste est éliminé par voie hépatique, puis par élimination de près de 20% des métabolites dans les urines (dossier d'AMM Malarone® 1997).

Les demi-vies d'élimination du proguanil et de cycloguanil chez l'adulte sont d'environ 12 à 15 heures. La clairance apparente totale d'élimination (Cl/F) du proguanil est d'environ 1000 mL/h/kg.

Tableau 1
Tableau récapitulatif des caractéristiques pharmacocinétiques
de l'atovaquone et du proguanil

| | ATOVAQUONE | PROGUANIL |
|-----------------------------------|---|---|
| Absorption | <ul style="list-style-type: none"> • très lipophile, peu soluble dans l'eau • les graisses alimentaires augmentent en vitesse et en quantité l'absorption (AUC × 2-3 ; Cmax × 5 par rapport à une prise à jeun) | <ul style="list-style-type: none"> • biodisponibilité non changée entre 100 et 400 mg • pic de concentration plasmatique entre 3 et 4 heures • indépendante de l'ingestion ou non d'aliments • biodisponibilité absolue ≈ 60% |
| Distribution | <ul style="list-style-type: none"> • liaison aux protéines plasmatiques >99%, sans interaction avec d'autres produits à forte liaison protéique observée in vitro • Vd/F = 0,62 ± 0,19 L/kg | <ul style="list-style-type: none"> • concentré dans les érythrocytes • liaison aux protéines plasmatiques = 75% ; non modifiée par la prise concomitante d'atovaquone • Vd/F = 25 L/kg |
| Métabolisme et élimination | <ul style="list-style-type: none"> • non métabolisé • élimination urinaire négligeable (<1%) • élimination sous forme inchangée dans les fèces • demi-vie d'élimination ≈ 2-3 jours chez l'adulte • Cl/F = 28,9 mL/h/kg | <ul style="list-style-type: none"> • métabolisé en 4-chlorophénylbiguanide et cycloguanil (cytochromes P453A et 2C19) • < 40% éliminés sous forme inchangée dans les urines • métabolites éliminés dans les urines • demi-vie d'élimination du proguanil et du cycloguanil = 12 à 15 heures • Cl/F = 1000 mL/h/kg |

3-3- Pharmacocinétique de l'association

• Interactions entre l'atovaquone et le proguanil

Dans une étude randomisée couvrant trois périodes, chez 18 caucasiens (9 femmes et 9 hommes) recevant 1000 mg d'atovaquone et 400 mg de chlorhydrate de proguanil seuls ou en association, aucun effet de l'atovaquone sur les paramètres pharmacocinétiques du proguanil et du cycloguanil n'a été observé et inversement (dossier d'AMM Malarone® 1997).

• Autres interactions

D'importantes interactions potentielles décrites pour l'atovaquone suggèrent que le métoprolol, la rifabutine, et la rifampicine réduisent les concentrations d'atovaquone (dossier d'AMM Malarone® 1997).

Une étude de population sur les paramètres pharmacocinétiques indique que la clairance orale de l'atovaquone est augmentée en cas de co-administration de tétracyclines, aboutissant à une diminution de 40% des concentrations plasmatiques d'atovaquone (dossier d'AMM Malarone® 1997).

• Influence de l'origine ethnique sur les paramètres pharmacocinétiques

Les résultats concernant l'influence de l'origine ethnique doivent être considérés avec précautions car ces effets ont pu être regroupés par site ou par région. L'étude de Hussein *et al.* (18) a comparé des populations de patients malais, orientaux et noirs et a révélé des différences pour certains des paramètres pharmacocinétiques.

Néanmoins les résultats des études cliniques concernant le traitement du paludisme ont montré que les effets de l'origine ethnique n'impliquaient pas de prendre de précaution particulière ni de prévoir un ajustement posologique (dossier d'AMM Malarone® 1997).

• Pharmacocinétique de la combinaison atovaquone / proguanil dans certains groupes de patients

- chez les personnes âgées

Il n'y a pas de différence cliniquement significative du taux moyen d'absorption de l'atovaquone ou du proguanil entre les sujets jeunes et les sujets âgés. Aucune adaptation posologique n'est à prévoir pour le sujet âgé (15).

- en cas d'insuffisance rénale

Les études pharmacocinétiques montrent qu'aucun ajustement thérapeutique n'est à prévoir chez les patients atteints d'insuffisance rénale légère à modérée. Chez les patients ayant une insuffisance rénale sévère (clairance de la créatinine < 30 mL/min), les C_{max} et l'aire sous la courbe de l'atovaquone sont diminuées et les demi-vies d'élimination du proguanil et du cycloguanil sont augmentées, pouvant entraîner une accumulation de ces substances lors d'administrations répétées. En conséquence, en cas d'insuffisance rénale sévère, des traitements autres que Malarone® devront si possible être recommandés pour le traitement de l'accès palustre à *P. falciparum* et Malarone® est contre-indiqué en traitement prophylactique (15).

- en cas d'insuffisance hépatique

Aucun ajustement posologique n'est à prévoir chez les patients présentant une insuffisance hépatique légère à modérée. Aucune étude spécifique n'a été menée chez des patients atteints d'insuffisance hépatique sévère (15). La métabolisation du proguanil est importante et l'élimination de l'atovaquone est également dépendante du foie.

3-4- Relation entre la concentration plasmatique et l'efficacité thérapeutique

Dans les études cliniques, une grande variabilité interindividuelle des valeurs de concentrations plasmatiques de l'atovaquone, du proguanil et du cycloguanil a été observée. Le faible nombre de patients présentant des rechutes à la dose préconisée et l'absence de mesure des concentrations plasmatiques pendant la durée du traitement ne permettent pas d'établir une courbe concentration / efficacité.

Des mesures plasmatiques d'atovaquone à 96 heures et de proguanil et de cycloguanil à 8 heures après le début du traitement ont été effectuées dans la plupart des études et sont utilisées pour illustrer les expositions relatives à l'atovaquone, au proguanil et au cycloguanil. De nombreux adultes pourtant traités avec succès présentaient après 8 heures des concentrations de cycloguanil en dessous du seuil de quantification de 5 ng/mL (dossier d'AMM Malarone® 1997).

4- Efficacité de Malarone® dans le traitement de l'accès palustre simple à *P. falciparum*

Malarone® est indiqué dans le traitement de l'accès palustre non compliqué à *P. falciparum* ; cette spécialité n'a pas été évaluée dans le traitement d'un accès grave ou dans le traitement des autres manifestations d'un accès palustre sévère telles qu'une hyperparasitémie, un œdème pulmonaire, une insuffisance rénale.

4-1- Caractéristiques des études cliniques

Les données présentées dans ce paragraphe sont tirées des travaux de Looareesuwan *et al.* (19).

Pour chaque étude, le critère principal d'efficacité en traitement curatif pour un produit antipaludique est le taux de guérison. Les critères secondaires sont le délai de clairance parasitaire (temps d'élimination du parasite dans le sang circulant) et le délai de disparition de la fièvre.

• Critère principal d'efficacité : taux de guérison

Pour *P. falciparum*, la démonstration de la guérison repose sur l'élimination du parasite du sang circulant dans un délai de 7 jours à partir du début du traitement, en l'absence de rechute dans un délai de 28 jours.

L'OMS a établi des critères permettant de classer les réponses au traitement : résistance et sensibilité au traitement (OMS, 1973) ; ces critères ont été à la base de la définition des critères d'efficacité du traitement (tableau 2).

Toutes les études citées ci-après suivent cette classification. Les taux de guérison sont calculés en divisant le nombre de patients présentant une réponse de type sensible par le nombre total de patients ayant été suivis jusqu'à la fin de la période de surveillance. Dans tous les cas, les périodes d'observation des études correspondent aux 28 jours recommandés. Dans la majorité des études menées en zone d'endémie, les patients sont suivis dans un centre médicalisé où la probabilité de réinfection est faible.

L'analyse des résultats des études évaluant l'efficacité des antipaludiques est généralement faite sur la population « per-protocole ».

Tableau 2**Classification des réponses au traitement d'après l'OMS (OMS 1973 ; 19)**

| Réponse | Symbole recommandé | Signes |
|-------------|--------------------|---|
| SENSIBILITE | S | Disparition du parasite de la circulation sanguine dans les 7 jours suivant le début du traitement, sans rechute pendant la durée d'observation de 28 jours |
| RESISTANCE | RI | Disparition du parasite de la circulation sanguine dans les 7 jours suivant le début du traitement, avec rechute dans les 28 jours de suivi |
| | RII | Diminution marquée du nombre de parasites dans la circulation sanguine mais sans disparition sur une période de 7 jours |
| | RIII | Pas de diminution significative du nombre de parasites dans la circulation sanguine durant les 48 premières heures |

Le critère principal d'efficacité, correspondant à la guérison sans rechute dans un délai de 28 jours, ne peut être évalué que chez les patients dont le suivi sur 28 jours est connu. Les patients cliniquement guéris dont la parasitémie est nulle lors du dernier contrôle mais qui n'ont pas été suivis jusqu'à la fin de la période des 28 jours sont classés comme non évaluables et ne sont pas comptabilisés dans le calcul du taux de guérison à 28 jours. Le taux de guérison à 28 jours est calculé à partir du rapport des réponses de type sensible sur le nombre total de réponses (S + RI + RII + RIII).

• Critères de guérison secondaires

Les critères de guérison secondaires sont le délai de clairance parasitaire et le délai de disparition de la fièvre. Ils reflètent en général le délai d'efficacité du médicament.

Le délai de clairance parasitaire est l'intervalle entre le début du traitement et le jour de la première analyse montrant l'absence de formes parasitaires asexuées dans le sang périphérique, après examen sur lame.

Le délai de disparition de la fièvre est l'intervalle entre le début du traitement et le jour où la fièvre se stabilise à 37,2°C pendant au moins 24 heures.

Ces deux paramètres sont cependant très dépendants de facteurs liés au patient lui-même : en particulier le taux d'immunisation et le degré d'infection dont témoigne le comptage parasitaire initial. Les patients ayant déjà été infectés de nombreuses fois et présentant une parasitémie initiale faible répondent vite au traitement, alors que les patients ayant déjà été infectés au préalable avec une parasitémie initiale élevée répondent lentement au traitement. Malgré cette variabilité, ces critères sont recommandés et sont évalués dans toutes les études pour chaque groupe de patients.

• Méthodes statistiques

Les taux de guérison sont comparés par la méthode d'analyse de Yates, du CHI 2 corrigé. La différence entre les taux de guérison, avec un intervalle de confiance de 95% est calculée. De plus, les intervalles de confiance à 95% pour les différences entre les médianes sont calculés pour le délai de disparition de la fièvre et celui de la clairance parasitaire à l'aide du test U de Mann et Whitney.

• Surveillance clinique des patients

Les patients sont étroitement surveillés pendant la phase aiguë de l'infection ; le pouls et la température sont mesurés toutes les 4 heures pendant 2 jours. L'examen clinique des patients est fait au moins une fois par jour les 7 premiers jours suivant le début du traitement, puis aux 14^{ème}, 21^{ème} et 28^{ème} jours.

• Surveillance biologique des patients

Une goutte épaisse et un frottis mince sont effectués une fois toutes les 6 à 12 heures jusqu'à l'obtention de trois examens négatifs consécutifs. Les examens sont ensuite effectués une fois par jour jusqu'au 7^{ème} jour puis une fois par semaine jusqu'au 28^{ème} jour. Les lames sont colorées au Giemsa. Les résultats sont exprimés en nombre de parasites par microlitre. Une lame ne peut être considérée comme négative tant que l'examen avec un objectif 100 à immersion dans l'huile ne montre pas l'absence de parasite.

Si possible, un prélèvement de sang est effectué avant le début du traitement en vue d'une culture *in vitro* et d'une évaluation de la sensibilité au traitement.

Des paramètres biochimiques et hématologiques sont mesurés avant le début du traitement et aux 3^{ème}, 7^{ème}, 14^{ème} et 28^{ème} jours suivant le traitement.

• Critères d'inclusion

Dans les études cliniques contrôlées ou non, sont inclus des patients de chaque sexe présentant un accès palustre non compliqué à *P. falciparum*. Ils sont tous symptomatiques, la majorité des patients étant fébriles. Les comptages parasitaires initiaux varient en fonction des sites, mais la plupart ont au moins 1000 parasites/ μ L de sang. Les patients présentant des complications de paludisme, plusieurs infections, des vomissements persistants, une intolérance à un traitement par voie orale ou une infection fébrile concomitante sont exclus. En cas de vomissement dans l'heure suivant la prise du traitement, une nouvelle dose est administrée. Les femmes enceintes ou en période d'allaitement sont également exclues.

4-2- Résultats des études cliniques

L'efficacité de Malarone[®] dans le traitement d'un accès palustre non compliqué a été évaluée dans 10 études cliniques (tableau 3) ; 521 patients, enfants et adultes, ont été traités par 1000 mg d'atovaquone et 400 mg de chlorhydrate de proguanil en une prise par jour pendant 3 jours consécutifs. Chez l'enfant de moins de 12 ans, la posologie est ajustée en fonction du poids. Il est à noter que l'efficacité et la tolérance de Malarone[®] n'ont pas été établies chez l'enfant de moins de 11 kg.

Les études présentées ci-dessous montrent que Malarone[®] est efficace dans le traitement d'un accès palustre simple à *P. falciparum*. Elles concernent des régions appartenant à la fois aux zones de résistance et de sensibilité à la chloroquine. Elles ont été conduites dans plusieurs pays d'Afrique (Zambie, Gabon, Kenya), en Asie du Sud-Est (Thaïlande, Philippines), en Amérique du Sud (Brésil, Pérou), et en Europe (France), chez des patients immuns et non immuns. Des patients des deux sexes ont été évalués.

Les deux produits ont été administrés séparément dans toutes les études sauf une, menée au Pérou, dans laquelle l'association des deux produits est administrée sous la forme d'un seul comprimé de Malarone[®] et comparée à l'association pyriméthamine/sulfadoxine ou à la chloroquine (22).

Tableau 3

Résultat des études cliniques ayant évalué l'efficacité de l'association atovaquone/chlorhydrate de proguanil dans le traitement de l'accès palustre simple à *P. falciparum*

| Etude (référence) | Localisation géographique | Nombre de sujets inclus | Moyenne d'âge | Médicament comparateur | Taux de guérison | | |
|-------------------|---------------------------|-------------------------|---------------|--|----------------------|----------------------|-----------------|
| | | | | | ATQ/PGN | Comparateur | Significativité |
| 1 (13) | Thaïlande | 314 | 25 (15-60) | aucun | 100% (n=24) | | |
| 2 (20) | Thaïlande | 32 | 8.5 (5-12) | aucun | 100% (n=26) | | |
| 3 (19) | Thaïlande | 182 | 26 (15-63) | Méfloquine 1250 mg sur 6 heures | 100% (n=79) | 86.1% (n=79) | p<0.002 |
| 4 (21) | Philippines | 110 | 30 (12-64) | Chloroquine 1500 mg sur 48h | 100% (n=54) | 30.4% (n=23) | p<0.001 |
| | | | | Ou Chloroquine 1500 mg sur 48h plus pyriméthamine 75 mg et sulfadoxine 1500 mg | | 87.5% (n=32) | p<0.05 |
| 5 (22) | Pérou | 43 | 33 (15-65) | Chloroquine 1500 mg sur 48h | 100% (n=19) | 7.7% (n=13) | -- |
| | | | | Ou Pyriméthamine 75 mg et sulfadoxine 1500 mg | | 100% (n=7) | -- |
| 6 (23) | Zambie | 163 | 25 (14-54) | Pyriméthamine 75 mg et sulfadoxine 1500 mg | 100% (n=80) | 98.8% (n=80) | NS |
| 7 (24) | Gabon | 142 | 32 (15-49) | Amodiaquine 1500 mg sur 48h | 98.4% (n=63) | 81.0% (n=63) | P=0.022 |
| 8 (25) | Kenya | 168 | 6 (3-12) | Halofantrine 8 mg/kg en 3 prises toutes les 6h | 93.8% (n=81) | 90.4% (n=83) | NS |
| 9 (26) | France | 48 | 36 (15-62) | Halofantrine 3 prises de 500 mg espacées de 6 heures ; répéter le traitement 7 jours plus tard | 100% (n=21) | 100% (n=18) | NS |
| 10 (27) | Brésil | 175 | 28 (18-65) | Quinine 600 mg 3 fois par jour plus tétracycline 250 mg 4 fois par jour, pendant 7 jours | 98.6% (n=77) | 100% (n=77) | NS |
| TOTAL | | 1377 | | | 98.7% (n=521) | 86.4% (n=474) | |

ATQ = atovaquone ; PGN = chlorhydrate de proguanil ; NS = non significatif

n = nombre de patients traités

4-2-1- Essais chez l'adulte

- Essais non contrôlés

Etude 1 :

Une étude majeure, non contrôlée, menée par Looareesuwan et al. (13) en Thaïlande, a comparé l'efficacité de différentes posologies d'atovaquone seule ou en association avec un autre antipaludique chez 317 patients hospitalisés à l'hôpital de Bangkok pour un accès palustre non compliqué. Les souches de *P. falciparum* sont considérées comme des souches multirésistantes, en accord avec des études précédemment menées par le même hôpital. Cette étude a permis de déterminer le schéma posologique ayant donné des résultats satisfaisants, soit atovaquone, 1 000 mg par jour pendant 3 jours, associé au chlorhydrate de proguanil, 400 mg par jour pendant 3 jours. Le taux de guérison a été de 100% pour les 24 patients ayant suivi ce schéma posologique.

- Essais contrôlés

Huit études randomisées, avec comparateur, ont inclus 1031 patients souffrant d'accès palustre simple à *P. falciparum* ; 74% d'entre eux étaient des hommes et 26% des femmes. L'âge moyen était de 29 ans, cependant 16% des patients étaient des enfants de moins de 12 ans. Au final, 521 patients ayant reçu l'association atovaquone/chlorhydrate de proguanil et 474 patients ayant reçu un traitement comparateur ont pu être évalués. Le traitement comparateur sélectionné dans chaque étude correspond au traitement standard utilisé dans le pays.

Etude 3 : Atovaquone/chlorhydrate de proguanil versus méfloquine en Thaïlande (19)

Cette étude contrôlée, comparative, randomisée et réalisée en ouvert a été menée à l'hôpital des maladies tropicales à Bangkok (groupe 3). Parmi les 182 patients recrutés, 158 (87%) ont pu être évalués. Leur âge variait entre 15 et 63 ans ; leur poids était d'au moins 40 kg. Le poids moyen des patients dans le groupe atovaquone/chlorhydrate de proguanil était de $52,9 \pm 8,5$ kg et de $51,5 \pm 6,7$ kg dans le groupe méfloquine. Les patients ont reçu soit 4 comprimés par jour pendant 3 jours de l'association atovaquone (250 mg) / chlorhydrate de proguanil (100 mg) soit la méfloquine (250 mg), à raison d'une dose initiale de 750 mg suivie 6 heures après d'une deuxième prise de 500 mg. La posologie usuelle de méfloquine recommandée en France est de 25 mg/kg et doit être administrée en moins de 24 heures. La posologie utilisée dans cette étude correspond à un poids compris entre 46 et 60 kg (Vidal 2002).

Les principaux résultats sont montrés dans le tableau 4. Soixante dix-neuf (100%) patients traités par l'association atovaquone/chlorhydrate de proguanil ont été guéris. Onze patients traités par méfloquine ont présenté une rechute dans un délai de 14 à 28 jours après le traitement. La différence entre les taux de guérison (14%) était statistiquement significative ($p < 0,002$). L'intervalle de confiance à 95% pour la différence entre les taux de guérison était de 6 à 21,8%. Les délais de clairance parasitaire et de disparition de la fièvre n'étaient pas significativement différents (tableau 4).

Les événements indésirables décrits dans chacun des groupes correspondent aux symptômes typiques du paludisme, avec une fréquence inférieure à 10% dans chacun des groupes, à l'exception des vomissements (10%) et d'une élévation des enzymes hépatiques de 13 à 16 % dans le groupe atovaquone/chlorhydrate de proguanil.

Tableau 4
Réponse thérapeutique après 28 jours de suivi dans une étude comparative atovaquone/chlorhydrate de proguanil versus méfloquine (19)

| | Atovaquone/proguanil (n=91) | Méfloquine⁽¹⁾ (n=91) | Significativité |
|---|------------------------------------|--|------------------------|
| Nombre de patients à J28 | 79 | 79 | $p < 0,002$ |
| Nombre de patients guéris (%) | 79 (100) | 68 (86,1) | |
| Délai de disparition de la fièvre* (h) | | | NS |
| Médiane | 53,5 | 50,0 | |
| Moyen (écart-type) | 58,9 (36,1) | 50,9 (31,2) | |
| Intervalle total | 3-152 | 4-147 | |
| Délai de clairance parasitaire** (h) | | | NS |
| Médiane | 66,5 | 65,0 | |
| Moyen (écart-type) | 65,2 (17,6) | 73,8 (29) | |
| Intervalle total | 24-127 | 24-167 | |

NS = non significatif

(1) : la posologie usuelle de la méfloquine recommandée en France est de 25 mg/kg et doit être administrée en moins de 24 heures. La posologie utilisée dans cette étude correspond à un poids corporel compris entre 46 et 60 kg (Vidal 2002).

* : le délai de disparition de la fièvre a été analysé chez 84 patients du groupe atovaquone/chlorhydrate de proguanil et 88 patients du groupe méfloquine

** : le délai de clairance parasitaire a été analysé chez 90 patients dans chacun des deux groupes.

Etude 4 : Atovaquone/chlorhydrate de proguanil versus chloroquine seule ou chloroquine plus pyriméthamine/sulfadoxine aux Philippines (21)

Cette étude contrôlée, comparative, randomisée et réalisée en ouvert a été menée à l'hôpital provincial de Palawan, aux Philippines (groupe 2). Initialement, il s'agissait d'une étude comparant l'association atovaquone/chlorhydrate de proguanil à la chloroquine seule. Cependant, après l'inclusion des 40 premiers patients, le taux de guérison obtenu dans le groupe chloroquine était inférieur à 35%. Pour des raisons d'éthique, il a alors été décidé que les patients devant recevoir de la chloroquine recevraient en plus l'association pyriméthamine/sulfadoxine.

L'âge des patients variait entre 12 et 64 ans ; leur poids corporel était toujours supérieur à 30 kg.

Les patients du groupe atovaquone-proguanil ont reçu un traitement par des comprimés de 250 mg d'atovaquone et de 100 mg de chlorhydrate de proguanil, 4 comprimés de chaque par jour pendant 3 jours pour les patients de plus de 40 kg ou 3 comprimés de chaque par jour pendant 3 jours pour les patients pesant entre 30 et 40 kg.

La chloroquine est administrée sous forme de comprimés à 150 mg. Les patients de plus de 40 kg reçoivent 1500 mg de chloroquine pendant 3 jours soit 4 comprimés d'emblée puis 2 comprimés à 6, 24 et 48 heures. D'après les données du Vidal 2002, il s'agit de la posologie recommandée pour les patients de 60 kg et plus. Les patients pesant entre 30 et 40 kg reçoivent une dose initiale de 10 mg/kg suivie de 5 mg/kg 6, 24 et 48 heures plus tard.

La sulfadoxine et la pyriméthamine sont administrées sous forme d'un comprimé contenant 500 mg de sulfadoxine et 25 mg de pyriméthamine. Les patients de plus de 50 kg reçoivent 3 comprimés en une prise et ceux de moins de 50 kg reçoivent 2 comprimés en une prise. Ces posologies sont conformes à celles du Vidal 2002.

Sur les 110 patients inclus, un seul n'a pu être évalué car il a reçu le 8^{ème} jour un traitement par du cotrimoxazole pour une infection urinaire. Il avait cependant bien répondu au traitement par l'association atovaquone/chlorhydrate de proguanil et présentait une parasitémie nulle le 28^{ème} jour.

Les principaux résultats sont montrés dans le tableau 5. Cinquante-quatre (100%) patients traités par l'association atovaquone/chlorhydrate de proguanil ont été guéris. Sur les 16 patients (70%) qui n'ont pas été guéris par la chloroquine seule, 11 ont présenté une rechute dans les 28 jours de suivi (R1), 3 n'ont pas eu de diminution totale de leur parasitémie au 7^{ème} jour (R2) et 2 n'ont pas eu de diminution significative de leur parasitémie dans les 48

premières heures (R3). Quant aux 3 patients non guéris par l'association chloroquine/pyriméthamine/sulfadoxine, ils ont présentait une rechute dans les 14 à 28 jours de suivi (R1). La différence entre les taux de guérison était statistiquement significative pour chaque traitement comparateur. L'intervalle de confiance à 95% pour la différence entre les taux de guérison de l'atovaquone/proguanil et du traitement comparateur était de 49,8 à 89,4% pour la chloroquine et de 3,3 à 21,7% pour l'association chloroquine/pyriméthamine/sulfadoxine. Les délais de clairance parasitaire et de disparition de la fièvre n'étaient pas significativement différents (tableau 5). Les patients guéris dans chacun des groupes ne présentaient généralement plus aucun symptôme de paludisme 72 heures après le début du traitement.

Les évènements indésirables décrits dans chacun des groupes correspondent aux symptômes typiques du paludisme et ne présentent pas de différence significative entre les différents traitements. Les évènements les plus fréquemment rapportés par les patients sous atovaquone/proguanil, chloroquine ou chloroquine/sulfadoxine/pyriméthamine sont des vomissements (18, 17 et 9% respectivement), des douleurs abdominales (15, 17 et 3%), des anorexies (11, 13 et 0%) et des céphalées (6, 17 et 3%).

Tableau 5
Réponse thérapeutique après 28 jours de suivi dans une étude comparative
atovaquone/chlorhydrate de proguanil versus chloroquine ou versus
chloroquine/pyriméthamine/sulfadoxine (21)

| | Atovaquone/ proguanil (n=54) | Chloroquine (n=23) | Chloroquine - sulfadoxine- pyriméthamine (n=32) |
|--|---|-------------------------------|--|
| Nombre de patients à J28 | 54 | 23 | 32 |
| Nombre de patients guéris (%) | 54 (100) | 7 (30,4) | 28 (87,5) |
| Significativité | | p<0.001 | p<0.05 |
| Délai de disparition de la fièvre (h) | | | |
| Médiane | 36,0 | 47,8 | 34,5 |
| Moyen (écart-type) | 38,8 (27,0) | 46,8 (30,9) | 34,5 (27,7) |
| Intervalle total | 2-119 | 5-114 | 2-92 |
| Délai de clairance parasitaire (h) | | | |
| Médiane | 49,3 | 52,0 | 41,7 |
| Moyen (écart-type) | 46,7 (17,3) | 60,0 (32,1) | 42,8 (16,8) |
| Intervalle total | 6-76 | 8-142 | 11-83 |

Etude 5 : Atovaquone/chlorhydrate de proguanil versus chloroquine ou pyriméthamine/sulfadoxine au Pérou (22)

Cette étude a été conduite à Piura, au Pérou (groupe 1). Elle a été initialement élaborée pour comparer l'efficacité de l'association atovaquone/chlorhydrate de proguanil avec celle de la chloroquine, traitement standard utilisé dans la région. Après que 29 patients avaient été inclus dans l'étude, le taux de guérison dans le groupe recevant de la chloroquine était seulement de 8%. Pour des raisons éthiques, le protocole a été modifié et la chloroquine remplacée par l'association pyriméthamine/sulfadoxine. Le recrutement ayant été trop faible pendant cette deuxième phase, l'étude a dû être arrêtée prématurément. Vingt-sept des 29 patients recrutés ont pu être évalués, ainsi que 12 des 14 patients recrutés pendant la deuxième phase de l'étude (16 à 65 ans).

La chloroquine a été administrée à une dose totale de 1500 mg sur 3 jours ; l'association pyriméthamine/sulfadoxine a été prescrite selon le protocole standard.

Un taux de guérison de 100% a été obtenu dans le groupe recevant l'association atovaquone/chlorhydrate de proguanil, dans les première (n=14) et deuxième (n=5) phases de l'étude. Les taux de guérison dans le groupe recevant de la chloroquine (n=13) et celui recevant de la pyriméthamine/sulfadoxine (n=7) étaient respectivement de 8 et 100%. La différence entre les taux de guérison observés dans le groupe recevant l'association atovaquone/chlorhydrate de proguanil et celui recevant de la chloroquine était statistiquement significative ($p < 0.00001$).

Etude 6 : Atovaquone/chlorhydrate de proguanil versus pyriméthamine/sulfadoxine en Zambie (23)

Cette étude contrôlée randomisée et réalisée en ouvert a été menée au centre de recherche sur les maladies tropicales à Ndola, en Zambie (groupe 3).

L'âge des patients inclus variait de 14 à 54 ans ; leur poids corporel était toujours supérieur à 40 kg.

Cette étude comparait un traitement par l'association atovaquone (250 mg) et chlorhydrate de proguanil (100 mg) à raison de 4 comprimés par jour en une prise pendant 3 jours (n=82) à un traitement par l'association sulfadoxine (500 mg) et pyriméthamine (25 mg) à raison de 3 comprimés administrés en une seule prise par jour (n=81).

Parmi les 163 patients inclus dans l'étude, 160 ont pu être évalués. L'efficacité des deux traitements était comparable (tableau 6). Aucune différence significative n'a été mise en évidence concernant les taux de guérison.

Les deux types de traitement ont été bien tolérés dans les deux groupes. Aucune différence significative concernant les effets indésirables n'a été observée. Les effets secondaires les plus fréquents dans le groupe atovaquone/chlorhydrate de proguanil étaient : céphalées (46%), douleurs abdominales (35%), asthénie (28%) et diarrhée (26%) ; dans le groupe pyriméthamine/sulfadoxine : douleur abdominale (42%), céphalée (37%), asthénie (19%), hypotension orthostatique (17%).

Tableau 6
Réponse thérapeutique après 28 jours de suivi dans une étude comparative
atovaquone/chlorhydrate de proguanil versus pyriméthamine/sulfadoxine (23)

| | Atovaquone/ proguanil (n=82) | Pyriméthamine/ sulfadoxine (n=81) | Significativité |
|---|---|--|------------------------|
| Nombre de patients à J28 | 80 | 80 | |
| Délai de disparition de la fièvre* (h) | | | |
| Médiane | 23,0 | 48,0 | |
| Moyen (écart-type) | 30,4 (28,2) [°] | 44,9 (21,2) | ° : p<0,05 |
| Intervalle | 1-160,5 | 6-101 | |
| Délai de clairance parasitaire** (h) | | | |
| Médiane | 72,0 | 48,0 | |
| Moyen (écart-type) | 64,0 (21,7) | 51,4 (21) ^{°°} | °° : p<0,05 |
| Intervalle | 12-102 | 6-114 | |
| Taux de guérison | 100% | 98,8% | NS |

* : le délai de disparition de la fièvre a été analysé chez 67 patients du groupe atovaquone/chlorhydrate de proguanil et 77 patients du groupe pyriméthamine/sulfadoxine.

** : le délai de clairance parasitaire a été analysé chez 81 patients dans chacun des groupes.

NS : non significatif

Etude 7 : Atovaquone/chlorhydrate de proguanil versus amodiaquine au Gabon (24)

Cette étude contrôlée randomisée et réalisée en ouvert a été menée à l'hôpital Albert Schweitzer de Lambaréné, au Gabon (groupe 3) dans une zone à prédominance hyperendémique. L'âge des patients inclus variait de 15 à 49 ans ; leur poids corporel était toujours supérieur à 40 kg.

Cette étude comparait un traitement par 1000 mg d'atovaquone et 400 mg de chlorhydrate de proguanil en une prise par jour pendant 3 jours à un traitement par 1500 mg

d'amodiaquine en 3 prises, 600 mg à l'admission, puis 600 mg à 24 heures et 300 mg à 48 heures.

Sur les 142 patients inclus, 126 ont pu être évalués et 16 (11%) ont été perdus de vue. Les principaux résultats sont présentés dans le tableau 7. Soixante-deux patients (98,4 %) traités par l'association atovaquone/chlorhydrate de proguanil ont été guéris. Un seul a présenté une rechute avec une parasitémie de 25 parasites/ μ L le 28^{ème} jour. Douze patients traités par amodiaquine ont présenté une rechute dans un délai de 14 à 28 jours après le début du traitement. La différence entre les taux de guérison était statistiquement significative ($p = 0,022$). Par contre, les délais de clairance parasitaire et de disparition de la fièvre n'étaient pas significativement différents (tableau 7).

Tableau 7
Réponse thérapeutique après 28 jours de suivi dans une étude comparative atovaquone/chlorhydrate de proguanil versus amodiaquine (24)

| | Atovaquone/ proguanil (n=71) | Amodiaquine (n=71) | Significativité |
|--|---|-------------------------------|------------------------|
| Nombre de patients à J28 | 63 | 63 | |
| Taux de guérison | 98,4% | 81,0% | $p = 0,022$ |
| Délai de disparition de la fièvre (h) | | | |
| Moyen (écart-type) | 16 (22) | 13 (12) | NS |
| Délai de clairance parasitaire (h) | | | |
| Moyen (écart-type) | 72 (23) | 67 (16) | NS |

NS = non significatif

Des effets indésirables ont été observés dans les deux groupes. La fréquence des vomissements (29% dans le groupe atovaquone/chlorhydrate de proguanil - 17% dans le groupe amodiaquine), des diarrhées (19% - 16%) et des anorexies (8% dans les deux groupes) n'était pas significativement différentes entre les deux groupes. Par contre, il y a eu significativement plus de patients souffrant de nausées (33% - 13%) et de douleurs abdominales (22% - 8%) dans le groupe atovaquone/chlorhydrate de proguanil. Enfin, les cas de prurits (5% - 43%), de fatigue (0% - 8%), d'insomnies (8% - 27%) et de vertiges (5% - 17%) étaient plus fréquemment rapportés dans le groupe amodiaquine.

Aucun effet indésirable sévère, ni aucune modification significative des bilans hématologiques et biologiques n'ont été rapportés dans cette étude.

Etude 9 : Atovaquone/chlorhydrate de proguanil versus halofantrine en France, chez des sujets non immuns (26)

Cette étude multicentrique randomisée conduite en France a comparé l'efficacité de l'association atovaquone/chlorhydrate de proguanil à celle de l'halofantrine chez des patients adultes non immunisés atteints d'accès palustre au retour d'un voyage en zone d'endémie. Quarante et un des 48 patients inclus dans l'étude ont pu être évalués ; leur âge variait de 16 à 62 ans.

L'halofantrine a été administré à raison de 500 mg toutes les 6 heures trois fois, puis de nouveau 7 jours après.

Le taux de guérison a été de 100% dans les deux groupes de 21 (atovaquone/chlorhydrate de proguanil) et 20 patients (halofantrine). Cependant, il a été observé une différence significative au niveau du délai de clairance parasitaire en faveur de l'halofantrine (63,3 et 48,2 heures dans les groupes atovaquone/chlorhydrate de proguanil et halofantrine, respectivement) ($p = 0,02$). Cependant, cette action plus rapide de l'halofantrine sur la disparition de la parasitémie n'a pas de répercussions cliniques puisque le délai de disparition de la fièvre est comparable dans les deux groupes. Le délai moyen de disparition de la fièvre est cependant plus important que dans les autres études publiées (60,3 et 57,5 heures dans les groupes atovaquone/chlorhydrate de proguanil et halofantrine, respectivement). Les auteurs suggèrent que cette différence puisse s'expliquer par le caractère non immun des patients inclus dans cette étude contrairement aux patients des études précédentes. Les résultats sont détaillés dans le tableau 8.

La tolérance au traitement a été évaluée chez les 48 patients inclus initialement dans l'étude. La plupart des effets indésirables observés correspondaient aux symptômes généralement décrits lors d'un accès palustre. Les plus fréquemment rapportés étaient des troubles gastro-intestinaux. La fréquence des vomissements était significativement supérieure dans le groupe atovaquone/chlorhydrate de proguanil (44%) par rapport au groupe halofantrine (4%) ($p = 0,001$). Les autres effets indésirables rapportés étaient, par ordre décroissant : des nausées (24% et 9% dans les groupes atovaquone/chlorhydrate de proguanil et halofantrine, respectivement), des insomnies (16% et 13%), des céphalées (16% et 4%), des diarrhées (12% et 17%), des douleurs abdominales (12% et 4%) et des prurits (4% et 0%).

Tableau 8

Réponse thérapeutique après 28 jours de suivi dans une étude comparative atovaquone/chlorhydrate de proguanil versus halofantrine chez des sujets non immuns (26)

| | Atovaquone/ proguanil (n=25) | Halofantrine (n=23) | Significativité |
|--|---|--------------------------------|------------------------|
| Nombre de patients évaluable s | 21 | 20 | |
| Nombre de patients guéris (%) | 21 (100) | 20 (100) | NS |
| Délai moyen de clairance parasitaire (h) | 63,3 ± 22,8 | 48,2 ± 14,7 | p = 0,02 |
| Délai moyen de disparition de la fièvre (h) | 60,3 ± 23,9 | 57,5 ± 25,2 | p = 0,98 |

NS = non significatif

Tableau 9

Réponse thérapeutique après 28 jours de suivi dans une étude comparative atovaquone/chlorhydrate de proguanil versus quinine/tétracycline au Brésil (27)

| | Atovaquone/ proguanil (n=77) | Quinine/tétracy cline (n=77) | Significativité |
|--|---|---|------------------------|
| Nombre de patients évaluable s | 73 | 69 | |
| Nombre de patients guéris (%) | 72 (98,6) | 69 (100) | NS |
| Délai moyen de clairance parasitaire (h)* | 56,1 ± 14,1 | 64,5 ± 23,1 | p = 0,008 |
| Délai moyen de disparition de la fièvre (h)** | 18,8 ± 17,7 | 28,5 ± 19,8 | p = 0,05 |

* : le délai de clairance parasitaire a été analysé chez 77 patients dans chaque groupe.

** : le délai de disparition de la fièvre a été analysé chez 63 patients du groupe atovaquone/chlorhydrate de proguanil et 56 patients du groupe quinine/tétracycline.

NS = non significatif

Etude 10 : Atovaquone/chlorhydrate de proguanil versus quinine plus tétracycline au Brésil (27)

Cette étude contrôlée, randomisée et réalisée en ouvert a été menée au centre de recherche de l'hôpital local de Peixoto de Azevedo, une ville du sud de l'Amazonie brésilienne (groupe 3). Cette ville a l'un des plus forts taux de transmission du paludisme au Brésil (environ 300 cas par semaines, 50% sont dus à *P. vivax* et 50% à *P. falciparum*).

Cette étude comparait un traitement par atovaquone 1g et chlorhydrate de proguanil 400 mg, en une prise unique par jour pendant 3 jours, 15 à 30 minutes après l'administration d'une petite quantité de nourriture riche en matières grasses à un traitement par de la quinine, 600 mg trois fois par jour, associé à de la tétracycline, 250 mg quatre fois par jour, pendant 7 jours. Parmi les 175 patients inclus dans l'étude, 142 ont pu être évalués (73 dans le groupe atovaquone/chlorhydrate de proguanil et 69 dans le groupe quinine/tétracycline). L'âge des patients variait de 18 à 65 ans.

Un patient du groupe atovaquone/chlorhydrate de proguanil a présenté une rechute avec une recrudescence de la parasitémie mesurée le 21^{ème} jour alors que tous les patients du groupe quinine/tétracycline ont été guéris (tableau 9). Cependant, aucune différence significative n'a été mise en évidence entre les deux groupes concernant le taux de guérison. Par contre le délai moyen de clairance parasitaire était significativement plus court dans le groupe atovaquone/chlorhydrate de proguanil ($p=0,008$) de même que le délai moyen de disparition de la fièvre ($p=0,05$) (tableau 9).

Quarante-huit patients (62,3%) du groupe atovaquone/chlorhydrate de proguanil et 69 patients (89,6%) du groupe quinine/tétracycline ont souffert d'effets indésirables. Les plus fréquemment observés étaient des vertiges, douleurs abdominales, nausées, affaiblissements, céphalées, diarrhées, anorexie, prurits et vomissements. Il y a eu significativement plus de cas rapportés de vertiges (39 versus 10 ; $p<0,01$), de nausées (22 versus 12 ; $p=0,05$), et d'anorexie (13 versus 5 ; $p=0,04$) dans le groupe quinine/tétracycline.

En conclusion, le taux d'efficacité global du traitement par l'association atovaquone/chlorhydrate de proguanil est de 99%, pour les patients traités selon le protocole optimal. Les quelques patients pour lesquels une parasitémie positive à *P. falciparum* a été observée pendant la période de suivi, étaient essentiellement des patients suivis en ambulatoire ayant pu se réinfecter. Ces études ont montré que l'atovaquone (1000 mg) et le chlorhydrate de proguanil (400 mg) administrés en une dose unique pendant trois jours consécutifs représentent un traitement efficace de l'accès palustre simple à *P. falciparum* chez l'adulte et l'enfant de plus de 12 ans.

4-2-3- Essais chez l'enfant de moins de 12 ans

Malarone® n'a pas d'indication en France chez l'enfant de moins de 12 ans. Cependant, dans certains pays, notamment aux Etats Unis, une forme pédiatrique est commercialisée pour des enfants de plus de 11 kg. Il s'agit de comprimés quatre fois moins dosés que ceux destinés aux adultes, c'est à dire contenant 62,5 mg d'atovaquone et 25 mg de chlorhydrate de proguanil. Chez l'enfant de moins de 12 ans, la posologie est ajustée en fonction du poids tel que défini dans le tableau 10. Il est à noter que l'efficacité et la tolérance de Malarone n'ont pas encore été établies chez l'enfant de moins de 11 kg.

L'efficacité et la tolérance de Malarone® chez l'enfant, dans le traitement d'un accès palustre simple à *P. falciparum*, ont été évaluées dans deux études cliniques réalisées en ouvert, incluant 200 enfants au total. Le taux de guérison global des enfants traités par l'association atovaquone/chlorhydrate de proguanil, évalué sur une période de 28 jours de suivi, était de 95%.

Etude 2 (20) :

Une première étude préliminaire de tolérance et d'efficacité, non contrôlée, a été réalisée en ouvert chez 32 enfants âgés de 5 à 12 ans, en Thaïlande. Les patients recevaient 20 mg/kg d'atovaquone et 8 mg/kg de chlorhydrate de proguanil par jour, trois jours consécutifs. Sur les 26 patients évaluable, aucun ne présentait de parasitémie le 28^{ème} jour. Le traitement a été bien toléré et aucun effet indésirable sévère n'a été rapporté.

Etude 8 : Atovaquone/chlorhydrate de proguanil versus halofantrine chez des enfants au Kenya (25)

Cette étude ouverte, randomisée et contrôlée a été conduite à Eldoret, au Kenya (groupe 3). Parmi les 168 patients inclus, 164 ont pu être évalués, 81 dans le groupe atovaquone/chlorhydrate de proguanil et 83 dans le groupe halofantrine. Ils étaient âgés de 3 à 12 ans. Ils recevaient soit un traitement par 20 mg/kg d'atovaquone et 8 mg/kg de chlorhydrate de proguanil pendant 3 jours soit par de l'halofantrine, 8 mg/kg toutes les 6 heures pendant 3 jours (posologie de l'AMM, Vidal 2002).

Soixante-seize patients (93,8%) ont été guéris dans le groupe atovaquone/chlorhydrate de proguanil et 75 patients (90,4%) dans le groupe halofantrine (tableau 11).

Tableau 10

Dosages d'atovaquone et de chlorhydrate de proguanil administrés par jour en fonction du poids dans le traitement d'un accès palustre non compliqué à *P. falciparum*

| Poids | Dose journalière Atovaquone/chlorhydrate de proguanil |
|------------|--|
| 11 - 20 kg | 250 mg / 100 mg |
| 21 - 30 kg | 500 mg / 200 mg |
| 31 - 40 kg | 750 mg / 300 mg |
| > 40 kg | 1 000 mg / 400 mg |

Tableau 11 :

Réponse thérapeutique après 28 jours de suivi dans une étude comparative atovaquone/chlorhydrate de proguanil versus halofantrine chez des enfants vivant au Kenya (25)

| | Atovaquone/ proguanil (n=84) | Halofantrine (n=84) | Significativité |
|--|---------------------------------|------------------------|-----------------|
| Nombre de patients évaluables | 81 | 83 | |
| Nombre de patients guéris (%) | 76 (93,8%) | 75 (90,4%) | NS |
| Délai de disparition de la fièvre (h) | | | |
| Médiane | 29,8 | 35,3 | p=0,60 (NS) |
| Moyen (écart-type) | 35,9 (28,3) | 39,2 (30,4) | |
| Intervalle | 15-103 | 0,5-123 | |
| Délai de clairance parasitaire (h) | | | |
| Médiane | 64,5 | 50,4 | p<0,001 |
| Moyen (écart-type) | 64,9 (17,3) | 50,2 (12,9) | |
| Intervalle | 12-102 | 17-78 | |

Les quatre enfants du groupe halofantrine pour lesquels le traitement a échoué ont reçu une deuxième cure d'halofantrine à la même posologie ; ils ont tous été guéris. Par contre, dans le groupe atovaquone/chlorhydrate de proguanil, seulement deux des trois enfants ont été guéris par la deuxième cure. Le troisième a présenté une diminution de la parasitémie mais elle était toujours présente au 7^{ème} jour (réponse R2). Ce patient a alors été traité efficacement par de l'halofantrine.

Des effets indésirables étaient rapportés plus fréquemment chez les patients recevant de l'halofantrine, notamment, les douleurs abdominales, diarrhées, anorexies, insomnies, épistaxis et fatigue rapportés deux fois plus souvent dans le groupe halofantrine. Par contre les vomissements étaient rapportés plus fréquemment sous atovaquone/chlorhydrate de proguanil que sous halofantrine (15,9% et 8,5%, respectivement). Treize patients du groupe atovaquone/chlorhydrate de proguanil et seulement un du groupe halofantrine ont dû prendre une dose supplémentaire de traitement en raison de vomissements. Un des 13 patients du groupe atovaquone/chlorhydrate de proguanil a été exclu de l'étude et a reçu un traitement alternatif. Parmi les 12 patients restant, 10 ont été guéris et deux ont fait une rechute dans les 28 jours de suivi (réponse R1). Le patient du groupe halofantrine ayant reçu une dose supplémentaire a lui aussi fait une rechute dans les 28 jours de suivi.

Enfin, l'association atovaquone/chlorhydrate de proguanil a été évaluée dans une étude préliminaire chez des enfants dont le poids variait de 5 à 11 kg (28). Cette étude comparative, versus chloroquine, réalisée en ouvert a été menée au Nigéria. Les doses administrées étaient adaptées en fonction du poids de l'enfant. Cinquante-trois enfants ont reçu l'association atovaquone (20 mg/kg) chlorhydrate de proguanil (8 mg/kg) pendant 3 jours et 48 ont reçu 25 mg/kg de chloroquine également pendant 3 jours. Les taux de guérison étaient de 83% pour le groupe atovaquone/chlorhydrate de proguanil et de 41% dans le groupe chloroquine.

Le traitement par l'association atovaquone/chlorhydrate de proguanil a été interrompu chez un enfant en raison de vomissements. Il a cependant été bien toléré par l'ensemble des autres enfants. Aucun effet indésirable sévère n'a été rapporté dans l'un ou l'autre des groupes. (28)

5- Efficacité de Malarone® en prophylaxie du paludisme à *P. falciparum*

5-1- Caractéristiques des études cliniques

Les études évaluant l'efficacité de Malarone® en traitement prophylactique ne concernent que des individus dont la parasitémie est nulle lors du recrutement.

Pour les sujets vivant en zone d'endémie, un traitement curatif leur a préalablement été administré : 1000 mg d'atovaquone et 400 mg de chlorhydrate de proguanil par jour pendant trois jours (29 ; 30). Les sujets vivant en zone non endémique ou ayant pris un traitement efficace dès leur arrivée en zone d'endémie n'ont pas reçu de traitement curatif préalable (33).

- Critère principal d'efficacité

Le critère majeur d'efficacité est la proportion de patients conservant une parasitémie négative, soit après une période de 28 jours après le risque d'infection, soit dans les 10 à 12 semaines de traitement prophylactique dans une zone d'endémie.

- Méthodes statistiques

Dans le but d'éliminer les biais possibles, l'évaluation statistique se base sur la population en intention de traiter, dans laquelle tous les individus qui sortent de l'étude, quelle qu'en soit la raison, sont considérés comme des échecs au traitement.

Une autre évaluation, cliniquement plus significative, élimine les sujets étant sortis de l'étude pour des raisons autres que des critères de parasitémie ou d'effets secondaires du traitement.

- Critères d'inclusion et d'exclusion

Dans les études cliniques menées en zone d'endémie palustre à *P. falciparum*, sont inclus des patients de chaque sexe en bonne santé vivant dans une zone à haut risque d'infection palustre.

Les sujets sont exclus s'ils ont reçu un traitement antimalarique dans les deux semaines précédant leur inclusion, s'ils ont une hypersensibilité connue à l'atovaquone ou au chlorhydrate de proguanil, s'ils ont des anomalies au niveau des bilans hématologique et biologique, s'ils souffrent d'insuffisance rénale sévère (avec une clairance de la créatinine inférieure à 30 mL/min), s'ils ont subi une splénectomie, si leur bilan hépatique suggère la présence d'une hépatite ou encore s'ils souffrent d'une pathologie concomitante pouvant

interférer avec les résultats de l'étude. Les femmes enceintes, souhaitant le devenir ou en période d'allaitement sont également exclues.

- Suivi des patients

La recherche d'une parasitémie par goutte épaisse est effectuée régulièrement : une fois par semaine, en cas de signe clinique faisant suspecter un accès palustre ou plus souvent. Dans le cadre de la surveillance de la tolérance du traitement, les paramètres suivants sont mesurés avant le début du protocole, au milieu et à la fin du traitement : paramètres hématologiques, glycémie, fonction hépatique, fonction rénale.

Dans les études contrôlées, sont également mesurées les concentrations plasmatiques d'atovaquone, de proguanil et de cycloguanil ; de même que la résistance *in vitro* des parasites si cela est possible.

5-2- Résultats des études cliniques

L'efficacité de Malarone® dans la prophylaxie du paludisme à *P. falciparum* a été évaluée dans sept études cliniques (tableau 12).

Les trois premiers essais ont concerné des populations semi-immunes résidentes en Afrique tropicales et se sont déroulées sur 10 à 12 semaines par comparaison à des groupes placebo. L'une des premières études, publiée en 1998, portait sur 216 adultes au Kenya dont un premier groupe prenait un comprimé de Malarone® par jour alors qu'un second recevait deux comprimés par jour. L'efficacité fut de 100% quelle que soit la posologie adoptée, alors que 28 des 54 patients du groupe placebo présentèrent une parasitémie à *P. falciparum* (29). La posologie de un comprimé par jour a été adoptée pour toutes les études suivantes, notamment en Zambie où le taux de succès était de 95% (30). Un autre essai s'est déroulé au Gabon chez 320 enfants : aucun des 125 du groupe Malarone® n'a eu de parasitémie par comparaison à 25 des 140 enfants du groupe placebo (31).

La première étude réalisée chez des sujets non immuns s'est déroulée en Afrique du Sud. Il s'agissait d'une étude non contrôlée, en ouvert. La prophylaxie par Malarone® a été efficace chez 97% des individus (32).

Deux importantes études de chimioprophylaxie ont ensuite été conduites chez des sujets non immuns, en Europe, au Canada et en Afrique du Sud, incluant chacune plus de 1000 voyageurs et utilisant pour contrôle soit une chimioprophylaxie par l'association chloroquine/proguanil (33), soit par méfloquine (34). Aucun cas de paludisme à *P. falciparum* n'est survenu dans le groupe Malarone® alors que trois cas concernaient le groupe chloroquine/proguanil.

Tableau 12

Etudes ayant démontré l'efficacité de l'association atovaquone/chlorhydrate de proguanil dans la prophylaxie du paludisme à *P. falciparum*

| Etude (référence) | Localisation géographique | Nombre de sujets inclus | Moyenne d'âge | Médicament comparateur | Taux de succès | | |
|-------------------|-----------------------------|-------------------------|---------------|-------------------------|--------------------------------------|--|-----------------|
| | | | | | ATQ/PGN (nombre de patients évalués) | Comparateur (nombre de patients évalués) | Significativité |
| 1 (29) | Kenya | 205 | 30 (17-55) | placebo | 100% (54) | 48% (54) | p<0,001 |
| 2 (30) | Zambie | 272 | 32 (16-64) | placebo | 98% (102) | 63% (111) | p<0,001 |
| 3 (31) | Gabon | 264 | 10 (5-16) | placebo | 100% (113) | 81% (134) | |
| 4 (32) | Afrique du Sud (non immuns) | 175 | 30 | aucun | 97% (113) | -- | -- |
| 5 (33) | Voyageurs non-immuns | 1083 | 36 (13-74) | Chloroquine / Proguanil | 100% (504) | 99% (507) | NS |
| 6 (34) | Voyageurs non-immuns | 1013 | 33 (4-80) | Méfloquine | 100% (493) | 100% (483) | |
| 7 (35) | Enfants non-immuns | 221 | -- | Chloroquine | 100% | 100% | |

Tableau 13

Dosages d'atovaquone et de chlorhydrate de proguanil administrés par jour en fonction du poids dans la prophylaxie du paludisme à *P. falciparum*

| Poids | Dose journalière Atovaquone/chlorhydrate de proguanil |
|------------|--|
| 11 – 20 kg | 62,5 mg / 25 mg soit 1 comprimé pédiatrique |
| 21 – 30 kg | 125 mg / 50 mg soit 2 comprimés pédiatriques |
| 31 – 40 kg | 187,5 mg / 75 mg soit 3 comprimés pédiatriques |
| > 40 kg | 250 mg / 100 mg soit 1 comprimé adulte |

La dernière étude a été réalisée chez 221 enfants non immuns ; elle utilisait pour contrôle une chimioprophylaxie par l'association chloroquine/proguanil. L'efficacité était de 100% dans chacun des groupes avec une meilleure tolérance dans le groupe Malarone® (35).

Enfants et adultes, de 40 kg et plus, étaient traités par un comprimé par jour contenant 250 mg d'atovaquone et 100 mg de chlorhydrate de proguanil. La durée du traitement était de 10 à 12 semaines pour les études menées chez des sujets vivant en zone d'endémie. Pour les études réalisées chez des sujets non immuns, le traitement prophylactique par Malarone® était initié 1 à 2 jours avant le départ et poursuivi jusqu'à 7 jours après le retour.

Chez l'enfant de moins de 40 kg, la posologie est ajustée en fonction du poids telle que définie dans le tableau 13. Il est à noter que l'efficacité et la tolérance de Malarone® n'ont pas encore été établies chez l'enfant de moins de 11 kg.

Malarone® n'a pas d'Autorisation de Mise sur le Marché en France chez l'enfant de moins de 40 kg. Cependant, dans certains pays, notamment aux Etats Unis, une forme pédiatrique est commercialisée pour des enfants de plus de 11 kg. Il s'agit de comprimés quatre fois moins dosés que ceux destinés aux adultes, c'est à dire contenant 62,5 mg d'atovaquone et 25 mg de chlorhydrate de proguanil.

5-2-1- Essais menés en zone d'endémie

Sur les 669 patients dont 264 enfants, vivant en zone d'endémie, inclus dans trois études contrôlées 568 ont pu être évalués. Ils recevaient soit Malarone® (n=269) soit le placebo (n=299) pendant une période de 10 à 12 semaines. Ces études ont toutes montré l'efficacité de l'association atovaquone/chlorhydrate de proguanil dans la prévention des infections à *P. falciparum*.

- Chez l'adulte

Etude 1 : Atovaquone/chlorhydrate de proguanil versus placebo au Kenya (29)

Cette étude randomisée, contrôlée contre placebo, en double-aveugle a été menée dans l'Ouest du Kenya (groupe 3).

Les adultes volontaires ont reçu dans un premier temps un traitement curatif (4 comprimés contenant 250 mg d'atovaquone et 100 mg de chlorhydrate de proguanil en une prise unique pendant 3 jours) pour éliminer une infection préexistante.

Les individus semi-immuns inclus ont ensuite été répartis dans les trois groupes de traitement : un groupe recevant un comprimé d'atovaquone proguanil par jour (n=70), un groupe recevant deux comprimés d'atovaquone/proguanil par jour (n=67) et un groupe recevant le placebo (n=68). Au final, 162 sujets (54 dans chaque groupe) ont pu être évalués pour l'analyse de l'efficacité du traitement. La durée totale du traitement était de 10 semaines (70 jours).

La parasitémie des individus ayant pu être évalués dans les groupes recevant un ou deux comprimés par jour d'atovaquone/chlorhydrate de proguanil est restée négative dans tous les cas. Dans le groupe placebo, elle n'est restée négative que dans 52% des cas (28/54) ($p < 0,001$). Les résultats sont présentés dans le tableau 14.

Dans cette étude, l'association atovaquone/chlorhydrate de proguanil est efficace en traitement prophylactique.

Ce traitement prophylactique a été bien toléré. Aucune différence significative concernant l'apparition d'effets secondaires n'a été observée entre les trois groupes de l'étude. Les événements indésirables les plus fréquemment rapportés étaient des dyspepsies et des gastrites (tableau 15).

Les résultats de cette première étude ont permis de déterminer le schéma posologique de un comprimé de Malarone® par jour utilisé dans les études suivantes pour la prophylaxie du paludisme à *P. falciparum*.

Tableau 14
Résultats de l'étude de Shanks GD et al., 1998 (29)

| | Placebo | Atovaquone 250 mg / proguanil 100 mg | Atovaquone 500 mg / proguanil 200 mg |
|--|---------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| Nombre de patients évaluables | 54 | 54 | 54 |
| Nombre de patients ayant une parasitémie positive (%) | 28 (52) | 0* | 0* |
| Taux d'efficacité° (95% IC) | - | 100 (77-100) | 100 (77-100) |

* : p<0,001 (test exact de Fisher) versus placebo

° : taux d'efficacité = 100 x (1 - (taux d'échec dans le groupe atovaquone/proguanil : taux d'échec dans le groupe placebo))

L'échec de la prophylaxie concerne les patients ayant eu un examen parasitologique direct sanguin positif, quelle que soit l'espèce de Plasmodium, ainsi que les patients ayant dû quitter l'étude du fait d'un événement indésirable lié au traitement.

Tableau 15
Evénements indésirables potentiellement liés au traitement rapportés dans plus de 2% des cas, pendant la phase curative et la phase prophylactique du traitement (29)

| Evénement indésirable | Placebo n=68 | Atovaquone 250 mg / proguanil 100 mg n=70 | Atovaquone 500 mg / proguanil 200 mg n=67 |
|-----------------------|-----------------|---|---|
| Dyspepsie | 9 (13%) | 4 (6%) | 8 (12%) |
| Gastrite | 5 (7%) | 6 (9%) | 5 (7%) |
| Douleur abdominale | 4 (6%) | 5 (7%) | 3 (4%) |
| Nausée | 3 (4%) | 0 | 2 (3%) |
| Prurit | 0 | 3 (4%) | 0 |
| Anorexie | 2 (3%) | 1 (1%) | 3 (4%) |
| Diarrhées | 3 (4%) | 2 (3%) | 3 (4%) |
| Céphalée | 2 (3%) | 0 | 0 |

Etude 2 : Atovaquone/chlorhydrate de proguanil versus placebo en Zambie (30)

Cette étude randomisée, contrôlée, en double-aveugle contre placebo a été menée en Zambie (groupe 3).

Les adultes volontaires ont reçu dans un premier temps un traitement curatif (4 comprimés contenant 250 mg d'atovaquone et 100 mg de chlorhydrate de proguanil en une prise unique pendant trois jours) pour éliminer une infection préexistante.

Ils ont ensuite été répartis en deux groupes de traitement : le groupe recevant un comprimé par jour d'atovaquone/chlorhydrate de proguanil (n=136) et le groupe recevant le placebo (n=138). Au final, 213 sujets ont pu être évalués pour l'analyse de l'efficacité du traitement. La durée totale du traitement était de 10 semaines (70 jours). Une période de 4 semaines de suivi était réalisée après l'arrêt de la prophylaxie.

Les taux de succès prophylactique dans les groupes Malarone® et placebo étaient respectivement de 98% et 63% ($p < 0,001$) (tableau 16). Ainsi 2 individus du groupe Malarone® et 41 du groupe placebo ont présenté une parasitémie.

La parasitémie des deux individus du groupe Malarone® est apparue après 6 semaines de traitement. Pour ces deux sujets, les concentrations plasmatiques d'atovaquone mesurées à la semaine 5 étaient similaires à celles des sujets n'ayant pas développé de parasitémie. Par contre, les concentrations plasmatiques de proguanil et cycloguanil n'étaient pas mesurables chez l'un des deux sujets et juste au-dessus des doses quantifiables chez l'autre sans raisons apparentes. Il n'a pas été réalisé d'étude de sensibilité *in vitro* ni d'étude des séquences d'ADN des souches de *P. falciparum* isolées chez ces deux sujets.

Enfin, pendant la période de suivi de 4 semaines après l'arrêt du traitement, 6 des 70 patients évaluable du groupe placebo (9%) et 1 des 100 patients du groupe Malarone® (100%) ont développé une parasitémie.

Dans cette étude, Malarone® s'est montré efficace comme traitement prophylactique du paludisme.

Le traitement par Malarone® a été bien toléré. L'incidence des effets indésirables dans le groupe Malarone® n'a pas été supérieure à celle du groupe placebo (tableau 17).

Tableau 16
Résultats de l'étude de Sukwa et al., 1999 (30)

| | Placebo | Atovaquone/chlorhydrate de proguanil |
|--|----------------|---|
| Nombre de patients évalués | 111 | 102 |
| Nombre de patients ayant une parasitémie positive | 41 | 2 |
| Taux de succès | 63% | 98%* |
| Taux d'efficacité° (95% IC) | - | 95% (79-100%) |

* : p<0,001 (Test exact de Fisher) versus placebo

° : taux d'efficacité = 100 x (1 – (taux d'échec dans le groupe atovaquone/proguanil : taux d'échec dans le groupe placebo))

Tableau 17
**Effets secondaires potentiellement liés au traitement rapportés chez plus de 2% des
sujets (30)**

| Effets secondaires (%) | Placebo | Atovaquone/proguanil |
|-------------------------------|----------------|-----------------------------|
| Céphalée | 12 (9) | 6 (4) |
| Douleur abdominale | 7 (5) | 4 (3) |
| Diarrhée | 4 (3) | 2 (1) |
| Fièvre | 3 (2) | 0 |

- Chez l'enfant

Etude 3 : Atovaquone/chlorhydrate de proguanil versus placebo au Gabon (31)

Cette étude randomisée, contrôlée contre placebo, en double-aveugle a été menée au Gabon dans une zone hyperendémique où les parasites sont très résistants à la chloroquine (groupe 3).

Les enfants inclus, âgés de 5 à 16 ans, ont reçu dans un premier temps un traitement curatif par l'association atovaquone/chlorhydrate de proguanil une fois par jour pendant 3 jours ; la dose administrée était déterminée en fonction du poids de l'enfant tel que décrit dans le tableau 10 (p.30).

Ils ont ensuite reçu soit un traitement par atovaquone/chlorhydrate de proguanil (n=124) soit le placebo (n=140). La durée totale du traitement était de 12 semaines. Puis une période de 4 semaines de suivi était réalisée après l'arrêt de la prophylaxie. Au final, 113 individus dans le groupe Malarone et 134 individus dans le groupe placebo ont pu être évalués.

Les résultats de cette étude sont présentés dans le tableau 18.

Vingt-cinq patients du groupe placebo ont développé une parasitémie alors que le taux d'efficacité du traitement atovaquone/chlorhydrate de proguanil a été de 100%.

Pendant les 4 semaines de suivi après l'arrêt de la prophylaxie, une parasitémie a été détectée chez 12 enfants du groupe placebo et chez 3 enfants du groupe atovaquone/chlorhydrate de proguanil.

Le traitement prophylactique par l'association atovaquone/chlorhydrate de proguanil a été bien toléré chez les enfants. Aucune différence significative concernant l'apparition d'effets secondaires n'a été observée entre les deux groupes de traitement. Les effets indésirables les plus fréquemment rapportés étaient des céphalées (14 % dans chaque groupe) et des douleurs abdominales (29% dans le groupe Malarone® et 31% dans le groupe placebo). Aucun effet indésirable n'a entraîné l'arrêt du traitement dans le groupe atovaquone/chlorhydrate de proguanil.

En conclusion, les trois essais de Malarone® contre placebo réalisés chez des patients vivant en zone d'endémie montrent une efficacité globale de 98% en prophylaxie d'une infection à *P. falciparum* avec un profil de tolérance semblable à celui du placebo.

Tableau 18
Résultats de l'étude de Lell B et al., 1998 (31)

| | Placebo | Atovaquone/chlorhydrate de proguanil |
|--|----------------|---|
| Nombre de patients évalués | 134 | 113 |
| Nombre de patients ayant une parasitémie positive | 25* | 0 |
| Taux d'efficacité° (95% IC) | - | 100% (83-100%) |

* : sont inclus 2 sujets ayant développés une parasitémie à P. ovale ou P. malariae

° : taux d'efficacité = 100 x (1 – (taux d'échec dans le groupe atovaquone/proguanil : taux d'échec dans le groupe placebo))

5-2-2- Essais menés chez des sujets non immuns

Etude 4 : Atovaquone/proguanil chez des militaires non immuns en Afrique du Sud (32)

Cette étude non contrôlée a été réalisée en ouvert chez 175 militaires adultes non immuns en mission en Afrique du Sud. Ils recevaient un comprimé de Malarone® par jour sur une période de 10 semaines. Les sujets déjà sur le site recevaient leur première dose de Malarone® deux jours avant leur dernière prise de chloroquine ou 2 jours avant la date où ils auraient dû prendre leur prochaine dose de méfloquine. Pour les sujets arrivant sur le site, ils débutaient leur traitement prophylactique par Malarone® 2 jours avant leur entrée en zone d'endémie.

Un sujet a développé une parasitémie, cependant, il avait oublié de prendre plusieurs doses consécutives du traitement prophylactique. Il a donc été exclu de l'analyse des résultats. Trois autres sujets ont souffert d'effets indésirables ayant entraîné l'arrêt prématuré de leur traitement : des céphalées pour deux d'entre eux et des nausées et des vertiges pour le troisième.

Ainsi, l'efficacité du traitement prophylactique a été de 97% dans cette étude.

Les effets indésirables les plus fréquemment rapportés étaient des céphalées (12 cas) et des douleurs abdominales (4 cas).

Etude 5 : Atovaquone/proguanil versus chloroquine/proguanil chez des voyageurs non immuns (33)

Cette étude contrôlée, randomisée, en double-aveugle, atovaquone/proguanil versus chloroquine/proguanil a été menée chez 1083 sujets originaires d'Europe, du Canada et d'Afrique du Sud.

Les individus ont été répartis dans deux groupes de traitement. Un groupe recevait l'association atovaquone/proguanil (1 comprimé par jour, contenant 250 mg d'atovaquone et 100 mg de chlorhydrate de proguanil, de 1 à 2 jours avant le départ jusqu'à 7 jours après le retour) plus le placebo correspondant à l'autre association (n=540) ; l'autre groupe recevait l'association chloroquine (2 comprimés par semaine contenant chacun 155 mg de chloroquine base, une semaine avant le départ jusqu'à 4 semaines après le retour) / chlorhydrate de proguanil (2 comprimés par jour contenant chacun 100 mg de chlorhydrate de proguanil, de 1 à 2 jours avant le départ jusqu'à 7 jours après le retour) plus le placebo correspondant à l'autre association (n=543) ; notons que le schéma posologique de la chloroquine n'est pas celui validé par l'AMM de la chloroquine en France.

Cinq cent onze individus dans chacun des deux groupes ont finalement reçu au moins une dose de l'un ou de l'autre des traitements (tableau 19). Les sujets étaient évalués par téléphone à J7 et J60 après leur retour, et lors d'une consultation à la 4^{ème} semaine suivant leur retour.

Mille onze sujets purent être suivis jusqu'à 60 jours après leur retour, dont 504 dans le groupe atovaquone/proguanil.

Le taux d'efficacité minimum dans la prophylaxie du paludisme à *P. falciparum* a été estimé à 100% dans le groupe atovaquone/proguanil (tableau 20). Des anticorps anti-sporozoïtes sont apparus chez 7 sujets dans le groupe atovaquone/chlorhydrate de proguanil et 8 sujets dans le groupe comparateur. Ainsi, 7 individus du groupe Malarone[®] ont été piqués par un moustique contaminé par *P. falciparum* et n'ont pas développé de paludisme.

Les effets secondaires liés aux traitements ont été significativement plus fréquents dans le groupe chloroquine/chlorhydrate de proguanil (28%) que dans le groupe atovaquone/chlorhydrate de proguanil (22%) (p=0,024). La plupart étaient d'intensité modérée. La différence était significative pour les troubles digestifs mais pas pour les troubles neuropsychiatriques (tableau 21).

Seul un patient du groupe Malarone a dû arrêter son traitement en raison d'un effet indésirable alors qu'il y en a eu 10 dans le groupe chloroquine/chlorhydrate de proguanil ; il s'agissait d'une allergie à l'un des composants.

Tableau 19
Caractéristiques démographiques de chacun des groupes (33)

| | Atovaquone/proguanil n=511 | Chloroquine/proguanil n=511 |
|---|---|--|
| Age moyen (ans) | 36,0 | 35,0 |
| Sexe : M/F (%) | 49/51 | 54/46 |
| Destination (%) | | |
| Afrique de l'Est | 26 | 30 |
| Afrique de l'Ouest | 18 | 20 |
| Afrique du sud | 15 | 14 |
| Afrique centrale | 3 | 2 |
| Amérique du sud | 10 | 8 |
| Autre | 30 | 27 |
| Nombre de patients évaluables 60 jours après le retour | 504 | 507 |

Tableau 20
Efficacité de la prophylaxie dans chacun des groupes au 60^{ème} jour après la fin du traitement (33)

| | Atovaquone/proguanil | Chloroquine/proguanil |
|--|-----------------------------|------------------------------|
| Nombre total d'individus | 504 | 507 |
| Nombre d'individus ayant une sérologie positive | 7 | 8 |
| Nombre d'individus ayant eu un accès palustre à P. falciparum | 0 | 3° |
| Taux d'efficacité minimum* (95%IC) | 100% (59-100%) | 70% (35-93%) |
| Taux d'efficacité maximum** (95%IC) | 100% (99-100%) | 99% (98-99%) |

° : 1 des 3 sujets ayant eu un accès palustre avait également une sérologie positive

* : taux d'efficacité minimum = $100 \times (1 - (\text{nombre de cas de paludisme confirmés} / \text{nombre de cas de paludisme confirmés ou de sérologie positive}))$. Un cas de paludisme confirmé est un patient chez lequel de l'ADN parasitaire a été détecté par PCR ou chez lequel l'examen parasitologique direct est positif.

** : taux d'efficacité maximum = $100 \times (1 - (\text{nombre de cas de paludisme confirmés} / \text{nombre de cas sains à 60 jours de suivi}))$

Tableau 21
Effets secondaires attribués à la prise médicamenteuse (33)

| Effet secondaire | Atovaquone/ proguanil n=511 (%) | Chloroquine/ proguanil n=511 (%) | Significativité |
|-------------------------------------|--|---|------------------------|
| Au moins un* | 110 (22%) | 142 (28%) | p=0,024 |
| Troubles gastro-intestinaux | 59 (12%) | 100 (20%) | p=0,001 |
| diarrhée | 24 (5%) | 37 (7%) | p=0,113 |
| nausée | 9 (2%) | 34 (7%) | p=0,001 |
| douleurs abdominales | 15 (3%) | 30 (6%) | p=0,033 |
| aphtes buccaux** | 18 (4%) | 25 (5%) | p=0,350 |
| vomissements | 0 | 11 (2%) | p=0,002 |
| Troubles neuropsychiatriques | 49 (10%) | 53 (10%) | p=0,754 |
| vertige | 17 (3%) | 19 (4%) | p=0,865 |
| cauchemars | 19 (4%) | 14 (3%) | p=0,479 |
| insomnie | 8 (2%) | 12 (2%) | p=0,498 |
| troubles visuels | 10 (2%) | 10 (2%) | p=0,999 |
| anxiété | 1 (<1%) | 4 (<1%) | p=0,370 |
| dépression | 3 (<1%) | 2 (<1%) | p=0,999 |
| Céphalées | 21 (4%) | 19 (4%) | p=0,872 |
| Démangeaisons | 6 (1%) | 5 (1%) | p=0,999 |

* : parmi les sujets ayant présenté au moins un effet secondaire, la moyenne du nombre d'effets secondaires par sujet était de 1,8 dans le groupe atovaquone/proguanil et de 2,2 dans le groupe chloroquine/proguanil

** : liés plus spécifiquement au proguanil

Etude 6 : Atovaquone/chlorhydrate de proguanil versus méfloquine chez des voyageurs non immuns (34)

Cette étude comparative, randomisée, en double-aveugle, atovaquone/chlorhydrate de proguanil versus méfloquine a été conduite chez 1013 sujets originaires d'Europe, du Canada et d'Afrique du Sud voyageant vers une zone d'endémie palustre.

Cette étude était destinée à comparer la fréquence des effets indésirables de chaque traitement prophylactique. Ainsi, le critère principal de l'étude était la fréquence des effets indésirables observés chez l'ensemble des patients randomisés et ayant poursuivi leur traitement 7 jours après leur retour ; les critères secondaires étaient la fréquence des effets indésirables ayant entraîné l'arrêt du traitement prophylactique et l'efficacité des traitements dans la prévention du paludisme à *P. falciparum*.

Parmi les 1013 sujets randomisés en deux groupes au départ, 976 ont pu être évalués, 493 dans le groupe Malarone[®] et 183 dans le groupe méfloquine. Leur âge variait de 4 à 80 ans ; trente-trois individus avaient 12 ans ou moins et 23 avaient 65 ans ou plus (tableau 22).

Ils recevaient soit un comprimé de Malarone[®] par jour, un à deux jours avant le départ et jusqu'à 7 jours après leur retour plus une fois par semaine le placebo correspondant au traitement comparatif, soit un comprimé de méfloquine à 250 mg une fois par semaine, une à trois semaines avant le départ jusqu'à quatre semaines après le retour.

Pour les enfants, la posologie était adaptée en fonction du poids. Les sujets de moins de 40 kg du groupe Malarone[®] suivaient la posologie définie dans le tableau 13. Quant aux individus de moins de 35 kg du groupe méfloquine, ceux de 11 à 12 kg recevaient un-quart de comprimé à 250 mg, ceux de 13 à 24 kg recevaient un-demi comprimé et ceux de 25 à 35 kg recevaient les trois-quarts d'un comprimé à 250 mg par semaine. Les posologies de la méfloquine chez l'enfant ne sont pas celles validées par l'AMM du produit en France. En effet, la posologie recommandée est de 5 mg/kg en une prise par semaine chez l'enfant de 15 à 45 kg ; il est également recommandé d'éviter l'administration de la méfloquine en prophylaxie chez l'enfant de moins de 15 kg en raison de l'absence de données cliniques. La durée moyenne du traitement prophylactique était de 28 ± 8 jours dans le groupe atovaquone/chlorhydrate de proguanil et de 53 ± 16 jours dans le groupe méfloquine.

Les résultats ne montrent aucune différence significative au niveau de la fréquence des effets indésirables en considérant la population en intention de traiter : 71,4% des individus dans le groupe Malarone[®] et 67,3% des individus dans le groupe méfloquine. Cependant, les investigateurs ont considéré que beaucoup de ces effets indésirables n'étaient pas liés aux traitements. Finalement, 30% des individus du groupe Malarone[®] et 42% des individus du

groupe méfloquine ont présenté au moins un effet indésirable imputable au traitement prophylactique ($p = 0,001$). La différence était particulièrement marquée au niveau des troubles neuropsychiatriques observés chez 14% des individus du groupe Malarone® et 29% des individus du groupe méfloquine. (tableau 23)

L'un des critères secondaire était la fréquence des effets indésirables attribuables au traitement ayant entraîné son arrêt. Elle était significativement plus importante dans le groupe méfloquine (5%) que dans le groupe Malarone® (1,2%) ($p = 0,001$). (tableau 24)

Enfin, le dernier critère d'évaluation était l'efficacité des traitements prophylactiques. Sur les 1013 sujets inclus, 963 ont pu être évalués au bout des 60 jours de suivi après l'arrêt du traitement. L'efficacité a été de 100% dans chacun des groupes (tableau 25). Afin d'obtenir un indicateur d'efficacité supplémentaire, une sérologie était pratiquée. Dix individus, cinq dans chaque groupe, avaient des anticorps anti-sporozoïtes et n'avaient pas développé de paludisme grâce à l'efficacité de leur traitement prophylactique.

Tableau 22
Caractéristiques démographiques de chacun des groupes (34)

| | Atovaquone/proguanil n=493 | Méfloquine n=483 |
|-------------------------------|--------------------------------------|----------------------------|
| Age moyen (ans) | 33,0 | 33,6 |
| Sexe : M/F (%) | 53/47 | 57/43 |
| Destination (%) | | |
| Afrique de l'Est | 37 | 35 |
| Afrique de l'Ouest | 24 | 24 |
| Afrique du sud | 17 | 15 |
| Afrique centrale | 4 | 3 |
| Amérique du sud | 6 | 7 |
| Autre | 13 | 16 |
| Durée du séjour (jour) | 18,8 ± 6,9 | 18,6 ± 7,0 |

Tableau 23
Effets secondaires attribués à la prise médicamenteuse (34)

| Effet secondaire | Atovaquone/ proguanil n=493 (%) | Méfloquine n=483 (%) | Significativité |
|-------------------------------------|--|---------------------------------|------------------------|
| Au moins un* | 149 (30%) | 204 (42%) | p=0,001 |
| Troubles neuropsychiatriques | 69 (14%) | 139 (29%) | p=0,001 |
| cauchemars | 33 (7%) | 66 (14%) | p=0,001 |
| insomnie | 15 (3%) | 65 (13%) | p=0,001 |
| vertige | 11(2%) | 43 (9%) | p=0,001 |
| troubles visuels | 8 (2%) | 16 (3%) | p=0,134 |
| anxiété | 3 (<1%) | 18 (4%) | p=0,002 |
| dépression | 3 (<1%) | 17 (4%) | p=0,003 |
| Troubles gastro-intestinaux | 77 (16%) | 94 (19%) | p=0,159 |
| diarrhée | 37 (8%) | 34 (7%) | p=0,875 |
| nausée | 15 (3%) | 40 (8%) | p=0,001 |
| douleurs abdominales | 26 (5%) | 23 (5%) | p=0,826 |
| aphtes buccaux | 29 (6%) | 17 (4%) | p=0,112 |
| vomissements | 7 (1%) | 9 (2%) | p=0,769 |
| Céphalées | 19 (4%) | 32 (7%) | p=0,040 |
| Démangeaisons | 12 (2%) | 15 (3%) | p=0,657 |

* : parmi les sujets ayant présenté au moins un effet secondaire, la moyenne du nombre d'effets secondaires par sujet était de 1,9 ± 1,3 dans le groupe atovaquone/proguanil et de 2,6 ± 2,1 dans le groupe méfloquine.

Tableau 24
Effets secondaires responsables de l'arrêt du traitement (34)

| Effet secondaire | Nombre d'individus ayant présenté un effet indésirable responsable de l'arrêt du traitement | |
|-------------------------------------|---|---------------------|
| | Atovaquone/ proguanil n=493 | Méfloquine n=483 |
| Tout type d'effet indésirable | 6 | 24 |
| Troubles neuropsychiatriques | 3 | 19 |
| insomnie | 2 | 12 |
| anxiété | 1 | 9 |
| cauchemars | 1 | 7 |
| vertige | 1 | 7 |
| dépression | 0 | 3 |
| troubles visuels | 0 | 3 |
| difficultés de concentration | 0 | 3 |
| autres* | 0 | 4 |
| Troubles gastro-intestinaux | 1 | 7 |
| Céphalées | 1 | 6 |
| Autres | 2 | 6 |

Tableau 25
Efficacité de la prophylaxie dans chacun des groupes au 60^{ème} jour après la fin du traitement (34)

| | Atovaquone/proguanil | Chloroquine/proguanil |
|--|----------------------|-----------------------|
| Nombre total d'individus | 486 | 477 |
| Nombre d'individus ayant une sérologie positive | 5 | 5 |
| Nombre d'individus ayant eu un accès palustre à P. falciparum | 0 | 0 |
| Taux d'efficacité minimum* (95%IC) | 100% | 100% |
| Taux d'efficacité maximum** (95%IC) | 100% | 100% |

* : taux d'efficacité minimum = $100 \times (1 - (\text{nombre de cas de paludisme confirmés} / \text{nombre de cas de paludisme confirmés ou de sérologie positive}))$. Un cas de paludisme confirmé est un patient chez lequel de l'ADN parasitaire a été détecté par PCR ou chez lequel l'examen parasitologique direct est positif.

** : taux d'efficacité maximum = $100 \times (1 - (\text{nombre de cas de paludisme confirmés} / \text{nombre de cas sains à 60 jours de suivi}))$

Etude 7 : Atovaquone/chlorhydrate de proguanil versus chloroquine/chlorhydrate de proguanil chez des enfants non immuns (35)

Cette étude multicentrique, randomisée a été réalisée en ouvert chez 221 enfants non immuns pesant de 11 à 50 kg voyageant dans une zone endémique.

L'un des groupes recevait Malarone[®] une fois par jour, 1 à 2 jours avant leur départ et jusqu'à 7 jours après leur retour ; la dose était adaptée en fonction du poids (tableau 13). L'autre groupe recevait de la chloroquine une fois par semaine, une semaine avant le départ jusqu'à quatre semaine après le retour et du proguanil, 1 à 2 jours avant le départ jusqu'à 4 semaines après le retour (les doses des produits étaient adaptées en fonction du poids). La tolérance et l'efficacité étaient évaluées les 7^{ème}, 28^{ème} et 60^{ème} jours après le voyage.

La fréquence des effets indésirables imputables aux traitements était significativement plus importante dans le groupe chloroquine/chlorhydrate de proguanil (14% versus 8%) notamment aux niveaux des troubles gastro-intestinaux (10% versus 5%).

Dans aucun des groupes il n'y a eu d'effets indésirables sévères ou ayant entraîné l'arrêt de la prophylaxie.

L'efficacité a été de 100% pour chacun des traitements prophylactiques.

6- Efficacité de Malarone[®] sur les autres espèces de *Plasmodium*

Malarone[®] n'a pas d'Autorisation de Mise sur le Marché dans le traitement ou la prophylaxie du paludisme dû à des espèces plasmodiales autres que *P. falciparum*.

A ce jour, l'efficacité de Malarone[®] sur les autres espèces de *Plasmodium* responsables du paludisme chez l'homme est encore très peu étudiée.

Son efficacité a été évaluée chez 65 sujets au total en Thaïlande (13, 37) dans le traitement d'un accès palustre à *P. vivax* et chez 148 sujets en Indonésie (38) dans la prophylaxie d'une infection à *P. vivax*. Une autre étude évaluant l'efficacité de Malarone[®] en prophylaxie d'une infection à *P. vivax* est en cours de réalisation en Colombie ; les résultats de cette dernière étude ne sont pas publiés à ce jour (39). Enfin, l'efficacité de Malarone[®] a été testée chez 7 patients dans le traitement d'une infection à *P. ovale* ou *P. malariae* au Gabon (40).

6-1- Malarone[®] et *P. vivax*

- traitement

Les premiers résultats obtenus sur l'efficacité de Malarone[®] dans le traitement d'une infection à *P. vivax* sont issus de l'étude de Looareesuwan et al., 1996 (13) ayant permis de déterminer la meilleure molécule pour une association à l'atovaquone. Parmi les différentes cohortes de patients l'une d'entre elles était composée de 19 patients souffrant d'une infection à *P. vivax*. Ils ont reçu 1000 mg d'atovaquone et 400 mg de proguanil pendant trois jours consécutifs. A J14 ils présentaient tous une guérison clinique mais 14 d'entre eux avaient une parasitémie à *P. vivax* récurrente entre J16 et J26. Cette nouvelle parasitémie a été attribuée à une rechûte faisant suite à la réactivation de formes hépatiques quiescentes, les hypnozoïtes, mais une recrudescence de parasites érythrocytaires persistants n'a pu être exclue.

Une autre étude réalisée également par Looareesuwan et al. en 1999 (37) montre qu'un traitement de trois jours par 1000 mg d'atovaquone et 400 mg de proguanil fait disparaître la parasitémie à *P. vivax* chez les 46 patients inclus, en deux à six jours. Dans cette étude deux patients, parmi les 35 ayant pu être suivis 12 semaines, ont présenté une nouvelle parasitémie 56 jours après le début du traitement. Il est admis qu'une parasitémie à *P. vivax* récurrente 30 jours ou plus après un traitement est due à la réactivation des hypnozoïtes (41). Cette étude confirme donc une efficacité de Malarone[®] sur les formes érythrocytaires de *P. vivax* mais pas sur les formes quiescentes hépatiques ou hypnozoïtes.

Le délai moyen de disparition de la fièvre observé dans cette étude (34 ± 25 h) est peu différent de ceux rapportés précédemment lors d'un traitement par méfloquine (28 ± 17 h) ou par chloroquine (33 ± 13 h) (42). Par contre, le délai moyen de clairance parasitaire (88 ± 29 h) est sensiblement plus long que ceux rapportés précédemment avec la méfloquine (59 ± 17 h) ou avec la chloroquine (48 ± 20 h) (42). Etant donné les 100% d'efficacité obtenus dans cette étude les auteurs concluent que cette différence dans le délai de clairance parasitaire n'apparaît pas importante au niveau clinique.

Ainsi, ces résultats laissent penser que Malarone[®] pourrait être une alternative thérapeutique au traitement d'une infection à *P. vivax* résistant à la chloroquine cependant, à ce jour, cette indication n'est pas validée par les autorités de santé.

- prophylaxie

L'étude de Ling et al. (38) a été conduite en Indonésie sur des populations migrants d'une zone non endémique d'Indonésie vers une zone endémique à *P. vivax* et *P. falciparum*. Cent

quarante huit individus ont reçu un traitement préventif par Malarone® à la posologie habituelle et 149 recevaient un placebo pendant 20 semaines. Un paludisme a été diagnostiqué chez 40 sujets pendant la prophylaxie : 37 dans le groupe placebo et 3 dans le groupe Malarone® (2 cas dus à *P. vivax* seul et 1 cas dû à une infection mixte à *P. vivax* et *P. falciparum*). L'efficacité de Malarone® était donc de 84% (IC 95%, 45%-95%) pour *P. vivax*, de 96% (IC 95%, 71%-99%) pour *P. falciparum* et de 93% (IC 95%, 77%-98%) toutes espèces confondues.

Les auteurs concluent que Malarone® est une alternative thérapeutique intéressante pour les individus non immuns voyageant en particulier en Asie de Sud-Est où les infections à *P. falciparum* multirésistants et à *P. vivax* chloroquinorésistants sont fréquentes.

6-2- Malarone® et *P. ovale*, et *P. malariae*

Les seules données publiées sur l'efficacité de Malarone® sur le paludisme à *P. ovale* et *P. malariae* sont issues d'une étude de Radloff *et al.* (24) évaluant cette spécialité dans le traitement des infections à *P. falciparum* au Gabon. Parmi les sujets inclus dans cette étude trois présentaient une infection à *P. ovale*, trois autres, une infection à *P. malariae* et un, une infection mixte à *P. ovale* et *P. falciparum*. Le traitement a été efficace chez les sept patients et aucun n'a présenté de rechute pendant les 28 jours de suivi. Cependant, les délais de clairance parasitaire et de disparition de la fièvre étaient plus long comparés à ceux obtenus chez les patients infectés par *P. falciparum* dans cette étude (24).

Malgré le petit nombre de patients, les auteurs concluent à l'efficacité de Malarone® sur les formes érythrocytaires du parasite dans le traitement des infections à *P. ovale* et *P. malariae*.

7- Profil de tolérance de Malarone®

La tolérance et l'apparition d'effets secondaires ont été étudiées dans les études cliniques évaluant l'efficacité du produit, dans le traitement de l'accès palustre simple et en prophylaxie.

7-1- Effets secondaires cliniques

- dans le traitement d'un accès palustre simple

Sept études cliniques contrôlées majeures (19, 21, 22, 23, 24, 26, 27) ont évalué l'efficacité et la tolérance de Malarone® dans le traitement d'un accès palustre simple à *P. falciparum*,

chez l'adulte et l'adolescent de plus de 12 ans, à la posologie de 4 comprimés en une prise unique par jour, trois jours consécutifs. Les événements indésirables rapportés chez plus de 5% des patients et attribuables au traitement étaient les douleurs abdominales (17%), les nausées (12%), les vomissements (12%), les céphalées (10%), les diarrhées (8%), l'asthénie (8%), l'anorexie (5%) et les vertiges (5%). Les effets indésirables étaient généralement modérés. Quatre des 436 adultes traités par Malarone® ont souffert d'un effet indésirable ayant entraîné l'arrêt du traitement.

Bien qu'il y ait une grande variabilité dans la nature et la fréquence des événements indésirables rapportés dans les études, ils étaient globalement similaires entre les groupes de traitements.

Quant à la tolérance de Malarone® chez l'enfant, elle a été évaluée dans une étude clinique (25) ayant inclus des enfants âgés de 3 à 12 ans. Les événements indésirables attribuables au traitement rapportés chez plus de 5% des enfants étaient des vomissements (10%) et des prurits (6%). Les effets indésirables étaient généralement modérés. Un patient sur les 116 du groupe Malarone® a dû arrêter prématurément le traitement en raison d'un effet indésirable. Il a été nécessaire de renouveler la prise de Malarone® chez treize enfants ayant souffert de vomissements dans l'heure suivant la première prise du traitement.

- dans la prophylaxie du paludisme

En prophylaxie, une méta-analyse d'études évaluant atovaquone/chlorhydrate de proguanil versus placebo chez des patients adultes vivant en zone d'endémie (36) a montré que la fréquence des événements indésirables dans le groupe de patients traités par atovaquone-proguanil était comparable à celle des groupes placebo. Chez 206 patients adultes, les événements indésirables les plus fréquents et attribués au traitement sont : céphalées (3%), douleurs abdominales (4%), dyspepsie (3%), douleur gastrique (3%), et diarrhée (<1%). Le traitement prophylactique a dû être interrompu chez 3 des 381 patients en raison d'effet indésirable.

Principalement deux études ont été réalisées chez des adultes non immuns (33, 34). La fréquence des événements indésirables attribuables au traitement par Malarone® était de 22% dans l'une et de 30% dans l'autre. Les effets indésirables les plus fréquemment rapportés étaient des troubles gastro-intestinaux (12% et 16%) : diarrhée, nausée, douleurs abdominales, aphtes buccaux et vomissements ; des troubles neuropsychiatriques (10% et 14%) : cauchemars, insomnie, vertiges, troubles visuels, anxiété, dépression ; des céphalées (4% dans les deux études) et des démangeaisons (1% et 2%). Un patient sur 511 dans l'étude de Hogh *et al.* (33) et 6 patients sur 493 dans l'étude de Overbosch *et al.* (34) ont présenté un effet indésirable ayant entraîné l'arrêt du traitement par Malarone®.

La tolérance du traitement prophylactique par Malarone® chez des enfants de moins de 40 kg a été évaluée dans une étude contre placebo au Kenya (31), et dans une autre étude comparant Malarone® à l'association chloroquine/proguanil chez des enfants non immuns (35).

Les événements indésirables les plus fréquemment rapportés dans la première étaient des douleurs abdominales (31%), des céphalées (14%) et des vomissements (7%) ; leur nature et leur fréquence étaient similaires dans les deux groupes. Aucun enfant n'a dû arrêter le traitement pour un effet indésirable.

Dans l'étude chez les enfants non immuns, des événements indésirables attribuables aux traitements ont été observés chez 8% des enfants et les plus fréquemment rapportés étaient les troubles gastro-intestinaux (5%) ; les événements indésirables étaient significativement moins importants que dans le groupe chloroquine/proguanil (14%), notamment au niveau des troubles gastro-intestinaux (10%).

7-2- Effets secondaires biologiques

- dans le traitement d'un accès palustre simple

Les patients impaludés ont présenté au cours des essais cliniques : une anémie, une thrombocytopénie modérée et des anomalies modérées des fonctions rénales et hépatiques. Ces paramètres tendaient à se normaliser au cours du traitement.

La fréquence des effets indésirables biologiques a également été évaluée par le calcul du pourcentage de patients montrant un résultat biologique significativement anormal à tout moment du suivi du traitement. Le pourcentage de patients avec des anomalies marquées de la glycémie ou de la fonction rénale était équivalent dans tous les groupes de traitement au sein de chaque étude. (Brochure produit Malarone®).

Le pourcentage de patients présentant une augmentation marquée des transaminases hépatiques ou de la bilirubine était significativement plus important dans le groupe atovaquone/chlorhydrate de proguanil par rapport au traitement comparateur. Les anomalies du bilan hépatique observées au cours des essais cliniques étaient réversibles.

Dans l'étude de Looareesuwan *et al.* (19) conduite en Thaïlande, une augmentation marquée des ALAT (alanine amino-transférase) ou des ASAT (aspartate amino-transférase) est survenue dans respectivement 16% et 13% des cas après traitement par atovaquone et chlorhydrate de proguanil. Six patients (7%) dans cette même étude ont montré des taux élevés de bilirubine. La fréquence de l'élévation des transaminases était similaire dans les

deux groupes de traitement. Les taux d'ALAT, d'ASAT et de bilirubine sont redevenus normaux pour la plupart des patients à la fin de l'étude c'est à dire quatre semaine après l'arrêt du traitement. Les anomalies hépatiques observées dans cette étude pourraient être liées à la forte incidence des infections à HBV (virus de l'hépatite B) en Thaïlande.

- dans la prophylaxie du paludisme

Aucune modification importante des bilans hématologique ou biologique n'a été rapportée lors des études cliniques.

8- Malarone® en pratique en France

8-1- Indication et place dans la prévention

Malarone® est indiqué dans les cas suivants :

- en prophylaxie du paludisme à *P. falciparum*, chez l'adulte et l'enfant de 40 kg et plus, en particulier chez les voyageurs se rendant dans les zones d'endémie où sévissent des souches résistantes aux amino-4-quinolines (chloroquine, amodiaquine...);
- en traitement de l'accès palustre simple (non compliqué) à *P. falciparum* chez l'adulte et l'enfant de 12 ans et plus.

Malarone® est donc conseillée (BEH 24/2002) (2) :

- en alternative à l'association chloroquine/proguanil, pour les séjours dans les pays de groupe 2,
- en alternative à la méfloquine ou à la doxycycline, pour les séjours dans les pays de groupe 3,
- en fonction des contre-indications, précautions d'emploi et interactions respectives identifiées chez le voyageur pour ces cinq spécialités.

8-2- Posologie et mode d'administration

Les comprimés devront être administrés avec un repas ou une boisson lactée, pour favoriser l'absorption de l'atovaquone et à heure fixe.

- Traitement curatif de l'accès palustre simple à *P. falciparum* :

La posologie est de 4 comprimés en une prise orale unique par jour durant 3 jours consécutifs à 24 heures d'intervalle.

- Traitement préventif du paludisme :

La posologie est de 1 comprimé par jour à heure fixe.

Le traitement doit être débuté la veille ou le jour du départ en zone d'endémie. Il sera poursuivi pendant la durée du risque d'impaludation et 7 jours après avoir quitté la zone d'endémie.

La durée d'administration dans cette indication devra être limitée à 3 mois.

Aucune adaptation posologique n'est recommandée :

- chez le sujet âgé,
- en cas d'insuffisance hépatique légère à modérée,
- en cas d'insuffisance rénale légère à modérée.

Aucune étude n'a été réalisée chez les patients atteints d'insuffisance hépatique sévère.

Chez les patients ayant une insuffisance rénale sévère (clairance de la créatinine inférieure à 30 mL/min), le traitement prophylactique par Malarone® est contre-indiqué.

8-3- Contre-indications

Malarone® est contre-indiqué en cas d'antécédents d'hypersensibilité à l'atovaquone ou au chlorhydrate de proguanil ou à tout autre composant de la formulation.

Malarone® est contre-indiqué pour le traitement prophylactique du paludisme à *P. falciparum* chez les patients ayant une insuffisance rénale sévère (clairance de la créatinine inférieure à 30 mL/min).

8-4- Précautions d'emploi

En l'état actuel des connaissances, L'AFSSAPS (Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé) juge les données d'efficacité disponibles insuffisantes pour établir les modalités d'utilisation de Malarone® en prophylaxie chez les personnes pesant moins de 40 kg et dans le traitement d'un accès palustre chez les enfants de moins de 12 ans.

L'efficacité de Malarone® n'a pas été évaluée en cas d'accès palustre compliqué, d'accès grave ou d'autres complications éventuelles telles que une hyperparasitémie, un œdème pulmonaire, une insuffisance rénale.

En cas de réapparition d'un accès palustre ou d'échec de la prophylaxie malgré un traitement initial bien conduit par Malarone®, les patients doivent être traités par un autre traitement antipaludique schizonticide.

L'absorption de Malarone® pouvant être réduite en cas de diarrhée importante ou de vomissements itératifs, une autre thérapeutique doit être envisagée chez ces patients. Si un traitement par Malarone® est néanmoins instauré, l'état clinique et la parasitémie devront être étroitement surveillés.

8-5- Interactions médicamenteuses

- Associations déconseillées :

Rifampicine et rifabutine : diminution respectivement d'environ 50% et 34% des taux plasmatiques d'atovaquone.

- Associations nécessitant une précaution d'emploi :

Métoclopramide et tétracycline : diminution significative des taux plasmatiques d'atovaquone. Si ces traitements sont associés, l'état clinique du patient et la parasitémie devront être étroitement surveillés.

- Associations à prendre en compte :

Indinavir : l'administration concomitante d'atovaquone et d'indinavir a entraîné une diminution significative de l'ordre de 23% (IC 90% : 8-35%) de la concentration plasmatique minimale et de 9% de l'AUC (IC 90% : 1-18%) de l'indinavir. Il convient de rester vigilant sur le risque d'inefficacité de l'indinavir.

8-6- Grossesse et allaitement

- grossesse :

Les études de reproduction réalisées chez l'animal (rat et lapin) n'ont pas mis en évidence d'effet tératogène pour des doses d'atovaquone et de chlorhydrate de proguanil allant

jusqu'à respectivement 50 et 20 mg/kg/jour chez le rat ou jusqu'à 100 et 40 mg/kg/jour chez le lapin. Chez la lapine recevant de l'atovaquone seule à des doses inférieures ou égales à 1200 mg/kg/jour, une augmentation de l'incidence des résorptions embryonnaires et une diminution de la taille et du poids des fœtus ont été observées. Ces effets semblent dus à une toxicité secondaire de l'atovaquone chez les lapines gravides.

En l'absence d'effets tératogènes chez l'animal, un effet malformatif dans l'espèce humaine n'est pas attendu. En effet, à ce jour, les substances responsables de malformations dans l'espèce humaine se sont révélées tératogènes chez l'animal au cours d'études bien conduites sur deux espèces.

En clinique, aucun effet malformatif ou foeto-toxique n'est apparu à ce jour avec chacun des principes actifs pris isolément. Toutefois, le suivi de grossesses exposées à cette association est insuffisant à ce jour pour exclure tout risque.

En conséquence, l'utilisation de Malarone® pourra être envisagée chez la femme enceinte si nécessaire.

- Allaitement

Chez la rate, les concentrations d'atovaquone dans le lait atteignent 90% des concentrations plasmatiques.

Chez la femme, l'excrétion de l'atovaquone dans le lait n'est pas connue, de faibles quantités de proguanil y sont retrouvées. L'allaitement est donc déconseillé pendant le traitement.

8-7- Effets indésirables

Ont été fréquemment rapportés : troubles digestifs à type de vomissements, nausées, diarrhées, douleurs abdominales. Ont également été rapportés : céphalées, anorexie, toux. Des anomalies réversibles du bilan hépatique ont été observées au cours des essais cliniques.

Les effets indésirables de chacun des principes actifs peuvent être observés :

- liés plus spécifiquement au proguanil :
 - quelques rares cas de troubles hématologiques à type d'anémie mégaloblastique et de thrombopénie ont été observés chez des sujets insuffisants rénaux traités par proguanil seul,
 - aphtes, stomatites, ulcérations buccales,
 - dépigmentation ou perte de cheveux,
 - réaction allergique (urticaire, œdème de Quincke), éruption cutanée, prurit.

- liés plus spécifiquement à l'atovaquone :
 - élévation du taux d'enzymes hépatiques, hyperamylasémie,
 - hyponatrémie,
 - fièvre.

8-8- Surdosage

Aucune étude n'a rapporté de cas de surdosage. Un traitement symptomatique approprié doit être mis en route en cas de surdosage.

2^{ème} PARTIE :

Intérêt d'un nouveau traitement préventif et perspectives d'avenir pour la prise en charge du paludisme

Les données épidémiologiques montrent que cette pathologie est en recrudescence à cause de la chimiorésistance du parasite.

Quels sont les atouts de Malarone[®] face aux résistances ?

Quels sont les moyens de lutte et de prévention en développement pour demain ?

Enfin, un vaccin est-il réalisable ?

1- Epidémiologie : une pathologie en recrudescence

Aujourd'hui éradiqué d'Europe, de Russie et d'Amérique du Nord, le paludisme est en recrudescence dans les zones tropicales du globe. Les populations de ces zones, soit plus de la moitié de la population mondiale, mais également les voyageurs s'y rendant, peuvent être contaminés par cette parasitose. Malgré les efforts mondiaux réalisés dans la lutte contre le paludisme, cette maladie infectieuse reste une des causes majeures de morbidité et de mortalité dans les régions tropicales et subtropicales (43).

1-1- Le paludisme dans le monde

L'Afrique est la zone du globe la plus touchée.

Les estimations chiffrées à propos du paludisme à travers le monde laissent songeur :

- 40% de la population mondiale est touchée ;
- parmi les 50 millions de voyageurs annuels transitant dans les zones impaludées, 50 000 personnes contractent le paludisme chaque année ;
- on dénombre au total 300 à 500 millions de cas cliniques de paludisme par an à travers le monde selon l'OMS (Organisation mondiale de la santé) ;
- le paludisme entraîne 1 à 3 millions de décès annuels ;
- les patients atteints de malaria occupent trois lits d'hospitalisation sur dix dans les zones touchées par l'endémie ;
- un enfant meurt toutes les 40 secondes de paludisme dans le monde. (44)

1-1-1- Conditions nécessaires à la prolifération du parasite

- La transmission

La transmission du paludisme peut se faire de trois façons : par la piqûre d'un anophèle infecté, par l'inoculation lors de transfusions (sang de donneur infecté) ou de piqûres (matériel ayant précédemment servi à des patients infectés) enfin, la transmission peut être congénitale.

- Le vecteur transmetteur : l'anophèle femelle

Parmi plus de 300 espèces d'anophèles existantes, environ 60 sont vectrices des *Plasmodium* humains. En Afrique, les deux principaux complexes d'espèces vectrices sont *Anopheles funestus* et *A. gambiae*. Cette dernière espèce se nourrit de préférence sur

l'homme et a une longue durée de vie ce qui la rend extrêmement efficace dans la transmission du paludisme d'un individu à un autre. Ainsi la fréquence des piqûres infectantes est rarement supérieure à 5 par an en Asie ou en Amérique du Sud alors que plus de 1000 piqûres infectantes par an ont pu être enregistrées dans certaines régions d'Afrique sub-saharienne (45).

La présence d'eau, indispensable au développement larvaire et nymphal des anophèles est la condition nécessaire pour leur pullulation. Cette condition est remplie toute l'année dans les régions humides (tropiques, équateur) où une recrudescence du vecteur est enregistrée à la saison des pluies.

Une autre condition nécessaire à la multiplication du *Plasmodium* chez le vecteur est une température minimale continue suffisante pour le déroulement de la sporogonie. Pour le moins exigeant qui est *P. vivax*, il faut une température supérieure à 16°C pendant trois semaines et pour le plus exigeant, *P. falciparum*, la température doit être au minimum de 21°C pendant trois semaines.

Ainsi, suivant les conditions climatiques, la transmission sera continue toute l'année et entraînera un état immun, ou elle sera saisonnière ou intermittente auquel cas, il n'y a pas d'installation d'état immun.

- Le receveur : l'homme

Les conditions nécessaires à la transmission du paludisme sont la présence d'humains parasités et la présence d'humains "neufs" pour le parasite qui peuvent être des enfants, des voyageurs ou des migrants.

Notons qu'il n'y a pas d'immunité naturelle vis à vis du paludisme, mais certaines conditions auront un effet favorable ou défavorable pour les humains.

Les circonstances favorables qui entraînent une relative protection vis-à-vis du paludisme sont :

- la présence d'hémoglobine S entraînant la sicklémie traduite sur un frottis par des hématies falciformes,
- la présence d'hémoglobine F qui protège les nouveaux-nés pendant les premières semaines de la vie,
- un régime exclusivement lacté déficient en acide para-aminobenzoïque,
- une malnutrition protéique.

Quant aux circonstances défavorables, entraînant un caractère aggravant du paludisme, elles sont :

- une déficience en G6PD (glucose-6-phosphodeshydrogénase) qui représente une risque hémolytique,
- une déficit immunitaire,
- une grossesse.

- L'endémie palustre :

Elle est appréciée à l'aide d'indices épidémiologiques qui sont relatifs à l'anophèle ou à l'homme.

Les indices relatifs à l'anophèle sont :

- indice sporozoïtique : pourcentage d'anophèles porteurs de sporozoïtes qui sont les formes infectantes, les véritables transmetteurs de la maladie humaine ;
- indice oocystique : pourcentage d'anophèles porteurs d'oocystes.

Les indices relatifs à l'homme sont :

- indice plasmodique : pourcentage d'humains porteurs de trophozoïtes sanguins ;
- indice gamétocytaire : pourcentage d'humains porteurs de gamétocytes sanguins qui sont les véritables réserves de parasites puisque c'est le seul stade capable de se développer chez l'anophèle ;
- indice splénique : pourcentage d'enfants entre 2 et 9 ans présentant une splénomégalie. En région d'endémie, les réinfestations successives des enfants entraînent un paludisme viscéral évolutif dont l'un des signes est la splénomégalie.

Ce dernier indice permet le classement en zones d'hypo-endémie (indice splénique de 0 à 19%), en zones de méso-endémie (indice splénique de 20 à 49%), en zones d'hyper-endémie (indice splénique de 50 à 75%) en zones d'holo-endémie (indice splénique supérieur à 75%).

- Répartition des espèces (2) :

Plasmodium vivax est le moins exigeant en température. Son contrôle est pratiquement achevé en Europe occidentale. Il est présent autour du bassin méditerranéen : Turquie, Moyen Orient, Afrique du Nord, dans toute la partie tropicale de l'Asie, dans les régions de basse altitude d'Amérique Centrale et du Sud. Enfin, sur le continent africain, il est peu important en Afrique tropicale, absent de l'Afrique de l'Ouest, et présent à Madagascar, l'Ile Maurice et les Comores.

Plasmodium ovale est une espèce moins répandue ; elle est essentiellement localisée en Afrique centrale et occidentale.

Plasmodium malariae est rarement observé. Il est essentiellement localisé en Afrique tropicale avec quelques foyers en Afrique du Nord. On peut également le rencontrer en Iran, ainsi qu'en Amérique Centrale et du Sud, au niveau de la mer des Caraïbes et du golfe du Mexique.

Plasmodium falciparum, quant à lui est prépondérant dans les régions tropicales : en Afrique subsaharienne surtout, ainsi qu'à Madagascar, en Asie du Sud et du Sud-Est, en Amérique Centrale et du Sud.

Les zones impaludées sont donc sensibles à certains facteurs épidémiologiques : sensibilité locale génétique et immunologique de la population au parasite, pluviométrie, températures, ainsi que tout facteur modifiant ou altérant la reproduction du moustique vecteur.

Ainsi, l'existence locale de services de santé publique, l'utilisation efficace de traitements médicamenteux ou d'actions de prévention peuvent limiter la transmission du parasite et réduire l'impact de la maladie sur les populations.

1-1-2- Facteurs en cause dans l'aggravation de l'endémie palustre

Le paludisme a été éradiqué des Etats-Unis et de la plus grande partie de l'Europe pendant la première moitié du XX^{ème} siècle grâce à des modifications de l'agriculture, de la construction des habitations et au développement de méthodes de contrôle du vecteur. Dans les années 1950-1960, un insecticide très efficace contre les vecteurs, le DDT, a été utilisé dans une campagne mondiale d'éradication du paludisme ; cette campagne a d'abord été très efficace dans plusieurs pays tels que l'Inde, le Sri Lanka, l'Union Soviétique. Cependant, le coût du programme, le refus de certaines communautés à répéter les pulvérisations d'insecticide et l'émergence de résistances au DDT ont entraîné l'abandon de ce programme à la fin des années 60 (46). Enfin, à l'exception de quelques petites campagnes pilotes aucun effort conséquent n'a été réalisé en Afrique sub-saharienne.

C'est ainsi que pendant 25 ans, jusqu'à la fin des années 1990, aucun moyen n'a été mis en œuvre pour lutter contre cette endémie. Sur les 1 223 molécules développées entre 1975 et 1996 seulement trois étaient des antipaludiques.

Récemment, la situation s'est détériorée notamment en Afrique sub-saharienne où ont lieu 90% des décès dus au paludisme.

Les causes de cette aggravation sont multiples. La plus importante est la capacité de *P. falciparum* à développer des résistances aux traitements efficaces et peu chers tels que la chloroquine et l'association sulfadoxine-pyriméthamine. Dans le sud-est asiatique, *P. falciparum* est maintenant résistant à la plupart des traitements antipaludiques et des souches de *P. vivax* résistantes à la chloroquine commencent à apparaître. Une autre cause d'aggravation de l'endémie est la résistance des moustiques aux insecticides. D'autre part, les guerres en Afrique et ailleurs sont responsables de la transmission du paludisme aux populations réfugiées. Des modifications environnementales telles que la construction de petits barrages en Ethiopie ou des modifications climatiques peuvent également être à l'origine d'une amplification de l'endémie palustre. L'augmentation du nombre de voyageurs vers des zones d'endémie participe également à ce phénomène. Enfin, un autre facteur en cause est l'augmentation de la population vivant en zone d'endémie palustre qui a doublé ces vingt dernières années dans de nombreux pays où sévit cette parasitose (45).

1-2- Le paludisme d'importation en France

Les principales données de ce paragraphe proviennent du BEH n°24/2002 (2) et de l'article de Danis M. *et al.* (47).

En France, le paludisme est une maladie d'importation. Près de deux tiers des cas importés surviennent chez des sujets originaires d'Afrique subsaharienne qui semblent moins bien informés des mesures prophylactiques nécessaires ou dissuadés par leur coût.

1-2-1- Une tendance évolutive en France

Depuis 1996, une augmentation nette du nombre de cas de paludisme d'importation est observée en France parallèlement à l'accroissement des flux de voyageurs vers les zones d'endémie (près de 3,2 millions en 2000). En 1998, on dénombrait 5000 cas par an. En 1999, le Centre National de Référence pour les Maladies d'Importation (CNRMI) a estimé à 7127 le nombre de cas de paludisme d'importation survenus en France. En 2001 le paludisme d'importation s'est stabilisé puisqu'il a été estimé à 7223 cas par le CNREPIA (Centre national de référence de l'épidémiologie du paludisme d'importation et autochtone).

L'Afrique est le lieu de contamination le plus important (95%) pour les personnes résidant en France ; cette spécificité est moins marquée dans d'autres pays tels que le Royaume-Uni (57%), l'Allemagne (76-79%), l'Italie (88%) ou les Etats-Unis (44%) (47). Au total, 17 pays, en majorité africains sont à l'origine de 90% des contaminations diagnostiquées en France.

Le nombre de décès en 1999 semble comparable à celui des années précédentes (15 à 20 par an). Les chimiorésistances de *Plasmodium falciparum* à la chloroquine et au proguanil restent stables en 1999/2000 et 2001 pour les souches d'Afrique analysées par le Centre National de Référence de la Chimiorésistance du Paludisme (CNRCP).

1-2-2- La démographie en France

Les caractéristiques des cas de paludisme recueillis de 1995 à 1997 (n=5498) au sein d'un réseau de surveillance étaient les suivantes : l'âge moyen des sujets était de 29,8 ±17 ans ; le sex-ratio H/F était de 1,68. Ces patients étaient originaires de pays non endémiques dans 58% des cas et d'Afrique dans 40% des cas. Les données de 1998 montrent une augmentation significative de la proportion d'africains contaminés.

1-2-3- La répartition des espèces parasitaires

L'infection était monospécifique dans 94,8% des cas, dont 84,8% de *P. falciparum*, 6,3% de *P. ovale*, 6,1% de *P. vivax*, et de 2,8% de *P. malariae*. Dans les cas d'infections à plusieurs parasites, *P. falciparum* était pratiquement toujours présent dans l'association.

P. falciparum étant l'espèce dominante en Afrique, il est responsable de la grande majorité des infections diagnostiquées en France. La proportion d'infections dues à cette espèce s'est stabilisée aux environs de 80% depuis 1986.

1-2-4- Présentation clinique – évolution de la maladie

En France, le paludisme est responsable de 10 à 24 morts par an qui sont toujours imputables à *P. falciparum* ; 92% des accès palustres sont des formes non compliquées, alors que 4% se présentent d'emblée sous une forme grave ; 97% d'entre eux évoluent favorablement et 0,4% aboutit au décès.

Le délai d'apparition des symptômes (entre la date du retour du pays d'endémie et la date d'apparition des premières manifestations cliniques) est en moyenne de 7 jours mais

présente de grandes variations en fonction de l'espèce plasmodiale en cause : 6 jours pour *P. falciparum*, 1 mois pour *P. malariae*, 2 mois pour *P. vivax*, et 3 mois pour *P. ovale*. Quel que soit le diagnostic d'espèce, 76% des patients sont hospitalisés et 24% traités en ambulatoire.

Le délai diagnostique représente la durée écoulée entre le retour de la zone d'endémie et la mise en évidence du parasite. Sa valeur médiane est de 12 jours (10 jours pour *P. falciparum* seul). Un tiers des cas est diagnostiqué dans les 7 jours qui suivent le retour de la zone de contamination, 78% des cas le sont dans le mois, 87% au bout de 60 jours, et plus de 90% à partir de 3 mois. Ce retard diagnostique confirme la nécessité du maintien d'une vigilance particulière à l'évocation du diagnostic au cours des deux premiers mois suivant le retour d'une zone d'endémie (47), en particulier pour *P. falciparum*, responsable d'accès susceptibles d'évoluer vers des accès palustres graves, dits pernicioeux, mortels en l'absence de traitement.

Soixante quinze pour-cents des patients présentant un accès palustre au retour d'un voyage en zone d'endémie n'utilisaient aucun type de protection contre les piqûres de moustique (moustiquaire, répulsif). Cinquante deux pour-cents déclarent s'être soumis à une chimioprophylaxie, mais seulement 38,2% d'entre eux l'ont utilisée correctement en termes de durée et de modalité de prise.

En conclusion, l'augmentation du nombre de cas de paludisme d'importation en France n'est pas isolée ; elle s'observe également dans la plupart des pays européens et aux Etats-Unis. Elle est due à plusieurs facteurs, dont les principaux sont :

- l'augmentation du nombre de voyageurs vers les zones d'endémie, en particulier l'Afrique de l'Ouest ;
- une négligence des mesures de prévention ;
- une diminution de sensibilité, voire des phénomènes de résistance, à l'association chloroquine-proguanil.

2- La chimiorésistance du parasite

2-1- Définition de la chimiorésistance

La chimiorésistance correspond à la capacité d'une souche de parasites à se multiplier ou à survivre en présence de concentrations d'une drogue qui détruit normalement les parasites de la même espèce ou prévient leur multiplication.

Les différents types de résistances identifiés ont pour origine des mutations chromosomiques.

Une résistance peut être relative (amenant à augmenter les doses dans la limite de tolérance chez l'hôte) ou complète (à la dose maximum tolérée chez l'hôte).

La chimiorésistance est à distinguer de l'échec thérapeutique. La chimiorésistance est définie par des critères biologiques et l'échec thérapeutique par des critères cliniques. L'échec thérapeutique correspond à l'absence ou l'insuffisance d'action du médicament après administration d'une dose normalement efficace. Il n'est pas forcément dû à une chimiorésistance. Ainsi, l'analyse d'un échec doit discriminer une erreur de posologie ou une mauvaise observance du traitement, une absorption insuffisante, une métabolisation ou une excrétion inhabituelle (vérification d'un taux sanguin efficace du médicament) et la résistance du parasite.

Le phénotype de résistance, déterminé par culture du parasite, ne se traduit pas nécessairement par un échec thérapeutique (particulièrement chez les sujets ayant acquis des défenses lors d'épisodes antérieurs de paludisme) ; inversement, la chimiorésistance n'est qu'une des causes possibles d'échec thérapeutique. (48)

La chimiorésistance concerne essentiellement *P. falciparum*, l'agent du paludisme grave ; c'est un des facteurs de la recrudescence mondiale du paludisme en zone tropicale. La chimiorésistance de *P. vivax* concerne les antimétabolites et, depuis quelques années, la chloroquine en Asie. La chloroquine reste très généralement efficace sur *P. vivax*, *P. ovale* et *P. malariae*.

2-2- Facteurs influençant l'émergence de chimiorésistances

Les facteurs d'apparition et de diffusion de résistances sont multiples. Ils sont liés à la biologie des hôtes, à celle du parasite, à l'antipaludique et à son utilisation.

2-2-1- Les hôtes

Le parasite se multiplie chez deux hôtes successifs : le moustique et l'homme. Certaines caractéristiques internes à chacun des hôtes ou environnementales seront donc liées à l'émergence et à la prolifération des chimiorésistances.

Ainsi, les mouvements de populations humaines et anophéliennes sont reconnus comme facteurs favorisant.

Le degré d'immunisation de l'homme est un autre facteur influençant l'émergence de résistances. En effet, la probabilité d'apparition d'une résistance est fonction du nombre total de parasites exposés au traitement et donc de l'importance de la population parasitaire chez l'hôte. Le risque est donc plus grand pendant la phase aiguë de l'infection et chez une population peu immunisée (49).

Un autre facteur pouvant être incriminé est le mode de multiplication du parasite chez l'homme : tous les stades parasitaires évoluant chez l'homme sont haploïdes ce qui empêche les recombinaisons méiotiques et donc permet la multiplication des résistances (48).

2-2-2- Le parasite

Le *Plasmodium* dispose de capacités adaptatives remarquables par le polymorphisme et la plasticité de son génome. Ainsi, il est capable de développer extrêmement rapidement des phénomènes d'échappement et de résistance vis à vis des stress auxquels il est soumis.

2-2-3- La pression médicamenteuse

Deux occasions s'offrent aux mutants pharmacorésistants d'être sélectionnés après le traitement : la première, lorsque des parasites de la population initialement infectante survivent à l'action du ou des médicaments utilisés pour le traitement ; la seconde, lorsque de nouvelles générations de parasites sont exposées à des concentrations de principe actif

sous-optimales pendant la phase d'élimination du produit. On ne sait pas avec certitude laquelle a le plus d'importance du point de vue de l'installation, de la propagation et de l'intensification de la pharmacorésistance (50). Des études faites sur des infections recrudescences montrent que les parasites survivants sont beaucoup plus résistants *in vitro* que les parasites avant traitement, et que les malades souffrant d'une infection recrudescence sont plus exposés au risque d'un échec du deuxième traitement avec le même médicament (51, 52). D'autre part, des travaux effectués au Kenya avec de la sulfadoxine / pyriméthamine montrent que l'exposition après traitement, lors de la phase d'élimination du produit, à de nouveaux parasites exerce également une puissante force sélective de mutants résistants. (53)

L'émergence de résistances par pression médicamenteuse est donc directement liée à la concentration du produit auquel le parasite est exposé. Ainsi le profil pharmacocinétique de l'antipaludéen utilisé joue un rôle non négligeable : un antipaludéen à longue demi-vie d'élimination expose à une fourchette de concentrations sanguines où s'exerce une pression sélective en faveur de la résistance plus grande (50). De même, l'automédication peut être à l'origine d'une forte pression médicamenteuse par l'utilisation de traitements inadaptés ou de traitements efficaces mais à des doses sous-optimales (50). Enfin, les contre-façons ou traitements de mauvaise qualité contribuent à accroître la pression médicamenteuse, sans pour autant assurer un traitement efficace du paludisme (54).

Ainsi, la façon dont les gens perçoivent l'étiologie de la maladie et dont ils réagissent ensuite à la maladie, qu'il s'agisse de leur comportement de recours ou non à un traitement, puis du respect ou non des schémas thérapeutiques recommandés, influent énormément sur l'utilisation de tout antipaludique et pèsent beaucoup sur le risque d'émergence de résistance. (50)

2-2-4- L'intensité de la transmission du paludisme

L'intensité de la transmission est souvent définie du point de vue du taux d'inoculation entomologique (TIE), exprimant le nombre de piqûres de moustique infectantes par individu et par période de temps (50).

La probabilité pour un paludéen donné d'être à nouveau exposé au paludisme peu après le traitement et lorsque ses concentrations sanguines en médicament pourraient encore se situer dans la fourchette où s'exerce une pression sélective en faveur de la résistance (c'est-

à-dire suffisamment forte pour détruire la plupart des parasites sensibles, mais trop faibles pour éliminer les parasites résistants) est bien plus grande dans les régions d'intense transmission du paludisme. (50)

Cependant, on n'a pas élucidé les rapports existant entre l'intensité de la transmission et l'apparition d'une pharmacorésistance. D'aucuns ont émis l'idée que la résistance a d'avantage de chances de se produire dans les situations de faible transmission (55, 56), dans les situations de forte transmission (57, 58, 59), ou encore dans les deux cas, mais jamais dans les situations de transmission intermédiaire (60, 61).

Les rapports entre l'intensité de la transmission et la structure génétique du parasite sont évidemment complexes et fonction d'autres facteurs d'intervention ou de confusion tels que la pression médicamenteuse globale, la multiplicité des clones et les facteurs comportementaux qui influencent sur l'utilisation complète et appropriée des médicaments. Il existe des raisons de penser que ces facteurs contribuent beaucoup à faciliter l'installation d'une résistance là où la transmission est intense (50).

Toutefois, il est possible d'établir un rapport entre l'intensité de la transmission, l'immunité acquise, l'expression de la maladie clinique et l'émergence de résistances.

L'immunité acquise est généralement plus grande là où la transmission est intense, ce qui instaure des rapports complexes entre infection, maladie et traitement (50).

Dans les zones de transmission saisonnière très faible ou instable, soit une immunité efficace n'apparaît pas chez tous les individus, soit toute immunité qui apparaît décline avant la survenue d'une infection ultérieure. Donc la plupart des sujets infectés présentent des symptômes de maladie. Dans le nord-ouest de la Thaïlande, par exemple, on a estimé que 87% des sujets infectés présentent des symptômes, indépendamment des classes d'âge (62). Par contre, dans les zones de forte transmission, les infections asymptomatiques sont courantes, et l'âge compte beaucoup dans la probabilité de contracter la maladie clinique, les jeunes enfants y étant beaucoup plus exposés que les adultes. Chez les enfants plus âgés et les adultes les infections accompagnées de symptômes ont tendance à être plus bénignes (63).

Les sujets infectés ne cherchent à se faire soigner que lorsque des symptômes apparaissent et la probabilité de recours au traitement est fonction de la gravité de ces symptômes. Lorsque la transmission est faible il est fort probable que la plupart des sujets infectés auront recours à une forme ou une autre de traitement. En revanche, lorsque la transmission est forte, une proportion beaucoup plus faible de sujets infectés cherche à se faire soigner et les infections sont moins nombreuses à être couvertes, même par un système de santé

fonctionnant de façon satisfaisante. Les parasites résistants ont ainsi l'occasion de s'accroître en chiffres absolus et de se propager dans la population (50).

2-3- Méthodes de détermination des chimiorésistances

Dans le paludisme, les tests *in vitro* permettant de déterminer la sensibilité ou la résistance d'une souche sont très difficiles à obtenir en raison des difficultés de la culture de *P. falciparum* dont la croissance est lente. L'OMS recommande donc que les stratégies thérapeutiques soient fondées sur des tests *in vivo* en tentant d'exclure les causes d'échec autres que la résistance et les causes de succès liées à l'immunité. Enfin, les tests génétiques échappent aux contraintes des tests *in vivo* et *in vitro*. Plus encore qu'en microbiologie, le choix des patients, leur lieu de contamination et les méthodes de laboratoire influencent la description des chimiorésistances de *P. falciparum*. (48)

Le test *in vivo* standard de l'OMS (1965) ne prend pas en compte la réponse clinique. Le succès (S) correspond à l'absence de parasites entre le 7^{ème} et le 28^{ème} jour suivant le début d'un traitement bien conduit (35 jours pour la méfloquine) ; l'échec correspond à la persistance de parasites asexués dans les hématies du patient au 3^{ème} jour à une valeur supérieure à 25% de la valeur initiale (RIII) ou à la persistance de parasites asexués dans les hématies du patients au 3^{ème} jour à une valeur inférieure à 25% de la valeur initiale sans disparition au 7^{ème} jour (RII) ou à la réapparition de parasites asexués dans les hématies du patient entre le 7^{ème} et le 28^{ème} jour (35^{ème} pour la méfloquine) (RI). (48)

Depuis 1996, le test d'efficacité thérapeutique de l'OMS prend en compte les réponses clinique et parasitologique et sépare la réponse clinique adéquate (RCA) de l'échec thérapeutique précoce (ETP) et de l'échec thérapeutique tardif (ETT). (48)

Le test *in vitro* standard de l'OMS (64) mesure le niveau d'action du médicament sur 48 heures de croissance par comptage microscopique. Cependant, les concentrations inhibitrices déterminées par mesure de l'incorporation d'hypoxanthine radiomarquée ont une plus grande précision. Les tests isotopiques sont corrélés entre eux mais ne le sont pas avec le test *in vitro* standard de l'OMS. Ce dernier est tombé en désuétude ainsi que les tests portant sur plusieurs générations asexuées de parasites. Les résultats des tests *in vitro* discutés ci-après correspondent tous à des tests isotopiques (tableau 26).

Les concentrations inhibitrices (50%) définissent un seuil de résistance par rapport à la moyenne des valeurs observées pour des isolats sensibles (moyenne géométrique + 2 écarts-types) et par corrélation avec les tests *in vivo*. Les concentrations inhibitrices 90%,

99% et les concentrations minimum inhibitrices (CMI) sont des valeurs difficiles à exploiter car imprécises avec un test sur un seul cycle de maturation. (48)

Tableau 26

Résultats des tests *in vitro* de résistances de souches plasmodiales après échec thérapeutique (données du CNRCP)

| | Nombre d'échecs d'un traitement et/ou d'une prophylaxie correcte | Seuil de résistance retenu (CI ₅₀) | Taux d'isolats résistants |
|-------------|--|--|---------------------------|
| chloroquine | 485 | 100 nmol/L | 84% |
| Proguanil | 45 | 50 nmol/L | 89% |
| Méfloquine | 20 | 20 nmol/L | 90% |

Enfin, les tests génomiques mettent en évidence des génotypes associés à la résistance aux antifoliques (PfDHFR) aux antifoliques (PfDHPS), à la chloroquine (PfMDR1 ou Pfcg2) ou à l'atovaquone (PfCYTb). Leur valeur prédictive est satisfaisante pour PfDHFR, médiocre pour PfMDR1 et PfDHPS et est en cours d'évaluation pour Pfcg2. Un nouveau test génomique portant sur Pfcrt, associé à la résistance à la chloroquine de *P. falciparum*, et ce de manière plus importante que Pfcg2, a été initié au cours de l'année 2000 (65). La présence à 100% de l'allèle mutant de Pfcrt observée dans une série d'échecs prophylactiques vrais à l'association chloroquine plus proguanil confirme l'intérêt de ce marqueur (66).

Pour PfDHFR, en prenant pour seuil de résistance une CI₅₀ de 50 nmol/L de cycloguanil, 95% des 148 isolats de voyageurs ayant un codon sauvage en position 108 (Ser) sont sensibles et 91% des 68 isolats ayant une substitution de la sérine par l'asparagine au codon 108 (S108N) sont résistants (67, 68). La mutation S108N est retrouvée chez 95% des isolats de voyageurs en échec prophylactique du proguanil en France (n=55).

La valeur prédictive de la mutation N86Y du gène PfMDR1 de la chloroquino-résistance de *P. falciparum* en Afrique ne dépasse pas 80% (69).

Un polymorphisme particulier des répétitions κ et ω du gène Pfcg2 de 99 isolats africains mono-alléliques est observé pour 2 des 43 isolats sensibles et 44 des 56 isolats résistant *in vitro* à la chloroquine (70).

Les isolats proviennent d'enquêtes en zone d'endémie (résidents) ou de cas de paludisme importés en France (voyageurs). Seuls sont considérés, pour la localisation géographique des souches, les patients n'ayant pas quitté la zone dans le mois précédant l'isolement. Seuls sont considérés pour la détermination des taux de résistance, les isolats de patients n'ayant pas reçu de traitement ni chimioprophylaxie dans le mois précédant l'isolement. La densité de peuplement et le niveau socio-économique du lieu de contamination influencent la transmission, ce qui brasse les génotypes S et R, et influence le niveau de résistance (pression médicamenteuse). La micro-épidémiologie est une donnée essentielle à l'analyse des chimiorésistances du paludisme. (48)

2-4- Les mécanismes de résistance du parasite

Les mécanismes de chimiorésistance opposés par le parasite aux antipaludiques commencent à être mieux connus. Ils sont complexes, généralement associés à une ou plusieurs mutations chromosomiques et dépendent du type de traitement. Au cours des dix années écoulées, de nombreux génotypes associés à la résistance de *P. falciparum* aux antipaludiques majeurs ont été identifiés.

2-4-1- Mécanismes de résistance à la chloroquine et aux lysomotropes

La chloroquine est une base faible lysomotrope, capable de traverser la membrane de l'érythrocyte parasité. Son activité la plus spectaculaire est sa capacité à se concentrer à partir de niveaux nanomolaires hors du parasite jusqu'à des niveaux millimolaires dans la vacuole digestive du trophozoïte érythrocytaire. C'est à ce niveau qu'elle inhibe la digestion de l'hémoglobine et qu'elle se fixe à l'hématine (71). Elle joue donc un rôle de détoxification de l'hème.

Des résistances à la chloroquine ont été rapportés dès 1961.

Le mécanisme moléculaire de la chloroquino-résistance n'est pas encore élucidé. La caractéristique commune des isolats résistants est une altération de l'accumulation de la chloroquine dans la vacuole digestive. Les théories dominantes suggéraient que ces défauts d'accumulation étaient dus à une altération des gradients de pH ou de la perméabilité membranaire en conséquence d'un mécanisme d'efflux. Il apparaît maintenant que la chloroquino-résistance implique une captation diminuée de la molécule. Une spécificité structurale élevée de l'accumulation de médicament est observée, ce qui implique le rôle soit

d'un transporteur/perméase spécifique, soit d'une molécule associée à l'hématine dans la vacuole digestive (72).

La chloroquino-résistance est réversible par le verapamil qui est un modulateur de la résistance dans les cellules cancéreuses de mammifères multi-résistantes (MDR). Cette découverte a abouti à la localisation dans la membrane de la vacuole digestive de *P. falciparum* d'une protéine, Pgh1, analogue aux P-glycoprotéines surexprimées dans les cellules cancéreuses où elles fonctionnent comme des pompes expulsant les médicaments cytotoxiques (ATP-binding cassette transporter). Des variations dans le nombre de copies du gène pfMDR1, le gène correspondant situé sur le chromosome 5, associé ou non avec des mutations ponctuelles, ont été initialement considérées. Il n'y a pas d'évidence d'amplification de ce gène avec la chloroquino-résistance. Le transport de la chloroquine par les cellules exprimant une protéine Pgh1 modifiée (substitution A→T du codon 86) est altéré. Des mutations ponctuelles de PfMDR1 sont liées à la chloroquino-résistance en Afrique (69).

Le gène PfCG2, situé sur le chromosome 7, code une protéine transmembranaire localisée dans la membrane de la vacuole parasitophore et dans celle de la membrane digestive (73). Un polymorphisme complexe de ce second gène associé à la chloroquino-résistance est retrouvé dans les clones chloroquino-résistants africains de *P. falciparum* mais avec des exceptions (70). La transfection de ce génotype ne suffit pas à conférer la résistance à la chloroquine.

Très récemment, un troisième gène candidat, PfCRT, situé sur le chromosome 7 à proximité de PfCG2, a été identifié et des mutations ponctuelles de ce gène sont retrouvées lors des échecs thérapeutiques de la chloroquine. (71)

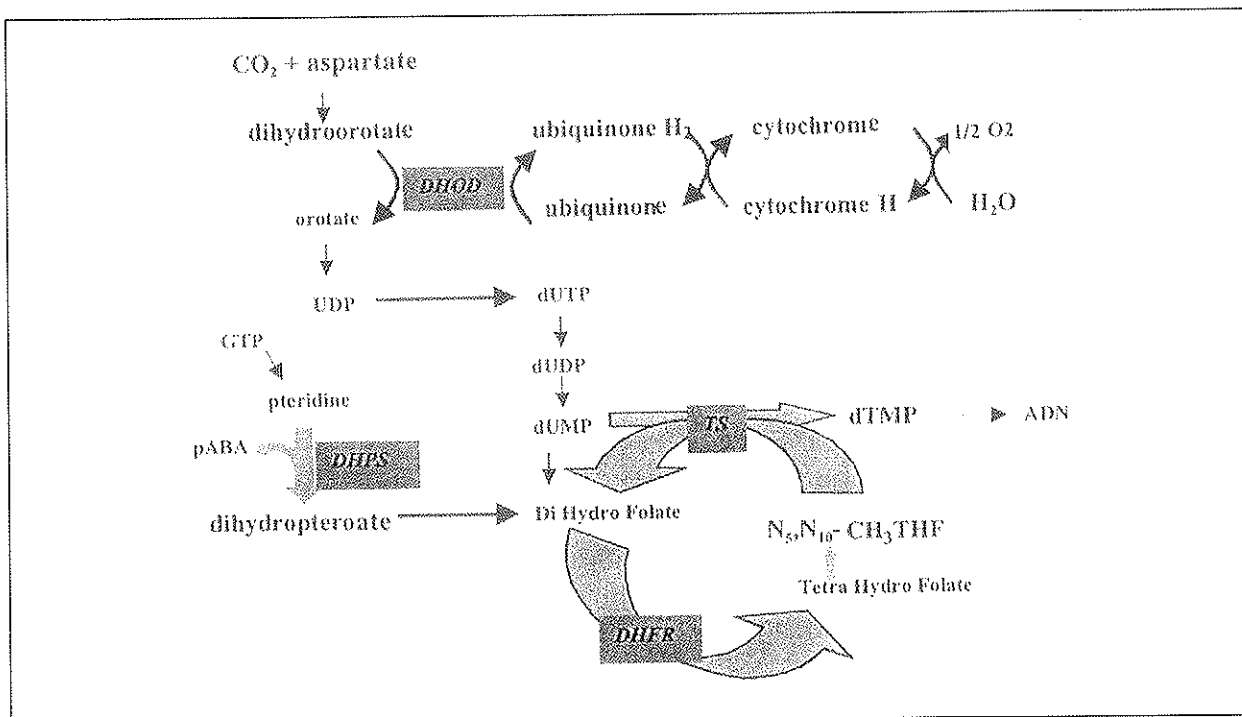
Les résistances à la méfloquine, à la quinine et à l'halofantrine ont été associées à l'amplification du gène PfMDR1 et à la surexpression de la protéine qu'il code, la Pgh1. Il est cependant certain que la résistance à la méfloquine est liée à d'autres mécanismes qui n'ont pas encore été élucidés. (74)

2-4-2- Mécanismes de résistance à la pyriméthamine, au proguanil et aux autres antimétabolites

Une seule mutation ponctuelle, facilement sélectionnées par la pression médicamenteuse, suffit pour donner une résistance à un antimétabolite.

Les *Plasmodium* humains peuvent utiliser les purines de leur hôte mais doivent synthétiser leurs pyrimidines. Les antimétabolites agissent donc sur des enzymes intervenant sur la voie métabolique des pyrimidines des plasmodiums. Ainsi les protéines cibles des antimétabolites sont la dihydroptéroate-synthétase (DHPS) pour les antifoliques, la dihydrofolate-réductase (DHFR) pour les antifoliniques tels que le proguanil, la pyriméthamine-sulfadoxine et le cytochrome b pour l'atovaquone.

Figure n°1 :
Voie métabolique des pyrimidines chez *P. falciparum* (71)



Les mutations ponctuelles du gène PfDHFR sont donc les bases moléculaires de la résistance de *P. falciparum* à la pyriméthamine et au cycloguanil (71). Les isolats de *P. falciparum* provenant d'échecs prophylactiques du proguanil ou d'échecs thérapeutiques de la sulfadoxine/pyriméthamine présentent alors une résistance *in vitro* à la fois au cycloguanil et à la pyriméthamine.

La substitution S108N (substitution de la sérine par l'asparagine au codon 108) est la mutation primaire associée à la résistance à la pyriméthamine ou au cycloguanil en Afrique et en Asie du Sud-Est. En Amérique du Sud on rencontre également la substitution S108T (substitution de la sérine par la thréonine au codon 108) (71).

Enfin, on peut rencontrer des mutations additives. Les plus fréquentes sont N51I et C59R. Le niveau de résistance aux antifoliniques augmente alors avec le nombre de mutations sur le gène de la DHFR. (71)

Cependant, les mutations multiples diminuent l'efficacité de l'enzyme sur le dihydrofolate, ce qui suggère que des mutations additionnelles soient défavorables au parasite en l'absence de pression médicamenteuse (75).

La mutation S108N est retrouvée chez 95% des isolats de voyageurs en échec prophylactique du proguanil en France (n=55). (71)

Au Cameroun, les isolats présentant la mutation S108N de PfDHFR, seule ou associée à une mutation du codon 59, ont une réponse clinique au Fansidar® (sulfadoxine-pyriméthamine) adéquate (RCA) et ceux ayant trois mutations de PfDHFR entraînent un échec thérapeutique précoce (ETP) ou tardif (ETT) (76). Dans des conditions physiologiques, la concentration sanguine en folates peut influencer l'effet de la sulfadoxine, ceci pouvant expliquer des échecs du Fansidar® sur des isolats de *P. falciparum* avec la seule mutation S108N sur PfDHFR.

Il a été initialement évoqué que des mutations sur le gène de la dihydroptéroate-synthétase (PfDHPS, la cible des antifoliques) pourraient être responsables de la résistance à la sulfadoxine (77). Effectivement, des mutants PfDHPS sont sélectionnés durant un traitement sulfadoxine-pyriméthamine (78). La progénie d'un croisement génétique entre parents Sulfadoxine-S et Sulfadoxine-R démontre une liaison étroite entre les mutations de la PfDHPS et la résistance et une liaison complète entre les mutations multiples de la PfDHFR et la résistance (79). La valeur prédictive des mutations de la DHPS dans l'étude précédente est médiocre. Au Kenya et en Tanzanie, les isolats présentant la mutation S108N de PfDHFR, seule ou associée à une mutation du codon 59, ont une réponse *in vivo* au Fansidar® adéquate ou entraînent un échec thérapeutique tardif et tous ceux ayant trois mutations de PfDHFR entraînent un échec thérapeutique tardif ou précoce (79). La valeur prédictive des mutations de la DHPS dans cette étude est ici aussi médiocre. En Amazonie péruvienne, les 24 isolats présentant la mutation S108N ou S108T de PfDHFR isolée ont une réponse *in vivo* au Fansidar® de type S (n=11), R1 (n=8), R2 (n=4) ou R3 (n=1) et tous ceux (n=21) ayant trois mutations ou plus de PfDHFR ont une réponse de type R1 à R3 (80). La valeur prédictive de l'échec thérapeutique des mutations de la DHPS dans cette étude est ici de 21/34. en conclusion, ces études indiquent que trois mutations ou plus de PfDHFR prédisent mieux la résistance à la sulfadoxine-pyriméthamine que l'association de mutations sur leurs cibles respectives.

Si la résistance croisée est démontrée entre le cycloguanil et la pyriméthamine, le potentiel thérapeutique des autres antifoliques (comme chlorproguanil plus dapsone) vis-à-vis des

souches résistantes à la sulfadoxine/pyriméthamine reste cependant une question ouverte (78).

L'atovaquone, dont la cible est supposée être le cytochrome b dans la voie métabolique des pyrimidines (7), est, en association avec le proguanil, disponible pour le traitement du paludisme. Comme pour les antifoliques, l'utilisation de l'atovaquone non associée contre *P. falciparum* sélectionne rapidement des mutants résistants (81).

2-5- La chimiorésistance multiple

On entend par paludisme polychimiorésistant une résistance à plusieurs antimalariques observée chez *P. falciparum*. Cette résistance peut-être croisée ou simultanée. (71)

La résistance simultanée est principalement la conséquence d'une utilisation simultanée importante de plusieurs antipaludiques induisant une forte pression sélective. Ainsi en Asie du Sud-Est, la résistance à la chloroquine s'est complétée d'une résistance à la pyriméthamine-sulfadoxine à mesure que cette dernière relayait, à un coût similaire de traitement, la chloroquine. (71)

La résistance croisée entre des antipaludiques est un phénomène lié à la communauté de leurs modes d'action et sans doute de leurs mécanismes de résistance.

Ainsi une corrélation étroite est observée entre les sensibilités au cycloguanil et à la pyriméthamine. De même, les parasites ayant atteint un haut niveau de résistance à la chloroquine, comme en Asie du Sud-Est, sont généralement résistants à l'amodiaquine (Flavoquine[®], Camoquin[®]). Il en serait de même, dans cette région, entre la méfloquine (Lariam[®], Mephaquin[®]) et l'halofantrine (Halfan[®]).

2-6- Epidémiologie des chimiorésistances

2-6-1- Epidémiologie des résistances aux antipaludiques lysomotropes

Historiquement, la chloroquino-résistance à *P. falciparum* n'est apparue que 10 à 15 ans après que le médicament a été utilisé en abondance. Ensuite, l'expansion de la chloroquino-résistance à partir de foyers initiaux d'Amérique du Sud et d'Asie du Sud-Est a été régulière

et lente. En particulier, la chloroquino-résistance a nécessité plus de 10 ans pour traverser le continent africain d'est en ouest. (48)

La résistance à la chloroquine est de fréquence très inégale selon les pays. Au Cambodge, par exemple, des zones avec peu de chloroquino-résistance persistent au nord-est, cependant qu'au sud-ouest la fréquence et le niveau de la résistance sont parmi les plus élevés observés au monde. La cartographie du paludisme chloroquine-résistant évolue rapidement et les données publiées sont rapidement caduques. Les mouvements de populations sont retenus comme facteur essentiel de propagation de la résistance, mais les données génétiques sont encore insuffisantes pour l'affirmer. La prévalence des souches chloroquino-résistantes *in vitro* fluctue selon les pays en Afrique de l'Ouest et du Centre bien qu'une tendance globale à la stabilisation de la résistance soit observée depuis le début des années 90. Par contre, sans doute en relation avec des faibles mouvements de population et une pression médicamenteuse modérée, la chloroquino-résistance est limitée (5-10%) et stable depuis 1983 à Madagascar. La sensibilité à la chloroquine d'isolats africains de *P. falciparum*, entre 1991 et 1995 concerne 58% des isolats chez 595 voyageurs sans prophylaxie (CNRCP), elle concerne 58% des isolats chez 119 camerounais et 63% des isolats chez 99 sénégalais. En 2000, 47% des 57 isolats de *P. falciparum* de voyageurs, étudiés en France, étaient chimiorésistants *in vitro* à la chloroquine (82).

L'amodiaquino-résistance, fréquente en clinique à la posologie thérapeutique de 25 mg/kg, semble encore marginale en Afrique (48). Il est à noter que la résistance croisée avec la chloroquine à posologie égale est démontrée de longue date en Asie. En 2000, 6,5% des 76 isolats de *P. falciparum* de voyageurs, étudiés en France, étaient chimiorésistants *in vitro* à l'amodiaquine (82).

La quinino-résistance, étayée cliniquement depuis 1910 au Brésil, reste marginale. La quinino-résistance de *P. falciparum*, limitée à l'Amazonie et aux jungles d'Asie du sud-est, est le plus souvent partielle et de faible niveau. Dans ces régions, une efficacité complète nécessite, à la posologie standard de 25 mg/kg/j, 10 à 14 jours de traitement avec la quinine seule, ce qui est mal toléré, ou 5 à 7 jours de traitement en association avec une cycline. Depuis quelques années, une diminution de la sensibilité de *P. falciparum* à la quinine en Asie est évidente avec en conséquence une augmentation du taux d'échec du traitement de 7 jours : de 6% à 27% entre 1978 et 1988 en Thaïlande. Cependant, dans la même région, le traitement de 7 jours par la quinine associée à la tétracycline reste efficace à plus de 90% quand la compliance est bonne. En Amazonie, la clindamycine, associée à la quinine, assure une efficacité satisfaisante. En Afrique, les souches de *P. falciparum* quinino-résistantes sont

encore rares et d'un niveau qui n'a pas de conséquence clinique perceptible. Quelques rares cas d'échec vrai d'un traitement de 5 jours bien conduit avec la quinine seule ont été rapportés. Par contre, une réduction de posologie a pour conséquence une réponse thérapeutique médiocre. (48)

La méfloquino-résistance existe en Thaïlande depuis 1989 et s'étend dans les zones frontalières de ce pays où elle est le traitement de recours à dose unique (12-15 mg/kg), éventuellement précédé d'un traitement par un dérivé de l'artémisinine, en cas de multi-chimiorésistance. En Afrique francophone où des posologies plus élevées sont utilisées, aucun cas d'échec thérapeutique n'a été observé en l'absence de troubles de l'absorption du médicament. Là encore, de rares souches de *P. falciparum* présentent un niveau de sensibilité *in vitro* équivalent à celles d'Asie du Sud-Est, cependant, la résistance à la méfloquine est sporadique et sans regroupement géographique. La sensibilité à la méfloquine d'isolats africains de *P. falciparum*, entre 1987 et 1995, concerne 85% des isolats chez 203 voyageurs impaludés traités avec succès par la méfloquine et 82% des isolats chez 347 voyageurs sans prophylaxie (CNRCP) ; 67% des isolats sont sensibles chez 30 sénégalais (48). Les 90 isolats camerounais ont une CI_{50} inférieure à 30 nmol.L⁻¹ (48). Entre 1991 et 1997, 5,2% des 132 isolats de *P. falciparum* de voyageurs étudiés en France étaient chimiorésistants à la méfloquine (83). En 2000, l'efficacité attendue de la prophylaxie par la méfloquine est de 91,5% en Afrique (82).

Quelques résistances à l'halofantrine, d'un niveau modéré ont été observées en Thaïlande et en Afrique de l'Ouest. En 1997 et 1998, 97% des 267 isolats de voyageurs étudiés en France étaient sensibles *in vitro* (CNRCP).

A l'heure actuelle, il n'a pas été mis en évidence de résistance à l'artémisinine ou à ses dérivés (artéméther, artéether, artésunate). Il est à noter que l'élimination rapide de ces composés impose des prises répétées et qu'ils sont généralement relayés par la méfloquine chez les sujets non immuns d'Asie où ces antipaludiques sont principalement utilisés. *In vitro*, toutes les souches étudiées à ce jour sont hautement sensibles à la dihydroartémisinine, le métabolite commun aux différents dérivés (48).

2-6-2- Epidémiologie des résistances aux antimétabolites

Nous n'avons pas de données épidémiologiques sur la résistance de *P. falciparum* vis-à-vis des sulfamides et des sulfones, puisqu'ils ne sont utilisés qu'en association avec la

pyriméthamine ou le proguanil. Ces derniers, disponibles vers les années 50, ont d'abord été utilisés en prophylaxie collective, ce qui a entraîné, en quelques semaines ou quelques mois, l'apparition de résistance, quel que soit le lieu géographique d'utilisation. Ces faits ont restreint leur emploi. Des niveaux élevés de résistance ne pourront être surpassés ni par une posologie plus forte, ni par un traitement plus long, ni par l'association avec un sulfamide qui est synergique sur les souches sensibles et modérément résistantes. Leur activité est actuellement presque nulle, même en association avec un sulfamide, dans la péninsule indochinoise ; elle serait très diminuée en Amazonie et en voie de rapide diminution en Afrique de l'Est. (48)

La sensibilité au cycloguanil d'isolats en majorité ouest-africains de *P. falciparum*, entre 1991 et 1995, concerne 68% des isolats chez 231 voyageurs sans prophylaxie (CNRCP) ; elle concerne 68% des isolats chez 43 camerounais et 61% des isolats chez 41 sénégalais. En 2000, 53% des 270 isolats de voyageurs en provenance en majorité d'Afrique de l'Ouest présentent une mutation S108N dans le gène DHFR (82).

S'il n'est plus justifié d'utiliser la pyriméthamine ou la sulfadoxine seules en prophylaxie ou en traitement du paludisme, elles restent cependant utilisées en Afrique. En conséquence, la proportion d'isolats sensibles (S108) parmi les voyageurs sans prophylaxie décroît entre 1995 (71,6% de 81 isolats), 1996 (54% de 161 isolats) et 1997 (46,8% de 259 isolats) (48).

La prévalence des souches résistantes aux antifoliniques et chloroquino-résistantes *in vitro* fluctue entre un maximum de 27% et un minimum de 48% selon les pays en Afrique de l'Ouest et du Centre bien qu'une tendance globale à la stabilisation de la résistance soit observée depuis le début des années 90 (83). En 2000, sur 53 isolats de voyageurs en provenance essentiellement d'Afrique de l'Ouest, n'ayant pris aucune chimioprophylaxie, la proportion observée de bi-résistance est de 27% et calculée (produit de la proportion de chloroquino-résistance et de cycloguanilo-résistance) de 26% ($IC_{95} = 14-34\%$). Quels que soient les groupes considérés, cette proportion est stable entre 1996 et 2000 ; il n'existe pas de différence significative. En 2000, il existe une différence significative de la proportion de bi-résistance calculée entre le groupe 2 et le groupe 3. Pour les cinq années écoulées, la proportion de bi-résistance observée est de 15% ($IC_{95} = 8,1-22\%$) dans les pays du groupe 2 et de 39% ($IC_{95} = 21-45\%$) dans les pays du groupe 3 (82).

3- Malarone® face aux résistances

L'association synergique de molécules déjà connues pour leur activité antimalarique fait partie des solutions dont disposent médecins et scientifiques pour éviter les phénomènes de recrudescence et limiter la sélection de souches résistantes ; leur utilisation dans le traitement des accès palustres devient une pratique courante (84).

3-1- Les résistances à l'atovaquone seule et au chlorhydrate de proguanil seul : des données peu encourageantes

3-1-1- Chlorhydrate de proguanil

La résistance au proguanil est liée à une ou plusieurs mutations ponctuelles sur le gène de la DHFR entraînant une diminution de l'affinité du cycloguanil (métabolite actif du proguanil) pour l'enzyme.

Disponible vers les années 50, la proguanil a d'abord été utilisé en prophylaxie collective, ce qui a entraîné, en quelques semaines ou quelques mois, l'apparition de résistances quel que soit le lieu géographique d'utilisation. Ces faits ont restreint leur emploi. On rencontre actuellement des mutants résistants au proguanil dans la plupart des zones d'endémie palustre. Ainsi, la sensibilité des souches de *P. falciparum* au proguanil utilisé en monothérapie est presque nulle dans la péninsule indochinoise, très diminuée en Amazonie et en voie de rapide diminution en Afrique de l'Est. Lors d'étude de la sensibilité d'isolats majoritairement Ouest-africains entre 1991 et 1995 environ 68% étaient encore sensibles au cycloguanil. On rencontre également des souches résistantes en Afrique du Sud. (71)

3-1-2- Atovaquone

Tout d'abord, l'absence d'analogie structurale de l'atovaquone avec les autres antipaludiques permet de penser que ce produit n'expose pas au risque de résistance croisée avec les autres médicaments disponibles.

Cependant, l'émergence de résistances à l'atovaquone est très rapide *in vitro* et *in vivo* et est apparue dès les premières études cliniques.

Ainsi, une première étude a été réalisée en Angleterre sur un petit nombre de patients afin d'évaluer l'efficacité de l'atovaquone seule dans le traitement de l'accès palustre simple à *P.*

falciparum. Bien que l'administration d'une dose unique de 500 mg d'atovaquone ait entraîné dans un premier temps une disparition rapide de la parasitémie, la majorité des patients souffraient de rechutes. Les auteurs ont alors conclu que la dose et la durée du traitement n'étaient pas suffisantes. (13)

A partir de ces premiers résultats de nouvelles études cliniques de phase II ont évalué l'efficacité de l'atovaquone seule à des posologies allant de doses uniques de 500 mg à des doses de 750 mg trois fois par jour pendant 1 à 7 jours en Thaïlande (13 ; 85). Elles ont montré que ce traitement était très bien toléré avec une diminution rapide de la fièvre et de la parasitémie. Cependant, le taux de guérison de 67%, 28 jours après le début du traitement, n'a pas été jugé suffisant pour permettre l'utilisation de ce principe actif seul, d'autant plus que des souches de *Plasmodium* issues de patients ayant souffert d'une rechute présentaient une sensibilité diminuée à l'atovaquone. (86)

Il semblerait que suivant leur origine géographique les parasites aient plus ou moins de capacité à devenir résistants ; ainsi, Vaidya *et al.* (5) ont montré que les parasites d'Asie du Sud-Est présentaient, *in vitro*, 100 fois plus d'émergence de résistance que les parasites d'Amérique Centrale ou d'Afrique de l'Ouest.

Les mutations de l'ADN mitochondrial du parasite responsable des résistances à l'atovaquone se situent au niveau du gène du cytochrome b (87). D'après Vaidya *et al.* (5), elles pourraient être dues à la formation de radicaux libres induite par le mode d'action de l'atovaquone sur la chaîne respiratoire mitochondriale. Ces radicaux libres agiraient alors comme mutagènes localement, créant des mutants résistants pathogènes lors de la réplication de l'ADN mitochondrial du parasite qui seraient capables de se répliquer en présence d'atovaquone.

3-2- L'association atovaquone / proguanil face aux résistances

3-2-1- La logique du traitement associé

Le traitement associé part du principe selon lequel la probabilité d'apparition simultanée d'une résistance à deux agents chimiothérapeutiques dont les mécanismes d'action sont indépendants est extrêmement faible ; elle est de l'ordre d'une fois sur 10^{12} traitements. Cette fréquence est le produit des probabilités d'acquisition d'une mutation résistante à l'égard de chaque médicament par le nombre de parasites présents dans une infestation typique. (50 ; 81)

C'est un principe qui n'est pas nouveau ; en 1985 déjà, Peters *et al.* (88) montraient, sur des animaux, l'intérêt de l'association judicieuse de certains principes actifs pour retarder la sélection de mutants résistants *in vitro*. Les premiers exemples de traitements antimalariques associés sont : pyriméthamine/sulfadoxine, pyriméthamine/dapsone, quinine plus tétracyclines. Puis plus récemment, la méfloquine a été combinée à la pyriméthamine/sulfadoxine et l'atovaquone au proguanil. Cependant, des cas de résistances sont apparus avec l'ensemble de ces traitements associés. Pour certains, cela est dû à l'association de principes actifs ayant le même mécanisme d'action ou du moins une sensibilité aux mêmes mutations du parasite ; pour d'autres, l'association n'a pas suffi à contrer la résistance déjà existante à l'un des principes actifs. (49)

Selon Nosten et Brasseur (49), pour qu'un traitement associé d'antimalariques soit idéal, il doit avoir les caractéristiques suivantes :

- 1- il doit associer des molécules n'ayant pas le même mécanisme d'action ;
- 2- l'un des composants au moins doit être rapidement actif avec un taux de réduction du parasite le plus important possible ;
- 3- les molécules associées ne doivent pas avoir d'interactions pharmacocinétiques négatives ;
- 4- la durée totale du traitement ne doit pas dépasser trois jours pour assurer une bonne observance ;
- 5- pour qu'un traitement de trois jours soit efficace, il faut que l'un des principes actifs ait une demi-vie plus longue que celui d'action rapide ; ainsi, il y aura encore présence dans la circulation sanguine d'un antimalarique après que celui d'action rapide ait disparu (en général la durée d'action d'un antimalarique d'action rapide correspond à deux cycles parasitaires) ;
- 6- le traitement doit être bien toléré avec une toxicité acceptable ;
- 7- le traitement doit être efficace sur tous les stades du parasite dont les gamétocytes ;
- 8- l'association doit être à doses fixes et si possible dans un même comprimé ;
- 9- le traitement doit être gratuit ou très peu cher pour être accessible à tous les patients.

Les critères 1 à 7 sont absolument nécessaires pour définir un traitement associé efficace, quant aux critères 8 et 9, ils sont cruciaux pour son développement. Aucun des traitements associés antérieurs et actuels n'a tous ces critères.

3-2-2- Atovaquone/proguanil : une association justifiée

Devant l'émergence rapide de résistance lors de traitement avec l'atovaquone seule, des recherches ont débuté afin de trouver une molécule, parmi les produits antipaludiques déjà utilisés en clinique, ayant une activité thérapeutique complémentaire à ce principe actif. Le partenaire idéal à l'atovaquone devait avoir une action synergique lui conférant une efficacité sur les souches résistantes, une pharmacocinétique similaire, ne devait pas présenter d'effets indésirables significatifs et devait être relativement peu cher.

L'interaction de l'atovaquone avec un large éventail d'antipaludiques a d'abord été évaluée dans des études préliminaires *in vitro* (86). Les résultats indiquaient une tendance à l'antagonisme avec les quinoloniques, l'artémisinine, le dapson et à la synergie avec les inhibiteurs de DHFR, les tétracyclines, les analogues du clopidol (4-pyridones), le sulfaméthoxazole. Cependant, il apparaissait que la molécule la plus intéressante était le chlorhydrate de proguanil ; elle présentait une synergie d'action avec l'atovaquone sur tous les clones résistants testés, y compris les clones résistants aux hydroxynaphtoquinones.

Puis, les résultats *in vivo* des études de Looareesuwan *et al.* (13), réalisées en Thaïlande, ont confirmé l'effet synergique observé lors de l'association de l'atovaquone au chlorhydrate de proguanil. En effet, bien que le chlorhydrate de proguanil seul n'ait aucune efficacité sur les souches de *Plasmodium* présentes en Thaïlande, le taux de guérison obtenu dans ces études était de plus de 97%. Elles ont également permis de définir la posologie optimale dans le traitement d'un accès palustre simple à *P. falciparum* : 1000 mg d'atovaquone et 400 mg de chlorhydrate de proguanil en une prise par jour, pendant 3 jours consécutifs.

De plus, il est intéressant de noter que l'activité synergique du proguanil provient des propriétés internes aux biguanides et c'est le proguanil plus que son métabolite, le cycloguanil, qui entraîne une action synergique avec l'atovaquone comme l'ont montré les études *in vitro* de Candfield *et al.* (86). Pour confirmer cette hypothèse, Srivastava *et al.* (14) ont testé une association de l'atovaquone avec un autre inhibiteur de la DHFR, la pyriméthamine. Cette molécule, comme le cycloguanil, n'a pas présenté d'effet synergique avec l'atovaquone. Ces résultats permettent donc de penser que l'association contenue dans Malarone® pourra être efficace dans les zones de résistance au proguanil puisqu'il s'agit en fait d'une résistance au cycloguanil (13), chez les patients ayant un déficit en Cytochrome P450, enzyme nécessaire au métabolisme du proguanil en cycloguanil (89), et chez les métaboliseurs lents pour lesquels le proguanil seul est peu efficace puisque peu métabolisé en cycloguanil (90-17).

Idéalement, l'action synergique exercée par le proguanil sur l'atovaquone pourra accélérer la diminution du potentiel de membrane entraînée par l'atovaquone et permettre, par un effet schizonticide plus rapide, la disparition du parasite avant que des mutants résistants n'apparaissent par des réplifications multiples de l'ADN parasitaire.

L'association atovaquone/chlorhydrate de proguanil présente donc un double avantage face aux résistances : celui d'augmenter le niveau d'activité de chaque molécule (synergie), et ce même dans les zones de multi-résistance et celui de pouvoir agir sur les parasites moins sensibles à l'atovaquone ou au chlorhydrate de proguanil par un mécanisme biochimique différent.

3-2-3- Les points faibles de cette association

Le facteur le plus limitant de l'utilisation de cet antipaludique est son coût élevé. Cela est dû en partie au coût de fabrication élevé de l'atovaquone qui est une molécule issue de la recherche contre le VIH. Ce traitement ne sera donc pas accessible au plus grand nombre et notamment à la population pauvre des zones d'endémie.

Le risque d'émergence de résistances n'est pas à négliger et doit faire l'objet d'une surveillance assidue. Il a en effet été publié un premier cas de résistance au traitement d'un accès palustre non compliqué à *P. falciparum* par l'association atovaquone/chlorhydrate de proguanil, confirmé *in vitro* et par PCR (91). Il s'agissait d'un voyageur non immun vivant en Angleterre ayant contracté un paludisme après un séjour de 4 semaines au Nigéria. Il a été traité par Malarone® à la posologie de 4 comprimés en une prise par jour pendant 3 jours consécutifs et a fait une rechute 28 jours plus tard. Les souches parasitaires isolées étaient résistantes à l'atovaquone et à la pyriméthamine. Une mutation génétique a été identifiée au niveau du codon 268 de l'ADN mitochondrial du mutant résistant entraînant la modification d'une Tyrosine en Asparagine (Y268N). Cette association ayant été encore très peu utilisée en Afrique de l'Ouest, il est peu probable que cet individu ait été initialement contaminé par une souche résistante à l'atovaquone. Il s'agirait donc certainement d'une mutation acquise lors de son traitement.

Ce premier cas de résistance acquise lors d'un traitement par Malarone® encourage donc à une surveillance d'autant plus assidue que l'on sait que l'atovaquone persiste seule dans le sang pendant plus de 6 semaines après l'arrêt du traitement.

3-3- Les cas de résistance publiés jusqu'à présent

3-3-1- Dans le traitement des infections à *P. falciparum*

Le dossier d'évaluation clinique de l'association atovaquone/chlorhydrate de proguanil dans le traitement de la crise de paludisme non compliquée à *P. falciparum* comprend principalement huit essais randomisés versus autre traitement antipaludique. Ces essais ont principalement porté sur des patients vivant en zone impaludée, et ayant donc acquis une certaine immunité. Pour le traitement du paludisme importé, l'évaluation effectuée chez des voyageurs sans immunité a été minime ; 21 patients ont été traités par l'association atovaquone/chlorhydrate de proguanil dans cette étude pour une efficacité de 100%.

En ce qui concerne les 7 autres études, sur les 521 patients immuns ou semi-immuns traités pour un premier épisode infectieux à *P. falciparum* par Malarone®, 7 ont souffert d'une rechute 19 à 28 jours après le début du traitement initial alors que leur parasitémie était négative à la fin de ce traitement. Cependant, 6 des 7 patients ayant subi une rechute ont pu être à nouveau en contact avec des moustiques infectants après le premier traitement. Il est donc fort probable qu'il s'agisse d'une nouvelle infection plutôt que d'une rechute.

Parmi les 7 rechutes observées chez ces 521 patients, 5 sont issues de la même étude. Cette dernière a été réalisée au Kenya chez des enfants âgés de 3 à 12 ans (21). Trois des cinq patients ayant fait une rechute après traitement par atovaquone/chlorhydrate de proguanil ont à nouveau été traités par cette même association. Un patient a présenté une réponse R2 (c'est à dire une diminution marquée du nombre de parasites dans la circulation sanguine mais sans disparition sur une période de 7 jours) alors que les deux autres ont été guéris. Il semblerait donc qu'il s'agisse d'un cas de recrudescence de parasites résistants. Les prélèvements faits chez ce patient ont été contaminés ; il n'a donc pas été possible d'analyser *in vitro* la sensibilité à l'atovaquone et au proguanil des souches isolées. Cependant, une réinfection était aussi possible chez ce patient.

D'après Looareesuwan *et al.* (92), les parasites isolés après rechute lors d'un traitement par l'association atovaquone/chlorhydrate de proguanil n'ont pas montré *in vitro* de résistance à l'atovaquone. Par contre ceux isolés après un échec thérapeutique à l'atovaquone seule sont résistants à l'atovaquone *in vitro*.

Depuis, il a été publié en 2002, le rapport d'un cas de résistance au traitement d'un accès palustre non compliqué à *P. falciparum*, confirmée *in vitro* et par PCR, chez un voyageur non immun ayant effectué un séjour au Nigéria (91) ; ce cas est détaillé précédemment.

Deux autres cas de résistance à la Malarone® ont également été rapportés en Suisse (93). Il s'agissait de voyageurs non immuns ayant effectué un séjour en Côte d'Ivoire avec une prophylaxie antipalustre par l'association chloroquine/proguanil. A leur retour en Suisse, ils ont souffert d'un accès palustre traité par Malarone® à la posologie usuelle, pendant 3 jours. L'un des patients présentait une aggravation des symptômes et une augmentation de la parasitémie après deux jours de traitement. L'autre a bien répondu au traitement dans un premier temps puis a fait une rechute 28 jours plus tard. Les deux patients avaient des taux sanguins d'atovaquone, de proguanil et de cycloguanil convenables. Aucune des mutations chromosomiques connues au niveau du cytochrome b et décrites par Korsinczky (87) n'a été détectée sur les souches parasitaires résistantes de ces patients.

3-3-2- Dans la prophylaxie des infections à *P. falciparum*

Il y a eu 6 cas d'échecs rapportés sur plus de 2000 patients inclus. Il s'agissait soit d'arrêt du traitement à cause d'effets indésirables soit de mauvaise observance. Il n'y a pas eu *in vitro* de preuves de résistance à l'atovaquone ni d'identification de mutations chromosomiques.

4- Moyens de lutte et de prévention en développement pour demain

Sur le plan de la santé publique, la prévention et la lutte contre la paludisme comportent trois axes principaux : traiter efficacement les malades atteints d'accès palustre, lutter contre le vecteur de la maladie pour limiter la propagation du parasite, diffuser et utiliser des traitements chimioprophylactiques adaptés contre la souche parasitaire pour protéger les populations. Cependant, le manque de moyens et de ressources des zones impaludées limitent bien souvent leur possibilité de lutte efficace.

4-1- La lutte contre le moustique vecteur

Sur le plan sanitaire, la réduction du risque de contracter le paludisme passe tout d'abord par la diminution du risque de piqûre de moustique.

L'anophèle vivant durant sa phase aquatique dans des eaux stagnantes, un meilleur contrôle des zones humides, par l'assèchement des eaux stagnantes et des marais, des drainages et l'évacuation efficace des eaux usées, permettrait de limiter la prolifération du vecteur.

Cependant, toutes les zones de rizières, essentielles pour nourrir les populations autochtones, constituent des réservoirs d'eaux stagnantes où prolifèrent les anophèles. Il n'est pas vraiment possible de réformer ou de modifier ce type d'agriculture, car il s'agit de la base même de toute l'économie agricole de ces régions (94).

L'épandage d'insecticides, et particulièrement du DDT, utilisés après la seconde guerre mondiale, est en partie responsable de l'éradication du paludisme en Europe du Sud, en Russie et dans une partie de l'Asie (46). Cependant, cette technique est controversée sur le plan écologique, car elle modifie l'équilibre de la chaîne alimentaire, et, outre son éventuelle toxicité pour les populations elles-mêmes, elle modifie la faune et la flore alentour (94). Face à ces problèmes écologiques et à l'émergence croissante de résistance au DDT, ces campagnes d'épandage d'insecticides sont abandonnées depuis la fin des années 60 (46).

Depuis, des axes de recherches biologiques tentent de bloquer la prolifération de l'anophèle en agissant plus spécifiquement sur les larves, et d'être ainsi moins nocif sur le milieu et l'équilibre écologique environnant (94).

Un autre outils dans la prévention du paludisme est l'utilisation de moustiquaires imprégnées d'insecticide. Elles présentent une action double : d'une part, elles réduisent le nombre de piqûres infectantes pour une population de moustiques donnée et d'autre part, elles ont un puissant pouvoir insecticide. Leur utilisation en Chine et en Afrique a significativement réduit la morbidité et la mortalité palustre (95,96). Cependant, à moyen terme, ce procédé limite l'acquisition d'une immunité naturelle (97). De plus, il apparaît généralement une résistance du vecteur à l'insecticide ; ainsi, les campagnes de prévention par l'utilisation de moustiquaires imprégnées sont fortement menacées en Afrique de l'Ouest et du Sud par l'émergence de moustiques résistant aux pyréthrinoïdes (98). Enfin, qu'il s'agisse de zones où un bénéfice a été prouvé ou encore de pays ayant bénéficié d'un programme national de diffusion de moustiquaires imprégnées, leur utilisation par la population a été décevante (46). Il faut noter également que leur efficacité varie en fonction des zones ; elles présentent un intérêt limité dans les régions de transmission faible ou instable ainsi que dans celles où les moustiques piquent le matin ou en fin d'après-midi.

Des études supplémentaires sont donc nécessaires sur l'efficacité de nouvelles combinaisons d'insecticides et sur l'impact de l'utilisation massive de moustiquaires imprégnées sur la morbidité, la mortalité et la transmission du paludisme. (46)

4-2- Les molécules disponibles actuellement

Les antipaludiques sont habituellement classés selon le stade de développement du parasite sur lequel ils agissent (tableau 26). On trouve ainsi :

- les schizonticides sanguins : ces molécules agissent sur les formes asexuées intra-érythrocytaires du parasite ; ce sont des médicaments prophylactiques supprimeurs qui empêchent la prolifération du *Plasmodium* dans les érythrocytes ;
- les schizonticides tissulaires : ces molécules préviennent le développement des schizontes hépatiques ; ce sont des médicaments prophylactiques causaux car ils affectent le développement précoce du parasite et préviennent l'invasion des érythrocytes. Les hypnozoïtociques agissent sur le stade intra-hépatique persistant de *P. vivax* et *P. ovale*.
- les gamétocides : ils détruisent les formes sexuées intra-érythrocytaires (gamètes) et préviennent ainsi la transmission de l'homme à un autre moustique. Ces molécules sont rarement utilisées en clinique uniquement pour leur action gamétocide.
- les sporontocides : ils bloquent le développement des oocystes et des sporozoïtes chez l'anophèle

Tableau 27 :

Classification des antipaludiques disponibles selon le stade de développement du *Plasmodium* sur lequel ils agissent (74)

| | |
|----------------------------|---|
| Schizonticides tissulaires | primaquine, pyriméthamine, sulfonamides |
| Hypnozoïtociques | primaquine, tafénoquine |
| Schizonticides sanguins | - type 1 (d'action rapide) : chloroquine, méfloquine, quinine, halofantrine, artémisinine - type 2 (d'action lente) : pyriméthamine, proguanil, sulfonamides, sulfones, autres antibiotiques, atovaquone |
| Gamétocides | primaquine sur <i>P. falciparum</i> , quinine sur <i>P. vivax</i> , <i>P. malariae</i> , <i>P. ovale</i> |
| Sporontocides | primaquine, chloroquine |

En fait de nombreuses molécules agissent sur différentes phases du développement du *Plasmodium* et la majorité d'entre elles agissent sur le stade érythrocytaire.

On choisira ici de lister les antipaludiques selon leur mode d'action : les molécules inhibant la synthèse des acides nucléiques (ex : sulfadoxine), les molécules interférant avec la synthèse des protéines (ex. doxycycline), les molécules interférant avec la voie de détoxification de l'hème (ex. chloroquine) et celles de la famille de l'artémisinine qui provoquent un stress oxydatif.

4-2-1- Les inhibiteurs de la synthèse des acides nucléiques

L'activité de ces molécules s'exerce à tous les stades de développement du parasite dans sa phase intra-érythrocytaire et seulement au stade précoce de développement des gamétocytes.

- les antagonistes des folates : la pyriméthamine et le proguanil

Ces molécules inhibent la dihydrofolate réductase (DHFR) entraînant une déplétion en tétrahydrofolate et une inhibition de la synthèse de l'ADN.

On trouve des souches résistant à ces molécules dans toutes les zones d'endémie palustre. Elles ne sont actuellement utilisées qu'en association ; l'association pyriméthamine - sulfadoxine, largement utilisée en traitement de première intention, est maintenant peu efficace en Amérique du Sud, en Asie de l'Est et en Afrique de l'Ouest (74,99) ; cette association, peu onéreuse, reste cependant encore utilisée dans certaines régions d'Afrique (74) malgré le risque connu de survenue d'un syndrome de Stevens-Johnson, une réaction d'hypersensibilité due au sulfamide (100). Le proguanil, quant à lui est largement utilisé en association à la chloroquine et plus récemment à l'atovaquone.

Une seule mutation sur le gène codant pour la DHFR entraîne une résistance à ces traitements.

- les sulfonamides

Ces antibactériens agissent en prévenant la formation de dihydroptéroate par compétition sur le site de fixation de l'enzyme catalysant sa synthèse. Ils entraînent ainsi une diminution de la synthèse des pyrimidines du *Plasmodium* et une diminution de la formation d'ADN, de sérine et de méthionine.

Ces traitements ont été largement utilisés pendant la seconde guerre mondiale et la résistance aux sulfonamides est aujourd'hui répandue dans le monde entier. La sulfadoxine est encore utilisée en association à la pyriméthamine.

Une mutation unique sur le gène codant pour l'enzyme correspondant entraîne une résistance aux sulfonamides (74).

- l'atovaquone

Il est utilisé en association au proguanil pour leur synergie d'action : c'est la Malarone®. Il s'agit d'un traitement efficace à ce jour sur *P. falciparum* multi-résistant mais dont le coût ne permet pas une utilisation par les pays tropicaux en voie de développement.

4-2-2- Les molécules agissant sur la détoxification de l'hème

Cette classe inclut les antimalariques les plus communs :

- les amino-4-quinoléines : chloroquine, amodiaquine
- les aryl-amino-alcools : quinine, quinidine, méfloquine, halofantrine, luméfantrine

La chloroquine est l'un des traitements majeurs du paludisme. Son succès est basé sur sa bonne tolérance, son faible coût et son efficacité (avant l'apparition des résistances). Les premiers cas de résistance à la chloroquine sont apparus en 1959 ; il ne reste plus maintenant que quelques zones où la chloroquine seule est encore efficace : l'Amérique Centrale, Haïti et quelques zones du Moyen-Orient. (74)

L'amodiaquine, un équivalent de la chloroquine, ne fait pas partie des traitements recommandés car son utilisation est associée à une toxicité hépatique et à des agranulocytoses. (100)

La quinine, utilisée depuis plus de 350 ans a encore une excellente activité sur toutes les espèces de *Plasmodium* humains. Bien que des cas de résistance aient été rapportés depuis le début du 20^{ème} siècle, en particulier en Amérique du Sud et en Asie du Sud-Est, il s'agit encore d'une résistance modérée. Ainsi, en Asie du Sud-Est, la quinine est utilisée en association à la doxycycline pour le traitement des accès palustres à *P. falciparum* multi-résistant. (74)

La quinidine est un isomère de la quinine ; elle est plus puissante et plus toxique et est plutôt utilisée comme antiarythmique.

La méfloquine et l'halofantrine, dérivées de la quinine, ont des structures relativement proches. Elles ont été commercialisées dans les années 80. Elles sont actives sur les souches chloroquino-résistantes. Cependant, des résistances à la méfloquine et à l'halofantrine sont de plus en plus fréquentes, principalement en Asie du Sud-Est et en Amérique du Sud (101).

La luméfántrine est utilisée comme antimalarique en Chine depuis 1987. Elle exerce une action synergique avec l'artémether et cette association est maintenant commercialisée dans de nombreux pays développés dont la Suisse et bientôt la France sous le nom de Riamet®. Le même produit est vendu à prix coûtant à l'OMS pour une large utilisation auprès des populations dans les zones d'endémie, sous le nom de Coartem®. Cette nouvelle thérapie de l'accès palustre est particulièrement indiquée dans les régions où sont apparues des résistances aux autres traitements (94).

4-2-3- Les amino-8-quinoléines

La primaquine a été développée pendant la deuxième guerre mondiale. Elle est le seul traitement efficace sur les hypnozoïtes, stades hépatiques quiescents de *P. vivax* et *P. ovale*. Récemment son utilisation a été réévaluée dans la prophylaxie des infections à *P. falciparum* car elle est capable d'éliminer le parasite au stade précoce de son développement, dans le foie (102).

4-2-4- Les inhibiteurs de la synthèse des protéines (les antibiotiques)

L'utilisation des antibiotiques dans le traitement du paludisme est une pratique ancienne. Cependant, un intérêt nouveau pour cette classe médicamenteuse est apparu avec l'émergence de souches de *P. falciparum* résistantes à la chloroquine et aux autres traitements habituels.

La doxycycline et la tétracycline inhibent la synthèse des protéines du parasite dans les mitochondries et les apicoplastes (100). Leur action relativement lente rend nécessaire une association à la quinine pour contrôler rapidement la parasitémie. Ainsi, les associations

quinine-tétracycline et quinine-doxycycline sont couramment utilisées dans certaines régions d'Asie du Sud-Est. Cependant, leur utilisation en Afrique est limitée car les deux antibiotiques sont contre-indiqués chez les enfants de moins de 8 ans. La doxycycline est également utilisée en prophylaxie, particulièrement dans les zones de résistance à la méfloquine.

La clindamycine est également recommandée dans certaines situations en association à un antimalarique d'action rapide tel que la quinine ou l'artémisinine dans le traitement du paludisme.

L'efficacité de l'azithromycine a été évaluée en prophylaxie d'infections à *P. falciparum* et *P. vivax* au Kenya (103), en Indonésie (104) et en Thaïlande (105) sur des populations semi-immunes. Les résultats de ces études montrent que l'azithromycine est moins efficace que la méfloquine ou la doxycycline sur *P. falciparum*. Cependant, ce macrolide pourrait avoir un intérêt pour les femmes enceintes ou les enfants de moins de 8 ans ne pouvant éviter de se rendre dans une zone à haut risque de méfloquino-résistance (102).

4-2-5- Les dérivés de l'artémisinine

L'artémisinine (ou quinghaosu) est une molécule extraite d'une plante originaire de Chine, *Artemisia annua* (*Asteraceae*) (ou quinghao), que l'on trouve actuellement dans de nombreuses régions telles que l'Australie, le centre et le nord de l'Europe et les Etats-Unis. En raison de sa très faible solubilité dans l'eau et les lipides, les chercheurs chinois ont tenté de modifier sa structure. Ils ont ainsi découvert plusieurs dérivés, beaucoup plus efficaces *in vitro* et *in vivo* chez l'animal que l'artémisinine, qui sont la dihydroartémisinine (arténimol), des éthers de la dihydroartémisinine : l'artémether et l'artéether (artemotil), l'artésunate de sodium et l'artélinat de sodium. (74)

Les dérivés de l'artémisinine sont des endoperoxydes qui, selon toute probabilité, agissent par la production de radicaux libres de l'oxygène, à la suite de la fixation à l'hème et à son atome de fer (106, 107). Les espèces activées de l'oxygène provoquent chez le parasite une dénaturation des protéines et la formation de ponts amino-iminopropènes par peroxydation lipidique au niveau des membranes (107). L'artémether est actif sur le parasite en situation intraérythrocytaire en raison de la formation du complexe artémisinine-hème dans la vacuole digestive du parasite (107).

Il est clairement établi que la caractéristique essentielle de l'artémether est sa rapidité d'action, par rapport à celle des autres antimalariques connus (108). La dihydroartémisinine est le principal métabolite et la forme active de l'ensemble des dérivés de l'artémisinine.

Le dérivé le plus utilisé est l'artémether ; courant 2000, il a été enregistré dans 27 pays sous forme de comprimés et de solutions injectables IM ; il est commercialisé sous les noms de Paluther[®], Artenam[®], Artemos[®].

L'artésunate de sodium a, quant à lui, été enregistré dans 6 pays en 2000 sous forme de comprimés, de solutions injectables IM et IV ; il est commercialisé sous le nom de Arsumax[®]. L'artémisinine et la dihydroartémisinine sont essentiellement utilisées en Chine et au Vietnam sous forme de comprimés et de suppositoires.

Ce sont des traitements d'action rapide qui doivent être administrés de préférence en association avec une molécule d'action longue afin de réduire les risques de rechute et prévenir ou ralentir le développement de résistances. L'association couramment utilisée dans les zones à *P. falciparum* multi-résistant est artésunate plus méfloquine (109). Récemment, une nouvelle association d'artémether et de luméfantrine (benflumetol) ou co-artémether (Coartem[®], Riamet[®]) a été enregistrée dans de nombreux pays ; elle a montré une efficacité comparable à l'association artésunate-méfloquine avec une meilleure tolérance (74). Le schéma consensuel optimal correspond à la prise de 6 comprimés, répétée 4 fois en 48 heures. Riamet[®] est proposé pour le traitement des accès à *P. falciparum* résistant aux autres médicaments sur la base d'observations cliniques de son efficacité en Thaïlande, où les souches plasmodiales sont connues pour être multirésistantes, sans qu'il ait été démontré que les patients impliqués dans les essais étaient porteurs de souches résistantes. La présentation en comprimés réduit la prescription aux formes non compliquées. Riamet[®] n'est pas proposé en prophylaxie (110).

Il n'a pas été mis en évidence, à ce jour, de vraies résistances stables *in vitro* ou *in vivo* à ce groupe de molécules bien que des souches de *P. falciparum* à sensibilité diminuée aient déjà été identifiées. Des résistances modérées à l'artémisinine ont pu être induites chez des souris mais les souches ont rapidement perdu leur résistance quand la pression médicamenteuse a été interrompue (74). Cependant, depuis l'utilisation beaucoup plus massive de ces traitements, des résistances à l'artémisinine pourraient apparaître dans un futur proche (74).

Il a récemment été montré que des mutations de Pgh1 pouvaient influencer la sensibilité des souches à l'artémisinine (111). Les mutations sur le gène PfMDR1 entraîne une modification de la sensibilité des souches de *Plasmodium* à l'artémisinine comparable à la diminution de

sensibilité observée avec la méfloquine et l'halofantrine. Ainsi, le gène PfMDR1 pourrait influencer par un même mécanisme l'accumulation de la méfloquine, l'halofantrine et l'artémisinine (111). Le phénotype de résistance de l'artémisinine semble être multi-factoriel (74).

4-3- Les traitements médicamenteux pour demain

Les molécules utilisées actuellement dans la prise en charge du paludisme ont pour la plupart été développées depuis plus de 30 ans. Cependant, le paludisme fait plus de morts aujourd'hui qu'il y a 40 ans (46). Il devient donc urgent de proposer des traitements efficaces et accessibles aux populations à risque.

4-3-1- Les associations médicamenteuses

Les associations synergiques de molécules déjà connues pour leurs activités antimalariques ont prouvé leur efficacité et demandent un investissement moins coûteux et plus rapide que le développement d'une nouvelle molécule.

Un nouveau traitement oral baptisé Lapdap[®] associe deux composés antipaludiques existants, le chlorproguanil et la dapsoné. D'après les essais cliniques réalisés en Afrique, le Lapdap[®] est efficace dans le traitement du paludisme sans complications, y compris le paludisme résistant à d'autres traitements types de première intention comme la chloroquine et la sulfadoxine/pyriméthamine. Le médicament arrive maintenant en phase finale de développement et pourrait être proposé à certains pays africains dès 2003 selon l'OMS. Un marché signé le 2 mars 2002 entre l'OMS et le laboratoire GlaxoSmithKline indique que le Lapdap[®] sera mis à disposition des programmes de santé publique à un prix préférentiel. (94)

4-3-2- Les nouvelles molécules prometteuses

L'artémisinine et ses dérivés ont prouvé leur efficacité antimalarique sur tous les genres de *Plasmodium* humains, y compris sur *P. falciparum* multi-résistant. Aucune résistance à ces composés n'a été identifiée à ce jour et ils sont financièrement accessibles aux pays tropicaux en voie de développement. D'autres molécules sont en stade de développement pré-clinique ou clinique mais leur nombre est limité et il faudra encore plusieurs années pour

que quelques unes d'entre elles soient disponibles dans le traitement du paludisme. Dans ce contexte, les dérivés ou analogues de l'artémisinine semblent être les molécules les plus prometteuses pour le contrôle du paludisme.

- dérivés de l'artémisinine

A partir des dérivés de première génération des travaux sont actuellement menés afin de découvrir de nouveaux dérivés possédant un fort pouvoir antimalarique associé à une bonne stabilité chimique et métabolique et une faible toxicité. Ainsi, certains dérivés synthétiques et semi-synthétiques identifiés semblent prometteurs.

Les dérivés semi-synthétiques sont issus d'une modification de la fonction acétal en C10, responsable de la mauvaise biodisponibilité et de la faible demi-vie, par une fonction phenoxy (74). L'un d'entre eux s'est avéré efficace par voie orale avec une activité supérieure à l'artésunate (112).

D'autres dérivés semi-synthétiques prometteurs ont été obtenus par le remplacement de l'oxygène en position C10 des molécules d'artémether et d'artéether par un carbone. Cela a permis d'obtenir des composés plus stables dans l'eau, avec une plus longue demi-vie et potentiellement moins toxiques. (74)

L'oxygène en position 11 de l'artémisinine est un autre site sur lequel des modifications chimiques permettraient d'améliorer l'activité antimalarique et le profil pharmacocinétique. Différentes 11-azaartémisinine ont été synthétisées. La fonction lactame permet une meilleure stabilité dans un milieu acide tel que l'estomac entraînant ainsi une meilleure biodisponibilité de la molécule.

Enfin, des dimères trioxanes avec un carbone faisant le lien entre les deux positions C10 ont été synthétisés dans le but encore d'obtenir une meilleure stabilité chimique. Ils ont montré une très bonne activité antimalarique *in vitro* sur des souches de *P. falciparum* chloroquino-sensibles (74).

- nouvelles amino-4-quinoléines

La pyronaridine et la tébuquine, dérivées de l'amodiaquine, sont de nouveaux antimalariques quinoliniques en développement (74). La pyronaridine est utilisée en Chine depuis les années 1970 et est actuellement commercialisée dans ce pays.

- nouvelles amino-8-quinoléines

La tafénoquine, un dérivé de la primaquine ayant une activité semblable mais avec une demi-vie d'élimination plus longue (14 à 28 jours pour la tafénoquine au lieu de 4 à 6 heures pour la primaquine), est en cours de développement (113). Cette molécule est active sur les

stades hépatiques et érythrocytaires du parasite. Des études *in vitro* et *in vivo* sur des modèles animaux ont montré que la tafénoquine est plus efficace et moins toxique que la primaquine (113). Les premiers rapports d'études de phase III réalisées au Kenya, Gabon, Thaïlande, Irian Jaya et Ghana montrent qu'une administration par semaine de 200 ou 400 mg de tafénoquine prévient une infection à *P. falciparum* dans plus de 90% des cas et qu'une administration de 200 mg par jour, trois jours consécutifs, entraîne un effet préventif pendant plusieurs semaines (114-115). Dans ces études, la tafénoquine est bien tolérée, cependant, des hémolyses significatives sont rapportées chez des sujets atteints d'un déficit en G6PD.

- inhibiteurs de chloroquino-résistance

Les premiers inhibiteurs de chloroquino-résistance identifiés tels que le vérapamil et le désipramine étaient toxiques pour l'homme aux doses efficaces.

Très récemment, un autre modulateur de résistance, l'antihistaminique chlorphéniramine, associé à la chloroquine, a montré une efficacité similaire à l'association sulfadoxine/pyriméthamine dans le traitement d'un accès palustre non compliqué à *P. falciparum* chez des enfants (74).

Une autre option serait l'utilisation d'association d'inhibiteurs de chloroquino-résistance permettant d'obtenir une efficacité avec des doses non toxiques (74).

Des alcaloïdes monoindoliques naturels comme la malagashanine extrait d'une plante malgache, *Strychnos myrioïdes* ou encore l'icajine provenant d'une plante africaine *Strychnos icaja*, sont capables d'inhiber la résistance à la chloroquine mais également à la quinine et à la méfloquine. Une première étude clinique est menée actuellement à Madagascar pour évaluer l'efficacité de la malagashanine, utilisée en médecine malgache traditionnelle dans le traitement du paludisme en association à la chloroquine (74). Le mécanisme d'action de ces composants, d'abord attribué à un blocage de l'efflux de la chloroquine de la vacuole digestive, n'est pas encore totalement connu et pourrait être différent pour chacun des alcaloïdes.

- inhibiteurs de la voie de biosynthèse des acides gras *de novo*

Le triclosan inhibe le développement de *P. falciparum* *in vitro* et *in vivo* chez la souris. Il interfère dans la voie de biosynthèse des acides gras du parasite en inhibant l'énoyl-ACP-réductase. Cette molécule ouvre donc une autre voie de développement de nouveaux antimalariques (116).

- inhibiteurs de la biosynthèse des phospholipides

Un éventail de composants interférant avec le métabolisme des phospholipides du *Plasmodium* ont été récemment identifiés. Ces molécules sont des analogues de choline cationiques correspondant à des sels d'ammoniums mono-, bi-, ou tri-quaternaires avec diverses substitutions augmentant leur lipophilie ; elles ont prouvé leur efficacité *in vivo*, sur des modèles animaux. Ces molécules, encore au stade de développement pré-clinique, semblent très prometteuses (74).

- inhibiteurs de la biosynthèse des isoprénoïdes

L'apicoplaste est une organelle récemment découverte, essentielle à la survie du parasite. Elle est associée à des enzymes que l'on retrouve dans les voies métaboliques des plantes ou des bactéries mais pas des animaux. Récemment, Jomaa *et al.* (117) ont montré l'existence d'une voie métabolique chez le *Plasmodium* d'un apicoplaste que l'on ne retrouve pas chez l'animal : c'est la voie des mévalonates, une voie de biosynthèse indépendante des isoprénoïdes. Ils ont alors recherché d'éventuels antipaludiques agissant sur les enzymes de cette voie métabolique et ils ont identifiés deux molécules bloquant cette biosynthèse et efficaces contre la paludisme chez la souris (117). Ces molécules sont des analogues d'un antibiotique : la fosmidomycine. D'autres voies métaboliques d'apicoplaste pourraient également représenter d'éventuelles cibles dans la recherche de nouveaux traitements antipaludiques.

- inhibiteurs de protéases

Les protéases du *Plasmodium* interviennent dans le cycle érythrocytaire ; elles permettent l'invasion et la lyse des érythrocytes infectés et la dégradation de l'hémoglobine par les trophozoïtes. Les inhibiteurs de protéase étudiés sont capables de bloquer *in vitro* le développement du parasite à des concentrations nanomolaires et sont efficaces dans le traitement du paludisme chez la souris (74). Les plus puissants de ces composés sont les dérivés des vinyl-sulfones peptidiques et des chalcones.

5- Qu'en est-il des vaccins ?

Les chercheurs du monde entier travaillent depuis des années à l'élaboration d'un vaccin, nécessitant coordination, échanges, financements. La difficulté de mise au point vient du fait que le parasite se transporte d'un organe à un autre, exprime différents antigènes selon les stades de son développement, se « cache » dans les globules rouges à l'abri du système

immunitaire. Enfin, la recherche ne dispose pas de modèle animal très fiable ; les rongeurs n'étant pas sensibles aux mêmes souches que l'homme et les singes ne développant pas de troubles cérébraux comme l'homme. Cependant, après des années d'espoir déçus, de nouvelles pistes semblent prometteuses.

L'Initiative Multilatérale de Lutte Contre le Paludisme (Multilateral Initiative on Malaria), lancée début 1997 a permis une augmentation importante du financement de la recherche sur le paludisme.

La Commission Européenne a par ailleurs créé en 1998 une structure, l'EMVI (European Vaccine Initiative) destinée à faciliter en Europe et en Afrique la recherche et le développement de vaccins. Une collaboration étroite a ainsi été établie avec l'AMVTN (African Malaria Vaccine Testing Network), organisme établi en Tanzanie, débouchant sur des essais thérapeutiques sur les primates et chez les hommes.

5-1- Un vaccin est-il possible ?

Tout d'abord, nous savons qu'une immunité solide prévenant la mortalité et l'accès grave est acquise très rapidement, après un tout petit nombre d'infections par les sujets vivant en zone d'endémie. C'est en soit un atout considérable pour le développement de vaccins visant à réduire la mortalité et la morbidité grave, qui sont de première priorité en santé publique. L'immunité contre les formes non compliquées s'acquiert plus lentement, après un grand nombre d'infections. Ce long apprentissage reflète probablement la nécessité pour le système immunitaire de contrôler un grand nombre de souches. Cependant, il n'est pas encore déterminé s'il s'agit d'acquisition progressive d'une vaste panoplie de réponses spécifiques ou de la capacité de répondre contre des antigènes conservés peu immunogènes. (118)

D'autre part, la démonstration expérimentale d'une vaccination efficace chez l'homme contre *P. falciparum* ou contre *P. vivax* a été obtenue depuis de longues années (119). On peut en effet induire une immunité stérilisante en immunisant par des sporozoïtes atténués par irradiation. La protection induite n'est pas spécifique de souche et dure au moins neuf mois. Ce type de vaccin, qui ne nécessite aucun adjuvant, mais seulement des sporozoïtes viables, capables de pénétrer dans les hépatocytes mais incapables de s'y multiplier, serait idéale pour les voyageurs ou les personnes exposées à une transmission faible et permettrait également de limiter la morbidité et la mortalité palustre dans les zones de forte transmission. Mais il est impossible de concevoir de mettre en place la logistique nécessaire pour vacciner en masse avec les centaines de piqûres requises pour induire la protection.

Enfin, ces dernières années, de nombreuses expériences de vaccination ont été réalisées sur les modèles expérimentaux de rongeurs avec des antigènes individuels administrés sous forme d'antigènes recombinants, d'ADN ou de peptides, ce qui démontrait la faisabilité d'un vaccin. Des vaccinations de singe ont été réalisées avec des antigènes de *P. falciparum* ou *P. vivax* (120). Certains de ces antigènes ont induit une protection partielle chez l'homme.

Il semble donc raisonnable d'espérer mettre au point des vaccins. Cependant, le défi est important, non seulement à cause du très grand nombre de souches qui circulent en zone d'endémie et des capacités remarquables du parasite à échapper aux défenses immunitaires, mais aussi parce qu'une des qualités requises, l'induction d'une immunité protectrice de longue durée, n'a encore été atteinte dans aucune vaccination expérimentale chez l'animal et dans aucun essai clinique. La question de la durée de l'immunité protectrice est loin d'être une question secondaire, parce que même la protection acquise par les individus vivant en zone d'endémie semble être de courte durée. Elle a besoin d'être entretenue par des réinfections fréquentes, et elle est perdue en quelques années lorsque les sujets quittent une zone d'endémie. Cela ne signifie pas qu'une protection de longue durée ne puisse être induite par la vaccination, soit grâce à une immunité vaccinale différente de l'immunité naturelle, soit par les infections ultérieures qui auraient un effet de rappel mais qui risque lui-même d'être de courte durée.

5-2- Quel type de vaccin ? Des vaccins pour qui ?

5-2-1- Un vaccin contre quelle espèce de *Plasmodium* ?

Quand on parle de paludisme, quatre espèces de *Plasmodium* sont en cause : *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale* et *P. malariae*. Chacune a des caractéristiques propres et induit une immunité spécifique d'espèce. De plus, les études des années 70 sur un vaccin à base de sporozoïtes atténués par irradiation ont montré qu'il sera difficile de réaliser une protection contre plusieurs espèces dans un même vaccin (119). *P. falciparum* est de très loin l'espèce la plus importante en santé publique, puisqu'elle est responsable de 90% des accès, et qu'elle seule provoque un paludisme mortel. C'est donc sur *P. falciparum* que porte l'essentielle des efforts actuels. *P. vivax* qui provoque une morbidité importante, vient en second, d'autant plus que cette espèce aussi devient résistante à la chloroquine.

5-2-2- Quelle durée d'efficacité ?

Le besoin le plus urgent est de développer un vaccin prévenant la mortalité palustre et la survenue des accès graves. L'accès grave à *P. falciparum* et le décès surviennent chez des personnes non ou peu immunes. Dans les zones de forte transmission, le risque est concentré sur une période de quelques années correspondant à la petite enfance. En revanche, dans les zones de faible transmission, la probabilité de contracter une infection est faible, mais perdure pendant toute la durée de la vie. Selon les zones d'endémie ce sont donc des contraintes de longévité fort différentes qui s'imposent à l'efficacité vaccinale. Pour les zones de forte endémie, le plus facile à mettre en place serait une vaccination dans le cadre du programme élargi de vaccination de la petite enfance. Il faudra alors que la durée d'efficacité du vaccin couvre la période du risque maximal, c'est à dire au moins les cinq premières années de vie (118). Le même vaccin serait-il utilisable pour les zones de transmission faible, où l'incidence est faible et le risque distribué sur toutes les classes d'âge ? Serait-il utilisable dans les situations de type épidémique ou pour le groupe à risque particulier que sont les voyageurs, pour lesquels les contraintes de longévité vaccinale sont moindres ?

5-2-3- Une protection contre les accès graves ou les accès simples ?

La protection contre les accès graves et la mortalité est de première importance, mais on ne peut pas occulter la nécessité de prévenir aussi les accès non compliqués, beaucoup plus fréquents, et constituant également une charge considérable pour les services de santé.

On sait qu'en zone d'endémie, l'immunité qui empêche la survenue de l'accès grave s'acquiert vite, après peu d'expositions, mais qu'elle ne protège pas contre les accès non compliqués, qui peuvent encore survenir pendant de très longues années. On comprend mal, à l'heure actuelle, les relations entre accès grave et accès simple, mais on s'accorde à penser qu'une immunité solide contre l'accès simple devrait empêcher la survenue des accès graves (118).

Ainsi, la stratégie actuelle de développement de vaccins est d'utiliser la protection contre l'accès simple comme critère majeur des essais cliniques dans les groupes à risque sur le terrain. L'avantage de ces essais est qu'ils peuvent être réalisés sur des groupes de taille relativement petite et ce n'est qu'après démonstration d'une protection efficace contre l'accès simple que l'on procèdera à des essais de protection contre la morbidité grave ou la mortalité, qui nécessitent des effectifs beaucoup plus importants. Aucun vaccin candidat n'a encore été expérimenté sur le terrain jusqu'au stade de la protection contre l'accès grave,

parce qu'aucun n'a encore donné de résultats de protection assez satisfaisants contre l'accès simple.

Cependant, le fait que les moustiquaires imprégnées, dont le mécanisme d'action est de diminuer la fréquence de l'inoculation, réduisent fortement la mortalité et l'incidence des formes graves dans les zones de mésoendémie suggère que même un vaccin partiellement efficace pourrait avoir un impact sur la santé publique dans ces régions. Mais l'impact faible des moustiquaires imprégnées dans les zones de forte endémie suggère qu'il faut une intervention plus vigoureuse lorsque la transmission est intense.

Ainsi, pour développer des stratégies rationnelles tenant compte des contraintes de transmission et d'exposition au parasite, il nous faut mieux comprendre la cascade d'événements conduisant à la pathologie grave dans différents contextes de transmission.

5-2-4- Un groupe à risque particulier : les femmes enceintes

La nature du risque pour les femmes enceintes diffère également selon le niveau de transmission. Chez les femmes vivant en zone de transmission intense, la grossesse est associée à une incidence accrue d'accès palustre, mais rarement d'accès grave en raison d'une immunité déjà acquise alors que dans les zones de faible endémie, où les femmes ont peu d'immunité acquise, la grossesse augmente le risque d'accès grave (118).

L'aspect le plus préoccupant du paludisme chez la femme enceinte est l'infection placentaire, observée avec une forte prévalence dans les diverses zones, surtout chez les primigestes. Cela a pour conséquence une augmentation significative du nombre de « petits poids de naissance » (< 2 500 g) avec un risque accru d'accès palustre et d'anémie palustre au cours des six premiers mois de la vie. Eviter la colonisation parasitaire du placenta par la vaccination devrait donc avoir des conséquences importantes en santé publique. Les bases moléculaires de la colonisation placentaire ont été récemment déchiffrées, ouvrant des perspectives intéressantes de mise au point d'un vaccin pour les femmes enceintes. Quand administrer cet hypothétique vaccin reste une réponse délicate à résoudre, en particulier pour des sociétés où les jeunes filles ont peu d'autonomie.

La situation est donc complexe du fait de l'hétérogénéité des situations épidémiologiques et des groupes à risque. Les contraintes de coût dans le cahier des charges sont telles qu'il est difficile d'envisager et de déployer des vaccins à la carte selon les situations

épidémiologiques. Les recherches actuelles en sont encore à une phase exploratoire, visant à déterminer la meilleure stratégie, les meilleures immunogènes et à en éprouver le pouvoir vaccinant dans des phases d'essais pilotes examinant la protection contre la réinfection ou contre la survenue des accès simples. Une fois l'efficacité démontrée, le chemin sera encore long avant leur utilisation effective dans les différentes conditions épidémiologiques.

5-3- La complexité biologique du parasite

En plus de la complexité des situations épidémiologiques, de la diversité des besoins et des groupes à risque, le développement de vaccins se heurte à une formidable complexité biologique.

Le cycle biologique alterne développement chez le moustique et développement chez l'homme, chacun comprenant plusieurs formes distinctes. Cette complexité du cycle est à la fois un avantage et un inconvénient pour le développement de vaccins. L'avantage, c'est que ce ne sont pas les cibles et les étapes cruciales qui manquent dans un tel cycle. L'inconvénient, c'est qu'il y a beaucoup de pistes à explorer. Pour interrompre le cycle, on peut cibler la phase pré-érythrocytaire (vaccin prévenant l'infection) ou cibler une étape du cycle érythrocytaire (vaccin prévenant la morbidité), ou prévenir la transmission en ciblant les stades sexués. Ces trois types de stratégies ne sont pas mutuellement exclusifs, bien au contraire. En cas de blocage partiel, on imagine volontiers que les parasites qui échappent au contrôle d'un vaccin pré-érythrocytaire partiellement efficace puissent être éliminés au stade ultérieur par un vaccin contre les stades sanguins. Un vaccin bloquant la transmission aux moustiques ne peut pas être utilisé seul, puisqu'il ne prévient ni l'infection, ni la morbidité, mais il vient compléter les autres, en empêchant la transmission de mutants et en réduisant progressivement le niveau d'endémicité. A l'heure actuelle, ces diverses stratégies sont poursuivies en parallèle (118).

Une autre complexité biologique du *Plasmodium* est sa capacité à produire un grand nombre d'antigènes, beaucoup plus important que les virus ou les bactéries. Les antigènes de surface et bon nombre d'antigènes sécrétés sont spécifiques de stade. Chaque stade constitue donc pour le système immunitaire une entité distincte.

A ce bagage antigénique multiple, s'ajoute la complexité supplémentaire de l'importante diversité parasitaire. Trois mécanismes majeurs sous-tendent cette diversité : le polymorphisme allélique, la variation antigénique (processus épigénétique par lequel le

parasite expose à la surface du globule rouge parasité des formes sérologiques différentes de la même molécule) et la recombinaison sexuée. Il n'est pas rare de dénombrer plusieurs dizaines d'allèles pour un même locus dans un même village (118). Le système immunitaire est donc confronté à un très grand nombre de souches, qui exposent des épitopes différents à la surface des formes extracellulaires et à la surface des cellules hôtes infectées.

5-4- Les candidats vaccins

Les vaccins en cours d'élaboration ou d'évaluation clinique s'attaquent actuellement soit à des antigènes exprimés par le parasite, soit aux globules rouges infectés.

Deux stratégies majeures sont suivies à l'heure actuelle pour développer des vaccins. L'une est de déclencher une ou plusieurs réactions immunitaires efficaces contre un grand nombre d'antigènes différents, l'autre est de trouver une molécule capable de neutraliser un antigène ou une molécule dont le parasite a besoin pour évoluer ou s'exprimer.

A l'Institut Pasteur, plusieurs équipes travaillent à l'élaboration de vaccins contre le paludisme et plusieurs candidats sont à l'étude. (121)

Le Laboratoire de Parasitologie Médicale, dirigé par Pierre Druilhe, s'intéresse à différents stades du parasite. Les chercheurs ont caractérisé et produit des molécules antigéniques spécifiques des stades précédant l'invasion des globules rouges (dits « pré-érythrocytaire »), en particulier du stade hépatique jusque là délaissé (122). Un des intérêts majeurs de ces antigènes pré-érythrocytaires est qu'ils se sont révélés moins variables génétiquement que d'autres molécules de *Plasmodium*. Deux molécules - LSA 1 et LSA 3 – ont notamment été identifiées dans ce laboratoire et sont aujourd'hui considérées, au vu des résultats chez le chimpanzé, comme des candidats vaccins prometteurs (123). Des essais cliniques (phase 1 –tolérance et immunogénicité) sont en cours dans le cadre du programme Key Action 2 de la Commission Européenne, du programme VIHPAL du ministère de la Recherche, avec le soutien de l'European Malaria Vaccine Initiative (EMVI).

L'équipe de Pierre Druilhe étudie également une molécule de surface du parasite, MSP3, identifiée comme étant la cible du mécanisme de défense majeur contre l'infection au stade érythrocytaire. Des études immuno-épidémiologiques en zone d'endémie (Sénégal) ont largement confirmé l'intérêt de cette molécule : il existe en effet une très forte corrélation entre la présence d'anticorps dirigés contre MSP3 et la protection acquise par exposition naturelle à l'infection (124). Des essais d'immunisation par MSP3 ont donné des résultats

encourageants chez les primates, qui ont justifié la mise en route d'essais chez l'homme, également soutenus par l'EMVI.

Le groupe de Shirley Longacre, dans l'Unité d'Immunologie Moléculaire des Parasites, étudie une protéine de surface du parasite, présente au stade érythrocytaire : la MSP1 (merozoïte surface protein 1), et plus particulièrement une partie de cette protéine nommée P19 (121). Il a été démontré que si on bloquait la P19, le parasite ne pouvait plus continuer son cycle, d'où l'intérêt de tenter de stimuler le système immunitaire contre elle (120). La P19, produite dans un virus d'insecte (baculovirus), a déjà fait l'objet d'une dizaine d'essais d'immunisation chez le singe Saïmiri, à l'Institut Pasteur de Guyane et à l'Université de New York, et chez le macaque à l'Université de Colombo (Sri Lanka). D'excellentes protections ont été obtenues en utilisant les P19 de *P. vivax* et de *P. cynomolgi* (responsable d'infections naturelles chez le macaque) administrées avec l'adjuvant de Freund. Mais les résultats ont été plus nuancés lorsque l'immunisation était réalisée avec l'adjuvant d'alun, seul à être autorisé chez l'homme, ou avec la P19 de *P. falciparum*. Cependant, de récents résultats montrent que ces obstacles pourraient être contournés, et l'Institut Pasteur pourrait lancer les premiers essais cliniques chez l'homme rapidement. Ces recherches font par ailleurs l'objet de contrats avec l'OMS et sont soutenues par l'Union Européenne.

L'unité d'Immunologie Moléculaire des Parasites, dirigée par Odile Puijalon, étudie l'antigène R23, une molécule conservée exposée à la surface des globules rouges infectés. Des essais menés en collaboration avec l'Institut Pasteur de la Guyane sur des singes déjà exposés au parasite (pré-immuns) ont montré que l'administration de cet antigène en présence d'alun, un adjuvant utilisé pour la plupart des vaccins chez l'homme, conférait une très bonne protection. L'évaluation de son efficacité sur des singes « naïfs », n'ayant jamais été en contact avec le parasite a montré que l'antigène induisait une réponse différente de celle observée chez les singes pré-immuns. Ceci indique que l'exposition préalable au parasite oriente la réponse immune d'une façon qui n'a pas été obtenue lors de l'immunisation des animaux naïfs. Les facteurs qui gouvernent la spécificité fine des anticorps est en cours d'analyse. Parallèlement, les chercheurs tentent de produire R23 par synthèse chimique. Ce programme de recherche est inclus dans le programme européen EuroMalvac. (121)

Une autre stratégie de recherche vise à prévenir les formes graves du paludisme.

L'équipe d'Artur Scherf, de l'Unité de Biologie des Interactions Hôte-Parasite, et celle de l'Unité de Parasitologie Expérimentale dirigée par Jürg Gysin de l'Institut Pasteur travaillent à l'élaboration d'un vaccin qui permettrait de prévenir le paludisme gestationnel : il survient

chez les femmes enceintes en zone d'endémie, chez lesquelles les accès cliniques et l'anémie sont plus fréquents ou plus intenses pendant la première grossesse (125). Il a été calculé qu'une intervention efficace sur le paludisme gestationnel permettrait de réduire de 3 à 5% la mortalité infantile en zone d'endémie. Cette forme de paludisme est caractérisée par une concentration de globules rouges parasités au niveau du placenta. Ces globules rouges adhèrent au niveau des capillaires placentaires à une molécule nommée CSA (chondroïtine sulfate A) : l'objectif est d'élaborer un vaccin pour empêcher cette adhésion, qui serait administré chez les jeunes femmes en zone d'endémie. Les chercheurs de ces deux groupes ont cloné le gène de la protéine du parasite qui se lie au CSA, précisément identifié la région de cette protéine impliquée dans cette liaison, et montré que des anticorps dirigés contre elle inhibent l'adhésion du parasite au CSA. La région identifiée est donc un bon candidat pour la vaccination, et des essais sont en cours chez le primate à Marseille. Les chercheurs ont de plus identifiés deux autres antigènes du parasite, également capables de se lier au placenta, mais à un stade plus précoce de l'infection. Ils pourraient permettre de renforcer le candidat vaccin à l'étude.

Une autre caractéristique des formes graves du paludisme est une inflammation systémique très importante. Une des voies de recherches de l'Unité d'Immunologie Moléculaire des Parasites est de disséquer la cascade des événements qui conduisent à ces graves désordres immunologiques. Plusieurs sous-populations de cellules immunocompétentes ont été identifiées. Le but ultime de ces recherches est d'identifier les molécules parasitaires à l'origine de ces désordres et de mettre en place une stratégie vaccinale ciblant ces molécules.

Ainsi, l'équipe australienne de Schofield (126) a découvert récemment que le *Plasmodium berghei* (parasite du paludisme chez la souris) produit une toxine, la GPI (Glycosyl Phosphatidyl Inositol). Cette toxine semble responsable de la virulence du parasite chez la souris, mais aussi chez l'homme. Ainsi, elle serait directement responsable des accès de fièvre récurrents, des complications pulmonaires ou cérébrales, ainsi que des décès liés à la maladie. Après avoir obtenu une GPI synthétique, les chercheurs l'ont liée à des transporteurs suffisamment gros pour susciter une réponse immunitaire et ont injecté le cocktail à des souris saines. Ainsi, 75 % des souris vaccinées ont survécu à l'injection massive de *P. berghei* et aucune n'a développé de complication grave (acidose sanguine, œdème pulmonaire, paludisme cérébral ou décès). En comparaison, toutes les souris non vaccinées sont mortes. Cette nouvelle piste semble donc intéressante à plus d'un titre. Néanmoins seule la toxine serait inhibée, le parasite continue à se répliquer, provoquant une anémie chez la souris qui risque de se reproduire chez l'homme, même si son système immunitaire est plus robuste. L'idéal serait donc de combiner l'injection de GPI synthétique à

l'action d'un vaccin tuant le parasite (s'attaquant à ces antigènes ou à ses constituants). Cependant, Schofield souligne qu'en immunisant les enfants vivant en zone d'endémie uniquement avec un vaccin GPI, cela permettrait de les garder en bonne santé le temps qu'ils développent une immunité naturelle vis-à-vis du parasite.

Une autre approche a été démarrée récemment pour identifier les facteurs de virulence parasitaire : la modification génétique des parasites par invalidation de certains gènes notamment. Les conséquences sur la pathologie induite par ces parasites modifiés sont étudiées en pratiquant des infections expérimentales chez le singe (121).

En conclusion, cette liste non exhaustive de nouvelles voies de recherche relance l'espoir de voir apparaître un vaccin contre le paludisme. Elle est le fruit des efforts importants et des progrès considérables réalisés au cours de cette dernière décennie. Cependant, un long chemin reste encore à parcourir avant qu'un vaccin efficace soit disponible.

CONCLUSION

Le paludisme est la première maladie parasitaire humaine. Son poids en santé publique est considérable. Plus de 40% de la population mondiale vit dans des zones à risque, et, du fait des voyages, les populations des pays où il n'y a pas de transmission ne sont pas épargnées.

La situation est préoccupante parce que les moyens de lutte dont nous disposons actuellement sont menacés : résistance multiple des parasites aux médicaments, extension progressive de la résistance des parasites aux insecticides, infrastructures inadéquates et difficultés économiques pour déployer les moyens de lutte tels que les moustiquaires imprégnées.

Dans ce contexte de résistance, voire même de multi-résistance aux traitements disponibles, Malarone[®] est une alternative intéressante. A ce jour, cette association est efficace dans toutes les zones d'endémie, cependant, son coût élevé en fait un traitement plutôt destiné aux voyageurs.

La recherche progresse ; de nouvelles molécules et notamment celles dérivées de l'artémisinine sont prometteuses. Des candidats vaccins sont également à l'étude. Cependant, quelques années de test et de mise au point sont encore nécessaires avant la mise à disposition d'un nouveau traitement issu des recherches en cours.

Les pays développés ont aujourd'hui pris conscience de la crise sanitaire mondiale liée aux maladies transmissibles dont le paludisme. Des laboratoires pharmaceutiques se sont engagés à assumer pleinement leurs responsabilités afin d'améliorer les soins de santé dans les pays en développement. Ils ont ainsi entrepris des investissements en Recherche et Développement sur des maladies qui touchent plus particulièrement les pays pauvres ; ils leur fournissent des traitements efficaces à des tarifs préférentiels ; ils jouent également un rôle moteur dans les activités de proximité en faveur de soins de santé efficaces. Dans ce contexte, des partenariats entre les organismes publics et les laboratoires pharmaceutiques ont vu le jour ces dernières années. Nous citerons par exemple, l'initiative des laboratoires Novartis qui distribuent du Co-artem[®] (artémether/luméfantrine) à prix réduit pour les enfants d'Afrique, mais aussi le programme de donation de Malarone[®] au Kenya entrepris en 2002 par GlaxoSmithKline. Cependant, de nombreux efforts restent encore à fournir pour espérer un jour contrôler cette parasitose.

BIBLIOGRAPHIE

- 1- Lebrun-Vignes B. Les antimalariques : pharmacologie, pharmacocinétique et toxicité chez l'adulte. **Méd Mal Infect** 1999 29 302-6.
- 2- **BEH** 24/2002. Recommandations sanitaires pour les voyageurs.
- 3- Hudson AT. Lapinone, menoctone, hydroxyquinolinequionones and similar structures. *In* : Peters W, Richards WHG, **Handbook of experimental pharmacology**, Antimalarial drugs. New York; Springer Verlag 1984 68 343-361.
- 4- Hudson AT, Dickins M, Ginger CD. 566C80 : a broad spectrum anti-infective agent with activity against malaria and opportunistic infections in IDS patients. **Drugs Exp Clin Res** 1991 17 427-435.
- 5- Vaidya AB, Mather MW. Atovaquone resistance in malaria parasites. **Drug Resistance Updates** 2000 3 238-287.
- 6- Hammond DJ, Burchell JR, Pudney M. Inhibition of pyrimidine biosynthesis de novo by 2-(4-butylcyclohexyl)-3-hydroxy-1,4-naphtoquinone *in vitro*. **Mol Biochem Parasitol** 1985 14 97-109.
- 7- Srivastava IK, Rottenberg H, Vaidya AB. Atovaquone, a broad spectrum antiparasitic drug, collapses mitochondrial membrane potential in a malarial parasite. **J Biol Chem** 1997 272 3961-3966.
- 8- Ferone R. Dihydrofolate reductase inhibitors. *In* : Peters W, Richards WHG, **Handbook of experimental pharmacology**, Antimalarial drugs. New York; Springer Verlag 1984 68 207-221.
- 9- Watkins WM, Sixsmith DG, Chlay JD. The activity of proguanil and its metabolites, cycloguanil and 4-chlorophenylbiguanide, against *Plasmodium falciparum in vitro*. **Ann Trop Med Parasitol** 1984 78 273-278.
- 10- Warhust DC. Antimalarial drugs. An update. **Drugs** 1987 33 50-65.
- 11- Canfield CJ, Pudney M, Gutteridge WE. Interactions of atovaquone with other antimalarial drugs against *Plasmodium falciparum in vitro*. **Exp Parasitol** 1995 80 373-381.
- 12- Pudney M, Gutteridge WE, Zeman A, Dickins M, Woolley JL. Atovaquone and Proguanil hydrochloride : a review of non clinical studies. **J Travel Med** 1999 6 S8-S12.
- 13- Looareesuwan S, Viravan C, Webster HK, Kyle DE, Hutchinson DB, Canfield CJ. Clinical studies of atovaquone, alone or in combination with other antimalarial drugs, for treatment of acute uncomplicated malaria in Thailand. **Am J Trop Med Hyg** 1996 54 62-66.
- 14- Srivastava IK, Vaidya AB. A mechanism for the synergistic antimalarial action of atovaquone and proguanil. **Antimicrob Agents Chemother** 1999 43 1334-1339.
- 15- Mentions Légales de Malarone®. **Vidal** 2002 .
- 16- Rolan PE, Mercier AJ, Weatherley BC. Examination of some factors responsible for a food-induced increase in absorption of atovaquone. **Br J Clin Pharmacol** 1994 37 13-20.

- 17- Edstein MD, Yeo AET, Kyle DE, Looareesuwan S, Wilairatana P, Rieckmann KH. Proguanil polymorphism does not affect the antimalarial activity of proguanil combined with atovaquone *in vitro*. **Trans R Soc Trop Med Hyg** 1996 90 418-421.
- 18- Hussein Z, Eaves CJ, Hutchinson DB, Canfield CJ. Population pharmacokinetics of proguanil in patients with acute *P. falciparum* malaria after combined therapy with atovaquone. **Br J Clin Pharmacol** 1996 42 589-597.
- 19- Looareesuwan S, Wilairatana P, Chalermarut K, Rattanapong Y, Canfield CJ, Hutchinson DB. Efficacy and safety of atovaquone/proguanil compared with mefloquine for treatment of acute *Plasmodium falciparum* malaria in Thailand. **Am J Trop Med Hyg** 1999 60 526-532.
- 20- Sabchareon A, Attanath P, Phanuaksook P, Chanthavanich P, Poopanich Y, Mookmanee D, Chongsuphajaisiddhi T, Sadler BM, Hussein Z, Canfield CJ, Hutchinson DB. Efficacy and pharmacokinetics of atovaquone and proguanil in children with multidrug-resistant *Plasmodium falciparum* malaria. **Trans R Soc Trop Med Hyg** 1998 92 201-206.
- 21- Bustos DG, Canfield CJ, Canete-Miguel E, Hutchinson DB. Atovaquone-proguanil compared with chloroquine and chloroquine-sulfadoxine-pyrimethamine for treatment of acute *Plasmodium falciparum* malaria in the Philippines. **J Infect Dis** 1999 179 1587-90.
- 22- Llanos-Cuentas A, Campos P, Clendenes M, Canfield CJ, Hutchinson DB. Atovaquone and proguanil hydrochloride compared with chloroquine or pyrimethamine-sulfadoxine for treatment of acute *Plasmodium falciparum* malaria in Peru. **Braz J Infect Dis** 2001 5 67-72.
- 23- Mulenga M, Sukwa TY, Canfield CJ, Hutchinson DB. Atovaquone and proguanil versus pyrimethamine-sulfadoxine for the treatment of acute falciparum malaria in Zambia. **Clin Ther** 1999 21 841-52.
- 24- Radloff PD, Philipps J, Nkeyi M, Hutchinson D, Kremsner PG. Atovaquone and proguanil for *Plasmodium falciparum* malaria. **Lancet** 1996 347 1511-1514.
- 25- Anabwani G, Canfield CJ, Hutchinson DB. Combination atovaquone and proguanil hydrochloride vs. halofantrine for treatment of acute *Plasmodium falciparum* malaria in children. **Pediatr Infect Dis J** 1999 18 456-61.
- 26- Bouchaud O, Monlun E, Muanza K, Fontanet A, Scott T, Goetschel A, Chulay JD, Le Bras J, Danis M, Le Bras M, Coulaud JP, Gentilini M. Atovaquone plus proguanil versus halofantrine for treatment of imported acute uncomplicated *Plasmodium falciparum* malaria in non-immune adults : a randomised comparative trial. **Am J Trop Med Hyg** 2000 63 274-279.
- 27- de Alencar FE, Cerutti C, Durlacher RR, Boulos M, Piovesan Alves F, Milhous W, Pang LW. Atovaquone and proguanil for the treatment of malaria in Brazil. **J Infect Dis** 1997 175 1544-1547.
- 28- Falade CO, Oduola AMJ, Salako LA. Malarone (atovaquone/proguanil) for treatment of *P. falciparum* malaria in young children from south-western Nigeria. Poster presented at

Oxford 2000 : **New Challenges in Tropical Medicine and Parasitology** ; September 18-22,2000.

- 29- Shanks GD, Gordon DM, Klotz FW, Aleman GM, Oloo AJ, Sadie D, Scott TR. Efficacy and safety of atovaquone/proguanil as suppressive prophylaxis for *Plasmodium falciparum* malaria. **Clin Infect Dis** 1998 27 494-499.
- 30- Sukwa TY, Mulenga M, Chisdaka N, Roskell NS, Scott TR. A randomised, double-blind, placebo-controlled field trial to determine the efficacy and safety of Malarone® for the prophylaxis of malaria in Zambia. **Am J Trop Med Hyg** 1999 60 521-525.
- 31- Lell B, Luckner D, Ndjavé M, Scott TR, Kremsner PG. Randomised placebo-controlled study of atovaquone plus proguanil for malaria prophylaxis in children. **Lancet** 1998 351 709-713.
- 32- van der Berg JD, Duvenage CSJ, Roskell NS, Scott TR. Safety and efficacy of atovaquone and proguanil hydrochloride for the prophylaxis of *Plasmodium falciparum* malaria in South Africa. **Clin Ther** 1999 21 741-749.
- 33- Hogh B, Clarke PD, Camus D, Nothdurft HD, Overbosch D, Günther M, Joubert I, Kain KC, Shaw D, Roskell NS, Chulay JD. Atovaquone-proguanil versus chloroquine-proguanil for malaria prophylaxis in non-immune travellers: a randomised, double-blind study. **Lancet** 2000 356 1888-1894.
- 34- Overbosch D, Schilthuis H, Bienzle U, Behrens RH, Kain KC, Clarke PD, Toovey S, Knobloch J, Nothdurft HD, Shaw D, Roskell NS, Chulay JD. Atovaquone-proguanil versus mefloquine for malaria prophylaxis in non-immune travellers : results from a randomised, double-blind study. **Clin Infect Dis** 2001 33 1015-21.
- 35- Camus D, Malvy D, Schilthuis H, Hogh B, Hamilton D, Roskell NS, Miller GB. Malarone® vs. chloroquine/proguanil for malaria prophylaxis in non-immune paediatric travellers : a randomised, open-label study. **Am J Trop Med Hyg** 2001 65 344-345.
- 36- Shanks GD, Kremsner PG, Sukwa TY. Atovaquone and proguanil hydrochloride for prophylaxis of malaria. **J Travel Med** 1999 6 S21-S27.
- 37- Looareesuwan S, Wilairatana P, Glanarongran R, Indravijit KA, Supceranontha L, Chinnapha S, Scott TR, Chulay JD. Atovaquone and proguanil hydrochloride followed by primaquine for treatment of *Plasmodium vivax* malaria in Thailand. **Trans R Soc Trop Med Hyg** 1999 93 637-640.
- 38- Ling J, Baird JK, Fryauff DJ, Sismadi P, Bangs MJ, Lacy M, Barcus MJ, Gramzinski R, Maguire JD, Kumusumangsih M, Miller GB, Jones TR, Chulay JD, Hoffman SL. Randomized, placebo-controlled trial of atovaquone/proguanil for the prevention of *Plasmodium falciparum* or *Plasmodium vivax* malaria among migrants to Papua, Indonesia. **Clin Infect Dis** 2002 35 852-33.

- 39- Baird JK. Malarone® for prevention of *P. vivax* malaria. **7th conference of the International Society of Travel Medicine**, Malarone® in travellers, Innsbrück, Autriche, 28th may 2001.
- 40- Radloff PD, Philipps J, Hutchinson D, Kremsner PG. Atovaquone plus proguanil is an effective treatment for *Plasmodium ovale* and *P. malariae* malaria. **Trans R Soc Trop Med Hyg** 1996 90 682.
- 41- Whitby M. Drug resistant *Plasmodium vivax* malaria. **J Antimicrob Chemother** 1997 40 749-752.
- 42- Dixon KE, Pitaktong U, Phintuyothin P. A clinical trial of mefloquine in the treatment of *Plasmodium vivax* malaria. **Am J Trop Med Hyg** 1985 34 435-437.
- 43- Olliaro P, Cattani J, Wirth D. Malaria, the submerged disease. **JAMA** 1996 275 230-233.
- 44- Sachs J, Malaney P. The economic and social burden of malaria. **Nature** 2002 415 680-685.
- 45- Greenwood B, Mutabingwa T. Malaria in 2002. **Nature** 2002 415 670-672.
- 46- Guerin PJ, Olliaro P, Nosten F, Druilhe P, Laxminarayan R, Binka F, Kilama WL, Ford N, White NJ. Malaria : current status of control, diagnosis, treatment, and a proposed agenda for research and development. **Lancet Infect Dis** 2002 2 564-73.
- 47- Danis M, Legros F. Paludisme d'importation en France. **Med Mal Infect** 1999 29 257-273.
- 48- Le Bras J. Chimiorésistance de *Plasmodium falciparum*. **Med Mal Infect** 1999 29 274-281.
- 49- Nosten F, Brasseur P. Combination therapy for malaria. The way forward ? **Drugs** 2002 62 1315-1329.
- 50- Bloland PB, Ettlign M, Meek S. Traitements antipaludiques associés en Afrique: faut-il y croire? **Bull OMS** Recueil d'articles n°4 2001 134-144.
- 51- Thaithong S, Beale GH, Chutmongkonkul M. Variability in drug susceptibility amongst clones and isolates of *Plasmodium falciparum*. **T Roy Soc Trop Med H** 1988 82 33-36.
- 52- Ter Kuile F. Predictors of mefloquine treatment failure : a prospective study of 1590 patients with uncomplicated *falciparum* malaria. **T Roy Soc Trop Med H** 1995 89 660-664.
- 53- Watkins WM, Mosobo M. Treatment of *Plasmodium falciparum* malaria with pyriméthamine-sulfadoxine : selective pressure for resistance is a function of long elimination half-life. **T Roy Soc Trop Med H** 1993 87 75-78.
- 54- Shakoor O, Taylor RB, Behrens RH. Assessment of the incidence of substandard drugs in developing countries. **Trop Med Int Hlth** 1997 2 839-845.
- 55- Paul REL. Mating patterns of malaria parasite populations of Papua New Guinea. **Science** 1995 269 1709-1711.

- 56- Paul REL, Day KP. Mating patterns of *Plasmodium falciparum*. **Parasit Today** 1998 14 197-202.
- 57- Mackinnon MJ. Survival probability of drug resistant mutants in malaria parasites. **Proc Roy Soc London, Series B, Biol Sci** 1997 264 53-59.
- 58- Babiker HA, Walliker D. Current views on the population structure of *Plasmodium falciparum* : implications for control. **Parasitol Today** 1997 13 262-267.
- 59- Mackinnon MJ, Hastings IM. The evolution of multiple drugs resistance in malaria parasite. **T Roy Soc Trop Med H** 1998 92 188-195.
- 60- Hastings IM. A model for the origins and spread of drug-resistant malaria. **Parasitology** 1997 115 133-141.
- 61- Hastings IM, Mackinnon MJ. The emergence of drug-resistant malaria. **Parasitology** 1998 117 411-417.
- 62- Luxemburger C. The epidemiology of malaria in a Karen population on the western border of Thailand. **T Roy Soc Trop Med H** 1996 90 105-111.
- 63- Baird JK. Host age as a determinant of naturally acquired immunity to *Plasmodium falciparum*. **Parasitol Today** 1995 11 105-111.
- 64- Bruce C. Chemotherapy of malaria. **WHO ed. Geneva, Swz** 1981 261.
- 65- Durand R, Sayeh J. Analysis of Pfcrt point mutation and chloroquine susceptibility in isolates of *Plasmodium falciparum*. **Mol Biochem Parasitol** 2001 114 95-102.
- 66- Durand R, Sayeh J. *Plasmodium falciparum* : Pfcrt and DHFR mutations are associated with chloroquine plus proguanil prophylaxis failures in travellers. **J Infect Dis** 2001 184 1633-1634.
- 67- Durand R, Ramiliarisoa O, Sécardin Y, Eldin de Pécoulas P, Basco LK, Le Bras J. DHFR gene point mutation as a predictor of *Plasmodium falciparum* resistance to cycloguanil in malaria cases from Africa imported to France. **T Roy Soc Trop Med H** 1997 91 460-461.
- 68- Prazy D, Doering C, Pradines B, Rico A, Fusai T, Doury JC. Proguanil resistance in *Plasmodium falciparum* African isolates : assessment by mutation-specific polymerase chain reaction and *in vitro* susceptibility testing. **Am J Trop Med Hyg** 1997 57 646-650.
- 69- Basco LK, Le Bras J, Rhoades Z, Wilson MC. Analysis of pfmdr 1 and drug susceptibility in fresh isolates of *Plasmodium falciparum* from Subsaharian Africa. **Mol Biochem Parasitol** 1995 74 157-166.
- 70- Durand R, Gabbett E, Di Piazza JP, Delabre JF, Le Bras J. Analysis of κ and ω repeats of cg2 gene and chloroquine susceptibility in fresh isolates of *Plasmodium falciparum* from Subsaharan Africa. **Mol Biochem Parasitol** 1999 101 185-197.
- 71- Le Bras J. Mécanismes et dynamique des chimiorésistances de *Plasmodium falciparum*. **Bull Soc Pathol Exot** 1999 T92 1-6.
- 72- Ridley RG. Malaria : dissecting chloroquine resistance. **Current Biol** 1998 8 R346-R349.

- 73- Su XZ, Kirkman LA, Fujioka H, Wellems TE. Complex polymorphisms in a 330 kDa protein are linked to chloroquine-resistant *P. falciparum* in southeast Asia and Africa. **Cell** 1997 91 593-603.
- 74- Frédérick M, Dogné JM, Angenot L, De Mol P. New trends in anti-malarial agents. **Current Med Chem** 2002 9 1435-1456.
- 75- Sirawaraporn W, Sathitkul S, Sirawaraporn R, Yuthavong Y, Santi DV. Antifolate-resistant mutants of *Plasmodium falciparum* dihydrofolate reductase. **Proc Nat Acad Sc USA** 1997 94 1124-1129.
- 76- Basco LK, Tahar R, Ringwald P. Molecular basis of in vivo resistance to sulfadoxine-pyrimethamine in African adult patients infected with *P. falciparum* malaria parasites. **Antimicrob Agents Chemother** 1998 42 1811-1814.
- 77- Triglia T, Cowman AF. The mechanism of resistance to sulfa drugs in *Plasmodium falciparum*. **Drug Resist Update** 1999 2 15-19.
- 78- Curtis J, Duraisingh MT, Warhurst DC. *In vivo* selection for a specific genotype of dihydropteroate synthetase of *P. falciparum* by pyrimethamine-sulfadoxine but not by chlorproguanil-dapsone treatment. **J Infect Dis** 1998 177 1429-1433.
- 79- Wang P, Read M Sims PF, Hyde JE. Sulfadoxine resistance in the human parasite *P. falciparum* is determined by mutations in dihydropteroate synthetase and an additional factor associated with folate utilisation. **Mol Microbiol** 1997 23 979-986.
- 80- Kublin JG, Wtzig RS, Shankar AH, Zurita JQ, Gilman RH. Molecular assays for surveillance of antifolate-resistant malaria. **Lancet** 1998 351 1629-1630.
- 81- White NJ. Why is it that antimalarial drug treatments do not always work? **Ann Trop Med Parasitol** 1998 92 449-458.
- 82- Ralaimazava P, Durand R, Godineau N, Keundjian A, Jezic Z, Pradines B, Bouchaud O, Le Bras J. Profil et evolution de la chimiosensibilité du paludisme d'importation à *P. falciparum* en France. **BEH** 26/2002 127-129.
- 83- Le Bras J, Durand R, di Piazza JP, Pradines B, Longuet C, Prazy D. Prise en compte des disparités de résistance de *P. falciparum* en Afrique dans la décision chimioprophylactique. **Presse Med** 1998 27 1419-23.
- 84- Peters W. The prevention of antimalarial drug resistance. **Pharmacol Ther** 1990 47 499-508.
- 85- Chiodini PL, Conlon CP, Hutchinson DB, Farquhar JA Hall AP, Peto TE, Birley H, Warrell DA. Evaluation of atovaquone in the treatment of patients with uncomplicated *Plasmodium falciparum* malaria. **J Antimicrob Chemother** 1995 36 1073-1078.
- 86- Canfield CJ, Pudney M, Gutteridge WE. Interactions of atovaquone with antimalarial drugs against *Plasmodium falciparum* *in vitro*. **Exp Parasitol** 1995 80 373-381.

- 87- Korsinczky M, Chen N, Kotecka B, Saul A, Rieckmann K, Cheng Q. Mutations in *Plasmodium falciparum* cytochrome b that are associated with atovaquone resistance are located at a putative drug-binding site. **Antimicrob Agents Chemother** 2000 44 2100-2108.
- 88- Peters W. The problem of drug resistance in malaria. **Parasitology** 1985 90 705-15.
- 89- Helsby NA, Ward SA, Edwards G, Howells RE, Breckenridge AM. The pharmacokinetics and activation of proguanil in man : consequences of variability in drug metabolism. **Br J Clin Pharmacol** 1990 30 593-598.
- 90- Setiabudy R, Kusaka M, Chiba K, Darmansjah I, Ishizaki T. Metabolic disposition of proguanil in extensive and poor metabolisers of S-mephenytoin 4-hydroxylation recruited from an Indonesian population. **Br J Clin Pharmacol** 1995 39 297-303.
- 91- Fivelman QL, Butcher GA, Adagu IS, Warhurst DC, Pasvol G. Malarone[®] treatment failure and *in vitro* confirmation of resistance of *Plasmodium falciparum* isolate from Lagos, Nigeria. **Malaria J** 2002 1 1-4.
- 92- Looareesuwan S, Chulay JD, Canfield CJ, Hutchinson DBA. Malarone[®] (atovaquone and proguanil hydrochloride) : a review of its clinical development for treatment of malaria. **Am J Trop Med Hyg** 1999 60 533-541.
- 93- Bronneris U, Farnert A. Reports of failure of atovaquone/proguanil (Malarone[®]) for malaria. **Message ProMED** du 17 janvier 2002 : 2 pages.
- 94- Francillon F. Le paludisme. **L'infirmière magazine** 2002 170 1-6.
- 95- Aikins MK, Fox-Rushby J, D'Alessandro U. The Gambian national impregnated bednet program : costs, consequences and net cost-effectiveness. **Soc Sci Med** 1998 46 181-91.
- 96- Lengeler C. Insecticide-treated bednets and curtains for preventing malaria. **Cochrane Database of Systematic Reviews**. Oxford: Update Software 2000: CD000363.
- 97- Druilhe P, Renia L, Fidock D. Immunity to liver stage. In Sherman IW, ed. **Malaria: parasite biology, pathogenesis and protection**. Washington DC : American Society for Microbiology 1998 513-43.
- 98- Chandre F. Status of pyrethroid resistance in *Anopheles gambiae sensu lato*. **Bull WHO** 1999 77 230-234.
- 99- White N. Drug resistance in malaria. **Br Med Bull** 1998 54 703-715.
- 100- Ridley RG. Medical need, scientific opportunity and the drive for antimalarial drugs. **Nature** 2002 415 686-693.
- 101- Wellems T, Plowe C. Chloroquine-resistant malaria. **J Infect Dis** 2001 194 770-776.
- 102- Labbé AC, Loufty MR, Kain KC. Recent advances in prophylaxis and treatment of malaria. **Current Infect Dis Rep** 2001 3 68-76.
- 103- Andersen SL, Oloo AJ, Gordon DM. Successful double-blinded, randomised, placebo-controlled field trial of azithromycin and doxycycline as prophylaxis for malaria in western Kenya. **Clin Infect Dis** 1998 26 146-150.

- 104- Taylor WR, Richie TL, Fryauff DJ. Malaria prophylaxis using azithromycin : a double-blind, placebo-controlled trial in Irian Jaya, Indonesia. **Clin Infect Dis** 1999 28 74-81.
- 105- Heppner DG, Wongsrichanalai C, Walsh DS. Azithromycin for the prophylaxis of malaria in Thailand. **Am J Trop Med Hyg** 1999 61 161.
- 106- Olliaro PL, Yuthavong Y. An overview of chemotherapeutic targets for antimalarial drug discovery. **Pharmacol Ther** 1999 81 91-110.
- 107- Olliaro PL, Haynes RK, Meunier B, Yuthavong Y. Possible mode of action of artemisinin-type compounds. **Trends Parasitol** 2001 17 122-6.
- 108- White NJ. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of artemisinin and derivatives. **T Roy Soc Trop Med H** 1994 88 41-43.
- 109- Nosten F, van Vugt M, Price R. Effects of artesunate-mefloquine combination on incidence of *Plasmodium falciparum* malaria and mefloquine resistance in western Thailand : a prospective study. **Lancet** 2000 356 297-302.
- 110- Camus D, Dutoit E, Delhaes L. Place des nouvelles associations dans le prophylaxie et le traitement du paludisme : Riamet® et Malarone®. **La Lettre de l'Infectiologue** 2002 17 114-119.
- 111- Reed MB, Saliba KJ, Caruana SR, Kirk K, Cowman AF. Pgh1 modulates sensitivity and resistance to multiple antimalarials in *P. falciparum*. **Nature** 2000 403 906-909.
- 112- Dong Y, Vennerstrom J. Peroxidic antimalarials. **Exp Opin Ther Patents** 2001 11 1753-1760.
- 113- Brueckner RP, Coster T, Wesche DL. Prophylaxis of *Plasmodium falciparum* infection in a human challenge model with WR 238605, a new 8-aminoquinoline antimalarial. **Antimicrob Agents Chemother** 1998 42 1293-1294.
- 114- Walsh DS, Eamsila C, Sasiprapha T. Randomized, double-blind, placebo controlled evaluation of monthly WR 238605 (tafenoquine) for prophylaxis of *P. falciparum* and *P. vivax* in Royal Thai army soldiers. **Am J Trop Med Hyg** 1999 61 502.
- 115- Shanks GD. Possible options for malaria chemoprophylaxis on the horizon. **J Travel Med** 1999 6 S31-S32.
- 116- Surolia N, Surolia A. Triclosan offers protection against blood stages of malaria by inhibiting enoyl-ACP reductase of *Plasmodium falciparum*. **Nature Med** 2001 7 167-173.
- 117- Jomaa H, Wiesner J, Sanderbrand S, Altincicek B, Weldemeyer C, Hintz M, Turbachova I, Eberl M, Zeidler J, Lichtenthaler HK, Soldati D, Beck E. Inhibitors of the nonmevalonate pathway of isoprenoid biosynthesis as antimalarial drugs. **Science** 1999 285 1573-1576.
- 118- Mercereau-Puijalon O. Vaccins contre le paludisme : un long chemin semé d'embûches. In : « La vaccinologie » **Annales de l'Institut Pasteur** (1^{ère} édition) 2002 79-93.

- 119- Clyde DF. Immunity to *falciparum* and *vivax* malaria induced by irradiated sporozoites : a review of the University of Maryland studies. **Bull WHO** 1990 68 9-12.
- 120- Stowers AW. Efficacy of two alternate vaccines based on *Plasmodium falciparum* mérozoïtes surface protein 1 in an *Aotus* challenge trial. **Infect Immun** 2001 69 1536-1546.
- 121- In : Institut Pasteur . Site disponible sur : <http://www.pasteur.fr/actu/presse/com/dossiers/vaccins/palu.html> (page consultée le 6 février 2002).
- 122- Perlaza BL. Immunogenicity of four *Plasmodium falciparum* pre-erythrocytic antigens in *Aotus lemurinus* monkeys. **Infect Immun** 1998 66 3423-3428.
- 123- Daubersies P. Protection against *Plasmodium falciparum* malaria in chimpanzees by immunization with the conserved pre-erythrocytic liver-stage antigen 3. **Nature Med** 2000 6 1258-1263.
- 124- Oeuvray C. Merozoite surface protein-3 : a malaria protein inducing antibodies that promote *Plasmodium falciparum* killing by cooperation with blood monocytes. **Blood** 1994 84 1594-1602.
- 125- Scherf A, Pouvelle B, Buffet PA Gysin J. Molecular mechanisms of *Plasmodium falciparum* placental adhesion. **Cell Microbiol** 2001 3 125-131.
- 126- Schofield L, Hewitt MC, Evans K, Siomos MA, Seeberger PH. Synthetic GPI as a candidate anti-toxic vaccine in a model of malaria. **Nature** 2002 418 785-789.

TABLE DES MATIERES

| | |
|--|----|
| SOMMAIRE..... | 1 |
| INTRODUCTION..... | 2 |
| 1 ^{ère} PARTIE : | 5 |
| Malarone® : un nouveau traitement commercialisé en France dans la prévention du paludisme..... | 5 |
| 1- Composition et mode d'action | 6 |
| 1-1- Une association de deux molécules | 6 |
| 1-2- Mécanisme d'action..... | 6 |
| 2- Toxicologie | 7 |
| 3- Pharmacocinétique et métabolisme..... | 8 |
| 3-1- Pharmacocinétique de l'atovaquone..... | 8 |
| 3-2- Pharmacocinétique du proguanil et du cycloguanil (métabolite actif du proguanil)..... | 9 |
| 3-3- Pharmacocinétique de l'association..... | 12 |
| 3-4- Relation entre la concentration plasmatique et l'efficacité thérapeutique | 13 |
| 4- Efficacité de Malarone® dans le traitement de l'accès palustre simple à <i>P. falciparum</i> .. | 14 |
| 4-1- Caractéristiques des études cliniques | 14 |
| 4-2- Résultats des études cliniques | 17 |
| 4-2-1- Essais chez l'adulte..... | 19 |
| 4-2-3- Essais chez l'enfant de moins de 12 ans..... | 29 |
| 5- Efficacité de Malarone® en prophylaxie du paludisme à <i>P. falciparum</i> | 32 |
| 5-1- Caractéristiques des études cliniques | 32 |
| 5-2- Résultats des études cliniques | 33 |
| 5-2-1- Essais menés en zone d'endémie | 35 |
| 5-2-2- Essais menés chez des sujets non immuns | 41 |
| 6- Efficacité de Malarone® sur les autres espèces de <i>Plasmodium</i> | 49 |
| 6-1- Malarone® et <i>P. vivax</i> | 50 |
| 6-2- Malarone® et <i>P. ovale</i> , et <i>P. malariae</i> | 51 |
| 7- Profil de tolérance de Malarone® | 51 |
| 7-1- Effets secondaires cliniques | 51 |
| 7-2- Effets secondaires biologiques | 53 |
| 8- Malarone® en pratique en France..... | 54 |
| 8-1- Indication et place dans la prévention..... | 54 |
| 8-2- Posologie et mode d'administration | 54 |

| | |
|---|----|
| 8-3- Contre-indications | 55 |
| 8-4- Précautions d'emploi | 55 |
| 8-5- Interactions médicamenteuses | 56 |
| 8-6- Grossesse et allaitement | 56 |
| 8-7- Effets indésirables | 57 |
| 8-8- Surdosage | 58 |
| 2 ^{ème} PARTIE : | 59 |
| Intérêt d'un nouveau traitement préventif et perspectives d'avenir pour la prise en charge du paludisme | 59 |
| 1- Epidémiologie : une pathologie en recrudescence | 60 |
| 1-1- Le paludisme dans le monde | 60 |
| 1-1-1- Conditions nécessaires à la prolifération du parasite | 60 |
| 1-1-2- Facteurs en cause dans l'aggravation de l'endémie palustre | 63 |
| 1-2- Le paludisme d'importation en France | 64 |
| 1-2-1- Une tendance évolutive en France | 64 |
| 1-2-2- La démographie en France | 65 |
| 1-2-3- La répartition des espèces parasitaires | 65 |
| 1-2-4- Présentation clinique – évolution de la maladie | 65 |
| 2- La chimiorésistance du parasite | 67 |
| 2-1- Définition de la chimiorésistance | 67 |
| 2-2- Facteurs influençant l'émergence de chimiorésistances | 68 |
| 2-2-1- Les hôtes | 68 |
| 2-2-2- Le parasite | 68 |
| 2-2-3- La pression médicamenteuse | 68 |
| 2-2-4- L'intensité de la transmission du paludisme | 69 |
| 2-3- Méthodes de détermination des chimiorésistances | 71 |
| 2-4- Les mécanismes de résistance du parasite | 73 |
| 2-4-1- Mécanismes de résistance à la chloroquine et aux lysomotropes | 73 |
| 2-4-2- Mécanismes de résistance à la pyriméthamine, au proguanil et aux autres antimétabolites | 74 |
| 2-5- La chimiorésistance multiple | 77 |
| 2-6- Epidémiologie des chimiorésistances | 77 |
| 2-6-1- Epidémiologie des résistances aux antipaludiques lysomotropes | 77 |
| 2-6-2- Epidémiologie des résistances aux antimétabolites | 79 |
| 3- Malarone® face aux résistances | 81 |
| 3-1- Les résistances à l'atovaquone seule et au chlorhydrate de proguanil seul : des données peu encourageantes | 81 |

| | |
|--|-----|
| 3-1-1- Chlorhydrate de proguanil | 81 |
| 3-1-2- Atovaquone | 81 |
| 3-2- L'association atovaquone / proguanil face aux résistances..... | 82 |
| 3-2-1- La logique du traitement associé | 82 |
| 3-2-2- Atovaquone/proguanil : une association justifiée | 84 |
| 3-2-3- Les points faibles de cette association | 85 |
| 3-3- Les cas de résistance publiés jusqu'à présent..... | 86 |
| 3-3-1- Dans le traitement des infections à <i>P. falciparum</i> | 86 |
| 3-3-2- Dans la prophylaxie des infections à <i>P. falciparum</i> | 87 |
| 4- Moyens de lutte et de prévention en développement pour demain | 87 |
| 4-1- La lutte contre le moustique vecteur | 87 |
| 4-2- Les molécules disponibles actuellement..... | 89 |
| 4-2-1- Les inhibiteurs de la synthèse des acides nucléiques..... | 90 |
| 4-2-2- Les molécules agissant sur la détoxification de l'hème..... | 91 |
| 4-2-3- Les amino-8-quinoléines | 92 |
| 4-2-4- Les inhibiteurs de la synthèse des protéines (les antibiotiques)..... | 92 |
| 4-2-5- Les dérivés de l'artémisinine | 93 |
| 4-3- Les traitements médicamenteux pour demain | 95 |
| 4-3-1- Les associations médicamenteuses | 95 |
| 4-3-2- Les nouvelles molécules prometteuses..... | 95 |
| 5- Qu'en est-il des vaccins ?..... | 98 |
| 5-1- Un vaccin est-il possible ? | 99 |
| 5-2- Quel type de vaccin ? Des vaccins pour qui ? | 100 |
| 5-2-1- Un vaccin contre quelle espèce de <i>Plasmodium</i> ?..... | 100 |
| 5-2-2- Quelle durée d'efficacité ? | 101 |
| 5-2-3- Une protection contre les accès graves ou les accès simples ? | 101 |
| 5-2-4- Un groupe à risque particulier : les femmes enceintes..... | 102 |
| 5-3- La complexité biologique du parasite..... | 103 |
| 5-4- Les candidats vaccins | 104 |
| CONCLUSION | 108 |
| BIBLIOGRAPHIE..... | 110 |
| TABLE DES MATIERES | 120 |

MALARONE[®]
ET PERSPECTIVES D'AVENIR
DANS LA PRISE EN CHARGE DU PALUDISME

Par Laetitia DAVID TARDIVEL

Malarone[®] est une association à dose fixe d'atovaquone et de chlorhydrate de proguanil indiquée dans le traitement curatif et prophylactique du paludisme à *Plasmodium falciparum*. A ce jour, cette association est efficace dans toutes les zones d'endémie toute fois, son coût élevé en fait un traitement plutôt destiné aux voyageurs.

Le paludisme est la première maladie parasitaire humaine. Cette parasitose touche principalement les populations des zones d'endémie mais également, du fait des voyages, les populations des zones où il n'y a pas de transmission. La situation est préoccupante parce que les moyens de lutte dont nous disposons actuellement sont menacés par les formidables capacités adaptatives du *Plasmodium*. Les mécanismes de chimiorésistance opposés par le parasite aux antipaludiques commencent à être mieux connus ; ils sont complexes, généralement associés à une ou plusieurs mutations chromosomiques.

La recherche progresse ; de nouvelles molécules et notamment celles dérivées de l'artémisinine sont prometteuses. Des candidats vaccins sont également à l'étude.

MALARONE[®] AND FUTURE DEVELOPMENTS IN MALARIA CONTROL

Mots clés :

Paludisme – *Plasmodium* – Antipaludéens – Atovaquone – Proguanil – Résistance